

Oftalmik Viskoelastik Maddelerin Kültür Ortamındaki İnsan Lens Epitel Hücrelerinin Davranışları Üzerine Etkisi♦

Sinan Emre (*), Önder Üretmen (*), İbrahim Tuğlu (**), Cezmi Akkın (***)

ÖZET

Amaç: Oftalmik viskoelastik maddelerin insan lens epitel hücrelerinin kültür ortamındaki davranışları üzerine etkisini incelemek.

Yöntem: Katarakt cerrahisi sırasında olgulardan alınan yuvarlak ön kapsül parçalarındaki lens epitel hücrelerinin bazal membrandan ayrılması sağlandıktan sonra hücreler viskoelastik madde ile kaplanmış ve kaplanmamış doku kültür tabaklarına konuldular. Kullanılan viskoelastik maddeler HEALON®, HEALON GV®, HEALON 5®, SYNERGE®, PROVISC® ve VISCOAT® idi. Dört ve 24 saat sonra tabaklara yapışmış olan hücre sayıları saptandı ve hücrelerin morfolojisi, çoğalması ve göç etmeleri gözlemlendi.

Bulgular: Lens epitel hücrelerinin viskoelastik kaplı kültür tabaklarına yapışma oranları kaplı olmayanlara göre hem 4 saatte hem de 24 saatte anlamlı derecede daha fazlaydı ($p < 0.05$). Yapışma oranı açısından viskoelastik maddeler arasında belirgin bir fark saptanmadı ($p > 0.05$). Bunun yanında, kültür tabaklarını viskoelastik madde ile kaplamanın hücrelerin morfolojisini de etkilediği gözlemlendi. Lens epitel hücrelerinin viskoelastik ile kaplı tabaklarda daha fazla yuvarlaklaştığı ve saçak yapma eğiliminde olduğu izlendi. Değişik viskoelastik madde kullanımının morfolojik paterni etkilemediği saptandı. Hiçbir kültür tabağında çoğalma veya göç etmeye ait işaret gözlenmedi.

Sonuç: Oftalmik viskoelastik maddeler kültür ortamındaki lens epitel hücrelerinin yapışmasını kolaylaştırmaktadır. Yapışmanın çoğalma, göç etme ve metaplazi için başlangıç noktası olduğu düşünüldüğünde, kapsül içerisinde kalan viskoelastik maddelerin arka kapsül opaklaşmasında rol oynadığı düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Lens epitel hücresi, oftalmik viskoelastik maddeler, arka kapsül opaklaşması

SUMMARY

The Effect of Ophthalmic Viscoelastic Devices on the Behaviour of Cultured Human Lens Epithelial Cells

Purpose: To investigate the effect of ophthalmic viscoelastic devices (OVD) on the behaviour of cultured human lens epithelial cells.

(*) Uz. Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir

(**) Yrd. Doç. Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa

(***) Doç. Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir

♦ Bu çalışma XXXV. TOD Ulusal Kongresi'nde (2001, İzmir) serbest bildiri olarak sunulmuştur.

Methods: Circular sections of the anterior capsules were obtained from patients during cataract surgery. After the lens epithelial cells had been dissociated from the basal membrane, they were placed in OVD coated or non-coated tissue culture dishes. The OVDs used were HEALON®, HEALON GV®, HEALON 5®, SYNERGEL®, PROVISC® and VISCOAT®. The number of cells attached to the dishes was counted at 4 hours and 24 hours. Morphology, proliferation and migration of the cells were also observed.

Results: The attachment rate of the lens epithelial cells was significantly more in the OVD coated dishes compared to non-coated ones both at 4 and 24 hours ($p < 0.05$). There was not any significant difference among various OVDs used regarding the attachment rate ($p > 0.05$). Furthermore, coating the dishes by OVDs affected the morphology of the cells. Lens epithelial cells were more rounded with spikes at the edge of the cytoplasm in OVD coated dishes compared to non-coated dishes. Using different viscoelastic materials did not make any difference in this morphologic pattern. We did not observe any signs of mitosis and migration in any of the culture dishes.

Conclusion: OVDs facilitate the attachment of lens epithelial cells in vitro. Considering that the attachment is the starting point for proliferation, migration and metaplasia, we could speculate that OVDs remained in the capsular bag might play a role in the development of posterior capsule opacification.

Key Words: lens epithelial cells, ophthalmic viscoelastic devices, posterior capsule opacification

GİRİŞ

Günümüzde modern katarakt cerrahisinin en sık komplikasyonlarından biri arka kapsül opaklaşmasıdır. Katarakt cerrahisi sonrası lens epitel hücrelerinin (LEH) kapsüle yapışmış olarak kalabildikleri bilinmektedir (1). Daha sonra bu hücreler çoğalmakta, göç etmekte ve metaplaziye uğrayıp fibroblastlara dönüşerek arka kapsül opaklaşmasına (AKO) yol açmaktadır (2).

Arka kapsül opaklaşmasını önlemek amacı ile geniş araştırmalar yapılmakta, değişik cerrahi modifikasyonlarla AKO insidansı azaltılmaya çalışılmaktadır (3,4). Cerrahi sırasında gelişen travmayı azaltmak, tüm lens materyalini temizlemek ve LEH göçünü sınırladığı düşünülen göz içi lensler (GİL) kullanmak bu çalışmalar arasında sayılabilir (5,6).

Ayrıca, aktif olarak çoğalan lens epitel hücrelerini diğer hayati önemi olan göz içi dokulara zarar vermeden pasifize edecek yeni farmakolojik ve immünolojik ajanlar üzerinde çalışmalar yapılmakta ve LEH çoğalmasının önlenildiği bildirilmektedir (7-9). Arka kapsül opaklaşmasını önlemede gelinen en son nokta LEH üzerindeki özel reseptörlere bağlanan monoklonal antikörlerin varlığıdır (10). Ancak, şu ana kadar klinik kullanıma geçmiş etkili, pratik ve güvenli bir yöntem bulunmamaktadır (11).

Oftalmik viskoelastik maddelerin (VEM) günümüz katarakt cerrahisinde geniş kullanım alanı vardır. Viskoelastiklerin cerrahi sırasındaki en önemli fonksiyonları ön kamaranın oluşturulması ve korneal endotelin korun-

masıdır (12). Ancak bu maddelerin cerrahi bitiminde gözden tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir. Aksi takdirde göz içi basınç artışları (13) veya kapsül blok sendromu (14) gelişebilmektedir.

Bildiğimiz kadarı ile viskoelastik ajanlarla lens epitel hücrelerinin etkileşimini ortaya koyan bir yayın bulunmamaktadır. Tamamen temizlenemeyen viskoelastiklerin lens epitel hücrelerinin karakteristik davranışlarını etkilemesi olasıdır. Bu çalışmada çeşitli viskoelastiklerin kültür ortamındaki lens epitel hücrelerinin davranışlarına etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

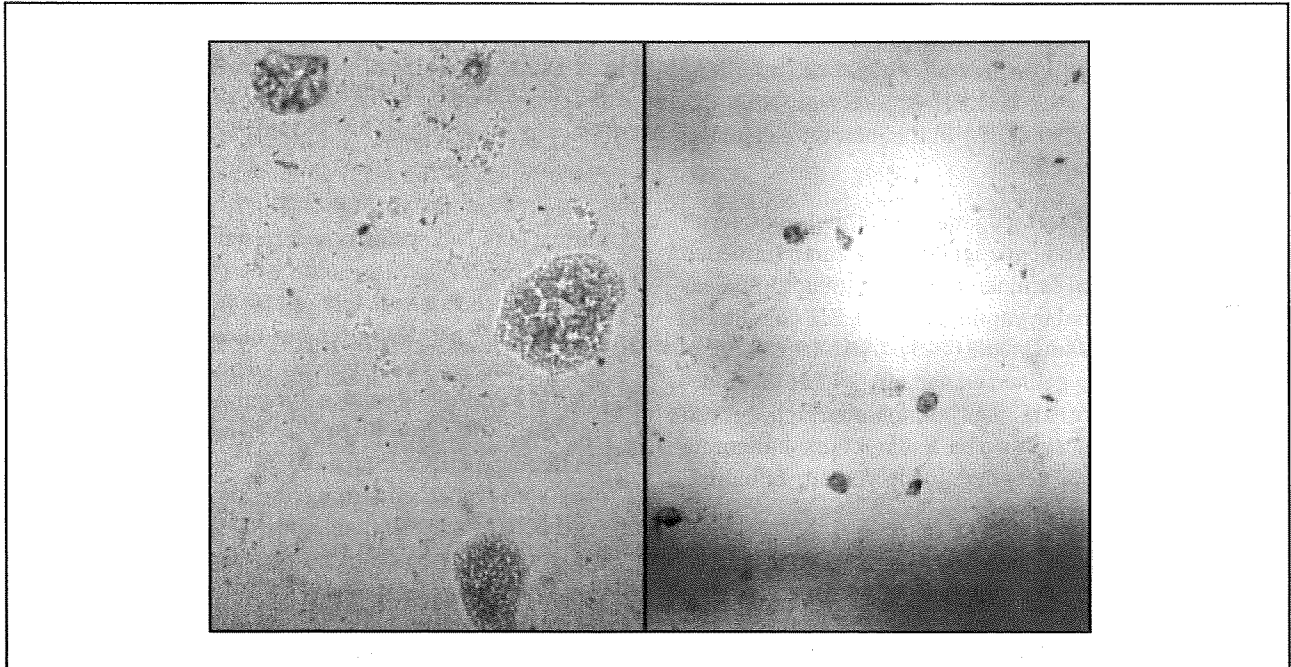
Lens epitel hücre kültürü için kullanılacak tüm örnekler insan gözlerinden alındı. Fakoemülsifikasyon ile katarakt cerrahisi geçiren olguların yuvarlak şekilde çıkarılan lens ön kapsülleri hemen steril dengeli tuz solüsyonuna (BSS Plus®) konuldu ve +4°C'de muhafaza edilerek en kısa zamanda laboratuara ulaştırıldı. Steril şartlarda kapsül parçalarından her biri +37°C'de serumuz M199 ortamına yerleştirilerek yıkandı. Lens epitel hücrelerini bazal membrandan ayırtmak amacıyla örnekler steril 0.1% (w/v) dispaz solüsyonu (GibcoBRL, Life Technologies, U.K.) veya 0.05% (w/v) tripsin/0.10 mM tetra-sodyum etilendiaminetetraasetik asit (T/EDTA) (GibcoBRL, Life Technologies, U.K.) solüsyonu içerisinde +37°C'de 15 dakika muhafaza edildi. Bu şekilde bazal membrandan ayrılan hücreler dakikada 900 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Üstteki sıvının atılmasından sonra +37°C'de %10'luk fetal sığır serumu içeren M199

ortamı içinde mekanik olarak pipetleterek ayrıştırıldı. Her bir kapsülden alınan hücrelerin tamamı içerisi değişik viskoelastik maddelerle kaplanmış veya boş plastik kültür tabaklarına bırakıldı. Plastik kültür tabaklarını kaplamada kullanılan viskoelastik maddeler HEALON® (sodium hyaluronate %1.0), HEALON GV® (sodium hyaluronate %1.4), HEALON 5® (sodium hyaluronate %2.3), SYNERGEL® (hydroxypropyl methylcellulose %2.0), PROVİSC® (sodium hyaluronate %1.0) ve VİSCOAT® (sodium hyaluronate %3.0- chondroitin sulphate %4.0) idi.

Kültür ortamına yerleştirme işleminden 4 saat sonra ortam değiştirilmeden ve 24 saat sonra ortam değiştirilmesi öncesi ve sonrasında hücre sayımı yapıldı. Sayım kültür tabaklarının arka yüzü 16 benzer kareye bölünerek gerçekleştirildi. Sonuçlar sayım yapılan zamandaki yaşamını sürdüren hücre sayısı, kültür sırasındaki ilk hücre sayısına oranlararak değerlendirildi. Ayrıca tabana yapışmış kalan, çoğalan veya göç ederek alan değiştiren hücre sayıları da incelendi. Bu işlemler için ters faz-kontrast ışık mikroskopu (Diaphot, Nikon, Japan) kullanıldı. Fotoğraflar kültür tabaklarının randomize seçilen bölümlerinden alındı. Tüm deneysel işlem en az üç kez tekrarlandı ve istatistiksel analizler için aynı özellikteki dört kültür tabağının ortalaması alındı.

İstatistiksel değerlendirme tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için p değerinin <0.05 olması şartı arandı.

Resim 1. Tripsin/EDTA ile yapılan ayrıştırma işleminde hücreler dejenere olarak ölürlen (sol resim), Dispazla yapılan işlem sonunda hücrelerin tabana yerleştiği ve yuvarlak bir şekil aldığı (sağ resim) izlendi

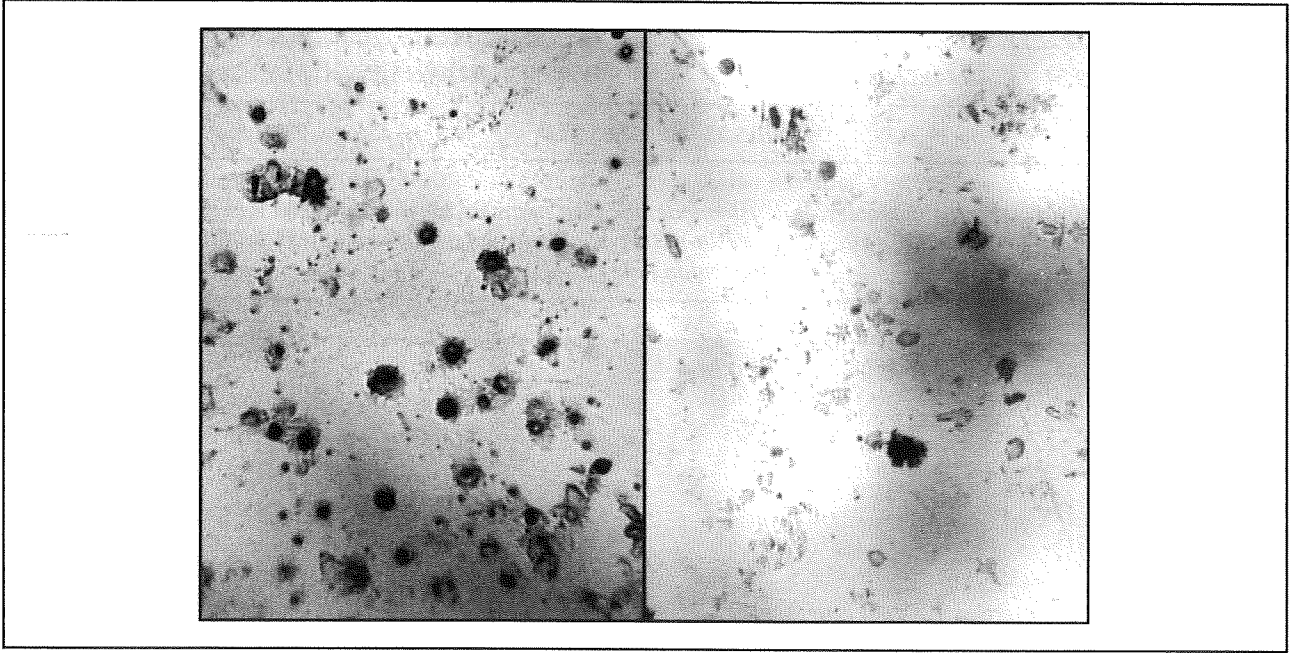


SONUÇLAR

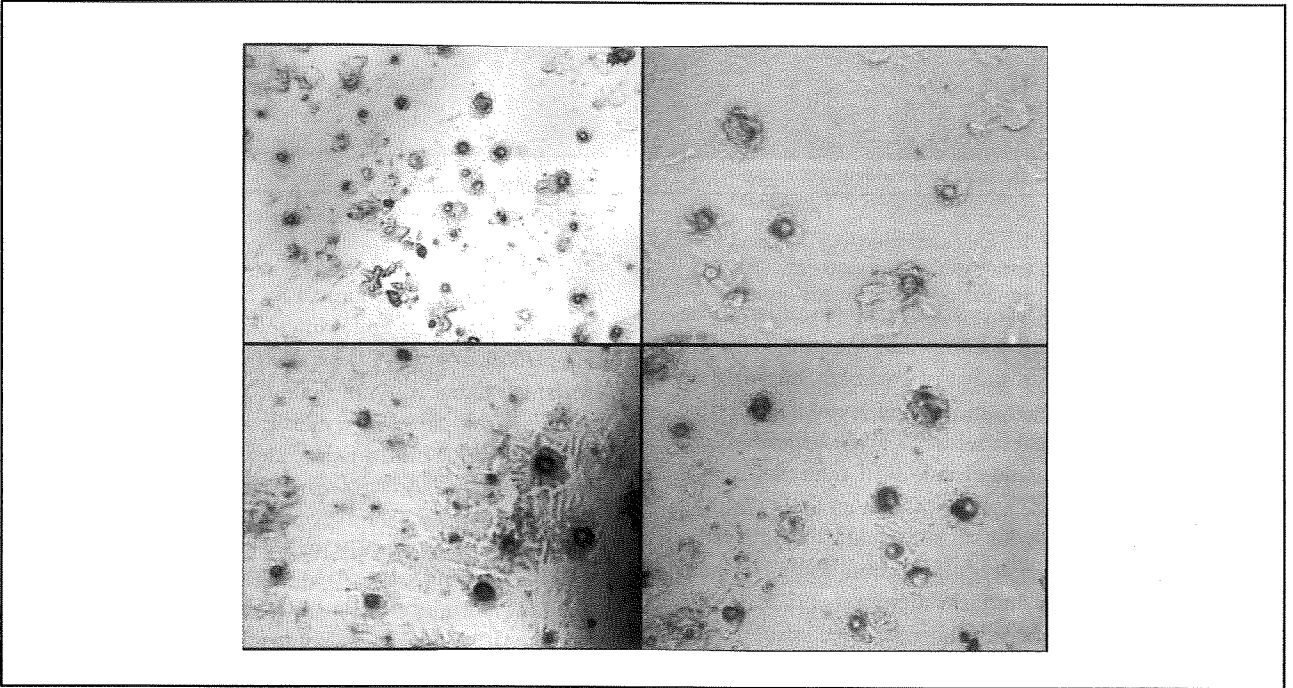
Steril dispaz veya T/EDTA solüsyonlarının lens epitel hücrelerinin bazal membrandan ayrışmasını sağladığı saptandı. Yapılan hücre sayımında 4 saat sonunda tabana yapışmış bulunan ve 24 saat sonrasında canlılığını koruyan hücre sayısının dispaz ile yapılan uygulamada T/EDTA'ya oranla istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha fazla olduğu izlendi ($p < 0.001$). T/EDTA ile yapılan ayrıştırma işleminin dispaza göre daha toksik olduğu ve hücrelerin morfolojisini etkilediği gözlemlendi. Dört saat sonunda dispaz kullanılan tabaklardaki hücrelerin %80.25'i, T/EDTA kullanılan tabaklardaki hücrelerin ise %35.44'ü canlılığını sürdürmekteydi ($p < 0.001$) (Resim 1).

Viskoelastik maddelerin ilk 4 saat içinde hücrelerin tutunma ve 24 saat sonunda yapışık kalma özelliğini artırdığı saptandı. Ayrıştırılmış hücrelerin viskoelastik madde ile kaplanmış kültür tabaklarına kaplanmamış olanlardan çok daha iyi yapıştığı gözlemlendi ($p < 0.001$). Lens epitel hücrelerinin viskoelastik ile kaplı tabaklarda daha fazla yuvarlaklaştığı ve saçak yapma eğiliminde olduğu izlendi (Resim 2). Ancak değişik viskoelastik maddelerin bu açıdan birbirlerine üstünlük sağlamadıkları ve hücrelerin morfolojisinde değişiklik oluşturmadığı görüldü ($p > 0.05$) (Resim 3). Boş ve değişik viskoelastik maddeler ile kaplı kültür tabaklarında 4 ve 24 saat sonra yaşamını sürdüren hücre sayıları Tablo 1'de gösterilmiştir. Viskoelastik ile kaplı olsun olmasın her bir

Resim 2. Viskoelastikle kaplanmış kültür tabakları üzerindeki hücrelerin (sol resim), kaplanmamış (sağ resim) olana oranla daha fazla yuvarlaklaştığı ve saçak yapma şeklinde daha aktif bir yapışma eyleminde buldukları gözlemlendi



Resim 3. Hücreler morfolojik olarak Healon® (sol üst resim), Synergel® (sol alt resim), Provisc® (sağ üst resim) ve Viscoat® (sağ alt resim) gibi değişik viskoelastiklere farklı davranmayıp, normal yapışma eylemi olan yuvarlak şekil alma ve saçak yapmanın kaplama materyali ile değişmediği izlendi



kültür tabağında özellikle hücre yoğunluğunun az olduğu alanlarda belirgin saçaklanmada azalma ve dejeneratif değişiklikler saptandı (Resim 4).

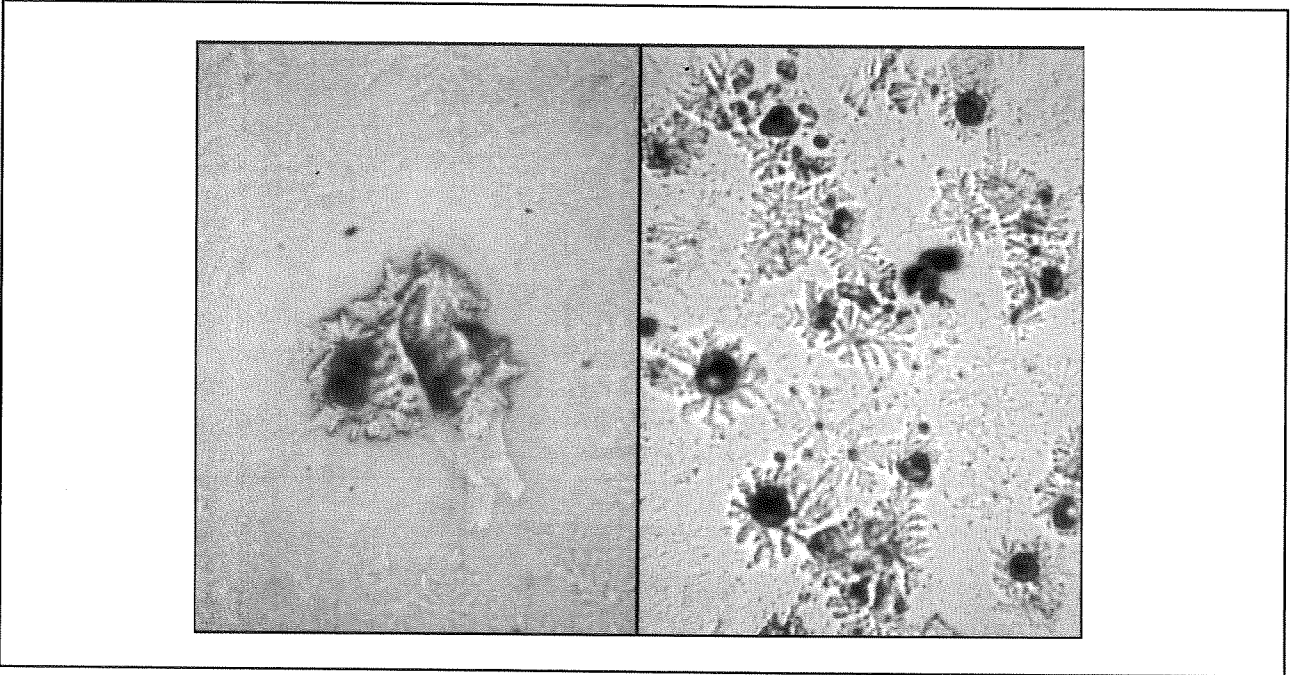
Viskoelastik kaplanmamış veya kaplanmış kültür

tabakları içinde 24 saatlik süre sonunda yapılan morfolojik incelemede göç etmeye işaret edecek bipolar özellik kazanma veya çoğalmaya işaret edecek mitotik figüre rastlanmadı.

Tablo 1. Kültür tabaklarında 4 ve 24 saat sonra yaşamını sürdüren hücre sayıları (%)

Süre	PKT	HEALON GV	HEALON 5	BİOLON	SYNERGEL	PROVİSC	VİSCOAT
4 saat	51,24±9,34	70,74±12,25	76,48±10,34	78,96±14,74	72,44±14,55	70,65±12,66	68,85±13,35
24 saat	8,56±3,3	36,28±6,38	52,85±5,55	57,63±6,34	48,45±7,45	38,21±6,37	46,45±4,46

Resim 4. Hücrelerin viskoelastik materyali ile işleminde bile bazı hücreler özellikle hücre yoğunluğunun az olduğu yerlerde dejeneratif değişiklikler gösterdi (sol resim). Bir çok alanda zamanla saçaklanma dağıldı, bazı hücreler bozuldu (sağ resim)



TARTIŞMA

Arka kapsül opaklaşması katarakt cerrahisinin en önemli ve en sık görülen komplikasyonudur (15). Bu komplikasyonun gelişiminde rol oynayan hücreler ön epitel hücreleri, lens kıvrımında kalan epitel hücreleri ve yerinden ayrılan kortikal liflerdir (2,5,16). Hücre bölünmesi ve çoğalması açısından çok aktif olan ekvatorial lens epitel hücreleri AKO gelişiminden en fazla sorumlu olan hücrelerdir (16). Arka kapsül opaklaşmasının tedavisi için Nd:YAG laser uygulamasının sonuçları hem ekonomik açıdan hem de hasta memnuniyeti açısından değerlendirildiğinde, cerrahi sonrasında kapsül içinde kalan lens epitel hücrelerinin davranışlarının bilinmesi ve buna yönelik önlemlerin alınması gerekli olmaktadır.

Katarakt cerrahisi sırasında ön kamara derinliğini devam ettirmek ve korneal endoteli korumak amacı ile değişik viskoelastik maddeler kullanılmakta, cerrahi sonunda ise aspire edilerek göz içinden uzaklaştırılmakta-

dır. Ancak tamamen ortadan kaldırılması her zaman mümkün olmayan ve kapsül içerisinde kalan viskoelastik maddelerin lens epitel hücreleri üzerine de etkisi olabilir. Durak ve ark. (17) katarakt cerrahisi sonrası kapsül içerisinde kalan sodyum hiyaluronatın normal aköz akımı ile yok olmadığını ve kapsül içerisine onkotik basınç ile su çektiğini bildirmişler, kapsül içi basıncındaki bu değişikliklerin LEH üzerine etkisi olabileceği düşünülmüşlerdir. Biz de katarakt operasyonu sonrasında kapsül içinde kalan viskoelastik maddeler ile lens epitel hücreleri arasındaki ilişkiye ışık tutmayı amaçladık.

Çalışmamızda lens epitel hücrelerinin değişik viskoelastik maddelerle kaplanmış kültür tabaklarına yapışma oranını kaplanmamış olanlardan daha fazla olduğunu gözledik. Yapışmanın çoğalma ve göç etme eylemleri için başlangıç noktası olduğu düşünüldüğünde, elde edilen sonuç arka kapsül opaklaşması açısından değerlidir. Kültür ortamında lens epitel hücrelerinin yapı olarak hücre-

re dışı matrikse benzeyen viskoelastik maddelere cevabın yapışma özelliğinin artması olduğu düşünüldüğünde, in vivo şartlarda arka kapsülün matriks desteğinin yanı sıra kapsül içinde kalan viskoelastik maddelerin AKO gelişimine zemin hazırlayabileceği düşünülmelidir.

Katarakt cerrahisi sırasında ön kapsüle yapışan lens epitel hücreleri hücre dışı matriks üretiminin yanında CD44 ve bir çok yapışma molekülü açığa çıkarmaktadır (18). CD44'ün esas görevi bilinmese de arka kapsül üzerinde gelişen hücre dışı matrikse bağlanarak lens epitel hücrelerinin migrasyon ve çoğalma özelliklerini etkilediği düşünülmektedir. CD44'ün opak arka kapsülde saptanabilen hiyaluronat, fibronektin ve kollajen gibi maddelere de bağlandığı bildirilmiştir (19-22). CD44'e bağlı hiyaluronatın hücre göçünü arttırdığı belirtilmekte (23-26), ayrıca hücrenin yapışması ve farklılaşması gibi bir çok faaliyette rol oynayabileceği düşünülmektedir (20).

Saika ve arkadaşları da opak arka kapsül parçalarındaki hücre dışı matriks içerisinde hiyaluronan tespit etmişler ancak bunun primer katarakt cerrahisinden kalmış olamayacağını ve bu maddenin lens epitel hücreleri tarafından üretilmiş olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu sonuçlar lens epitel hücreleri, CD44 ve hiyaluronan arasında bir ilişki olduğunu kanıtlamaktadır (18). Hiyaluronan birçok viskoelastik maddenin içerisinde yer aldığından, bu maddelerin arka kapsül opaklaşmasındaki rolünün aydınlatılması gerekmektedir. Nitekim biz de kültür ortamında lens epitel hücrelerinin VEM ile kaplanmış kültür tabaklarına yapışma oranının daha yüksek olduğunu saptadık. Sonuçlarımız katarakt cerrahisi sonrasında tam olarak temizlenemeyen viskoelastik maddenin lens epitel hücre yapışması, çoğalması ve göç etmesi için uygun ortam hazırlayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, yapışmanın özellikle hücre yoğunluğunun yüksek olduğu yerlerde artmış olması hücreler arasında göç ve çoğalma için gerekli büyüme faktörleri gibi sinyallerin etkisi olduğunu da düşündürmektedir.

Çalışmamızda lens epitel hücrelerinde göç etmeye işaret edecek bipolar özellik kazanma veya çoğalmaya işaret edecek mitotik figüre rastlanmadı. Yirmi dört saatlik süre bu eylemleri gözlemek için yeterli olmayabilir, yanı sıra teknik yetersizlik veya hücre gereksinimlerinin tam karşılanmaması da bunda rol oynayabilir. Ayrıca, lens epitel hücrelerinin kültür ortamına alınincaya kadar geçen sürede oluşabilecek mekanik travma gibi olumsuz etkiler hücre canlılığını ve davranışlarını etkileyebilir. Bu nedenlerle, çalışmada elde edilen sonuçların doğru yorumlanabilmesi için in vivo hayvan deneyleri ile desteklenmesi uygun olacaktır.

Sonuç olarak viskoelastik maddeler kültür ortamında lens epitel hücrelerinin yapışmasını kolaylaştırmakta-

dır. Yapışmanın çoğalma, göç etme ve metaplazi eylemleri için başlangıç noktası olduğu düşünüldüğünde, bu katkının arka kapsül opaklaşmasına zemin hazırlayabilmesi olasıdır.

KAYNAKLAR

1. Nagamoto T, Hara E: Lens epithelial cell migration onto the posterior capsule in vitro. *J Cataract Refract Surg* 1996; 22:841-46.
2. Frezzotti R, Caporossi A, Mastrangelo D, et al: Pathogenesis of posterior capsule opacification. Part II: histopathological and in vitro culture findings. *J Cataract Refract Surg* 1990; 16:353-60.
3. Davidson MG, Morgan DK, McGahan MC: Effect of surgical technique on in vitro posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26:1550-4.
4. Assia EI, Shelach M, Israel HM, Rosner M, Blumenthal M, Belkin M: Experimental studies of capsular equator rings of soft latex. *J Cataract Refract Surg* 2001; 27:457-62.
5. Lineberger EJ, Hardten DR, Shah GK, Lindstrom RL: Phacoemulsification and modern cataract surgery. *Surv Ophthalmol* 1999; 44: 123-147.
6. Hollick EJ, Spalton DJ, Ursell PG, Pande MV: Lens epithelial cell regression on the posterior capsule with different intraocular lens materials. *Br J Ophthalmol* 1998; 82:1182-8.
7. Chung HS, Lim SJ, Kim HB: Effect of mitomycin- C on posterior capsule opacification in rabbit eyes. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26:1537-42.
8. Hepsen IF, Bayramlar H, Gultek A, Ozen S, Tilgen F, Evereklioglu C: Caffeic acid phenethyl ester to inhibit posterior capsule opacification in rabbits. *J Cataract Refract Surg* 1997; 23:1572-6.
9. Legler UF, Apple DJ, Assia EI, Bluestein EC, Castaneda VE, Mowbray SL: Inhibition of posterior capsule opacification: the effect of colchicine in a sustained drug delivery system. *J Cataract Refract Surg* 1993; 19:462-70.
10. Meacock WR, Spalton DJ, Hollick EJ, Boyce JF, Barman S, Sanguinetti G: Double-masked prospective ocular safety study of a lens epithelial cell antibody to prevent posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26:716-21.
11. Nishi O, Nishi K, Menapace R, Akura J: Capsular bending ring to prevent posterior capsule opacification: 2 year follow-up. *J Cataract Refract Surg* 2001; 27:1359-65.
12. Dick B, Schwenn O, Pfeiffer N: Classification of viscoelastic substances for ophthalmologic surgery. *Ophthalmology* 1999; 96:193-211.
13. Henry JC, Olander K: Comparison of the effect of four viscoelastic agents on early postoperative intraocular pressure. *J Cataract Refract Surg* 1996; 22:960-6.
14. Miyake K, Ota I, Ichihashi S et al: New classification of capsular block syndrome. *J Cataract Refract Surg* 1998; 24:1230-4.

15. Ohadi C, Moreira H, Mc Donnell PJ: Posterior capsule opacification. *Curr Opin Ophthalmol* 1991; 2:46-52.
16. Schuursberger J, Amon M, Kruger A, et al: Lens epithelial cell outgrowth on 3 types of intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg* 2001; 27:850-4.
17. Durak İ, Özbek Z, Ferlier ST, et al: Early postoperative capsular block syndrome. *J Cataract Refract Surg* 2001; 27:555-9.
18. Saika S, Kawashima Y, Miyamoto T, et al: Immunolocalization of hyaluronan and CD44 in quiescent and proliferating human lens epithelial cells. *J Cataract Refract Surg* 1998; 24:1266-70.
19. Underhill CB, Toole BP: Binding of hyaluronate to the surface of cultured cells. *J Cell Biol* 1979; 82:475-84.
20. Knudson CB, Knudson W: Hyaluronan binding proteins in development, tissue homeostasis, and disease. *FASEB J* 1993; 7:1233-41.
21. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, et al: CD44 is the principle cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 1990; 61:1303-13.
22. Jackson DG, Buckley J, Bell JI: Multiple variants of the human lymphocyte homing receptor CD44 generated by insertions at a single site in the extracellular domain. *J Biol Chem* 1992; 267:4732-9.
23. Fagerholm P, Fitzsimmons TD, Harfstrand A, Schenholm M: Hyaluronic acid seen after anterior lens trauma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33:1167.
24. Fitzsimmons TD, Molander N, Stenevi U, et al: Endogenous hyaluronan in corneal disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:2774-82.
25. Zhu S-N, Nölle B, Duncker G: Expression of adhesion molecule CD44 on human corneas. *Br J Ophthalmol* 1997; 81:80-4.
26. Nishina S, Hirakata A, Hita T, et al: CD44 expression in the developing human retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997; 235:92-6.