

# Vloga lečnih epitelnih celic pri razvoju zamotnitve zadnje lečne ovojnice in pri obnovi leče po operaciji prirojene sive mreže

The role of lens epithelial cells in the development of the posterior capsule opacification and in the lens regeneration after congenital cataract surgery

Sofija Andjelic

Očesna Klinika,  
Univerzitetni klinični  
center Ljubljana,  
Ljubljana

## Korespondenca/

### Correspondence:

Sofija Andjelic,  
e: sofija.andjelic@kclj.si

## Ključne besede:

lečne epitelne celice;  
lečna ovojnica;  
pluripotentnost celic;  
razmnoževanje celic;  
selitev celic

## Key words:

lens epithelial cells;  
lens capsular bag;  
cell pluripotency; cell  
proliferation; migration  
of cells

## Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn. 2017;  
86:236–43.

Prispelo: 16. 11. 2016

Sprejeto: 6. 4. 2017

## Izvleček

Najpogostejši zaplet po operaciji sive mreže je zamotnitev zadnje lečne ovojnice (*angl.* posterior capsule opacification, PCO), ki pogosto povzroči poslabšanje vidne funkcije. Vzrok za nastanek PCO je razmnoževanje in selitev lečnih epitelnih celic, ki se med operacijo ne uspejo odstraniti in ostanejo na lečni obojnici. PCO ima značilnost fibroze, ki se kaže z intenzivnejšim deljenjem, selitvijo, odlaganjem matriksa in spremembo oziroma prehodom v miofibroblaste.

Presenetljivo rezultati najnovejših raziskav kažejo, da so lečne epitelne celice pomembne pri obnovi oz. regeneraciji leče pri novem načinu operacije prirojene sive mreže. Pri tem načinu se odstrani le 1–1,5 mm lečne ovojnice bolj lateralno, tako da ostane večji del lečnega epitela nepoškodovan. Nov način operacije se razlikuje od sedanjega, saj se pri njem ohranijo endogene lečne epitelne celice, ki se ne poskušajo odstraniti oz. uničiti. Lečne epitelne celice se tako lahko po operaciji razmnožujejo znotraj lečne ovojnice. Uspeli so doseči funkcionalno obnovo leče pri kuncih in opicah pa tudi pri otrocih s prirojeno očesno mrežo. Za obnovo očesne leče je ključnega pomena pluripotentnost lečnih epitelnih celic, ki imajo naravo zarodnih celic.

*Ex vivo* kulture eksplantov lečnih obojnic, na katerih so lečne epitelne celice, lahko uporabljamo za testiranje farmakoloških reagentov, s katerimi spodbujamo ali zaviramo rast lečnih epitelnih celic. Funkcionalnost celic in odgovore na farmakološke reagentne lahko ovrednotimo z analizo znotraj- in zunajcelične signalizacije kalcija ( $Ca^{2+}$ ).

Spodbujanje rasti lečnih epitelnih celic je pomembno pri obnovi leče pri novem načinu operacije prirojene sive mreže, nasprotno pa je zaviranje rasti lečnih epitelnih celic pomembno pri preprečevanju razvoja PCO. Članek opisuje metode analize delovanja lečnih epitelnih celic, ki jih pridobimo pri operacijah sive mreže ter jih izvajamo v laboratoriju na Očesni kliniki UKC v Ljubljani.

## Abstract

Posterior capsule opacification–PCO is the most common complication after cataract surgery. Proliferation and migration of lens epithelial cells that remain in the capsular bag following cataract surgery can lead to the development of PCO, which is the main cause of deterioration of visual function. PCO shows the classic features of fibrosis, including hyperproliferation, migration, deposition of matrix and its shrinkage and transdifferentiation into myofibroblast. Astonishingly, the results of recent research show the importance of lens epithelium for lens regeneration following congenital cataract surgery. New minimally invasive cataract surgery removes only 1–1.5 mm of lens epithelium more laterally, so the major part of the epithelium remains in the

capsular bag. Conceptually, the new method differs from the current practice, since it preserves the endogenous epithelial cells of the lens and achieves functional lens regeneration in rabbits and monkeys as well as in human infants with congenital cataracts. Pluripotency of lens epithelial cells and their stem cell nature are crucial for lens regeneration.

Ex vivo cultures of the lens capsule explants can be used for testing the pharmacological agents for stimulating and inhibiting the growth of lens epithelial cells. Functionality of the cells and responses to pharmacological agents can be studied by analyzing the intra- and extra-cellular calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) signaling. Stimulating the growth of lens epithelial cells is important in lens regeneration while inhibiting the growth of lens epithelial cells is important in preventing the development of PCO. In the article I described the methods for the analysis of lens epithelial cells after cataract surgeries, which are carried out in the laboratory of the Eye Hospital, University Medical Centre Ljubljana.

## 1 Uvod

Siva mrena je najpogostejši vzrok poslabšanja vida pri človeku. O sivi mreni govorimo, takrat ko se zmanjša prosojnost leče, kar svetlobnim žarkom onemogoča nemoten prehod svetlobe do očesnega ozadja, s čimer se poslabša vid. Po oceni svetovne zdravstvene organizacije ima danes približno 20 milijonov ljudi obojestransko poslabšanje vida zaradi sive mreže, to število pa naj bi leta 2050 doseglo 50 milijonov (1). Trenutno je glavni način zdravljenja kirurški, tako da je operacija sive mreže najpogostejša očesna operacija.

Očesna leča je sestavljena iz treh delov: ovojnice, skorje in jedra (Slika 1). Lečna ovojnica je tanka prozorna opna, ki ovija lečo. Sestavljena je večinoma iz kolagena tipa IV in laminina (2). Skorjo sestavljajo epitelne celice, ki postopoma preidejo v vlakna. Enoslojni lečni epitel se nahaja spredaj, pod sprednjo lečno

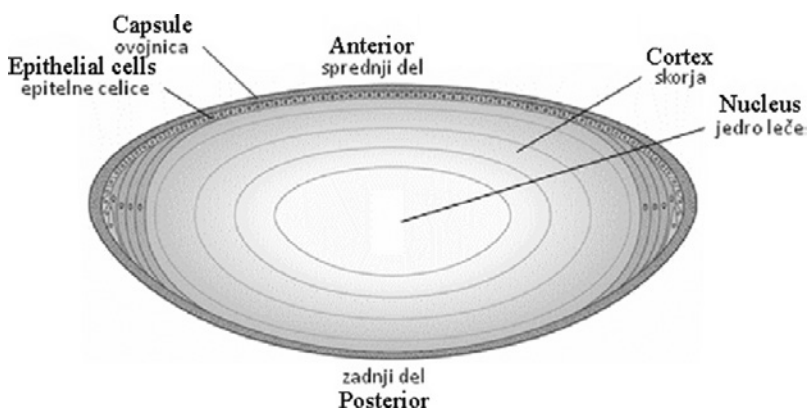
ovojnico. Celice lečnega epitela imajo svoje apikalne površine obrnjene navznoter proti jedru in bazalne površine navzven, dotikajoč se lečne ovojnice. Lečni epitel je prva fizikalna in biološka pregrada leče in metabolno najbolj aktiven del, ki vzdržuje fiziološko ravnovesje. Ionska črpalka v lečnih epitelnih celicah vzdržuje homeostazo in bistrost leče. Sprednji lečni epitel služi tudi kot izvor prekursorjskih celic, iz katerih z molekularno in morfološko diferenciacijo nastanejo lamelne celice.

Jedro leče je sestavljeno iz najstarejših celic, praktično brez metabolne aktivnosti (3). Sestavljeno je iz mase skupaj stisnjenih lamelnih celic, ki so spredaj prekrte z enoslojnim epitelom in ovite z lečno ovojnico. Količina lamelnih celic določa funkcionalne lastnosti leče.

## 2 Razvoj zamotnitve zadnje lečne ovojnice

Pri operaciji sive mreže (fakoemulzifikaciji) se po odstranitvi sprednje lečne ovojnice skupaj z lečnimi epitelnimi celicami dimenzij približno 5,5 mm, odstrani jedro in skorja naravne očesne leče in se vstavi nova umetna leča. Operacija je zelo varna in redko povezana z zapleti, se pa po operaciji sorazmerno pogosto pojavlja zamotnitev zadnje lečne ovojnice (*angl.* posterior capsule opacification,

**Slika 1:** Shema strukture leče.



PCO). Po operaciji sive mreže se lahko poslabšanje vidne ostrine zaradi PCO razvije v prbl. 20 % primerov v dobi petih let (4). PCO se običajno razvije iz lečnih epitelinih celic, ki ostanejo na lečni ovojnici po operaciji sive mreže (fakoe-mulzifikaciji) (4,5). Pri nastanku PCO se ne zamotni sama zadnja lečna obojnica, ampak se na zadnji lečni ovojnici razvijejo neprozorne sekundarne membrane (6-8). Sekundarne membrane nastanejo z razmnoževanjem, selitvijo (9) in preobrazbo (t. i. epitelno-mezenhimskim prehodom) lečnih epitelinih celic (10,11). Tako spremenjene celice so sposobne odlagati kolagen in obnoviti oz. regenerirati lečna vlakna v prostoru med umetno lečo in zadnjo lečno ovojnico (12). Celice lečnega epitela se razmnožujejo v različnih vzorcih. Klinično se razlikujeta dve osnovni morfološki obliki PCO: fibrozna oblika in oblika z biseri. Prva se oblikuje z razmnoževanjem in selitvijo lečnih epitelinih celic, ki se nahajajo pod sprednjo lečno ovojnico ter prehodom v miofibroblaste (t. i. epitelno-mezenhimski prehod) (13). Druga oblika, z biseri, nastane iz lečnih epitelinih celic, ki se nahajajo na ekvatorialnem delu leče ali lečnem polu in se regenerirajo v lečna vlakna, ki izražajo kristalin (5,14).

### 3 Obnova oz. regeneracija očesne leče

Najnovejši rezultati raziskav kažejo, da se očesna leča pri novem načinu operacije prirojene sive mreže lahko obnovi – regenerira, pri čemer je ključen lečni epitel. Pri novem načinu operacije prirojene sive mreže se ohrani večji del lečnih epitelinih celic, ki se nato razmnožujejo in oblikujejo funkcionalno lečo. Operacija se je izkazala za uspešno tako pri kuncih ter opicah kot tudi pri otrocih s prirojeno očesno mrežo (15).

Siva mreža je eden najpomembnejših vzrokov za okvaro vida pri otrocih (16). Sedanji način operacije sive mreže pri otrocih vključuje oblikovanje velike odprtine v sprednji lečni ovojnici premera do 6 mm, katere posledica je velika površina odstranjene obojnice, s tem pa tudi odstranitev večjega števila lečnih epitelinih celic. Na ta način se zmanjša pojav PCO. Nedavno so opisali nov način operacije prirojene sive mreže, pri kateri z namenom, da bi omogočili obnovo leče, oblikujejo na obodu leče manjši premer odprtine v sprednji lečni ovojnici (<1,5 mm). Tako ostane v lečni ovojnici več lečnih epitelinih celic, iz katerih se obnovi nova funkcionalna leča.

Dvanajst otrok s prirojeno sivo mrežo (24 oči) je imelo opravljeno novo minimalno invazivno operacijo, ki omogoča regeneriranje leče. V kontrolni skupini pa je imelo 25 otrok s prirojeno sivo mrežo (50 oči) opravljeno standardno operacijo (15). Nov način operacije ima dve prednosti: precej se zmanjša velikost odstranjene lečne obojnice, obenem pa se pomakne odprtina odstranjene lečne obojnice iz osrednje vizualne osi k obodu. Po operaciji so bili roženica, sprednji prekat in očesno ozadje čisti. Zapletov, povezanih z operacijo niso beležili. Odprtine v sprednji lečni ovojnici so se zacelile v enem mesecu. Obnovljena čista struktura bikonveksne leče se je oblikovala tri mesece po posegu. Po šestih mesecih pa niso zabeležili zapletov ali neorganizirane regeneracije tkiva.

Nova minimalno invazivna kirurška metoda omogoča čisto vidno os, pri čemer ohrani lečne epitelne celice, ki imajo regenerativni potencial.

Lečne epitelne celice pri odraslih človeških očeh kažejo tudi povečano regenerativno sposobnost po poškodbi (15), kar nakazuje možnost za obnovo funkcionalne leče tudi pri starejših bolnikih s starostno sivo mrežo.

## 4 Preprečevanje oziroma spodbujanje rasti lečnih epitelnih celic

Tako za zamotnitev zadnje lečne ovojnice kot tudi za nastanek nove leče pri novem načinu operacije prirojene sive mreže so odgovorne lečne epitelne celice.

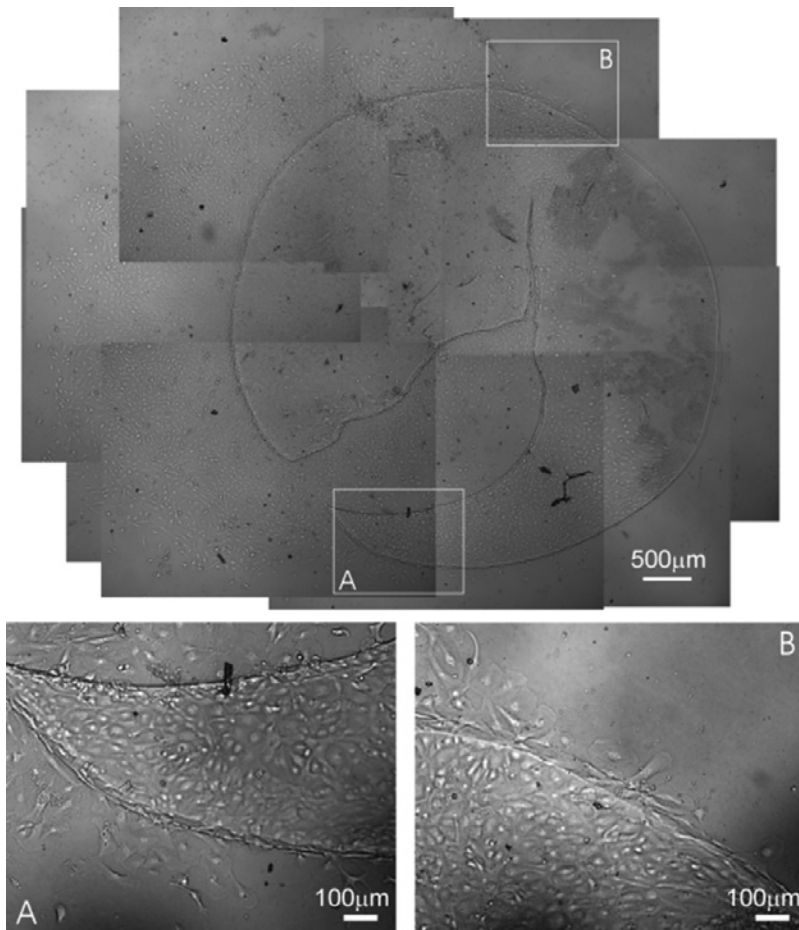
Proučevanje zaviralnih mehanizmov prehoda epitela v mezenhim je pomembno za preprečitev razvoja PCO. Dokazano je, da transformirajoči faktor rasti (*angl.* transforming growth factor  $\beta$ , TGF $\beta$ ) inducira prehod epitela v mezenhim, kar je osrednjega pomena pri nastanku fibrozne oblike PCO, verjetno preko ERK/MAPK signalne poti (veriga proteinov v celici, ki prenaša signal z receptorjev na površini celice do DNK v jedru celice) (17). Fibronektin tipa III pa v zunajceličnem matričnem proteinu tenascin-C igra vlogo pri zaviranju epitelno-mezenhimskega prehoda (18).

Po drugi strani je študij spodbujevalnih mehanizmov diferenciacije epitela v lamelne celice pomemben za obnovo funkcionalne leče. Rastni faktorji, ki delujejo preko tirozin kinaznega receptorja (RTK), kot je fibroblastni rastni faktor (fibroblast growth factor-FGF), imajo normalno regulacijsko vlogo v leči (19). Danes je znano, da proces diferenciacije epitela v lamelne celice poganja FGF. Malo pa je znanega o dejavnikih, ki so namenjeni usklajevanju natančne ureditve lamelnih celic v funkcionalno lečo. Nedavna raziskava daje vpogled v FGF-aktiviran mehanizem, ki vključuje interakcije med Wnt-Frizzled in Jagged/Notch signalnimi potmi. Wnt in Notch signalne poti uporabljajo živalske celice za nadzor nad svojo identiteto in obnašanjem med razvojem. Vzajemna interakcija epitelnih in lamelnih celic je ključnega pomena za združitev in vzdr-

ževanje zelo urejene tridimenzionalne strukture, ki je osrednjega pomena za delovanje leče (17).

Študij razmnoževanja lečnih epitelnih celic je pomemben, saj želimo pri razvoju PCO razmnoževanje preprečiti, medtem ko želimo pri tvorbi nove leče razmnoževanje spodbuditi. Stopnje razmnoževanja lečnih epitelnih celic so odvisne od starosti. Pri ljudeh imajo lečne epitelne celice zmanjšano odzivnost na mitogeni rastni faktor, FGF-2 (20). To sovпада s starostnim padcem gostote človeških lečnih epitelnih celic v centralnem področju lečnega epitela (21). Ki-67 jedrski protein je celični označevalec, povezan z razmnoževanjem celic. Nekatere Ki-67-pozitivne celice so zaznali tudi v centralnem, sprednjem področju epitela pri mladih govejih in človeških lečah, kjer ima mlajša leča več celic, ki se razmnožujejo, kot starejša (22). Razmnoževanje lečnih epitelnih celic je raziskano za lečni epitel odrasle miške, pri kateri so našli dve skupini celic: počasnejše oz. redko ciklirajoče celice, ki se nahajajo v osrednjem področju lečnega epitela in bolj aktivno ciklirajoče celice v perifernem ali germinativnem področju (23). Prvih celic je sorazmerno malo (2–3 %), zato avtorji menijo, da so to domnevne zarodne lečne epitelne celice, ki se med homeostazo zelo redko delijo. Ob motnjah se te celice začnejo razmnoževati in zagotavljajo delitev, ki bo oskrbela osrednjo in germinativno območje s celicami, ki imajo zmogljivost nadaljnjih delitev. Interakcija apikalnih površin lečnih epitelnih celic, ki so obrnjene navznoter proti jedru, z notranjim delom leče, kjer se dotikajo apikalne površine lamelnih celic, uravnava razmnoževanje lečnih epitelnih celic (24,25). BMI-1, protein, ki je pri človeku kodiran z genom BMI-1 (B-celični specifični virus mišje levkemije), je potreben za vzdrževanje in obnovo endogenih lečnih epitelnih celic.





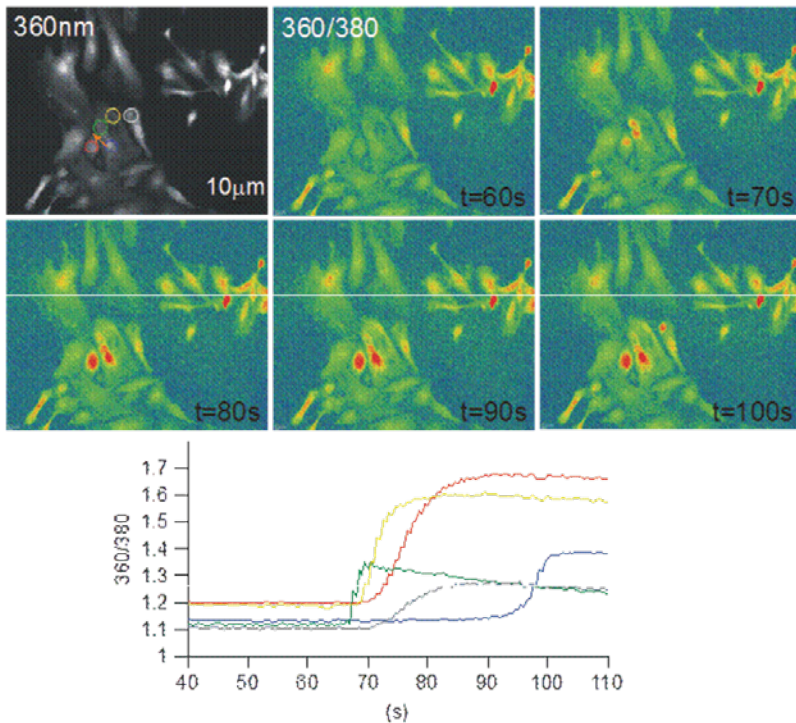
**Slika 2:** Primer pritrjenega eksplanta človeške sprednje lečne ovojnice z rastočim lečnimi epitelnimi celicami v petrijevki. Na spodnjih slikah sta pri večji povečavi prikazani dve področji lečne ovojnice z rastočim lečnimi epitelnimi celicami.

Izguba BMI-1 vodi do zmanjšanja zmogljivosti razmnoževanja lečnih epitelnih celic in nastanka sive mreže (15).

## 5 Metode analize lečnih epitelnih celic po operaciji sive mreže pri nas

Za študije vloge človeškega lečnega epitela, tako njegovega regenerativnega potenciala kot tudi razvoja PCO, se lahko uporabijo sprednje lečne ovojnice, pridobljene pri operaciji sive mreže (26), iz katerih vzgojimo *ex vivo* kulture eksplantov lečnih ovojnic (27,28). Na Očesni kliniki v Ljubljani uporabljamo pri standardni operaciji sive mreže odstra-

njene sprednje lečne ovojnice, ki se sicer običajno zavržejo. Strukturo lečnega epitela in razlike apikalne in bazalne strani smo pokazali z uporabo vrstičnega in transmisijskega elektronskega mikroskopa in konfokalnega mikroskopa. Z vsako od treh metod, ki smo jih uporabili, smo prikazali enake morfološke značilnosti, razširitve in zaplete citoplazemske membrane lečnih epitelnih celic na meji z lečno ovojnico, medtem ko se je izkazalo, da je apikalna površina lečnih epitelnih celic gladka (29). Z uporabo vrstičnega in transmisijskega elektronskega mikroskopa smo raziskovali tudi epitel pri bolnikih z različnimi tipi sive mreže. Pri bolnikih z intumescentno sivo mrežo ima lečni epitel naslednje značilnosti: otekle celice, sferične strukture celic in degradirane celice (30). Pri bolnikih z retinitisno pigmentozo pa smo opazili naslednje značilnosti lečnega epitela: luknje in degradacije epitela z dimenzijami od  $<1 \mu\text{m}$  do več kot  $50 \mu\text{m}$  (31). Luknje v lečnem epitelu imajo verjetno vlogo pri razvoju sive mreže. Homeostaza znotrajcelične koncentracije kalcija ( $\text{Ca}^{2+}$ ) predstavlja splošni indikator delovanja celic. Pri študiji vloge lečnega epitela in analizi znotraj- in zunajcelične  $\text{Ca}^{2+}$  signalizacije na človeških sprednjih lečnih epitelnih celicah smo pokazali, da pri bolj razviti sivi mreži celice pokažejo počasnejši skupen odziv na stimulacijo in manj izrazito prostorsko-časovno povezovanje celic. Medcelična omrežja so redkejša in bolj ločena kot pri blagi sivi mreži (32). Pokazali smo tudi krčenje lečnih epitelnih celic po nespecifični stimulaciji, ki je vsaj deloma neodvisno od sprememb v znotrajcelični koncentraciji  $\text{Ca}^{2+}$ . Krčenje lahko sproži mehanski dražljaj, odgovor je hiter in celice se po koncu dražljaja vrnejo v prvotno neskrčeno stanje (33). To krčenje celic lahko povzroči večjo permeabilnost za vodo, kar bi lahko bil mehanizem na-



**Slika 3:** Primer sprememb znotrajcelične koncentracije kalcija lečnih epitelnih celic zraslih v kulturi iz eksplanta lečne ovojnice kot odgovor na mehansko stimulacijo. Mesto stimulacije je označeno s puščico na prvi sliki, ki pokaže morfologijo celic pri 360 nm. Časovne spremembe znotrajcelične koncentracije kalcija za 5 izbranih področij so prikazane spodaj, področja so označena s krogi enake barve. Barvne slike skozi razmerje 360/380 nm prikazujejo dvig koncentracije kalcija v izbranih trenutkih: rdeča barva prikazuje najvišjo koncentracijo, rumena manjšo in zelena še manjšo.

stanka sive mreje pri vstavitvi fakičnih leč, če se le-te dotikajo sprednje lečne ovojnice.

V zvezi z razvojem PCO in z obnovo leče smo pokazali, da ima sprednji lečni epitel odraslih pluripotentne lečne epitelne celice. Človeško sprednjo lečno ovojnico v kulturi naselijo lečne epitelne celice, ki se razmnožujejo in selijo, kar kaže na njihovo pluripotentnost ali domnevno naravo zarodnih celic. Z imunskim barvanjem smo pokazali, da se Ki-67 jedrski protein, ki je povezan z razmnoževanjem celic, in Sox2 transkripcijski faktor, ki je ključnega pomena za pluripotentnost nediferenciranih embrionalnih zarodnih celic, izražata v lečnih epitelnih celicah, zraslih na človeški sprednji lečni ovojnici (27). Zarodne in progenitorske celice, ki izražajo Sox2,

so pomembne za regeneriranje tkiva in preživetje pri miših (34).

Pri operaciji sive mreje pridobljene sprednje lečne ovojnice uporabljamo tudi za gojenje *ex vivo* kultur eksplantov lečnih ovojnic, z nasaditvijo lečne ovojnice v petrijevko. Da bi lečne epitelne celice migrirale na steklo petrijevke, mora biti lečna ovojnica pritrjena na dno petrijevke. Razvili smo metodo za pritrjevanje eksplanta s pomočjo viskoelastika (28). Primer pritrjenega eksplanta človeške sprednje lečne ovojnice z rastočim lečnimi epitelnimi celicami je prikazan na Sliki 2. *Ex vivo* kultivirani eksplant lečne ovojnice z rastočim lečnimi epitelnimi celicami lahko služi kot model za testiranje različnih fizičnih in farmakoloških učinkov. Pokazali smo, da usmerjena in lokalizirana mikroplazma povzroča od odmerka odvisne morfološke spremembe celic in apoptozo *ex vivo* gojenih človeških lečnih epitelnih celic. Rezultati kažejo, da se plazma, ki skozi mikropipeto pride do posamezne celice, lahko uporabi za selektivno induciranje smrti lečnih epitelnih celic, ki ostanejo na lečni ovojnici po operaciji sive mreje in tako prepreči njihovo selitev k zadnji ovojnici leče ter tako nastanek PCO (35). Funkcijo rastočih lečnih epitelnih celic eksplanta lečne ovojnice lahko analiziramo z meritvami, ki pokažejo spremembe znotrajcelične koncentracije  $Ca^{2+}$ , ki je kazalec delovanja celic, kot odgovor na različne fizične in farmakološke dražljaje. Slika 3 kaže primer sprememb znotrajcelične koncentracije  $Ca^{2+}$  lečnih epitelnih celic, zraslih v kulturi iz eksplanta lečne ovojnice, kot odgovor na mehansko stimulacijo in pokaže zunajcelično  $Ca^{2+}$  signalizacijo. Dvig koncentracije  $Ca^{2+}$  ni istočasen na vseh izbranih področjih, temveč pokaže časovni zaostanek, kar kaže na to, da signal potuje. Zunajcelična  $Ca^{2+}$  signalizacija nakazuje funkcionalne stike med celicami, ki se

lahko primerjajo med strnjenimi in nestrjenimi lečnimi epitelnimi celicami. Podobne raziskave so pomembne za testiranje farmakoloških reagentov in študije spodbujanja in zaviranja rasti lečnih epitelnih celic.

## 6 Zaključki

Tako za zamotnitev zadnje lečne ovojnice – PCO kot tudi za obnovo leče pri novem načinu operacije prirojene sive mreže so odgovorne lečne epitelne celice. Nov minimalno invaziven način operacije prirojene sive mreže pri otrocih ohrani endogene zarodne lečne epitelne celice, s čimer doseže funkcionalno ob-

novo leče. Pluripotentnost lečnih epitelnih celic, ki imajo značilnosti zarodnih celic, je ključnega pomena za regeneriranje očesne leče. *Ex vivo* kulture človeških lečnih epitelnih celic lahko služijo kot model za testiranje različnih fizičnih in farmakoloških učinkov za spodbujanje ali zaviranje rasti. Funkcionalnost celic in odgovori na različna draženja se lahko proučujejo z analizo znotraj in zunaj-celične  $Ca^{2+}$  signalizacije. Spodbujanje rasti lečnih epitelnih celic je pomembno pri obnovi leče po operaciji prirojene sive mreže, medtem ko je zaviranje rasti pomembno za preprečevanje razvoja PCO.

## Literatura

1. Fan X, Monnier VM, Whitson J. Lens glutathione homeostasis: Discrepancies and gaps in knowledge standing in the way of novel therapeutic approaches. *Experimental Eye Research*. 2016.
2. Danysh BP, Duncan MK. The lens capsule. *Experimental Eye Research*. 2009;88(2):151–64.
3. McNulty R, Wang H, Mathias RT, Ortwerth BJ, Truscott RJW, Bassnett S. Regulation of tissue oxygen levels in the mammalian lens. *The Journal of Physiology*. 2004;559(3):883–98.
4. Duncan G, Wang L, Neilson GJ, Wormstone IM. Lens Cell Survival after Exposure to Stress in the Closed Capsular Bag. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2007;48(6):2701.
5. Apple DJ, Solomon KD, Tetz MR, Assia EI, Holland EY, Legler UFC, et al. Posterior capsule opacification. *Survey of Ophthalmology*. 1992;37(2):73–116.
6. Hiles DA, Johnson BL. The role of the crystalline lens epithelium in postpseudophakos membrane formation. *American Intra-Ocular Implant Society Journal*. 1980;6(2):141–7.
7. McDonnell PJ, Green WR, Maumenee AE, Iliff WJ. Pathology of Intraocular Lenses in 33 Eyes Examined Postmortem. *Ophthalmology*. 1983;90(4):386–403.
8. Roy FH. After-cataract: clinical and pathologic evaluation. *Ann Ophthalmol*. 1971;13(12):1364–6.
9. Lauffenburger DA, Horwitz AF. Cell Migration: A Physically Integrated Molecular Process. *Cell*. 1996;84(3):359–69.
10. Wormstone IM, Wang L, Liu CSC. Posterior capsule opacification. *Experimental Eye Research*. 2009;88(2):257–69.
11. Wormstone IM, Wang L, Liu CSC. Posterior capsule opacification. *Experimental Eye Research*. 2009;88(2):257–69.
12. Awasthi N. Posterior Capsular Opacification. *Archives of Ophthalmology*. 2009;127(4):555.
13. McDonnell PJ, Zarbin MA, Green WR. Posterior Capsule Opacification in Pseudophakic Eyes. *Ophthalmology*. 1983;90(12):1548–53.
14. Saika S. Relationship between posterior capsule opacification and intraocular lens biocompatibility. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2004;23(3):283–305.
15. Lin H, Ouyang H, Zhu J, Huang S, Liu Z, Chen S, et al. Lens regeneration using endogenous stem cells with gain of visual function. *Nature*. 2016;531(7594):323–8.
16. Gogate P, Kalua K, Courtright P. Blindness in Childhood in Developing Countries: Time for a Reassessment? *PLoS Medicine*. 2009;6(12):e1000177.
17. Lovicu FJ, Shin EH, McAvoy JW. Fibrosis in the lens. Sprouty regulation of TGF $\beta$ -signaling prevents lens EMT leading to cataract. *Experimental Eye Research*. 2016;142:92–101.
18. Tiwari A, Ram J, Luthra-Guptasarma M. Targeting the fibronectin type III repeats in tenascin-C inhibits epithelial-mesenchymal transition in the context of posterior capsular opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;56(1):272–83.
19. Zhao G, Wojciechowski MC, Jee S, Boros J, McAvoy JW, Lovicu FJ. Negative regulation of TGF $\beta$ -induced lens epithelial to mesenchymal transition (EMT) by RTK antagonists. *Experimental Eye Research*. 2015;132:9–16.
20. Dawes LJ, Duncan G, Wormstone IM. Age-Related Differences in Signaling Efficiency of Human Lens Cells Underpin Differential Wound Healing Response Rates following Cataract Surgery. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013;54(1):333.
21. Guggenmoos-Holzmann I, Engel B, Henke V, Nannemann GO. Cell density of human lens epithelium in women higher than in men. *Invest. Ophthalmol Vis Sci*. 1989;30(2):330–2.

22. Wu JJ, Wu W, Tholozan FM, Saunter CD, Girkin JM, Quinlan RA. A dimensionless ordered pull-through model of the mammalian lens epithelium evidences scaling across species and explains the age-dependent changes in cell density in the human lens. *Journal of The Royal Society Interface*. 2015;12(108):20150391.
23. Zhao G, Wojciechowski MC, Jee S, Boros J, McAvoy JW, Lovicu FJ. Negative regulation of TGF $\beta$ -induced lens epithelial to mesenchymal transition (EMT) by RTK antagonists. *Experimental Eye Research*. 2015;132:9–16.
24. Shi Y, De Maria A, Lubura S, Iki H, Bassnett S. The Penny Pusher: A Cellular Model of Lens Growth. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014;56(2):799–809.
25. Rakic J-M, Galand A, Vrensen GFJM. Separation of Fibres from the Capsule Enhances Mitotic Activity of Human Lens Epithelium. *Experimental Eye Research*. 1997;64(1):67–72.
26. Andjelić S, Zupančič G, Perovšek D, Robič T, Hawlina M. Anterior lens capsule as a tool to study the physiology of human lens epithelial cells. *Zdrav Vestn / Slovenian Medical Journal* 2010;79:I-123–30.
27. Andjelić S, Drašlar K, Lumi X, Yan X, Graw J, Facskó A, et al. Morphological and proliferative studies on ex vivo cultured human anterior lens epithelial cells—relevance to capsular opacification. *Acta Ophthalmologica*. 2015;93(6):e499–e506.
28. Andjelic S, Lumi X, Veréb Z, Josifovska N, Facskó A, Hawlina M, et al. A Simple Method for Establishing Adherent Ex Vivo Explant Cultures from Human Eye Pathologies for Use in Subsequent Calcium Imaging and Inflammatory Studies. *Journal of Immunology Research*. 2014;2014:1–10.
29. Andjelic S, Drašlar K, Hvala A, Lopic N, Strancar J, Hawlina M. Anterior lens epithelial cells attachment to the basal lamina. *Acta Ophthalmologica*. 2015;94(3):e183–e8.
30. Andjelic S, Drašlar K, Hvala A, Hawlina M. Anterior lens epithelium in intumescent white cataracts—scanning and transmission electron microscopy study. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2015;254(2):269–76.
31. Andjelic S, Drašlar K, Hvala A, Hawlina M. Anterior lens epithelium in cataract patients with retinitis pigmentosa—scanning and transmission electron microscopy study. *Acta Ophthalmologica*. 2015;93:n/a–n/a.
32. Gosak M, Markovič R, Fajmut A, Marhl M, Hawlina M, Andjelić S. The Analysis of Intracellular and Intercellular Calcium Signaling in Human Anterior Lens Capsule Epithelial Cells with Regard to Different Types and Stages of the Cataract. *PloS one*. 2015;10(12):e0143781.
33. Andjelić S, Zupančič G, Perovšek D, Hawlina M. Human anterior lens capsule epithelial cells contraction. *Acta Ophthalmologica*. 2011;89(8):e645–53.
34. Arnold K, Sarkar A, Yram Mary A, Polo Jose M, Bronson R, Sengupta S, et al. Sox2+ Adult Stem and Progenitor Cells Are Important for Tissue Regeneration and Survival of Mice. *Cell Stem Cell*. 2011;9(4):317–29.
35. Recek N, Andjelić S, Hojnik N, Filipič G, Lazovič S, Vesel A, et al. Microplasma Induced Cell Morphological Changes and Apoptosis of Ex Vivo Cultured Human Anterior Lens Epithelial Cells – Relevance to Capsular Opacification. *PloS one*. 2016;11(11):e0165883.