

# Kalıtsal Retina Hastalıklarında Tedavi Seçenekleri

## Treatment Alternatives of Hereditary Retinal Dystrophies

 Ayşe ÖNER<sup>a</sup>,  
 Neslihan SİNİM KAHRAMAN<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi  
Kayseri Hastanesi,  
Göz Hastalıkları Kliniği,  
Kayseri, TÜRKİYE

Yazışma Adresi/Correspondence:

Ayşe ÖNER  
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi  
Kayseri Hastanesi,  
Göz Hastalıkları Kliniği,  
Kayseri, TÜRKİYE  
ayseozoner@gmail.com

**ÖZET** Kalıtsal retina hastalıkları kliniği ve genetik geçişi oldukça çeşitlilik gösteren bir hastalık grubudur. Semptomları gece körlüğü, periferik ya da santral görme kaybı, renk görme kaybı ve körlük oluşumu şeklinde olabilir. Neden olan genlerin gelişimsel ya da fonksiyonel işlevlerde görevleri vardır ve fenotipten sorumlu olan 250’den fazla gen mutasyonu bilinmektedir. Son yıllarda bu hastalıkların patogenezinin anlaşılmasına yönelik gelişmeler, tedavide kök hücre ve gen tedavisi gibi etkin uygulamaların yapılmasını sağlamıştır. Bu bölümde kalıtsal retina hastalıklarında kök hücre ve gen tedavilerinin klinik gelişimleri özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Hücre ve doku tabanlı tedavi; genetik tedavi; retina distrofileri

**ABSTRACT** Hereditary retinal dystrophies are a group of disorders which show a wide range of clinical and genetical heterogeneity. Common presentations include night blindness, peripheral or central vision loss, color blindness and complete loss of vision. The causative genes have a variety of developmental and functional roles, and mutations in more than 250 genes are known to be responsible for the phenotypes. In recent years significant advancements have been made in the understanding of the pathogenesis of these diseases and stem cell and gene replacement treatments have been proposed as potentially efficacious therapies. This chapter summarizes the clinical developments of retinal stem cell and gene therapy for hereditary retinal dystrophies.

**Keywords:** Cell- and tissue-based treatment; genetic therapy; retinal dystrophies

**K**alıtsal retina hastalıkları (KRH) geri dönüşümsüz görme kaybının en önemli nedenlerinden biridir. Nadir görülen bu hastalık grubunun insidansı 1/3000’dir. Erken yaşta başlayan retina problemleri gece görme bozukluğu, renk görme bozukluğu ve görme alanı kaybına neden olup sonuçta total körlüğe yol açabilir. KRH içinde en sık görüleni retinitis pigmentosa (RP) dir. Bunun yanında Leber’in konjenital körlüğü (LKK), Stargardt makula distrofisi (SMD), Best’in makula distrofisi (BMD), yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) ve çok daha nadir görülen diğer retina distrofileri de bu grubun içinde bulunurlar. Yakın zamana kadar bu hastalıkların etkin bir tedavisinin olmadığı bilinmekte idi. Ancak son yıllarda kök hücre ve gen tedavisi uygulamalarında önemli gelişmeler kaydedilmiştir.<sup>1</sup>

Bu tür hastalıklarda görme fonksiyonunun düzeltilmesi için üzerinde çalışılan en önemli tedavi seçeneği kök hücre nakil uygulamasıdır. Kök hücrelerin immün sistemi düzenlemek, nöronlar üzerine antiapoptotik etki göstermek, nörotrofik faktör salgılamak gibi farklı fonksiyonları bulunmaktadır. Deneysel çalışmalarda kök hücre uygulamaları ile elde edilen gelişmelerden sonra klinik faz uygulamaları onaylanmıştır. Son yapılan kök hücre nakil çalışmaları göstermiştir ki; RP, SMD, YBMD gibi dejeneratif retina hastalıklarında bu tedavi seçeneği umut vaat etmektedir.<sup>2</sup>

### KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

Öner A, Sinim Kahraman N. Kalıtsal retina hastalıklarında tedavi seçenekleri. Ergün MA, editör. Oküler Genetik. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.49-56.

Tedavide önemli gelişmelerin olduğu diğer bir seçenek de genetik tedavidir. KRH'lerin tümü düşünüldüğünde 250'nin üzerinde etkilenmiş genden bahsedilebilir. Hastalıklarla ilişkili genlerin retina hücre yapısında, fototransdüksiyonda görme siklusunda, fotoreseptör yapısında bulunan proteinleri kodladığı bilinmektedir Aynı gen içinde farklı mutasyonlar olabilir ve bu mutasyonlar farklı fenotiplere yol açabilir. Bu durum hastalıklarla ilgili genetik çeşitliliği daha da karmaşık hale getirmektedir. Son yıllarda meydana gelen gelişmeler genetik patogenezin daha iyi anlaşılmasına ve gen tedavilerinin uygulanabilmesine yol açmıştır.<sup>3</sup>

Bu bölümde KRH'de kök hücre ve gen tedavileri ile ilgili genel bilgiler paylaşılacak ve son yıllarda yapılan klinik uygulamaların sonuçları değerlendirilecektir.

## KALITSAL RETİNA HASTALIKLARINDA KÖK HÜCRE UYGULAMALARI:

### KÖK HÜCRENİN TANIMI VE ÖZELLİKLERİ

Kök hücre, işlevsel olarak farklılaşmamış, tam olarak olunlaşmamış karmaşık bir yapısı olan öncül bir hücredir. Bu öncül hücre bedenin başka hücrelerine dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Kök hücreler uygulandıkları alanda uygun bir büyüme ortamına yerleşebilirler; çoğalabilirler, başka tür hücrelere farklılaşır bu türün devamı niteliğinde türler üretebilirler; kendilerini yenileyebilir veya kendi hücre topluluklarının devamlılığını sağlayabilirler. Ayrıca vücudun bir yerindeki zedelenmeyi takiben bu dokuyu onarabilme ve onu işlevsel hale getirebilme potansiyeline sahiptirler. Bu potansiyelleri nedeniyle retinadaki hasarlı hücrelerin yerini alabilecekleri ya da o hücreleri onarabilecekleri düşünülmektedir. Mevcut özellikleri kök hücrelerin pek çok hastalıkta tedavi seçeneği olarak araştırılmasına yol açmıştır.<sup>2,4</sup>

### KÖK HÜCRE TİPLERİ VE ELDE EDİLİŞİ

#### 1. Embriyonik Kök Hücre (EKH)

EKH, erken embriyonik dönemde, ilk 3-5 gün arasında embriyodan alınan iç hücre kütesinden (blastosist), laboratuvar şartlarında üretilir. Bu hücre tipi vücudun ektoderm, mezoderm ve endoderm kaynaklı herhangi bir hücreye dönüşebilme yeteneğine sahiptir.<sup>1,5,6</sup> Bu hücrelerin kullanımı ülkemizde ve pek çok ülkede etik nedenlerle yasaklanmıştır.

#### 2. Erişkin Kök Hücre (Mezenkimal Kök Hücre (MKH))

Erişkinde kan, kan damarı, iskelet kası, deri, diş, kemik iliği, yağ, kıkırdak gibi pek çok dokuda bulunurlar ve bu

dokulardan laboratuvar şartlarında elde edilirler. En çok yağ, kemik iliği ve umbilikal kord dokusundan üretilen MKH'ler kullanılır. Bu hücreler vücutta özelleşmiş pek çok hücre tipine dönüşebilir.<sup>2,4,6</sup>

### KÖK HÜCRENİN ETKİ MEKANİZMALARI

1. Hücre replasmanı: Sağlıklı kök hücreler dejenere sağlıklı hücrelerin yerini alabilir.

2. Nutrisyonel destek (Parakrin etki): Sağlıklı kök hücreler büyüme faktörleri salgılayarak çevresindeki hücrelerin yaşam desteklerini artırır.

3. Anti-apoptoz: Retinal hücrelerin ve damarların dejenerasyonunu antiapoptotik etkiyle düzenleme yeteneğine sahiptir.

4. Sinaps oluşumu: Yeni sinaptik bağlantılar oluşturabilir.<sup>4,6</sup>

### RETİNA HASTALIKLARINDA KÖK HÜCRE ÇALIŞMALARI

Göz, kök hücre tedavisinin uygulanması açısından çok sayıda avantajı olan bir organdır. Uygulama için gereken kök hücre miktarı oldukça azdır ve bu durum maliyet açısından önemlidir. Cerrahi olarak yaklaşım oldukça kolaydır. Nakledilen hücreler klinikte kullandığımız görüntüleme yöntemleriyle kolayca izlenebilir. Diğer göz kontrol olarak kullanılabilir. Gözün immün ayrıcalığından dolayı uzun süreli immünosupresif tedaviye ihtiyaç duyulmaz.<sup>4,6</sup> Retina hastalıklarında yapılan çalışmalarda kök hücre olarak EKH'ler, ve MKH'ler (umbilikal kord, kemik iliği ve adipoz doku kaynaklı) kullanılır.<sup>2</sup>

### EKH KULLANIMI İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Deneysel çalışmalarda elde edilen başarılı sonuçlardan sonra 2010 yılında FDA onayı ile insanlarda retina hastalıklarında faz I/II kök hücre klinik çalışmaları başlatılmıştır. Avrupa ve Amerika'da bazı merkezlerde yürütülen bir çalışmada insan EKH kaynaklı retina pigment epiteli (RPE) ürünü MA09-hRPE kullanılmıştır. 2012 yılında Schwartz ve ark. bu çalışmanın ilk sonuçlarını yayınlamışlardır. İlk raporda bir kuru tip YBMD, bir SMD olgusunda subretinal uygulama sonrasında 4 aylık takiplerde herhangi bir olumsuz proliferasyon, tümör oluşumu, ekto-pik doku gelişimi ya da rejeksiyon bulgusuna rastlanmamıştır.<sup>7</sup>

Bu çalışmanın devamında 9 YBMD, 9 SMD olgusunun 22 aylık takip sonuçları sunulmuştur. En iyi düzeltilmiş görme keskinliği 10 olguda artış gösterirken, 7 olguda aynı kalmış, 1 olguda ise 10 haftan daha fazla görme kaybı gelişmiştir. Olguların tedavi olmayan diğer gözlerinde her-

hangi bir iyileşme saptanmamıştır. Bir yıl sonunda yapılan görme ile ilişkili hayat kalitesi puanlaması, YBMD olgularında 25 puan, SMD olgularında 20 puan artış göstermiştir. Bu çalışma KRH'de kök hücre uygulamasının orta-uzun süreli sonuçlarını yayınlayan ilk çalışmadır.<sup>8</sup> Son yıllarda yayınlanan başka bir klinik çalışmada ikisi kuru tip YBMD, ikisi SMD olan, toplam dört olguda yine MA09-hRPE hücreleri subretinal alana uygulanmış ve bir yıllık takip sonucunda herhangi bir olumsuz yan etkiye rastlanmamıştır. Olguların takiplerinde güvenilirlik açısından kontrolsüz proliferasyon, tümör gelişimi, ektojik doku gelişimi gibi olumsuz bir sonuç izlenmemiştir. Olguların üçünde görme keskinliği 9-19 harf arası artış gösterirken, bir olgu stabil seyretmiştir. Bu bulgular EKH kaynaklı RPE hücrelerinin güvenli olduğunu göstermektedir.<sup>9</sup>

İleri evre SMD olgularında EKH kaynaklı RPE hücreleri ile yapılan başka bir faz 1/2 çalışmada immünsüpresif tedavi ile birlikte subretinal 200 bin hücre uygulanmıştır. On iki olgunun hepsinde subretinal hiperpigmentasyon gelişmiş ve kontrolsüz proliferasyon ya da inflamasyon bulgusuna rastlanılmamıştır. 4 olguda görme artışı tespit edilirken mikropimetride ve hayat kalitesi skorlarında anlamlı iyileşme olmamıştır. Bulgular implante edilen hücrelerin yaşamlarına devam ettiğini gösterirken görme keskinliğine etkisini değerlendirmek için daha erken aşamada olgulara dikkatli bir uygulama önerilmiştir.<sup>10</sup>

Yaş tip YBMD olgularında yapılan 3 olguluk bir seride vitrektomi ve subretinal koroidal neovasküler membran (KNVM) eksizyonu sonrasında subretinal olarak  $1 \times 10^6$  EKH kaynaklı RPE hücresi implante edilmiştir. 12 aylık takiplerde hücrelerin yaşamlarına devam ettikleri ve olgularda belirgin görme artışı olduğu tespit edilmiştir.<sup>11</sup> Yine yaş tip YBMD'li 2 olguda subretinal uygulanan EKH kaynaklı RPE yamasının takiplerinde olguların 21 ve 29 harflik görme artışı tespit edilmiş olup testlerde hücrelerin yaşamlarına devam ettiği saptanmıştır.<sup>12</sup>

## MKH KULLANIMI İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Pek çok çalışmada MKH'lerin nöron benzeri hücrelere dönüşebildiği gösterilmiştir. Ancak bu hücrelerin rejeneratif etkilerinin çoğu parakrin etkilerinden kaynaklanır. Çalışmalarda siliyer nörotrofik faktör (SNTF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi çeşitli nörotrofik ve anjiyojenik faktörleri salgıladıkları bildirilmiştir. MKH'ler kültürde kolayca çoğaltılabilir ve allojenik kullanım avantajları vardır. Bu hücrelerin çok düşük seviyelerde HLA sınıf 1 antijeni eksprese ettiği ve herhangi bir HLA sınıf 2 antijeni eksprese etmediği bilinmektedir. Bu nedenle allojenik kulla-

nımda rejeksiyon riski minimumdur ve uygulama sonrasında immünsüpresif tedavi verilmesi gerekli değildir. Bu hücreler nörotrofik faktörler gibi yaşam destekleyici büyüme faktörleri salgılar, sinaptik bağlantıları onarırlar ve fonksiyonel bağlantıların oluşmasına yardımcı olurlar.<sup>13,14</sup>

Prospektif bir faz I çalışmada, 3 RP olgusu ve 2 konrod distrofi olgusuna tek doz intravitreal otolog kemik iliği kaynaklı MKH uygulanmış ve 10 aylık takip sonuçlarında retinada belirgin yapısal ve fonksiyonel toksisite izlenmemiştir. Siqueira ve ark.'nın çalışmalarında olguların 4'ünde enjeksiyondan 1 hafta sonra en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde 1 sıra artış olmuş ve bu artış takiplerde korunmuştur.<sup>15</sup> Bu çalışmanın devamında 20 olguya intravitreal MKH uygulaması yapılmış ve takiplerde 3. ayda görme ile ilişkili hayat kalitesi skorunda istatistiksel anlamlı iyileşme olurken, 12. ayda bu skorların başlangıç değerlerine döndüğü belirtilmiştir. Dolayısıyla bu iyileşme bir süre sonra ortadan kalkmaktadır.<sup>16</sup> Park ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada geri dönüşümsüz görme kaybı olan 6 göze (retina vasküler hastalıkları, herediter ya da noneksüdatif YBMD, RP) 3.4 milyon intravitreal kemik iliği kaynaklı MKH enjekte edilmiştir.<sup>17</sup> Bu tedavi iyi tolere edilmiş, intraoküler inflamasyon ya da proliferasyona rastlanmamış, 6 aylık takip sonrasında elektoretinografi (ERG) ve görme keskinliğinde herhangi bir bozulma görülmemiştir.

Şu ana kadar 'clinicaltrials.gov'da kayıtlı en geniş çalışma olan 'Stem Cell Ophthalmology Treatment Study' (SCOTS) grubunun yayınladığı bir çalışmada 17 RP olgusunun 33 gözüne otolog kemik iliği kaynaklı MKH uygulaması yapılmış ve 6 aylık takipleri bildirilmiştir. Uygulama sırasında kök hücreler bir grupta retrobulber+subtenon+intravenöz şekilde verilirken diğer grupta ilave intravitreal uygulama da yapılmıştır. Gruplar arasında fark bulunmamış, tedavi edilen 33 gözün 15'inde (%45) ortalama 7,9 Snellen sırası artış olurken, 15 göz (%45) stabil seyretmiş, 3 göz (%10) 1,7 sıra kötüleşmiştir. Uygulama ile ilgili herhangi bir yan etki bildirilmemiştir.<sup>18</sup> Aynı grubun YBMD'li olgularda yaptıkları çalışmada 32 göze uygulama yapılmış, 20 gözde (%63) görme keskinliğinde anlamlı artış tespit edilirken, %34'ü stabil seyretmiş, bir göz kötüleşmeye devam etmiştir.<sup>19</sup>

RP olgularında yapılan klinik çalışmalarda intravitreal ve subretinal MKH uygulamaları sonrasında bir takım komplikasyonlar gözlenmiştir. Subretinal adipoz doku kaynaklı MKH uygulaması yapılan bir güvenilirlik çalışmasında 14 olgunun 5'inde enjeksiyon sahasının üzerinde, makulaya doğru uzanan epiretinal membran gelişimi görülmüş, perifer retinada membran gelişimine bağlı lokalize traksiyonel dekolman gelişmiş ve bu olgulara tekrar vitrek-

tomu uygulanması gerekmiştir. Ayrıca bir olguda koroidal neovasküler membran oluşmuş ve tek doz anti-VEGF ile tedavi edilmiştir. Bu çalışmada herhangi bir sistemik yan etkiye rastlanmamıştır.<sup>20</sup> Kuriyan ve ark.nın olgu sunumunda 3 YBMD olgusunda otolog adipoz doku kaynaklı MKH'lerin intravitreal olarak uygulanması sonrasında göz içi basıncında artış, hemorajik retinopati ve vitreus hemorajisi gelişmiştir. Olguların takibinde kombine traksiyonel ve yırtıklı retina dekolmanı olduğu ve olguların görmelelerini kaybettikleri bildirilmiştir.<sup>21</sup> Başka bir olgu sunumunda da otolog kemik iliği kaynaklı MKH kullanılan ileri evre RP'li 3 olgunun ikisinde görme fonksiyonlarında iyileşme bildirilirken; bir olguda ikinci haftada başlayan preretinal ve vitreal fibröz doku gelişimi, ön kamarada sığlaşma ve siklitik membran oluşumunu takiben oküler hipotoni görülmüştür. Sonrasında gelişen total traksiyonel retina dekolmanını takiben 3 ay içinde görmenin kaybedildiği bildirilmiştir.<sup>22</sup> Benzer şekilde RP tanılı 44 yaşındaki bir olguda yine intravitreal adipoz kaynaklı MKH kullanımı sonrasında, haftalar içinde 20/50'den el hareketlerine ilerleyen görme kaybı, proliferatif retinopati, epiretinal membran ve retina dekolmanı gelişmiştir.<sup>23</sup> Yine intravitreal otolog Kİ kaynaklı MKH uygulama sonuçlarını içeren 14 olguluk faz 1 çalışmanın sonuçlarında ilk yıl içinde görme keskinliğinde artış saptanmış 1 yıl sonunda başlangıç değerlerine geri dönmüştür. Olguların en az 1,5 yıl en fazla 7 yıl süreyle takipleri mevcuttur. Bir olguda 3. yıl takibinde retina yüzeyinde fibröz membran gelişimi ve retina dekolmanı gelişmiştir. Olgu tekrar opere edilmiş ve görme düzeyi başlangıç düzeyine dönmüştür. Olgularda değişken derecelerde inflamasyon belirtileri saptanmış ve medikal tedavi ile düzeltilmiştir.<sup>24</sup>

Bu komplikasyonlardan sonra intravitreal enjeksiyon için kullanılan MKH preparatlarının otolog fibroblastlara farklılaşan hücreleri içerebildiği bildirilmiştir. Otolog fibroblastların varlığı intravitreal enjeksiyon sonrası proliferatif vitreoretinopati ve retina dekolmanının nedeni olarak açıklanabilir. Bu nedenle, intravitreal kök hücre tedavisinin hangi hücre grubunu içerdiği ve bu hücrelerin ne tür hücrelere dönüşebileceği çok önemlidir. Bu çalışmalardan sonra MKH'lerin intraoküler kullanımları konusunda bazı çekinceler oluşmuştur.<sup>23,24</sup>

Limoli ve ark. 15 RP olgusunun 21 gözüne, kendilerinin geliştirmiş olduğu bir suprakoroidal teknikte adipoz doku kaynaklı MKH uygulaması yapmışlardır. Olguların merkezi fovea kalınlığına göre 2 gruba ayrıldığı bu çalışmada; fovea kalınlığı 190 µm'den büyük olan olgularda tedaviye yanıtın daha iyi olduğu saptanmıştır. 6 aylık takip sonucunda olguların mikropometri testlerinde ve görme

ile ilgili subjektif verilerinde anlamlı iyileşme saptanmıştır. Ayrıca çalışmada herhangi bir oküler yan etki bildirilmemiştir.<sup>25</sup> Bu çalışmanın devamında 25 hastanın 34 gözüne aynı yöntemle uygulama yapılmış ve makula kalınlığı 190 mikronun üzerinde olan olgularda sonuçların daha başarılı olduğu bildirilmiştir.<sup>26</sup>

Kök hücre tedavilerinde kullanılacak diğer bir MKH kaynağı da umbilikal kord dokusudur. Bu kök hücreler bir seferde çok sayıda izole edilebilir ve klonal olarak çoğaltılabilirler. Umbilikal kord kaynaklı MKH (UK-MKH) kullanılarak yapılan bir hayvan çalışmasında dejenerasyonun erken aşamasında subretinal alana enjekte edilen hücrelerin fotoreseptörleri koruduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca plasental doku hücreleri, kemik iliği kaynaklı MKH'ler ve dermal fibroblast hücreleri de kıyaslanmış ve kemik iliği ile UK-MKH'lerinin diğer iki grup hücreden görsel fonksiyonun sürdürülmesi bakımından daha üstün olduğu gösterilmiştir. Ayrıca UK-MKH grubunun kemik iliği kaynaklı MKH'lere kıyasla anatomik olarak daha geniş alanı koruduğu tespit edilmiştir.<sup>27</sup>

Ülkemizden Özmert ve ark.nın yaptığı faz 3 klinik çalışmada 32 RP olgusunda subtenon mesafeye Wharton jeli kökenli MKH implante edilmiştir. Hastaların ortalama en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri 6. ayda 70,5 harften 80,6 harfe yükselmiştir. Ayrıca olguların görme alanı testleri, ortalama retina kalınlığı ölçümleri ve mfERG'de merkezi halkalardaki yanıtları anlamlı olarak düzelme göstermiştir. Çalışmada oküler ya da sistemik herhangi bir yan etki bildirilmemiştir.<sup>28</sup> Bu olguların 1 yıllık takiplerinde görme kazancının korunduğu belirtilmiştir. Ayrıca genetik bulgularla beraber yapılan değerlendirmede Otozomal dominant (OD) ve Otozomal resesif (OR) geçiş gösteren genlerin kök hücre tedavisinden daha çok fayda gördüğü, X'e bağlı resesif (XR) geçiş gösteren genlerde tedavi başarısının düşük olduğu bildirilmiştir.<sup>28</sup>

Literatürdeki en geniş seriyi içeren çalışmamızda 82 RP olgusunun 124 gözüne suprakoroidal bölgeye 5 milyon UK-MKH uygulanmış ve olguların 6 aylık takip sonuçları sunulmuştur. Tedavi sonrası görme keskinliği ve görme alanı ölçümlerinde anlamlı iyileşmeler saptanmıştır. Ayrıca mfERG'de santral iki halkada amplitud ve latanslarda anlamlı iyileşmeler görülmüştür. Çalışmada sistemik ya da oküler yan etkiye rastlanmamıştır.<sup>29</sup>

Makula hastalarında aynı yöntemle yapılan kök hücre uygulamasının 1 yıllık takip sonuçlarını içeren diğer bir çalışmamızda 8 olgunun tedavi edilen gözlerinin 7'sinde görme keskinliği, görme alanı ve mfERG testlerinde iyileşme saptanırken, tedavi edilmeyen 8 gözün 7'sinde bu testlerde kötüleşme saptanmış ve makula probleminin iler-



leme gösterdiği tespit edilmiştir.<sup>30</sup> Son yapılan çalışmaların verilerine dayanarak ekstraoküler kök hücre uygulamalarının daha güvenli olduğunu söylemek mümkündür.

## RETİNA PROGENİTÖR HÜCRE ÇALIŞMALARI

Retina distrofilerinin retina tedavisinde kök hücre alanındaki bazı çalışmalarda, oküler orijinli hücre tipleri, yani fetal insan gözlerinden izole edilen retina progenitör hücreleri (RPH) kullanılmıştır. Retina hücreleri özelleşmiş nöron hücreleridir. Matür retinada yeterli sayıda progenitör hücre olmadığından hasarlı bölgenin rejenerasyonu söz konusu değildir. RPH, gelişmekte olan insan fetüslerinin retinasından, nöroepiteldeki fotoreseptör progenitörlerinin farklılaşmaya başladığı intrauterin gelişimin 14-20. haftalarında elde edilmektedir.<sup>31</sup>

Altı RP ve 4 YBMD hastasının dahil edildiği faz 2 klinik çalışmada, fetal retina hücreleri ve RPE hücrelerini içeren dış retina tabakası oküler dokudan ayrılarak alıcıya nakledilmiştir. Ameliyattan 12 ay sonrasında 7 hastada görme keskinliği skorlarında artış tespit edilmiş ve işleme ilgili ciddi bir komplikasyon bildirimi olmamıştır.<sup>32</sup>

Şu anda RPH kullanımını içeren iki klinik çalışma bulunmaktadır. Bunlardan Kaliforniya merkezli bir şirket olan JCyte desteği ile yapılan ilk çalışma faz 1/2a aşamasını tamamlamıştır (clinical.gov NCT02320812). Bu çalışma güvenilirlik çalışması olup fetal doku kaynaklı RPH'ler intravitreal enjeksiyon şeklinde uygulanmıştır. Amaç uygulanan hücrelerin nöronal hücreye farklılaşmasını sağlamak, ayrıca salgıladıkları faktörler ile nörotrofik etki oluşturmaktır. Çalışmada toplam 28 olguya 0,5, 1, 2 ve 3 milyon (M) şeklinde farklı doz uygulaması yapılmış ve etkinliğin en yüksek dozda daha belirgin olduğu bildirilmiştir. 12. ay takibinde tedavi edilmemiş gözlerde görme kaybı devam ederken, tedavi edilen gözlerde ortalama 3,64 harf görme artışı saptanmıştır. 28 olgunun 12 aylık takiplerinde enjeksiyona bağlı konjonktival hiperemi, geçici oküler ağrı ve steroide yanıtı ön kamarada hafif reaksiyon dışında ciddi yan etki bildirilmemiştir. Tedavinin güvenli olduğu belirlendikten sonra faz 2b etkinlik araştırması planlanmıştır (clinicaltrials.gov NCT03073733) ve halen hasta alımı devam etmektedir. RPH içeren diğer çalışma ise Boston merkezli bir şirket olan ReNeuron tarafından yürütülmekte ve RP olgularında hücreler subretinal olarak verilmektedir (clinicaltrials.gov NCT02464436). Bu çalışma halen devam etmektedir.<sup>33</sup>

## SONUÇ

Kök hücre uygulamaları ile ilgili bildirilen faz çalışma sonuçları oldukça başarılıdır. Hiçbir çalışmada sistemik yan

etkiye rastlanmamıştır. Ayrıca tümör oluşumu, kontrolsüz proliferasyon gibi ciddi oküler yan etkiler görülmemiştir. Görsel fonksiyonlarda elde edilen iyileşmeler cesaret ve umut vericidir. Bu tedavinin gelecekteki yerini belirlemek için daha çok olgu içeren daha uzun süreli takip sonuçları olan randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Günümüzde kök hücrenin farklı retina hastalıklarında kullanımını ile ilgili çok sayıda çalışma devam etmekte ve sonuçları büyük bir merakla beklenmektedir.

## KALITSAL RETİNA HASTALIKLARINDA GEN TEDAVİSİ

Göz, gen tedavisi için ideal bir organdır. Öncelikle küçüktür ve dışarıya kapalıdır. Gen tedavileri günümüzde vektörler (taşıyıcı) aracılığıyla yapılmaktadır. Vektör olarak çoğunlukla Parvovirüs ailesinden olan Adeno-associated virus (AAV) tercih edilir. Boyutu 20 nm'dir ve 4,8 kilobaz (Kb) DNA içerir. Vektör olarak tercih edilme nedenleri arasında AAV patojenitesinin ve immünojenitesinin düşük olması, hücrelere entegre olmaması, uzun ekspresyon zamanı, pek çok hücre tipine uyum sağlayabilmesi ve belirlenen hücreleri hedef alabilmesi sayılabilir. Göze yapılacak uygulamalar için çok küçük miktarda vektör yeterlidir, dolayısıyla vektöre bağlı toksik etkiler de minimum olur. İntraoküler ayrıcalıklı mikroçevre nedeniyle, oluşan immün yanıtlar lokal olarak inhibe edilir. Gözün bu özellikleri vektörün göz dışına yayılımını engeller ve vektöre karşı sistemik yanıt gelişimi önlenmiş olur. Retina hücreleri post-mitotik hücreler olduğu için genler arası etkileşim olmadan uzun süreli gen ekspresyonu sağlanabilir. Cerrahi olarak göze yaklaşımın kolay olması, genetik materyalin gözün istenilen tabakasına ve hedeflenen hücre kitlesine ulaştırılabilmesini mümkün kılar.<sup>34</sup>

Günümüzde sadece RPE'ye spesifik protein 65 kDa (*RPE65*) genine yönelik bir tedavi mevcuttur. *RPE65* geni, RPE hücrelerinde eksprese edilir ve all-trans retinil esterinin 11-cis retinale dönüşümünü sağlayan izomerohidrolazı kodlar. 11-cis retinal olmadan opsinler ışığı yakalayıp elektriksel uyarıya çeviremez. *RPE65* mutasyonu görme siklusunu bozarak, RPE hücrelerinde lipid damlacıkları içinde retinil ester birikimine, lipofuksin granüllerinde artışa neden olur. Sonuçta progresif bir retina dejenerasyonu ve görme kaybı meydana gelir.

*RPE65* gen mutasyonu ile ilişkili herediter retina hastalıkları, RP 20 (OR geçişli RP) ve RP'nin en ağır formu olan LKK tip 2'dir. *RPE65* gen mutasyonu OR RP'lerin %1-2'sinde, LKK olgularının da %7-16'sında görülür. LKK nadir görülen (1/50-100 bin), çok ağır seyreden, konjenital RP'dir. Olgularda fundus bulgularının yanında bo-

zulmuş ışık refleksi, ERG'de kayıt alınamayacak derecede belirgin azalma ve nistagmus mevcuttur. Görme kaybı doğumla ya da hayatın ilk birkaç yılında başlar ve erken erişkinlik döneminde total körlükle sonuçlanır. Günümüze dek LKK'ye neden olan 20 gen, 65'inde mutasyon saptanmıştır. *RPE65* bu genlerden biridir. Hastaların tedaviye uygunluğunu anlamak için öncelikle genetik tanı yapılmalı ve retinadaki patolojinin *RPE65* mutasyonuna bağlı olduğu gösterilmelidir.<sup>35</sup>

On yıldan fazla süren çalışmaların sonucunda 2017 Aralık ayında ilk gen tedavisi ilacı olan voretigene neparovovec-rzyl (VN) (Luxturna, Spark Therapeutics, Philadelphia, PA, USA) Amerika'da Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmıştır. İlaç homozigot (biallelik) *RPE65* gen mutasyonu ile ilişkili KRH'de günümüzde kullanılan tek farmakolojik ajan olup 2018 yılında da Avrupa Birliği tarafından onaylanmıştır. İlaç sağlam *RPE65* genini taşıyan modifiye AAV2 içermektedir. Ömür boyu tek doz olarak uygulanan ilaç, 1 yaşımdan büyük olan, canlı retinal hücresi olan ve genetik olarak uygun olan tüm olgularda önerilmektedir. Uygulama dozu vitrektomi sonrasında subretinal olarak tek göze 0,3 mL içinde  $1,5 \times 10^{11}$  vektör genomu (vg) şeklindedir. İki gözün cerrahisinin aynı günde yapılmaması, cerrahiler arasındaki zamanın 6 günden uzun, 18 günden kısa olması tavsiye edilmektedir. Cerrahiden 3 gün önce başlayarak 10 gün süreyle oral steroid kullanımı önerilmektedir.<sup>36</sup>

## KLİNİK FAZ ÇALIŞMALARI

Üç farklı grup tarafından az sayıda olguda faz 1 sonuçları yayınlanmıştır.<sup>37-39</sup> Faz 1 çalışmalarda ilacın güvenli olduğunun gösterilmesi üzerine Maguire ve ark. 12 hastada doz belirleme çalışmasını yaparak 3 farklı dozu subretinal olarak kullanmış ve tüm olgularda benzer sonuçlar elde etmişlerdir.<sup>40</sup> Elde edilen görme iyileşmelerinin 3. ve 4. yıl takiplerinde de korunduğu gösterilmiştir.<sup>41,42</sup> Daha sonraki çalışmalarda doz olarak 0,3 ml'de  $1,5 \times 10^{11}$  vg seçilmiştir. Çalışmalarda sonuçları değerlendirmek için görme keskinliği, görme alanı yanında FDA tarafından onaylanan multi-luminance mobility test (MLMT) ve full-field light sensitivity testi (FST) de kullanılmıştır. MLMT farklı aydınlanma ortamlarında hareket etme yeteneğini, FST ise ışığa duyarlılığı değerlendiren testlerdir. Faz 1/2 çalışmalarında elde edilen başarılı sonuçlardan sonra 2012 yılında Spark Therapeutics sponsorluğunda Faz 3 çalışmalar planlanmıştır. Çalışmaya 31 hasta dahil edilmiş, 21 hastaya her iki göze uygulama yapılırken 10 hasta kontrol olarak alınmış ve hastalar 1 yıl takip edilmiştir. VN tedavi grubunda olguların %65'i MLMT'de en düşük aydınlatmada bile ba-

şarılı olmuşlardır. Tedavi sonrasında ilk ayda başlayan iyileşmeler 4 yılın sonuna dek korunmuştur. MLMT'de ortalama skor değişikliği ilk 1 yılda 2,6; 4 yılda 2,4 olarak belirlenmiştir. Görme alanında da anlamlı iyileşmeler olmuştur. Görme keskinliğinde iyileşme olmasına karşın istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.<sup>43</sup> FST testinde ışık hassasiyetinde ortalama  $2 \log_{10}$  (cd.s/m<sup>2</sup>) iyileşme saptanmıştır. En iyi sonuçlar retina yanıtları daha iyi olan genç hastalarda alınmıştır. Tedavi edilen olgularda ayrıca nistagmus sıklığında azalma, mfERG yanıtlarında artış ve mikropimetride fiksasyon stabilitesinde artış saptanmıştır.

Gen tedavisi ile ilgili uzun dönem etkiler tam bilinmemektedir. Jacobson ve ark. başlangıçta görülen iyileşmenin 1 yıldan sonra azalabileceğini belirtmişlerdir.<sup>44</sup> Uzun süreli takipte görmedeki iyileşmenin devam etmesine rağmen fotoreseptör kaybının arttığı gözlenmiştir. Benzer bir şekilde Bainbridge ve ark. nın çalışmasında ilk 1 yıl içinde iyileşme gösteren hastaların yarısında 3. yıl sonunda retinal sensitivite de azalma görülmüştür.<sup>45</sup> Ancak faz 1 çalışmasının devamında 3 yıllık takibi tamamlanan hastaların halen gen ekspresyonunu devam ettirdikleri ve görme siklusundaki onarımın devam ettiği belirtilmiştir.<sup>42</sup>

İlacın yan etki profilini değerlendirmek için faz çalışmalarına dahil edilen toplam 41 olgunun 81 gözünden elde edilen veriler incelendiğinde, olguların %66'sı, gözlerin %57'sinde yan etkiye rastlandığı bu yan etkilerin VN enjeksiyonu, cerrahi işlem, kortikosteroid kullanımı ile ilgili olduğu belirtilmiştir. En çok görülen yan etkiler cerrahi ile ilişkili konjonktival hiperemi, katarakt, göz içi basınç artışı, retina yırtığı, dellen, makula deliği, subretinal depositler, gözde enflamasyon ve irritasyon ve makula yüzeyinde kırışıklık şeklindedir. Ciddi oküler yan etki olarak 1 olguda foveada incelleme, 1 olguda da steroidlere bağlı glokom ve optik atrofi, 1 olguda retina dekolmanı görülmüştür.<sup>43</sup>

## GEN TEDAVİSİNDE KISITLILIKLAR

KRH'de genetik geçiş paterni değişken olabilmektedir. Ayrıca bu geçiş paternleriyle ilişkili çok fazla sayıda gen mutasyonu varlığı bilinmektedir. Aynı aile içinde, aynı genin farklı mutasyonları söz konusu olabilmektedir. Bu durum hastalıkla ilgili değerlendirmeleri ve tedaviyi karmaşık hale getirmektedir.

Yeni teknolojik gelişmelere rağmen halen test edilen hastaların yaklaşık %50'sinde genetik bozukluk tespit edilebilmektedir.

Genetik test ve tedaviler oldukça maliyetlidir bu durum zaten kısıtlı olan kullanım alanlarını daha da kısıtlamaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Sahel JA, Marazova K, Audo I. Clinical characteristics and current therapies for inherited retinal degenerations. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014;5:17111.
2. Oner A. Stem cell treatment in retinal diseases: Recent developments. *Turk J Ophthalmol.* 2018;48(1):33-8.
3. Oner A. Recent advancements in gene therapy for hereditary retinal dystrophies. *Turk J Ophthalmol.* 2017;47:338-43.
4. Zarbin M. Cell-based therapy for degenerative retinal disease. *Trends Mol Med.* 2016;22:115-34.
5. Siqueira RC. Stem cell therapy for retinal diseases: update. *Stem Cell Res Ther.* 2011;2:50.
6. Tucker BA, Mullins RF, Stone EM. Stem cells for investigation and treatment of inherited retinal disease. *Human Molecular Genetics.* 2014;23(R1):R9-R16.
7. Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, Franco-Cardenas V, Pan CK, Ostrick RM, et al. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet.* 2012;379:713-20.
8. Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, Elliott D, Rosenfeld PJ, Gregori NZ, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet.* 2015;385:509-16.
9. Song WK, Park KM, Kim HJ, Lee JH, Choi J, Chong SY, et al. Treatment of macular degeneration using embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: preliminary results in Asian patients. *Stem Cell Reports.* 2015;4(5):860-72.
10. Mehat MS, Sundaram V, Ripamonti C, Robson AG, Smith AJ, Borooah S, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cells in macular degeneration. *Ophthalmology.* 2018;125(11):1765-75.
11. Liu Y, Xu HW, Wang L, Li SY, Zhao CJ, Hao J, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium transplants as a potential treatment for wet age-related macular degeneration. *Cell Discov.* 2018;4:50.
12. da Cruz L, Fynes K, Georgiadis O, Kerby J, Luo YH, Ahmado A, et al. Phase 1 clinical study of an embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium patch in age-related macular degeneration. *Nat Biotechnol.* 2018;36(4):328-37.
13. Huo DM, Dong FT, Yu WH, Gao F. Differentiation of mesenchymal stem cell in the microenvironment of retinitis pigmentosa. *Int J Ophthalmol.* 2010;3:216-9.
14. Konno M, Hamabe A, Hasegawa S, Ogawa H, Fukusumi T, Nishikawa S, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells and regenerative medicine. *Dev Growth Differ.* 2013;55:309-18.
15. Siqueira RC, Messias A, Voltarelli JC, Scott IU, Jorge R. Intravitreal injection of autologous bone marrow-derived mononuclear cells for hereditary retinal dystrophy: a phase I trial. *Retina.* 2011;31:1207-14.
16. Siqueira RC, Messias A, Messias K, Arcieri RS, Ruiz MA, Souza NF, et al. Reticell 2014. Quality of life in patients with retinitis pigmentosa submitted to intravitreal use of bone marrow-derived stem cells (Reticell-clinical trial) *Stem Cell Research & Therapy.* 2015;6:29.
17. Park SS, Bauer G, Abedi M, Pontow S, Panorgias A, Jonnal R, et al. Intravitreal autologous bone marrow CD34+ cell therapy for ischemic and degenerative retinal disorders: preliminary phase 1 clinical trial findings. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;56:81-9.
18. Weiss JN, Levy S. Stem cell ophthalmology treatment study: bone marrow derived stem cells in the treatment of retinitis pigmentosa. *Stem Cell Investig.* 2018;5:18.
19. Weiss JN, Levy S. Stem Cell Ophthalmology Treatment Study (SCOTS): Bone marrow-derived stem cells in the treatment of age-related macular degeneration. *Medicines (Basel).* 2020;7(4):16.
20. Oner A, Gonen ZB, Sinim N, Cetin M, Ozkul Y. Subretinal adipose tissue-derived mesenchymal stem cell implantation in advanced stage retinitis pigmentosa: a phase I clinical safety study. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):178.
21. Kuriyan AE, Albin TA, Townsend JH, Rodriguez M, Pandya HK, Leonard RE 2nd, et al. Vision loss after intravitreal injection of autologous "Stem Cells" for AMD. *N Engl J Med.* 2017;376:1047-53.
22. Satarian L, Nourinia R, Safi S, Kanavi MR, Jarughi N, Daftarian N, et al. Intravitreal injection of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with advanced retinitis pigmentosa: a safety study. *J Ophthalmic Vis Res.* 2017;12:58-64.
23. Rong AJ, Lam BL, Ansari ZA, Albin TA. Vision loss secondary to autologous adipose stem cell injections: a rising problem. *JAMA Ophthalmol.* 2018;136:97-9.
24. Tuekprakhon A, Sangkitporn S, Trinavarat A, Pawestri AR, Vamvanij V, Ruangchainikom M, et al. Intravitreal autologous mesenchymal stem cell transplantation: a non-randomized phase I clinical trial in patients with retinitis pigmentosa. *Stem Cell Res Ther.* 2021;12(1):52.
25. Limoli PG, Vingolo EM, Limoli C, Nebbioso M. Stem cell surgery and growth factors in retinitis pigmentosa patients: Pilot study after literature review. *Biomedicines.* 2019;30;7(4). pii: E94.
26. Limoli PG, Limoli CSS, Morales MU, Vingolo EM. Mesenchymal stem cell surgery, rescue and regeneration in retinitis pigmentosa: clinical and rehabilitative prognostic aspects. *Restor Neurol Neurosci.* 2020;38(3):223-37.
27. Lund RD, Wang S, Lu B, Girman S, Holmes T, Sauve Y, et al. Cells isolated from umbilical cord tissue rescue photoreceptors and visual functions in a rodent model of retinal disease. *Stem Cells.* 2007;25:602-11.
28. Özmert E, Arslan U. Management of retinitis pigmentosa by Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: prospective analysis of 1-year results. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):353.
29. Kahraman NS, Oner A. Umbilical cord derived mesenchymal stem cell implantation in patients with retinitis pigmentosa: a 6-month follow-up results of a phase 3 trial. *Int J Ophthalmol.* 2020;13(9):1423-9.
30. Kahraman NS, Gonen ZB, Sevim DG, Oner A. First year results of suprachoroidal adipose tissue derived mesenchymal stem cell implantation in degenerative macular diseases. *Int J Stem Cells.* 2020.
31. Hendrickson A, Bumsted-O'Brien K, Natoli R, Ramamurthy V, Possin D, Provis J. Rod photoreceptor differentiation in fetal and infant human retina. *Exp Eye Res.* 2008;87:415-26.
32. Radtke ND, Aramant RB, Petry HM, Green PT, Pidwell DJ, Seiler MJ. Vision improvement in retinal degeneration patients by implantation of retina together with retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol.* 2008;146:172-82.
33. Öner A, Kahraman NS. Retinitis pigmentosada retina transplantasyonu, kök hücre ve gen tedavisi. *Güncel Retina Dergisi.* (Baskıda).
34. Oner A. Recent advancements in gene therapy for hereditary retinal dystrophies. *Turk J Ophthalmol.* 2017;47:338-43.
35. Ciulla TA, Hussain RM, Berrocal AM, Nagiel A. Voretigene neparovec-rzyl for treatment of RPE65-mediated inherited retinal diseases: A model for ocular gene therapy development. *Expert Opinion on Biological Therapy.* 2020.
36. LUXTURNA (voretigene neparovec-rzyl) US Full Prescribing Information. 2017; Available from: [http://sparktx.com/LUXTURNA\\_US\\_Prescribing\\_Information.pdf](http://sparktx.com/LUXTURNA_US_Prescribing_Information.pdf). (Erişim tarihi: 01.01.2021)
37. Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, Robbie S, Henderson R, Balagkan K, et al. Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med.* 2008;358(21):2231-9.

38. Hauswirth WW, Aleman TS, Kaushal S, Cideciyan AV, Schwartz SB, Wang L, et al. Treatment of leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: short-term results of a phase I trial. *Hum Gene Ther.* 2008;19(10):979-90.
39. Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, Pugh EN Jr, Mingozzi F, Bennicelli J, et al. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med.* 2008;358(21):2240-8.
40. Maguire AM, High KA, Auricchio A, Wright JF, Pierce EA, Testa F, et al. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet.* 2009;374(9701):1597-605. Erratum in: *Lancet.* 2010;375(9708):30.
41. Testa F, Maguire AM, Rossi S, Pierce EA, Melillo P, Marshall K, et al. Three-year follow-up after unilateral subretinal delivery of adeno-associated virus in patients with Leber congenital Amaurosis type 2. *Ophthalmology.* 2013;120(6):1283-91.
42. Maguire AM, Russell S, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, et al. Efficacy, safety, and durability of voretigene neparvovec-rzyl in RPE65 mutation-associated inherited retinal dystrophy: results of phase 1 and 3 trials. *Ophthalmology.* 2019;126(9):1273-85.
43. Russell S, Bennett J, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2017;390:849-60.
44. Jacobson SG, Cideciyan AV, Roman AJ, Sumaroka A, Schwartz SB, Heon E, et al. Improvement and decline in vision with gene therapy in childhood blindness. *N Engl J Med.* 2015;372:1920-6.
45. Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, Robbie SJ, Barker SE, Ripamonti C, et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med.* 2015;372:1887-97.