

Retinada Kök Hücre Nakli

Stem Cell Replacement Therapy in the Retina

Gökhan ÖZGE¹, Güngör SOBACI²

Derleme

Editorial Review

ÖZ

Son yıllarda, kök hücreler (KH), retinanın yasal körlükle sonuçlanan bazı kalıtsal ve edinsel hastalıkları için tedavi umudu olmuştur. Son 10 yılda yapılan deneysel çalışmalar, retinadaki ileri düzeyde özelleşmiş hücre kayıplarının oküler ve nonoküler SC kaynaklarınca yerine konması ve işlevlerinin sürdürülmesinin olası olduğunu göstermiştir. Mezenkimal kök hücreler, etik problemlerin daha az olması ve kolay elde edilebilmeleri ile bu çalışmalarda tercih edilmektedir. Kök hücre tedavisindeki gelişmelere uyumlu olarak biz de bu ümit veren tedavi konusunda gerekli donanımı sağlamak üzere deneysel çalışmalar yaptık. Bu derleme ile kliniğimizde yapılan çalışmalarla beraber bu alandaki son gelişmeleri paylaşmayı amaçladık.

Anahtar Kelimeler: Kök hücre, retina.

ABSTRACT

In recent years, stem cells (SC) have been pointed out to be the hope for some hereditary and acquired retinal disease with blinding outcome. Experimental studies in the last decade have shown that replacement of these highly specialized retinal cells with stem cells of nonocular or ocular origin could be feasible and effective. The fact that mesenchymal stem cells are easy to available and associated with less ethical problems make this type of SC treatment preferable for this purpose. Retinal SC treatment in the current is in its infancy; however, its potential to cure these otherwise blinding disease is huge.

In accordance with recent developments, we did experiments to acquire necessary skills of this promising treatment. In this review, we intent to share our experiences and update the SC treatment in the retina.

Key Words: Stem cells, retina.

Ret-Vit 2010;18:Özel Sayı:4-8

Geliş Tarihi : 19/07/2010

Kabul Tarihi : 30/07/2010

Received : July 19, 2010

Accepted : July 30, 2010

1- GATA Göz Hastalıkları A.D., Ankara, Op. Dr.
2- GATA Göz Hastalıkları A.D., Ankara, Prof. Dr.

1- M.D. GATA Military Hospital Department of Ophthalmology Ankara/TURKEY
ÖZGE G.,
2- M.D. Professor, GATA Military Hospital Department of Ophthalmology Ankara/TURKEY
SOBACI G., gsobaci@gata.edu.tr
Correspondence: M.D. Professor, Güngör SOBACI
GATA Military Hospital Department of Ophthalmology Ankara/TURKEY

GİRİŞ

Tüm canlılarda görme işlevi için iki önemli yapının sağlam olması gerekmektedir. Birincisi görüntüyü retina üzerine aktaran saydam optik ortamdır. İnsanda bu ortamlar, kornea, ön kamara, lens ve vitreus olup görüntüyü retina üzerine aktarmada ana görevi üstlenirler. İkincisi ise aktarılan bu görüntünün üzerine düştüğü retinadan başlayarak görme merkezinin bulunduğu oksipital kortekse kadar olan nöral yolaktır. Göz hastalıklarındaki kök hücre çalışmaları da bu iki ana unsur üzerinde yoğunlaşmaktadır. Günümüzde cerrahi tedavilerle de desteklenen saydam ortam devamlılığının sağlanması çalışmaları daha tatmin edici sonuçlar vermektedir. Bunun olası nedeni cerrahi tekniklerin daha kolay olması yanı sıra özellikle oküler yüzey hasarları ile mücadelede tanımlanmış ve etkinliği gösterilmiş olan limbal kök hücrelerin varlığıdır.¹

Bu nedenle de göz hastalıklarında yıllardan beri olduğu gibi güncel olarak da uygulanabilen yegane kök hücre tedavisi limbal-konjonktival kök hücre naklidir.^{2,3} Ancak ileri yaş yasal körlüklerine en sık çeşitli nedenlerle meydana gelen retina dejenerasyonları sebep olmaktadır. Örneğin yaşa bağlı makula dejenerasyonu oranı 50 yaş üstü en önemli körlük nedenidir. 66-74 yaşlarında %10 iken 75-85 yaşlarında %30'lara kadar artış göstermektedir.⁴ Dünya sağlık örgütü verilerine göre dünya üzerindeki körlüklerin %12.8'inin nedeni halen tedavisi üzerinde birçok yöntemin denendiği ancak hiçbirinden kesin sonuç alınamamış olan yaşa bağlı makula dejenerasyonudur.⁵ Dolayısıyla körlükle mücadelede son yıllarda özellikle nöral yolak üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Ön segmentteki kök hücre uygulamalarının başarısı yüz güldürmekteyken retina kaynaklı görme kayıpları ile mücadelede bu çalışmalar ancak deneysel düzeyde kalmaktadır.⁶⁻¹⁵ Bu çalışmalarda üzerinde çalışılan kök hücrelerin limbal kök hücre gibi bölgesel doku kaynaklı olmayışı, uygulama yöntemlerinin zorluğu başarı şansını düşüren etkenlerdir. Ancak yasal körlüklerin tüm toplumu etkileyen geniş çaplı bir sorun olması bu çalışmaları gelecek için önemli kılmakta ve yenilerinin yapılması için bilim insanlarını harekete geçirmektedir.

KÖK HÜCRE

Bilim dünyasında kök hücre çalışmalarında iki önemli dönüm noktası yaşanmıştır. Birincisi 1996 yılında Dolly'nin başarılı bir şekilde klonlanması, diğeri ise 1998 yılında insan embriyonik kök hücre tabakasının laboratuvar ortamında gösterilmesidir.¹⁶ Bu çalışmalar sonrasında özellikle yaşa bağlı dejeneratif hastalıkların tedavileri için umut belirmiştir.

Kök hücre kontrollü koşullarda kendini sonsuz yenileyebilme ve yeni hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneklerine sahip hücrelerdir. Tüm canlılar için hayat aslında tek bir kök hücre ile başlamaktadır. Döllenen hücre olan

zigottan ilk 1-3 günde bölünerek 1 hücreden 2, 2 hücreden 4 hücre oluşmaktadır. Bu evrede her bir hücreden ayrı ayrı organizma oluşabilme yeteneği vardır ve hücreler totipotent olarak tanımlanırlar. Devam eden günlerde (5-14 günlerde) yaklaşık 40 hücre tarafından oluşturulan iç ve dış tabaka hücreler meydana gelir. Dış tabaka plasentayı oluşturacakken iç tabaka hücreler 200 kadar farklı hücre meydana getirebilecek pluripotent hücrelerdir. Daha ileri dönemde fetal dokuda, kordon kanında bulunanlar ile yetişkin kök hücreler daha sınırlı farklılaşmaya sahiptirler ve multipotent olarak tanımlanırlar.

Elde edildiği yerlere göre kök hücreler ayrıca sınıflandırılabilirler.

1. Embriyonik Kök Hücreler (EKH)
2. Non-Embriyonik Kök Hücreler
 - Fetüs Kaynaklı
 - Gelişimini sürdüren dokularda bulunan ve kısmen farklılaşmış veya farklılaşmamış hücreler.
 - Belli zaman dilimi içinde ve belli bölgelerde (geçici ve göç eden) bulunurlar.
1. Nöral krista Kök Hücre (KH)
2. Pankreas adacık KH
3. Kemik iliği KH
4. Kordon kanı KH
5. Kordon stroması
6. Amnion sıvısı
 - Dokuya özgü KH (Yetişkin KH, Somatik KH)
 - Yetişkinin farklılaşmış dokularındaki farklılaşmamış hücreler.
 - Organizmanın yaşamı boyunca kendilerini kopyalayabilme özelliği (tartışılmaktadır).
1. Mezankimal Kök Hücreler (MKH).
2. Hematopoetik Kök Hücreler.

Özellikle etik problemler, elde etmede ve tedavi için kullanmada daha uygun olabilecek embriyonik kök hücre üzerindeki araştırmaları ve kullanım alanlarını kısıtlamaktadır. Bu sebepten dolayı dokuya özgü kök hücreler tıp alanında üzerinde yoğunlaşılacak kök hücre tipleri olmuştur.

Dokuya özgü KH kullanımı avantajları

- EKH'lerin aksine dokuya özgü KH kanseröz yapı oluşturmazlar.⁶
- Hazır kaynak olarak düşünülebilir.
- Bireylerden hızlıca alınabilir.
- Daha az etik probleme neden olur.

Dokuya özgü KH kullanımı dezavantajları

- Tanımlanmaları ve saflaştırılmaları zordur.
- Büyük miktarlarda çoğaltılmaları zordur (sınırlı büyüme kapasitesi).
- Zaman içinde potansiyellerini kaybedebilirler.
- Belli hücre tiplerine dönüşmezler.
- Alıcıda bağıışıklık yanıtı ortaya çıkarma potansiyeli yüksektir.

Güncel olarak kemik iliği kaynaklı hematopoetik kök hücreler bazı hematolojik hastalıklara karşı yaşam kurtaran tedavilerde kullanılmaktadırlar. Yine kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler diğer bazı dallarda olduğu gibi özellikle kolay elde edilebilir olması nedeniyle göz hastalıkları araştırmalarında da ön plana çıkmaya başlamıştır. Mezenkimal kök hücreler erişkinde hazır kök hücre kaynağıdır. İşlevsel hücre tiplerine farklılaşabildikleri gösterilmiştir.^{7,8} Koloni oluşturma, kendilerini yenileme yetenekleri yanı sıra CD44, Stro-1, CD29, CD105 gibi yüzey belirteçleri sayesinde izole edilebilmektedirler. Ancak tüm bu avantajları yanı sıra 50-100 hücre döngüsü gibi kısa süreli yaşam süreleri dezavantajlarıdır.

Hayvan çalışmalarında mezenkimal kök hücrelerin nöral transdiferansiyasyonu⁷, fotoreseptörlere dönüşümü⁸, postnatal vaskülogeneziste rol aldıkları^{17,18} gösterilmiştir.

Kemik iliği mezenkimal hücrelerin bazı hücre tedavilerindeki yeri gösterilmiştir. Mezenkimal kök hücreler göz alanında olmasa da artık insan çalışmalarında kullanılmaktadır.¹⁹⁻²²

GÖZDE KÖK HÜCRE KAYNAKLARI

Göz ön segmentinde bulunan konjonktiva, kornea stroma ve endoteli ile limbal kök hücrelerin varlığı bilinmektedir. Özellikle limbal kök hücreler aracılığı ile ön segment hasarlarının tedavisi insanlar üzerinde uygulanmaktadır.¹⁻³ Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar gözdeki kök hücrelerin bunlarla sınırlı olmadığını göstermiştir. Siliyer cisim, iris pigment epiteli, Müller hücreleri, retina pigment epitelinde de uygun ortamlarda farklılaşma gösterebilen kök hücrelerin var olduğu kanıtlanmıştır.⁹ Ancak, bu kök hücre kaynakları üzerindeki çalışmalar bu kök hücrelerin elde edilebilirliğinin kısıtlı olması nedeniyle insan üzerinde denenebilir yöntemler olmaktan halen uzaktır.

RETİNA KÖK HÜCRE ÇALIŞMALARI

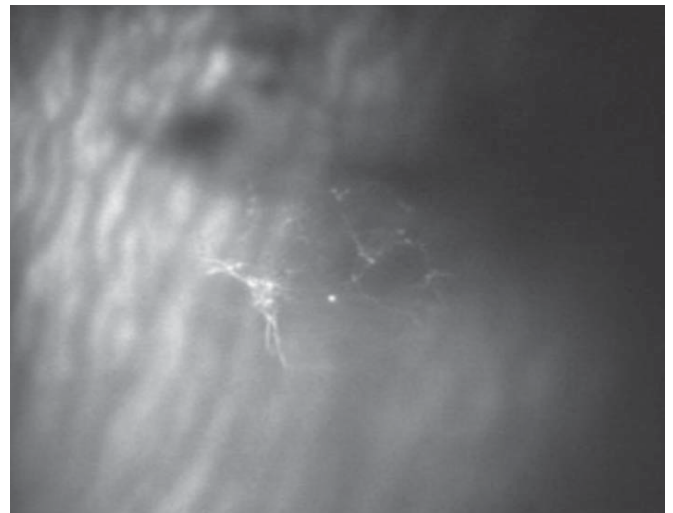
1990'lı yılların sonlarından itibaren, özellikle de 2000'li yıllarda kök hücre ve gen tedavisi konusundaki gelişmelerle beraber tüm tıp dallarında olduğu gibi gözde de tedavisi mümkün olmayan hastalıklar olarak düşünülen ve sınıflandırılan hastalıklar açısından umut ışığı



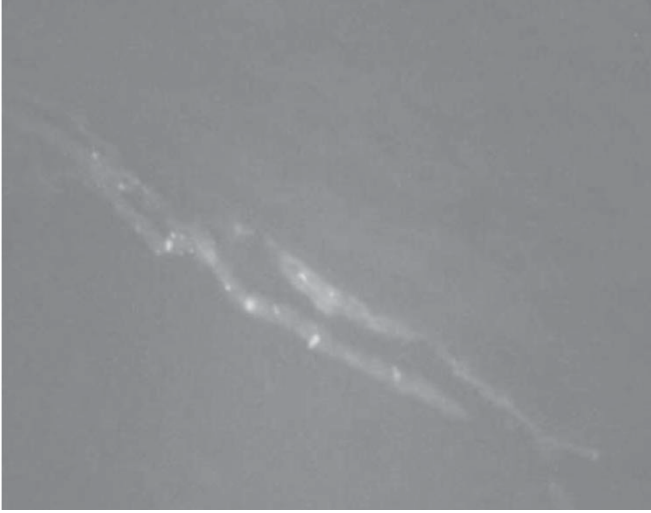
Resim 1*: Yeşil floresan protein ile işaretlenmiş kemik iliği mezenkimal kök hücre.

belirmiştir. Kliniği iyi tanımlanmış olan retinanın dış kat heredodejenerasyonları için sağlıklı genin replasmanı ve/veya restorasyonu için gen tedavisi ve kök hücre tedavileri gündemdedir. Ayrıca ilerleyen yaş ile ortaya çıkan çeşitli dejeneratif hastalıklar için de kök hücre aracılığı ile yerine koyma tedavisi bir seçenek olabilir. Ancak ileri derecede özelleşmiş olan retinal hücrelerin bu yöntemlerle etkinliğini devam ettirebilmesi günümüzde mümkün olmamakla beraber gelecek için ciddi altyapı oluşturacak deneysel çalışmalar mevcuttur.

Göz dokularından elde edilen kök hücreler üzerinde yapılan çalışmalarda ileri düzey farklılaşmalar gösterilmiştir. Siliyer cisimden, müller glia hücrelerden, iristen, retinadan ve retina pigment epitelinden elde edilen kök hücrelerin çeşitli büyüme faktörleri bulunan ortamlarda retinal nöron, retinal progenitör hücre, fotoreseptör, astrosit ve oligodendrosit gibi ileri farklılaşmalar gösterebildiklerine dair çalışmalar mevcuttur.⁹ Ancak bu kaynaklardan tedavi maksatlı kök hücre kaynağı yaratılmasının zor olduğu açıktır. Etik problemlerin yaşandığı embriyonik kök hücre çalışmalarında da yine uygun ortamlar



Resim 2*: İntravitreal YFP-KH, 1. gün.



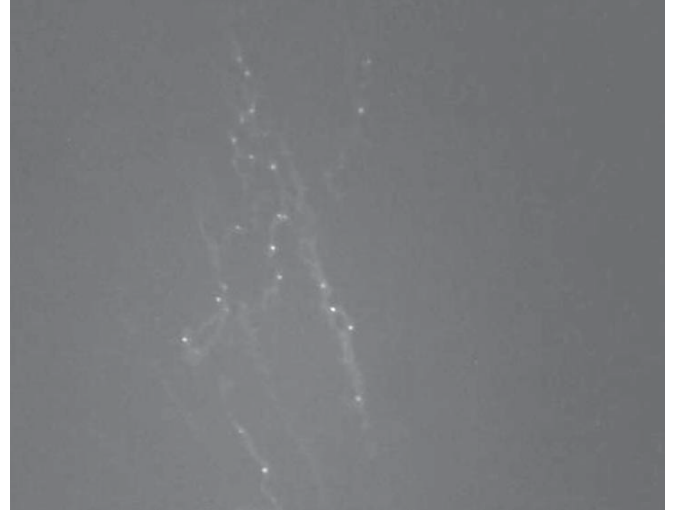
Resim 3*: YFP-KH'lerin 5. günde İntraretinal immunfloresan görüntüsü.

sağlandığında retinal nöron ve ileri farklılaşmaların gözlemlendiği rapor edilmiştir.⁹

Son yıllarda daha kolay elde edilebilir olduğu ve etik problemlerin daha az yaşandığı kemik iliği mezenkimal kök hücreler üzerine yoğunlaşmıştır. Kicic ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada subretinal aralığa enjekte edilmiş olan kemik iliği mezenkimal kök hücrelerin fotoreseptörlere ait hücre işaretlerini taşıyan hücrelere farklılaştığını göstermişlerdir.⁸ Ayrıca retinanın dış kat heredodejenerasyonları için intravitreal kök hücre aracılı tedavi ile konuların korunmasının başarılı olabileceği bildirilmiştir.¹⁰ Kliniğimizde yapılan çalışmada sodyum iyodat ile deneysel olarak oluşturulmuş tavşan tapetoretinal dejenerasyon modelinde allojenik kemik iliği mezenkimal kök hücrelerin intravitreal uygulanabilirliğini göstermiştik.¹¹ Takiplerde intravitreal uygulanan allojenik kemik iliği kök hücrelerinin alıcı gözde reaksiyon oluşturmadığı, elektrofizyolojik olarak takiplerinde uygulama sonrasında kısmi iyileşme olduğu gözlemlendi.

Kök hücrelerin kısa sürede fonksiyonel olamayacakları açık olmakla beraber ortama kök hücre aracılığı ile salındığı düşünülen trofik faktörlerin tedavi edici etkilerinin de katkısı olabilir yorumu yapılmıştır. Bu çalışmamızın devamı niteliğindeki çalışmamızda ise yeşil floresan protein ile işaretlenmiş kemik iliği kök hücreler (Resim 1) yine intravitreal uygulanmış, ve işaretlenen bu kök hücrelerin flöressein anjiyografi cihazı yardımıyla izleminde ilk günlerde vitreus içinde (Resim 2), takiplerinde ise immunfloresan mikroskopi yöntemi ile retina katmanları arasında yerleşim gösterdiği izlenmişti (Resim 3,4).¹²

Gong ve ark.'da ratlarda sodyum iyodat ile tapetoretinal distrofi modeli oluşturmuşlar ve subretinal uyguladıkları kemik iliği mezenkimal kök hücrelerin retina pigment epiteli, gliyal ve fotoreseptör seri hücrelerine farklılaştığını göstermişlerdir.¹³ Li ve ark. sunulan çalışmada ratlarda iskemi/reperfüzyon ile oluşturulan retinal hasar modelinde intravitreal uygulanan kemik iliği me-



Resim 4*: YFP-KH'lerin 10. günde İntraretinal immunfloresan görüntüsü.

zenkimal kök hücrelerin gangliyon hücre tabakalarına kadar göçtüğü, 2-4 hafta sonra bu hücrelerin nöronlara özgü nörofilamanlar ve nörotrofik faktörler üretiminde buldukları gözlenmiş ancak sağlam gözlerde hücrelerin sadece vitreus boşluğunda kaldığı rapor edilmiştir.¹⁴ Castenheira ve ark.'da yine ratlarda laser ile hasara uğratılan retina hasar modeline intravitreal kemik iliği mezenkimal kök hücre uygulamışlar ve 8 haftaya kadar subretinal mesafe dahil tüm retina katmanında bu hücrelerin varlığını sürdürdüklerini göstermişlerdir. Ayrıca bu hücrelerin nöron benzeri hücrelere farklılaştıklarını hücre işaretçileri aracılığı ile kanıtlamışlardır.¹⁵

Kaynakçada kemik iliği mezenkimal kök hücreler ile yapılmış çalışmalar mevcut olup intravitreal ve subretinal uygulama çeşitlilikleri göze çarpmaktadır. Hedef dokuya ulaşma avantajına rağmen subretinal uygulamanın teknik olarak zorluğu çalışmalarda intravitreal uygulama yönteminin seçilmesine neden olmaktadır.

Süregelen deneysel çalışmalara karşın hiçbir kök hücre çalışması insan retina hastalıkları üzerinde denenmemiştir. Ancak, yapılan bu çalışmalarla artan bilgi birikiminin klinik çalışmaların önünü açacağı da bir gerçektir.

SONUÇ

Kök hücre aracılı yöntemler ile istenilen hücre tipinin eksikliği duyulan alanda yeniden kazanılması mümkündür. Hangi tip rahatsızlıklarda hangi tip kök hücrelerin, kimlere nasıl uygulanacakları konusunda yapılacak çalışmalarla katedilmesi gereken uzun bir yolumuz olduğu açıktır. Ancak, diğer bazı tıp dallarında alınan başarılı sonuçlar, göz hastalıkları alanında da bu başarılı sonuçların er geç alınabileceği umudunu canlı tutmaktadır. Körlükle mücadelede alınacak en ufak başarının toplum sağlığı açısından önemi düşünüldüğünde kök hücre çalışmalarının bilim insanları tarafından olduğu kadar

toplumun tüm kesimleri, özellikle finansal ve politik destek verebilecekler tarafından önemsenmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

* (Özge G ve ark.: Tavşan Tapetoretinal Dejenerasyon Modelinde İntravitreal Uygulanan Kemik İliği Mezenkimal Kök Hücre Aracılı Gen Tedavisi İçin Canlı ve Cansız Ortamda Kanıt: Yeşil Flöresan Protein (YFP). T Oft Gaz 2008; 38.'den alınmıştır).

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Yacyioğlu RA, Akova YA.: Limbal Kök Hücre Transplantasyonu. T Klin Oftalmol. 2004;13:104-108.
2. Guler M, Sobaci G, Ilker S, et al.: Limbal-conjunctival autograft transplantation in cases with recurrent pterygium. Acta Ophthalmol (Copenh). 1994;72:721-726.
3. Hürmeriç V, Mumcuoğlu T, Erdurman FC, ve ark.: Kolonya Toksikitesine Bağlı Gelişen Total Limbal Kök Hücre Yetmezliğinde Konjunktival Limbal Ototgreft Uygulaması. T Oft Gaz. 2009;39:324-328.
4. Congdon N, O'Colmain B, Klaver CC, et al.: Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. Arch Ophthalmol. 2004;122:477-485.
5. <http://www.who.int/blindness/causes/en/index.html>.
6. Hara A, Niwa M, Kunisada T, et al.: Embryonic stem cells are capable of generating a neuronal network in the adult mouse retina. Brain Res. 2004;999:216-221.
7. Zhang J, Shan Q, Ma P, et al.: Observation of bone marrow mesenchymal stem cells after subretinally transplanted into laser-injured rat retina. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2003;25:83:1993-1998.
8. Kicic A, Shen WY, Wilson AS, et al.: Differentiation of marrow stromal cells into photoreceptors in the rat eye. J Neurosci. 2003;23:7742-7749.
9. Bi YY, Feng DF, Pan DC.: Stem/progenitor cells: a potential source of retina-specific cells for retinal repair. Neurosci Res. 2009; 65:215-221.
10. Smith LE.: Bone marrow-derived stem cells preserve cone vision in retinitis pigmentosa. J Clin Invest. 2004;114:755-757.
11. Özge G, Sobacı G, Avcu F, ve ark.: Tavşan Tapetoretinal Dejenerasyon Modelinde Kemik İliği Mezenkimal Kök Hücre İntravitreal İmplantasyonunun Uygulanabilirliğinin Araştırılması. T Oft Gaz. 2008;38:310-319.
12. Özge G, Gungor R, Sobacı G, ve ark.: Tavşan Tapetoretinal Dejenerasyon Modelinde İntravitreal Uygulanan Kemik İliği Mezenkimal Kök Hücre Aracılı Gen Tedavisi İçin Canlı ve Cansız Ortamda Kanıt: Yeşil Flöresan Protein (YFP). T Oft Gaz. 2008;38.
13. Gong L, Wu Q, Song B, ve ark.: Differentiation of rat mesenchymal stem cells transplanted into the subretinal space of sodium iodate-injected rats. Clin Experiment Ophthalmol 2008; 36:666-671.
14. Li N, Li XR, Yuan JQ.: Effects of bone-marrow mesenchymal stem cells transplanted into vitreous cavity of rat injured by ischemia/reperfusion. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2009;247:503-514.
15. Castanheira P, Torquetti L, Nehemy MB, et al.: Retinal incorporation and differentiation of mesenchymal stem cells intravitreally injected in the injured retina of rats. Arq Bras Oftalmol. 2008; 71:644-650.
16. Ho AD., Wagner W.: Clinical Potentials of Stem Cells: Hype or Hypo? In Anthony Ho, Ronald Hoffman, Esmail D. Zanjani: Stem cell transplantation: biology, processing and therapy. 2006;3.
17. Espinosa-Heidmann DG, Caicedo A, Hernandez EP, et al.: Bone marrow-derived progenitor cells contribute to experimental choroidal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003; 44:4914-4919.
18. Sengupta N, Caballero S, Mames RN, et al.: The role of adult bone marrow-derived stem cells in choroidal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44:4908-4913.
19. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, et al.: Autologous mesenchymal stem cells: clinical applications in amyotrophic lateral sclerosis. Neurol Res. 2006;28:523-526.
20. Ringden O, Uzunel M, Rasmusson I, et al.: Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. Transplantation. 2006;81:1390-1397.
21. Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D, et al.: A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. Dis Colon Rectum. 2005; 48:1416-1423.
22. Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, et al.: Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. Nat Med. 1999; 5:309-313.