



Doku Mühendisliği ve Oftalmoloji

Tissue Engineering and Ophthalmology

Canan Aslı Utine*,**, Sinan Güven**,***,****

*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

**İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

***Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye

****Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Öz

Doku mühendisliği (DM), biyoloji, mühendislik ve tıp bilimlerini biraraya getiren ve hastalık modellerinin geliştirilmesinden, ilaç geliştirme ve gen terapisi çalışmalarına ve hatta mühendislik yöntemleri ile geliştirilmiş hücresel veya doku temelli tedavilere imkan tanıyan bir bilim dalıdır. Gözün kolay ulaşılabilir ve mühendislik uygulamalarına yatkın bir organ oluşu, DM'nin oftalmolojideki yolunu açmıştır. Gözyaşı tabakası, göz kapağı, kornea, optik sinir, glokom ve retina hastalıklarını içeren geniş bir yelpazede DM çalışmaları yürütülmektedir. Alanındaki hızlı ilerleyen bilimsel gelişmelerle DM, oküler hastalıkların yönetimini kökten değiştiriyor gibi görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Doku mühendisliği, gen tedavisi, hastalık modeli, ilaç geliştirme, rejeneratif tıp

Abstract

Tissue engineering (TE) is a field of science that combines biological, engineering, and medical sciences and allows the development of disease models, drug development and gene therapy studies, and even cellular or tissue-based treatments developed by engineering methods. The eye is an organ that is easily accessible and amenable to engineering applications, paving the way for TE in ophthalmology. TE studies are being conducted on a wide range of topics, including the tear film, eyelids, cornea, optic nerve, glaucoma, and retinal diseases. With the rapid scientific advances in the field, it seems that TE is radically modifying the management of ocular disorders.

Keywords: Tissue engineering, gene therapy, disease model, drug development, regenerative medicine

Giriş

Doku mühendisliği (DM), doku iyileşmesi, tedavi ve rejenerasyon için biyoloji, mühendislik, gelişimsel biyoloji ve tıp ve morfogenez bilimlerine dayanan bir disiplindir. DM, biyomühendislik, biyomedikal mühendisliği ve malzeme bilimleri ile birlikte hücreleri ve uygun fizyolojik faktörleri kullanarak hasarlı doku ve organları tedavi etmeyi, onarmayı veya değiştirmeyi amaçlamaktadır. DM çalışma alanları ayrıca hastalık modelleri geliştirme, hücreler için doku iskeleleri oluşturma ve aktif ilaç bileşenlerini dokulara ulaştırmayı kapsar.¹ Dokuların intrinsek rejenerasyon potansiyelinin nasıl kontrol edileceği ve düzenleneceği bilgisi çok önemlidir.² Esas amaç, tıp ve yaşam bilimlerini desteklemek için yapay doku veya organ modelleri oluşturmaktır.

Göz dokuları epitelyal, mezenkimal, bağ ve nöral dokulardan köken alır ve yapısal ve fonksiyonel entegrasyonu hassas bir şekilde düzenlenir (Şekil 1). DM, kornea, gözyaşı bezi, retina, optik sinir ve glokom gibi hastalıklarla ilgili yukarıda belirtilen hedeflere ulaşmak için kullanılmıştır ve laboratuvarından tedaviye önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. DM'nin oftalmolojide kullanımı aşağıdaki başlıklarda toplanabilir, ancak bunlarla sınırlı değildir:

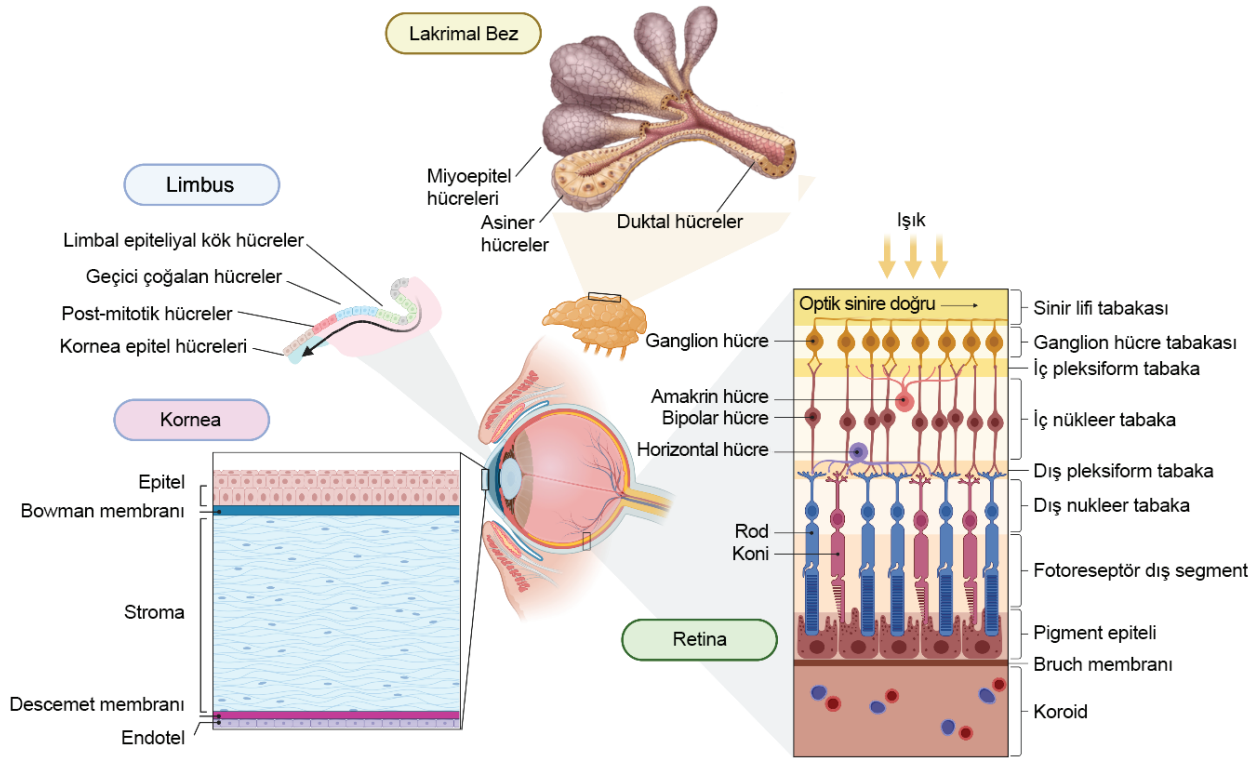
a. Hastalık Modelleri

Hayvan modelleri, tür farklılıkları nedeniyle insan patojenik süreçlerini en iyi şekilde yansıtmayabilir.³ Mikroakışkan çipler,

Cite this article as: Utine CA, Güven S. Tissue Engineering and Ophthalmology. Turk J Ophthalmol 2024;54:159-169

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Canan Aslı Utine, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
E-posta: cananutine@gmail.com **ORCID-ID:** orcid.org/0000-0002-4131-2532
Geliş Tarihi/Received: 03.09.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 12.04.2024

DOI: 10.4274/tjo.galenos.2024.49779



Şekil 1. Oküler hücre tipleri ve dokularının şematik gösterimi. Oküler hücrelerin çeşitli fenotipleri ve işlevleri bir bütün olarak görmeyi sağlar

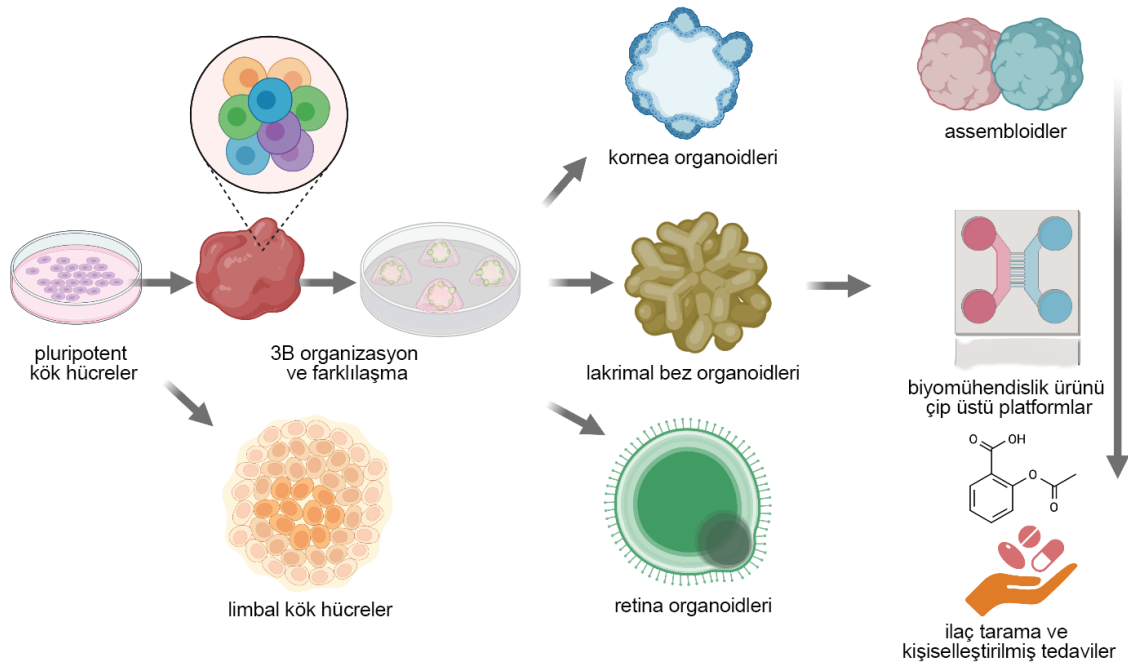
kök hücreler, hücrel sinyalizasyon ve biyomekanikteki son gelişmeler DM'de kilometre taşları olmuş ve *çip üstü organ* teknolojisi ortaya çıkmıştır.⁴ Mikroakışkan sistemler, yaşam koşullarında dokuların dinamik, fonksiyonel ve patofizyolojik özelliklerini göstermek için tasarlanmıştır. Mikroakışkan bir sistemde, doku iskeletini oluşturan biyomalzemelerin fizyolojik koşullara yaklaşan üç boyutlu (3B) bir yapı üretmek için yetiştirilen spesifik hücrelerin ekildiği cam veya polimerik malzemelerde özel olarak tasarlanmış kanallar oluşturulur. Bu gelişmiş mühendislik sistemleri, organların benzersiz mikro çevresini *in vivo* olarak oluşturmak ve *in vitro* hastalık modelleri oluşturmak için tasarlanmıştır.^{4,5} Çip üstü organ sistemleri ile, belirli bir dokunun/organın (yani "tek organ sistemleri") temel işlevleri veya tek bir sistem içindeki çoklu organların/dokuların etkileşimleri ve reaksiyonları (yani "çoklu organ platformları") incelenebilir.

Son gelişmeler, insan hastalıklarını hastaya özgü indüklenmiş pluripotent kök hücrelerle (iPSC) modellemenin mümkün olduğunu göstermiştir.⁶ iPSC'ler, insan embriyoları kullanılmadan somatik bir hücre hattından üretilir ve herhangi bir somatik hücreye farklılaşabilir. Bu, hastalık patogenezi incelemek ve ilaç geliştirme çalışmaları yapmak için çok önemli bir araçtır (Şekil 2).⁷

Çip üstü organ mikroakışkan teknolojileri, temel oküler fizyoloji ve hastalık patogenezi hakkındaki anlayışımızı artırmıştır. İki boyutlu hücre kültürünün eksikliklerinin üstesinden gelerek, göz hastalıklarının tedavisi için klinik

kullanıma uygun alternatifler ürünler geliştirilmesine olanak sağlarlar.⁸ Örnek olarak, mikroakışkan platformlar ile göz kırpması stresinin insan göz yüzeyi üzerindeki etkilerini incelemek için dinamik korneal epitel bariyerini kültürleri geliştirilmiş ve bu platformlar oftalmik ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunmuştur.⁹ Benzer sistemler kornea epitelial yara onarım sürecini değerlendirmek içinde uyarlanabilir ve kullanılabilir.¹⁰ Başka bir çalışmada, temel kornea fonksiyonlarını araştırmak ve topikal ilaç uygulaması hakkındaki çalışmaları kolaylaştırmak için primer fare kornea epiteli ve endotel hücreleri kullanılarak mikroakışkan 3B mikro-mühendislik çip üstü kornea geliştirilmiştir.¹¹

Glokom araştırmalarında, DM yaklaşımları 1980'lerin sonlarından beri trabeküler ağı (TM) yeniden oluşturmak için kullanılmaktadır. Üstüne insan TM hücreleri ekilen selüloz gözenekli filtreler, hidrojel kalıplar ve fotolitografi teknikleri, sertliğin gen ekspresyonu ve mekanotransdüserler üzerindeki etkisini, ilaçların TM üzerindeki etki mekanizmasını ve mevcut ilaçların yeni alanlarda kullanımını araştırmak için kullanılmıştır.¹² Ayrıca, dışa akış yapısı ve fonksiyonunun düzelip düzelmediğini görmek için hücreleştirilmiş, DM ürünü bir ön segment göz kültürü TM hücreleri ekilerek transplante edilmiştir. Tasarlanan ön segment iskeleleri kullanılarak yapılan oküler perfüzyon kültürleri, dışa akış araştırmalarının yapılabilmesi için donörlerden gelecek gözlere bağımlılığı azaltmakta ve spesifik genotip ve fenotipler üzerinde çalışmalar yapmaya olanak sağlamaktadır.¹³ Biyomühendislik



Şekil 2. Pluripotent kök hücreler oküler hücreler ve organoidler gibi tüm hücre tiplerine dönüşebilir. Oküler organoidler ve assembloidler, gözlerin ve ilgili hastalıkların gelişimini araştırmak için *in vitro* modeller geliştirilmesine olanak sağlar. Biyomühendislik ürünü çip üstü platformlar ile hassas bir şekilde kontrol edilen bir mikro çevrede fiziksel ve biyokimyasal uyarıları yeniden oluşturulabilir ve bu da ilaç taramalarında ve oftalmolojide kişiselleştirilmiş tedaviler geliştirilirken daha gerçekçi modeller elde edilmesini sağlayabilir

ürünü sentetik 3B *in vitro* TM modelleri, göz içi basıncı (GİB) düzenlenmesinin mekanizmalarını detaylı araştırmak, glokom hastalığı modeli geliştirmek veya çok sayıda glokom ilacını hızla taramak için de kullanılabilir. Bunun için trabeküler mimariyi taklit edecek iskele ve ekstrasellüler matriks (ECM) bileşenleri için biyomalzemelerin seçilmesi ve tasarlanması gerekir.¹⁴

Glokom araştırmalarında retina ganglion hücreleri (RGH) ve bu hücrelerdeki dejenerasyonun değerlendirilmesi de gerekmektedir. Glokom hastalarının kanından veya derisinden iPSC üretmek ve bunları RGH'lere farklılaşmaya yönlendirecek DM yöntemleri, patogenezi çalışmalarında değerli yaklaşımlardır.¹⁵

Öte yandan, iPSC'ler, farklılaştıktan sonra *organoidler* adı verilen minyatür organ benzeri yapılar oluşturan kendi kendine bir araya gelmiş 3B yapılar oluşturabilir. Organoidler, organların hücresel heterojenliği ve mimarisini sahip olabilir ve insan dokularının gelişim aşamalarını *in vitro* ortamda araştırmak için mükemmel araçlardır. Organoid araştırmalarına olan ilginin artması, oftalmolojide de yeni yaklaşımlar getirmiştir. iPSC kaynaklı retina organoidleri, stabil olmaları ve doğal retinaya benzerlikleri nedeniyle embriyonik gelişim, patolojik durumlar ve retina hastalıklarına yeni terapötik yaklaşımlar için 3B modeller oluşturmaya olanak sağlarlar.¹⁶ Lens, nöral retina ve retina pigmentli epitel (RPE) hücrelerinin yapıları, farklılaşmamış embriyonik kök hücrelerden (EKH) kültür ortamında zaten üretilmiştir.¹⁷ Ayrıca, insan dış kan-retina bariyerinin 3B modelleri, kuru ve yaş tip yaşa bağlı maküler dejenerasyon (YBMD) fenotiplerinde sağlıklı RPE-

koryokapillaris etkileşimlerinin kritik özelliklerini yansıtabileceği şekilde tasarlanmıştır.^{18,19}

Optik sinir başı (OSB) hastalığı modelleri henüz geliştirilememiştir çünkü OSB'nin sistem biyolojisi tanımı ve glokomda büyük ölçekli gen ekspresyonu ve fenotip verileri eksiktir, astrositik ve astrositik olmayan ECM hücrelerinin doku yeniden modellenmesindeki rolleri tam olarak bilinmemektedir ve GİB'nin OSB'de dokular üzerindeki gerçek etkisi hakkında bilgiler yeterli değildir.²⁰ Bununla birlikte, iPSC kaynaklı glokomatöz RGH'lerde mitokondriyal yetmezlik olduğu gösterildiğinden, hastalık sürecini tersine çevirmek için mitokondriyal biyogenezin iyileştirilmesi araştırılabilir.²¹ Birden fazla organoid türünün birleştirilmesi, *assembloid* adı verilen daha karmaşık hücresel yapılar ortaya çıkarır. Çeşitli dokulardan oluşan gelişmiş *in vitro* modeller, fonksiyonel sonuçları destekleyen ve iyileştiren daha doğal bir ortama benzemektedir.

b. İlaç Geliştirme Çalışmaları

DM, genellikle insan fizyolojisini yeterince yansıtmayan, çok eleştirilen ve pahalı hayvan deneylerine olan ihtiyacı azaltan ön ilaç taramaları için bir araç sağlar.¹ Gerçekten de, 2022'de FDA Modernizasyon Yasası 2,0 ile insanlara verilmeden önce yeni geliştirilen ilaçların hayvan testinde geçmesi gerekliliği kaldırıldı. Yeni yasa hayvan testlerini yasaklamasa da, ilaçların organ işlevini taklit eden mikroçipler üzerinde test edildiği yapay zeka ve çip üstü organ teknolojisi gibi yeni teknolojilerin kullanımına izin vermektedir. Hayvan modellerinde çoğu ilaç ve toksisite deneyinin yerini çip üstü organ modellerinin alması beklenmektedir.²²

Bennet ve ark.²³, göz damlası taşınmasını araştırmak için bir mikroakışkan sistemde ölümsüzleştirilmiş insan kornea epitel hücrelerini büyütürken bir "kornea epitel çipi" geliştirmişlerdir. Başka bir dinamik mikro mühendislik ürünü insan kornea sistemi de *in vitro* ilaç emilim çalışmaları için kullanılmıştır.²⁴ Normal ve patolojik oküler anjiyogenez çalışmalarında ve antianjiyojenik ilaçların test edilmesinde *in vitro* 3B vasküler ağ rekonstrüksiyonu için bir mikroakışkan plastik bazlı çip kullanılmıştır.²⁵

İlaç yeniden konumlandırma, başka hastalıklar için onaylanmış ilaçlar için yeni kullanım alanları belirlenmesi yaklaşımıdır. Mevcut medikal ajanların moleküler etki mekanizmaları ve farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri, farmakolojik hedefleri açısından araştırılarak yeni alanlardaki kullanımları araştırılır. Bu ilaçların güvenliği ve etkinliği zaten bilinmektedir, bu da zamandan ve maliyetten tasarruf sağlar. DM yaklaşımı gerektiren bazı ilaçların yapısal modifikasyonu, yeni ilaç taşıyıcı sistemi geliştirilmesi veya diğer ilaçlarla kombinasyonu gerekli olabilir. Kontrollü ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi de mümkündür.

Oftalmolojide siklosporin A (SsA) kullanımının evrimi, başlı başına bir ilaç yeniden konumlandırma örneğidir. SsA ilk olarak 1970'lerde antifungal bir ajan olarak geliştirildi ve sonuçlar hayal kırıklığına neden oldu. Güçlü immünosüpresif anti-T-hücre etkisi ve kemik iliği toksisitesinin olmaması nedeniyle solid organ transplantasyonu cerrahisinde yaygın olarak kullanıldı. Sistemik SsA, enfeksiyöz olmayan üveitte de kullanıldı. Topikal SsA ilk olarak 1980'lerde deneysel korneal allograft reaksiyonlarını inhibe etmek için kullanılmıştır. Kuru göz sendromunda SsA'nın yararlı etkilere sahip olduğu ilk olarak köpeklerde gösterilmiştir.²⁶ Topikal SsA, Sjögren sendromlu hastalarda lokal immünosüpresif bir etkiye sahiptir ve hem konjonktival epitelde hem de substantia propria CD4+ hücrelerinde anlamlı azalmaya neden olur.²⁷ Günümüzde, kuru göz sendromu ve çeşitli enflamatuvar gözyaşı bezi ve oküler yüzey hastalıkları için ana tedavi seçeneklerinden biridir.²⁸

Glokom araştırmalarında, ilacın yeniden konumlandırılması en aktif alanlar arasındadır.¹⁵ Araştırılan ilaçlar, oküler vasküler düz kasların vazodilatasyonuna neden olabilecek kolinerjik ilaçlardan nifedipine kadar uzanmaktadır.²⁹ GİB düşürücü ilaçlara ek olarak, antiepileptik bir ilaç olan valproik asit glokom cerrahisinde adjuvan ilaç olarak konumlandırılmıştır. Valproik asit, ameliyat sonrası konjonktival yara iyileşmesinde kolajen üretimini azaltır ve kolajen lif organizasyonunu bozar; böylece, anti-fibrotik aktivitesi başarıyı artırabilir ve fonksiyonel belblerin hayatta kalmasını sağlayabilir.³⁰

Retinitis pigmentosa (RP), YBMD ve diyabetik retinopati de yeniden konumlandırılmış ilaçlar kullanılarak tedavi edilebilir. Tüm nörodejeneratif hastalıklarda, apoptotik hücre ölümüne yol açan ortak sinyal yolları arasında kalsiyum eksitotoksitesi, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve nöroenflamasyon yer almaktadır. Bu ana patojenik mekanizmaların hedeflenmesi, depresyon ve epilepsi gibi kronik hastalıkları başarılı bir şekilde tedavi etmiştir. Yeniden konumlandırılması olası ilaç listesinde brimonidin, kurkumin, seftriakson, MitoQ ve valproik asit gibi

ilaçlar yer almaktadır.³¹

Kuru tip YBMD'de görme kaybı çoğunlukla RPE dejenerasyonundan kaynaklanır ve kısmen enflamasyondan kaynaklanır. FDA tarafından klinik depresyonun tedavisi için onay alan fluoksetin, RPE hücrelerinde enflamasyonların aktivasyonunu ve enflamatuvar sitokin salınımının inhibe eder. Gerçekten de, iki sağlık sigortası veritabanında yer alan 100 milyondan fazla Amerikalı hastanın verilerinin analizi, fluoksetin ile tedavi edilen klinik depresyonlu hastalar arasında kuru YBMD gelişme riskinin azaldığını ortaya koymuştur, bu da fluoksetinin kuru YBMD için potansiyel bir ilaç yeniden konumlandırma adayı olduğunu düşündürmektedir.³²

Başka bir yeniden konumlandırılan ilaç, anti-enflamatuvar, immünomodülatör ve antioksidan etkileri nedeniyle psöriasis ve multipl sklerozun tedavisi için onay almış olan dimetil fumarattır (DMF). Diyabetik retinopati ve YBMD gibi gözün vasküler hastalıkları, nükleer faktör (eritroiden türetilmiş-2)-benzeri 2 (Nrf2) aktivitesinde azalma ile ilişkili ortak bir patogeneze sahiptir. DMF, fotoreseptörlerin, RGH'lerin ve RPE'nin korunmasına ek olarak Nrf2 yolağı ve ilgili hedef genlerin indüksiyonuna neden olur. DMF'nin YBMD, otoimmün üveoretinit, kistoid maküla ödemi, glokom, keratit, optik nörit, optik sinir travması ve retina iskemisinde kullanımı hakkında *in vivo* kanıtlar artmaktadır. Topikal DMF uygulaması, oküler patolojilerde yeniden konumlandırılması açısından incelenmelidir.³³

Mikroakışkan sistemler ayrıca emülsifiye olabilen ve *in vivo* olarak enflamasyona neden olabilen izopropanol silikon yağı gibi cerrahi intraoküler tamponadları test etmek için de kullanılmıştır. Bir *in vitro* "çip üstü göz" mikroakışkan sistemi kullanılarak, polimer silikon yağının ayrışmayı ve emülsiyon damlacıklarının oluşumunu önlediği gösterilmiştir.³⁴

Topikal tedaviler, ilacın sadece küçük bir bölümünün oküler dokulara ulaşmasına izin verir. *Kontrollü salımlı oftalmik ilaçların* geliştirilmesi, ilaç dağıtımının etkinliğini artırmayı ve hastaların göz damlası damlatma sayısını azaltmayı amaçlamaktadır.³⁵ İlaç yıkama ve kontrollü salım yapabilen biyoyoumlu ve biyobozunur polimer partiküller sayesinde non-invaziv ilaç dağıtımını mümkündür. Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) sıklıkla kullanılan biyobozunur bir malzemedir.³⁶ Örneğin; adeziv bir ortamda süspansiyon edilen polimer iyon değiştirici reçine parçacıkları ile birleştirilen anti-glokomatöz betaxolol veya diğer beta-blokerler, gözde daha yavaş ve daha uzun süre salınır (Japonya patent no: JPH0725698B2 - "Formulation for the treatment of glaucoma with sustained release and comfortable application"). Mikroakışkan çip çalışmaları sayesinde tek tip ve partikül boyutu kontrol edilebilir, yüksek miktarda ilaç yüklenebilen ve uygun degradasyona sahip polimer partiküllerinin hazırlanmasına mümkün olabilir. Yapılan böyle bir çalışmada, latanoprost ve dexametazon monodisperse biyobozunur ~150 µm çapında PLGA'ya yükleyerek çoklu ilaç polimer partikülleri hazırlanmış ve ilaç salım parametreleri kontrol edilerek ve optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.³⁷ Ayrıca, yüksek biyoyararlanıma sahip *ilaç nanosüspansiyonları* hazırlanabilir. Bunlar, süspansiyon edilen ve polimerler veya yüzey aktif maddeler

tarafından stabilize edilen mikron boyutlu ilaç parçacıklarıdır. Örneğin; basit bir mikroakışkan nanopresipitasyon yöntemi ve nanokristalizasyon teknolojisi kullanılarak bir oftalmik hidrokortizon nanosüspansiyonu oluşturmak, etki süresini önemli ölçüde uzatmıştır.³⁸

Mikroakışkan teknolojisinin mevcut teknolojilerle birleştirilmesi, kontrollü *in vitro* ilaç dağıtımı çalışmalarının yapılmasını sağlayabilir.³⁹ Hassas oftalmik ilaç dağıtımı cihazları, göz enfeksiyonlarını tedavi etmek veya uzun süreli steroid salımı yapmak için bir araç olarak kullanılan kontakt lensler gibi mekanik, elektronik ve mikroakışkan işlevlere sahiptir.⁴⁰ Biyomalzemelerin kompozisyonunu kontrollü ilaç salınımına izin verecek şekilde ayarlamak çok önemlidir.⁴¹

Oftalmolojide *in vitro* ilaç salımı çalışmaları esas olarak statik koşullar altında gerçekleştirilir ve gözyaşı hacminin akış dinamiklerinin etkisi dikkate alınmaz. Çeşitli ticari kontakt lenslerden flukonazol salınımını araştırmak için göz kapakları olan bir *in vitro* 3B baskı göz modeli geliştirilmiştir.⁴² Bu model gözyaşı hacmi ilaç salınımını önemli ölçüde hızlandırdığından, fizyolojik gözyaşı hacmini simüle etmek için tasarlanmıştır.⁴³ Başka bir mikroakışkan ünite, gözyaşlarının hacimsel akış hızını simüle etmek için tasarlanmıştır.⁴⁴ Diklofenak salınım kinetiği, dinamik koşullar altında statik koşullara göre daha yavaş bulunmuştur. Ayrıca, hidrofilik akrilik veya silikon bazlı hidrojel materyallerin moksifloksasin ile plazma destekli greftleme ile yüzey modifikasyonu, *in vitro* diklofenak salım süresini anlamlı düzeyde ve on günden fazla uzatmıştır.⁴⁵

c. Gen Terapileri

Gen terapileri, DNA ve RNA gibi genetik materyalin ve hatta bazı durumlarda proteinlerin uygulanması yoluyla hücreler işlevi değiştirmeyi amaçlamaktadır. Uygulama *in vivo* olarak veya vücuttan çıkarılan, *ex vivo* koşullarda transfekte edilen ve daha sonra organizmaya tekrar verilen hücreler ile gerçekleştirilebilir.

Kornea, klinik olarak erişimi kolay bir dokudur ve immün açıdan ayrıcalıklı durumu gen tedavileri için avantaj sağlar. Bu nedenle kornea gen tedavileri bir veya birden çok geni içeren gen tedavilerinin adeno-ilişkili virüs (AAV) ve nanoparçacıklar yoluyla uygulanmasına odaklanmıştır. Düzenli Aralıklı Palindromik Tekrar Kümeleri ("*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Associated Systems*", CRISPR/Cas9) gibi gen düzenleme yöntemlerinin olası kullanım alanları artmaktadır.⁴⁶ Endotel hastalıkları için gen modülasyon tedavileri, erken evre hastaların tedavisini mümkün kılarak kornea allogreftlerine olan ihtiyacı azaltabilir.⁴⁷

Arka segment ile ilgili olarak, AAV vektörleri ile modifiye gen tedavisinin, RGH sağkalımını ve akson rejenerasyonunu artıran etkili bir nöroprotektif ve rejeneratif tedavi olduğu gösterilmiştir.⁴⁸ Voretigene neparvovec (Luxturna; Spark Therapeutics), insan RPE65'in modifiye edilmiş bir transgenini taşıyan, replike olamayan bir AAV-2 vektörü içerir. RPE65'in bialelik patolojik mutasyonu ile ilişkili distrofilerin tedavisi için onaylanmış tek gen tedavisidir⁴⁹ ve tüm RP hastalarının %1'ini oluşturan bu hastaların tedavisi için onay almıştır.⁵⁰ RPE65 geni, A vitamininin görme döngüsü metabolizmasından sorumludur ve mutasyonları Leber konjenital amorozis olgularının yaklaşık

%6'sına neden olur. Faz III klinik çalışmasına, tanısı doğrulanmış bialelik RPE65 mutasyonu olan hastalar dahil edilmiştir. Tedaviden sonra ciddi yan etkiler ile karşılaşılma ve görmede anlamlı iyileşme sağlanmış ve 3-4 yıllık takipte bu iyileşme korunmuştur.^{51,52} Subretinal enjeksiyon, etkinliği daha yüksek ve sistemik etkisi daha az olduğu için intravitreal enjeksiyona göre tercih edilen en yaygın kullanılan tekniktir.^{53,54} Bununla birlikte, tedavi edilen alan, subretinal enjeksiyonun etrafındaki retina dekolmanı ile sınırlıdır.

d. Biyomalzemelerin Geliştirilmesi

DM'nin amaçlarından biri, hücrelerin etkileşime gireceği uygun biyomalzemeler geliştirmektir. DM'de kullanılan biyomalzemeler, biyoyumluluk, yapısal stabilite, mekanik dayanıklılık, hücreler entegrasyona izin verecek porozite, hedeflenen dokuda klinik uygulanabilirlik ve toksisite, antijenisite ve mutajen olmaması gibi belirli kriterleri karşılamalıdır.^{55,56} Oftalmolojide şeffaflık da önemlidir. Ayrıca, materyaller enflamatuvar bir reaksiyonu uyarmamalı ve potansiyel olarak rejenerasyona ve iyileşmeye yardımcı olmalıdır.

Korneanın yüksek kırılma gücü ve optik açıdan şeffaf olmasına rağmen çekme mukavemetine yüksek olması nedeniyle karmaşık bir yapısı vardır ve kornea mimarisini tek tip doğal veya sentetik biyomateryal kullanarak elde etmek zordur.^{57,58} Kornea ile ilişkili DM stratejilerinde öncelikle kolajen, jelatin, kitosan, amniyotik membran ve ipek gibi hammaddelerin yanı sıra polivinilalkol (PVA) ve polietilen glikol (PEG) türevleri gibi sentetik yapılardan yararlanılmaktadır. Kolajen gibi doğal biyomalzemelerin biyoyumluluğu yüksektir ve jelatinin avantajı ucuz olmasıdır, ancak mekanik özellikleri standartlara uygun değildir. Hücreleştirilmiş kornea, doğal korneaya benzer özelliklere sahiptir, ancak biyoaktivite düzeyi düşüktür. Kitosan, basit biyofonksiyonelleştirme, iyi biyoyumluluk ve yönetilebilir biyobozunurluk sunar. Ancak, diğer malzemelerle çapraz bağlanmalıdır. Sentetik biyomalzemelere gelince, PVA ve PEG diakrilatın (PEGDA) mekanik özellikleri kontrol edilebilir, ancak her ikisi de korneal DM için ek bileşenlere ihtiyaç duyar. Kollajen veya amniyotik membran, biyoyumlu bir biyomateryal olarak PVA veya PEGDA ile birleştirilebilse de, birlikte enflamatuvar yanıtı indükleyebilirler. Kitosanın PVA veya PEGDA ile birleştirilmesi, uygun mekanik özelliklere ulaşılmasına olanak verse de degradasyon oranında doğal orandan düşüktür.⁵⁹

3B biyobaskı, biyomalzemeler ile hücrelerin eşzamanlı işlenmesi ile yapay hedef doku iskeleleri oluşturmak ve doğal embriyogenetik doku oluşumunu taklit etmek için kullanılabilen bir teknolojidir.^{60,61} Akıllı lif hizalama ile, korneal DM için keratosis migrasyonu ve oryantasyonu çalışılabilir.⁶² Geleneksel 3B yazıcı kartuşları biyomürekkep ile doldurulabilir.⁶³ Bir 3B yazıcıdaki ekstrüzyon tabanlı yöntem, daha iyi mekanik özellikler elde etmek için en iyi yöntem gibi görünmektedir. Bununla birlikte, damlacık bazlı yöntem ile elde edilen mikro yapı, geometrik eğrilik ve esneklik katsayısı daha iyi olabilir.⁶³

Kornea iskelelerinin geliştirilmesinde nanoteknoloji kullanılması hücre adezyonu, proliferasyonu ve farklılaşmasını teşvik edebilir ve kornea iskelesinde gaz, besin ve atık

alışverişini kolaylaştırabilir.^{64,65} Kornea endotel hücrelerinin (KEH) olgunlaşması ve büyümesi için biyobozunur bir iskele oluşturan kitosan nanoparçacıkları/polikaprolakton membranlarında olduğu gibi ekilen kök hücrelerin işlevselliğini artırmak mümkündür.⁶⁶ Nanoteknoloji, hasarlı kornea için kişiselleştirilmiş rejeneratif tedavileri mümkün kılabilir.⁶⁷

Korneal DM'nin yanı sıra, ilk kez 2020 yılında biyobaskı teknolojisi ile adipoz doku kökenli mezenkimal stromal hücrelerle kaplanan ve meibositler yerine lipid salgısı için sebositler ekilen polikaprolakton kullanılarak *tarsal plaka iskeleleri* üretilmiştir.⁶⁸ Bu teknoloji, tümör invazyonu veya travma kaynaklı büyük göz kapağı defektlerinin tedavisi için bir alternatif sağlayabilir.

Retina, biyobaskı çalışmalarında en sık çalışılan ikinci göz dokusudur. Retina progenitör hücreleri (RPH) için 3B baskı ile iskele üretilbildiği 2017 yılında gösterilmiştir.⁶⁹ Kimyasal olarak modifiye edilmiş hiyalüronik asit hidrojenleri ve bir Bruch membranına benzer özellikte bir malzeme sentezlenmiştir.^{70,71} RGH ve glial hücreler bu iskele üzerine başarılı bir şekilde 3B olarak basılmıştır. Hücreler canlı kalarak stabil bir fenotip sergilemişlerdir.⁷² Glial hücreler basılan hücreler için bir substrat olarak kullanıldığında, RGH nörit büyümesi anlamlı düzeyde artmıştır.⁷³ Karmaşık bir retina yapısı 3B olarak basılabildiğinde retina hastalığı modelleri geliştirilmiş olacaktır. Örnek olarak, YBMD'de RPE'ye bağlı koroidal fenotipi araştırmak için bir 3B baskı dış kan retina bariyeri dokusu (yani RPE, Bruch membranı ve koryokapillaris) oluşturulmuş ve incelenmektedir.⁷⁴ Müller hücresi tabanlı bir 3B biyomimetik model de biyobaskı ile elde edilmiştir ve *in vivo* diyabetik retina modelinde gözlemlendiği gibi hiperglisemik koşullar altında benzer tepkiler vermiştir.⁷⁵

e. Doku Mühendisliği Ürünü Hücrelerin, Dokuların ve Doku Eşdeğerlerinin Transplantasyonu

DM'nin bir alt dalı olan hücre tedavileri, oküler hastalıkların tedavisinde çok umut vericidir.⁷⁶ Kök hücreler, plastisitetleri, farklı hücre tiplerine dönüşme sinyali gelene kadar diferansiye olmamaları ve kendi kendini yenileyebilme kapasiteleri nedeniyle yaygın olarak kullanılır.⁷⁷ EKH'ler, bölünme yoluyla çoğalabilen ve üç primer germ hücresine dönüşebilen pluripotent kök hücrelerdir. Bununla birlikte, EKH'ler immün yanıtı neden olabileceği ve reddedilebileceğinden, iPSC'ler bu hücrelere alternatif olarak kullanılır.

Hücre tedavisinin başarısı, hücreler hazırlanırken uygun DM yöntemlerinin kullanılmasına ve hücrelerin tam olması gereken lokusa migrasyonu ve yerleşmesini sağlayacak biyofiziksel ve biyokimyasal uyarılara bağlıdır.⁷⁸ Nakledilen hücrelerin işlevsel olması için, hücreler yeni sinaptik bağlantılar oluşturmaları ve konak ile bütünleşmelidirler.⁷⁹ İnsan keratositleri gibi bazı hücre tipleri, standart kültür teknikleri kullanılarak kolayca çoğaltılabilir.⁸⁰ Ancak arka segmente, hücre hattı transferi ve transplantasyonu için erişim zor olabilir. Göz elektrik tabanlı bir organdır; retina hücreleri endojen elektrik akımları kullanılarak işlev görürler.⁸¹ Elektriksel stimülasyon, nakledilen hücrelerin göçünü, aksonal rejenerasyonu ve sinaps oluşumunu olumlu etkileyebilir.⁸²

Son çalışmalar, biyolojik doku veya doku eşdeğerlerine artan

ihtiyacı karşılamak için otolog veya immünolojik açıdan eşleşen kök hücrelerin kullanıldığı DM yöntemleriyle klinik olarak uygun boyutlarda yapay organlar geliştirmeye odaklanmıştır.¹ Organogenez ve gen ekspresyonları, kök hücre biyolojisi ve DM teknolojileri hakkındaki mevcut bilgi birikimi ile *rejeneratif tıp* ortaya çıkmıştır. Bu, hastalığın ilk aşamalarında organdan sağlıklı hücrelerin izole edilmesini, bu hücrelerin *in vitro* ortamda çoğaltılmasını ve doku iskeletine ekilmesini içerir. Organogenez için vital koşullar sağlanır ve laboratuvar ortamında fonksiyonel doku elde edilir. Hastalık süreci ilerledikçe, hasarlı organın yerine yapay organ nakledilir. EKH ve iPSC'lerin rejeneratif tıpta olası kullanımı hakkında ilk başta çok heyecan duyulmasına rağmen, gerçekte insanda kullanım örnekleri sınırlı kalmıştır.

Biyosentetik bir iskelenin hücre kültüründen türetilmiş hücrelerle birleştirilmesi, tamamen biyomühendislikle üretilmiş bir kornea üretilmesine olanak sağlayabilir. Korneal DM'de iki ana yaklaşım kullanılmıştır. Bunlar, doku kültürü ile istenen hücre popülasyonunu çoğaltmak veya baştan oluşturmak veya doğal kornea hücrelerinin endojen kornea rejenerasyonunu uyarmasını sağlayan bir biyomimetik/biyosentetik araçlar kullanarak kornea yapısını desteklemektir. Birinci yaklaşımda, kornea hücreleri ile hazırlanan doku kültürü bir tabaka olarak nakledilebilir veya hücreler ayrıştırılır ve ön segmentin istenen bölümüne enjekte edilebilir.

Bu biyomühendislik ürünü kornealar, bir kornea greftini yapılamayan patolojik gözlerde kullanılan tamamen yapay kornealardan (yani keratoprotezlerden) farklıdır. Günümüzde mevcut keratoprotezlerin hiçbirisi konak doku ile sorunsuz bir şekilde bütünleşmemektedir⁸³ ve hiçbir keratoprotez reinnervasyon sorununu çözmemektedir.⁸⁴ Biyoentegrasyon ve biyoişlevselliği yüksek ve minimum komplikasyon oranlarına sahip yumuşak yapay kornea arayışı devam etmektedir.⁸⁵ Görmenin restorasyonu ihtiyacının yanı sıra biyoentegrasyon, epitelyal aşırı büyüme ve duysal innervasyon çok önemlidir.⁸⁶ Sitotoksik olmayan, biyosentetik kompozitlerin gücü ve optik saydamlığı kontrol edilebilir. İleride, DM kornea eşdeğerleri donör kornea bulunma sorununu ortadan kaldırabilir.⁸⁷

Bir yapay kornea ürününden özellikle bahsetmek gerektiğini düşünüyoruz. CorNeat keratoprotezleri biyoentegrasyonu kolaylaştıran sentetik polimerik bir iskeleye sahiptir. Merkezi bir poli(metil metakrilat) optik ve insan ECM'lerinin mikro yapısını taklit eden entegre bir etekten oluşur. DM'de kullanılan iskele ve diğer kolajen matrislerinden farklı olarak mekanik dayanıma sahiptir ve yıkılabilir değildir. EverMatrix™, insan fibroblastları için doğal bir yaşam alanı oluşturacak özelliklerde optimize edilmiştir, migrasyon kolonizasyonunu ECM sentezini uyarır. İlk hayvan çalışmalarında biyoentegrasyonun gerçekleştiğini doğrulayan sonuçlar elde edildi⁸⁸ ve insana implantasyonu sonrası orta vadeli sonuçlar iyi bulundu.⁸⁹

Korneal stroma rejenerasyonu için kemik iliği mezenkimal kök hücreler (MKH), adipoz doku kaynaklı yetişkin MKH'ler, umbilikal MKH'leri ve EKH'ler ve iPSC'ler kullanılmıştır. Bu hücreler oküler yüzeye implate edilmiş, tek başlarına veya biyobozunur, biyobozunur olmayan veya desellülerize kornea

stroması iskelesi ile intrastromal olarak implante edilmiş, ön kamaraya veya intravenöz olarak enjekte edilmiştir. MKH bankalarından alınan kök hücreler otolog veya heterolog olabilir. MKH eksozomları bile stromal skar boyutunu azaltmak için immünoşüpresif ve hasar onarıcı etkileri için kullanılmıştır.⁹⁰

Limbal kök hücre yetmezliğinin tedavisinde yetişkin limbal kök hücreleri *in vitro* olarak çoğaltmayı ilk deneyen Rama ve ark.⁹¹ olmuştur. Kültürdeki kök hücreler, ABCG2 gibi kök hücre markerlarını eksprese eden, sitokeratin 3 gibi hücre farklılaşma markerları için negatif olan ve yüksek nükleus/sitoplazma oranına sahip küçük hücreler olarak tanımlanır. DNp63a ekspresyonunun yüksek olması, başarılı transplantasyon için bir kalite kontrol göstergesidir.⁹¹ Transplantasyon yapılacak konakçı ortamının daha uyumlu olmasını gerektiren katı hasta dahil etme kriterleri klinik başarı için çok önemlidir.⁹² *Ex vivo* kültürlenmiş limbal epitel hücreleri dışında farklı hücre tedavileri de tanımlanmıştır. Bunlar arasında kültürlenmiş oral mukozal epitel hücreleri, ekstraoküler MKH'ler ve iPSC kaynaklı limbal kök hücreler yer alır.^{93,94,95}

Kornea endotel hastalıklarının tedavisi için çoğaltılmış yetişkin veya kök hücre kaynaklı KEH'ler çalışılmıştır.⁴⁷ KEH'ler, çoğalmak için uyarılması gereken durağan ("quiescent") hücrelerdir. Aynı zamanda, miyofibroblastik fenotip ve hücrel fonksiyon kaybına yol açabilecek endotelial-mezenkimal geçişten kaçınmak gerekir. iPSC'leri KEH'ye diferansiyasyonun alternatifi, sonuçta elde edilecek hücrelerin KEH'lere benzer özelliklere sahip olduğundan emin olunmasını sağlayacak katı protokollerin geliştirilmesidir.⁴⁷ Bu hücreleri veya aselüler endotelial greft eşdeğerlerini uygulama stratejileri, allogreft ameliyatlarına olan ihtiyacı hafifletmek için araştırılmaktadır.⁴⁷

Bu arada, lakrimal bez dokusunu onarmak için, epitelyal hücre adezyon moleküllü pozitif progenitor hücrelerin enjeksiyonunun yapılabileceği gösterilmiştir.⁹⁶ Sağlıklı ve aköz eksikliği kuru göz hastalığı olan farelerin lakrimal bezlerinden kültürlenen lakrimal bez kök hücreleri, progenitor hücre belirteçlerini (örneğin; Krt14, Krt5, P63, nestin) eksprese eder,⁹⁷ kendi kendini yenileme kapasitesine sahiptir ve *in vitro* ve *in vivo* olarak asiner veya duktal hücre benzeri hücrelere dönüşebilirler.⁹⁸ Aksine, insan iPSC'lerinin gelişimsel sürecindeki belirteçleri indükleyerek doğrudan yeniden programlama yönteminin kullanıldığı bir 3B DM tekniği ile *in vitro* ve *in vivo* embriyogenez sonucunda salgı bezi yapısı yeniden oluşturulmuştur.⁹⁹ Kısmen hasar görmüş lakrimal bezin *in situ* rejenerasyonu, glandüler dokuda kök hücreler kullanılarak mümkündür. DM yöntemleriyle iPSC'lerden geliştirilen organoidler total glandüler hasar gelişen olgularda transplante edilebilir.¹⁰⁰ Gerçekten de, nöroektodermal kökene sahip iPSC'lerden organoid üretimi, lakrimal bezlere özgü asiner, duktal ve mioepitelyal yapılar oluşturur ve salgı fonksiyonu gösterir.¹⁰¹

Retinal kök hücre tedavisi için retinal organoidler yararlı bir kaynak gibi görünmektedir.^{77,102} RPH, gebeliğin 16. ve 20. haftaları arasında fetüsün nöral retinasında bulunan, mitotik kapasiteye sahip multipotent kök hücrelerdir.¹⁰³ RPH hücreleri *in vitro* ortamda yönlendirilirse fotoreseptör belirteçlerinin eksprese edebilir, retinanın nöronal hücrelerine farklılaşabilir,¹⁰⁴

ve yetişkin farelerde hem sağlıklı hem de dejeneratif retinanın dış nükleer katmanına entegre olabilirler.¹⁰⁵ Biyokimyasal olarak yönlendirilmiş ancak henüz morfolojik olarak farklılaşmamış progenitorların doğru zamanda seçilmesi en iyi sonucu verir.¹⁰⁶ Rod hücre gelişiminin zirvesindeki RPH'ler transplante edildiğinde rod fotoreseptörlerine farklılaşabilir ve sinaptik bağlantılar oluşturarak dejeneratif retinaya entegre olabilirler.^{106,107} RPH'ler subretinal veya intravitreal olarak transplante edilebilir. Ancak, MKH'ler ile yapılan işlemlerde olduğu gibi, subretinal implantasyon teknikleri risksiz değildir.¹⁰⁸ Klinik olarak, Stargardt maküler distrofisi, kuru YBMD, RP ve muhtemelen retinal vasküler hastalıklarda KEH'lerden yararlanılabilir.^{109,110}

Hasarlı RPE'nin sağlıklı iPSC'lerle değiştirilmesi hastalığın ilerlemesini geciktirebilir.^{111,112} Allojenik veya otolog RPE hücrelerinin veya tabakalarının transplantasyonu yapılmıştır.¹¹³ Bir domuz modelinde, atrofik retinaya enjekte edilen iPSC kaynaklı RPE hücrelerinin tipik morfolojilerini, RPE ile ilişkili gen ekspresyonunu ve fagositik yeteneklerini koruduğu bildirilmiştir.¹¹⁴ Kombine RPE ve retina tabakası transplantasyonu ile dejeneratif retinanın tamamen değiştirilmesi mümkün olabilir.¹¹⁵

RP tedavisi için diğer kök hücreler de çalışılmıştır. Bunlar arasında kemik iliği kök hücreleri, konjonktival MKH'ler ve insan iPSC hücreleri kaynaklı retina hücrelerinin farelerde kullanımı da yer almaktadır.^{50,116,117,118} *In vivo* hayvan çalışmaları, MKH'lerin vitreusa transplantasyonunun RP'de fotoreseptör sağkalımını iyileştirebileceğini göstermiştir.¹¹⁹

Glokom ve diğer optik nöropatiler, RGH replasman tedavisinden yarar görmesi beklenen en yaygın hastalıklardır.¹¹⁰ Ancak, donör nöron sağkalımı ve retinal entegrasyon sorunları göz önünde bulundurulmalıdır. İnsan iPSC hücreleri RGH'lere farklılaştırılabilir ve hizalanmış nanofiber matrisler *in vitro* optik sinir benzeri model olarak kullanılarak iPSC kaynaklı RGH'lerin aksonal büyümesi yönlendirilebilir. Kolinerjik bir ilaç olan forskolinin de RGH farklılaşmasını teşvik ettiği bilinmektedir.¹²⁰

Donör sağkalımı, dendritik tabakalaşma, topografik dağılım ve donör-konak etkileşimlerini araştırarak çalışmalarda kullanılan *ex vivo* insan RGH transplantasyonu protokolleri bildirilmiştir ve sonuçlar gelecekteki uygulamalar için umut vaat etmektedir.^{121,122,123}

İnsan iPSC hücreleri *in vitro* olarak matür, fonksiyonel RGH'lere farklılaştırılıp farelere intravitreal olarak verildiğinde bu hücrelerin retina lokalizasyonu, morfolojisi ve işlevselliği doğal RGH'lere benzer bulunmuştur.¹²⁴ Nörotrofin-3'ü aşırı eksprese eden Schwann hücreleri ekilen domuz hücresizleştirilmiş optik sinirinin fonksiyonel bir iskele görevi gördüğü ve rejeneratif aksonlarının uzamasını ve remiyelinasyonunu desteklediği ve bu nedenle başarılı bir *in vivo* omurilik hasarı modeli olduğu gösterilmiştir.¹²⁵

Öte yandan, Wharton jölesinden türetilen MKH'lerin (WJ-MKH) nöronal transformasyonu değil ancak sekreteruar eksozomlarının etkileri araştırılmıştır.¹²⁶ Mitokondriyal adenozin trifosfat sentezini artırdığı ve nöroenflamasyonu baskıladıkları bilinmektedir.^{127,128} Umbilikal kord WJ-MKH tedavisi, olaydan hemen sonra yapılırsa toksik optik nöropatiler ve neden olan

mutasyonlardan bağımsız olarak RP için önerilmiştir.^{129,130}

3B Mikro Dokular

3B kültür sistemleri hücre-hücre etkileşimini artırmayı ve doğal ortama benzer mikro çevre oluşturmayı, böylece doku fizyolojisine eşdeğer bir ortam yaratmayı amaçlamaktadır. Hücreler sféroidler veya 3B mikromimariler, yerçekimi kuvveti nedeniyle doğal olarak damlacık şekilde veya kalıplar içinde agregre olabilir veya fotolitografi, damlacık mikroakışkanları veya biyobaskı gibi biyomühendislik platformları kullanılarak oluşturulabilir.^{131,132,133} Oküler yüzey hastalıklarını tedavi etmek için konjonktival kök hücrelerden enjekte edilebilir oftalmik mikro dokular üretilmiştir.¹³¹ 3B dinamik kültür yöntemleri yapıların kök hücre özelliklerini korumasını ve oküler farklılaşmasını kolaylaştırmasını sağladı. Hirayama ve ark.¹³⁴, epitelyal ve mezenkimal hücrelerden oluşan bir mikrogermden biyomühendislik ile fonksiyonel bir fare lakrimal bezi üretmeyi başarmıştır. Ortotopik implantasyonu takiben, üretilen lakrimal germ, pilokarpin ile uyarıldıktan sonra laktoferrin gibi gözyaşı proteinleri salgılayabilir. Benzer şekilde, desenli kalıplarda üretilen ve lipoaspirat kaynaklı pluripotent kök hücrelerden ve MKH'lerden oluşan sféroidler, farklılaşma kapasitelerini koruyabilir ve hayvan modelinde kornea stromasını onarabilir.¹³²

Düzenlemeler, Ticarileştirme ve Etik

Biyomühendislik ürünlerinin insanlarda kullanımına ve ticarileştirilmesine ilişkin düzenlemeler, yeni ürünler ortaya çıktıkça gelişmektedir. Bununla birlikte, EKH ve hayvan deneyleri ile yeni terapötik ajanlar geliştirilmeye çalışması hakkındaki etik tartışmalar yıllardır sürmektedir. Hastalık modelleri için çip üstü organ teknolojisinin kullanılması, ilaç üreticilerinin hayvan deneylerine olan ihtiyacı azaltabilir. İnsan embriyolarının kullanımı ile ilgili etik kaygılar ve hastaların kan gruplarına göre eşleştirilmesindeki sorunlar iPSC'ler ile aşılanabilir. Bununla birlikte, türetilmiş hücrelerin kaynak hücrenin gen ekspresyonuna devam etmesine neden olacak epigenetik bellek ve iPSC'lerin sonsuz çoğalma kapasitesi ile teratoma dönüşebilme olasılığı ile ilgili güvenlik endişeleri devam etmektedir.⁵⁰

Etik

Yazarlık Katkıları

Konsept: C.A.U., S.G., Dizayn: C.A.U., Veri Toplama veya İşleme: C.A.U., S.G., Literatür Arama: C.A.U., S.G., Yazan: C.A.U., S.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Çalışmamız için hiçbir kurum ya da kişiden finansal destek alınmamıştır.

Kaynaklar

1. Bhumirata S, Bernhard J, Cimetta E, Vunjak-Novakovic G. Principles of Bioreactor Design for Tissue Engineering. In: Lanza R, Langer R, Vacanti J, eds. Principles of tissue engineering (4th ed). San Diego CA; Elsevier; 2014:261-278.
2. Caplan AL. Embryonic development and the principles of tissue engineering. Novartis Found Symp. 2003;249:17-25.

3. Singh HP, Wang S, Stachelek K, Lee S, Reid MW, Thornton ME, Craft CM, Grubbs BH, Cobrinik D. Developmental stage-specific proliferation and retinoblastoma genesis in RB-deficient human but not mouse cone precursors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018;115:E9391-E9400.
4. Huh D, Torisawa YS, Hamilton GA, Kim HJ, Ingber DE. Microengineered physiological biomimicry: organs-on-chips. Lab Chip. 2012;12:2156-2164.
5. Hao N, Nie Y, Zhang JXJ. Microfluidics for silica biomaterials synthesis: opportunities and challenges. Biomater Sci. 2019;361:635-650.
6. Bellin M, Marchetto MC, Gage FH, Mummery CL. Induced pluripotent stem cells: the new patient? Nat Rev Mol Cell Biol. 2012;13:713-726.
7. Grskovic M, Javaherian A, Strulovic B, Daley GQ. Induced pluripotent stem cells—opportunities for disease modelling and drug discovery. Nat Rev Drug Discov. 2011;10:915-929.
8. Manafi N, Shokri F, Achberger K, Hirayama M, Mohammadi MH, Noorzadeh F, Hong J, Liebau S, Tsuji T, Quinn PMJ, Mashaghi A. Organoids and organ chips in ophthalmology. Ocul Surf. 2021;19:1-15.
9. Abdalkader R, Kamei KI. Multi-corneal barrier-on-a-chip to recapitulate eye blinking shear stress forces. Lab Chip. 2020;20:1410-1417.
10. Yu Z, Hao R, Chen X, Ma L, Zhang Y, Yang H. Protocol to develop a microfluidic human corneal barrier-on-a-chip to evaluate the corneal epithelial wound repair process. STAR Protoc. 2023;4:102122.
11. Bai J, Fu H, Bazinet L, Birsner AE, D'Amato RJ. A Method for Developing Novel 3D Cornea-on-a-Chip Using Primary Murine Corneal Epithelial and Endothelial Cells. Front Pharmacol. 2020;11:453.
12. Bikuna-Izagirre M, Aldazabal J, Extramiana L, Moreno-Montañés J, Carnero E, Paredes J. Technological advances in ocular trabecular meshwork in vitro models for glaucoma research. Biotechnol Bioeng. 2022;119:2698-2714.
13. Waxman S, Strzalkowska A, Wang C, Loewen R, Dang Y, Loewen NA. Tissue-engineered anterior segment eye cultures demonstrate hallmarks of conventional organ culture. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2023;261:1359-1368.
14. Dautriche CN, Xie Y, Sharfstein ST. Walking through trabecular meshwork biology: Toward engineering design of outflow physiology. Biotechnol Adv. 2014;32:971-983.
15. Shimazawa M, Hara H. [Current Status of the Pharmacological Treatment of Glaucoma and Its Prospects]. Yakugaku Zasshi. 2021;141:61-66.
16. Zhang XH, Jin ZB. Patient iPSC-derived retinal organoids: Observable retinal diseases in-a-dish. Histol Histopathol. 2021;36:705-710.
17. Aoki H, Hara A, Nakagawa S, Motohashi T, Hirano M, Takahashi Y, Kunisada T. Embryonic stem cells that differentiate into RPE cell precursors in vitro develop into RPE cell monolayers in vivo. Exp Eye Res. 2006;82:265-274.
18. Song MJ, Quinn R, Nguyen E, Hampton C, Sharma R, Park TS, Koster C, Voss T, Tristan C, Weber C, Singh A, Dejene R, Bose D, Chen YC, Derr P, Derr K, Michael S, Barone F, Chen G, Boehm M, Maminishkis A, Singec I, Ferrer M, Bharti K. 3D vascularized eye tissue models age-related macular degeneration. Nat Methods. 2023;20:46-47.
19. Dalvi S, Chatterjee A, Singh R. AMD recapitulated in a 3D biomimetic: A breakthrough in retina tissue engineering. Cell Stem Cell. 2023;30:243-245.
20. Stowell C, Burgoyne CF, Tamm ER, Ethier CR; Lasker/IRRF Initiative on Astrocytes and Glaucomatous Neurodegeneration Participants. Biomechanical aspects of axonal damage in glaucoma: A brief review. Exp Eye Res. 2017;157:13-19.
21. Surma M, Anbarasu K, Dutta S, Olivera Perez LJ, Huang KC, Meyer JS, Das A. Enhanced mitochondrial biogenesis promotes neuroprotection in human pluripotent stem cell derived retinal ganglion cells. Commun Biol. 2023;6:218.
22. Ingber DE. Mechanobiology, Tissue Development and Organ Engineering. In: Lanza R, Langer R, Vacanti J, eds. Principles of tissue engineering (4th ed). San Diego CA; Elsevier; 2014:309-322.
23. Bennet D, Estlack Z, Reid T, Kim J. A microengineered human corneal epithelium-on-a-chip for eye drops mass transport evaluation. Lab Chip. 2018;18:1539-1551.
24. Beißner N, Mattern K, Dietzel A, Reichl S. DynaMiTES - A dynamic cell culture platform for in vitro drug testing PART 2 - Ocular DynaMiTES

- for drug absorption studies of the anterior eye. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018;126:166-176.
25. Ko J, Lee Y, Lee S, Lee SR, Jeon NL. Human Ocular Angiogenesis-Inspired Vascular Models on an Injection-Molded Microfluidic Chip. *Adv Healthc Mater.* 2019;8:e1900328.
26. Kern TJ. Topical cyclosporine therapy for keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Cornell Vet.* 1989;79:207-209.
27. Power WJ, Mullaney P, Farrell M, Collum LM. Effect of topical cyclosporin A on conjunctival T cells in patients with secondary Sjögren's syndrome. *Cornea.* 1993;12:507-511.
28. Uttine CA, Stern M, Akpek EK. Clinical review: topical ophthalmic use of cyclosporin A. *Ocul Immunol Inflamm.* 2010;18:352-361.
29. El-Feky YA, Fares AR, Zayed G, El-Telbany RFA, Ahmed KA, El-Telbany DFA. Repurposing of nifedipine loaded in situ ophthalmic gel as a novel approach for glaucoma treatment. *Biomed Pharmacother.* 2021;142:112008.
30. Yap ZL, Seet LF, Chu SW, Toh LZ, Ibrahim FI, Wong TT. Effect of valproic acid on functional bleb morphology in a rabbit model of minimally invasive surgery. *Br J Ophthalmol.* 2022;106:1028-1036.
31. Maneu V, Lax P, De Diego AMG, Cuenca N, García AG. Combined drug triads for synergic neuroprotection in retinal degeneration. *Biomed Pharmacother.* 2022;149:112911.
32. Ambati M, Apicella I, Wang SB, Narendran S, Leung H, Pereira F, Nagasaka Y, Huang P, Varshney A, Baker KL, Marion KM, Shadmehr M, Stains CI, Werner BC, Sada SR, Taylor EW, Sutton SS, Magagnoli J, Gelfand BD. Identification of fluoxetine as a direct NLRP3 inhibitor to treat atrophic macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118:e2102975118.
33. Manai F, Govoni S, Amadio M. The Challenge of Dimethyl Fumarate Repurposing in Eye Pathologies. *Cells.* 2022;11:4061.
34. Lu Y, Chan YK, Lau LH, Chao Y, Shih KC, Lai SM, Wong D, Shum HC. Adhesion of silicone oil and emulsification: an in vitro assessment using a microfluidic device and 'Eye-on-a-Chip'. *Acta Ophthalmol.* 2019;97:313-318.
35. Zhao Y, Hu G, Yan Y, Wang Z, Liu X, Shi H. Biomechanical analysis of ocular diseases and its in vitro study methods. *Biomed Eng Online.* 2022;21:49.
36. Su Y, Zhang B, Sun R, Liu W, Zhu Q, Zhang X, Wang R, Chen C. PLGA-based biodegradable microspheres in drug delivery: recent advances in research and application. *Drug Deliv.* 2021;28:1397-1418.
37. Leon RAL, Somasundar A, Badruddoza AZM, Khan SA. Microfluidic fabrication of multi-drug-loaded polymeric microparticles for topical glaucoma therapy. *Part Syst Char.* 2015;32:567-572.
38. Ali HS, York P, Ali AM, Blagden N. Hydrocortisone nanosuspensions for ophthalmic delivery: A comparative study between microfluidic nanoprecipitation and wet milling. *J Control Release.* 2011;149:175-181.
39. Kutlehria S, Sachdeva MS. Role of In Vitro Models for Development of Ophthalmic Delivery Systems. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2021;38:1-31.
40. Zhang H, Jackson JK, Chiao M. Microfabricated drug delivery devices: design, fabrication, and applications. *Adv Funct Mater.* 2017;27:1703606.
41. Kaczmarek JC, Tieppo A, White CJ, Byrne ME. Adjusting biomaterial composition to achieve controlled multiple-day release of dexamethasone from an extended-wear silicone hydrogel contact lens. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2014;25:88-100.
42. Phan CM, Bajgrowicz M, Gao H, Subbaraman LN, Jones LW. Release of Fluconazole from Contact Lenses Using a Novel In Vitro Eye Model. *Optom Vis Sci.* 2016;93:387-394.
43. Phan CM, Walther H, Gao H, Rossy J, Subbaraman LN, Jones L. Development of an In Vitro Ocular Platform to Test Contact Lenses. *J Vis Exp.* 2016:e53907.
44. Pimenta AF, Valente A, Pereira JM, Pereira JC, Filipe HP, Mata JL, Colaço R, Saramago B, Serro AP. Simulation of the hydrodynamic conditions of the eye to better reproduce the drug release from hydrogel contact lenses: experiments and modeling. *Drug Deliv Transl Res.* 2016;6:755-762.
45. Silva D, de Sousa HC, Gil MH, Santos LF, Oom MS, Alvarez-Lorenzo C, Saramago B, Serro AP. Moxifloxacin-imprinted silicone-based hydrogels as contact lens materials for extended drug release. *Eur J Pharm Sci.* 2021;156:105591.
46. Mohan RR, Martin LM, Sinha NR. Novel insights into gene therapy in the cornea. *Exp Eye Res.* 2021;202:108361.
47. Català P, Thuret G, Skottman H, Mehta JS, Parekh M, Ní Dhubhghaill S, Collin RWJ, Nuijts RMMA, Ferrari S, LaPointe VLS, Dickman MM. Approaches for corneal endothelium regenerative medicine. *Prog Retin Eye Res.* 2022;87:100987.
48. McDougal Runner M, Gutekunst CA, Gross R. Promising new gene therapy for optic nerve regeneration and neuroprotection. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019;60:2251.
49. LUXTURNUS_US_Prescribing_Information.pdf. <https://www.fda.gov/media/109906/download>.
50. Wu KY, Kulbay M, Toameh D, Xu AQ, Kalevar A, Tran SD. Retinitis Pigmentosa: Novel Therapeutic Targets and Drug Development. *Pharmaceutics.* 2023;15:685.
51. Maguire AM, Russell S, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, Wittes J, Pappas J, Elci O, Marshall KA, McCague S, Reichert H, Davis M, Simonelli F, Leroy BP, Wright JF, High KA, Bennett J. Efficacy, Safety, and Durability of Voretigene Neparvovec-rzyl in RPE65 Mutation-Associated Inherited Retinal Dystrophy: Results of Phase 1 and 3 Trials. *Ophthalmology.* 2019;126:1273-1285.
52. Maguire AM, Russell S, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, Drack AV, Simonelli F, Leroy BP, Reape KZ, High KA, Bennett J. Durability of Voretigene Neparvovec for Biallelic RPE65-Mediated Inherited Retinal Disease: Phase 3 Results at 3 and 4 Years. *Ophthalmology.* 2021;128:1460-1468.
53. Hussain RM, Tran KD, Maguire AM, Berrocal AM. Subretinal Injection of Voretigene Neparvovec-rzyl in a Patient With RPE65-Associated Leber's Congenital Amaurosis. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina.* 2019;50:661-663.
54. Seitz IP, Michalakakis S, Wilhelm B, Reichel FF, Ochakovski GA, Zrenner E, Ueffing M, Biel M, Wissinger B, Bartz-Schmidt KU, Peters T, Fischer MD, RD-CURE Consortium. Superior Retinal Gene Transfer and Biodistribution Profile of Subretinal Versus Intravitreal Delivery of AAV8 in Nonhuman Primates. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58:5792-5801.
55. Yi S, Ding F, Gong L, Gu X. Extracellular Matrix Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2017;12:233-246.
56. Thomas D, Gaspar D, Sorushanova A, Milcovich G, Spanoudes K, Mullen AM, O'Brien T, Pandit A, Zeugolis DI. Scaffold and scaffold-free self-assembled systems in regenerative medicine. *Biotechnol Bioeng.* 2016;113:1155-1163.
57. Chen Z, You J, Liu X, Cooper S, Hodge C, Sutton G, Crook JM, Wallace GG. Biomaterials for corneal bioengineering. *Biomater.* 2018;13:032002.
58. Palchesko RN, Carrasquilla SD, Feinberg AW. Natural Biomaterials for Corneal Tissue Engineering, Repair, and Regeneration. *Adv Healthc Mater.* 2018;7:e1701434.
59. Mahdavi SS, Abdekhodaie MJ, Mashayekhan S, Baradaran-Rafii A, Djalilian AR. Bioengineering Approaches for Corneal Regenerative Medicine. *Tissue Eng Regen Med.* 2020;17:567-593.
60. Orash Mahmoud Salehi A, Heidari-Keshel S, Poursamar SA, Zarrabi A, Sefat F, Mamidi N, Behrouz MJ, Rafienia M. Bioprinted Membranes for Corneal Tissue Engineering: A Review. *Pharmaceutics.* 2022;14:2797.
61. Isaacson A, Swioklo S, Connon CJ. 3D bioprinting of a corneal stroma equivalent. *Exp Eye Res.* 2021;173:188-193.
62. Gouveia RM, Koudouna E, Jester J, Figueiredo F, Connon CJ. Template Curvature Influences Cell Alignment to Create Improved Human Corneal Tissue Equivalents. *Adv Biosyst.* 2017;1:e1700135.
63. Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol.* 2014;32:773-785.
64. Ahearne M, Fernández-Pérez J, Masterton S, Madden PW, Bhattacharjee P. Designing scaffolds for corneal regeneration. *Adv Funct Mater.* 2020;30:1908996.
65. Yousaf S, Keshel SH, Farzi GA, Momeni-Moghadam M, Ahmadi ED, Asencio IO, Mozafari M, Sefat F. Scaffolds for corneal tissue engineering. In:

- Mozafari M, Sefat F, Atala A, eds. *Handbook of Tissue Engineering Scaffolds* (1st ed). Amsterdam; Elsevier; 2019:649-672.
66. Tayebi T, Baradaran-Rafii A, Hajifathali A, Rahimpour A, Zali H, Shaabani A, Niknejad H. Biofabrication of chitosan/chitosan nanoparticles/polycaprolactone transparent membrane for corneal endothelial tissue engineering. *Sci Rep*. 2021;11:7060.
 67. Anitua E, Muruzabal F, de la Fuente M, Merayo J, Durán J, Orive G. Plasma Rich in Growth Factors for the Treatment of Ocular Surface Diseases. *Curr Eye Res*. 2016;41:875-882.
 68. Chen L, Yan D, Wu N, Zhang W, Yan C, Yao Q, Zouboulis CC, Sun H, Fu Y. 3D-Printed Poly-Caprolactone Scaffolds Modified With Biomimetic Extracellular Matrices for Tarsal Plate Tissue Engineering. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:219.
 69. Worthington KS, Wiley LA, Kaalberg EE, Collins MM, Mullins RF, Stone EM, Tucker BA. Two-photon polymerization for production of human iPSC-derived retinal cell grafts. *Acta Biomater*. 2017;55:385-395.
 70. Wang P, Li X, Zhu W, Zhong Z, Moran A, Wang W, Zhang K, Shaochen Chen. 3D bioprinting of hydrogels for retina cell culturing. *Bioprinting*. 2018;11:e00029.
 71. Kim J, Park JY, Kong JS, Lee H, Won JY, Cho DW. Development of 3D Printed Bruch's Membrane-Mimetic Substance for the Maturation of Retinal Pigment Epithelial Cells. *Int J Mol Sci*. 2021;22:1095.
 72. Lorber B, Hsiao WK, Martin KR. Three-dimensional printing of the retina. *Curr Opin Ophthalmol*. 2016;27:262-267.
 73. Lorber B, Hsiao WK, Hutchings IM, Martin KR. Adult rat retinal ganglion cells and glia can be printed by piezoelectric inkjet printing. *Biofabrication*. 2014;6:015001.
 74. Song MJ, Quinn R, Nguyen E, Hampton C, Sharma R, Park TS, Koster C, Voss T, Tristan C, Weber C, Singh A, Dejene R, Bose D, Chen YC, Derr P, Derr K, Michael S, Barone F, Chen G, Boehm M, Maminishkis A, Singec I, Ferrer M, Bharti K. Bioprinted 3D outer retina barrier uncovers RPE-dependent choroidal phenotype in advanced macular degeneration. *Nat Methods*. 2023;20:149-161.
 75. Jung SS, Son J, Yi SJ, Kim K, Park HS, Kang HW, Kim HK. Development of Müller cell-based 3D biomimetic model using bioprinting technology. *Biomed Mater*. 2022;18.
 76. Sanie-Jahromi F, Azizi A, Shariat S, Johari M. Effect of Electrical Stimulation on Ocular Cells: A Means for Improving Ocular Tissue Engineering and Treatments of Eye Diseases. *Biomed Res Int*. 2021;2021:6548554.
 77. Schwartz SD, Pan CK, Klimanskaya I, Lanza R. Retinal Degeneration. In: Lanza R, Langer R, Vacanti J, eds. *Principles of tissue engineering* (4th ed). San Diego CA; Elsevier; 2014:1427-1440.
 78. Dzobo K, Thomford NE, Senthebane DA, Shipanga H, Rowe A, Dandara C, Pillay M, Motaung KSCM. Advances in Regenerative Medicine and Tissue Engineering: Innovation and Transformation of Medicine. *Stem Cells Int*. 2018;2018:2495848.
 79. Jindal N, Banik A, Prabhakar S, Vaiphie K, Anand A. Alteration of Neurotrophic Factors After Transplantation of Bone Marrow Derived Lin-ve Stem Cell in NMDA-Induced Mouse Model of Retinal Degeneration. *J Cell Biochem*. 2017;118:1699-1711.
 80. Parenteau NL, Nolte CM, Bilbo P, Rosenberg M, Wilkins LM, Johnson EW, Watson S, Mason VS, Bell E. Epidermis generated in vitro: practical considerations and applications. *J Cell Biochem*. 1991;45:245-251.
 81. Zhao M, Chalmers L, Cao L, Vieira AC, Mannis M, Reid B. Electrical signaling in control of ocular cell behaviors. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31:65-88.
 82. Hu W, Wei X, Zhu L, Yin D, Wie A, Bi X, Liu T, Zhou G, Qiang Y, Sun X, Wen Z, Pan Y. Enhancing proliferation and migration of fibroblast cells by electric stimulation based on triboelectric nanogenerator. *Nano Energy*. 2019;57:600-607.
 83. Chirila TV. An overview of the development of artificial corneas with porous skirts and the use of pHEMA for such application. *Biomaterials*. 2001;22:3311-3317.
 84. Lambiasi A, Rama P, Bonini S, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for corneal neurotrophic ulcers. *N Engl J Med*. 1998;338:1174-1180.
 85. Çelebi ARC. Yapay kornea uygulamaları ve kornea doku mühendisliği. In: Burcu A, Yıldız E, Erdem E, eds. *Oküler Yüzey Cerrahileri* (1st ed). Ankara; Anadolu Kitabevi; 2002:228-240.
 86. Griffith M, Li F, Lohmann C, Sheardown HD, Shimmura S, Carlsson DJ. Tissue engineering of the cornea. In: Ma PX, Elisseeff J, eds. *Scaffolding in Tissue Engineering*. Florida; CRC Press Taylor & Francis Group; 2006:413-423.
 87. Kaminski SL, Biowski R, Lukas JR, Koyuncu D, Grabner G. Corneal sensitivity 10 years after epikeratoplasty. *J Refract Surg*. 2002;18:731-736.
 88. Litvin G, Klein I, Litvin Y, Klaiman G, Nyska A. CorNeat KPro: Ocular Implantation Study in Rabbits. *Cornea*. 2021;40:1165-1174.
 89. Bahar I, Reitblat O, Livny E, Litvin G. The first-in-human implantation of the CorNeat keratoprosthesis. *Eye (Lond)*. 2023;37:1331-1335.
 90. Jorge L. Alió del Barrio. Cell Therapy of the Corneal Stroma Using Ex Vivo Cultured Extraocular Cells. In: Alió JL, Alió del Barrio JL, Arnalich-Montiel F, eds. *Corneal regeneration Therapy and Surgery*. (1st ed). Switzerland; Springer Nature; 2019:26;403-415.
 91. Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*. 2010;363:147-155.
 92. Pellegrini G, Rama P, De Luca M. Vision from the right stem. *Trends Mol Med*. 2010;17:1-7.
 93. Barut Selver Ö, Yağcı A, Eğrilmez S, Gürdal M, Palamar M, Çavuşoğlu T, Ateş U, Veral A, Güven Ç, Wolosin JM. Limbal Stem Cell Deficiency and Treatment with Stem Cell Transplantation. *Turk J Ophthalmol*. 2017;47:285-291.
 94. Korkmaz I, Palamar M, Eğrilmez S, Gurdal M, Yagci A, Barut Selver O. Evaluation of Limbal Stem Cell Transplant Success in Ocular Chemical Injury. *Exp Clin Transplant*. 2022;21:684-690.
 95. Buenaga RF, Ahmad S. Cell therapy using cultivated oral mucosal epithelial transplant (COMET). In: Alió JL, Alió del Barrio JL, Arnalich-Montiel F. *Corneal regeneration Therapy and Surgery*. (1st ed). Switzerland; Springer Nature; 2019:16;225-230.
 96. Gromova A, Voronov DA, Yoshida M, Thotakura S, Meech R, Darrt DA, Makarenkova HP. Lacrimal Gland Repair Using Progenitor Cells. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6:88-98.
 97. Xiao S, Zhang Y. Establishment of long-term serum-free culture for lacrimal gland stem cells aiming at lacrimal gland repair. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11:20.
 98. Chen H, Huang P, Zhang Y. Three-dimensional, serum-free culture system for lacrimal gland stem cells. *J Vis Exp*. 2022;(184).
 99. Hirayama M. Advances in functional restoration of the lacrimal glands. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59:DES174-DES182.
 100. Kasal K, Güven S, Utine CA. Current methodology and cell sources for lacrimal gland tissue engineering. *Exp Eye Res*. 2022;221:109138.
 101. Asal M, Koçak G, Sarı V, Reçber T, Nemutlu E, Utine CA, Güven S. Development of lacrimal gland organoids from iPSC derived multizonal ocular cells. *Front Cell Dev Biol*. 2023;10:1058846.
 102. Lund RD, Kwan AS, Keegan DJ, Sauvé Y, Coffey PJ, Lawrence JM. Cell transplantation as a treatment for retinal disease. *Prog Retin Eye Res*. 2001;20:415-449.
 103. Wang NK, Tosi J, Kasanuki JM, Chou CL, Kong J, Parmalee N, Wert KJ, Allikmets R, Lai CC, Chien CL, Nagasaki T, Lin CS, Tsang SH. Transplantation of reprogrammed embryonic stem cells improves visual function in a mouse model for retinitis pigmentosa. *Transplantation*. 2010;89:911-919.
 104. Klassen HJ, Ng TF, Kurimoto Y, Kirov I, Shatos M, Coffey P, Young MJ. Multipotent retinal progenitors express developmental markers, differentiate into retinal neurons, and preserve light-mediated behavior. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:4167-4173.
 105. Léveillard T, Mohand-Saïd S, Sahel JA. La transplantation de photorécepteurs immatures: un moyen pour réparer la rétine [Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors]. *Med Sci (Paris)*. 2007;23:240-242.

106. MacLaren RE, Pearson RA, MacNeil A, Douglas RH, Salt TE, Akimoto M, Swaroop A, Sowden JC, Ali RR. Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. *Nature*. 2006;444:203-207.
107. Gasparini SJ, Llonch S, Borsch O, Ader M. Transplantation of photoreceptors into the degenerative retina: Current state and future perspectives. *Prog Retin Eye Res*. 2019;69:1-37.
108. 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;7:178.
109. Sanie-Jahromi F, Emadi Z, Khajehahmadi Z, Nowroozzadeh MH. The role of retinal pigment epithelium in the pathogenesis and treatment of age-related macular degeneration. *J Infertil Reprod Biol*. 2021;9:65-69.
110. Coco-Martin RM, Pastor-Idoate S, Pastor JC. Cell Replacement Therapy for Retinal and Optic Nerve Diseases: Cell Sources, Clinical Trials and Challenges. *Pharmaceutics*. 2021;13:865.
111. Kashani AH, Uang J, Mert M, Rahhal F, Chan C, Avery RL, Dugel P, Chen S, Lebkowski J, Clegg DO, Hinton DR, Humayun MS. Surgical Method for Implantation of a Biosynthetic Retinal Pigment Epithelium Monolayer for Geographic Atrophy: Experience from a Phase 1/2a Study. *Ophthalmol Retina*. 2020;4:264-273.
112. Mandai M, Fujii M, Hashiguchi T, Sunagawa GA, Ito SI, Sun J, Kaneko J, Shio J, Yamada C, Takahashi M. iPSC-Derived Retina Transplants Improve Vision in rd1 End-Stage Retinal-Degeneration Mice. *Stem Cell Reports*. 2017;8:69-83.
113. Osakada F [Development of Cellular and Tissue-based Products for Retinal Regenerative Medicine]. *Yakugaku Zasshi*. 2017;137:23-29.
114. Duarri A, Rodríguez-Bocanegra E, Martínez-Navarrete G, Biarnés M, García M, Ferraro LL, Kuebler B, Aran B, Izquierdo E, Aguilera-Xiol E, Casaroli-Marano RP, Trias E, Fernandez E, Raya Á, Veiga A, Monés J. Transplantation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium in a Swine Model of Geographic Atrophy. *Int J Mol Sci*. 2021;22:10497.
115. Thomas BB, Lin B, Martinez-Camarillo JC, Zhu D, McLelland BT, Nistor G, Keirstead HS, Humayun MS, Seiler MJ. Co-grafts of Human Embryonic Stem Cell Derived Retina Organoids and Retinal Pigment Epithelium for Retinal Reconstruction in Immunodeficient Retinal Degenerate Royal College of Surgeons Rats. *Front Neurosci*. 2021;15:752958.
116. Surendran H, Nandakumar S, Reddy K VB, Stoddard J, Mohan K V, Upadhyay PK, McGill TJ, Pal R. Transplantation of retinal pigment epithelium and photoreceptors generated concomitantly via small molecule-mediated differentiation rescues visual function in rodent models of retinal degeneration. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12:70.
117. Ferroni L, Gardin C, Tocco I, Epis R, Casadei A, Vindigni V, Mucci G, Zavan B. Potential for neural differentiation of mesenchymal stem cells. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2013;129:89-115.
118. Soleimannejad M, Ebrahimi-Barough S, Nadri S, Riazi-Esfahani M, Soleimani M, Tavangar SM, Ai J. Retina tissue engineering by conjunctiva mesenchymal stem cells encapsulated in fibrin gel: Hypotheses on novel approach to retinal diseases treatment. *Med Hypotheses*. 2017;101:75-77.
119. Zhang J, Li P, Zhao G, He S, Xu D, Jiang W, Peng Q, Li Z, Xie Z, Zhang H, Xu Y, Qi L. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles protect retina in a mouse model of retinitis pigmentosa by anti-inflammation through miR-146a-NF- κ B axis. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13:394.
120. Sluch VM, Davis CH, Ranganathan V, Kerr JM, Krick K, Martin R, Berlinicke CA, Marsh-Armstrong N, Diamond JS, Mao HQ, Zack DJ. Differentiation of human ESCs to retinal ganglion cells using a CRISPR engineered reporter cell line. *Sci Rep*. 2015;5:16595.
121. Zhang KY, Johnson TV. Analyses of transplanted human retinal ganglion cell morphology and localization in murine organotypic retinal explant culture. *STAR Protoc*. 2022;3:101328.
122. Zhang KY, Tuffy C, Mertz JL, Quillen S, Wechsler L, Quigley HA, Zack DJ, Johnson TV. Role of the Internal Limiting Membrane in Structural Engraftment and Topographic Spacing of Transplanted Human Stem Cell-Derived Retinal Ganglion Cells. *Stem Cell Reports*. 2021;16:149-167.
123. Zhang KY, Aguzzi EA, Johnson TV. Retinal ganglion cell transplantation: approaches for overcoming challenges to functional integration. *Cells*. 2021;10:1426.
124. Vratsha V, Nikonov S, Bell BA, He J, Bungatavala Y, Uyhazi KE, Murthy Chavali VR. Transplanted human induced pluripotent stem cells-derived retinal ganglion cells embed within mouse retinas and are electrophysiologically functional. *iScience*. 2022;25:105308.
125. Bai YR, Lai BQ, Han WT, Sun JH, Li G, Ding Y, Zeng X, Ma YH, Zeng YS. Decellularized optic nerve functional scaffold transplant facilitates directional axon regeneration and remyelination in the injured white matter of the rat spinal cord. *Neural Regen Res*. 2021;16:2276-2283.
126. Rani S, Ryan AE, Griffin MD, Ritter T. Mesenchymal Stem Cell-derived Extracellular Vesicles: Toward Cell-free Therapeutic Applications. *Mol Ther*. 2015;23:812-823.
127. Paliwal S, Chaudhuri R, Agrawal A, Mohanty S. Human tissue-specific MSCs demonstrate differential mitochondria transfer abilities that may determine their regenerative abilities. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9:298.
128. Millán-Rivero JE, Nadal-Nicolás FM, García-Bernal D, Sobrado-Calvo P, Blanquer M, Moraleda JM, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Human Wharton's jelly mesenchymal stem cells protect axotomized rat retinal ganglion cells via secretion of anti-inflammatory and neurotrophic factors. *Sci Rep*. 2018;8:16299.
129. Özmert E, Arslan U. Management of toxic optic neuropathy via a combination of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells with electromagnetic stimulation. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12:518.
130. 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;11:353.
131. Zhong Z, Deng X, Wang P, Yu C, Kiratitanaporn W, Wu X, Schimelman J, Tang M, Balayan A, Yao E, Tian J, Chen L, Zhang K, Chen S. Rapid bioprinting of conjunctival stem cell micro-constructs for subconjunctival ocular injection. *Biomaterials*. 2021;267:120462.
132. Guo Y, Xue Y, Wang P, Cui Z, Cao J, Liu S, Yu Q, Zeng Q, Zhu D, Xie M, Zhang J, Li Z, Liu H, Zhong J, Chen J. Muse cell spheroids have therapeutic effect on corneal scarring wound in mice and tree shrews. *Sci Transl Med*. 2020;12:eaaw1120.
133. Zhu L, Tang Q, Mao Z, Chen H, Wu L, Qin Y. Microfluidic-based platforms for cell-to-cell communication studies. *Biofabrication*. 2023;16.
134. Hirayama M, Ogawa M, Oshima M, Sekine Y, Ishida K, Yamashita K, Ikeda K, Shimura S, Kawakita T, Tsubota K, Tsuji T. Functional lacrimal gland regeneration by transplantation of a bioengineered organ germ. *Nat Commun*. 2013;4:2497.