

KEÇİLERDE RETİNA PİGMENT EPİTELİ, BRUCH'S MEMBRANI VE KORİOKAPİLARİS'İN İNCE YAPISI

HİKMET ALTUNAY*

**Fine structure of the Retinal Pigment Epithelium , Bruch's Membrane and
Choriocapillaris of the Goats.**

Summary: The fine structure of the retinal pigment epithelium, Bruch's membrane and choriocapillaris was investigated by light and electron microscopy in both the tapetal and non-tapetal area of the goat eye. It was observed that the retinal pigment epithelium (RPE) consist of a single layer of cuboidal cells in all locations. The epithelial cells were joined laterally by apically-located tight junctions. Basally these cells displayed numerous basal infoldings, while apically abundant thin processes enclosed rod outer segments (ROS). The epithelial cell nucleus was large, vesicular and located centrally. Within the epithelial cells, smooth endoplasmic reticulum (SER) was very abundant while rough endoplasmic reticulum (RER) was scarce. Mitochondria of various shapes and lysosomes were more numerous in non-tapetal area than tapetal area. While melanosomes were abundant in non-tapetal area, over tapetal area they were absent. Bruch's membrane (complexus basalis) was pentalaminate throughout the retina. The choriocapillaris was heavily fenestrated on the border facing the retina, however, on the contrary to other reports, some of these fenestrations displayed a double-layered diaphragm, while the majority showed the more typical single-layered diaphragm.

Key words : Retinal Pigment Epithelium, Bruch's Membrane , Choriocapillaris, Goat.

ÖZET : Retina pigment epiteli , Bruch's membranı ve Koriokapilaris'in ince yapısı keçi gözünde hem tapetal hem de non-tapetal bölgede ışık ve elektron mikroskopik olarak incelendi. Tüm bölgelerde retina pigment epitelinin tek katlı kübik hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Epitel hücreleri, birbirlerine apikalde tight junction'larla bağlanmışlardı. Bu hücrelerin , çok sayıda bazal kıvrımlara sahip oldukları ve apikallerinde bulunan çok sayıdaki mikrovillus benzeri ince uzantılarının basil (çubuk) dış segmentlerini sardığı gözlemlendi. Nükleusları büyük ve veziküler olup sentral konumdaydı. Sitoplazmada granülsüz endoplazma retikulumuna çok fazla, granüllü endoplazma retikulumuna ise az rastlandı. Çeşitli şekillerdeki mitokondriyonların ve lizozomların non-tapetal bölgede, tapetal bölgeye göre daha fazla oldukları gözlemlendi. Non-tapetal bölgede çok sayıda görülen melanozomlara ,

* Dr., AÜ Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

tapetal bölgede rastlanmadı. Bruch's membranı retina boyunca pentalaminardı. Koriokapilarislerin retinaya bakan yüzleri çok sayıda fenestralara sahipti; ancak, literatürde memelilerde tek diyaframlı oldukları bildirilen bu fenestraların, keçide çoğunlukla tek diyaframlı olmakla birlikte, bazılarının çift diyaframlı oldukları gözlemlendi.

Anahtar kelimeler : Retina Pigment Epiteli, Bruch's Membranı, Koriokapilaris, Keçi

GİRİŞ :

Retina pigment epiteli, multifonksiyonel bir bölüm olup, gözün korioideal katmanının büyük çaplı kapılarları ile retinanın fotoreseptörleri arasında bulunur. Bu bölgenin bilinen başlıca görevleri şöyle sıralanabilir : 1) lateralde lokalize tight junction'larla kan-retina bariyerinin bir bölümünü oluşturması (5,19), 2) basil fotoreseptör hücrelerinin dış segment disklerinin fagositozu (3,4,19), 3) fotoreseptörlerden ve fotoreseptörlere doğru olan karşılıklı selektif madde transportu (2,5,21), 4) vitamin A'nin alınışı, işlenişi ve serbest bırakılması (4,5,28), 5) ekstraselüler matrix üretimi (19), 6) fotoreseptör hücre dış segmentlerinin yapısal korunması (17) ve 7) antioksidan aktivitesi (5).

Bu önemli fonksiyonların bir sonucu olarak retina pigment epitel katmanı üzerinde çeşitli çalışmalar (6,7,13,22) yapılmıştır. Bu çalışmalarda retina epitelinin bütün omurgalılarda benzerlik gösterdiğine işaret edilmekle beraber, genelde bazı farklılıklar da ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, keçide retina pigment epitel katmanı incelenerek diğer türlerle olan morfolojik farklılıkları saptanmaya çalışılmıştır.

Materyal ve metot :

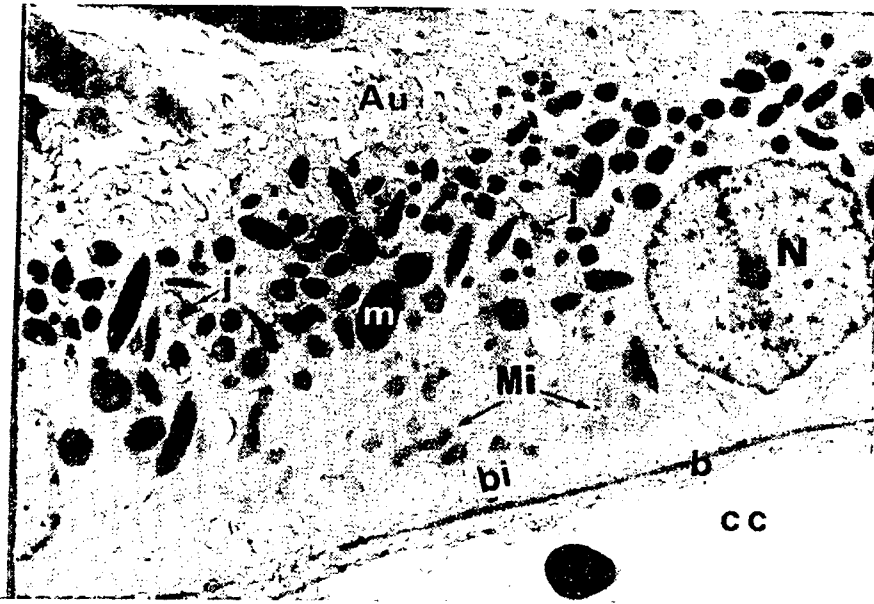
Çalışmada erişkin 2 Ankara keçisi ve 2 de kil keçisinin gözleri ışık ve elektron mikroskopik amaçla işlendi. Kesimevinde kesimleri yapılan hayvanların, hemen kesimi takiben göz küreleri çıkarıldı; kornea-sklera birleşim yerinden şaklar yapılarak Karnovsky

(20) metoduna göre hazırlanmış glutaraldehid paraformaldehid tespit solusyonunda (Ph 7,2) 5-6 saat süreyle 4°C 'de tespit edildi. Daha sonra göz küreleri, şak yapılan yerlerden tamamen kesilerek, retinanın ayrılması önlenmiş bir biçimde tekrar tespit solusyonuna konuldu ve 1-2 saat sonra 1-2 mm'lik parçalara bölündü. Parçalar daha sonra 2 saat süreyle %1'lik ozmiyum tetrokside kondu, dereceli alkoller ve propilen oksitten geçirilerek araldit-M'de bloklandı.

Bloklardan LKB ultratomuyla alınan 1 mikronluk yarı ince kesitler toluidinblucipironin ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda, ince kesitler ise Reynolds (26) yöntemiyle boyanarak, Carl Zeiss EM9 S-2 model transmisyon elektron mikroskopunda incelendi ve fotoğrafları çekildi.

Bulgular :

Diğer pek çok omurgalılarda olduğu gibi, keçide de retina pigment epitelinin tek katlı kübik hücrelerden meydana geldiği görüldü (Şek.1). Bu hücreler bazalde derin kıvrımlar sergilerken (Şek. 1,6 bi), apikalde çok sayıda tek tip uzantılarıyla basil fotoreseptör dış segmentini kavramış olarak gözlemlendiler (Şek. 1,2 Au). Epitel hücrelerinin apikalde birbirlerine tight junction'larla bağlanmış oldukları saptandı (Şek. 1,2,3 j).

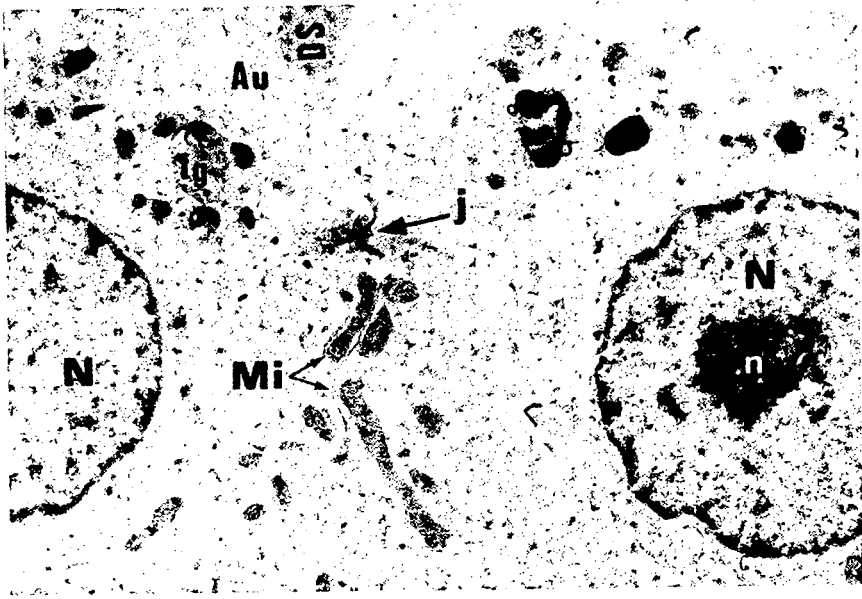


Şek.1 : Keçi retina pigment epitelinin non- tapetal bölgesinin elektron mikroskopik görünüşü. Nükleus (N), koriokapilaris (cc), Bruch's membranı (b) , apikal uzantılar (Au) , melanozom (m), bazal kıvrımlar (bi), hücre bağlantısı (j), ve bazale yerleşmiş mitokondriyonlar (Mi), X 4.150

Fig.1. Electron micrograph of the retinal epithelium over the non-tapetal area in the goat. Nucleus (N), Chorio capillaris (cc), Bruch's membrane (b), apical process (Au), basal infoldings (bi), melanosomes (m), cell junction (J) and basally located mitochondria (Mi)., X 4.150.

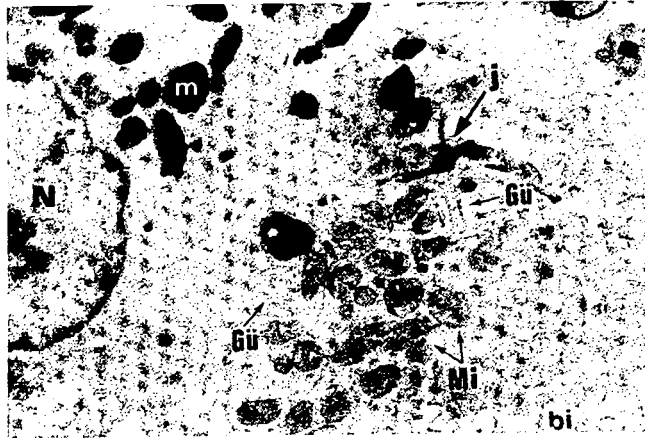
Pigment epitel hücreleri, sentralde yerleşik yuvarlaktan ovale değişen, nükleolusu da belirgin, büyük veziküler nükleusa sahiptirler (Şek. 1,2 N). Çok sayıdaki değişik şekilli mitokondriyonların tapetal bölgede çoğunlukla lateralde (Şek.3,4 Mi), non-tapetal bölgede ise bazalde yerleştikleri tespit edildi

(Şek.1 Mi). Granülsüz endoplazma retikulumu, retina pigment epitel hücreleri içinde en bol bulunan organel olarak dikkat çekti (Şek. 4,5 Gz). Granüllü endoplazma retikulumunun seyrek olduğu ve küçük gruplar yaptıkları gözlemlendi (Şek.3,5 Gü); buna karşılık polizomlar boldu (Şek. 4,5).



Şek.2 : Keçi retina pigment epitelinin tapetal bölgesinin elektron mikroskopik görünüşü. Nucleus (N) ve nukleolus (n), hücre bağlantısı (j), lateralde yerleşmiş mitokondriyonlar (Mi), dış segmenti (DS) kavramış apikal uzantılar (Au) ve fagozom (fg)., X 6.400.

Fig.2. Electron micrograph of RPE cells over the tapetal area. Nucleus (N) and nucleolus (n), cell junction (J), laterally located mitochondria (Mi) in various shaep, rod outer segment (DS) wrapped by apical processess (Au) and fagosomes (fg)., X 6.400.



Şek.3 : Retina pigment epitelinde tapetum geçiş bölgesinin elektron mikroskopik görünüşü. Nucleus (N), lateralde yerleşmiş mitokondriyonlar (Mi), hücre bağlantısı (j), granüllü endoplazma retikulumu (Gü) ve melanosomlar (m). bazal kıvrımlar (bi)., X 10.600.

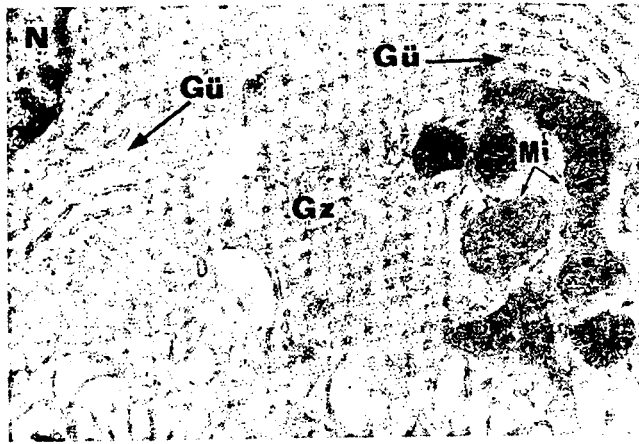
Fig.3. Electron micrograph to illustrate the cell nucleus (N), laterally located mitochondria (Mi) and a cell junction (J). rough endoplasmic reticulum (Gü). Melanosomes (m) are indicated at the edge of the tapetum. For orientation, basal infoldings (bi) are also indicated., X 10.600.

Hücresinin her tarafında görülebilen lizozomlar non-tapetal bölgede, tapetal bölgeden daha fazla izlendi. Fagosite edilmiş dış segment disk uzantılarına ait fagozomlara rastlandı (Şek. 2 Fg).



Şek.4 : Retina pigment epitelinde lateralde yerleşmiş mitokondriyonları (Mi), nukleusu (N) ve bol miktardaki granülsüz endoplazma retikulumunu (Gz) gösteren elektron mikrograf., X 14.950.

Fig.4. Electron micrograph to illustrate the laterally located mitochondria (Mi), nucleus (N) and abundant smooth endoplasmic reticulum (Gz)., X 14.950.

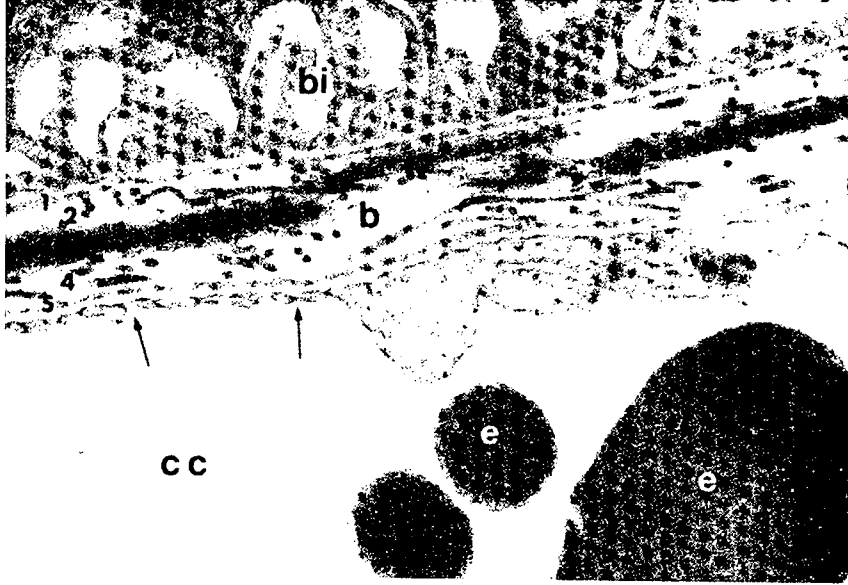


Şek.5 : Retina pigment epitelinde bol granülsüz endoplazma retikulumu (Gz) ve az miktardaki granüllü endoplazma retikulumunu (Gü) gösteren elektron mikrograf. Mitokondriyonlar (Mi), nukleus (N)., X 16.000.

Fig.5. Electron micrograph to indicate abundant smooth endoplasmic reticulum (Gz) and small amounts of rough endoplasmic reticulum (Gü). Mitochondria (Mi), nucleus (N) X 16.000

Kesite bağlı olarak iğ şekilli ya da yuvarlak görünen ve oldukça elektron yoğun olan melanozomlar, non-tapetal bölgede çok bol bulunmalarına karşılık (Şek. 1,3 m), tapetal bölgede gözlenemediler (Şek.2).

Büyük çaplı kapıllardan meydana gelen koriokapilarislerin retinaya bakan yüzlerinde çok sayıda fenestra gözlemlendi (Şek. 6). Keçide, koriokapilaris fenestralarının büyük çoğunluğu tek diyaframlı iken, bunlardan bazılarının çift diyaframlı olduğu dikkati çekti (Şek. 6 oklar).



Şek.6 : Retina pigment epiteli koriokapilarisinde (cc) çift diyaframı (ok) gösteren elektron mikrograf. Pentalaminar yapıdaki Bruch's membranı (b) [1] retina pigment epitelinin bazal membranı, 2) iç kollagen kat, 3) elastik iplikler katı, 4) dış kollagen kat ve 5) koriokapillar endotelinin bazal membranı] ve bazal kıvrımlar (bi). Eritrosit (e), X 23.750.

Fig.6. Electron micrograph to illustrate double-layered diaphragms (arrow) within some of the fenestrations of the choriocapillaris (cc). Bruch's membrane (b) is pentalaminar [1] basement membrane of the retinal pigment epithelium, 2) inner collagenous layer, 3)elastic fiber area, 4) outer collagenous layer and 5) basement membrane of the endothelium of the choriocapillaris],Basal infoldings (bi) and Erythrocyt (e), X 23.750.

Keçide pentalaminar bir yapı gösteren Bruch's membranındaki katlar şöyleydi: 1) retina pigment epitelinin bazal membranı, 2) iç kollagen kat, 3) elastik iplikler katı, 4) dış kollagen kat ve 5) koriokapillar endotelinin bazal membranı (Şek. 6).

Tartışma ve sonuç :

Retina pigment epiteli üzerinde, yaşamdaki önemli fonksiyonları nedeniyle çeşitli türlerde çalışılmıştır (4,6,7,13,22). Diğer omurgalılarda olduğu gibi, keçide de retina pigment epiteli tek katlı hücrelerden meydana

gelmiştir. Retina epitel hücrelerinin bazalinde yer alan kıvrımların membran yüzeyini genişletmeye yaradığı belirtilmiştir (5). Koriokapilaristen fotoreseptör hücrelere madde transportunda, bu kıvrımların aktif rol oynadıkları söylenmektedir (27). Fotoreseptör dış segmentlerinin fagositozu (2) ve yapısal korunması (17) yönünden önemli olduğu bildirilen apikal uzantılar, fotoreseptör dış segmentleri ile parmakların birbiri içine girmesi gibi bir görünümde dir. Bazı türlerin morfolojik olarak iki farklı tipte apikal uzantıya sahip oldukları belirtildiği halde (6), keçide sadece tek tip apikal uzantı gözlemlendi. Ayrıca hücrenin apikal yarımında, çok olmakla birlikte fagozomlar da görüldü.

Retina pigment epitel hücreleri arasındaki tight junction'lar, metabolit ve iyon transportunda seçici bir engel oluşturarak kan-retina bariyerinin bir bölümünü oluştururlar (5,15,19). Diğer memeli türlerinde de belirtildiği gibi (7,9,11) bu junction'lar, keçide de retina pigment epitel hücrelerinin lateral yüzlerinin apikal bölümünde yerleşmişlerdir.

Büyük veziküler nükleusları, çok sayıda mitokondriyonları ve endoplazma retikulumları ile retina pigment epitel hücreleri, yüksek metabolik aktiviteye sahip hücreler olarak belirlenmişlerdir. Diğer türlerde de belirtildiği gibi, granülsüz endoplazma retikulumu retina pigment epitel hücreleri içinde en bol bulunan organel iken, granüllü endoplazma retikulumu daha seyrek gözlenmektedir (5,9,22). Çok bol olan granülsüz endoplazmik retikulumun görevinin, vitamin A'nin metabolizması (4,5) ve lipid biyosentezi (16) olduğu tespit edilmiştir. Bu hücrelerde granüllü endoplazma retikulumunun daha az bulunuşu, protein sentezinin de azlığını göstermektedir. Granüllü endoplazma retikulumunun azlığına karşılık polizomların

bolluğu, bu hücrelerde üretilen proteinin, hücre içi protein ihtiyacı için kullanıldığına bir göstergesi olarak bildirilmiştir (1). Çalışmanın bulguları, literatür verileriyle uyumludur.

Retina pigment epitel hücrelerinde, hücre aktivitesinin gerektirdiği enerjinin kaynağını oluşturan çok sayıda mitokondriyonlar diğer türlerde çoğunlukla bazalde (8,13) veya epitel içinde dağınık buldukları (7,9) halde keçide tapetal bölgede çoğunlukla lateralde, non-tapetal bölgede ise bazalde yerleşmişlerdi.

Keçide değişik kesitlerine rastlanılan iğ şekilli elektron yoğun melanozomlar, şekil olarak literatürle uyum gösterdi (12). Fakat bunlar hücre içinde non-tapetal bölgede dağınık durumda iken, tapetal bölgede mevcut değillerdi.

Memelilerde Bruch's membranının pentalaminar bir yapı gösterdiği bildirilmiştir (7,9,10,24). Bruch's membranı trilaminar olan canlılar da bildirilmiştir (6,25). Keçide de, diğer memelilerde bildirildiği gibi tipik pentalaminar yapı vardı.

Omurgalılarda koriokapilar katmanının, büyük çaplı kapılardan oluştuğu bildirilmiştir (18). Keçide koriokapilarislerin, retinaya bakan yüzlerinde çok miktarda fenestralara sahip oldukları gözlemlendi. Bu durum tapetum lucidum'lu diğer türlerde de belirtilmiştir (11,23). Vaskülarizasyon yönünden fakir olan tapetumun metabolizma yönünden desteklenmesinde, koriokapilarislerin rol oynadıkları bildirilmiştir (7). Tapetum selülozuma sahip türlerde koriokapilarisin, retina pigment epiteli içine sıklıkla girintiler yaptığı belirtilmiştir (6,10,11). Sığır ve koyun gibi tapetum fibrozuma sahip türlerde koriokapilarisin girinti yapmadığı saptanmıştır (7,9). Çalışmada aynı durumun söz konusu olduğu gözlemlendi. Koriokapilaris fenestralarında çift diyaframın

varlığı, sadece kanatlılarda (12,13,14) ve bir sürüngen türünde (22) bildirilmiş olmasına karşılık, bu çalışmada keçide büyük çoğunluğu tek diyaframa sahip fenestraların yanında çift diyaframlı fenestralara da rastlandı.

Kaynaklar :

1. **Alberts,B., D.Bray, J.Lewis, M.Raff, K.Roberts, J.D.Watson** (1989) *Molecular Biology of the cell*. Gerland inc. publishing. second edition. New York.
2. **Bok,D.** (1985) *Retinal photoreceptor - pigment epithelium interactions*. Invest Ophthalmol Vis Sci , **26**, 1659-1694.
3. **Bok,D.** (1989) *Retinal photoreceptor disc shedding and pigment epithelium phagocytosis*. in Ryan,S.J. (ed.): *Retina. vol I*, pp.69-81. C.V. mosby company. St.Louis.
4. **Bok,D.** (1993) *The retinal pigment epithelium : a versatile partner in vision*. J Cell Sci , **7**, 189-195.
5. **Boulton,M.** (1991) *Ageing of the retinal pigment epithelium*. in Osborne,N.N. and Chader,G.J. (eds): *Progress in retinal research. vol 11*, pp.125-151. Oxford, pergamon press.
6. **Braekevelt,C.R.** (1982) *Fine structure of the retinal epithelium, Bruch's membrane (complexus basalis) and choriocapillaris in the domestic ferret*. Acta anat , **113**, 117-127.
7. **Braekevelt,C.R.** (1983) *Fine structure of the choriocapillaris, Bruch's membrane and retinal epithelium in the sheep*. Anat Embryol , **166**, 415-425.
8. **Braekevelt,C.R.** (1984) *Retinal pigment epithelial fine structure in the nighthawk (Chordeiles minor)*. Ophthalmologica , **188**, 222-231.
9. **Braekevelt,C.R.** (1986a) *Fine structure of the choriocapillaris, Bruch's membrane and retinal epithelium of the cow*. Anat Histol Embryol ,**15**, 205-214.
10. **Braekevelt,C.R.** (1986b) *Retinal epithelial fine structure in the grey seal (Halichoerus grypus)*. Acta anat , **127**, 255-261.
11. **Braekevelt,C.R.** (1990) *Retinal epithelial fine structure in the domestic cat (Felis catus)*. Anat Histol Embryol , **19**, 58-66.
12. **Braekevelt,C.R.** (1992) *Retinal pigment epithelial fine structure in the red-tailed hawk (buteo jamaicensis)*. Anat Histol Embryol , **21**, 48-56.
13. **Braekevelt,C.R.** (1994a) *Retinal pigment epithelial fine structure in the american crow (corvus branchyrrhynchos)*. Anat Histol Embryol , **23**, 367-375.
14. **Braekevelt,C.R.** (1994b) *Retinal pigment epithelial fine structure in the great blue heron (Ardea herodias)* Anat Histol Embryol , **23**, 293-300.
15. **Cohen,A.I.** (1968) *New evidence supporting the linkage to extracellular space of outer segment saccules of frog cones but not rods*. J Cell Biol , **37**, 424-444.
16. **Enders,A.C.** (1962) *Observation on the fine structure of lutein cells*. J Cell Biol . **12**, 101-113.
17. **Enoch,J.M.** (1979) *Vertebrate receptor optics and orientation*. Documenta ophthal , **48**, 373-388.
18. **Guyer,D.R., A.P.Schachat, W.R.Green** (1989) *The choroid:structural consideration*. in Ryan,S.J. (ed.): *Retina. vol I*, pp.17-31. C.V. mosby company. St.Louis.
19. **Hewitt,A.T., R.Adler** (1989) *The retinal pigment epithelium and interphotoreceptor matrix: structure and specialized function*. in Ryan,S.J. (ed.): *Retina. vol I*, pp.57-64. C.V. mosby company. St.Louis.
20. **Karnovsky,M.J.** (1965) *A formaldehyd-glutaraldehyd fixative of high osmolality for use in electron microscopy*. J Cell Biol , **27**, 137-138.
21. **Kroll,A.J., R.Machemer** (1968) *Experimental retinal detachment in the owl monkey. III.Electron microscopy of retina and pigment epithelium*. Am J Ophthalmol , **66**, 410-427.
22. **Kuwabara,T.** (1979) *Species differences in the retinal pigment epithelium*. in Zinn,K.M. and Marmor,M.F. (eds.) : *The retinal pigment epithelium*. pp. 58-82. Harvard univ. press. Cambridge.

23. **Lesiuk,T.P., C.R. Braekevelt** (1983) *Fine structure of the canine tapetum lucidum.* J Anat , **136**, 157-164.
24. **Nakaizumi,Y.** (1964a) *The ultrastructure of Bruch's membrane. I.Human, monkey, rabbit, guinea pig and rat eyes.* Archs Ophthal , **72**, 380-387.
25. **Nakaizumi,Y.** (1964b) *The ultrastructure of Bruch's membrane. II.Eyes with a tapetum.* Archs Ophthal, **72**, 388-394.
26. **Reynolds,E.S.** (1963) *The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.* J Cell Biol , **17**, 208-212.
27. **Steinberg,R.H., V.Miller** (1973) *Aspects of electrolyte transport in frog pigment epithelium.* Exp Eye Res , **16**, 365-372.
28. **Young,R.W., D.Bok** (1970) *Autoradiographic studies on the metabolism of the retinal pigment epithelium.* Invest Ophthalmol , **9**, 524-536.