مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۲۱/هفته اول فروردین ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۳

بازسازی سلول‌های شبکیه‌ی چشم توسط سلول بنیادی

فاطمه ناظم رعایا[۱]، راضیه حیدری[۱]، دکتر مجید خیراللهی[۲]

مقاله مروری

چکیده

در بیماری‌هایی چون دژنراسیون ماکولا وابسته به سن (AMD یا Age-related macular degeneration)، رتینیت پیگمنتوزا (RP یا Retinitis pigmentosa) و... با از بین رفتن سلول‌های شبکیه، دید مرکزی شبکیه از بین می‌رود. تاکنون راهی به منظور جایگزینی کل چشم یافت نشده است، اما جایگزینی سلول‌های شبکیه موفقیت‌هایی را در جانوران داشته است، با این که این راه کار هنوز درمان قطعی را در انسان ایجاد نکرده است. به منظور جایگزینی سلول‌های شبکیه، سلول‌های بنیادی در مناطق مختلف چشم از قبیل اجسام مژکی، عنبیه، Müller glia، سلول‌های بنیادی مغز استخوان و نیز سلول‌های جنینی استفاده شده است. در این مقاله‌ی مروری، با تأکید بر وجود فاکتورهای رشد در القا و تمایز سلول‌های بنیادی به بازسازی نورون‌های ویژه‌ی شبکیه پرداخته شد.

واژگان کلیدی: سلول بنیادی، شبکیه، چشم

ارجاع: ناظم رعایا فاطمه، حیدری راضیه، خیراللهی مجید. **بازسازی سلول‌های شبکیه‌ی چشم توسط سلول بنیادی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۲۱): ۶۹-۵۴

مقدمه

در طی روند تکاملی موجودات زنده، چشم نیز مانند دیگر اندام‌ها از ساده‌ترین نوع خود در موجودات ابتدایی به پیچیده‌ترین و مجهزترین ساختارها برای جذب و پردازش نور و تبدیل آن به تصاویر قابل مشاهده مانند آنچه که انسان از آن برخوردار می‌باشد، تکامل پیدا کرده است. عملکرد چشم در بیشتر مهره‌داران به این صورت است که نور پس از ورود به داخل چشم، بر روی لایه‌ای از سلول‌های حساس به نور به نام شبکیه در پشت چشم تابانده می‌شود. سلول‌های مخروطی و استوانه‌ای موجود در شبکیه نور را گرفته، آن را به سیگنال‌های عصبی تبدیل می‌کنند. سپس این سیگنال‌ها از طریق عصب بینایی به مغز فرستاده می‌شوند (۱).

بافت شبکیه در قسمت خلفی چشم قرار دارد و به نور حساس است. پس از دریافت نور، آبشاری از وقایع شیمیایی و الکتریکی در شبکیه ایجاد می‌شود که در نهایت به صورت پالس عصبی به مغز فرستاده و تصویر ایجاد می‌شود. شبکیه و عصب بینایی در مهره‌داران در طی دوران جنینی از تکامل مغز ایجاد می‌شوند. در نتیجه به عنوان بخشی از سیستم عصبی مرکزی به شمار می‌آیند. شبکیه از سلول‌های

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان، پژوهشکده‌ی پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیرواگیر و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان، پژوهشکده‌ی پیشگیری اولیه از بیماری‌های غیرواگیر و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خیراللهی
Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

گانگلیون، آماکرین دو قطبی، افقی، فتورسپتور و پوششی رنگدانه‌ای تشکیل شده است که این سلول‌ها در سه لایه‌ی مجزای داخلی، خارجی و میانی قرار گرفته‌اند (۳-۲). بیماری‌های مختلفی در چشم ایجاد می‌شود که سلول‌های رنگدانه‌ای شبکیه (RPE یا Retinal pigment epithelium) و فتورسپتورها را درگیر می‌کند و به دنبال آن دید فرد بیمار کم می‌شود و در نهایت به کوری می‌انجامد که از جمله این بیماری‌ها می‌توان به بیماری دژنراسیون ماکولا وابسته به سن (Age-related macular degeneration یا AMD)، رتینیت پیگمنتوزا (Retinitis pigmentosa یا RP) و... اشاره کرد.

بیماری AMD

چشم در طول زندگی ممکن است دچار بیماری‌های مختلفی شود که بعضی از آن ها قابلیت درمان ندارد و موجب کوری می‌شوند. از جمله بیماری های شایع درگیر کننده‌ی شبکیه‌ی چشم، بیماری دژنراسیون ماکولا وابسته به سن است. در این بیماری، فرد بیمار دید مرکزی خود را به علت آسیب و تخریب ماکولا یا لکه ی زرد شبکیه از دست می‌دهد و به دنبال آن در خواندن، رانندگی، تشخیص چهره‌ها و تشخیص جزییات که نیاز به دید دقیقی دارد، دچار مشکل می‌شود (۴). این بیماری در افراد بالای ۶۵ سال و در جوامع صنعتی به فراوانی مشاهده می‌شود. ماکولا یا لکه‌ی زرد در بخش مرکزی شبکیه واقع شده است. تراکم فتورسپتورهای مخروطی در این ناحیه بالا می‌باشد و در نتیجه، مسؤول دید مرکزی با کیفیت بالا است (۵).

یکی از تغییراتی که با افزایش سن در چشم رخ می‌دهد، رسوبات زرد رنگ و غیر سلولی بین لایه‌ی سلول‌های RPE و لایه‌ی Bruch است. این رسوبات محلی که به آن‌ها Drusen گفته می‌شود، در معاینات عمقی چشم به صورت ضایعات زرد کمرنگ مشاهده می‌شود که ممکن است هم در ماکولا و هم در اطراف شبکیه وجود داشته باشد (۱). این بیماری دو نوع خشک و خیس دارد. در سراسر جهان پس از بیماری‌های آب مروارید (Cataract) و آب سیاه (Glaucoma)، بیماری AMD سومین عامل مهم نابینایی با احتمال ۸/۷ درصد می‌باشد (۶).

بیماری RP

این بیماری یک بیماری دژنراتیو شبکیه است که به صورت ارثی و غیر سندرمی (در حالت‌های مختلف اتوزوم غالب، اتوزوم مغلوب و وابسته به کروموزوم X) شناخته می‌شود (۷). شکل غیر ارثی، موردی و سندرمی بیماری نیز وجود دارد که در سنین پایین‌تری نسبت به انواع دیگر بیماری بروز می‌کند و سن ابتلا به آن متغیر می‌باشد (۷) و در آن سلول‌های RPE و فتورسپتور درگیر است و با کاهش جمعیت فتورسپتورها و رسوب رنگدانه‌ها در شبکیه همراه است (۸). در این بیماری، در ابتدا فتورسپتورهای استوانه‌ای تحت تأثیر قرار می‌گیرند و تخریب می‌شوند که در نتیجه‌ی آن، بیمار به شب کوری مبتلا می‌شود و دید جانبی او در روز نیز تحلیل می‌رود. با پیشرفت بیماری، فتورسپتورهای مخروطی نیز درگیر بیماری می‌شوند و دید مرکزی نیز تحلیل می‌رود. سرعت پیشرفت بیماری متغیر است، در مواردی روند بیماری از حد طبیعی شدیدتر است و در نهایت فرد بینایی خود را از دست می‌دهد. در موارد دیگری روند پیشرفت بیماری بسیار کند است و هیچ گاه به

کوری نمی‌انجامد. در برخی موارد نیز دید مرکزی مشکلی پیدا نمی‌کند (۷).

از آن‌جا که RP یک بیماری ژنتیکی است، دانشمندان تلاش‌های فراوانی را در جهت شناسایی ژن‌های دخیل در این بیماری انجام داده‌اند. تاکنون ۴۵ ژن مرتبط با نوع غیر سندرمی بیماری شناسایی شده است (۷). به طور کلی ژن‌های مرتبط با RP، آن‌هایی هستند که به طور اختصاصی در فتورسپتورها یا سلول‌های RPE بیان می‌شوند. سلول‌های RPE در بیماری‌هایی مانند AMD، RP و... تخریب می‌شوند، در نتیجه محققین به فکر بازسازی و درمان این سلول‌ها افتادند (۱۰-۹). تاکنون راه‌های درمانی مختلفی از جمله جراحی، دارویی و... در جهت درمان یا بازسازی سلول‌ها استفاده شده که هیچ یک درمان قطعی را به دنبال نداشته است (۱۵-۱۱).

درمان سلول‌های بنیادی (Stem cell)

همان‌طور که در مقدمه بیان شد، سلول‌های شبکیه در اثر بیماری‌های مختلفی مانند AMD، RP و... از جمله فتورسپتورها دچار اختلال می‌شوند و دید فرد کم و موجب نابینایی فرد می‌شود. درمان‌های متعددی مانند لیزر درمانی، درمان‌های دارویی، جراحی و فتودینامیک تراپی (Photodynamic therapy یا PDT) (۱۳) برای درمان این بیماری‌ها به کار گرفته شده است، اما هیچ یک از این راه‌ها به طور قطع موجب درمان و بازگشت بینایی نشده است و حتی گاهی اوقات موجب آسیب به سلول‌های مجاور نیز می‌شود (۱۵-۱۱). بنابراین دانشمندان به فکر راهکارهای دیگری افتادند. آن‌ها به منظور بازسازی شبکیه (Regeneration retinal) دو نکته را مورد توجه قرار دادند. نکته‌ی اول تمایز سلول‌های همسایه‌ی منطقه‌ی آسیب دیده در فرایند Dedifferentiation و به دنبال آن Redifferentiation به سمت رده‌ی خاص سلولی که به این پدیده Trans differentiation گفته می‌شود و دومین نکته، سلول‌های بنیادی در نقاط مختلف بدن است (۱۶-۱۵).

بازسازی شبکیه در مهره‌داران پست به صورت قوی‌تری نسبت به چشم پستانداران انجام می‌شود. وجود فاکتورهای رشد مناسب از جمله IGF (Insulin-like growth factor)، FGF2 (Fibroblast growth factor-2)، EGF (Epidermal growth factor) و انسولین به منظور تحریک و تولید نورون از سلول‌های پروژنیتوری شبکیه (Retinal progenitor cells یا RPC) لازم است.

به طور کلی تقسیم‌بندی سلول‌ها به منظور بازسازی نورون‌های ویژه‌ی شبکیه به سه طریق انجام می‌شود (۱۹-۱۶).

۱- Eye drived progenitor cell شامل سلول‌های عصبی شبکیه (Neural retinal cells)، سلول‌های اپیتلیوم عنبیه (Iris epithelium cells) و سلول اجسام مژکی (Ciliary body cell).

۲- Non-eye drived progenitor cell شامل سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMS یا Bone marrow stem cell)، سلول‌های عصبی مولد (Neural progenitor cell یا NPC) و سلول‌های بنیادی جنینی (Embryonic stem cell یا ESC).

۳- Trans differentiation سلول‌های بالغ شامل Müller glia، RPE و پوست.

اجسام مژکی (Ciliary body)

این اجسام از دو قسمت Ciliary muscle و Ciliary process تشکیل شده‌اند. Ciliary muscle به مردمک متصل است و در تنگ و گشاد شدن مردمک و تغییر حالت آن دخالت دارد و Ciliary process در ترشح زلالیه، تولید و حفظ لنز و تطابق عمل می‌کند (۱۷). اجسام مژکی جزء سلول‌های خاموش چند توانی (Multipotent) و Eye drived progenitor به شمار می‌آیند و در دو لایه‌ی داخلی و خارجی ترتیب‌بندی شده‌اند. لایه‌ی داخلی به صورت سلول‌های اپیتلیوم غیر پیگمانته (NPE یا Non-pigmented epithelium cells) و لایه‌ی خارجی به صورت سلول‌های اپیتلیوم پیگمانته (PE یا Pigmented epithelium cells) مشاهده می‌شوند (۲۱).

سلول‌های اجسام مژکی در پستانداران بالغ دارای خصوصیت سلول‌های عصبی مولد و سلول‌های بنیادی است. این سلول‌ها در محیط مجاز تحت فاکتورهای رشد مناسب قادر به تمایز به نورون‌های بینایی می‌باشند. تک سلول‌های جدا شده در شرایط آزمایشگاهی و در محیط مجاز توانایی تولید فتورسپتور، سلول‌های Müller glia و سلول‌های دو قطبی را دارند (۲۲).

مطالعات انجام شده در جوجه‌ی ایتالیایی نشان داده است که NPE کشت شده در آزمایشگاه در حضور فاکتورهای رشد EGF و FGF2 قادر به تمایز به نورون‌های بینایی است. همچنین در حضور عواملی مانند انسولین و FGF2 قادر به بیان نشانگرهای PKC (Protein kinase C)، Visinin و کولین استیل ترانسفراز و در نتیجه تمایز به سلول‌های آماکرین و گانگلیون می‌باشد (۱۷).

مطالعات اخیر، اجسام مژکی انسان را به عنوان منبع RPC و بیان کننده‌ی نشانگرهایی مانند Nestin، Sox2، CHX10 و PAX6 معرفی کرده‌اند (۲۲-۲۰، ۱۷). محیط مجاز در بدن اغلب پستانداران بالغ وجود ندارد، در نتیجه تحقیقات آینده به منظور بررسی تبدیل محیط غیر مجاز به محیط مجاز صورت خواهد گرفت.

سلول‌های IPE (Iris pigmented epithelium cells)

عنبیه بافتی چند لایه است که ورود نور به چشم را کنترل می‌کند و بین قسمت جلو و عقب چشم قرار دارد. سلول‌های موجود در عنبیه به طور معمول قادر به تولید نورون نمی‌باشند، اما در اثر بیماری‌هایی مانند AMD منبع درمانی خوبی به شمار می‌آیند. سلول‌های چند توانی عنبیه در مواجهه با بیماری‌ها مهاجرت کرده، در حضور فاکتورهای رشد مناسب همچون FGF2، قادر به تولید آنتی‌ژن ویژه‌ی نورون‌های تمایز یافته می‌باشند (۲۳، ۱۷). IPE از دو لایه‌ی سلولی داخلی و خارجی تشکیل شده است که تفاوت دو لایه در بیان ژن Nestin می‌باشد و در نتیجه دو لایه پتانسیل تمایزی متفاوتی را نشان می‌دهند.

تحقیقات نشان داده است که جنین در E2 تحت FGF2 و EGF ملانین خود را از دست می‌دهد و به نروسفر تبدیل می‌شوند. نروسفرها قادر به بیان نشانگرهای PAX6 و Vimentin هستند و در شرایط مناسب در کشت‌های همراه با کلاژن و FGF2، نشانگر ویژه‌ی نورون Rhodopsin سلول‌های استوانه‌ای (Idiopsin) (سلول‌های مخروطی)،

PKC (سلول‌های دو قطبی) و HPCL (Human perineurial cell lysate) (سلول‌های آماکرین) مشاهده می‌شود (۱۷).

سلول‌های RPC

شبکیه از لایه‌ی داخلی وزیکول بینایی Cup shaped optic تشکیل شده است. دو مکان عمومی (Nitch) به منظور حفظ ساختمان سلول‌های بنیادی با خصوصیت Pluripotent و Self-renew وجود دارد که شامل ناحیه‌ی بین نورون‌های شبکیه و اجسام مژکی (Ciliary marginal zone یا CMZ) و محیط اطراف Müller glia می‌باشد (۲۱). سلول‌های پروژنیتوری شبکیه در CMZ لبه‌ی جانبی شبکیه در گونه‌های پست مثل ماهی دوزیست و در لبه‌ی جانبی شبکیه‌ی جوجه (بافتی هماهنگ با CMZ) حاوی سلول‌های دارای پتانسیل تکثیر و تمایز به نورون‌های شبکیه در پاسخ به فاکتورهای رشد مانند IGF1 و EGF است (۲۰، ۱۷). CMZ در گونه‌های عالی‌تر (مانند موش) یافت نشده است که این پدیده در نتیجه‌ی کاهش در اندازه‌ی CMZ در طی تکامل مهره‌داران است. در انسان نقاطی مشابه با CMZ در مکان اتصال نورون به اجسام مژکی قرار دارد (۲۱).

سلول‌های پروژنیتوری شبکیه در چشم انسان از مراحل اولیه بعد از تولد تا سن ۷۰ سالگی یافت می‌شوند. لانه‌گزینی (Transplant) این سلول‌ها در چشم موش دو روزه و جنین جوجه نشان داد که آن‌ها توانایی زنده ماندن، مهاجرت و تمایز به نورون‌های شبکیه را دارند، بنابراین منبع مناسب درمانی به شمار می‌روند (۱۷).

سلول‌های پروژنیتور حاصل از CMZ در محیط کشت تشکیل کلنی شرایط آزمایشگاهی، حاوی سلول‌های بیان کننده‌ی نشانگر مخصوص تکثیر شونده (ki67) و نشانگر پروژنیتوری Nestin بودند. این گروه توانسته بودند سلول‌های پروژنیتور را به سمت نورون‌های شبکیه تمایز دهند؛ به طوری که سلول حاصل شده در محیط تمایزی نشانگرهای Rod (فتورسپتور)، GFAP (Glial fibrillary acidic protein) (گلیا) و MAP2 (Microtubule-associated protein 2) (رده‌ی سلول عصبی) را بیان می‌کند. سلول‌های پروژنیتوری بعد از پیوند به شبکیه‌ی موش بیمار، قادر به تمایز به فتورسپتور و بیان نشانگر آن و شرکت در واکنش نوری بودند (۲۱). سلول‌های گانگلیون توسط CMZ جوجه به طور طبیعی تولید نمی‌شود، اما در حضور FGF2 همراه با انسولین بدون افزایش در تکثیر، تمایز را تحریک می‌کند (۲۱).

مطالعات انجام شده نشان داده است که RPC جدا شده از نورون‌های شبکیه از جنین E17 در محیط حاوی FGF2 و Neurotrophin3 با بیان Rhodopsin، Recoverin، Calretinin، Calbindin و I-antigen می‌تواند به سلول‌های گلیا و نورون‌های ویژه‌ی شبکیه تبدیل شود. همچنین RPC جدا شده از جنین E17 تحت محیط EGF می‌تواند زنده بماند، تکثیر شود و با بیان Opsin، به فتورسپتورها تمایز یابد (۱۷). تحقیقات دانشمندان وجود RPC را در زجاجیه‌ی چشم آسیب دیده تأیید کرد. یافته‌ها به این نتیجه رسیدند که شبکیه‌ی آسیب دیده لانه‌گزینی را تحریک می‌کند و موجب مهاجرت و تمایز در بدن میزبان می‌شود (۲۳). تمام نورون‌های شبکیه در جوجه به صورت طبیعی تولید نمی‌شود. نورون‌های

تولید شده به لبه‌ی جانبی شبکیه می‌آیند. بیان نشانگر سلول‌های دو قطبی و آماکرین و عدم بیان نشانگر سلول‌های افقی و فتورسپتورها تأیید کننده‌ی این مطلب است (۲۴).

سلول‌های NPC

سلول‌های NPC از سیستم عصبی مرکزی جدا می‌شوند و در درمان آسیب‌های شبکیه به کار می‌روند. این سلول‌ها بر خلاف سلول‌های بنیادی جنینی فقط به رده‌ی سلولی گلیا و نورون تبدیل می‌شوند و کار با این سلول‌ها از نظر اخلاقی مشکلی به دنبال ندارد. سلول‌های NPC از بیمار و یا جسد فرد بالغ جدا شده، بعد از لانه‌گزینی به لایه‌ی داخل شبکیه مهاجرت می‌کنند و در آن‌جا گسترش می‌یابند. سپس به لایه‌ی سلولی گانگلیون مهاجرت کرده، در نهایت به عصب بینایی می‌روند (۲۱). این سلول‌ها بعد از لانه‌گزینی در فضای زجاجی، با سلول‌های مختلف هماهنگ می‌شوند. تحقیقات نشان می‌دهد که این سلول‌ها قادر به هماهنگی با محیط هتروژنوس در بدن فرد بالغ و همچنین بیان بعضی از نشانگرهای نورون‌های شبکیه می‌باشند. EGF و TGFα (Transforming growth factor α) بر روی سلول‌های پروژنیتوری شبکیه اثر میتوژنی دارند. EGFR (Epidermal growth factor receptor) توسط سلول‌های پروژنیتوری بیان می‌شود و گیرنده‌ی این پیام میتوژنی می‌باشد. TGFα موجب تحریک سلول‌های آماکرین و مهار کننده‌ی سلول‌های استوانه‌ای است. FGF نیز در مراحل اولیه‌ی تکامل اثر میتوژنی خود را القا می‌کند، بنابراین NPC تحت شرایط مجاز عامل درمانی مناسبی به شمار می‌آید.

سلول‌های BMS

سلول‌های بنیادی مغز استخوان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی بالغی هستند که به صورت جمعیت هتروژنوس و چند توانی در مغز استخوان ترتیب یافته‌اند. این سلول‌ها از طریق رگ خونی به بافت آسیب دیده می‌روند [کنترل توسط کوکاین‌ها از جمله SDF1 (Stromal cell-derived factor 1) که در مهاجرت اثر دارد]. در نتیجه اینترلوکین کموتاکسین فاکتورهای رشد و فاکتورهای التهابی موجب مهاجرت و هماهنگی می‌شوند (۲۵).

دو هفته بعد از لانه‌گزینی در فضای Subretinal، این سلول‌ها قادر هستند به سلول‌های شبکیه ملحق شوند و تحت شرایط Taurine، EGF و Activin A تبدیل به فتورسپتورها شوند و نشانگرهای Opsin، Recoverin و Rhodopsin را بیان کنند. سلول‌های بنیادی مغز استخوان با PKC-67 نشان‌دار و در فضای زجاجیه لانه‌گزینی می‌شوند و مشاهده می‌گردد که بعد از دو هفته با سلول‌های محل آسیب دیده هماهنگ می‌شوند و نشانگرهای Rhodopsin، Calbindin و Vimentin را تولید می‌کند (۲۶).

Klassen و همکاران در مطالعه‌ی خود توانستند سلول‌های پروژنیتوری را از CMZ موش جدا کنند و در شرایط آزمایشگاهی کشت دهند. این سلول‌ها در محیط مناسب کشت (فاکتور رشد FGF2)، کلنی‌های سلولی را تشکیل دادند که حاوی سلول‌های بیان کننده‌ی نشانگر مخصوص سلول‌های تکثیر شونده یعنی Ki-67 و نشانگر ویژه پروژنیتورهای عصبی یعنی Nestin بودند. سلول‌های پروژنیتوری در محیط مجاز که حاوی فاکتورهای رشد است، قادر هستند سلول‌های Müller glia، فتورسپتورها و سلول‌های دو

قطبی را تولید کنند؛ به طوری که سلول‌های حاصل شده در محیط تمایزی نشانگرهای GFAP، Rhodopsin و MAP2 را بیان می‌کردند که به ترتیب نشانگر اختصاصی سلول‌های گلیا، فتورسپتورهای استوانه‌ای و رده‌ی سلول‌های عصبی می‌باشند. همچنین این سلول‌ها پس از پیوند به شبکیه‌ی موش بیمار نیز قادر بودند به فتورسپتورها تمایز یافته، نشانگرهای اختصاصی آن‌ها را بیان کنند و از همه مهم‌تر در واکنش‌های پاسخ به نور شرکت نمایند (۲۷).

در هنگام آسیب به لایه‌ی سلولی RPE، سلول‌های RPE با فراهم آوردن PEDF (Pigment epithelium-derived factor)، سلول‌های محل آسیب را حمایت می‌کنند و موجب مهاجرت سلول‌های بنیادی مغز استخوان به محل آسیب می‌شوند. در تحقیقات انجام شده بر روی ۴۳ بیمار مشخص شد که سلول‌های بنیادی مغز استخوان لانه‌گزینی شده در لایه‌ی RPE، بدون Cell fusion قادر به تمایز به سمت RPE هستند (۱۷). مشکلاتی از جمله به دست آوردن سخت و محدودیت دسترسی، عدم تولید همه‌ی رده‌های سلولی و رد پیوند (اگر نمونه از فرد غیر از بیمار باشد) کار با سلول‌های بنیادی مغز استخوان را مشکل کرده است.

سلول‌های بنیادی مغز استخوان به منظور لانه‌گزینی در شبکیه، نسبت به سلول‌های بنیادی شبکیه بهتر عمل می‌کنند و تراتوما تشکیل نمی‌دهند. این سلول‌ها هم در شرایط طبیعی و هم آزمایشگاهی به شکل غیر مزانشیمی تمایز می‌یابند. مطالعات نشان داد که سلول‌های بنیادی مغز استخوان قادر هستند در شرایط مجاز به سلول‌های فتورسپتور تمایز یابند و همین موارد این رده‌ی سلولی را به عنوان رده‌ی مطلوب در درمان مطرح کرده است (۱۷).

سلول‌های ESC

سلول‌های بنیادی پلوری پوتنت (Pluripotent) جنینی توسط آنزیم پروناز از ICM (Inner cell mass) بلاستوسیت جدا شده، قادر به تولید سه لایه‌ی جنینی می‌باشند. این سلول‌ها می‌توانند نورون‌های ویژه‌ی شبکیه را تمایز دهند. بر اساس نتایج مطالعات، از سلول‌های بنیادی جنینی در درمان آسیب شبکیه‌ی موش استفاده شده است (۲۸-۲۷). این سلول‌ها توسط رتینوئیک اسید (Retinoic acid یا RA) و bFGF القا می‌شوند و بازسازی را در شبکیه‌ی آسیب دیده به عهده می‌گیرند. بعد از لانه‌گزینی این سلول‌ها در فضای Subretinal، سلول‌های بنیادی جنینی مورفولوژی و فیزیولوژی مشابه با سلول‌های RPE پیدا می‌کنند. بنابراین سلول‌های بنیادی جنینی در شرایط آزمایشگاهی پیش‌ساز RPE است و در محیط بدن RPE monolayer را تشکیل می‌دهد (۲۹).

پریمات و رودنت تحت شرایط Taurine، Sonic hedgehog، RA و FGF قادر به تولید سلول‌های ویژه‌ی شبکیه می‌باشند (۱۷). سلول‌های بنیادی جنینی انسان (hESC) تحت شرایط سلنیوم، ترانسفرین، انسولین و رتینوئیک اسید قادر به بیان نشانگر سلول‌های پروژنیتوری (Notch1، PAX6 و Nestin)، نشانگر سلول‌های دو قطبی (PKC و Chx10)، نشانگر سلول‌های پروژنیتوری فتورسپتور (RX، CRX و NRL) و نشانگر سلول‌های استوانه‌ای (ردوپسین کیناز، ارستین، IRBS و پریفورین) هستند. همچنین توسط فاکتورهای bFGF و Activin A

حالت غیر تمایزی خود را حفظ می‌کنند (۲۹، ۱۷).

یافته‌ها نشان داده است که سلول‌های بنیادی جنینی انسان با کارایی بالایی قادر هستند تحت شرایط مجاز [Noggin، Dkk1 (Dickkopf-1) و IGF] به سلول‌های پروژنیتوری شبکیه تبدیل شوند (۳۱-۳۰). Lamba و همکاران در مطالعه‌ی خود توانستند در روشی جدید و با تزریق فاکتورهای رشد، سلول‌های بنیادی جنینی را به سمت سلول‌های پروژنیتوری شبکیه هدایت کرده، سپس این سلول‌ها را به سمت سلول‌های عصبی شبکیه از جمله سلول‌های گانگلیون و آماکرین تمایز دهند (۳۰)، اما از آن‌جا که استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی همیشه با مسایل اخلاقی، رد پیوند و مشکلاتی از قبیل خطر تشکیل تومور همراه است، استفاده از آن‌ها محدود شده است (۱۷).

سلول‌های IPS (Induced pluripotent stem cells)

در این پدیده سلول‌های پیکری فرد بیمار تحت شرایط خاص به سلول‌های بنیادی و سپس سلول‌های بنیادی به سلول مورد نظر تبدیل می‌شود که به این پدیده Trans differentiation می‌گویند. تحقیقات نشان می‌دهد که سلول‌های پوست توانایی تشکیل سلول‌های RPE را دارند. سلول‌های پوست را در مکانی مشابه با مکان سلول RPE قرار می‌دهند و تولید پروتئین‌های سلول RPE نشان دهنده‌ی تمایز رخ داده است. این‌که سلول‌ها RPE خالص هستند و یا این‌که تشکیل تومور می‌دهند، امتحان نشده است (۲۴).

Müller glia

سلول‌های گلیا در بخش مرکزی شبکیه قرار دارند و در پاسخ به آسیب وارد شده وارد سیکل سلولی می‌شوند و به صورت پروژنتوری به بیان PAX6 و Chx10 می‌پردازند. FGF در محیط همراه با Neurotrophic factor، در حفظ حالت فتورسپتورها دخالت دارد (۱۷). سه هفته بعد از آسیب، سلول‌های پروژنیتوری تشکیل می‌شوند. حدود ۷۰ درصد از سلول‌های پروژنیتوری به صورت غیر تمایزی باقی می‌مانند و تولید PAX6 را ادامه می‌دهند. ۵ درصد از سلول‌ها به صورت نورون‌های ویژه (از جمله فتورسپتورها) تمایز می‌یابند. حدود ۳۰-۲۵ درصد نیز Müller glia جدید تشکیل می‌دهند و تعداد کمی به سلول‌های استوانه‌ای و دو قطبی تبدیل می‌شوند.

انسولین و FGF به طور هم‌زمان Müller glia را تحریک می‌کنند و به دنبال آن بیان PCNA (Proliferating cell nuclear antigen)، Chx10 و PAX6 و القای Progenitor like cell در منطقه‌ی جانبی، تحریک Müller glia در دوباره وارد شدن به سیکل سلولی و تحریک Müller glia جدید و نورون در منطقه‌ی جانبی به وجود می‌آید (۳۱). CNTF (Ciliary neurotrophic factor)، FGF و IGF منجر به تکثیر Müller glia، Dedifferentiation مولر گلیا و تولید Progenitor like cell شامل مولر است که نوعی گلیال تخصص یافته در شبکیه می‌باشد و نقش محافظتی برای نورون‌های شبکیه و انسجام ساختار آن‌ها را دارد. در اثر آسیب، در حضور FGF2 و انسولین می‌تواند به چرخه‌ی سلولی بازگردد و تکثیر و تولید فاکتورهای پروژنیتوری CASH، Chx10 و PAX6 را انجام دهد و به نورون شبکیه و گلیا تمایز یابد (۱۷). Müller glia توسط مسیر سیگنالی Wnt/Notch تنظیم می‌شود و RPC حاصل از آن

توسط Wnt/β-catenin تکثیر می‌شود. Müller glia منبع مهم درمانی در ماهی و دوزیست به شمار می‌رود و منبع تولید گانگلیون‌ها در جنین جوجه می‌باشد (۳۱).

سلول‌های RPE

سلول‌های RPE سلول‌های مونوهگزاگونال قطبی با ظاهر مکعب استوانه‌ای هستند که از میلیون‌ها پیگمان تیره تشکیل شده‌اند. برآمدگی مو مانندی به نام Microvilli در بخش خارجی RPE وجود دارد که بین فتورسپتور و سلول‌های RPE است. در نتیجه، هر سلول RPE با بیست یا بیشتر فتورسپتور ارتباط دارد و این ارتباط فیزیکی، پیوستگی و دوام شبکیه را تأمین می‌کند.

منبع دیگری از سلول‌ها که توجه دانشمندان را به خود جلب کرد، سلول‌های بالغ RPE است. این سلول‌ها ابتدا از حالت تمایز یافته به حالت بنیادی تبدیل می‌شوند و سپس در محیط مجاز قادر هستند که نورون‌های شبکیه را تولید نمایند. سلول‌های RPE در مهره‌داران ساده مانند دوزیستان می‌توانند سلول‌های عصبی را جایگزین کنند (۳۲)، اما این توانایی در سلول‌های RPE انسان وجود ندارد. در طی مطالعات بسیاری ثابت شده است که این سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی توانایی قابل توجهی برای تکثیر و دگرتمایزی به سایر سلول‌های موجود در شبکیه را دارند. Liang و همکاران در تحقیق خود توانستند از طریق وارد کردن ژن NeuroD به داخل سلول‌های RPE، آن‌ها را به سمت فتورسپتورها تمایز دهند. سلول‌های تمایز یافته پس از پیوند به مدل حیوانی به تکامل خود ادامه داده، نشانگرهای اختصاصی فتورسپتورها مانند Rhodopsin را بیان می‌کردند (۳۳). Mao و همکاران در مطالعه‌ی مشابهی توانستند با وارد کردن ژن ASH1 (Achaete-scute homolog 1) به سلول‌های RPE، این سلول‌ها را به سمت نورون‌های شبکیه به خصوص سلول‌های آماکرین تمایز دهند (۳۴). سلول‌های به دست آمده نیز از نظر عملکرد مشابه سلول‌های آماکرین شبکیه عمل می‌کردند. Burke و Hjelmeland (۳۵) و Amemiya و همکاران (۳۶) با اثر دادن رتینوئیک اسید بر کشت‌های RPE، توانستند نورون‌های شبکیه را به دست آورند.

همان‌طور که در منابع مختلف آمده است، سلول‌های RPE تثبیت شده در شرایط آزمایشگاهی بسیار پیگمانته و در اشکال مختلفی مشاهده شده‌اند که به تدریج مورفولوژی کشیده با استطاله‌های بلند پیدا کردند و رنگدانه‌های خود را از دست داده و در محیط رها می‌کردند. در کشت‌های جوان سلول‌های RPE که در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد FBS (Fetal bovine serum) کشت داده شده بودند، کلنی‌های عظیم سلولی خورشیدی شکل به دفعات فراوان مشاهده گردید. همچنین در مطالعات قبلی مشخص شد که این سلول‌ها در محیط کشت فاقد هر گونه افزودنی حتی FBS می‌توانند کلنی‌های سلولی مذکور را تشکیل دهند (۳۷). این موضوع می‌تواند نشان دهنده‌ی هتروژن و ناهمگون بودن جمعیت سلول‌های RPE و وجود جمعیت کوچکی از سلول‌هایی با توانایی تکثیر و تشکیل کلنی در حد سلول‌های بنیادی یا پروژنیتوری در بین سلول‌های RPE باشد. همان‌گونه که Burke و Hjelmeland در مطالعات خود عنوان کردند که سلول‌های RPE از

نظر مورفولوژی، مقدار گرانول‌های رنگدانه در سیتوپلاسم خود و بیان پروتئین‌ها جمعیت هتروژن و موزائیکی را تشکیل می‌دهند (۳۵). جمعیت کثیری از سلول‌ها در کشت سلول‌های RPE مایع آمنیوتیک با غلظت ۳۰ درصد تشکیل نوروسفر دادند و بقیه‌ی سلول‌ها به صورت تک باقی ماندند، اما مورفولوژی‌های مختلفی پیدا کردند.

بنابراین سلول‌های RPE سلول‌های بالغی هستند که توانایی Trans differentiation را دارند. جوجه و رت در شرایط مجاز سلول‌های RPE پیگمان خود را از دست می‌دهند و مورفولوژی شبیه به سلول‌های پروژنیتوری پیدا می‌کنند. سلول‌های RPE تحت شرایط مجاز BHLH (Basic helix-loop-helix)، FGF2 و bFGF قادر به تولید فتورسپتورها می‌باشند (۱۷). سلول‌های RPE جنین جوجه و قورباغه در محیط بدن و تحت شرایط FGF2 و FGF1 قادر به Trans differentiation هستند، اما اگر تحت محیط Activin A، TGFβ، NGF (Nerve growth factor) و EGF قرار گیرند، ناتوان می‌شوند.

PAX6، MITF (Microphthalmia-associated transcription factor) و FGF2 موجب تبدیل سلول‌های RPE به نورون‌های شبکیه می‌شوند و IGF و EGF القا کننده‌ی تکثیر سلولی هستند. سلول‌های شبکیه در بسیاری از گونه‌ی دوزیستان از RPE مشتق می‌شوند. آن‌ها توانایی گسترش به صورت RPE و یا نورون‌های شبکیه را دارند. بازسازی دوباره نورون‌های شبکیه از سلول‌های RPE در حیوانات خونگرم مانند جنین جوجه و... در مرحله‌ی ۱۴-۱۰ جنینی (روز ۵-۲) صورت می‌گیرد و فاکتورهای خانواده‌ی FGF در این مورد اثر مثبتی دارند (۱۷).

بنابراین سلول‌های RPE منبع مناسب درمان در ماهی، دوزیستان، جنین جوجه و پستانداران است.

بحث

اولین مطالعات آزمایشگاهی در اوایل دهه‌ی ۱۹۸۰ برای بازسازی عملکرد بینایی شامل پیوند (Transplantation) کل چشم در سمندر (Salamander) بدون چشم، لانه‌گزینی اعصاب جانبی درون چشم رت بالغ، پیوند شبکیه‌ی جنین رت در منطقه‌ی آسیب دیده‌ی شبکیه‌ی رت بالغ، تمایز سلول‌های بنیادی خون‌ساز، سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های بنیادی مغز به سلول‌های پروژنیتوری شبکیه انجام شد. سلول‌های بنیادی شبکیه در موش، رت، گاو و انسان در سیستم عصبی مرکزی تا سال ۲۰۰۰ ناشناخته بود (۱۵).

منابع سلول‌های بنیادی متعددی برای چنین مقاصدی وجود دارد که می‌توان آن‌ها را به انواع پروژنیتورهای مادری مشتق شده از چشم (که از انواع آن می‌توان به سلول‌های پروژنیتوری جدا شده از اجسام مژگانی، سلول‌های پروژنیتوری جدا شده از عنبیه و... اشاره کرد) و انواع سلول‌های بنیادی مشتق شده از منابع غیر از چشم (که از انواع آن‌ها می‌توان به سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های بنیادی مغز استخوان و سلول‌های پروژنیتور عصبی) تقسیم‌بندی کرد. منابع سلولی مختلفی از جمله سلول‌های RPE در جنین جوجه، سمندر، قورباغه، Rod progenitor در ماهی، سلول‌های Müller glia در پرنده و ماهی، سلول‌های بنیادی منطقه‌ی مرکزی شبکیه در ماهی و دوزیستان برای بازسازی شبکیه در گونه‌های مهره‌داران یافت می‌شود.

سلول‌های بنیادی با هدف تأمین نقش ماتریکس خارج سلولی بر روی سطوح مختلف کشت داده شده‌اند. نقش ماتریکس خارج سلولی در اتصالات و سازماندهی سلولی، تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی و تأمین یک بستر مناسب برای ارتباط سلول با سلول و سلول و محیط است (۹). برای این منظور از سلول‌های بنیادی RPE که بر روی محیط‌های مختلف از جمله کلاژن، لامینین، فیبرینوژن و... کشت شده بودند، استفاده کردند (۳۸). با بررسی‌های نشانگرهای سلول‌های بنیادی از جمله Oct4، Sox2 و Rex1 (۳۹) و همچنین ارزیابی نشانگرهای RPE مانند ZO1 (Zonula occludens-1)، RPE65 (۴۰)، Actin، D Cathapsin و Integrin Beta β Cytokeratin، به تبدیل سلول‌های بنیادی به RPE پی بردند. باید توجه داشت که شاخص‌های رونویسی همچون MITF، OTX2 (Orthodenticle homeobox-2) و PAX6 در تخصصی شدن سلول‌های RPE دخالت دارند. سلول‌های جدا شده به روش آنزیمی در حضور فاکتورهای رشد مثل FGF یا EGF کشت داده می‌شوند (NeuronBank) و توسط نشانگرهای سطحی شناسایی می‌گردند.

بنابراین با تأمین شرایط مجاز (فاکتورهای رشد و ماتریکس خارج سلولی مناسب) می‌توان از سلول‌های بنیادی، نورون‌های ویژه شبکیه را به دست آورد و درمان مناسب را ایجاد کرد. فاکتورهای رشد مختلفی به منظور تمایز سلول‌های چشم توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج تحقیقات برخی از آنان در جدول ۱ آورده شده است. هر یک از فاکتورهای رشد شرایطی را فراهم می‌آورد که سلول‌ها در آن شرایط قادر به تمایز به نوع خاصی از سلول‌ها باشند. بنابراین شناسایی و استفاده‌ی صحیح از آن‌ها راه درمانی مناسبی در درمان بیماری‌های چشم به شمار می‌آید.

جدول ۱. فاکتورهای رشد مختلف برای تمایز اولیه‌ی سلول‌های بنیادی به سلول‌های چشم (۱۷)

نوع سلول یا بافت	فاکتور رشد	تمایز اولیه	منابع
اجسام مژکی	EGF و Insulin	نورون شبکیه نورون‌های اکتوردمی، سلول‌های پروژنیتوری شبکیه آستروسیت، الیگودندروسیت و سلول‌های دو قطبی	(۴۱-۴۲)
	FGF-2	سلول‌های گانگلیونی	
	bFGF و GDNF	سلول‌های فتورسپتور و دو قطبی	(۴۳)
	bFGF و EGF	سلول‌های پیش‌ساز عصبی	(۴۴)
	GF	سلول‌های پروژنیتوری شبکیه	(۴۵)
	FGF-2 و EGF	سلول‌های دو قطبی، آماکرین و فتورسپتور	(۴۶)
Müller glia	Not described	سلول‌های پروژنیتوری شبکیه	(۴۷)
	Activin A، bFGF، EGF، BrdUrd، Bovine insulin و رتینوئیک اسید	سلول‌های دو قطبی، آماکرین و فوتورسپتورهای استوانه‌ای	(۴۸)
	FGF-2 و Insulin	سلول‌های پروژنیتوری شبکیه و سلول‌های عصبی	(۴۹)
عنبیه	FGF-2	سلول‌های فتورسپتور استوانه‌ای	(۵۰)
	bFGF	سلول‌های پروژنیتوری شبکیه	(۵۱)
	FGF-2 و EGF	سلول‌های فوتورسپتور شبکیه، نورون‌های ویژه‌ی شبکیه، فتورسپتورهای مخروطی	(۵۲)

جدول ۱. فاکتورهای رشد مختلف برای تمایز اولیه‌ی سلول‌های بنیادی به سلول‌های چشم (۱۷) (ادامه)

نوع سلول یا بافت	فاکتور رشد	تمایز اولیه	منابع
سلول‌های رنگدانه‌دار شبکیه	bFGF و EGF	نورون	(۳۶)
	FGF-2/MEK	نورون‌های شبکیه	(۵۳)
	bFGF	نورون‌های شبکیه	(۵۴-۵۵)
	bFGF و NeuroD	سلول‌های فتورسپتور	(۳۵ ،۵۶)
سلول‌های اطراف شبکیه	IGF-1 و EGF	نورون‌های شبکیه	(۵۷)
	FGF-2 و NT-3	سلول‌های فتورسپتوری و نورون افقی	(۵۸)
سلول‌های پروژنیتوری شبکیه	EGF	سلول‌های فتورسپتوری	(۵۹)
	EGF و FGF-2	سلول‌های فتورسپتوری، آماکرین، دو قطبی	(۴۶)
سلول‌های بنیادی جنینی	EGF + FGF + Heparin	سلول‌های افقی، پیگمان‌دار شبکیه، گانگلیونی	(۶۰)
	IGF-1	سلول‌های فتورسپتور، دو قطبی، آستروسیت و نورون‌های شبکیه	(۶۱)
	رتینوئیک اسید، ITSFn+ bFGF و		
	Co-cultured with PN1 (Co-cultured with postnatal day 1)	سلول‌های شبکیه، دو قطبی، فتورسپتور و پروژنیتورهای شبکیه	(۱۸)
	Co-cultured with PA6 stromal cells	سلول‌های پیگمان‌دار شبکیه	(۶۲)
	Wnt2b	سلول‌های پیگمان‌دار شبکیه	(۲۷)
	Not described	سلول‌های گانگلیونی	(۶۳)
	Co-cultured with degenerated retina	سلول‌های افقی، دو قطبی، گانگلیونی، آماکرینی و فتورسپتورها	(۳۰)
سلول‌های بنیادی مغز استخوان	EGF و Taurine ،Activin A	سلول‌های فتورسپتور	(۶۴)
	Co-culture with RPE cell	نورون، آستروگلیا	(۲۴)
	Not described	سلول‌های نورون شبکیه	(۶۵)
سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک	VEGFa	سلول‌های پیگمان‌دار شبکیه	(۶۶)
	bFGF، GDNF، BDNF و CNTF	نورون‌های شبکیه	(۶۷)
سلول‌های بنیادی عصبی	FGF-2	سلول‌های نورون، آستروسیت و الیگودندروسیت	(۶۸)
	bFGF	سلول‌های نورون، آستروگلیا	(۶۹)

BrdUrd: Bromodeoxyuridine; GDNF: Glial cell line-derived neurotrophic factor; EGF: Epidermal growth factor; FGF-2: Fibroblast growth factor-2; IGF: Insulin-like growth factor; NT-3: Neurotrophin-3; RPE: Retinal pigment epithelium; VEGFa: Vascular endothelial growth factor A; CNTF: Ciliary neurotrophic factor; BDNF: Brain-derived neurotrophic factor

نتیجه‌گیری

تاکنون راه درمانی کامل و موفقی برای درمان بیماری‌های شبکیه پیدا نشده است. بیشتر راه‌های درمانی فقط باعث کاهش اثرات بیماری و گاهی اوقات موجب تخریب سلول‌های مجاور می‌شوند. استفاده از سلول‌های بنیادی مناسب در شرایط مجاز (عامل رشد و ماتریکس خارج سلولی مناسب) به منظور بازسازی نورون‌های شبکیه، راه درمانی شایعی نیست، اما امید است بتوان در آینده‌ی نزدیک نورون‌های ویژه‌ی شبکیه را با استفاده از این سلول‌ها بازسازی کرد و به درمان قطعی بیماری‌های شبکیه پرداخت.

References

1. Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. N Engl J Med 2008; 358: 2606-17.
2. Lamba D, Karl M, Reh T. Neural regeneration and cell replacement: a view from the eye. Cell Stem Cell 2008; 2(6): 538-49.
3. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. Physiol Rev 2005; 85(3): 845-81.
4. Ehrlich R, Harris A, Kheradiya NS, Winston DM, Ciulla TA, Wirostko B. Age-related macular degeneration and the aging eye. Clin Interv Aging 2008; 3(3): 473-82.
5. Mathews JP, Mathews D, Kelly SP. Age-related macular degeneration. Continuing Professional Development 2003: 28-38.
6. Cook HL, Patel PJ, Tufail A. Age-related macular degeneration: diagnosis and management. Br Med Bull 2008; 85: 127-49.
7. Hamel C. Retinitis pigmentosa. Orphanet J Rare Dis 2006; 1: 40.
8. Phelan JK, Bok D. A brief review of retinitis pigmentosa and the identified retinitis pigmentosa genes. Mol Vis 2000; 6: 116-24.
9. Gurney P. Is Our "Inverted" Retina Really "Bad Design?" Journal of Creation 1999; 13(1): 37-44.
10. Baraboi VA. [Melanin: structure, biosynthesis, biological functions]. Ukr Biokhim ZH (1999) 1999; 71(4): 5-14.
11. Vingerling JR, Dielemans I, Hofman A, Grobbee DE, Hijmering M, Kramer CF, et al. The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. Ophthalmology 1995; 102(2): 205-10.
12. Leibowitz HM, Krueger DE, Maunder LR, Milton RC, Kini MM, Kahn HA, et al. The Framingham Eye Study monograph: An ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975. Surv Ophthalmol 1980; 24(Suppl): 335-610.
13. Bressler NM. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: two-year results of 2 randomized clinical trials-tap report 2. Arch Ophthalmol 2001; 119(2): 198-207.
14. Friberg TR. Laser photocoagulation of eyes with drusen: will it help? Semin Ophthalmol 1999; 14(1): 45-50.
15. Boulton M, Albon J. Stem cells in the eye. Int J Biochem Cell Biol 2004; 36(4): 643-57.
16. Passier R, Mummery C. Origin and use of embryonic and adult stem cells in differentiation and tissue repair. Cardiovasc Res 2003; 58(2): 324-35.
17. Bi YY, Feng DF, Pan DC. Stem/progenitor cells: a potential source of retina-specific cells for retinal repair. Neurosci Res 2009; 65(3): 215-21.
18. Zhao X, Liu J, Ahmad I. Differentiation of embryonic stem cells into retinal neurons. Biochem Biophys Res Commun 2002; 297(2): 177-84.
19. Reh TA, Levine EM. Multipotential stem cells and progenitors in the vertebrate retina. J Neurobiol 1998; 36(2): 206-20.
20. Torquetti L, Castanheira P, de Goes AM, Marcio N. Stem cells: potential source for retinal repair and regeneration. Arq Bras Oftalmol 2007; 70(2): 371-5.
21. Raymond PA, Barthel LK, Bernardos RL, Perkowski JJ. Molecular characterization of retinal stem cells and their niches in adult zebrafish. BMC Dev Biol 2006; 6: 36.
22. Klassen HJ, Ng TF, Kurimoto Y, Kirov I, Shatos M, Coffey P, et al. Multipotent retinal progenitors express developmental markers, differentiate into retinal neurons, and preserve light-mediated behavior. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004; 45(11): 4167-73.
23. Thumann G, Hueber A, Dinslage S, Schaefer F, Yasukawa T, Kirchhof B, et al. Characteristics of iris and retinal pigment epithelial cells cultured on collagen type I membranes. Curr Eye Res 2006; 31(3): 241-9.
24. Chiou SH, Kao CL, Peng CH, Chen SJ, Tarng YW, Ku HH, et al. A novel in vitro retinal differentiation model by co-culturing adult human bone marrow stem cells with retinal pigmented epithelium cells. Biochem Biophys Res Commun 2005; 326(3): 578-85.
25. Castanheira P, Torquetti L, Nehemy MB, Goes AM. Retinal incorporation and differentiation of mesenchymal stem cells intravitreally injected in the injured retina of rats. Arq Bras Oftalmol 2008; 71(5): 644-50.
26. Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Are bone marrow stem cells plastic or heterogenous--that is the question. Exp Hematol 2005; 33(6): 613-23.
27. Aoki H, Hara A, Nakagawa S, Motohashi T, Hirano M, Takahashi Y, et al. Embryonic stem cells that differentiate into RPE cell precursors in vitro develop into RPE cell monolayers in vivo. Exp Eye Res 2006; 82(2): 265-74.
28. Hara A, Niwa M, Kunisada T, Yoshimura N, Katayama M, Kozawa O, et al. Embryonic stem cells are capable of generating a neuronal

network in the adult mouse retina. Brain Res 2004; 999(2): 216-21.
29. Vugler A, Lawrence J, Walsh J, Carr A, Gias C, Semo M, et al. Embryonic stem cells and retinal repair. Mech Dev 2007; 124(11-12): 807-29.
30. Lamba DA, Karl MO, Ware CB, Reh TA. Efficient generation of retinal progenitor cells from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(34): 12769-74.
31. Fischer AJ. Neural regeneration in the chick retina. Prog Retin Eye Res 2005; 24(2): 161-82.
32. Perron M, Harris WA. Retinal stem cells in vertebrates. Bioessays 2000; 22(8): 685-8.
33. Liang L, Yan RT, Ma W, Zhang H, Wang SZ. Exploring RPE as a source of photoreceptors: differentiation and integration of transdifferentiating cells grafted into embryonic chick eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006; 47(11): 5066-74.
34. Mao W, Yan RT, Wang SZ. Reprogramming chick RPE progeny cells to differentiate towards retinal neurons by ash1. Mol Vis 2008; 14: 2309-20.
35. Burke JM, Hjelmeland LM. Mosaicism of the retinal pigment epithelium: seeing the small picture. Mol Interv 2005; 5(4): 241-9.
36. Amemiya K, Haruta M, Takahashi M, Kosaka M, Eguchi G. Adult human retinal pigment epithelial cells capable of differentiating into neurons. Biochem Biophys Res Commun 2004; 316(1): 1-5.
37. Akrami H, Soheili ZS, Khalooghi K, Ahmadieh H, Rezaie-Kanavi M, Samiei S, et al. Retinal pigment epithelium culture; a potential source of retinal stem cells. J Ophthalmic Vis Res 2009; 4(3): 134-41.
38. Limb GA, Daniels JT. Ocular regeneration by stem cells: present status and future prospects. Br Med Bull 2008; 85: 47-61.
39. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Stem cell marker [Online]. [cited 2014 Aug 17]; Available from: URL:https://en.wikipedia.org/wiki/Stem_cell_marker
40. Rege TA, Hagood JS. Thy-1 as a regulator of cell-cell and cell-matrix interactions in axon regeneration, apoptosis, adhesion, migration, cancer, and fibrosis. FASEB J 2006; 20(8): 1045-54.
41. Fischer AJ, Reh TA. Growth factors induce neurogenesis in the ciliary body. Dev Biol 2003; 259(2): 225-40.
42. Ahmad I, Tang L, Pham H. Identification of neural progenitors in the adult mammalian eye. Biochem Biophys Res Commun 2000; 270(2): 517-21.
43. Nickerson PE, Emsley JG, Myers T, Clarke DB. Proliferation and expression of progenitor and mature retinal phenotypes in the adult mammalian ciliary body after retinal ganglion cell injury. Invest Ophthalmol Vis Sci 2007; 48(11): 5266-75.
44. Moe MC, Kolberg RS, Sandberg C, Vik-Mo E, Olstorn H, Varghese M, et al. A comparison of epithelial and neural properties in progenitor cells derived from the adult human ciliary body and brain. Exp Eye Res 2009; 88(1): 30-8.
45. Abdouh M, Bernier G. In vivo reactivation of a quiescent cell population located in the ocular ciliary body of adult mammals. Exp Eye Res 2006; 83(1): 153-64.
46. Chacko DM, Das AV, Zhao X, James J, Bhattacharya S, Ahmad I. Transplantation of ocular stem cells: the role of injury in incorporation and differentiation of grafted cells in the retina. Vision Res 2003; 43(8): 937-46.
47. Fischer AJ, Reh TA. Müller glia are a potential source of neural regeneration in the postnatal chicken retina. Nature Neuroscience 2001; 4: 247-52.
48. Ooto S, Akagi T, Kageyama R, Akita J, Mandai M, Honda Y, et al. Potential for neural regeneration after neurotoxic injury in the adult mammalian retina. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101(37): 13654-9.
49. Fischer AJ, McGuire CR, Dierks BD, Reh TA. Insulin and fibroblast growth factor 2 activate a neurogenic program in Muller glia of the chicken retina. J Neurosci 2002; 22(21): 9387-98.
50. Haruta M, Kosaka M, Kanegae Y, Saito I, Inoue T, Kageyama R, et al. Induction of photoreceptor-specific phenotypes in adult mammalian iris tissue. Nat Neurosci 2001; 4(12): 1163-4.
51. Asami M, Sun G, Yamaguchi M, Kosaka M. Multipotent cells from mammalian iris pigment epithelium. Developmental Biology 2007; 304(1): 433-46.
52. Sun G, Asami M, Ohta H, Kosaka J, Kosaka M. Retinal stem/progenitor properties of iris pigment epithelial cells. Dev Biol 2006; 289(1): 243-52.
53. Susaki K, Chiba C. MEK mediates in vitro neural transdifferentiation of the adult newt retinal pigment epithelium cells: Is FGF2 an induction factor? Pigment Cell Res 2007; 20(5): 364-79.
54. Pittack C, Jones M, Reh TA. Basic fibroblast growth factor induces retinal pigment epithelium to generate neural retina in vitro. Development 1991; 113(2): 577-88.

55. Zhao S, Thornquist SC, Barnstable CJ. In vitro transdifferentiation of embryonic rat retinal pigment epithelium to neural retina. Brain Res 1995; 677(2): 300-10.
56. Yan RT, Wang SZ. Neuro D induces photoreceptor cell overproduction in vivo and de novo generation in vitro. J Neurobiol 1998; 36(4): 485-96.
57. Fischer AJ, Reh TA. Identification of a proliferating marginal zone of retinal progenitors in postnatal chickens. Dev Biol 2000; 220(2): 197-210.
58. Yang P, Seiler MJ, Aramant RB, Whittemore SR. Differential lineage restriction of rat retinal progenitor cells in vitro and in vivo. Journal of Neuroscience Research 2002; 69(4): 466-76.
59. Chacko DM, Rogers JA, Turner JE, Ahmad I. Survival and differentiation of cultured retinal progenitors transplanted in the subretinal space of the rat. Biochem Biophys Res Commun 2000; 268(3): 842-6.
60. Coles BL, Angenieux B, Inoue T, Del Rio-Tsonis K, Spence JR, McInnes RR, et al. Facile isolation and the characterization of human retinal stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101(44): 15772-7.
61. Meyer JS, Katz ML, Maruniak JA, Kirk MD. Embryonic stem cell-derived neural progenitors incorporate into degenerating retina and enhance survival of host photoreceptors. Stem Cells 2006; 24(2): 274-83.
62. Haruta M, Sasai Y, Kawasaki H, Amemiya K, Ooto S, Kitada M, et al. In vitro and in vivo characterization of pigment epithelial cells differentiated from primate embryonic stem cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 2004; 45(3): 1020-5.
63. Aoki H, Hara A, Niwa M, Yamada Y, Kunisada T. In vitro and in vivo differentiation of human embryonic stem cells into retina-like organs and comparison with that from mouse pluripotent epiblast stem cells. Dev Dyn 2009; 238(9): 2266-79.
64. Kicic A, Shen WY, Wilson AS, Constable IJ, Robertson T, Rakoczy PE. Differentiation of marrow stromal cells into photoreceptors in the rat eye. J Neurosci 2003; 23(21): 7742-9.
65. Tomita M, Adachi Y, Yamada H, Takahashi K, Kiuchi K, Oyaizu H, et al. Bone marrow-derived stem cells can differentiate into retinal cells in injured rat retina. Stem Cells 2002; 20(4): 279-83.
66. Harris JR, Brown GA, Jorgensen M, Kaushal S, Ellis EA, Grant MB, et al. Bone marrow-derived cells home to and regenerate retinal pigment epithelium after injury. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006; 47(5): 2108-13.
67. Guo Y, Saloupis P, Shaw SJ, Rickman DW. Engraftment of adult neural progenitor cells transplanted to rat retina injured by transient ischemia. Invest Ophthalmol Vis Sci 2003; 44(7): 3194-201.
68. Takahashi M, Palmer TD, Takahashi J, Gage FH. Widespread integration and survival of adult-derived neural progenitor cells in the developing optic retina. Mol Cell Neurosci 1998; 12(6): 340-8.
69. Nishida A, Takahashi M, Tanihara H, Nakano I, Takahashi JB, Mizoguchi A, et al. Incorporation and differentiation of hippocampus-derived neural stem cells transplanted in injured adult rat retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000; 41(13): 4268-74.

Journal of Isfahan Medical School Received: 28.10.2014

Vol. 33, No. 321, 1st Week, April 2015 Accepted: 23.01.2015

Retinal Cell Regeneration by Stem Cells

Fatemeh Nazem-Roaya MSc[1], Razieh Heidari MSc[1], Majid Kheirollahi PhD[2]

Review Article

Abstract

A number of different cellular sources of neural stem cells have been identified. These sources include stem cells at the retinal margin, pigmented cells in the ciliary body and iris, non-pigmented cells in the ciliary body and Müller glia within the retina and also embryo and adult neural stem cells (NSCs). In the present review, we discuss the combinations of growth factors that are capable of stimulating the proliferation and making of neurons from stem cells, neural progenitors, non-neural epithelial cells, and postmitotic support cells.

Keywords: Stem cell, Retina, Eye

Citation: Nazem-Roaya F, Heidari R, Kheirollahi M. **Retinal Cell Regeneration by Stem Cells.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(321): 54-69

1- Pediatric Inherited Diseases Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-communicable disease AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Pediatric Inherited Diseases Research Center, Research Institute for Primordial Prevention of Non-communicable disease AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Majid Kheirollahi PhD, Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir