

Biobank for øyesykdommer

Sammendrag

Bakgrunn. Hornhinnebanker der man innhenter, preparerer, lagrer og leverer hornhinner til transplantasjon har eksistert i mange tiår. Samtidig er det etablert nye behandlingsmetoder for øyesykdommer der man utfører allogen transplantasjon av ulike typer vev fra biobank. Denne utviklingen er et resultat av forskning og økende kunnskap om stamceller, cellekinetikk og immunologiske forhold samt forbedrede teknikker innen celledyrking, lagring av vev og mikrokirurgi.

Materiale og metode. Denne oversiktsartikkelen er basert på erfaring med biobank og klinisk virksomhet ved øyeavdeling, egen forskning og litteratur fremskaffet etter systematiske søk på PubMed, Medline og www.google.com.

Resultater og fortolkning. Behandlingsmetoder for øyesykdommer der man transplanterer biologisk materiale krever velfungerende biobanker som kan levere donormateriale av høy kvalitet. Ny lovgivning krever godkjenning av biobanker, og det stilles strenge krav til rutiner for innhenting og håndtering av vev, registrering av opplysninger samt sikkerhet mot overføring av smitte. For å tilby best mulig behandling til pasienter med øyesykdommer og for fremskritt og forskning innen norsk oftalmologi er det viktig at Norge har velfungerende biobanker for øyesykdommer.

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Jon Klokk Slettedal

jon.klokk.slettedal@gmail.com
Senter for øyeforskning
Øyeavdelingen
Ullevål universitetssykehus
0407 Oslo
og
Patologisk-anatomisk avdeling
Ullevål universitetssykehus

Liv Drolsum

Senter for øyeforskning
Øyeavdelingen
Ullevål universitetssykehus
og
Det medisinske fakultet
Universitetet i Oslo

Hanne Ramstad

Senter for øyeforskning
Øyeavdelingen
Ullevål universitetssykehus

Bjørn Nicolaissen

Senter for øyeforskning
Øyeavdelingen
Ullevål universitetssykehus
og
Det medisinske fakultet
Universitetet i Oslo

Øyet er velegnet for transplantasjonskirurgi. Bestanddelene er anatomisk veldefinerte, og flere av strukturene er avaskulære. De immunologiske forholdene er gunstige grunnet tilstedeværelsen av en øye-blod-barriere, sekresjon av immunsuppressive faktorer, nedsett ekspressjon av visse overflatemolekyler og manglende lymfedrenasje (1). Siden den første vellykkede hornhinnetransplantasjonen ble utført for over hundre år siden har det vært en rivende utvikling (2) – flere typer vev er blitt tatt i bruk til transplantasjon, lagringsmetoder, nye medikamenter og nye operasjonsmetoder er utviklet og mikrokirurgiske teknikker er blitt bedre.

De siste tiårene har man påvist stamceller i hornhinnen og fått økt innsikt i proliferasjon, differensiering og avstøtning av celler i hornhinneepitelet. Bruk av amnionhinne gir blant annet mindre inflammasjon og arrdanning, og amnionhinne er derfor i økende grad blitt benyttet ved øyekirurgi. Til sammen har dette gitt grunnlag for nye behandlinger innenfor oftalmologien (3). Det er videre utviklet teknikker der man innhenter celler eller vev fra et friskt øye. Dette transporteres så til biobanken for dyrking i laboratoriet. Deretter blir dyrkede vevsbiter transplantert til pasientens øyne for å behandle sykdom (4, 5).

Nye, raffinerte metoder krever høy kompetanse og stiller store krav til laboratorie-

forholdene. Tilgangen på donormateriale varierer stort mellom ulike land. Forbedrede lagringsteknikker og transportmuligheter har gjort utveksling av vev lettere. Alt dette har ført til sentralisering av biobankvirksomhet. Det er en økende tendens til kjøp og salg av transplantater og vev mellom land, men det er stor enighet om at biobanker skal være nonprofitforetak.

Gjeldende lover (6, 7) og forskrifter (8, 9) med strenge krav til innhenting og håndtering av vev, behandling og registrering av opplysninger, samt sikkerhet med tanke på overføring av smitte, gjør også at det er hensiktsmessig å legge virksomheten til sentraliserte biobanker.

Hornhinnetransplantat

Hornhinnetransplantasjon er verdens hyppigste transplantasjon. Hvert år utføres det til sammen ca. 100 000 slike operasjoner i Europa og USA. Verdens første ble utført i 1905 av Eduard Zirm i det som i dag er Tsjekia. Den første hornhinnetransplantasjonen i Norge ble utført i 1933 av Per Riise. I dag gjøres det i underkant av 200 slike operasjoner hvert år ved 4–5 øyeavdelinger her i landet. Grunnet begrenset tilgang på donorhornhinner er man ved flere øyeavdelinger nødt til i kjøpe hornhinner fra utlandet til en pris av ca. 10 000–12 000 kroner per transplantat. En oversikt over hornhinnetransplantasjon er tidligere publisert i Tidsskriftet (10).

På begynnelsen av 1900-tallet brukte man ferske hornhinner fra øyne som var fjernet fra pasienter grunnet øyesykdom eller skader. Fra 1930-årene gikk man gradvis over til å bruke hornhinner innhentet fra avdøde donorer. Hornhinnene ble enten brukt ferske eller etter oppbevaring av hele øyet i en beholder med lukt ved 4 °C. Maksimal oppbevaringstid for transplantasjon var 2–3 døgn, operasjonene kunne derfor i liten grad planlegges på forhånd.

Hovedbudskap

- Nye og forbedrede behandlingsmetoder for øyesykdommer der man transplanterer biologisk materiale er utviklet
- Biologisk materiale behandles og lagres i biobanker
- Det er viktig at Norge har velfungerende biobanker for øyesykdommer



Figur 1 Donorhornhinne i lagringsmedium

I 1970-årene ble det utviklet nye lagringsmetoder der bare selve donorhornhinnen med en skleral brem ble plassert i et flytende lagringsmedium. Denne metoden er i dag dominerende. I Europa brukes hovedsakelig et medium tilsatt serum og antibiotika. Transplantatet kan lagres ved 31–37 °C i opptil fire uker før operasjonen (fig 1). I USA og noen andre land lagres donorhornhinner ved 4 °C i medium uten serum, derfor er maksimal lagringstid begrenset til to uker. Et alternativ er nedfrysing av selve hornhinnen. Kryolagring gir mulighet for en oppbevaringstid på flere måneder, men grunnet celletap i donorhornhinnen brukes denne metoden lite i dag.

I begynnelsen var det vanligvis operatøren selv som innhentet donorhornhinnene. Gradvis ble hornhinnebanker etablert. Moderne hornhinnebanker følger internasjonale rutiner for innhenting, oppbevaring og kvalitetssikring av donormateriale, noe som er

nedfelt i retningslinjene til den europeiske og den amerikanske biobankorganisasjonen for øyesykdommer (11, 12). En viktig kvalitetsindikator er endotelcelletettheten. Dette cellelaget dekker innsiden av hornhinnen, det regulerer hornhinnens vann- og ionekonsentrasjon og har begrenset regenerasjonsevne. Et dårlig fungerende hornhinneendotel vil gi et rødt, smertefullt øye med uklart hornhinne. En hornhinne med lav endotelcelletetthet kan ikke brukes til transplantasjon og må forkastes.

Det hersker ulike oppfatninger av hvor lang postmortemtid man kan tillate seg i henhold til innhenting av donorhornhinner. Hornhinnen er et avaskulært vev, og celler overlever flere dager post mortem (13) grunnet diffusjon av oksygen og nedsatt metabolisme under hypoterm lagring før obduksjon. Ved hornhinnebanken ved Ullevål universitetssykehus har man satt grensen for innhenting av donorhornhinner til 36 timer post mortem. Eksklusjonsfaktorer for bruk er mistanke om smitte, uklart neurologisk sykdom, lymfom, leukemi, malignitet i øyet eller tidligere øyekirurgi hos donor. Det tas serologiske prøver med tanke på hepatitt B og hepatitt C samt hiv.

På operasjonsbordet brukes en trepan som skjærer ut transplantatet med nøyaktig diameter, vanligvis 7,5–8,25 mm. De siste årene er det utviklet nye teknikker med lamellær transplantasjon av enten bare bakre eller bare fremre del av hornhinnen eller bare av Descemet's membran med endotelcellelaget (14, 15). Disse teknikkene er nylig tatt i bruk i Norge. Etter transplantasjonen brukes kortikosteroidøyedråper for å unngå avstøtning, vanligvis i nedtrappende dose i 6–12 måneder.

De vanligste indikasjoner for hornhinne-transplantasjon i dag er keratokonus, bulløs keratopati grunnet endotelcelletap og hornhinnearr. Resultatene er gode. Retransplantasjon gjøres på grunn av avstøttingsreaksjoner, endotelsvikt, operasjonssårruptur eller residiv av grunnsykdom (10).

Det er utviklet hornhinner av ulike typer kunstig materiale, såkalte keratoprosteser.

Slike har vært benyttet også i vårt land i en årrekke (16). Dog er dette forbeholdt tilfeller av uttalt øyesykdom der man ikke kommer til målet med vanlig hornhinnetransplantasjon. Eksperimenter med kunstige biologiske hornhinner er lovende, men det vil ta tid å utvikle et fungerende transplantat (17).

Øyelokkets tarsalplate

Tarsus er en buetformet bruskplate som gir øyelokkene struktur og form. Tarsalplatene befinner seg i de øvre og nedre øyelokkenes bakre del, like under conjunctiva. De består av tett fibrøst bindevev og lipidproduserende Meiboms kjertler og har en tykkelse på 1–1,5 mm (fig 2). For transplantasjonsbruk kan denne bruskplaten innhentes fra øvre øyelokk innen 48 timer post mortem. Malignitet og mistanke om smittsomme sykdommer hos donor er eksklusjonsfaktorer. Tarsalplaten dissekeres forsiktig ut fra øvre øyelokk og legges i sterilt saltvann for transport til biobanken. Deretter prepareres den, skylles og lagres opptil 12 måneder på absolutt alkohol ved 4 °C. Tarsalplater brukes i okuloplastisk kirurgi til rekonstruksjon av øyelokk. Tarsus er en avaskulær struktur, avstøtning er et lite problem. Systemisk immunosuppresjon er ikke nødvendig.

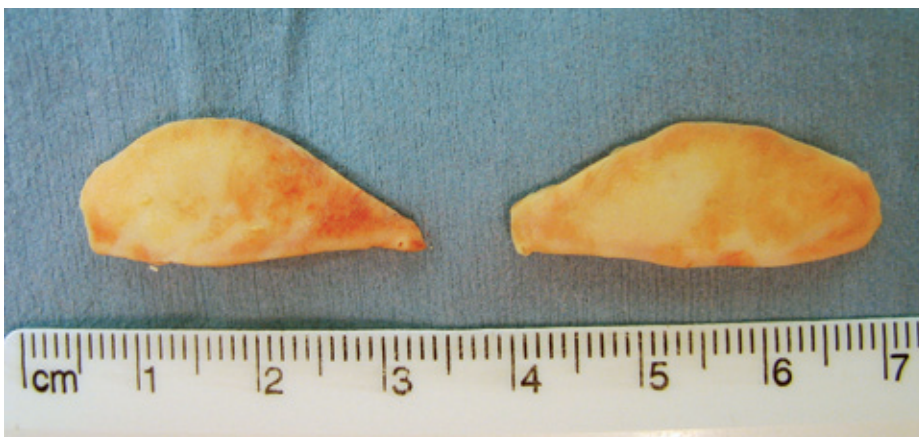
Sclera

Sclera utgjør hoveddelen av øyeepletts vegg og består av kollagene og elastiske fibre. Vanninnholdet er ca. 70 %. Sclera penetreres av blodkar, men vevet er i hovedsak avaskulært. Tykkelsen er ca. 0,5 mm. Til øyekirurgi foretrekkes de tynneste delene, som befinner seg under de rette øyemusklene. Sclera kan lagres på alkohol, i glyserol eller nedfrost. Et skleralimplantat brukes ved behandling av skader i øyevæggen og ved skleral nedsmelting, som kan forekomme ved for eksempel skleromalasi ved revmatoid artritt. I tillegg kan skleralimplantat benyttes ved ventilkirurgi innen glaukombehandling. Transplantatet dekker ventilslangen (fig 3) og hindrer dermed erodering gjennom conjunctiva.

Epitelcelletransplantat

Økt innsikt i cellekinetikk og påvisning av stamceller i hornhinnens ytre epitellag har gitt opphav til nye behandlingsmetoder (18). Cellene i hornhinneepitelet prolifererer og avstøtes kontinuerlig, men i motsetning til hudens epitelceller finnes stamcellene bare basalt perifert langs limbus i 360° og ikke i hele basallaget (fig 4). Tanken om at cellene med høyest proliferativt potensial kunne finne seg perifert, ble først lansert av de norske legene Davanger & Evensen (19). Det er vist at cellene beveger seg både mot sentrum og mot overflaten av hornhinnen før de avstøtes.

Ved blant annet etseskader, Steven-Johnsons syndrom og enkelte andre overflatesykdommer i øyet kan stamcellemangel oppstå, og hornhinnen vil ikke kunne dekkes av normalt epitel. Pasientene vil ofte utvikle store



Figur 2 Tarsalplater

epiteldefekter som vanskelig lar seg tilhele, og en kronisk tilstand med smertefullt øye og sterkt redusert syn er ofte resultatet.

Ved ensidig stamcellemangel i hornhinneepitelet kan man transplantere limbalt vev fra pasientens friske øye (20). Ved bilateral lidelse må man derimot ta en limbal biopsi fra en donor, enten en levende slektning eller en avdød. Vanligvis vil man transplantere flere halvmåneformede biter av limbalt vev samtidig.

I de siste årene har man imidlertid utviklet en alternativ behandlingsmetode for pasienter med stamcellemangel i hornhinneepitelet. Denne metoden innebærer å dyrke stamceller og celler med høyt proliferativt potensial i biobanken før transplantasjonen. Celler innhentes i form av en liten biopsi fra limbus. Ved ensidig sykdom kan friskt vev innhentes fra pasientens friske øye (5), ved bilateral sykdom må vev enten tas fra en levende slektning eller en avdød eller fra korneosklerale ringer, som er restmateriale etter hornhinnetransplantasjon. Biopsien plasseres i et medium, og i løpet av noen uker i cellekultur utvikles et flerlaget epitel. Systemisk antisuppresjon er nødvendig dersom transplantatet er hentet fra en avdød. Det er flere fordeler med et dyrket epiteltransplantat sammenliknet med direkte transplantasjon av limbalt vev. Man trenger betydelig mindre vev, det gir redusert risiko for skade av donorøyet. Dessuten inneholder et dyrket transplantat flere celler med høyere proliferativt potensial.

En konvensjonell hornhinnetransplantasjon vil ikke hjelpe hos pasienter med stamcellemangel i epitelet, fordi transplantatet som innopereres ikke inneholder den perifere delen av hornhinnen der stamcellene finnes seg.

Amnionhinne

Amnionhinnen har unike immunologiske egenskaper, og dette utnyttes i kirurgisk bruk. Amnionhinnen er avaskulær og ernæres av amnionvæsken. Den består av epitel, basalmembran og en matris som hovedsakelig er sammensatt av kollagen med fibroblaster. Amnionhinnen inneholder mange forskjellige cytokiner. Den inneholder ikke vanlige HLA-antigener.

Innhenting av amnionhinne skjer i forbindelse med planlagt keisersnitt. Skriftlig samtykke fra den gravide skaffes på forhånd. Amnionhinnen med chorion løsnes fra resten av morkaken (fig 5) og transporteres til biobanken. Hinnen vaskes godt før den legges med epitelensid ned på en nitrocellulosemembran og chorion fjernes. En amnionhinne klippes i ca. 40 biter på 2×2 cm. Den kan oppbevares i opptil 12 måneder ved -80°C .

Amnionhinne har vært benyttet til hudtransplantasjon i nesten 100 år (21). Bruk innenfor øyekirurgi ble første gang beskrevet i 1940 (22). I mange år ble bruken av amnionhinne lagt til side, men i 1980-årene

oppsto det fornyet interesse – særlig ble dette vevet benyttet i forbindelse med konjunktivale rekonstruksjoner. I dag brukes amnionhinne mest i forbindelse med behandling av symblefarondanning i conjunctiva, persisterende hornhinneepiteldefekter og spontane hornhinneperforasjoner. Det har vist seg at bruk av amnionhinne gir redusert inflammasjon, arrdanning og angiogenese og fremmer epitelialisering. De siste årene er det også utviklet teknikker der amnionhinne brukes ved glaukomkirurgi (23). I tillegg kan den benyttes som et substitutt for basalmembranen ved celledyrking.

Nye transplantasjonsteknikker

Flere behandlingsmetoder er under utvikling – noen er nye, andre er forbedringer eller erstatninger for eldre metoder. Felles for metodene er at de stiller ytterligere krav til biobanken.

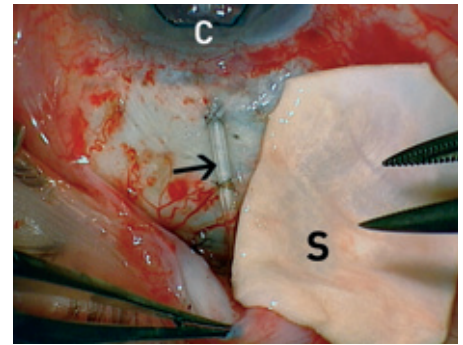
Tradisjonell hornhinnetransplantasjon vil i mange tilfeller være en grov metode. Hornhinnen har tre cellelag. Dersom sykdomsforandringene bare er lokalisert til det innerste endotelcellelaget, kan man nå bare transplantere endotelet med basalmembran. Dette transplantatet må imidlertid hentes fra en vanlig donorhornhinne. Det er holdpunkter for at det finnes stamceller i hornhinnens endotel (24). Dette gir mulighet for selektiv høsting av stamceller og celler med høyt proliferativt potensial. Stamcellene i endotelet kan dyrkes i laboratoriet. Det arbeides med metoder der man kan erstatte skadet eller sykt endotel med dyrkede endotelceller.

Miljøet avgjør cellenes fenotype, og lite differensierte celler er spesielt påvirkelige. I Japan har man utført transplantasjon med dyrkede celler fra oral mucosa til hornhinnens epitelcellelag for korneal rekonstruksjonskirurgi (25). Forbedrede metoder for lagring av biologisk materiale fører også til at dyrkede cellelag først kan produseres i en biobank og deretter transporteres til en øyeavdeling for klinisk bruk (26).

Retinas fotoreseptorer er nevralt derivert vev og har i likhet med nevroner svært begrensede muligheter for proliferasjon. Etter for eksempel skade eller karokklusjon i netthinnen dør de affiserte retinale cellene. Imidlertid er det indikasjoner på at det finnes stamceller eller lite differensierte celler også i netthinnens fotoreseptorlag, og det har lyktes å dyrke disse cellene ex vivo. Dette kan gi mulighet for behandling av retinale sykdommer med dyrkede retinale stamceller i fremtiden.

Lovregulering og organisering

Virksomheten i en biobank reguleres av flere lover. Transplantasjons- og obduksjonsloven av 1973 (6) med senere forskrift (8) omfatter innhenting av materiale. Biobankloven av 2003 (7) regulerer innhenting, oppbevaring og behandling av vev. En øyemedisinsk biobank er en behandlingsbiobank, de største

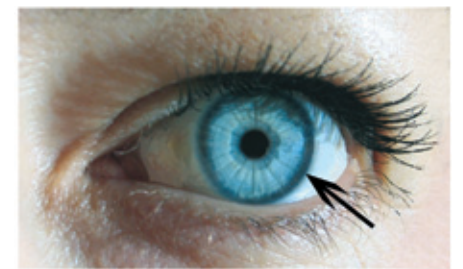


Figur 3 Glaukomoperasjon med implantering av ventil. Skleraltransplantat (S) skal legges over en ventilslange (pil). Øverst i bildet vises cornea (C). Ventilen ligger under conjunctiva (nederst i bildet)

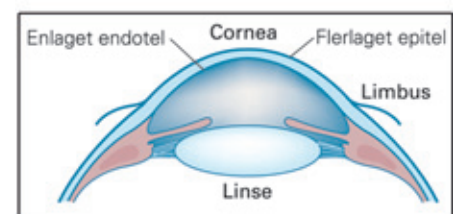
biobankene er de som lagrer dødt materiale for diagnostikk i patologifaget. I 2006 trådte Forskrift om krav til kvalitet og sikkerhet ved håndtering av humane celler og vev i kraft (9). Denne forskriften bygger på et EU-direktiv fra 2004 (27) om fastsetting av standarder for kvalitet og sikkerhet ved donasjon, uttak, testing, prosessering, konservering, oppbevaring og distribusjon av humane celler og vev.

En biobank for øyesykdommer ligger vanligvis i tilknytning til en øyeavdeling. Dette er hensiktsmessig for drift og kommunikasjon. I dag har de større øyemedisinske biobankene eget personale, og i USA finnes det også sertifisering av øyebankteknikere. Noen land, for eksempel Danmark, har en stor nasjonal biobank for øyesykdommer som forsyner hele landet, Sverige derimot har seks. I USA finnes det litt over 100 øyemedisinske biobanker fordelt på de 52 statene.

Tendensen de siste tiårene i vestlige land har vært en gradvis økende regulering – det er blitt strengere krav til samtykke og til prø-



a



b

Figur 4 a) Hornhinnens epitel lag har stamceller som befinner seg i 360° ved limbus (pil). b) Tverrsnitt av fremre del av øyet. Utsiden av hornhinnen er dekket av et flerlaget epitel, innsiden av et enlaget endotel



Figur 5 Preparering av amnionhinne

vene for å avsløre mulighet for smitte, regulering av laboratoriefasiliteter, strengere krav til personvern og lagring av sensitive opplysninger og økt kontroll og rapporteringsplikt til ulike instanser. Dette har gitt betydelig vanskeligere tilgang på hornhinner til transplantasjon. Donorøyne innhentes i Norge i dag bare fra avdøde som obduseres. Ved donasjon av hjerte, nyrer, lever og bukspyttkjertel tas organene ut før en eventuell obduksjon, og donor må holdes sirkulert av blod inntil organuttaket. I Norge finnes det i dag ikke noe nasjonalt register over organ-donor. Stiftelsen Organdonasjon har laget et donorkort som man kan fylle ut og legge i lommeboken, men øyedonasjon er ikke nevnt der. Man kunne i tillegg tenke seg en ordning der donorstatus fremgår av førerkortet.

Konklusjon

Strengere regulering for innhenting av vev, høyere krav til laboratoriefasiliteter, synkende obduksjonstall og uklarheter omkring samtykke har ført til vanskeligheter med å skaffe nok donormateriale i Norge, som i mange andre land. I dag er det relativt lange ventelister på hornhinnetransplantasjon på grunn av mangel på donorhornhinner. Hornhinnetransplantasjon er ofte eneste behandlingalternativ for pasienter med langtkomet hornhinnesykdom. I mange tilfeller gir transplantasjon pasienten betydelig bedre syn.

En biobank gir gode muligheter for eksperimentell forskning på biologisk materiale og på sykdomsmekanismer. Den tette forbindelsen mellom eksperimentell oftalmologisk forskning og klinisk oftalmologi har vært fruktbar og har resultert i utvikling av nye metoder som raskt er blitt tatt i bruk og har gitt nye behandlingstilbud. For et fullgodt tilbud til norske pasienter er velfungerende biobanker for øyesykdommer viktig.

Litteratur

1. Streilein JW. Immunoregulatory mechanisms of the eye. *Prog Retin Eye Res* 1999; 18: 357–370.
2. Zirm EK. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik. *Graefes Arch Ophthalmol* 1906; 64: 580–93.

3. Dogru M, Tsubota K. Current concepts in ocular surface reconstruction. *Semin Ophthalmol* 2005; 20: 75–93.
4. Lai JA, Chen KH, Hsu WM et al. Bioengineered human corneal endothelium for transplantation. *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 1441–8.
5. Pellegrini G, Traverso CE, Franzini AT et al. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997; 349: 990–3.
6. LOV-1973-02-09-6: Lov om transplantasjon, sykehusobduksjon og avgivelse av lik m.m. www.lovdata.no/all/nl-19730209-006.html [29.5.2007].
7. LOV 2003-02-21 nr 12: Lov om biobanker (biobankloven). www.lovdata.no/cgi-wift/ldles?doc=/all/nl-20030221-012.html [29.5.2007].
8. FOR 2004-03-19 nr 542: Forskrift om obduksjon m.m. www.lovdata.no/cgi-wift/ldles?doc=/sf/sf/sf-20040319-0542.html [29.5.2007].
9. FOR-2006-04-07-391: Forskrift om krav til kvalitet og sikkerhet ved håndtering av humane celler og vev. www.lovdata.no/cgi-wift/ldles?doc=/sf/sf/sf-20060407-0391.html [29.5.2007].
10. Høvdning G. Hornhinnetransplantasjon. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1999; 119: 4209–12.
11. Agreement on minimum standards. European Eye Bank Association. www.europaneyebanks.org/public/_cfm/page/page_471.cfm [29.5.2007].
12. Medical standards. Eye Bank Association of America. www.restoresight.org/general/publications.htm [29.5.2007].
13. Slettedal JK, Lyberg T, Ramstad H et al. Regeneration of the epithelium in organ-cultured donor corneas with extended post-mortem time. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85: 371–6.
14. Melles GR, Remeijer L, Geerards AJ et al. The future of lamellar keratoplasty. *Curr Opin Ophthalmol* 1999; 10: 253–9.
15. Melles GR. Posterior lamellar keratoplasty. DLEK to DSEK to DMEK. *Cornea* 2006; 25: 879–81.
16. Bertelsen TI, Syversen K. Experience with keratoprosthesis. *Acta Ophthalmol Suppl* 1973; 120: 45–51.
17. Duan D, Klenkler BJ, Sheardown H. Progress in the development of a corneal replacement: keratoprosthesis and tissue-engineered corneas. *Expert Rev Med Devices* 2006; 3: 59–72.
18. Holland EJ, Schwartz GS. Changing concepts in the management of severe ocular surface disease over twenty-five years. *Cornea* 2000; 19: 688–98.
19. Davanger M, Evensen A. Role of the pericorneal papillary structure in renewal of corneal epithelium. *Nature* 1971; 229: 560–1.
20. Fagerholm P, Gan L. Corneal stem cell grafting after chemical injury. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; 77: 165–9.
21. Davis JW. Skin transplantation with a review of 550 cases at Johns Hopkins Hospital. *J Hopkins Med J* 1910; 15: 307.
22. De Roth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. *Arch Ophthalmol* 1940; 23: 552–5.
23. Drolsum L, Willoch C, Nicolaissen B. Use of amniotic membrane as an adjuvant in refractory glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 2006; 84: 786–9.
24. Whikehart DR, Parikh CH, Vaughn AV et al. Evidence suggesting the existence of stem cells for the human corneal endothelium. *Mol Vis* 2005; 11: 816–24.
25. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 2004; 351: 1187–96.
26. Utheim TP, Ræder S, Utheim OA et al. A novel method for preserving cultured limbal epithelial cells. *Br J Ophthalmol* 2007; 91: 797–800.
27. Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2004/L_102/L_10220040407en00480058.pdf [29.5.2007].

Manuskriptet ble mottatt 23.3. 2007 og godkjent 21.1. 2008. Medisinsk redaktør Jens Bjørheim.