

Tavflan Tapetoretinal Dejenerasyon Modelinde Kemik İligi Mezenkimal Kök Hücre İntravitreal İmplantasyonunun Uygulanabilirliğinin Araştırılması♦

Gökhan Özge (*), Güngör Sobacı (*), Ferit Avcu (**), Mükerrerem Safalo (***), Kamuran Pamuk (****), Ali Ugur Ural (**)

ÖZET

Amaç: Tavflanlarda tapetoretinal dejenerasyon modelinde kemik iligi mezenkimal kök hücre (MKH) intravitreal implantasyonunun uygulanabilirliğini araştırmak.

Yöntem: GATA Araştırma Merkezi'nde erişkin bir Yeni Zelanda albino tavflanın femur proksimalinden alınan kemik iligi stromal hücrelerden in-vitro koşullarda MKH diferansiye edildi ve 4. pasajdaki hücreler kullanıldı. Alt erişkin pigmentli tavflana intravenöz 40 mg/kg sodyum iyodat enjeksiyonu uygulandı (çalışma grubu). Hemen sonrasında kontrol olarak seçilen 1 erişkin pigmentli tavflan ile çalışma grubundaki 6 tavflanın sağ gözlerine 2.5X10⁵ (5) hücre/0.1 ml, sol gözlerine 0.1 ml dengeli tuz solüsyonu (BSS) intravitreal enjeksiyonu uygulandı. Tavflanlarda 1, 5, 10, 20 ve 30.günlerde oftalmoskopik, anjiyografik, OKT (Optikal Koherens Tomography), ERG (Elektroretinografi) ve histopatolojik inceleme yapıldı.

Bulgular: Birinci günde çalışma grubundaki tavflanlarda anormal ERG b değerleri ve çalışma grubundaki 1 tavflanın histopatolojik olarak incelenen her iki gözünde retina iç katlar ile RPE'de (Retina Pigment Epiteli) minimal düzensizlik ve ödem saptandı. Beşinci günde ERG'de silinme, OKT'de retinada kalınlaşma ve 1 tavflandaki histopatolojik incelemede retina iç katlar ve fotoreseptör tabakada düzensizlik saptandı. Onuncu günde FFA'da (Fundus Floresin Anjiyografi) lokalize hiperflöresan ve hipoflöresan odaklar, ERG'de silinme ile 1 tavflandaki histopatolojik incelemede solda daha belirgin olmak üzere RPE'den koroide uzanan belirgin pigment dispersiyonu ve fotoreseptör katmanında düzensizlik saptandı. Yirminci günde oftalmoskopide her iki gözde pigmenter dejenerasyon bulgular ile birlikte sağ gözde daha belirgin olarak kon-ERG genliklerinde artış saptandı. ERG'de çalışma grubu sağ gözlerinde soldakine kıyasla genlik artışının 30.günde devam ettiği saptandı. Çalışma gözlerinden birinde oluşan MKH kökenli prepapiller kitle gözlemlendi. Kontrol grubunun sağ gözlerinde klinik ve histopatolojik enflamasyon bulgusu saptanmadı.

(*) Gata Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Ankara

(**) Gata Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

(***) Gata Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

(****) Gata Tıp Fakültesi, Araştırma Merkezi, Ankara

♦ Türk Oftalmoloji Derneği 40.Ulusal Oftalmoloji Kongresi'nde serbest bildiri olarak sunulmuş ve bilimsel araştırma ödülü almıştır.

Yazışma adresi: Asistan Gökhan Özge, Gata Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Etlik - Ankara

E-posta: dr_gozge@yahoo.com

Mecmuaya Geliş Tarihi: 24.03.2008

Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 29.06.2008

Kabul Tarihi: 02.07.2008

Sonuçlar: Intravitreal allojenik kök hücre implantasyonu retina dejenerasyonlu gözlerde uygulanabilir bir yöntem olarak görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: İntravitreale implantasyon, mezenkimal kök hücre, tavflan, tapetoretinal dejenerasyon

SUMMARY

A Study on Feasibility of Intravitreal Implantation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in the Rabbit Tapetoretinal Degeneration Model

Purpose: To investigate feasibility of intravitreal implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSC) in the rabbit tapetoretinal degeneration model.

Methods: The fourth passage MSC harvested from proximal femur of an adult New Zealand albino rabbit, and differentiated from stromal cells under in-vitro conditions, were used at GATA Medical Research Center. Intravenous injection of Sodium iodate, 40 mg/kg, was applied to 6 adult pigmented rabbits (study group). Subsequently, the MSC (2.5×10^5) cells/0.1ml were injected intravitreally in the right eyes of these animals and 1 additional pigmented rabbit (control); the left eyes were injected BSS. Ophthalmoscopic, fluorescein angiographic, OCT, ERG and histopathologic examinations were performed 1, 5, 10, 20, and 30 days after intravitreal injection.

Results: On the 1st. day examination, abnormal ERG parameters in the study group, and minimal irregularity and edema of the inner retinal layers and the RPE in both eyes of 1 rabbit examined histopathologically, were observed. On the 5th day, loss of b waves in ERG, retinal thickening in OCT, and irregularity of the inner retinal and photoreceptor layers in histopathologic examination of 1 rabbit in the study group were observed. On the 10th day, hyperfluorescent and hypofluorescent spots in the FA, loss of ERG b wave in the study group, and irregularity of photoreceptor layer with remarkable pigmentary dispersion extending from the RPE to the Choroid, more evident in the left eye of histopathologically examined one were noted. On the 20th day; apparent pigmentary degeneration in both eyes associated with increased scotopic-ERG amplitudes, more evident in the right eyes, were found. Higher b-wave amplitude in the right eye maintained also on the 30th day examination. No clinical or histological inflammation sign was observed in the right eye of the control rabbit.

Conclusions: Intravitreal allogenic stem cell implantation in eyes with tapetoretinal degeneration seems to be feasible method

Key Words: intravitreal implantation, mesenchymal stem cell, rabbit, tapetoretinal degeneration

GİRİŞ

Retinanın hereditör ve edinsel kökenli dejeneratif hastalıkları tüm toplumlarda önde gelen körlük nedenidir. Günümüzde bu hastalıkların kökten tedavileri konusunda somut gelişmeler izlenmektedir. Bunlar arasında kök hücre araştırmaları tedavi arayışları önde gelmektedir. Bu hücrelerin hemen her organda buldukları ve doku yenilenmesinde görev aldıkları bilinmektedir. Multipotent olan bu hücre grubunun ortamdaki uygun uyarılar ile pek çok farklı hücre tipine farklılaşabileceği gösterilmiştir (1,2). Gözdeki kök hücre miktarının azlığı ve teminindeki zorluklar bunların tedavi amaçlı uygulamaların zorlaştırılmaktadır. Mezenkimal kök hücrelerin (MKH) kas, cilt ve nöron hücrelerine dönüşülebildikleri gösterilmiştir (1). Ayrıca koroid neovasküler membran (KNM) gelişiminde kemik iliği kökenli kök hücrelerin

katkıda bulunduğu gösterilmiştir (3). İnsanda bu hücrelerin temini kolaydır ve otojenik ya da allojenik uygulamaları klinik uygulamalar da vardır. Bu hücreler, retina dejenerasyon ve distrofilerinin tedavisinde bir umut kaynağı olabilir.

Çalışmamızda, gelecek klinik uygulamalara esas olmak üzere tavflan tapetoretinal dejenerasyon modelinde kemik iliği mezankimal kök hücre (Kİ-MKH) intravitreal implantasyonunun uygulanabilirliği araştırılmaktadır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Nisan-Mayıs 2006 tarihlerinde Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışma için GATA Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu'nun onayı alındı.

GATA Araştırma Merkezi'nde erifkin bir Yeni Ze-
landa albino tavflanın proksimal femurundan alınan kemik iliği stromal hücrelerden in-vitro kök hücrelerde kemik iliği mezenkimal kök hücreler (K<-MKH) diferansiye edildi ve 4. pasajdaki hücreler kullanıldı. Altı erifkin (3-3.5 kg) pigmentli tavflana kulaktan intravenöz yolla, dengeli tuz solusyonundaki (FTS) %1'lik sodyum iyodat (NaIO(3), Sigma, St Louis, MO) solusyonundan 40 mg/kg enjeksiyon uygulandı (çalışma grubu). Hemen sonrasında bu tavflanlar yanışra 1 erifkin pigmentli tavflanın (kontrol tavflan) sağ gözlerine 2.5X10 (5) hücre/0.1 ml, sol gözlerine 0.1 ml FTS uygulandı. Bunun için %0.5 tropicamide (Tropamid®, Bilim, İstanbul, Türkiye) ile pupiller midriyazis ve Betadine %10 solusyon ile konjunktival sterilizasyon sağlandı. 30 G iğne ile limbustan 1.5 mm geriden ve üst temporalden kontrollü olarak intravitreal enjeksiyon uygulandı. Bazal değerleri belirlemek üzere tedavi öncesinde ve tedavi sonrası 1., 5., 10., 20. ve 30.günlerde oftalmoskopik, anjiyografik, OKT (Optikal Koherens Tomografi), ERG (Elektroretinografi) ve histopatoloji incelemeleri yapıldı. Bu maksatla kliniğimizde mevcut görüntüleme sistemleri (Zeiss HRA™, Zeiss Stratus OCT™, Roland Elektrodiagnostik ünit™) kullanıldı. Histopatolojik inceleme için intrakardiyak embolizasyon ile feda edilen tavflan gözlerinde enükleasyonu takiben gözler fiksasyon için tamponlu

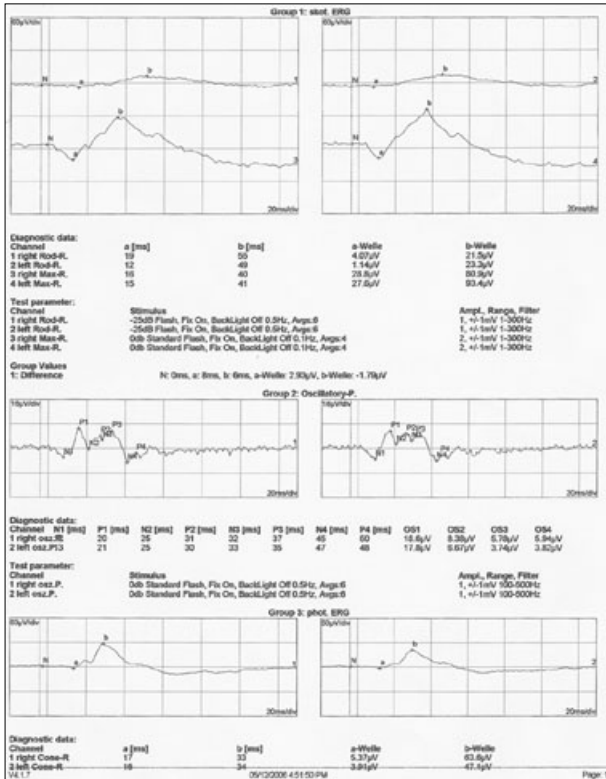
%4'lük Paraformaldehit solusyonu içine konuldu. Fiksasyonda 2 gün bekleyen gözlerin gözdüş bag ve kas dokular› yan› şra Ora Serrata önündeki dokular› makroskopik olarak ayklandı ve bu dokulardan hazırlanan parafin bloklarından 5 mikronluk kesitler alındı. Hemotoksilen & Eozin ile boyama sonrası ışık mikroskopu ile retina tabakasının katmanlar› incelendi. Çalışma grubundaki tavflanlar ile kontrol tavflanın sağ ve sol gözlerindeki bulgular grup içi ve gruplar aras› degifliklikler bakımından karşılaştırıldı.

BULGULAR

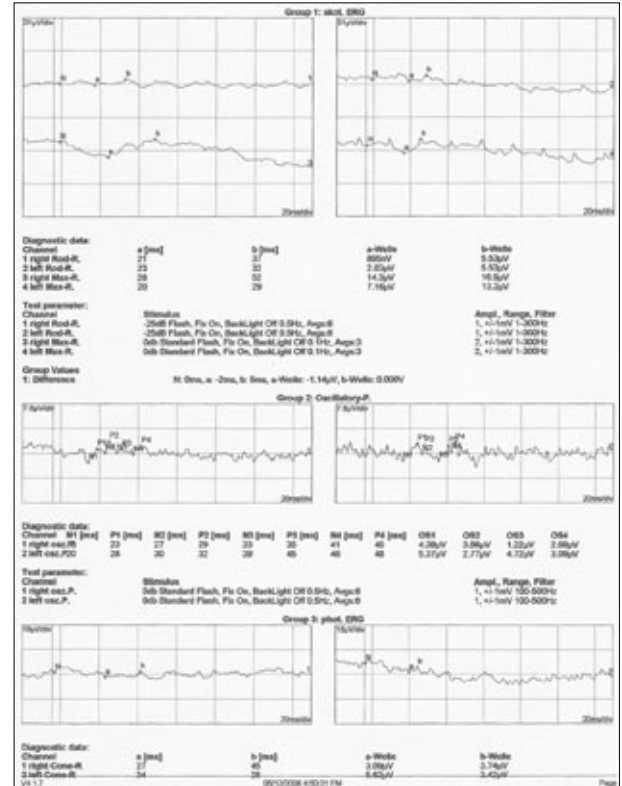
Birinci günde kontrol ve çalışma grubundaki ERG kayıtları fiakil'de (fiakil 1a: kontrol ERG; 1b: çalışma grubu ERG) izlenmektedir. Çalışma grubunda ERG b dalga genliklerinde belirgin azalma izlenmektedir. Histopatolojik incelemede, plasebo uygulanan gözden alınan normal retina kesitine (fiakil 2a) kıyasla çalışma grubundaki bir tavflanın her iki gözündeki kesitlerde benzer tarzda retina iç katlar›, iç nükleer ile RPE (Retina Pigment Epiteli) katmanında gözlenen düzensizlik ve ödem dikkati çekti (fiakil 2b).

Befinci günde skotopik, fotopik ve fliker ERG'de b dalgas› genlik kayıplar› gözlemlendi (fiakil 3a ve b).

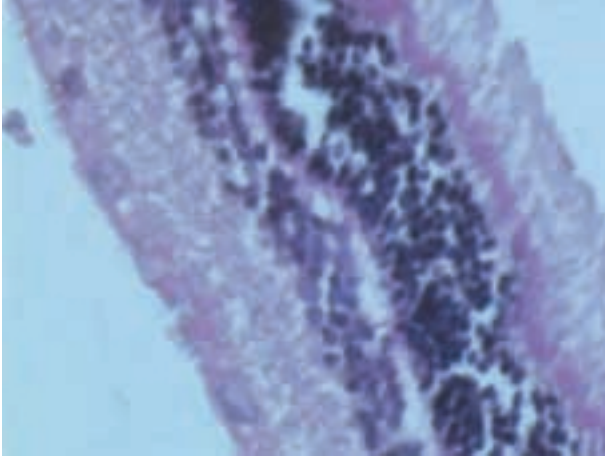
fiakil 1a.



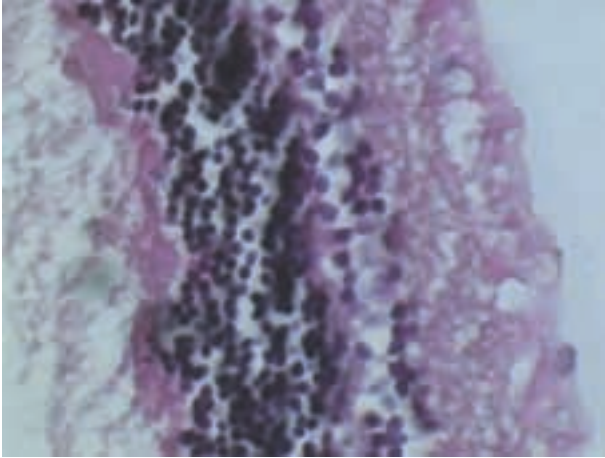
fiakil 1b.



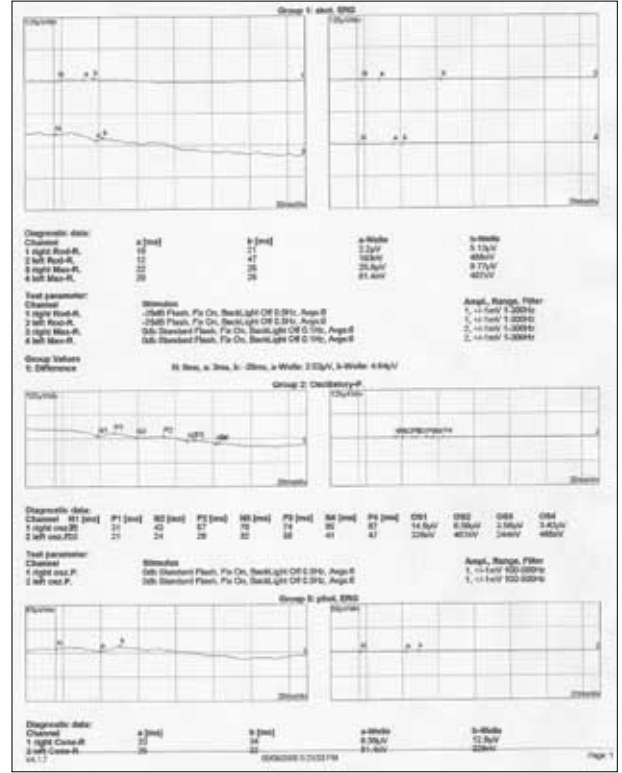
fiakil 2a.



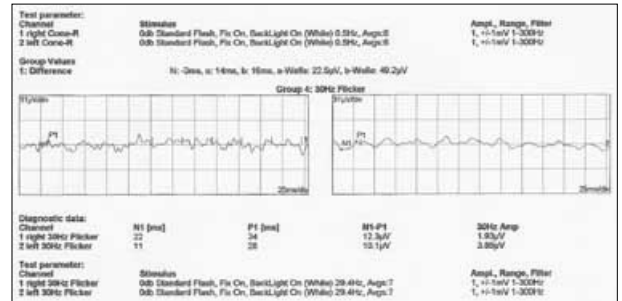
fiakil 2b.



fiakil 3a.



fiakil 3b.



OKT'de baflangçtakinden farklı olarak her iki gözde RPE incilmesi ve retina kalınlık artımı (fiakil 4a: kontrol tavflandaki ortalama kalınlık:135 mikron; 4b:çalışma grubu ortalama kalınlık 161 mikron) saptandı.

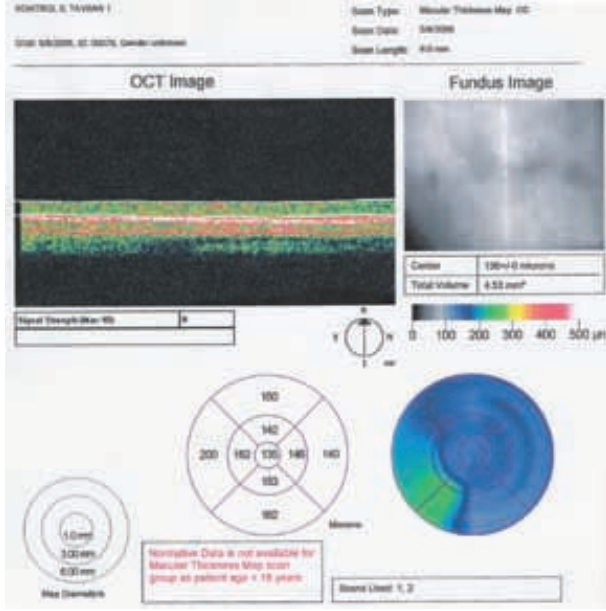
Onuncu günde çalışma grubundaki bir tavflanda histopatolojik incelemede sağ gözde (K-MKH implantasyonlu) ve sol gözde (kontrol göz) retina iç katları, iç nükleer ve fotoreseptör tabakada düzensizlik ve ödem ile RPE ve koroidde dezorganizasyon ve pigmentasyon artımı saptandı (fiakil 5a ve 5b).

Yirminci günde, 10. günden itibaren FFA'da (Fundus Floresin Anjiyografi) erken ve geç evrede izlenen lokalize hiperflöresan ve hipoflöresan odaklar belirginleşti (fiakil 6). 20. günden itibaren oftalmoskopide her iki gözde yaygın pigmenter dejenerasyon bulguları ile birlikte FFA'da tipik benekli tapetoretinal dejenerasyon

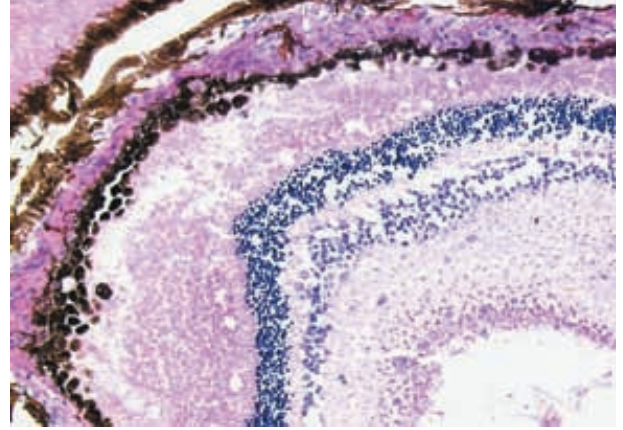
bulgusu yerleşti (fiakil 7a ve b); bu dönemde sağ gözde, soldaki gençlere kıyasla fotopik ve skotopik-ERG yanıtlarında artış saptandı (fiakil 8a ve b).

30. günde bir tavflanda optik sinir başından vitreusa uzanan iç limitan membranın düzenini bozmayan, iğsi ve oval küçük hücrelerden oluşan K-MKH olufları fibrovasküler yapı saptandı (fiakil 9). Çalışma ve kontrol grubu tavflan sağ gözlerinde klinik inceleme (fiakil 10: kırmızıdan yoksun şifka fundus) ve histopatolojik olarak (fiakil 11) vitreusta ve retinada enflamasyon gözlenmedi. ERG'de çalışma grubu sağ gözlerinde soldakine kıyasla kayda değer elektrik potansiyel artışı saptandı (fiakil 12a ve b).

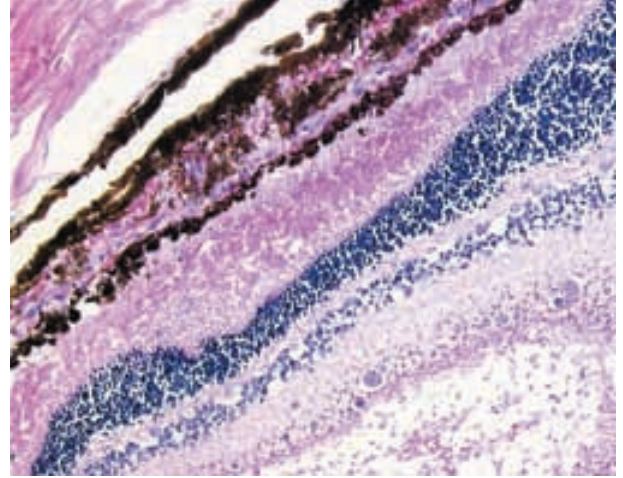
fiekil 4a.



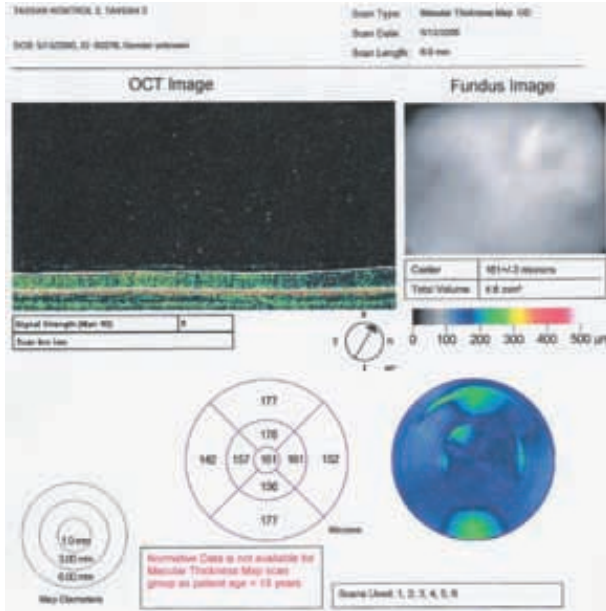
fiekil 5a.



fiekil 5b.



fiekil 4b.



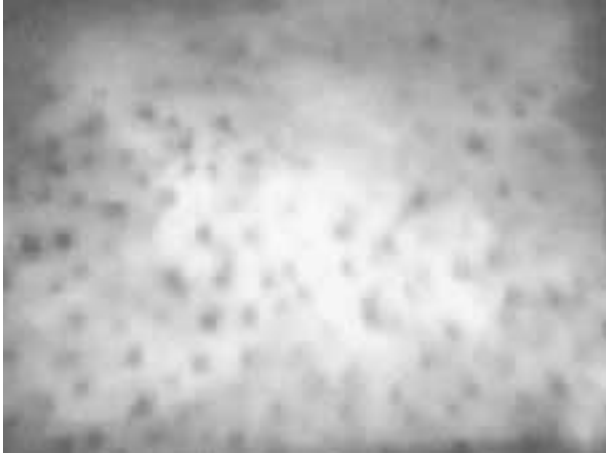
TARTIŞMA

Kemik iliği kök hücrelerin retina nöron hücrelerine farklılaştıkları gösterilmiştir (4). Amfibiandakinin aksine insan retina nöral hücreleri apoptoza uğrayıp kaybolduğunda kaypların rejenerasyonla karşılanamadığı bilinmekteydi. Son yıllarda insanda retinal nöral kök hücreleri (RNKH) ve bunlara öncülük eden embriyonik

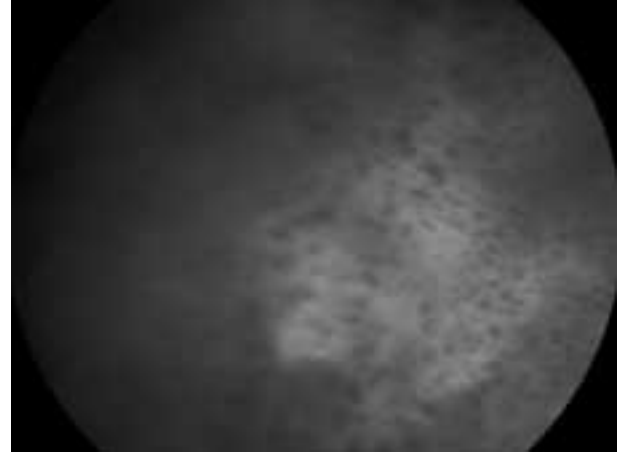
kök hücreler (EKH), nöral kök hücreler (NKH) ve retinal kök hücreler (RKH) gösterilmiştir (5,6). Ancak bu kök hücre gruplarının tedavi amaçlı uygulamalarında ciddi sorunlar gözlenmesi olasılığı vardır. EKH'de MHC (Major Histocompatibility Complex) sisteminin display etkisi yan sıra teratom geliştirebilme riski vardır; NKH'nin ise Hipokampus'tan temini zordur. Şıklıkla Korpus Siliare'de buldukları gösterilmifi olan RNKH'nin ise sayıları oldukça sınırlı olup temini zordur. Bu durumda uygulanması kolay ve halen hematoloji klinik uygulamalarında etkinliği kanıtlanmamış olan kemik iliği kökenli kök hücreler en uygun tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir.

Kemik iliği kök hücrelerin kemirici ve insanlarda hemopoetik kök hücreler yan sıra mezenkimal kökenli kas, cilt ve nöron hücrelerine dönüştüğü gösterilmiştir (1). Koroid neovasküler membran (KNM) gelişiminde K<-MKH'lerin katkısının gösterilmesi dikkat çe-

fiakil 6a.



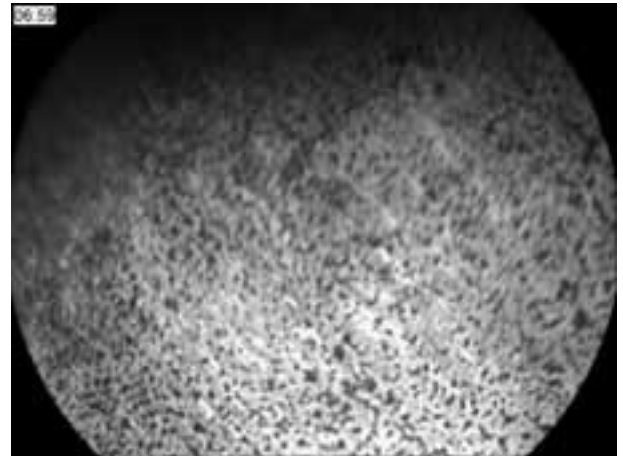
fiakil 7a.



fiakil 6b.



fiakil 7b.

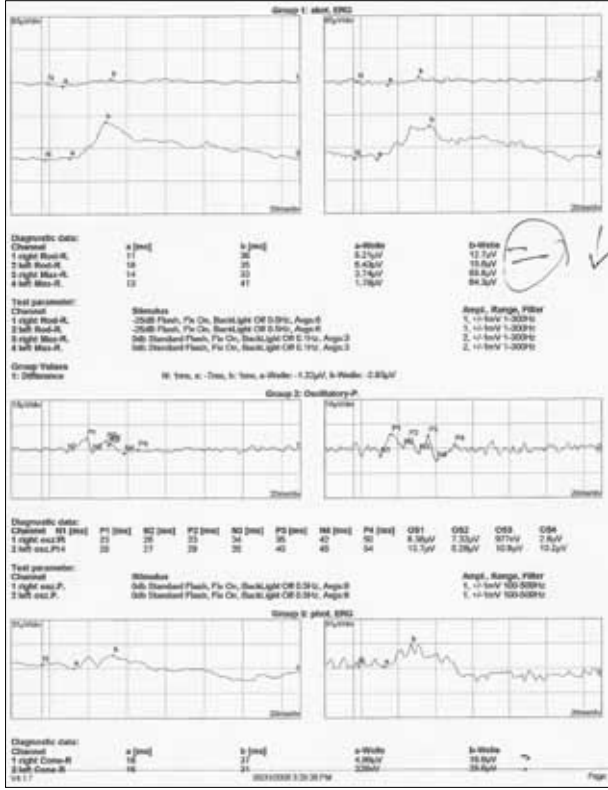


kicidir (3). Japon araştırmacılar, retina yaralanmal› s›-
çanlarda K‹-MKH'lerin yaralanmal› alana lokalizasyonu
ile birlikte retina sinir hücresine dönüflümü göstermifl-
lerdir (7). Aynı araştırmacı grup B6 transjenik fare göz-
lerine retina fotokoagulasyonu ile birlikte intravitreal
kök hücre transplantasyonu uyguladıklarında bunların
retinal nöron hücrelerine dönüftükleri ve bu transforme
hücrelerin 1 yıl süreyle iflevselliğinin devam ettiğini
göstermiflerdir. Fotokoagulasyon ile uyarılmı yapılmıyan
kontrol gözlerde ise nöronal hücrelere dönüflüm daha kı-
sa süreli ve daha az sayda olmuftur (8).

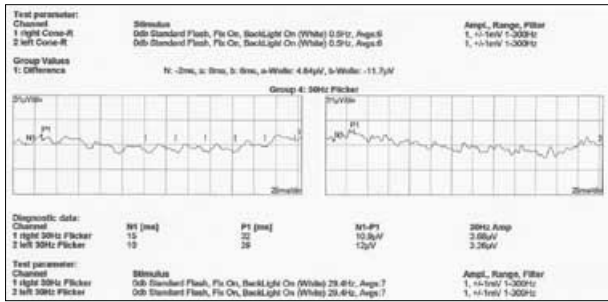
Kemiricilerde sodyum iyodat ile tapetoretinal deje-
nerasyon gelişimi, uzun yıllar içinde oldukça iyi tanımlan-
mış örnek bir modeldir. Enzmann ve arkadaşları B6
transjenik fare sujunda yaptıkları özgün çalışma ile
RPE'nin anatomik değişikliklerine eşlik eden iflevsel

değişikliklerin uygulanan sodyum iyodat dozu ve uygu-
lama sonrası süre ile dogrusal etkilenim gösterdiğini bil-
dirmektedirler (9). Çalışmamız tavflan retinasının geç
dönemde kendini yenileme olasılığına karş 30 günlük
dönem için planlanmış ve sodyum iyodatın bu dönem
için etkinliği kanıtlanmış olan 40mg/kg dozu uygulan-
mıştır. Çalışmamızda ilk olarak 1. günde ERG ile tanımlan-
ılan iflevsel değişiklikler gözlenmiştir (fiakil 1). Be-
flinci günden itibaren OKT retinada kalınlıkmıy› göster-
miştir (fiakil .4). FFA'da 10. günde papillaya yakın RPE
defektleri oluşmuşt ve 20. günde tüm retinada yerleşmiştir.
Histopatolojik kesitlerde de izlenebildiği gibi retina
içi ve koroidde pigmentasyon sonucu geliştiği anlaşılan
hiperpigmente ve hipopigmente alanlar, 20.günde oftal-
maskopik olarak pigmenter retinopatidekine benzer tarzda
tapetoretinal dejenerasyon olarak gözlemlendi (fiakil 7).
Bu dönemde, baflangıçta silik olan ERG kayıtlarının te-

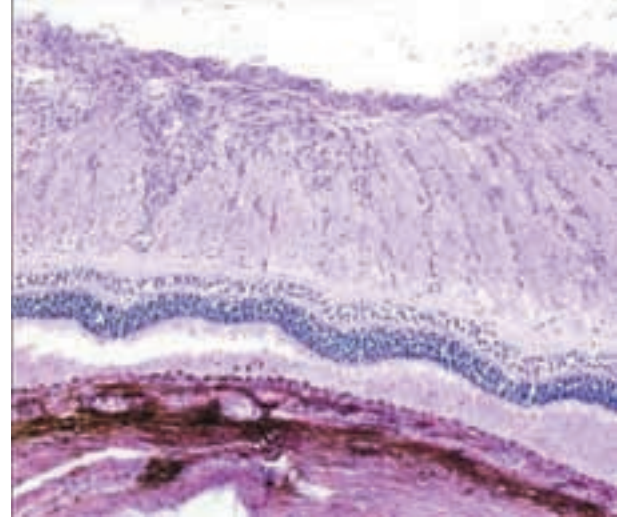
fişkil 8a.



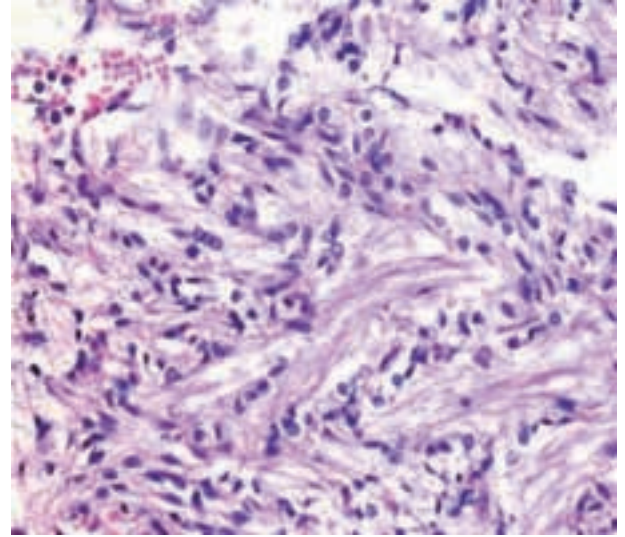
fişkil 8b.



fişkil 9a.



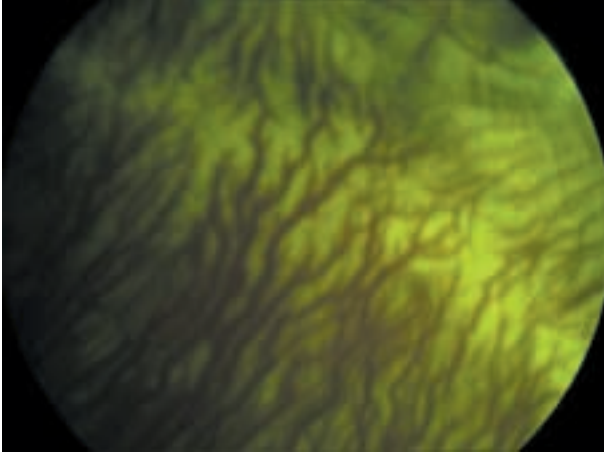
fişkil 9b.



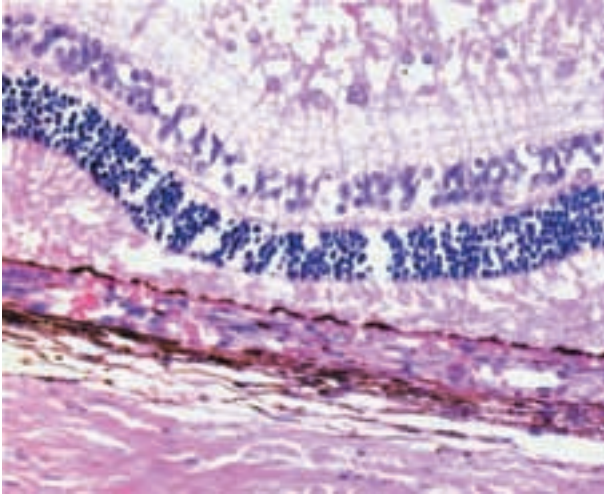
davi uygulanan gözde özellikle fotopik ERG'de daha belirgin olmak üzere, diğer gözdeki ERG kayıtlarından gözlenebilir farklar gösterdiği saptandı. Bu farklar 30.günde de devam etti. (fişkil 12). Kontrol tavflanda K<-MKH'nin implante edildiği gözde kayda değer bir degiflim, enflamasyon gözlenmedi (fişkil 10 ve 11). Benzer fişkilde çalışma grubunda K<-MKH'lere karşı belirgin bir enflamasyon saptanmadı. Bunda K<-MKH'lerin var olduğu ileri sürülen antienflamatuvar etkilerinin rolü bulunabilir (2). Kök hücre implante edilen tedavi gözlerin kontrollere kıyasında, histopatolojik belirgin bir fark gözlenmemekle birlikte ERG kayıtlarında daha

iyi elektriki potansiyele sahip olmaları, bununla birlikte kontrol tavflandaki kök hücre implantasyonunda retina herhangi bir yapısal yada elektriki potansiyel farkı gözlenmemesi, bu iflemenin toksik yada olumsuz bir etkisi bulunmadığına dolayı olarak göstermektedir. Bununla birlikte, çalışma grubundaki bir gözde K<-MKH kökenli olduğu düflünülen fibrovasküler proliferatif bir kitle gözlenmesi dikkat çekicidir. İleri çalışmalarda bu hücrelerin immünhistokimyasal yöntemler ile kökeninin belirlenmesi planlanmıştır. Ayrıca, çalışma grubundaki ve kontrol olarak seçilen tavflanın kök hücre implante edilmemiş olan diğer gözlerinde beklenenden farklı histolojik ve elektrofizyolojik bulgulara rastlanmamıştır. Bu durum, kök hücre implante edildikten sonraki süreçte diğer

fişkil 10.

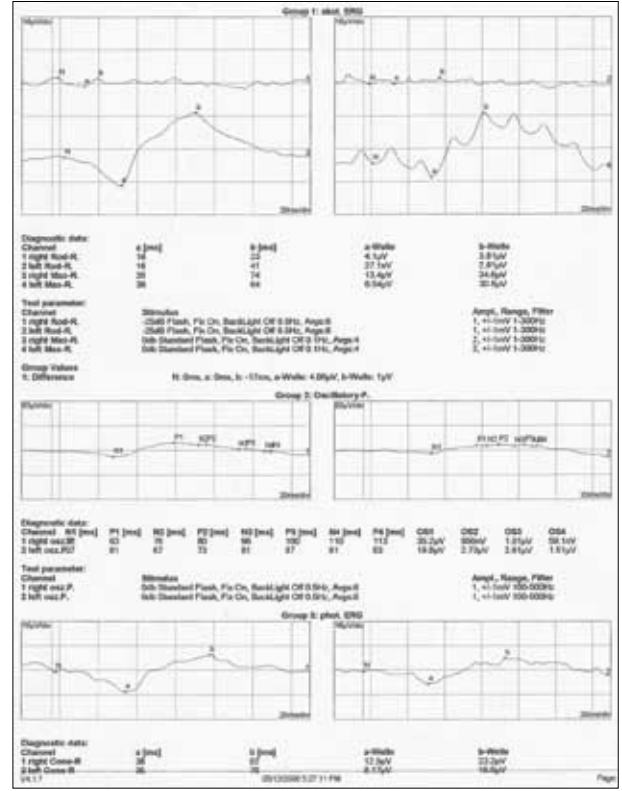


fişkil 11.

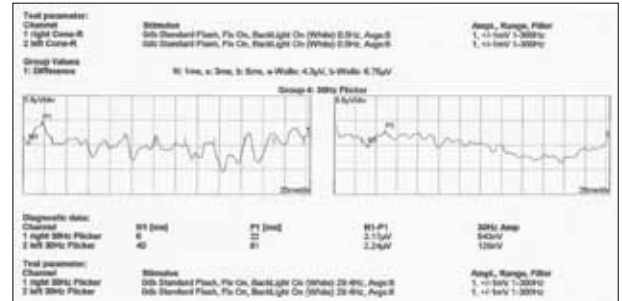


gözün bundan etkilenmediğini ortaya koymaktadır. Gözlemlerimiz sodyum iyodatın asıl etkisinin RPE'de melanosit oksidasyonu ile oluştugu, diğer bulguların buna etkili ettiği görüşünü desteklemektedir (10). Retinanın hereditör ve edinsel pek çok hastalığında RPE yapısal ve işlevsel bozukluklar göstermektedir. Fötal yada embriyonik hücre transplantasyonu yanı sıra matür RPE hücreleri ile RPE yapısal ve işlevsel bozukluklarının giderilmesi çalışmalarıında karfilifli sorunlar, üzerinde yoğun çalışmaları yapıldığı subretinal RPE transplantasyonu benzeri yöntemlerin klinik uygulamaya geçirilmesini güçleştirmektedir. Bu sorunların başında progenitor hücrelerin nitelik ve niceliksel olarak yetersiz kalmaları, retina ulaşamamaları yada reorganize olamamaları gelmektedir. Bu zorluklar K-MKH'lerin intravitreal implantasyonu ile ağılabilir gözükmektedir. Ancak, bu yöntemin oftalmolojide uygulanmasında gözün özgün

fişkil 12a.



fişkil 12b.



anatomik işlevsel bütünlüğü, örneğin kan-retina ve kanaköz bariyerleri yanı sıra gözün immün özgünlüğünün dikkate alınması gerektiğini düşündük. Bu amaçla, başlangıç aşamasında bu yöntemin uygulanabilirliğinin irdelendiği bu çalışmamızın sonuç hedefi, bu yöntemin klinik uygulamaya geçirilmesidir. Yöntemin pratikte uygulanabilirliğini araştırmak üzere, temini, muayenesi ve izleminin kolaylığı ile öteden beri prelinik çalışmalarda kullandığımız ve insandakine yakın boyutta gözü olan tavflan, denek olarak seçilmiştir. Ayrıca tapetoretinal dejenerasyon oluşturdugu kaynakçada iyi tanımlanmış olan sodyum iyodat modeli kullanılmıdır. Oksidasyon yoluyla etkili olduğu bilinen sodyum iyodatla tepkimeye

girmesi için retinasında melanin içeren pigmente tavflanlar seçilmiştir, böylece insandakine benzer bir konum sağlanmıştır. K<-MKH temin etmek üzere GATA Araştırma Merkezi'nde üretimi gerçekleştiren Yeni Zelanda tipi albino tavflanın proksimal femurundan alınan kemik iliği stromal hücrelerden in-vitro kofullarda mezenkimal kök hücreler diferansiye edilmiş ve yenilenme potansiyellerini kaybetmemeleri için 4. pasajdaki hücreler kullanılmıştır. Çalışmanın değerlendirilmesi için alfa2-makroglobulin klinik muayene yöntemleri (Oftalmoskopi, FFA ve ERG yanı sıra OKT) uygulanarak gelecekteki hayvan ve insan uygulamalarında yararlanabileceğimiz gereçlerin uygulanabilirliği araştırılmıştır. Böylece, örneğin, gelecek çalışmalarda OKT kullanılarak daha az sayıda hayvanda histopatolojik tetkik gereksinimi duyulabileceği, ancak bunun için 5 gün geçmesi gerektiği anlaşılmıştır. Bununla birlikte, çalışmamızdaki tavflanda OKT sonuçlarının kaynakça için bafıvuru değeri bulunduğu da anlaşılmaktadır.

K<-MKH teminindeki sorunlar nedeniyle çalışmamızda denek sayısı sınırlı tutulmuştur (6 adet), etik nedenler ve kontrol sağlanabilmesi bakımından sol gözlere plasebo iflem (FTS) uygulanmıştır. Aynı nedenle otojen yerine allojenik transplantasyon uygulanarak bu yöntemin tedavideki etkinliği araştırılmıştır. Çalışmamız allojenik K<-MKH intravitreal uygulandığında immün redde uğrayamayacaklarını da göstermektedir. Bu durum K<-MKH uygulandığı diğer çalışmalarda da izlenmiş olup, bu durumun hücrelerin immünoşüpressif etkisinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (2).

Sodyum iyodat ile her iki gözünde dejenerasyon oluşturulmasına karşın K<-MKH uygulanan gözlerde 20. ve 30. günlerde uygulanmayan gözlerdekinden göreceli olarak daha az iflevsel hasar gözlenmesi ve kontrol gözlerle kıyasla retina kalınlığının daha az olarak izlenmesinde K<-MKH direk ve dolaylı tesirleri bulunabilir. Bunda dejenerasyona yerleşmeden önceki evrelerde oluşan enflamasyon ile K<-MKH'den ortama salınan trofik faktörler, örneğin bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) rolü bulunabilir. İleri çalışmalarda bu faktörler tanımlanabilir ve immünohistokimyasal boyama yöntemleri kullanılarak rejenere olan hücrelerin kök hücre ile ilişkileri ortaya konabilir.

Obata ve arkadaşları tavflan sodyum iyodat modelinde, fibroblast ve vasküler endotel hücrelerinden farklı olarak RPE üzerinde uyarıcı etkisi olan doku faktör plazminojen yol inhibitörünün (TFPI) intravitreal uygulandığı tarafta RPE katmanının korunduğunu, bu korumanın herediter retina dejenerasyonlu RCS sıçanlarda kısmen gerçekleştirdiğini göstermişlerdir (11). Hayvan modellerinde büyüme faktörlerinin retinayla lezyon gelişimi-

minden korudukları gösterilmiştir (12). Bununla birlikte bu faktörlerin uygulanmasında karşılaşılan en önemli sorun ortamdaki homeostasisin bozularak istenmeyen hücre grupları, örneğin, fibroblastlar üzerinde trofik etki gösterebilme olasılıklarıdır. Üstelik bu yöntemler ile ancak mevcut potansiyel korunabilir. Oysa, kök hücre aracı yöntemler ile istenilen hücre tipinin, eksikliği duyulan alanda yeniden kazanılması mümkündür. Ancak, bunun için uygun bir uyaran ortama gereksinim duyulmaktadır (13).

Kaynakçada özgün bir yere sahip olduğunu saptadığımız bu çalışmamızdaki gözlemlerimiz, intravitreal K<-MKH implantasyonunun tapetoretinal dejenerasyon ile seyreden hastalarda etkin bir yöntem olarak uygulanabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda ileri emniyet ve etkinlik çalışmaları gereksinim duyulmuştur. Uygulama sonuçlarının izlenmesinde OKT ve ERG'nin önemli bir yeri olabileceği anlaşılmaktadır. Çalışmamızda bu etkinliğin allojenik transplantasyonlarda gözlenmesi anlaşılmıştır. Bu çalışma allojenik transplantasyon modeli üzerine kurulmuş ve farklı özellikleri olan aynı türden diğer bir canlı çalışma kapsamına alınmıştır. Bu amaçla pigmentli tavflanda oluşturulan tapetoretinal dejenerasyon modeli üzerinde albino tavflan kemik iliginden alınan ve diferansiye edilen kök hücrelerin intravitreal implantasyonu tedavisi araştırılmıştır. Bununla ilgili ileri çalışmamız halen devam etmekte olup dejenerasyon RPE modelinde kök hücrenin pigment epiteline dönüşümü sağlandığında oluşan RPE tabakasının melanosit içeriğinin bu tedavinin etkinliği için histolojik bir parametre olarak değerlendirilmesi planlanmıştır.

İnşanda, intravitreal uygulamadaki tecrübelerimiz, hayvandakinden daha kolay otolog K<-MKH temin edilebilirliği ve bu tedaviden beklentilerimizin büyüklüğü, bu yöntemin kliniğe uyarlanabilmesi doğrultusunda ileri prelinik doz ve emniyet çalışmaları yapılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu yöntemin herediter tapetoretinal dejenerasyonlar üzerindeki etkinlik ve emniyetini belirlemek üzere ileri prelinik çalışmalar yapılması planlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 2000; 290:1775-1779.
2. Le Blanc K, Ringden O. Mesenchymal stem cells: properties and role in clinical bone marrow transplantation. *Curr Opin Immunol.* 2006 Jul 29;
3. Li Y, Reza RG, Atmaca-Sonmez P, Ratajczak MZ, Ildstad ST, Kaplan HJ, Enzmann V: Retinal pigment epithe-

- lium damage enhances expression of chemoattractants and migration of bone marrow-derived stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 Apr;47(4):1646-52.
4. Yoon YH, Marmor MF: Retinal pigment epithelium adhesion to Bruch's membrane is weakened by hemicholinium-3 and sodium iodate. *Ophthalmic Res.* 1993; 25(6): 386-92.
 5. Hara A, Niwa M, Kunisada T, Y oshimura N, Katayama M, Kozawa O et al. Embryonic stem cells are capable of generating a neuronal network in adult mouse retina. *Brain Res* 2004; 999:216-221.
 6. Young MJ: Stem cells in the mammalian eye: a tool for retinal repair. *APMIS.* 2005 Nov-Dec;113(11-12):845-57.
 7. Tomita M, Adachi Y, Yamada H, Takabashi K, Kluchi K, Oyaizu H. Bone marrow-derived stem cells can differentiate into injured rat retina. *Stem Cells* 2002; 20:279-283.
 8. Minamino K, Adachi Y, Yamada H et al: Long-term survival of bone marrow-derived retinal nerve cells in the retina. *Neuroreport.* 2005 Aug 22;16(12):1255-9.
 9. Enzmann V, Row BW, Yamauchi Y, Kheirandish L, Gozal D, Kaplan HJ, McCall MA: Behavioral and anatomical abnormalities in a sodium iodate-induced model of retinal pigment epithelium degeneration. *Exp Eye Res.* 2006 Mar;82(3):441-8.
 10. Korte GE, Repucci V, Henkind P: RPE destruction causes choriocapillary atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1984 Oct;25(10):1135-45.
 11. Obata R, Yanagi Y, Tamaki Y, Hozumi K, Mutoh M, Tanaka Y: Retinal degeneration is delayed by tissue factor pathway inhibitor-2 in RCS rats and a sodium-iodate-induced model in rabbits. *Eye.* 2005 Apr;19(4):464-8.
 12. Ohtaka K, Machida S, Ohzeki T, Tanaka M, Kurosaka D, Masuda T, Ishii T: Protective effect of hepatocyte growth factor against degeneration of the retinal pigment epithelium and photoreceptor in sodium iodate-injected rats. *Curr Eye Res.* 2006 Apr;31(4):347-55.
 13. Hori Y, Inoue S, Hirano Y, Tabata Y: Effect of culture substrates and fibroblast growth factor addition on the proliferation and differentiation of rat bone marrow stromal cells. *Tissue Eng* 2004; 10:995-1005.