



Tor Paaske  
Utheim



Øygunn Aass  
Utheim



Sten Ræder



Torstein Lyberg



Jon Roger Eidet

# Behandling av limbal stamcellesvikt – hva er mulig i 2014?

## Etiologi og diagnose

Korneas integritet og funksjon avhenger av stamceller. Siden begynnelsen av 70-tallet har man ment at disse cellene befinner seg dypt i overgangssonen mellom kornea og sklera, i limbalregionen. Limbal stamcellesvikt betegner en tilstand hvor de limbale stamcellene enten er gått tapt eller er svekket. Dette vil kunne gi fremmedlegemefølelse, tårreflod, lysskyhet og smerter. Symptomene kan variere fra milde til svært uttalte. Stamcellene i limbalregionen hindrer normalt konjunktivale celler fra å vokse inn over kornea. Ved skade av de limbale cellene vil derimot konjunktivale celler og kar dekke kornea i større eller mindre grad. Det konjunktivale vevet er tykt, irregulært og ustabil, og sår

oppstår lett. Konjunktivalisering står sentralt i diagnostikk av limbal stamcellesvikt og kan bekreftes med impresjonscytologi (funn av begerceller) eller in vivo konfokalmikroskopi. Oftest er imidlertid diagnosen åpenbar, særlig i tilfeller hvor en mulig årsak er identifisert. Over femti tilstander er vist å kunne gi limbal stamcellesvikt, inkludert infeksjoner (herunder trakom), autoimmune lidelser, langvarig kontaktlinsebruk, etseskader, genetiske sykdommer og iatrogen skade (f.eks. mitomycin-C).

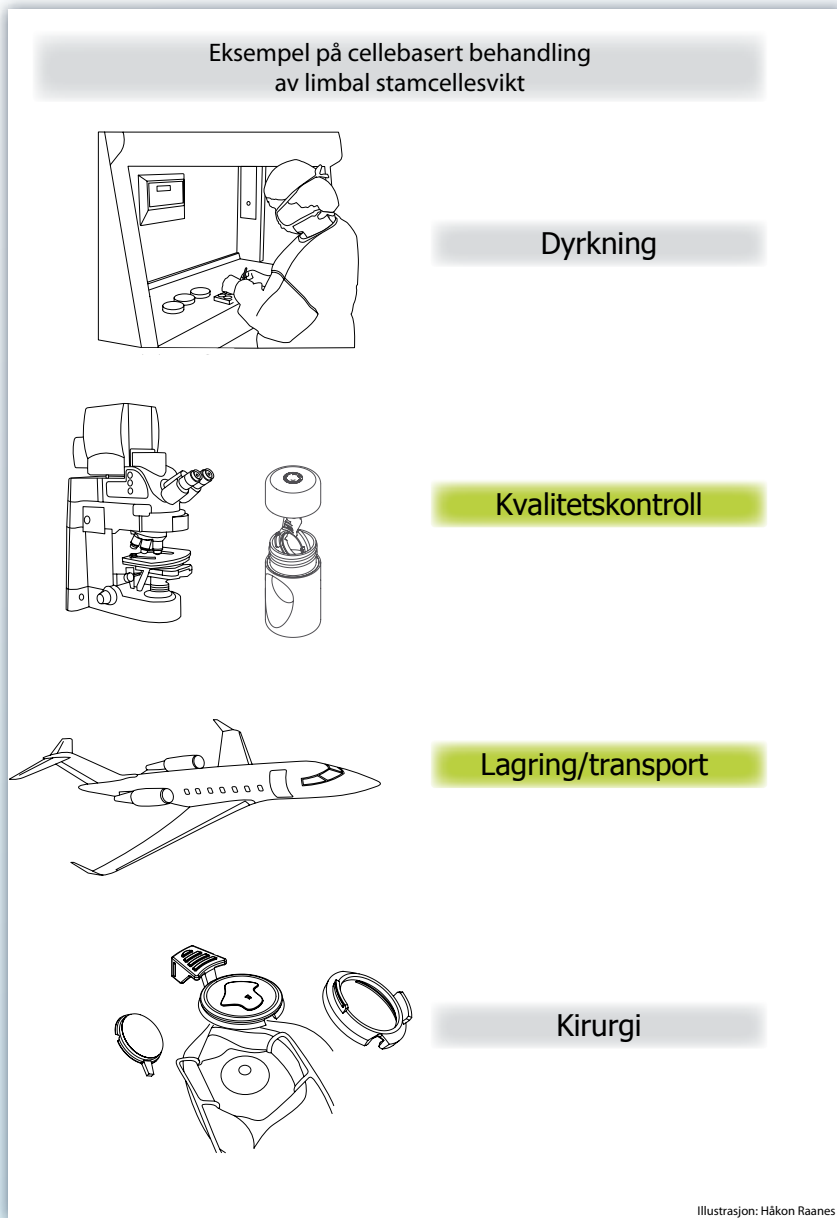
## Behandling

Limbal stamcellesvikt kan enten være partiell (sektoriell) eller total (i 360° av hornhinnen). Det er godt belegg for at tidlig intervensjon er gunstig og kan hindre at gjenværen-

de stamceller går til grunne. Valg av behandling er imidlertid en spesialisert oppgave da det er mange forhold som må vurderes og veies opp mot hverandre. De senere år har det vært en nærmest eksponensiell utvikling av behandlingsalternativer. Noen av behandlingsstrategiene krever avansert utstyr og særskilt ekspertise, mens andre er relativt enkle å utføre.

## Gruppering av behandlingsstrategier

Vi kan for enkelthets skyld dele behandling av limbal stamcellesvikt inn i tre kategorier: a) transplantasjon av ex vivo dyrkede celler, b) transplantasjon av celler som ikke er dyrket ex vivo og c) alternative tilnærminger. Hver av gruppene har sine styrker og svakheter. Transplantasjon av ex vivo dyrkede celler krever



laboratoriefasiliteter og ekspertise innen cellekultur, men har den fordel at høsting av en liten vevsbit (1-9 mm<sup>2</sup>) er tilstrekkelig utgangspunkt for å fremstille transplantater som dekker hele kornea. I mer enn 20 år har man tatt for gitt at ved transplantasjon av celler som ikke er dyrket ex vivo kreves transplantasjon av relativt store vevsbitar for å oppnå god

behandlingseffekt. Siden 2012 er det imidlertid kommet studier som tyder på at også små vevsbitar (2x2 mm<sup>2</sup>) kan være tilstrekkelig for å behandle total limbal stamcellesvikt, selv om vevsbitene ikke først dyrkes ex vivo.

Gruppen alternative tilnæringer kjennetegnes ved at celler ikke brukes direkte i behandlingen. Dette gjør det mulig å forenkle prosedy-

rene. Transplantasjon av celler er problematisk dersom cellene ikke stammer ifra pasienten selv. Risiko for overføring av sykdomsfremkallende mikroorganismer vil alltid være til stede, men reduseres betydelig med serologiske prøver. Videre er immunsuppresjon nødvendig for å unngå avstøtning. Det er imidlertid delte meninger om varigheten av immunsuppresjon.

**Transplantasjon av ikke-dyrkede celler på kornea**

**Første celleterapi**

I 1940, lenge før limbal stamcellesvikt var blitt et begrep, ble amnionhinne tatt i bruk for overflaterekonstruksjon av øyet. Det var imidlertid først i 1946, hvor chorion ble fjernet fra hinnen, at resultatene ble gode. Det er generell enighet om at amnionhinnen kan behandle partiell stamcellesvikt og, kombinert med celleterapi, kan bidra til behandling av total stamcellesvikt.

**Første stamcelletransplantasjon**

Transplantasjon av konjunktivalt-limbalt-kornealt epitel i 1965 markerer den første limbale stamcelletransplantasjonen. Senere behandling har inkludert en rekke metoder med ulik fordeling av disse tre komponentene. Avhengig av grad av stamcellesvikt og om begge øynene er affisert, benyttes enten vev fra pasienten selv, en avdød eller, i sjeldne tilfeller, en nær slektning. En ordinær hornhinnetransplantasjon er derimot ikke tilstrekkelig for behandling av limbal stamcellesvikt da limbale stamceller ikke transplanteres.

**Nyeste teknologi**

Den nyeste metoden i den store gruppen som inkluderer ikke-dyrket vev, ble beskrevet i 2012 og betegnes SLET (simpler limbal epithelial transplantation). Metoden innebæ-

rer forenklet at de limbale cellene dyrkes in vivo fremfor ex vivo. Det er kjent at transplantasjoner av ex vivo dyrkede limbale celler som har vært vellykket i minst to år, nærmest uten unntak forblir vellykket over tid. Det finnes nå oppfølgingsdata på inntil 14,5 år for transplantasjon av ex vivo dyrkede limbale stamceller. Det vil følgelig ta tid å få tilsvarende langtidsresultater for SLET. Dersom langtidsresultatene ved in vivo dyrkning skulle vise seg å være sammenliknbare med ex vivo dyrkning, kan vi forvente at in vivo dyrkning vil bli den foretrukne behandlingen i de tilfellene hvor en cellebasert tilnærming vurderes.

#### Transplantasjon av ex vivo dyrkede stamceller på kornea

Fra 1997 til og med 2002 var limbale celler den eneste celletypen som ble dyrket ex vivo for behandling av limbal stamcellesvikt. I 2003 ble oral mukosa lansert som et alternativ. I 2006 ble konjunktivale celler brukt. Disse tre celletypene har til felles at alle har vært utprøvd i kliniske studier. I tillegg har en rekke andre celletyper vist seg å gi gode resultater i dyremodeller hvor limbal stamcellesvikt er blitt induert. Dette gjelder blant annet celler fra hud, hårrøtter, benmarg og tannpulpa.

Forskning på andre celletyper enn de limbale er i hovedsak drevet frem av et ønske om å kunne tilby autolog behandling og dermed unngå utfordringene med bruk av fremmed vev. Noen av de foreslåtte autologe celletypene (hud og hårrøtter) har til felles at de er både utbredte og lett tilgjengelige. Andre celletyper, herunder fra tannpulpa og konjunktiva, kan derimot bli mangelvare. Tannpulpa er også mindre tilgjengelig enn for eksempel hud og hår.

#### Alternative metoder

Alle behandlingsstrategier for limbal stamcellesvikt som ikke inkluderer bruk av celler på øyets overflate, hører hjemme under paraplyen alternative metoder. I denne gruppen finner vi keratoproseser, som allerede var i bruk på midten av 1800-tallet, og som er blitt videreutviklet de siste tiårene. Dette kan være særlig aktuelt i tilfeller hvor man antar at celleterapi ikke vil føre frem, f. eks. ved svekket tårefilm. Men også i slike tilfeller kan celleterapi ha noe for seg, dog supplerende operasjon kan bli aktuelt, f. eks. transplantasjon av neselimhinnen hvor det er rikelig med begerceller. Sekvensiell sektoriell konjunktival epitelektomi, bandasjelinser, tåresubstitutter og autologt serum har vært kjent relativt lenge som alternativ ved partiell stamcellesvikt, men kan også brukes i kombinasjon med celleterapi. I gruppen med alternative metoder er det også nylig kommet til flere nye tilnærminger. Oksygenterapi, hvor pasienten ved hjelp av oksygenmaske får tilført 100 % oksygen (10 l/min i en time to ganger daglig) har vist å ha god effekt ved akutt limbal stamcellesvikt. Steroidterapi, som består i intravenøs behandling med metylprednisolon (500 – 1000 mg/dag i 3 - 4 dager) kombinert med topikal

steroidbehandling, har også vist seg gunstig i akutte tilfeller. Andre strategier er elektroterapi og topikal applikasjon av enten amnionhinneekstrakt eller dyrkningmedium fra limbal fibroblaster.

#### Konklusjon:

Innen behandling av limbal stamcellesvikt kan det være mange veier til målet. Hvilke strategier som bør forsøkes, og eventuelt i hvilken rekkefølge, krever en grundig utredning og drøfting av fordeler og ulemper i samarbeid med pasienten. Flere av de nevnte alternative strategiene er særlig aktuelle ved begrenset stamcellesvikt. Ved total stamcellesvikt kan cellebaserte strategier være eneste løsning.

#### Hovedkilder:

- Utheim TP. Limbal epithelial cell therapy: past, present, and future, *Methods in Molecular Biology*;1014: 3-43
- Utheim TP, Lyberg T, and Raeder S. Culture of Limbal Epithelial Cells, *Methods in Molecular Biology*, 1014:103-29

*Limbal Stemcell Autograft . Soosan Jacob You Tube*

## SÆLGES

Möller-Wedel Ophthalmic 900 operationsmikroskop samt andet udstyr til kataraktoperationer

Henvendelse:

Klaus Trier

+45 39 62 56 63/+45 39 62 56 18

ktrier@dadlnet.dk