

Ultraestructura de la cápsula anterior del cristalino en diversas patologías

Jaime Lozano-Alcázar,* Hilda Villegas-Castrejón,** Lilia Solís-Arrieta,**
Jaime Macías-Martínez,* Leticia Arroyo-Muñoz*

Resumen

Objetivo: Comparar el análisis ultraestructural de cápsulas de cristalinos transparentes (facorrefractivas) con algunos tipos de catarata, así como cataratas seniles con tinción transquirúrgica.

Material y métodos: Las porciones de cápsula anterior se obtuvieron por capsulorrexis circular continua durante procedimientos de facoemulsificación. Todas las muestras fueron fijadas y procesadas con técnica convencional para análisis por microscopía de luz y microscopía electrónica de transmisión.

Resultados: 17 cápsulas de cristalino fueron agrupadas en facorrefractiva ($n = 2$), catarata senil ($n = 3$), catarata senil diabética ($n = 3$), catarata con pseudoexfoliación ($n = 3$), teñida con azul tripano ($n = 2$), con verde de indocianina ($n = 2$) y violeta de genciana ($n = 2$). Conforme al análisis morfológico, todas las cataratas mostraron zonas lacunares entre las células epiteliales. Se encontraron cuerpos anulares filamentosos cerca del epitelio en las cápsulas de cataratas seniles. Las muestras procedentes de pacientes con catarata diabética evidenciaron una morfología del epitelio con mayores anomalías que las otras, y una conformación de dos o tres estratos de células epiteliales. Las muestras teñidas con azul tripano tuvieron una membrana basal regular y menos pérdida de células epiteliales que las otras muestras de tinción transquirúrgica.

Conclusiones: A nuestro entender, éste es el primer reporte de observación de cuerpos anulares filamentosos en las cápsulas de cataratas seniles. Resalta la presencia de estratificación del epitelio en el polo anterior de cataratas seniles diabéticas.

Palabras clave: Ultraestructura de la cápsula del cristalino, tinción capsular, pseudoexfoliación, catarata, diabetes.

Summary

Background: We undertook this study to compare the ultrastructural analysis of capsules of normal lenses (phacorefractive procedures) and those of other types of cataracts also such as senile cataracts, with transsurgical staining.

Methods: Capsule samples were obtained by continuous circular capsulorhexis during phacoemulsification procedures. All samples were fixed and conventionally processed for light- and transmission-electron microscopy analysis.

Results: Seventeen analyzed samples were grouped as follows: phacorefractive ($n = 2$), senile cataract ($n = 3$), senile diabetic ($n = 3$), pseudoexfoliation syndrome ($n = 3$), stained with trypan blue ($n = 2$), indocyanine green ($n = 2$), and gentian violet ($n = 2$). According to morphological analysis, all samples of cataract demonstrated lacunae zones between epithelial cells. Filamentous annular bodies were found near the epithelium in capsule of senile cataracts. Senile diabetic cataract samples showed more abnormalities in epithelial morphology; specifically we found conformation of two or three layers of epithelial cells. Samples stained with trypan blue showed a regular basal membrane and minor loss of epithelial cells than other trans-surgical stain techniques.

Conclusions: After an exhaustive medical literature search, we published the first report about the observation of filamentous annular bodies near the epithelium in capsules of senile cataracts. Additionally, it is important to note the presence of stratification of the epithelium at the anterior pole of capsules from diabetic patients.

Key words: Lens capsule ultrastructure, dye-stained lens capsule, pseudoexfoliation, cataract, diabetes.

Introducción

En el ojo, el cristalino está cubierto por una cápsula altamente refráctil. Al microscopio electrónico, la cápsula se observa como una capa gruesa homogénea de 11 a 18 micras de espesor, más gruesa en las regiones intermedias anterior y posterior y más delgada en el polo posterior. La superficie interna de la cápsula está en contacto directo con la base de las células epiteliales y se considera su membrana basal, la más gruesa del organismo.¹⁻⁵ Este epitelio se compone de una sola capa de células cúbicas que

* Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz, Departamento de Segmento Anterior.

** Instituto Nacional de Rehabilitación, Servicio de Morfología Celular y Molecular.

Solicitud de sobretiros:

Jaime Lozano-Alcázar, Fundación Hospital de Nuestra Señora de la Luz, Ezequiel Montes 135, Col. Tabacalera. México, D. F. Tel.: 5128 1140. E-mail: drjaimelozano@gmail.com

Recibido para publicación: 18-04-2006

Aceptado para publicación: 29-01-2007

gradualmente se van haciendo más altas. Al microscopio electrónico, las células epiteliales están unidas por *zonulae occludens* en sus superficies laterales subapicales; las uniones estrechas se localizan en la parte apical y lateral, éstas dividen a la membrana plasmática de las células epiteliales. En su citoplasma, las células epiteliales contienen mitocondrias, ribosomas libres, retículo endoplásmático rugoso escaso y el núcleo es redondeado con cromatina granular.

La cápsula es sintetizada en mayor parte por las células epiteliales ecuatoriales. En trabajos de experimentación con animales se ha informado que la síntesis de la cápsula del cristalino se deposita inicialmente cerca de la terminación basal de las células epiteliales, de tal manera que se va acumulando en forma de láminas que crecen hacia fuera y posteriormente van engrosando. Es permeable a los componentes de bajo peso molecular y restringe el movimiento de los materiales coloidales de mayor tamaño.³ Proporciona un sitio de anclaje para la zónula.

El principal componente de la cápsula es el colágeno tipo IV,^{1,3,6,7} que es una familia de seis polipéptidos, encontrando los subtipos α -3 y α -4 hasta la edad adulta.^{6,7} Otros componentes minoritarios son los glucosaminoglicanos en 10 %. También se ha informado la presencia de otros elementos como laminina, entactina, fibrilina, proteoglicanos, heparán sulfato, la proteína secretada ácida rica en cisteína (SPARC), perlecán, trombospondina-1, fibronectina y tenacita.⁸⁻¹⁰ Algunas de estas proteínas no son componentes estructurales, pero se ha relacionado su ausencia con anomalías estructurales del cristalino.¹¹ La laminina se encuentra en cantidades variables como componente de la fibronectina, y la actina está en toda la superficie de la cápsula. Los filamentos de actina e integrinas están conectados directamente con la membrana basal dándole un soporte elástico.^{3,7}

El cristalino no está innervado y es avascular, por esta condición morfológica puede ser removido del ojo sin ninguna contaminación de otro tipo celular.

Cualquier opacidad del cristalino se conoce como catarata, es la causa de pérdida visual más frecuente y los factores desencadenantes de este padecimiento son enfermedades metabólicas, trastornos nutricionales, factores genéticos, toxicidad medicamentosa, inflamaciones oculares, factores intrínsecos desconocidos, etcétera. Cuando se conoce la causa se denomina catarata secundaria. Con mucho, lo más común es encontrar la catarata en sujetos de cierta edad; sin que pueda atribuirse la opacidad a una etiología determinada, se denomina entonces *catarata senil*. No existe una edad convencionalmente aceptada para aplicar este término, pues mientras algunos autores la llaman senil desde la quinta década, otros lo usan solamente en mayores de 60 años; cuando la opacidad aparece en un paciente de menor edad a la de ese límite arbitrario y no se identifica a qué es secundaria, se denomina *catarata presenil*.

El diabético llega a presentar cataratas con más frecuencia que los no diabéticos. La verdadera catarata diabética metabólica, con características topográficas definidas, es rara, se suele

presentar en el diabético tipo 1 mal controlado. En el diabético tipo 2 lo que se observa con frecuencia es una catarata con características topográficas indistintas de la senil, sólo que a edades más tempranas y de evolución más rápida; se denomina *catarata senil diabética*. En cualquier tipo de catarata el tratamiento es quirúrgico.

Actualmente es cotidiana la realización de cirugías refractivas (para compensar ametropías); en los miopes altos se suele efectuar la llamada *facorrefractiva*, en la que se hace una cirugía del todo igual a la de catarata, teniendo el cristalino transparente, para implantar un lente intraocular que compense la ametropía.

La *pseudoexfoliación* es un síndrome relativamente frecuente que se caracteriza por producción anormal de un material extracelular fibrilar en los tejidos que cubren las cámaras anterior y posterior del ojo; a menudo está asociada con cataratas, glaucoma y tiene también manifestaciones sistémicas.

La tinción de la cápsula anterior del cristalino con algún colorante facilita en las cataratas blancas y maduras con un reflejo de fondo pobre, la técnica de capsulorrexis circular continua que se practica durante la facoemulsificación;^{12,13} la tinción también se puede aplicar en la capsulorrexis posterior en catarata congénita.^{14,15} Los colorantes más utilizados actualmente para este procedimiento son el azul tripano,^{13,15,16} el verde de indocianina,^{15,17} la violeta de genciana —con pocos reportes— y la fluoresceína o sangre.^{16,18-20} El cirujano percibe que la tinción transquirúrgica modifica la elasticidad y resistencia de la cápsula a la capsulorrexis circular continua. Buscando algún cambio estructural que explicara este fenómeno, decidimos incluir en este estudio algunas cápsulas teñidas.

El objetivo de este trabajo es estudiar y comparar la ultraestructura de la cápsula del cristalino normal (facorrefractiva) con la de cataratas senil, senil diabética y con pseudoexfoliación, y el efecto de tinciones con azul tripano, verde de indocianina y violeta de genciana.

Material y métodos

Se realizó estudio prospectivo, comparativo, descriptivo y observacional. Durante el procedimiento quirúrgico realizado en la Fundación Nuestra Señora de la Luz, posterior al llenado de la cámara anterior del ojo con viscoelástico dispersivo (hialuronato de sodio y condroitín sulfato), se inició la capsulorrexis circular continua con cistitomo, para luego completarla y retirar el fragmento de cápsula anterior con pinza de Utrata para proceder a su conservación y estudio morfológico; se continuó luego con la facoemulsificación. Sin consideración en cuanto al sexo del paciente, se tomaron muestras en ojos con cristalino normal (facorrefractivas), con cataratas seniles, seniles diabéticas y con pseudoexfoliación. Otras cápsulas de catarata senil se teñieron en el transoperatorio con azul tripano (1.5 %), con verde de indocianina (0.5 %) y con violeta de genciana (2 %), sumando 17 cápsulas.

Las tinciones capsulares con azul tripano y verde de indocianina se hicieron con las concentraciones convencionales, con la técnica quirúrgica conocida como de "concha suave".^{21,22} Aproximadamente a los 10 segundos de la instilación del colorante con una cánula 27 g, se aspiró éste con la pieza de mano de irrigación/aspiración y se procedió a la capsulorrexis circular continua.

En las tinciones con violeta de genciana, luego del llenado de la cámara anterior con el viscoelástico, se frotó la cápsula anterior con un papel filtro impregnado con el colorante y se realizó luego la capsulorrexis circular continua.

Las edades de los pacientes sometidos a cirugía facorretractiva oscilaron entre 36 y 40 años; aquellos con catarata senil, entre 65 y 91 años; senil diabética, entre 53 y 55 años (todos con ocho a 10 años del diagnóstico del trastorno metabólico y bajo tratamiento con hipoglucemiantes orales); con pseudoexfoliación, entre 62 y 84 años; los pacientes con cataratas teñidas con azul de tripano, entre 67 y 81 años; con verde de indocianina, entre 76 y 86 años; con violeta de genciana, entre 75 y 81 años.

En todos se recabó el consentimiento informado para el procedimiento quirúrgico.

Las biopsias obtenidas para estudio con microscopía electrónica de transmisión, se fijaron en glutaraldehído bufferado a 2.5 %; posteriormente se posfijaron en tetraóxido de osmio (OsO_4) a 1 % en buffer de fosfatos. La deshidratación se llevó a cabo con alcohol en concentraciones ascendentes hasta 100 %. La inclusión se hizo en resina. Se realizaron cortes semifinos de una micra para su observación con microscopía óptica y selección de campos, y luego se realizaron cortes finos para el microscopio electrónico, los cuales se contrastaron con uranilo y plomo. Las observaciones de los cortes finos se realizaron en microscopio electrónico de transmisión Tecnai 10 Philips, del Instituto Nacional de Rehabilitación.

Resultados

Se estudiaron 17 cápsulas: dos de cirugía facorretractiva (controles), tres de catarata senil, tres de catarata senil diabética, tres de catarata con pseudoexfoliación, dos teñidas con azul tripano, dos con verde de indocianina y dos con violeta de genciana, por medio de microscopía óptica y microscopía electrónica de transmisión.

Al observar con microscopía electrónica las cápsulas obtenidas mediante cirugía facorretractiva, no se encontraron alteraciones morfológicas relevantes, siendo los hallazgos en epitelio y cápsula semejantes a los clásicamente reportados en la literatura.

En las cataratas seniles, con microscopía electrónica de transmisión se identificó una monocapa de células epiteliales fusiformes, con lagunas de diversos tamaños localizadas entre los márgenes laterales de las células adyacentes y presencia de procesos celulares de las células vecinas; los núcleos se localizaron en la zona apical con envoltura nuclear bien definida, algunos de ellos picnóticos. En el citoplasma se observaron mitocondrias de di-

ferentes tamaños, aparato de Golgi abundante y cisternas dilatadas de retículo endoplasmático rugoso, con algunos ribosomas libres y grandes vacuolas. Además, se encontró depósito de material denso en el borde libre epitelial. La membrana basal fue de grosor homogéneo, en algunas zonas emitió proyecciones papilares hacia el epitelio, integradas por filamentos intermedios ordenados, constituidos probablemente de colágena, con la presencia de cuerpos filamentosos que formaron anillos localizados en las zonas inmediatas al epitelio, los cuales no se identificaron en las cataratas seniles diabéticas y con pseudoexfoliación (figuras 1 y 2).

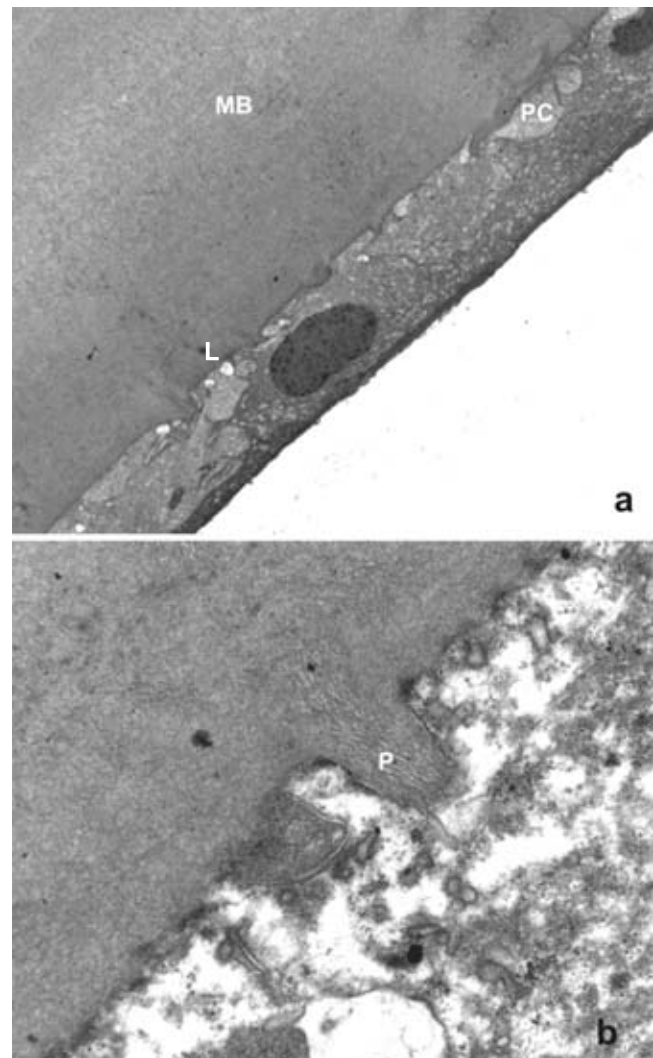


Figura 1. En catarata senil, por microscopía electrónica de transmisión se observó lo siguiente: a) Un epitelio en monocapa con lagunas (L) en las zonas laterales celulares y procesos celulares (PC) de las células vecinas. La membrana basal (MB) fue homogénea. b) La membrana basal presentó proyecciones papilares (P) hacia el epitelio constituido por filamentos intermedios.

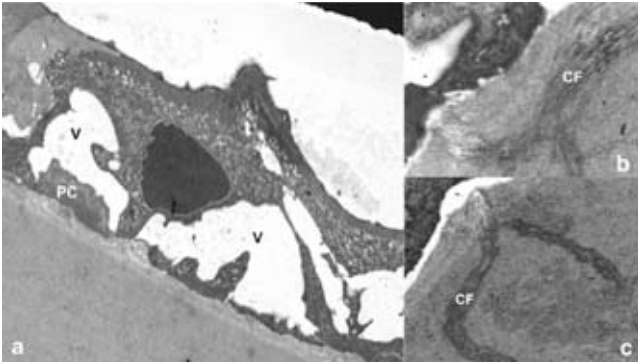


Figura 2. Catarata senil: a) Células epiteliales fusiformes, unidas a la membrana basal sólo por procesos celulares (PC), grandes vacuolas intracitoplasmáticas (V). b y c) La membrana basal presenta cuerpos filamentosos (CF) que forman anillos localizados en las zonas inmediatas al epitelio.

En las cataratas seniles diabéticas, el epitelio se encontró dispuesto en tres capas de diferentes formas celulares. En la capa cercana a la cápsula, las células eran cúbicas, bien preservadas, con los organitos membranosos característicos. En la segunda capa, las células fueron altas, hialinizadas y con núcleos en picnosis y cariorrexis. En la tercera capa eran cúbicas con organitos membranosos apicales dañados (figura 3a); también había abundantes vacuolas basales y procesos celulares de diferentes densidades, algunos de los cuales contenían cuerpos fagocíticos y células en lisis. En el borde libre se presentó material granular denso (figura 3b). Fueron las cataratas con registro de mayor daño epitelial de todas las biopsias estudiadas. Por microscopía electrónica de transmisión se encontró que la cápsula —engrosada— no fue homogénea en espesor y densidad.

En las cataratas con pseudoexfoliación, por microscopía electrónica de transmisión se encontró epitelio conformado por una sola capa de células cúbicas con uniones uniformes y núcleos bien conservados. Una membrana basal homogénea, unida a las células epiteliales, con el esperado material extracelular agregado en su superficie externa (figura 4).

Las biopsias teñidas con azul tripano mostraron lagunas intercelulares pequeñas, y una de ellas con dos zonas celulares, la primera con células cúbicas con vacuolas intracitoplasmáticas, núcleos regulares y distribución homogénea de organitos membranosos intracitoplasmáticos; la segunda zona presentó células fusiformes, con pérdida del material intracitoplasmático. La membrana basal o cápsula sin alteraciones aparentes (figura 5).

En las muestras teñidas con verde de indocianina observadas por microscopía óptica se encontró una monocapa de células epiteliales fusiformes, hialinizadas, y zonas con ausencia total de las células. En las imágenes de ultraestructura, las células epiteliales contenían pocos organitos celulares y vacuolización importante en la región basal. La cápsula, sin datos relevantes (figura 6).

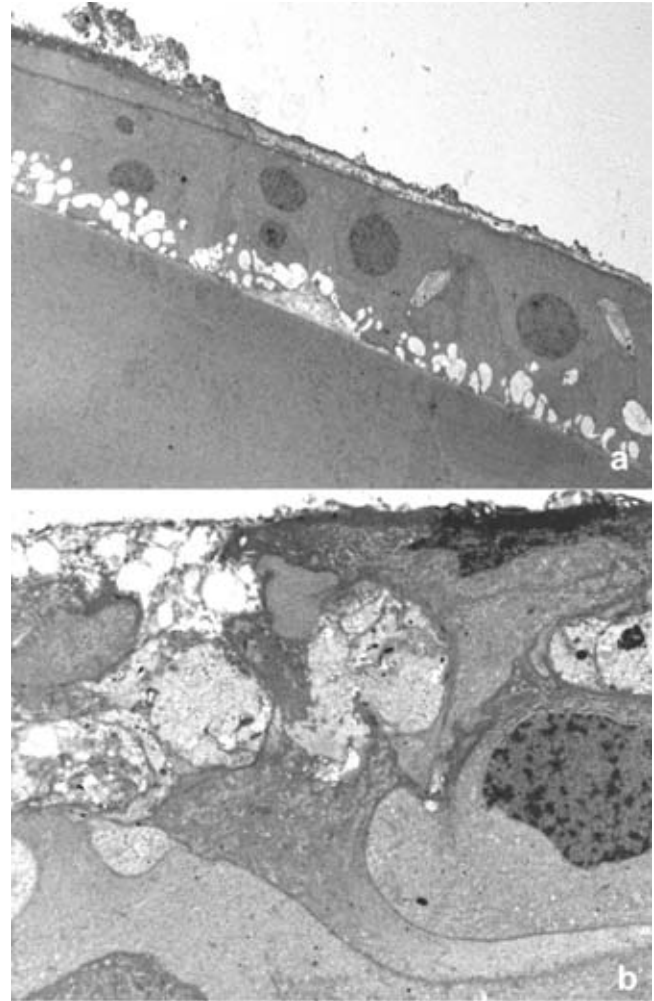


Figura 3. Catarata senil diabética: a) El epitelio semeja ser estratificado, constituido por células cúbicas con organitos membranosos apicales, los cuales están dañados. b) Abundantes vacuolas basales y procesos celulares de diferentes densidades, algunos de los cuales contienen cuerpos fagocíticos y células en lisis. En el borde libre se presentó material granular denso.

Las cápsulas teñidas con violeta de genciana mostraron una monocapa de células epiteliales con pérdida celular, núcleos pequeños y compactos, citoplasma vacuolado y denso, con algunas zonas sin uniones celulares y la membrana basal homogénea.

Discusión

En la catarata senil y senil diabética, el epitelio en su parte basal presentó formación de lagunas localizadas entre célula y célula; en el citoplasma se identificaron pequeñas vacuolas, perdiéndose la morfología y organización. La vacuolización y la forma-

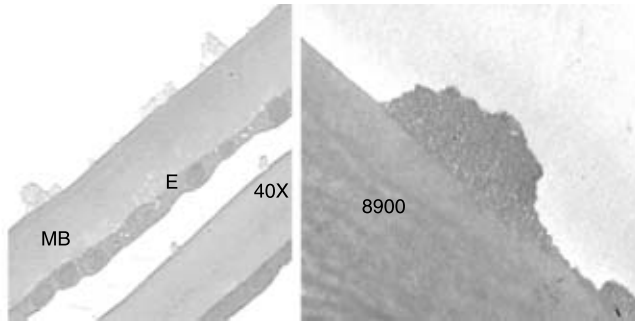


Figura 4. En catarata con pseudoexfoliación, el epitelio (E) se encontró formado por una sola capa de células cúbicas, núcleos conservados y membrana basal (MB) homogénea (40 X). El depósito de material característico (8900 X).

ción de las lagunas antes mencionadas modifica la organización y la relación entre el epitelio y la cápsula, lo que ocasiona alteración en la producción de las diferentes proteínas como SPARC, que interactúa con diferentes moléculas de la matriz extracelular, perdiéndose la relación entre los diferentes componentes que determinan la ultraestructura y función de la membrana basal. La síntesis deficiente de SPARC y el consecuente desbalance químico altera la proliferación y adherencia celular, así como la producción de la matriz extracelular favoreciendo un proceso de cataratogénesis.^{8,23}

En los casos de diabetes mellitus con catarata se ha descrito que la laminina presenta una distribución anormal, específicamente laminina 1 y 10, produciendo alteraciones en la expresión de la fibronectina, proteoglicanos y algunas integrinas, elementos que incrementan el grosor de la cápsula.²⁴

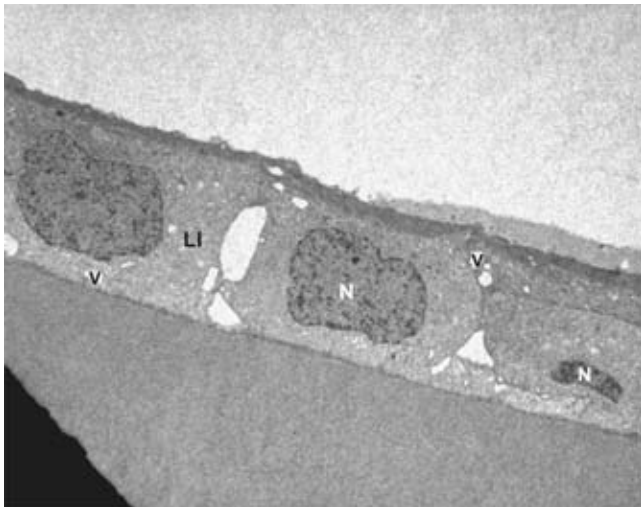


Figura 5. Las biopsias teñidas con azul de tripano presentaron regularidad en la membrana basal, con células cúbicas, lagunas intercelulares (LI), vacuolas (V) intracitoplasmáticas pequeñas, núcleos (N) regulares.

En este trabajo se encontró que en la catarata senil la cápsula presentaba elementos fibrilares con una distribución regular, formando proyecciones focales de tipo papilar o arreglos circulares, siendo éste un hallazgo ultraestructural que no hemos encontrado reportado en la literatura. Suponemos que estos elementos fibrilares pueden corresponder a polipéptidos de las subunidades α -3 y α -4 de la colágena IV que intervienen en la acomodación,¹⁹ o bien, pueden ser un depósito anormal de proteínas y proteoglicanos. Elamar y colaboradores²⁵ realizaron trabajos en ratones transgénicos con catarata, encontrando una sobreexpresión de endostatina, con aparente engrosamiento de la cápsula con proyecciones de la lámina densa.

En las cataratas seniles diabéticas, los datos degenerativos de las células epiteliales (fusiformes, con lagunas, vacuolas y picnosis) fueron mucho más marcados que en las otras cataratas, sugiriendo, como es aparente en la clínica, que el diabético sufre un proceso de senilidad más rápido. Recordemos que los pacientes estudiados con catarata senil tenían entre 65 y 91 años, mientras que los de senil diabética, entre 53 y 55 años. Siendo característico que el epitelio del cristalino sea una monocapa, llamó la atención que estas cataratas mostraran una hilera doble y hasta triple de células epiteliales en el área central de la cápsula, con características morfológicas peculiares a cada estrato, lo que podría significar que en el diabético se encuentra alterado el proceso vital de las células del epitelio cristalino, de tal manera que se forman nuevas células antes de que las precedentes avancen lo suficiente en su transformación a fibras; por otro lado, la presencia de estratos celulares permite inferir una mayor actividad metabólica que la que tradicionalmente se le atribuye a esa zona.

En las cataratas con pseudoexfoliación, el epitelio presentó núcleos con una cromatina condensada y pequeñas vacuolas en el citoplasma, y en el exterior de la cápsula se encontró, como era de esperar, depósito de un material granular o fibrilar; algunos autores proponen que éste puede estar compuesto por glucosami-

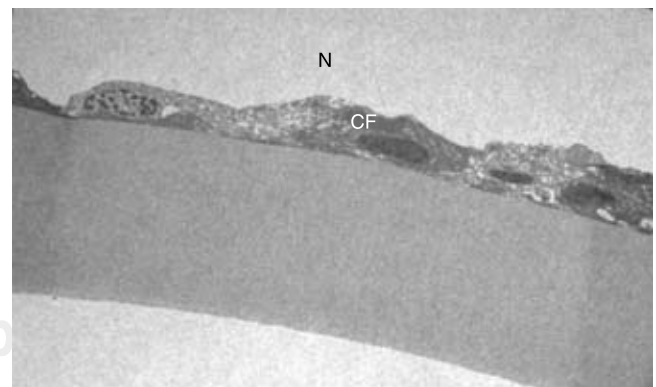


Figura 6. En las cápsulas teñidas con verde de indocianina se encontró una monocapa de células epiteliales fusiformes (CF), vacuoladas y membrana basal homogénea.

noglicanos^{26,27} producto de varios tipos de células, como las del epitelio pigmentario del iris, epitelio ciliar y endotelio corneal. Recientemente se ha reportado que el factor de crecimiento transformante beta-1 del humor acuoso se encuentra elevado, y que la disminución de metaloproteinasas tipo 9 está relacionada con la regulación de la actividad proteolítica, permitiendo probablemente el depósito de este material granular.²⁸ Otra hipótesis es el incremento del factor de crecimiento fibroblástico, que ha sido propuesto como un elemento fibrótico en los casos de pseudoexfoliación.^{29,30}

En este trabajo se manejaron tres colorantes: azul tripano, verde de indocianina y violeta de genciana. En la literatura se menciona que algunos tintes son inapropiados para la cirugía de catarata, como el violeta de genciana y el azul de metileno, ya que causan edema corneal posoperatorio producido por toxicidad endotelial.^{12,31} Sin embargo, en la práctica quirúrgica se ha descrito, en reportes orales, el uso de violeta de genciana en faecoemulsificación, con buenos resultados. Parece ser que el azul tripano es el que más se ha empleado de manera exitosa y no se ha demostrado que sea tóxico.^{22,32}

Nosotros no tuvimos el hallazgo de alteraciones estructurales en las cápsulas teñidas que difirieran significativamente de lo encontrado en las cápsulas no teñidas de catarata senil. Desde luego es difícil diferenciar las alteraciones morfológicas del epitelio propias del proceso cataratoso, de las que se podrían haber agregado por el uso de los colorantes, que pudieran atribuirse incluso a fototoxicidad, aunque el tiempo que transcurrió entre la tinción y la fijación de la muestra fue muy corto; habría que sumar las eventuales alteraciones por manejo y conservación del tejido, aun con el cuidado que se tuvo.

En los casos teñidos con verde de indocianina y con violeta de genciana se encontraron zonas de cápsula carente de epitelio, tal vez por un mayor daño celular.

Coincidiendo con otros reportes,^{22,32} el colorante más apropiado en este estudio fue el azul tripano, ya que se encontró una membrana basal homogénea y células con organitos membranosos y no membranosos bien conservados, no se evidenciaron zonas de vacío endotelial, aunque llamó la atención la presencia de dos zonas celulares, una con mayores datos degenerativos. Este colorante a 1 % se ha determinado como uno de los mejores para realizar la capsulorhexis circular continua durante la cirugía de catarata, ya que no se le ha demostrado toxicidad, su cualidad de teñir pobremente al tejido bien hidratado hace que respete las fibras de la corteza del cristalino que tienen un alto contenido de agua y sólo tiñe la cápsula.³²⁻³⁴ Con ningún colorante encontramos daño aparente en la cápsula.

Conclusiones

Este estudio mostró como principales hallazgos ultraestructurales en la cápsula de las cataratas seniles, la formación de cuerpos

anulares filamentosos y lagunas en células adyacentes y, por otro lado, aspecto estratificado en el epitelio de las cataratas seniles diabéticas.

Naturalmente se necesitará el estudio de un mayor número de casos, correlación de edades, etcétera, para obtener resultados concluyentes.

Referencias

1. American Academy of Ophthalmology Basic and Clinical Science Course: Section 11, Lens and Cataract. 2001-2002: pp. 5-9.
2. Saraux H. Anatomía e histología del ojo. Barcelona: Masson;1985. pp. 157-166.
3. Paterson A, Delamere N. El cristalino. En Hart W, ed. Adler Fisiología del ojo. España: Mosby;1994. p. 354.
4. Matthews JL, Martin JH. Atlas de histología y ultraestructura humanas. Barcelona: Salvat;1974. pp. 310-321.
5. Sandborn E. Cells and tissues by light and electron microscopy. Vol I. New York: Academic Press;1970. p. 261.
6. Bernays M, Peiffer R. Morphologic alterations in the anterior capsule of canine eyes with cataracts. Am J Vet Res. 2000;61:1517-1519.
7. Schneider S, Osher R, Burk S, Lutz T, Montione R. Thinning of the anterior capsule associated with congenital aniridia. J Cataract Refract Surg 2003;29:523-525.
8. Qi Y, Sage EH. APARC, a matricellular glycoprotein with important biological functions. J Histochem Cytochem 1999;47:1495-1505.
9. Cammarata PR, Cantu-Crouch D, Oakford L, Morrill A. Macromolecular organization of bovine lens capsule. Tissue Cell 1986;18:83-97.
10. Mohan PS, Spiro RG. Macromolecular organization of basement membranes. J Biol Chem 1986;261:4328-4336.
11. Saika S, Miyamoto T, Ishida I, Obniski Y, Ooshima A. Osteopontin: a component of matrix in capsular opacification and subcapsular cataract. Investig Ophthalmol Visual Sci 2003;44:1622-1672.
12. Singh AJ, Sarodia UA, Brown L, Jagjivan R, Sampath R. A histological analysis of lens capsules stained with trypan blue for capsulorhexis in phacoemulsification cataract surgery. Eye 2003;17:567-570.
13. Dada T, Ray M, Bhartiya P, Vajpayee RB. Trypan blue assisted capsulorhexis for trainee phacoemulsification surgeons. J Cataract Refract Surg 2002;28:575-576.
14. Wakabayashi T, Yamamoto N. Posterior capsule staining and posterior continuous curvilinear capsulorhexis in congenital cataract. J Cataract Refract Surg 2002;28:2042-2044.
15. Sharma N, Gupta V, Vajpayee RB. Trypan blue assisted posterior capsule plaque removal. J Cataract Refract Surg 2002;28:916-917.
16. Horiguchi M, Nagata S, Yamamoto N, Kojima Y, Shimada Y. Kinetics of indocyanine green dye after intraocular surgeries using indocyanine green staining. Arch Ophthalmol 2003;121:327-331.
17. Fritz WL. Digital image analysis of trypan blue and fluorescein staining of anterior lens capsules and intraocular lenses. J Cataract Refract Surg 2002;28:1034-1038.
18. Pandey SK, Werner L, Escobar GM, Roig-Melo EA, Apple DJ. Dye-enhanced cataract surgery. Part 1: Anterior capsule staining for capsulorhexis in advanced white cataract. J Cataract Refract Surg 2000;26:1052-1059.
19. Kelley P, Sado Y, Duncan M. Collagen IV in the developing lens capsule. Matrix Biol 2002;21:415-423.
20. Kaan U, Ahmet A, Sevin S, Nihal K, Candan K, Meral E. Gentian violet solution for staining the anterior capsule. J Cataract Refract Surg 2000;26:1228-1232.

21. Melles GRT, Waard PWT, Pameyer JH, Beekhuis WH. Trypan blue capsule staining to visualize the capsulorhexis in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:7-9.
22. Horiguchi M, Miyake K, Ohta I, Ito Y. Staining of the lens capsule for circular continuous capsulorhexis in eyes with white cataracts. *Arch Ophthalmol* 1998;116:535-537.
23. Qi Y, Clark JJ, Wight NT, Sage HE. Alterations in the lens capsule contribute to cataractogenesis in SPARC-null mice. *J Cell Sci* 2002;115:2747-2756.
24. McLean SM, Mathew MR, Kelly JB, et al. Detection of integrins in human cataract lens epithelial cells and two mammalian lens epithelial cell lines. *Br J Ophthalmol* 2005;89:1506-1509.
25. Elamar H, Sormunen R, Rehn M, Soininen R, Pihlajaniemi T. Endostatin overexpression specifically in the lens and skin leads to cataract and ultrastructural alterations in basement membranes. *Am J Pathol* 2005;166:221-229.
26. Winkler Y, Lunsdorf H, Wirbelauer C, Reinhardt DP, Laqua H. Immunohistochemical and charge-specific localization of anionic constituents in pseudoexfoliation deposits on the central anterior lens capsule from individuals with pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239:952-960.
27. Zalewska R, Witold P, Smolenska-Janica D, et al. Loss of heterozygosity in patients with pseudoexfoliation syndrome. *Mol Vision* 2003;9:257-261.
28. Schlotzer-Schrehardt U, Zendel M, Kuchle M, Sakai LY, Naumann GO. Role of transforming growth factor-beta 1 and its latent form binding protein in pseudoexfoliation syndrome. *Exp Eye Res* 2001;73:765-780.
29. Ho SL, Dogar GF, Wang J, et al. Elevated aqueous humour tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and connective tissue growth factor in pseudoexfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol* 2005;89:169-173.
30. Schlotzer-Schrehardt U, Lommatzsch J, Kuchle M, Konstas AG, Naumann GO. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1117-1125.
31. Unlu K, Askünger A, Söker S, et al. Gentian violet solution for staining the anterior capsule. *J Cataract Refract Surg* 2000;26:1228-1232.
32. Chung CF, Liang CC, Lai JS, Lo ES, Lam DS. Safety of trypan blue 1 % and indocyanine green 0.5 % in assisting visualization of anterior capsule during phacoemulsification in mature cataract. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:938-942.
33. Horobin RW. The theory of staining and its practical implications. In: Bancroft JD, Stevens A, eds. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 4th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone;1996. pp. 81-98.
34. Van Doren BT, Beekhuis WH, Pels E. Biocompatibility of trypan blue with human corneal cells. *Arch Ophthalmol* 2004;122:736-742.