

# RETİNA VASKÜLER HASTALIKLARININ FİZYOPATOLOJİSİ

## Retinanın Vasküler Gelişimi, Retinal Anjiyogenez ve Büyüme Faktörleri

### Retinal Vascular Development, Retinal Angiogenesis and Growth Factors

Hürkan KERİMOĞLU

#### ÖZ

Retinanın besin ve oksijen ihtiyacını karşılayan vasküler yapı gelişimi süresince planlı değişimler gösterir. Gözün gelişiminin erken evrelerinde retina koroidal ve hyaloidal dolaşım tarafından desteklenir. Ancak hyaloidal damarların doğal gerileme süreci ve nöronal tabakaların nihai gelişimi ve farklılaşmasına bağlı olarak retinanın kalınlığının artması sonucu retina hipoksik bir ortama maruz kalır ve nihayetinde kendi vasküler sistemini geliştirmesi gerekir. Retinal vasküler gelişim süreci nöronlar, gliyal hücreler, endotelial hücreler, perisitler ve immün hücreler gibi farklı hücre grupları arasında hücreler arası iletişimi gerektirir. Gelişim sırasında retinal kan damarları üç katmanlı vasküler pleksus oluşturarak sınırları ayırt edilebilen vasküler ve avasküler alanlar oluştururlar. Primatlarda vasküler gelişim üzerine deneyler yapmak patrikte güçlük arzettiğinden fare gözünde yapılan çalışmalar normal ve patolojik anjiyogeneze ışık tutmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Retinal dolaşım, vaskülogenez, anjiyogenez, astrosit, endotel hücresi, vasküler plexus.

#### ABSTRACT

Blood vessels that supply the retina with nutrients and oxygen undergoes a series of well programmed changes during development. During early development of the eye, the retina is initially supplied by the choroid and the hyaloidal vessels. However, due to the natural regression of the hyaloidal vasculature, as well as the thickening of the retina due to the final development and differentiation of the neuronal layers, the retina eventually finds itself in a hypoxic environment and must begin to establish its own vascular system. Retinal vascular development critically depends on cell-cell signalling between different cellular components such as neurons, glia, endothelial cells, pericytes and immune cells. During development, retinal blood vessels form three vascular plexuses in a highly reproducible manner, hereby resulting in the formation of distinct vascular and avascular zones. Because experimentation in primate vascular development is relatively impractical studies in mice affords insights into normal and pathological retinal angiogenesis.

**Key Words:** Retinal circulation, vasculogenesis, angiogenesis, astrocyte, endothelial cell, vascular ple.

1- M.D. Associate Professor, Konya University, Meram Medical Faculty,  
Department of Ophthalmology, Konya/TURKEY  
KERIMOGLU H., hurkanka@yahoo.com

**Geliş Tarihi - Received:** 01.05.2012  
**Kabul Tarihi - Accepted:** 05.05.2012  
**Ret-Vit 2012;20:Özel Sayı:6-9**

**Yazışma Adresi / Correspondence Address:** M.D. Associate Professor,  
Hürkan KERİMOĞLU  
Konya University, Meram Medical Faculty, Department of Ophthalmology,  
Konya/TURKEY

**Phone:** +90 0532 527 47 87  
**E-Mail:** hurkanka@yahoo.com

## GİRİŞ

Görevi retinanın iç katmanlarının besin ve oksijen ihtiyacını karşılamak olan vasküler ağ gelişimi süresince değişim ve planlı yapılanma gösterir. Embriyonik hayatın erken dönemlerinde retinanın beslenmesi arteriyel bir damar ağı olan hyaloid sistem ve koroidal dolaşım tarafından metabolik olarak desteklenir.

Kan optik sinirdeki santral hyaloidal arter vasıtasıyla vitreustaki hyaloidal damarlara geçer ve oradan da gözün ön kısmındaki annüler damarlar yoluyla koroidal dolaşıma katılarak gözü terkeder. Ancak retinanın nöronal gelişimi ve olgunlaşması süresince kalınlığı ve metabolik ihtiyaçları artar ki bu durum hipoksik ortamın gelişimine neden olur. Böylece embriyonik hayatın 16. haftasında retinanın kendi vasküler sisteminin gelişimi başlar.<sup>1,2</sup> Aynı dönemlerde vitreusun saydamlığının sağlanması açısından hyaloidal sistemin regresyonu başlar ve süreç embriyonik hayatın 34. haftasında tamamlanır.

Retinal dolaşım ilkin retina sinir tabakası içerisinde ilerler.<sup>1,2</sup> Hyaloidal sistemin aksine göze optik sinir yoluyla ulaşan hem arteriyel hem de venöz yapılardan oluşur. İç retinal yüze paralel primer damar ağının retina periferine ulaşımını takiben gelişim vertikal olarak dış katmanlara ilerler ve sonuç olarak diğer ikisi iç ve dış pleksiform tabakalarda yer alan birbirine paralel ancak bağlantılı üç vasküler katmana dönüşür. Hyaloidal sistemin regresyonunu takiben 36. haftada nazal retinal ve 40. hafta civarında da temporal retinal vaskülarizasyon tamamlanır.

Retinal vasküler gelişim insanda embriyonik hayatın bir parçası olduğu ve süreç anne karnında geliştiği için retinal gelişime dair çalışmalarda yeni doğmuş farelerin gözlerinden sıkça faydalanılmaktadır. Bu yüzden insan ve fare gözü arasındaki farkları bilmekte fayda vardır. İnsanlarda vasküler gelişim 2. trimesterde başlar ve doğum civarında sonlanır. İnsanların aksine farelerde doğumda retina avaskülerdir.<sup>3</sup> Fare retinasında primer vasküler pleksusun gelişimi postnatal 8. günde tamamlanır. Retinal vaskülarizasyon 3. haftada tamamlanır.<sup>4</sup>

Tüm türlerde retinanın dış kısmı yani fotoreseptör tabakası avaskülerdir. İnsan retinasında buna ek olarak fovea bölgesi de avasküler olarak kalır. Ancak farelerde retinanın tamamı vaskülerize olur yani 'foveal avasküler zon' izlenmez.<sup>2,4</sup>

Fare retinası doğumdan sonra vaskülarize olur ve vasküler gelişim ileri düzeyde organize evreler halinde ilerler. Özetleyecek olursak yüzeyel pleksus ilk 8 günde gelişir, sekizinci günde derin pleksusların gelişimi başlar, on ikinci günde derin pleksuslar gelişir ve retinal vasküler gelişim doğumdan sonraki üç hafta içinde tamamlanır.<sup>4</sup>

Bu durum bizlere vasküler gelişimin başından itibaren izlenebilmesini, görüntülenebilmesini ve istenildiğinde müdahale edilebilmesini mümkün kılmaktadır. Bu sayede çeşitli moleküllerin intravitreal olarak verilmesi ve etkilerinin değerlendirilmesi mümkün olmaktadır. Ayrıca fare retinası oksijenle indüklenen retinopati gelişimini incelemek için de uygun bir model oluşturmaktadır.

Retinal vasküler gelişimde rol alan hücreleri değerlendirdiğimizde başlıca aktörler endotel hücreleri ile perisitler, düz kas hücreleri ve astroglial hücrelerden müteşekkil mural hücrelerdir. Endotel hücreleri retinal vasküler gelişimde en önemli rolü oynar. Vasküler gelişimin erken evreleri olan proliferasyon, migrasyon ve endotelial tüp oluşumunda en aktif hücre grubu iken olgunlaşma evresine de hücre duvarları arasında özellikli bağlantıların gelişimi ve nihayetinde kan-retina bariyerinin oluşumu ile katkıda bulunur.<sup>5</sup>

Mural hücreler endotel hücrelerinden oluşan lümeni çevreleyen perivasküler hücre grubudur. Vasküler yapının olgunlaşma sürecinde önemli rol alıp işlerliğinden ve stabilizasyonundan sorumludurlar. Mural hücrelerin kaybı vasküler yapının sürdürülememesine, apoptoza yatkınlığa ve dejenerasyona sebep olur.<sup>6</sup>

Vasküler yapıların organizasyonu dokunun fonksiyonu için önemlidir. Memeli retinası 55 farklı hücre grubu içeren yüksek organizasyonlu bir nöronal doku özelliğindedir. Tabakalı nöronal hücreler ve snaptik pleksuslardan müteşekkildir.

Memeli retinasında üç planlı vasküler pleksus dizilimi izlenmektedir. Yüzeyel pleksus retinanın iç kısmında sinir lifi tabakasında yer alırken intermediyer ve derin pleksuslar iç nükleer tabakanın her iki yüzünde yerleşir. Bu pleksuslarda birinin oluşmaması hipoksik strese ve nöronal dejenerasyona neden olur. Avasküler olması gereken sahada oluşması ise nöronal sinapsların ve vizüel fonksiyonun bozulmasına neden olur.

Yüzeyel pleksus ilk oluşandır. Yüzeyel pleksusun gelişiminin vaskülogenez yoluyla mı yoksa anjiyogenez yoluyla mı olduğu halen tartışma konusudur.<sup>7</sup> Bugün için genel kabul yüzeyel pleksusun gelişiminin vaskülogenez, derin yerleşimli ağların gelişiminin anjiyogenez yoluyla olduğu şeklindedir. Ancak bu teorinin desteklenmesi için vasküler endotelial öncül hücrelerin gösterilmesi gerekir ki bugüne kadar farelerde gösterilememiştir.<sup>8</sup> İnsan da ise vasküler endotelial öncül hücrelere dair bir takım belirteçler (ADPase/CD39 ve CXCR4) gösterilmiş olmasına rağmen halen kesin bir yargıya varmak için erkendir.<sup>9</sup>

Sinir sistemi ile vasküler sistem arasındaki paralellik ilk kez Belçikalı bir anatomist olan Andreas Vesalius tarafından gösterilmiştir.

Sinir dokusunun daha önce geliştiği dokularda vasküler gelişimin çeşitli moleküler mekanizmalar (VEGF) ile yönlendirildiği düşünülmektedir.<sup>10</sup> Buna paralel olarak aksonal yönlendiricilerin (Netrin ve Unc5 reseptörleri, semaforinlr ve nörofilin/pleksin reseptörleri, Slit ve Robos reseptörleri, efrin ve Eph reseptörleri) aynı zamanda vasküler gelişim için de belirleyici olduğu yönünde araştırmalar mevcut.<sup>11</sup>

Astrositik nöroglial hücreler retinal vasküler gelişimde önemli rol oynar.<sup>12</sup> Astrositler sadece vasküler retinalarda vaskülarizasyon komşuluğunda görülür. Avasküler retina sahalarında astrosit görülmez. İnsan retinasının hemen tamamı retinal astrositler ve kan damarları ile kaplanmışken fovea istisnai olarak her ikisinden de yoksundur.<sup>13</sup>

Retinal vasküler gelişim öncesinde optik sinir başında çoğalan hücre popülasyonları retina yüzeyinde santrifugal tarzda yayılım göstererek kan damarlarının gelişimi için hücresele bir ağ oluştururlar.<sup>14</sup> Retinal astrositleri optik sinir ve beyindeki astrositlerden ayıran en önemli belirteç PDGFR $\alpha$ 'dır. Retinal gangliyon hücrelerince salınan PDGFA retinal astrositler için önemli bir mitojendir.<sup>15</sup> Bu sayede astrositler endotel hücreleri için kılavuz işaretleri taşıyan gliyal bir ağ oluştururlar. Henüz vaskülarize olmamış alanlardaki astrositler hipoksiye ve sonucunda büyüme faktörlerinin (VEGF, IGF-1, FGF) salınımına sebep olurlar ki bunların içinde VEGF vasküler pleksusun yönlendirilmesi ve sürekliliğinde en önemli rolü oynar.<sup>16</sup>

Vasküler gelişimin başlangıcında endotel uç hücreleri ismi verilen bir grup hücre önemli rol oynar. Bu hücreler çok sayıda filopoda sahip özelleşmiş endotel hücreleridir.<sup>17</sup> Filopodal uzantılar VEGF konsantrasyonunun yüksek olduğu yöne uzanırlar. Vasküler gelişim hızını VEGF miktarından ziyade gradiyent farkı belirler.<sup>10</sup> VEGF<sub>165</sub> heparin bağlayıcı motif taşıdığı için büyük moleküler ağırlığa sahiptir ve diffüze olmaz lokal etki gösterir.

Damarların yönlendirilmesinde önemli faktörlerden bir tanesi de R-cadherin'dir. Astrosit yüzeyindeki R-cadherin endotel yüzeyindeki aderens molekülleri ile etkileşir.<sup>18</sup> Endotel hücrelerinin uç kısmındaki filopodial uzantılar VEGF ve R-cadherin varlığında stabilize olur ve vasküler büyüme ve migrasyon başlar. R-cadherin fonksiyonu engellendiğinde filopodal uzantılar geriler ve endotel hücrelerinin astrositlerin hazırladığı kalıp üzerinde ilerlemediği görülmüştür.<sup>18</sup> Bu sayede vasküler gelişim kabaca astrositler tarafından belirlenmiş ağ yapısını takibeder. Aslında nöral ve vasküler yapılar arasındaki ilişki karşılıklıdır. Retinal vaskülarizasyon astrositlerin kılavuzluğunda gelişimine devam ederken bir yandan da gliyal ve gangliyon hücre olgunlaşmasına katkıda bulunur.

Vasküler ağın gelişimi ile VEGF azalırken, Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP) artar. Böylece astrositlerin çoğalması durur ve stellat morfolojiye dönüşüp stabilize olurlar.<sup>7,19</sup>

Dış pleksusların gelişiminin anjiyogenez yoluyla olduğu bilinmektedir. Retinal vasküler yatağın derin pleksusları (dış pleksuslar) primer pleksustan köken alır. Bu anjiyojenik filizler retinanın merkezinden başlayarak ven, venül ve ven yakınlarında yerleşimli kapillerlerden köken alır ve primer pleksusa dik olarak retinayı penetre eder. Anjiyojenik damarların ilerlemesi astrositlerin hazırladığı iskelet üzerinden olmaz.

Vasküler filizler VEGF mRNA'sının yoğun olarak izlendiği iç nükleer katlara doğru Müller hücre uzantıları boyunca ilerler ve İNL'nin iç ve dış sınırlarında yatay hatta dönüş yapıp birbirine ve primer pleksusa paralel iki vasküler ağ oluştururlar.<sup>20</sup> Ang2 normal koşullarda horizontal hücreler tarafından sentezlenir ve bolca yüzeyel pleksus gelişimi etkilenmezken derin pleksus gelişimi mümkün olmaz.<sup>21</sup> R-cadherin bloke edildiğinde retinal damarların avasküler fotoreseptör tabakasını invaze edip subretinal alana ulaştığı izlenmiştir.<sup>18</sup>

Yeni oluşmuş vasküler pleksuslar yüksek yoğunluklu ağlardan oluşmaktadır ilerleyen aşamalarda bunların kırılması gerekir. Bazı kapillerler korunup güçlenirken bazıları ortadan kaldırılır. (Özellikle arter komşuluğundaki alanlarda daha belirgindir). Vasküler gelişim periferde doğru ilerledikçe endotel uç hücrelerinin gerisinde kalan vasküler ağ yeniden şekillenip vasküler ağaç görünümüne ulaşır. Bunun için aktive lökositlerin bölgeye toplanması gerekir. Yüksek yoğunluklu vasküler ağın varlığı hiperoksiye bu durum ise ICAM1'in endotel hücre yüzeyinde artmasına sebep olur. Dolaşımdaki lökositler üzerinde bulunan CD18 molekülleri vasküler yapı üzerindeki ICAM1'e yapışarak hücre aktivasyonuna ve sonuç olarak Fas-L aracılı apoptoza sebep olurlar.<sup>22</sup>

Fonksiyonel bir vasküler ağın oluşumu vaskülogenez veya anjiyogenez yoluyla oluşmuş olan endotel tüplerin stabil, sızdırmayan damarlara olgunlaşması ile olur. Bu süreç mural hücrelerin (perindotelial hücreler ve düz kas hücreleri) toplanması, ekstraseküler matriks oluşumu ve damar duvarının özelleşmesi ile gerçekleşir.

Endotel hücrelerinin mural hücrelerce sarılması endotel hücre proliferasyonunu, hücre sağkalımını ve hemostatik kontrolü sağlar. Retinal vasküler yapının olgunluğu hiperoksiye maruziyet ile değerlendirilebilir. Farelerde postnatal ilk iki haftada hiperoksi merkezdeki ve peri arteriyel kapillerde obliterasyona yol açarken 2 haftadan sonra retinal damarlar hiperoksi durumuna direnç kazanmışlardır.<sup>23</sup>

Nasıl ki endotel hücrelerinin yönlendirilmesinde VEGF önemli rol oynamaktadır, mural hücreler için de PDGF aynı öneme sahiptir. Endotel hücreleri PDGFB salgılayarak mural hücrelerin üzerinde yer alan PDGFR $\beta$  reseptörünü uyararak toplanmasını sağlarlar.<sup>24</sup> PDGF üzerindeki heparin bağlayıcı motif diffüzyonu engeller. Heparin bağlayıcı motifin uzaklaştırılması perisitlerin toplanamamasına ve vasküler yapının regresyonuna neden olur.<sup>25</sup>

Olgunlaşma süreci sonucunda retinal vasküler yapının kalıcılığını sağlayan vasküler duvar yapısı ortaya çıkar. Vasküler duvar endotel hücreleri ve bunu çevreleyen ekstraselüler matriks içerisine gömülü mural hücrelerden (perisit ve düz kas hücreleri) müteşekkildir. Vasküler hücreler arasında kollajen 1 ve elastinden oluşan bir interstisyel matriks vasküler duvara viskoelastisite ve dayanıklılık verir.

Ekstraselüler matriks ise çevre dokular ile haberleşme ve vasküler lümenin kollabe olmasını önlemekten sorumludur. Farelerde 10. günden itibaren retinal vasküler duvar 4kD'dan büyük molekülleri geçirmez olur (Poor SH ve ark. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006;47:ARVO E-Özet 502).

Endotel hücreleri arasındaki adherent bağlantılar (VE-cadherin) ve sıkı bağlantılar (claudin, okcludin ve JAM-1) damar duvarına sağlamlık ve sızdırmazlık sağlar.<sup>26</sup> Yüzeysel pleksusta astrositlerin ve derin pleksuslarda müller hücrelerinin de kan retina bariyer özelliklerine katkıda bulunduğu sınımlanmaktadır.<sup>27,28</sup>

Retinal vasküler gelişim birbirini tetikleyen ve tamamlayan basamaklardan oluşmaktadır. İnsanda bu sürecin embriyonik hayatın bir parçası olması nedeniyle tam olarak aydınlatılması güçlük arz eder. Ancak ardiardına eklenen yeni bilgiler ile bu bulmacanın tamamını görmek mümkün olacaktır.

## KAYNAKLAR/REFERENCES

- Gariano RF. Cellular mechanisms in retinal vascular development. *Prog Retin Eye Res* 2003;22:295-306.
- Provis JM. Development of the primate retinal vasculature. *Prog Retin Eye Res* 2001;20:799-821.
- Gyllenstein LJ, Hellstrom BE. Experimental approach to the pathogenesis of retrolental fibroplasia. I. Changes of the eye induced by exposure of newborn mice to concentrated oxygen. *Acta Paediatr Suppl* 1954;43:131-148.
- Connolly SE, Hores TA, Smith LE, D'Amore PA. Characterization of vascular development in the Mouse retina. *Microvasc Res* 1988;36:75-290.
- Abbott NJ. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J Anat* 2002;200:629-38.
- Orlidge A, D'Amore PA. Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J Cell Biol* 1987;105:1455-62.
- Ashton N. Retinal angiogenesis in the human embryo. *Br Med Bull* 1970;26:103-6.
- Gariano RF. Cellular mechanisms in retinal vascular development. *Prog Retin Eye Res* 2003;22:295-306.
- McLeod DS, Hasegawa T, Prow T, et al. The initial fetal human retinal vasculature develops by vasculogenesis. *Dev Dyn* 2006;235:3336-47.
- Gerhardt H, Betsholtz C. How do endothelial cells orientate? *EXS* 2005;94:3-15.
- Klagsbrun M, Eichmann A. A role for axon guidance receptors and ligands in blood vessel development and tumor angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16:535-48.
- Stone J, Dreher Z. Relationship between astrocytes, ganglion cells and vasculature of the retina. *J Comp Neurol* 1987;255:35-49.
- Schnitzer J. Retinal astrocytes: their restriction to vascularized parts of the mammalian retina. *Neurosci Lett* 1987;78:29-34.
- Fruttiger M. Development of the retinal vasculature. *Angiogenesis* 2007;10:77-88.
- Mudhar HS, Pollock RA, Wang C, et al. PDGF and its receptors in the developing rodent retina and optic nerve. *Development* 1993;118:539-52.
- West H, Richardson WD, Fruttiger M. Stabilization of the retinal vascular network by reciprocal feedback between blood vessels and astrocytes. *Development* 2005;132:1855-62.
- Gerhardt H, Golding M, Fruttiger M, et al. VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *J Cell Biol* 2003;161:1163-77.
- Dorrell MI, Aguilar E, Friedlander M. Retinal vascular development is mediated by endothelial filopodia, a preexisting astrocytic template and specific R-cadherin adhesion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;3:3500-10.
- Uemura A, Kusuhara S, Wiegand SJ, et al. Tlx acts as a proangiogenic switch by regulating extracellular assembly of ibronectin matrices in retinal astrocytes. *J Clin Invest* 2006;116:369-77.
- Gariano RF, Sage EH, Kaplan HJ, et al. Development of astrocytes and their relation to blood vessels in fetal monkey retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:2367-75.
- Hackett SF, Wiegand S, Yancopoulos G, et al. Angiopoietin-2 plays an important role in retinal angiogenesis. *J Cell Physiol* 2002;192:182-7.
- Ishida S, Yamashiro K, Usui T, et al. Leukocytes mediate retinal vascular remodeling during development and vaso-obliteration in disease. *Nat Med* 2003;9:781-8.
- Gu X, Samuel S, El Shabrawey M, et al. Effects of sustained hyperoxia on revascularization in experimental retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:496-502.
- Hellstrom M, Kaln M, Lindahl P, et al. Role of PDGF-B and PDGFR-beta in recruitment of vascular smooth muscle cells and pericytes during embryonic blood vessel formation in the mouse. *Development* 1999;126:3047-55.
- Lindahl P, Johansson BR, Leveen P, et al. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science* 1997;277:242-5.
- Ruiz De Almodovar C, NY A, Carmeliet P. General concepts of angiogenesis and vasculogenesis. In: Jousseaume A M, Gardner T W, Kirchhof B, Ryan SJ, Retinal vascular disease, 1st eds, Berlin Heidelberg, Springer-Verlag 2007;46.
- Gardner TW, Lieth E, Khin SA, et al. Astrocytes increase barrier properties and ZO-1 expression in retinal vascular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2423-7.
- Tout S, Chan-Ling T, Hollander H, et al. The role of Muller cells in the formation of the blood-retinal barrier. *Neuroscience* 1993;55:291-301.