

(78)

Przeszczepy rąbkowych komórek macierzystych od zgodnych pod względem HLA dawców rodzinnych. Obserwacja długoterminowa

Limbal stem cell transplantations from HLA-compatible living-related donors. Long-term observation

Edward Wylęgała, Dorota Tarnawska,
Ewa Marta Wróblewska

Z Oddziału Okulistyki Okręgowego Szpitala Kolejowego w Katowicach
Kierownik: dr n. med. Edward Wylęgała

Summary: Purpose: The assessment of clinical outcome in patients after lr-CLAL procedure. Materials and methods: Retrospective, interventional case series including 11 patients (12 eyes), all with non-ambulatory visual acuity (from light perception to hand movements). Mean age was 39,4 years (ranging from 18 to 76 years). In 7 eyes Limbal Stem Cells Deficiency (LSCD) resulted from chemical burn, in 2 eyes from ocular cicatricial pemphigoid, in one eye from Stevens-Johnson syndrome (SJS). In one eye congenital LSCD was diagnosed and in another one post-inflammatory LSCD. Mean follow-up was 16,2 months (from 10 to 32). Among donors prospective class I HLA matching was performed. Maximal two mismatches were accepted. General immunosuppressive therapy was switched-on in all subjects. Surgical excision of corneal pannus with clearing of limbal area was performed. Five clock hours stem cells tissue grafts from living related donors were harvested and transplanted to the recipient eye. Three penetrating keratoplasty, one deep lamellar keratoplasty and seven amniotic membrane transplantations were additionally performed. Main outcome measures were graft survival as a restoration of corneal epithelium, visual acuity improvement and complication in donors and recipients. Kaplan- Meyer survival curve and generalized Peto test were used for comparison. Results: The graft survival was 83,6% in mean 20,3 months follow-up (from 10 to 32 months). Two cases of graft failure concern eye with SJS and eye with PKP regrafting after chemical burn. Visual improvement in 7 cases (58,3%), the same visual acuity in 4 cases (33,3%) and deterioration one case (8,3%) were noted. Ambulatory vision in 50% of patients was achieved. Graft rejection syndrome in four eyes was noticed also when ideal matching and CsA serum level 220 ng/ml. Two cases were treated with success and another two grafts failed. No complications in donors eyes were noticed. Impression cytology in eyes with successful grafts not related to pathological changes. Conclusions: Lr-CLAL are effective in ocular surface restoration. Living-related donors are suitable source of stem cells for cultivation in vitro. The prognosis for stem cells grafting is definitely worse when eyelid anomaly and adhesions exist.

Słowa kluczowe: przeszczep rąbkowych komórek macierzystych, dawca rodzinny, typowanie HLA, rekonstrukcja powierzchni oka.
Key words: limbal stem cells transplantation, living related donor, HLA matching, ocular surface reconstruction.

Powierzchnia oka (PO) to zewnętrzny obszar anatomiczny widoczny dla badającego w lampie szczelinowej, obejmujący rogówkę, spojówkę i powiekę (15). PO jest pokryta nabłonkiem wielowarstwowym płaskim, nierogowaciejącym odmiennym dla spojówki i rogówki (10). Ponieważ nabłonki organizmu ludzkiego ulegają wymianie przez całe życie, istnieje pula komórek macierzystych dla odnawiania tych nabłonków (9). Nabłonek rogówki jest odna-

wiany z puli rąbkowych komórek macierzystych (RKM), zlokalizowanych w wąskim pasie przejściowym spojówki w rogówkę (13). Istnieją tam idealne warunki odżywcze dla namnażania RKM w palisadach Vogta, tj. promienistych fałdach spojówki z naczyniami krwionośnymi, które w tym miejscu niejako nawracają, nie wchodząc dalej w rogówkę. RKM leżą w warstwie podstawnej nabłonka rąbka rogówki (17) (ryc. 1).

Objawami niewydolności RKM są: światłowstręt, łzawienie, obniżenie ostrości widzenia. Występują nawracające ubytki nabłonka rogówki, unaczynienie rogówki, pokrycie rogówki nabłonkiem spojówki oraz stany zapalne (4,11,13).

Leczenie niewydolności RKM polega na przeszczepieniu puli komórek multipotencjalnych z drugiego oka (przeszczep autologiczny) lub od innego człowieka (przeszczep homologiczny) (1,6). Przeszczep homologiczny może pochodzić od dawcy rodzinnego lub od dawcy pośmiertnego i ma z reguły zastosowanie przy patologjach obuocznym.

Kwitko i wsp. w roku 1995 opublikowali pracę dotyczącą przeszczepów RKM od żywych dawców rodzinnych (ang. Living-Relative Donors). Zabieg polegał na przeszczepieniu jednego lub dwóch płatków spojówkowych o wymiarach 5 mm na 8 mm, będących nośnikami RKM (7).

Celem pracy jest analiza wyników przeszczepów RKM od żywych dawców rodzinnych, wykonanych w Oddziale Okulistycznym Szpitala Kolejowego w Katowicach.

Materiał i metody

Materiał obejmuje 12 oczu 11 pacjentów, 6 mężczyzn i 5 kobiet o średniej wieku 39,4 lat (od 18 do 76 lat). Jeden pacjent miał wykonane zabiegi obuocznie. Patologie pierwotne obejmowały: oparzenia wapnem – 7 oczu, oczny pemfigoid bliznowaciejący – 2 oczu, zespół Stevensa-Johnsona – 1 oko, wrodzona NRKM – 1 oko, pozapalna NRKM – 1 oko. Średni czas od początku choroby do zabiegu wynosił 7,2 roku. U jednego pacjenta patologia występowała tylko w jednym oku, pozostali chorowali obuocznie. Wszystkie zabiegi wykonał jeden chirurg – EW.

Kwalifikacja dawców

Dawcy wstępnie byli kwalifikowani przez wykonanie typowania antygenów HLA (ang. human leucocytes antibody) klasy I. Kwalifikowano dawców, u których stwierdzono maksymalnie do dwóch niezgodności w zakresie antygenów A, B i C.

Po zakwalifikowaniu dawcy pod względem zgodności antygenowej wykonywano u niego testy serologiczne wymagane przy przeszczepach tkankowych – w kierunku wirusowego zapalenia wątroby typu B i C, HIV i kiły.

Technika operacyjna pobrania płatków spojówkowo-rogówkowych przedstawiała się następująco. W znieczuleniu miejscowym

(7 oczu okołogałkowo i 5 oczu w znieczuleniu kroplowym) z rejonu godziny 6. i 12. pobierano dwa płatki długości 2,5 godziny zegarowej i szerokości 3 mm: 2 mm spojówki i 1 mm rogówki, co przedstawiają ryciny 2. i 3. Po pobraniu płatki umieszczano na płytce Petriego w roztworze Ringera, zaznaczając górny i dolny płatek, tak aby przeszczepić je w analogiczne miejsca u biorcy. Łoże po pobraniu w oczach dawców pozostawiano bez szycia, stosując jedynie na koniec zabiegu maść oczną antybiotyku ze sterydem. Po zabiegu stosowano przez tydzień krople antybiotyku ze sterydem (ryc. 2, 3).

Biorcę operowano w znieczuleniu ogólnym bezpośrednio po pobraniu RKM od dawcy. Diatermią wyznaczano okrąg spojówki, który nacinano, dochodząc do twardówki. Zabieg rozpoczynano od oczyszczenia pasa rąbkowego szerokości 2 mm na całym obwodzie rogówki. Następnie czterema szwami 8,0 Vicryl przyszywano spojówkę do twardówki w jej nowej granicy na godzinach 3., 6., 9. i 12. Następnie usuwano łuszczykę spojówkową z powierzchni rogówki. W kilku przypadkach taką powierzchnię pokryto błoną owodniową z nabłonkiem skierowanym ku górze. W jednym przypadku wykonano jednocześnie głęboką keratoplastykę warstwową. W trzech przypadkach wykonano jednocześnie keratoplastykę drążącą (KD).

Postępowanie pooperacyjne obejmowało stosowanie leków miejscowo i ogólnie. Miejscowo stosowano przez dwa tygodnie krople antybiotyku z grupy fluorochinolonów, cztery razy dziennie. Krople kortykosteroidu (octan prednisolonu) stosowano przewlekłe w dawkach zmniejszających się. W przypadkach upośledzenia wydzielania łez stosowano środki nawilżające bez konserwantów. W zachowanej śladowo funkcji wydzielania łez stosowano krople z surowicy własnej, z częstotliwością co 1 godzinę, oraz wykonywano zamknięcie punktów łzowych (16).

Ogólnie stosowano immunosupresję obejmującą kortykosteroid, cyklosporynę A i/ lub azatioprynę/ mykofenolan wg schematu przedstawionego w tabeli I. Co miesiąc kontrolowano parametry krwi obwodowej oraz funkcje narządów miękkich (tab. I).

Miarą powodzenia zabiegu było odtworzenie powierzchni oka z ustąpieniem objawów subiektywnych i obiektywnych niewydolności RKM. Było to ustąpienie światłowstrętu oraz łzawienia, jak również cofnięcie się pokrycia rogówki spojówką. Rogówka z prawidłową powierzchnią nabłonka nie barwiła się fluoresceiną. Była gładka i lśniąca, równomiernie pokryta filmem łzowym. Cytologia impresyjna nie wykazywała komórek kubkowych w centrum rogówki.

Terapia Therapy	Dawkowanie Dose	– czas pobierania – period of application
Prednisolon Prednisolone	1 mg/kg m.c./dobe p.o. 1 mg/kg/day/ p.o.	– do 3 miesięcy – up to 3 months
Cyclosporyna A Cyclosporin A	2 mg/kg m.c./dobe p.o. (poziom w surowicy 100 -150 ng/ml) 2 mg/kg/day p.o. (serum level 100 -150 ng/ml)	– do 24 miesięcy – up to 24 months
Azatiopryna lub Mycofenolan mofetilu Azathioprine or Mycofenolate mofetil	100mg/dobe p.o. 2000 mg/dobe 100mg/day p.o. 2000 mg/day	– do 24 miesięcy – do 24 miesięcy – up to 18 months – up to 24 months

Tab. I. Schemat zastosowanej immunosupresji.

Tab. I. The pattern of used immunosuppressive therapy.

Porównywano ostrość wzroku przed zabiegiem i w okresie obserwacji z korekcją okularową.

Wyniki

Okres obserwacji wahał się od 10 do 31 miesięcy, średnio 20,3 miesiąca. Ryciny 4 – 9 przedstawiają oczy pacjentów przed i po zabiegach przeszczepów RKM. Krzywą przeżycia przeszczepów RKM przedstawia rycina 10.

W okresie obserwacji niepowodzenie zaobserwowano w dwóch przypadkach (16,6%): u pacjenta z zespołem Stevensa-Johnsona oraz w oku po dwukrotnej KD po oparzeniu zasadą. Polepszenie ostrości wzroku zaobserwowano w 7 przypadkach, identyczną ostrość wzroku uzyskano u 4 pacjentów, natomiast u jednego zaobserwowano pogorszenie z liczenia palców do ruchów ręki. We wszystkich przypadkach odnotowano subiektywne odczucie poprawy (ryc. 11).

W oczach dawców nie zaobserwowano żadnych powikłań śródoperacyjnych oraz późnych w okresie obserwacji biorców.

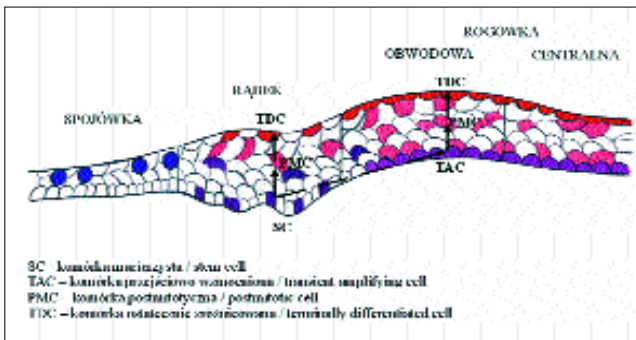
W czterech przypadkach zaobserwowano reakcje odrzutu RKM, które przedstawiały się jako sektorowy nastrzyk rąbka rogówki, lokalny obrzęk rogówki, światłowstręt i ból, a w konsekwencji ubytki nabłonka rogówki (ryc. 12).

W dwóch przypadkach udało się skutecznie wyleczyć reakcję odrzutu, natomiast w dwóch kolejnych doszło do przewlekłego ubytku nabłonka rogówki, co w następstwie doprowadziło do niepowodzenia.

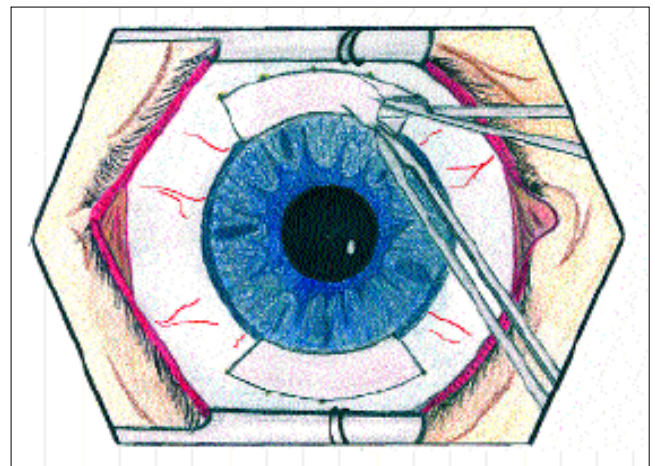
Barwienie rogówki roztworem fluoresceiny wykazało zlewne wybarwienie się w dwóch przypadkach. W kolejnych dwóch wykazano delikatne barwienie się obwodu rogówki. Cytologia impresyjna w żadnym z nich nie wykazała obecności komórek kubkowych (10).

Omówienie wyników

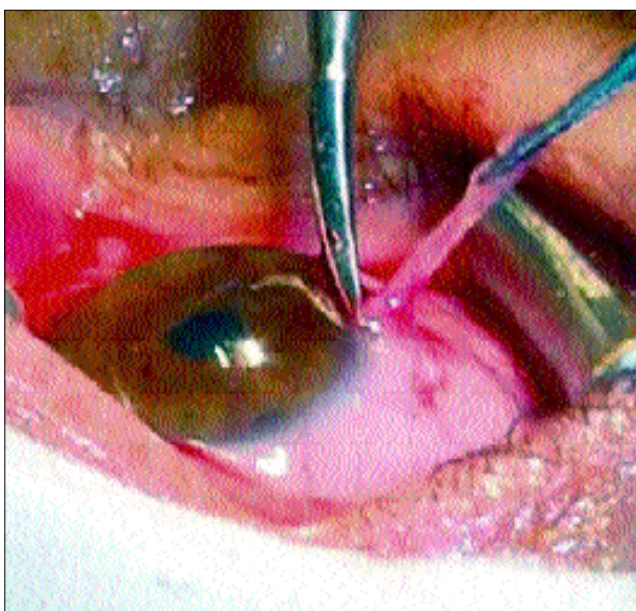
Mimo że przeszczepy RKM od dawców rodzinnych są powszechnie akceptowane, to jednak w literaturze światowej istnieje jedynie kilka prac omawiających wyniki klinicznego stosowania tej procedury (2,3,7,8,11,14).



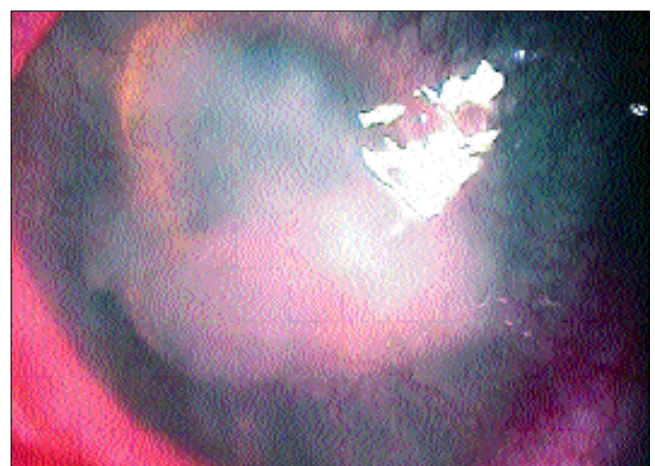
Ryc. 1. Schemat lokalizacji RKM wg Tsenga w modyfikacji własnej.
Fig. 1. The location of limbal stem cell according to Tseng in own modification.



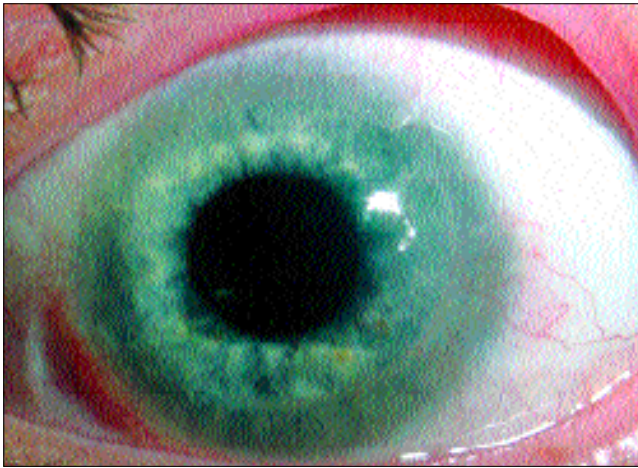
Ryc. 3. Schemat pobierania płatków spojówkowo-rogówkowych od dawcy rodzinnej wg Kenyona i Tsenga.
Fig. 3. Schematic diagram illustrating harvestig of conjunctival limbal grafts from living related donor in Tseng and Kenyon technique.



Ryc. 2. Pobieranie płatka spojówkowo-rogówkowego z okolicy rąbka od dawcy rodzinnej.
Fig. 2. Harvesting of conjunctival limbal allograft from living related donor.

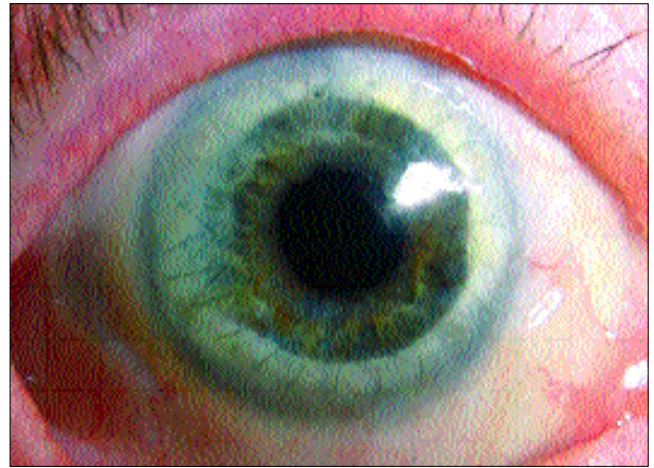


Ryc. 4. Prawe oko pacjentki J. H., lat 23. Niewydolność RKM spowodowana ciężkim stanem zapalnym rogówki. Leczona krioterapią i keratektomią laserową. Ostrość wzroku – liczy palce przed okiem.
Fig. 4. Right eye of 23-year-old female J. H. Stem cell insufficiency resulted from severe keratitis. Patient treated with cryotherapy and laser PTK. VA – finger counting.



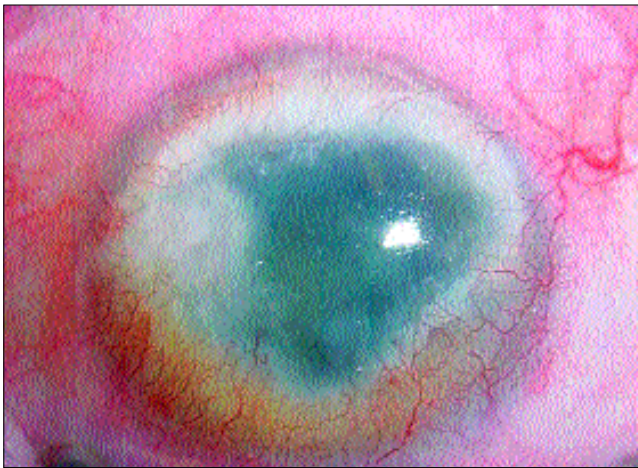
Ryc. 5. Oko pacjentki z ryciny 4. – 14 miesięcy po przeszczepie RKM od ojca. Jednocześnie wykonano głęboką keratoplastykę warstwową. Skorygowana ostrość wzroku 0,6. Pacjentka stosuje krople prednisolonu jeden raz dziennie i doustnie mykofenolan mofetilu.

Fig. 5. The eye from Fig. 4. at 14 months after stem cell transplantation from father. Deep lamellar keratoplasty was performed simultaneously. BCVA was 0.6. Topical prednisolon once a day and meykofenolan mofetil orally are applied.



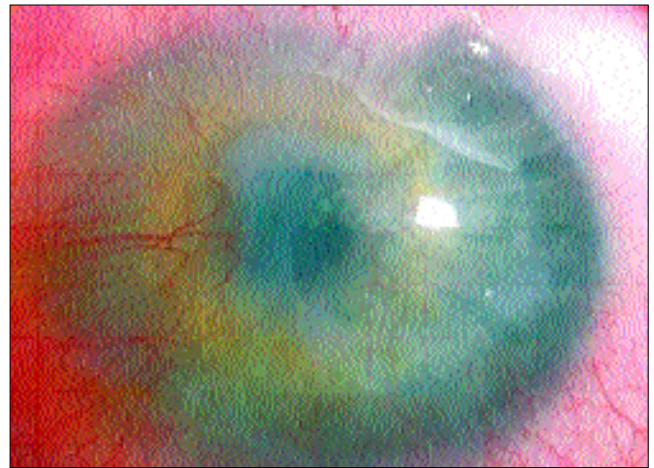
Ryc. 7. Oko z ryciny 6. – 26 miesięcy po przeszczepie RKM od córki. Po 12 miesiącach od przeszczepu wykonano keratoplastykę drążącą oraz pozatorebkowe usunięcie zaćmy ze wszczepem soczewki sztucznej wewnątrzgałkowej. Skorygowana ostrość wzroku 0.9.

Fig. 7. The same eye as on Fig. 6. at 26 months after stem cell transplantation from daughter. 12 months after stem cell transplantation penetrating keratoplasty with ECCE and IOL implantation were performed. BCVA 0.9.



Ryc. 6. Prawe oko pacjentki C. H., lat 75. Niewydolność RKM po oparzeniu wapnem. Ostrość wzroku – ruchy ręki.

Fig. 6. Right eye of 75-year-old female. Stem cell insufficiency resulted from chemical burn. VA-hand movements.



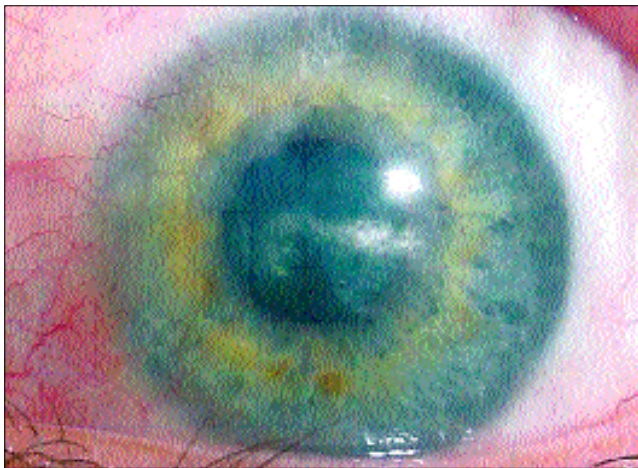
Ryc. 8. Lewe oko pacjenta G. N., lat 26, po oparzeniu wapnem. Ostrość wzroku – liczy palce przed okiem.

Fig. 8. Left eye of 26-year-old male after chemical burn. VA – fingers counting.

Przeżycie przeszczepów w materiale własnym stanowiło 83,6% w średnim okresie obserwacji 20,3 miesiąca (od 10 do 32 miesięcy). Daya i Ilari (2) w średnim okresie obserwacji 26,2 miesiąca (od 17 do 43 miesięcy) odnotowali przeżycie w 80%, Rao i wsp. (11) zaobserwowali przeżycie w 77,8% przy średnim okresie obserwacji 17,2 miesiąca (od 3 do 33 miesięcy), z kolei Kwitko i wsp. (7) – 91,6% w średnim okresie obserwacji 17,2 miesiąca (od 5 do 29 miesięcy). Wszystkie prace dotyczyły podobnej liczby przypadków oraz podobnych wskazań.

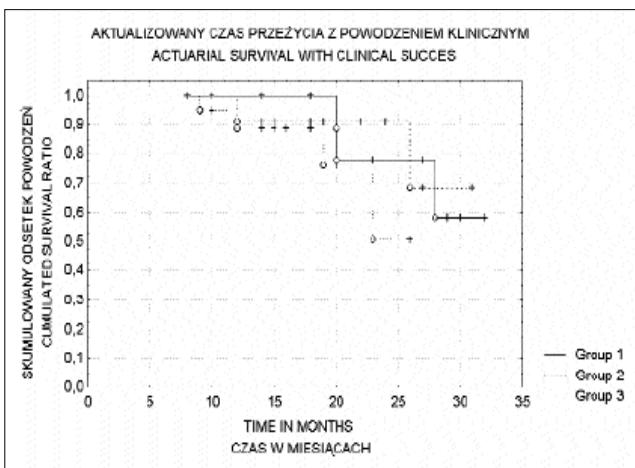
Dwa niepowodzenia w opisywanym materiale wystąpiły po 12 i 26 miesiącach od zabiegu. Dotyczyły one zespołu Stevensa-Johnsona i stanu po poprzedniej keratoplastyce wykonanej w oku po oparzeniu chemicznym. W tych przypadkach doszło do reakcji odrzutu RKM. Mogło to mieć związek z dużym odczynem zapalnym oraz formowaniem się zrostów. Przeszczepione RKM muszą napotkać sprzyjające warunki do rozprzestrzeniania się na rogów-

ce. Dlatego leczenie schorzeń powierzchni oka powinno odbywać się wieloetapowo (3,13). Pierwszym etapem jest rekonstrukcja strukturalna, tj. leczenie nieprawidłowego wrastania rześ, nierówności brzegów powiek, niedomykalności powiek, zrostów powiekowo-gałkowych. Do tego celu należy stosować przeszczepy rogówkowo-rąbkowe homologiczne od dawców pośmiertnych (ang. kerato-limbal allografts, KLAL) i/ lub przeszczep błony owo-dniowej oraz procedury z zakresu chirurgii plastycznej. W drugim etapie – nazywanym odnowieniem powierzchni – powinniśmy dostarczyć pulę komórek macierzystych odtwarzających prawidłowy rąbek, który może utrzymać granicę pomiędzy nabłonkiem spojówki i rogówki. Pula przeszczepianych RKM od dawców rodzinnych lub z drugiego oka jest zbyt mała, aby mogła pokonać odczyn zapalny po uwalnianiu zrostów lub przeciwstawić się czynnikiem drażniącym ze strony powiek.



Ryc. 9. To samo oko co na rycinie 8. – 17 miesięcy po przeszczepie RKM od ojca. Skorygowana ostrość wzroku 0.3

Fig. 9. The same eye as on Fig. 8 at 17 months after stem cells transplantation from father. BCVA 0.3.

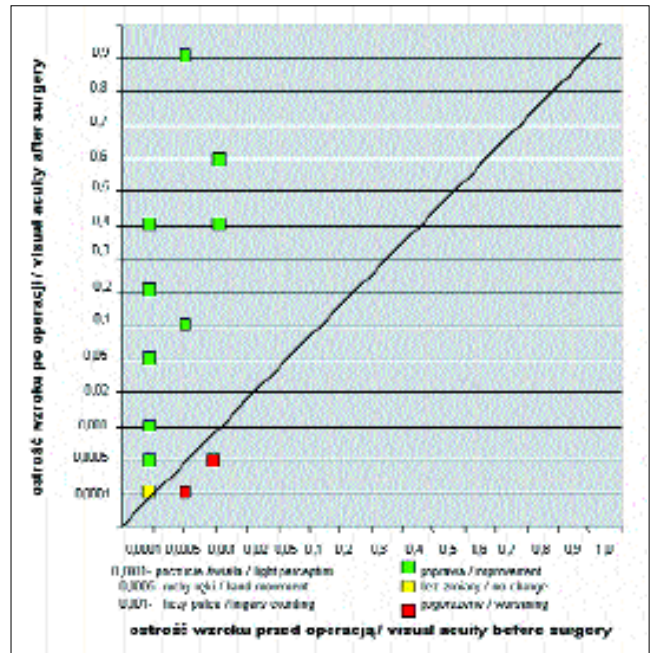


Ryc. 10. Krzywa przeżycia Kaplan-Meyera ukazująca odsetek powodzeń przeszczepów RKM w materiale własnym.

Fig. 10. Kaplan-Meyer survival curve showing the proportion of successful stem cell grafts in own material.

Zwykle dopiero keratoplastyka warstwowa, drążąca lub chirurgia zaćmy pozwalają na istotne polepszenie ostrości wzroku po odtworzeniu prawidłowego nabłonka rogówki. W materiale własnym jednocześnie wykonano KD w trzech przypadkach zmętnienia uprzednio wykonanego przeszczepu drążącego. Na trzy wykonane powtórne przeszczepy jeden zmętniał, natomiast dwa pozostały przezroczyste. Do chwili obecnej większość prac wykazała zdecydowaną przewagę przeżywalności przeszczepów KMR po odłożeniu wykonania KD do 6-9 miesięcy po ich przeszczepie (3,13).

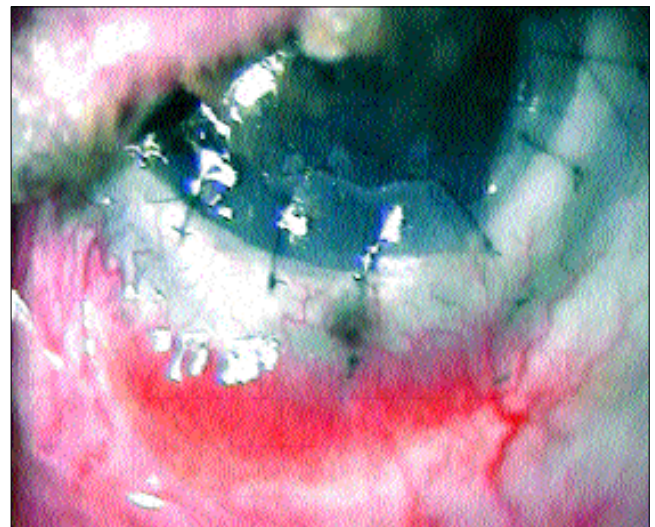
Wszyscy autorzy stosowali typowanie zgodności tkankowej HLA, jednak Kwitko (7) przeprowadził typowanie retrospektywnie, natomiast u Daya i Ilari (2) 50% dawców miało przynajmniej dwie niezgodności w zakresie antygenów klasy I. Rao i wsp. (11) wykonali typowanie tkankowe u 7 pacjentów (77,8%) i ci dawcy mieli maksymalnie dwie niezgodności w zakresie klasy I HLA. Lam i wsp. (8) wskazują na konieczność wykonywania typowania HLA we wszystkich przypadkach i wybierania najbardziej zgodnego antygenowo dawcy. W omawianym materiale 1 przypadek był idealnie zgodny (brat-brat), 5 – z jedną niezgodnością, również 5 – z dwie-



Ryc. 11. Skorygowana ostrość wzroku przed i po operacji.

Fig. 11. Best corrected visual acuity before and after surgery.

ma niezgodnościami. Według niektórych autorów (4,11,13) jak najlepszy dobór dawcy pod względem antygenowym powala na zmniejszenie dawki immunosupresji, jednak w materiale własnym odrzut wystąpił przy idealnej zgodności antygenowej oraz poziomie Cyclosporyny A w surowicy 220 ng/ml. Najprawdopodobniej istnieją więc inne lub dodatkowe czynniki, które aktywują reakcję immunologiczną odrzutu, niemniej typowanie antygenów klasy I oraz ABO jest powszechnie zalecane (5, 8,11).



Ryc. 12. Pacjent lat 49. Stan po 7 miesiącach od przeszczepu komórek macierzystych od brata. Wystąpiła reakcja odrzutu z sektorowym nastrzykiem okołorąbkowym, obrzękiem kwadrantowym rogówki i przewlekłym ubytkiem nabłonka rogówki. Skutecznie wyleczony farmakologicznie.

Fig. 12. 49-year-old male. In 7 months after stem cell transplantation he developed the rejection reaction with sectoral limbal injection, local corneal edema and chronic epithelial defect. Patient was successfully treated with medications.

Ostrość wzroku uzyskana po zabiegach jest przedstawiona na rycinie 11. W przypadkach dwóch pacjentów doszło do pogorszenia, u jednego pacjenta ostrość widzenia nie zmieniła się, natomiast poprawę zauważono w 9 przypadkach (75%). Solomon i wsp. (13) analizując wyniki przeszczepów RKM, wprowadzili pojęcie ambulatoryjnej ostrości widzenia (OW). Jest to skorygowana OW równa lub większa od 0,1. Taką OW uzyskano w 6 przypadkach (50%). Daya i Ilari (2) uzyskali ambulatoryjną OW w 5 przypadkach (62,5%), natomiast poprawę w 7 przypadkach (87,5%). Kwitko i wsp. (7) uzyskali polepszenie ostrości wzroku w 45,5%, natomiast Rao i wsp. (11) w trzech przypadkach (33,3%). Autorzy ci jednak zwracają uwagę, że zwykle nie jest to procedura, która pozwala na polepszenie ostrości wzroku.

Nie zaobserwowano powikłań u dawców w maksymalnym okresie obserwacji 31 miesięcy. Również inni autorzy nie odnotowali żadnych istotnych dla widzenia powikłań, jednak niektórzy zalecają wykonanie przed kwalifikacją cytologii impresyjnej w oku dawcy, aby wykluczyć subkliniczną niewydolność RKM (2,3). Żadna z omawianych prac nie przedstawia wyników powodzenia zabiegu w oparciu o wykonaną cytologię impresyjną (2,4,7,11). W omawianej pracy w dwóch przypadkach wątpliwych po zabiegu operacyjnym wykonano cytologię impresyjną, uzyskując prawidłowy obraz. Istnieje zgodność co do konieczności stosowania immunosupresji po tego typu zabiegach, choć pionierzy tej metody nie stosowali ogólnie Cyclosporyny A. Rozbieżność dotyczy ilości leków oraz czasu trwania terapii. Najlepsze doświadczenia związane są ze stosowaniem Cyclosporyny z Mykofenalem mofetilu (3,13). Po intensywnej immunosupresji trwającej 6-9 miesięcy i obejmującej 2-3 leki autorzy zalecają długotrwałe stosowanie Cyclosporyny A w minimalnej dawce 1 mg/kg masy ciała/ dobę (13).

Dalsze poszukiwania optymalnego postępowania farmakologicznego z nowymi lekami immunosupresyjnymi, takimi jak np. Tacrolimus, oraz przeszczepianie właściwych populacji RKM być może pozwolą na wydłużenie przeżycia przeszczepów RKM od dawców rodzinnych (9,12,18).

Wnioski

1. Przeszczepy RKM od dawców rodzinnych skutecznie odbudowują powierzchnie oka w wybranych przypadkach dotyczących zaburzeń nabłonka rogówki.
2. Przeszczepy RKM od dawców rodzinnych zdecydowanie gorzej roją w przypadkach obecności anomalii powiek i zrostów powiekowo-gałkowych.
3. Przeszczepy RKM od dawców rodzinnych mogą być źródłem komórek do hodowli *in vitro*.

PIŚMIENNICTWO: 1. Arkin W.: *Przeszczepianie rogówki. Klasyfikacja przeszczepów*. PZWL, Warszawa, 1969, 16-18. 2. Daya S.

M., Ilari L.: *Living related conjunctival limbal allograft for the treatment of stem cell deficiency*. *Ophthalmology*, 2001, 108, 126-134. 3. Daya S. M., Holland E. J., Mannis M. J.: *Living-related conjunctival limbal allograft*. w: red. Holland E. J., Mannis M. J.: *Ocular Surface Disease: 201-207*, Springer-Verlag, New York, Berlin, 2002. 4. Ilari L., Daya S. M.: *Long-term outcome of keratolimbal allograft for the treatment of severe ocular surface disorders*. *Ophthalmology*, 2002, 109, 1278-1284. 5. Iwaszkiewicz E., Czuba M., Podobińska I.: *Przeszczepianie rogówki od dawcy dobrego pod względem częściowej zgodności czynnika HLA w bielmach wysokiego ryzyka*. *Klin. Oczna*, 1992, 94, 145-146. 6. Kenyon K. R., Tseng S. C. G.: *Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders*. *Ophthalmology*, 1989, 96, 709-723. 7. Kwitko S., Marinho D., Barcaro S., Bocaccio F., Rymer S., Fernandes S., Neumann J.: *Allograft conjunctival transplantation for bilateral ocular surface disorders*. *Ophthalmology*, 1995, 102, 1020-1025. 8. Lam D. S., Young A. L., Leung A. T., Fan D. S., Wong A. K.: *Limbal stem cell allografting from related live donors for corneal surface reconstruction*. *Ophthalmology*, 2000, 107, 411-412. 9. Pellegrini G., Golisano O., Paterna P., Lambiase A., Bonini S., Rama P., De Luca M.: *Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface*. *J. Cell Biol.*, 1999, 145, 769-782. 10. Puangsricharern V., Tseng S. C. G.: *Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency*. *Ophthalmology* 1995, 102, 1476-1484. 11. Rao S. K., Rajagopal R., Sitalakshmi G., Padmanabhan P.: *Limbal allografting from related live donors for corneal surface reconstruction*. *Ophthalmology*, 1999, 106, 822-828. 12. Sloper C. M. L., Powell R. J., Dua H. S.: *Tacrolimus (FK506) in the management of high-risk corneal and limbal grafts*. *Ophthalmology*, 2001, 108, 1833-1844. 13. Solomon A., Ellies P., Anderson D. F., Touhami A., Grueterich M., Espana E. M., Ti S. E., Goto E., Feuer W. J., Tseng S. C.: *Long-term outcome of keratolimbal allograft with or without penetrating keratoplasty for total limbal stem cell deficiency*. *Ophthalmology*, 2002, 109, 1159-1166. 14. Tan D. T., Ficker L. A., Buckley R. J.: *Limbal transplantation*. *Ophthalmology*, 1996, 103 (1), 29 -36. 15. Thoft R. A.: *Conjunctival transplantation*. *Arch. Ophthalmol.* 1977, 95, 1425-1427. 16. Tsubota K., Goto E., Shimura S., Shimazaki J.: *Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application*. *Ophthalmology* 1999, 83, 390-395. 17. Tsubota K., Tseng S. C. G., Nordlund M. L.: *Anatomy and physiology of the ocular surface in: ocular surface disease*. Medical and Surgical Management. Holland E. J., Mannis M. J. New York, Berlin Springer 2002, 3-15. 18. Wylęgała E. A., Gabryel B., Malecki A. et al.: *Comparison of mitotic potential of limbal cells obtained from living and cadaveric donors*. Abstract book. ARVO Meeting on Research in Vision and Ophthalmology, 6-9 February 2003.

Praca wpłynęła do redakcji 21.02.2003 (229).

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Edward Wylęgała
ul. Filarowa 5a
40-565 Katowice