

Transplantacja nabłonka barwnikowego siatkówki w warunkach doświadczalnych

MARIA KAMERA-MUSZYŃSKA, AGNIESZKA KAMIŃSKA

Katedra i Klinika Okulistyki II Wydziału Lekarskiego AM, ul. Sierakowskiego 13, 03-709 Warszawa

Kmera-Muszyńska M., Kamińska A.

Retinal pigment epithelium transplantation in experimental models

Summary

The increased rate of retinal degenerative diseases, especially age-related macular degeneration (AMD), has motivated research on the transplantation of the retina or the special layers of the retina like retinal pigment epithelium (RPE) for more than 30 years. Current opinions on transplantation of the autologous RPE cells in the experimental studies have been reviewed and described, as have the most frequent operation techniques of the transplantation, causes of rejection and the limitations of the RPE transplantation.

Keywords: RPE, AMD, transplantation

W drugiej połowie XX wieku rozpoczęto transplantację całych narządów lub tkanek. Również w okulistyce, w związku ze wzrostem występowania schorzeń zwyrodnieniowych siatkówki, a w szczególności zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem (age related macular degeneration – AMD), od około 30 lat prowadzone są badania nad możliwością transplantacji siatkówki lub poszczególnych jej warstw, tj. warstwy nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE) i/lub warstwy fotoreceptorów (2, 3). Obserwacje te początkowo były prowadzone w USA, Szwecji, Anglii, a obecnie także w Austrii i Indiach (19). O tym jak poważny problem społeczny stanowi zwyrodnienie plamki związane z wiekiem, mogą świadczyć dane piśmiennictwa, według których 25% społeczeństwa powyżej 65. roku życia choruje na AMD (2, 8). Postać wysiękowa, tzw. wilgotna z neowaskularyzacją podsiatkówkową, stanowi 15-20% tego schorzenia i w 90% przypadków doprowadza do nieodwracalnej utraty widzenia. Obecnie oblicza się, że w krajach zachodnich rocznie przybywa około 500 000 nowych przypadków neowaskularyzacji podsiatkówkowej związanej z AMD (5, 9, 19). Z tego powodu zwyrodnienie plamki związane z wiekiem uważane jest obecnie przez niektórych autorów za chorobę cywilizacyjną XX i XXI stulecia, której rozwój, być może, ma związek ze szkodliwym wpływem środowiska zewnętrznego, niewłaściwym odżywianiem i niezdrowym stylem życia bądź też jest uwarunkowane genetycznie (5, 9, 19).

Nie rozpoznana jeszcze dokładnie patogenezę tego schorzenia i brak skutecznych metod leczenia intensyfikują badania nad nowymi możliwościami leczenia. Wprowadzona w ostatnich latach metoda fotody-

namiczna (PDT) i przezręczniczna termoterapia (TTT), okazały się skuteczne jedynie w początkowym etapie choroby (20).

Próby stosowania środków farmakologicznych mających wpływ na angiogenezę, takich jak interferon lub radioterapia z wykorzystaniem strumienia protonów, fotonów lub płytek radioaktywnych okazały się mało skuteczne, powodowały poza tym liczne powikłania (20). W chwili obecnej prowadzone są badania doświadczalne i kliniczne z zastosowaniem preparatów hamujących angiogenezę, które podawane są doszkliskowo (Ranibizumab – Lucentis, Pegaptanib sodium – Macugen, Triamcinolon), okołogałkowo (Anecortave acetate – Retaane) lub ogólnie (Avastin – Bevacizumab) (18).

Aktualnie stosowane są dwie metody chirurgicznego leczenia AMD. W pierwszej metodzie wykonuje się rotację siatkówki o 30-50 stopni z relokacją dołka czyli jego przesunięciem w miejsce, gdzie stan nabłonka barwnikowego jest lepszy niż w części centralnej siatkówki. Druga metoda polega na usuwaniu neowaskularnych błon podsiatkówkowych. Obie metody obarczone są jednak możliwością licznych i ciężkich powikłań. W przypadku relokacji plamki zabieg jest traumatyzujący, trwa długo i z tego powodu nie u wszystkich chorych może być wykonany. Najczęstszym powikłaniem tej metody jest odwarstwienie siatkówki i rozwój witreoretinopatii proliferacyjnej (PVR). Natomiast podczas usuwania błon neowaskularnych bardzo często dochodzi do mechanicznego uszkodzenia nabłonka barwnikowego, utraty fotoreceptorów, błony Brucha i choriokapilarów. Efektem tego jest postępujący zanik RPE i fotoreceptorów oraz zmniejszenie

przepływu krwi w choriokapilarach. Biorąc pod uwagę fakt, że u osób w podeszłym wieku komórki RPE ujawniają mniejsze tempo mitozy, powstałe ubytki nabłonka barwnikowego wymagają uzupełnienia właśnie poprzez transplantację (2, 4, 5, 9).

Nabłonek barwnikowy siatkówki pełni rolę anatomicznej, mechanicznej i metabolicznej podpory dla komórek warstwy fotoreceptorów siatkówki. Przede wszystkim bierze on udział w procesach widzenia poprzez magazynowanie witaminy A, odpowiada za transport metabolitów i fagocytozę końcowych dysków zewnętrznych segmentów fotoreceptorów oraz syntetyzuje glikozaminoglikany. Tworząc anatomicznie ciągłą warstwę ściśle przylegających komórek pełni również funkcję zewnętrznej bariery krew-siatkówka (2, 9, 17).

Wyniki wieloletnich badań doświadczalnych i klinicznych wykazały, że w przypadku AMD stopniowo dochodzi do utraty funkcji komórek RPE, których interakcja z warstwą fotoreceptorów jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania siatkówki i podtrzymania procesu widzenia (2-4, 17).

Najnowsze badania nad ekspresją genów determinujących RPE ujawniły, że wspomniane komórki zdolne są do produkcji wielu czynników wzrostu, jak np. PEDF, VEGF, TIMP, FGF i CHTF (1, 7). Są one odpowiedzialne za integralność, metaboliczną aktywność i „współdziałanie” RPE, siatkówki i naczyń. Dane te wniosły zupełnie nowe spojrzenie na rolę RPE i potwierdziły zasadność wyboru tych komórek jako materiału przeszczepowego. Należy podkreślić, że głównym celem wszystkich metod leczenia AMD jest zatrzymanie procesów degeneracji RPE i przywrócenie jego prawidłowej funkcji.

Idea transplantacji komórek nabłonka barwnikowego siatkówki zrodziła się w momencie wyhodowania *in vitro* ludzkich komórek RPE, które w tych warunkach podjęły swoją fizjologiczną funkcję (2, 6). Przekonanie, że przestrzeń podsiatkówkowa – podobnie jak komora przednia – jest immunologicznie uprzywilejowana poprzez istnienie bariery krew-siatkówka i krew-mózg stwarzało ponadto nadzieję na powodzenie transplantacji (2, 3, 5, 20, 21). Przeprowadzone ostatnio badania nad transplantacją całej grubości siatkówki wykazały, że jeszcze długo nie będzie ona możliwa, gdyż wymagałoby to przecięcia włókien nerwowych, połączenia ich w układzie dawca-biorca oraz odtworzenia ich prawidłowego przebiegu, a także odpowiednich połączeń synaptycznych (2). W przypadku transplantacji RPE problem ten nie występuje, ponieważ komórki nabłonka barwnikowego nie tworzą połączeń z neuronami siatkówki.

Pierwszej doświadczalnej transplantacji wyhodowanych ludzkich komórek RPE do przestrzeni podsiatkówkowej małpy dokonali Gouras i współpracownicy w 1983 roku (8). Przeszczepione komórki przeżyły w nowym środowisku, przylegając do błony Brucha i tworząc połączenia z komórkami RPE gospodarza

oraz podjęły swoją funkcję. Do chwili obecnej przeprowadzono liczne transplantacje nabłonka barwnikowego u szczurów, królików i świń – allogeniczne (w ramach tego samego gatunku) lub ksenogeniczne (6). Najczęściej stosowanym modelem zwierzęcym są szczury RCS (Royal College of Surgeons), u których występuje dziedziczna dystrofia siatkówki – wtórna do dysfunkcji nabłonka barwnikowego (2, 3, 12, 21). Dysfunkcja ta polega na utracie zdolności fagocytozowania końcowych dysków zewnętrznych segmentów fotoreceptorów siatkówki przez komórki nabłonka barwnikowego, w wyniku czego dochodzi do gromadzenia się w przestrzeni podsiatkówkowej resztek fotoreceptorów i produktów ich degeneracji, w efekcie końcowym prowadząc do ślepoty. Szczury RCS używane są jako model AMD, choroby Stargardta oraz dystrofii żółtkowatej plamki (2, 21).

Na modelu zwierzęcym szczurów RCS wykazano, że przeszczep może przeżyć do 1 roku, opóźniając rozwój dystrofii fotoreceptorów (13). Lecznicy efekt przeszczepionych komórek ograniczony był jedynie do obszaru transplantacji. Większość badań wykazała, że proces „wgajania” się przeszczepów trwał do 3 miesięcy przy braku reakcji odrzutu. Miejsce transplantacji widoczne było na dnie oczu jako mocno ubarwiony obszar, który po sześciu miesiącach stawał się mniej wyraźny.

Podczas badań histologicznych Crafoord i wsp. (5) obserwowali po 3 miesiącach w miejscu podania zawiesiny komórek RPE obecność jednej warstwy komórek barwnikowych, które przylegały do komórek RPE gospodarza, natomiast 6 miesięcy po zabiegu stwierdzili w przestrzeni podsiatkówkowej obecność nacieków składających się z makrofagów i komórek glejowych oraz destrukcję i ubytek zarówno przeszczepionych komórek, jak i fotoreceptorów gospodarza. W części neurosensorycznej siatkówki obserwowano też dużą ilość rozproszonego barwnika pochodzącego z transplantowanych komórek.

Ponieważ homologiczne przeszczepy RPE, pomimo wdrożenia leczenia immunosupresyjnego, w znacznym odsetku kończyły się niepomyślnie, podjęto próby transplantacji autologicznych komórek nabłonka barwnikowego tęczówki (IPE) bądź RPE z obwodu siatkówki tego samego oka (7). Rozpoczęto od prób transplantacji IPE, ponieważ komórki te, pochodząc z tego samego listka zarodkowego co RPE, są embriologicznie podobne. Komórki IPE podjęły funkcję tworząc pojedynczą warstwę komórkową będącą „podparciem” dla fotoreceptorów. Nie stwierdzono żadnych objawów odrzutu, ale, niestety, w badaniach klinicznych nie wykazano istotnej poprawy ostrości wzroku (7).

Zachęcające efekty uzyskano natomiast przeszczepiając komórki RPE z obwodu siatkówki do przestrzeni podsiatkówkowej okolicy dołka. Zaobserwowano tu zmniejszenie stopnia zaawansowania degeneracji fotoreceptorów i chorioapilarów oraz zahamowanie spadku liczby RPE (22).

Techniki transplantacji

Stosowane są dwie metody transplantacji komórek RPE w warunkach doświadczalnych, tj. z dościa przez ciało szkliste lub przez naczyniówkę i błonę Brucha (2, 3, 5, 11, 18). W wypadku pierwszej metody, po wykonaniu witrektomii i niewielkiej retinotomii oraz sprowokowaniu lokalnego odwarstwienia siatkówki, do przestrzeni podsiatkówkowej wstrzykuje się 20 μ l zawiesiny komórek RPE. Stwierdzono, że podane w ten sposób komórki rozprzestrzeniają się swobodnie, obejmując okolicę plamki wraz z dołkiem i w zależności od ich liczby tworzą jedną lub wiele warstw (2, 5). Powstawanie wielu warstw komórek RPE jest zjawiskiem niekorzystnym, ponieważ ich przebudowa komórkowa może powodować apoptozę części transplantowanych komórek oraz wzbudzać aktywność fagocytarną (3, 9). Natomiast usuwanie komórek RPE biorcy w obrębie sprowokowanego odwarstwienia siatkówki jest trudne i może powodować uszkodzenie błony Brucha, w wyniku czego może dochodzić do niewłaściwego przylegania transplantowanych komórek do podłoża i rozwoju ich apoptozy (2, 5, 11, 17).

Biorąc pod uwagę niekorzystne efekty ujawniające się po podaniu zawiesiny komórek RPE, stosuje się częściej przygotowane uprzednio w warunkach hodowli jednowarstwowe przeszczepy, tzw. łatki (patch), które przy pomocy specjalnych narzędzi wprowadzane są do przestrzeni podsiatkówkowej (2, 12, 18). W obrębie przygotowanych „łatek” właściwe ułożenie, jak i przyleganie komórek jest z góry ustalone, a więc zjawisko zlepiania się bądź zwrotnego wypływu komórek RPE przez retinotomię do ciała szklanego staje się niemożliwe. Obserwacje wskazują, że zachowanie połączeń międzykomórkowych w obrębie przygotowanego transplantu oraz pozostawienie komórek na ich błonie podstawnej stwarza większą szansę dla jego przeżycia (2, 11, 17). Wadą przeszczepów „łatkowych” jest jednak tendencja do rolowania się lub przemieszczania w przestrzeni podsiatkówkowej. W celu podtrzymania sztywności przeszczepu hodowle komórek RPE prowadzone są również na matrycy kolagenowej lub poprzez zatapienie w żelatynie (2). Niektórzy badacze używają też błony owodniowej jako substratu do hodowli komórek nabłonka barwnikowego. Jest to materiał naturalny, uprzywilejowany immunologicznie, zawierający czynniki wzrostu i niektóre immunomodulatory (np. HLA-G, Fas-ligand) niezbędne do różnicowania i wzrostu RPE (16).

Jednym z najnowszych sposobów wykonywania przeszczepów RPE jest zastosowanie systemu hodowli ludzkiego płodowego nabłonka barwnikowego siatkówki pod postacią mikrosfer (15). Mikrosfery przygotowane do przeszczepu są owalnymi lub okrągłymi cząstkami kolagenu, do powierzchni których przyczepione są komórki nabłonka barwnikowego siatkówki ludzkiego płodu. Trójwymiarowa struktura mikrosfer pozwala na bezpieczniejsze, w porównaniu z innymi technikami przeszczepów, wprowadzenie komórek RPE do prze-

strzeni podsiatkówkowej. Komórki RPE pod postacią mikrosfer jako jedyne nie tracą zdolności do migracji i procesu proliferacji. Prawdopodobnie w przyszłości będzie możliwe przeszczepianie RPE w postaci mikrosfer w okolicę okołodołeczkową, co pozwoli na rozprzestrzenianie się ich do dołeczka i w efekcie podtrzyma funkcję fotoreceptorów tej okolicy. Ponadto zauważono, że komórki RPE przeszczepiane w postaci wielokomórkowych mikrosfer mają większą zdolność hamowania odpowiedzi limfocytów oraz wydzielają w znacznie większym stężeniu białka z grupy TGF β (transforming growth factor β), hamujące neowaskularyzację podsiatkówkową, niż komórki RPE w postaci pojedynczej warstwy (2, 15).

Pomimo wielu prób przeszczepiania komórek nabłonka barwnikowego uzyskanie trwałego wyleczenia nie jest możliwe w chwili obecnej. Przyczyną tego jest niewłaściwe przyleganie przeszczepionych komórek do podłoża i niewłaściwa koncentracja ich w przestrzeni podsiatkówkowej oraz zbyt krótki okres przeżycia przeszczepu. Ponadto komórki z hodowli pozbawione są zdolności do różnicowania i polaryzacji, przez co wykazują niewłaściwą orientację po ich transplantacji (2, 5, 17). Główną przyczyną niepowodzeń przeszczepów jest uszkodzenie błony Brucha lub jej niecałkowite oczyszczenie z komórek gospodarza (17). Błona Brucha stanowi podporę dla komórek RPE, a jej stan ma zasadnicze znaczenie dla przeżycia przeszczepu i utworzenia w przestrzeni podsiatkówkowej pojedynczej warstwy komórek RPE, ściśle przylegających do podłoża, w sposób przypominający warunki fizjologiczne. Uszkodzenie w czasie zabiegu błony Brucha inicjuje reakcje immunologiczne, co w konsekwencji powoduje destrukcję przeszczepu i jego obumieranie (2, 3, 11, 13, 17, 21).

Najnowsze badania Ali Abri (1) wskazują, że owodnię można wykorzystać jak substytut zniszczonej lub uszkodzonej błony Brucha. Umożliwia to nie tylko lepszą polaryzację i różnicowanie przeszczepionych RPE, ale stanowi też rusztowanie dla komórek RPE gospodarza. Oprócz problemów technicznych istotną przeszkodą w przeszczepianiu RPE są reakcje immunologiczne skierowane przeciwko przeszczepowi.

Ośrodkowy układ nerwowy ze względu na obecność bariery krew-mózg jest odizolowany od układu odpornościowego i dzięki temu uprzywilejowany immunologicznie (2, 20, 21). Jednakże w przypadku uszkodzenia tej bariery, np. poprzez infekcję wirusową czy stan zapalny, zwiększa się tempo napływu limfocytów T do tkanki mózgowej, generując reakcję immunologiczną.

Do niedawna sądzono, że przestrzeń podsiatkówkowa, podobnie jak komora przednia, jest odmienna immunologicznie, ale liczne próby przeszczepiania RPE kończyły się niepowodzeniem, średnio po 1-6 miesiącach, z powodu odrzutu transplantu (2, 5, 9, 11). Okazało się, że uprzywilejowanie to nie jest całkowite i zależy przede wszystkim od zachowania ciągłości błony Brucha oraz stanu nabłonka barwnikowego, tworzą-

cych barierę krew–siatkówka (2, 3, 9, 17, 21). W badaniach eksperymentalnych wykazano, że RPE może hamować proliferację limfocytów T, indukując ich apoptozę poprzez ekspresję ligandu FAS (2, 5). Ponadto RPE posiada możliwość produkcji TGF- β , który uważany jest za głównego sprawcę immunosupresji oka oraz sekrecję prostaglandyny E2 (PG 2) i wytwarzanie tlenku azotu (NO), hamujące proliferację limfocytów (13). Przerwanie błony Brucha w trakcie operacji powoduje wzrost immunogenności w miejscu uszkodzenia i odrzut przeszczepu już po 1 miesiącu, podczas gdy nieknięta błona Brucha daje szansę na przeżycie transplantu do 24 miesięcy (17). Prawdopodobnie już w trakcie operacji uwalniane są cytokiny zapalne zapoczątkowujące reakcje immunologiczne prowadzące do odrzutu przeszczepu (2, 3, 5, 8, 12). Do chwili obecnej nie wyjaśniono jednoznacznie, na czym polega reakcja odrzutu w przestrzeni podsiatkówkowej, która uznawana była dotychczas za immunologicznie uprzywilejowaną (15, 20, 21). Obserwowana w obrębie przeszczepu reakcja zapalna związana z obecnością makrofagów i komórek gleju różni się w sposób zasadniczy od typowej reakcji immunologicznej dawca–biorca, o czym świadczy brak nacieków limfocytami. Większość autorów uważa, że ta niespecyficzna reakcja odpowiada reakcji immunologicznej typu dawca–biorca, która została zmodyfikowana poprzez ACAID i wymaga zastosowania immunosupresji poprzez podanie sterydów i cyklosporyny (2, 3, 5, 12). Najnowsze badania wykazały jednak, że mimo stosowania cyklosporyny A nie udało się zahamować powstającej reakcji zapalnej, która okazała się bardziej skomplikowana niż przypuszczano. Prawdopodobnie cyklosporyna nie hamuje wszystkich etapów tej reakcji i już po 3-6 miesiącach rozpoczyna się proces powolnego odrzucania przeszczepu (2, 3, 5). Zmusiło to badaczy do znalezienia innych sposobów zapobiegania odrzutom. Jednym z nich może być typowanie immunologiczne dawca–biorca oraz przeszczepianie tkanek zgodnych antygenowo (MHC kl. I i II) lub tkanek autologicznych (2-4, 17, 21, 23). Podjęte też zostały próby wyhodowania macierzystej komórki pnia (stem cells), która byłaby źródłem linii komórkowych dla RPE lub fotoreceptorów. Udowodniono, że np. szczurze neuronalne komórki pnia (rNSCs) różnicują się po umieszczeniu ich w przestrzeni podsiatkówkowej do postaci komórek nabłonkowych podejmujących funkcję RPE (22). Ponieważ komórki pnia mogą być potencjalnym źródłem wszystkich ludzkich tkanek, stąd też oczekuje się, że będą one wykorzystane w leczeniu chorób degeneracyjnych oka (np. ARMD) jako prekursorzy RPE (10). Kolejnym krokiem może być zastosowanie inżynierii genetycznej do „obróbki” komórek RPE i wprowadzenia ich do przestrzeni podsiatkówkowej jako nośnika określonej informacji, np. produkcji czynników wzrostu czy inhibitorów neowaskularyzacji (14).

Według najnowszych doniesień (10), istnieją próby wszczepiania „sztucznej” błony Brucha w okolice ob-

jęte zwyrodnieniem. Przeprowadzono takie badania na szczurach RCS z dobrymi efektami. Podczas obserwacji krótkoterminowej nie zauważono najmniejszych objawów odrzutu, tj. obrzęku, płynu podsiatkówkowego, a w badaniach histologicznych i OCT uzyskano obraz prawidłowej siatkówki. Jednakże aby potwierdzić te informacje niezbędne są jeszcze dodatkowe badania długoterminowe (10).

Tak więc nasuwa się konieczność prowadzenia równoległych badań klinicznych i doświadczalnych w oparciu o osiągnięcia biologii molekularnej oraz doskonalenie technik transplantacji i poprawy wyników leczenia w warunkach klinicznych.

Piśmiennictwo

1. *Abri A.*: Amniotic membrane as a substitute for basal lamina for RPE. Abstract – 3rd Internat. Conf. Innovations in Vitreous and Retinal Diseases, Vienna 2-3 September 2005, s. 12-13.
2. *Algere P. V.*: Transplantation of retinal pigment epithelium. What have we learnt so far? *Retinology today*. In Memoriam Klaus Heimann. Köln 2001, rozdz. 3, 11-16.
3. *Bhatt N. S., Newsome D. A., Fenech T., Hessburg T. P., Diamond J. G., Miceli M., Kratz K. E., Oliver P. D.*: Experimental transplantation of human retinal pigment epithelial cells on collagen substrates: *Am. J. Ophthalmology* 1994, 117, 214-221.
4. *Binder S., Stolba U., Krebs I., Kellner L.*: Transplantation of autologous retinal pigment epithelium in eyes with foveal neovascularization resulting from age-related macular degeneration: a pilot study. *American J. Ophthalmology* 2002, 133, 215-225.
5. *Crafoord S., Algere P. V., Dafgard Koop E., Seregard S.*: Cyclosporine treatment of RPE allografts in the rabbit subretinal space. *Acta Ophthalmol. Scand.* 2000, 78, 122-129.
6. *Crafoord S., Algere P. V., Seregard S., Dafgard Koop E.*: Long-term outcome of RPE allografts to the subretinal space of rabbits. *Acta Ophthalmol. Scand.* 1999, 77, 247-254.
7. *Crafoord S., Geng L., Seregard S., Algere P. V.*: Experimental transplantation of autologous iris pigment epithelial cells to the subretinal space. *Acta Ophthalmol. Scand.* 2001, 79, 509-514.
8. *Gouras P., Du J., Zack J.*: Long-term photoreceptor transplants in dystrophic and normal mouse retina. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 1994, 35, 3145-3153.
9. *Gouras P., Flood H. T., Kjeldbye M., Bilek M. K., Eggers M. M.*: Transplantation of human retinal epithelium to Bruch's membrane of ome monkey's eye. *Curr. Eye Res.* 1995, 4, 253-258.
10. *Haruta M.*: Embryonic stem cell: potential source for ocular repair. *Semin. Ophthalmol.* 2005, 5, 20-23.
11. *Lanzetta P.*: ADM Treatments – Mechanism of Action. 4th Euretina Congress, Milano May 13-15, 2004, s. 13-17.
12. *Li L., Turner J. E.*: Optimal conditions for long-term photoreceptor cell rescue in RCS rats: the necessity for healthy RPE transplants. *Exp. Eye Res.* 1991, 52, 669-679.
13. *Little W., Castillo B., Di Loreto D., Cox C., Wyatt J., de Cerro C., de Cerro M.*: Transplantation of human fetal retinal pigment epithelium rescues photoreceptor cells from degeneration. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 1996, 37, 204-211.
14. *Liversidge I., Forrester I. V.*: Regulation of immune responses by the retinal pigment epithelium. *Clin. Exp. Immunol.* 1998, 73, 489-494.
15. *Lund R. D., Adamson P., Sauve Y., Keegan D. J., Girman S., Wang S., Winton H., Kanuga N.*: Subretinal transplantation of genetically modified human cell lines attenuates loss of visual function in dystrophic rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 9942-9947.
16. *Ohno-Matsui K., Ichinose S.*: The effects of amniotic membrane on retinal pigment epithelial cell differentiation. *Molecular Vision* 2005, 11, 1-10.
17. *Organesian A., Gabrielian K., Ernest J. T., Patel S. C.*: A new model of retinal pigment epithelium transplantation with microspheres. *Arch. Ophthalmol* 1999, 117, 1192-1200.
18. *Sabrelian G., Organesian A., Patel S. C.*: Cellular response in rabbit eyes after human fetal RPE transplantation. *Sraetes Arch. Chin. Exp. Ophthalmol.* 1999, 237, 326-335.
19. *Shiragami C., Matsuo T., Shiraga F., Matsuo N.*: Transplanted and repopulated retinal pigment epithelial cells on damaged Bruch's membrane in rabbits. *Br. J. Ophthalmol* 1998, 82, 1056-1062.
20. *Sickenberg M.*: Early detection, diagnosis and management of choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: the role of ophthalmology. *Ophthalmologica* 2001, 215, 247-253.
21. *Streilein I. W.*: Anterior chamber associated immune deviation: The privilege of immunity in the eye. *Lerv. Ophthalmol.* 1997, 35, 67-73.
22. *Volker E., Russell H.*: Enhanced induction of RPE lineage markers in neural stem cell engrafted into the adult rat subretinal space. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2003, 44, 5417-5422.
23. *Zhang X., Bok D.*: Transplantation of retinal pigment epithelial cells and immune response in the subretinal space. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1998, 39, 1021-1027.