

ΔΙΑΥΓΑΣΗ ΘΟΛΩΜΕΝΩΝ ΛΟΓΩ ΑΣΒΕΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΔΡΟΦΙΛΩΝ ΕΝΔΟΦΑΚΩΝ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΟ ΥΔΑΤΟΕΙΔΕΣ ΥΓΡΟ**Ι.Σ. Καλαντζής^{1,2}, Π.Δ. Νάτση^{1,2,*}, Π.Σ. Γαρταγάνης⁴, Σ.Π.Γαρταγάνης⁵, Π.Γ. Κουτσούκος^{1,2,**}**¹Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τ.Κ.26504, Πάτρα, Ελλάδα²Ινστιτούτο Τεχνολογίας και Έρευνας/ΙΕΧΜΗ, FORTH-ICEHT, Τ.Κ 26504, Πάτρα, Ελλάδα³Οφθαλμολογική Κλινική, 251 Γενικό Νοσοκομείο Ελληνικής Αεροπορίας, Αθήνα, Ελλάδα⁴Οφθαλμολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα, Ελλάδα*natsi@chemeng.upatras.gr**pgk@chemeng.upatras.gr**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Τα τελευταία χρόνια για την αντιμετώπιση του καταρράκτη χρησιμοποιούνται ενδοφακοί (Intra Ocular lenses, IOL) το βασικό υλικό των οποίων είναι κυρίως πολυμερή του ακρυλικού οξέος με υδρόφιλο ή υδρόφοβο χαρακτήρα. Ένα πρόβλημα, το οποίο παρουσιάζουν οι υδρόφιλοι ενδοφακοί, οι οποίοι χρησιμοποιούνται συνηθέστερα, είναι η θόλωση, οφειλόμενη σε εναποθέσεις φωσφορικού ασβεστίου. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η διάλυση κρυσταλλιτών υδροξυαπατίτη ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAP), σε διαλύματα φωσφορικού ασβεστίου ακόρεστα ως προς HAP ($0.17 < \text{σχετική ακορεστότητα ως προς HAP} < 0.51$, pH 7.40, 37°C), απουσία και παρουσία ασκορβικού οξέος ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, AA) συγκέντρωσης, 10^{-4}M . Ο ρυθμός διάλυσης του HAP υπολογίστηκε από την αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου στα ακόρεστα διαλύματα συναρτήσει του χρόνου. Από τα γραφήματα του ρυθμού διάλυσης συναρτήσει της σχετικής ακορεστότητας των διαλυμάτων υπολογίστηκε η φαινομένη τάξη της αντίδρασης, η οποία ήταν πρώτης τάξης. Η τιμή αυτή της φαινομένης τάξεως υποδηλώνει ότι ο μηχανισμός διάλυσης καθορίζεται από την επιφανειακή διάχυση των δομικών μονάδων του HAP. Η παρουσία AA, είχε ως αποτέλεσμα, το διπλασιασμό του ρυθμού διάλυσης του HAP, ενώ ο μηχανισμός παρέμεινε αμετάβλητος. Βάσει των αποτελεσμάτων αυτών μελετήθηκε η διάλυση εναποθέσεων HAP σε υδρόφιλους ενδοφακούς, σε ακόρεστα ως προς HAP διαλύματα παρουσία 0.1mM AA ($0.25 < \sigma_{\text{HAP}} < 0.51$, 37°C). Η εξέταση του βαθμού κάλυψης των ενδοφακών από τις επικαθίσεις HAP, οι οποίες είχαν σχηματισθεί με ασβεστοποίηση των IOL σε υπέρκορα διαλύματα φωσφορικού ασβεστίου, με οπτική μικροσκοπία πριν και μετά τη διάλυση των εναποθέσεων, επιβεβαίωσε την επιτάχυνση της διάλυσης, με το ποσοστό της διάλυσης των επικαθίσεων HAP παρουσία του AA να φτάνει το 80%.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Ενδοφθάλμιοι φακοί, Βιολογική ασβεστοποίηση, Κρυσταλλική ανάπτυξη, Διάλυση, Ασκορβικό οξύ**1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

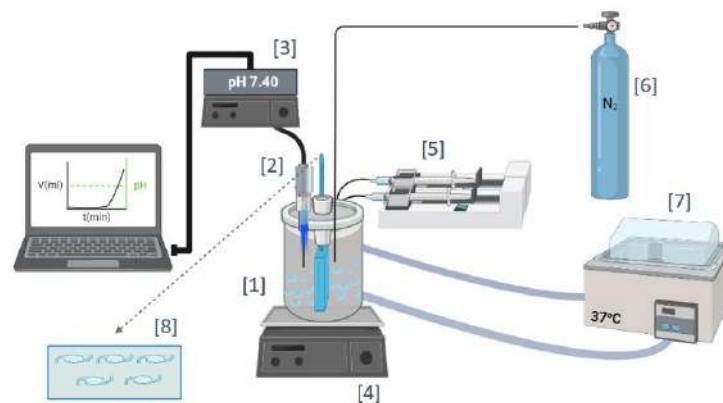
Η αντιμετώπιση του καταρράκτη και άλλων οφθαλμικών παθήσεων, γίνεται σήμερα με τη χειρουργική ένθεση πολυμερικών ενδοφακών (Intra Ocular Lenses, IOL). Το φαινόμενο της θόλωσης, των υδρόφιλων ενδοφακών, έχει τεκμηριωθεί ότι οφείλεται στο σχηματισμό αλάτων φωσφορικού ασβεστίου [1],[2] στην επιφάνεια, στο εσωτερικό ή και στα δύο, με δυσμενείς επιπτώσεις στην όραση. Η θόλωση των υδρόφιλων ενδοφακών λόγω ασβεστοποίησης, έχει συσχετισθεί και με παθολογικά αίτια [3],[4], τα οποία συνδέονται με αυξημένες συγκεντρώσεις ασβεστίου και φωσφόρου στο υδατοειδές υγρό (AH). Υπολογισμοί βάσει της σύστασης του AH φυσιολογικών υποκειμένων, έδειξαν ότι είναι υπέρκορο ως προς διάφορες κρυσταλλικές φάσεις του φωσφορικού ασβεστίου [5]. Η κατανόηση του μηχανισμού σχηματισμού των εναποθέσεων αυτών, εστιάζεται στην αλληλεπίδραση του υδατοειδούς υγρού με τους υδρόφιλους IOL. Το βασικό συστατικό των υδρόφιλων ενδοφακών, το Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (**pHEMA**), διαθέτει ομάδες -OH, οι οποίες ευνοούν την πυρηνογένεση και κρυσταλλική ανάπτυξη του φωσφορικού ασβεστίου [6]. Ωστόσο μελέτες του ρόλου της διαφασικής επιφάνειας pHEMA-AH στη βιβλιογραφία είναι πολύ περιορισμένες, ενώ είναι εξαιρετικά σημαντικές για την ετερογενή πυρηνογένεση και την κρυσταλλική ανάπτυξη του φωσφορικού ασβεστίου, το οποίο ευθύνεται για τη θόλωση των ενδοφακών. *In vitro* πειραματικά μοντέλα, τα οποία έχουν αναπτυχθεί για τη μελέτη της ασβεστοποίησης των ενδοφακών, όπως αυτό το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, δίνουν την δυνατότητα αναπαραγωγής και ερμηνείας των κλινικών ευρημάτων [7]. Δεδομένου του ότι η χειρουργική αντικατάσταση των θολωμένων ενδοφακών, ενέχει πιθανούς κινδύνους, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα διάλυσης των αλάτων φωσφορικού

ασβεστίου τα οποία έχουν σχηματισθεί σε υδρόφιλους IOL σε επαφή με ακόρεστα διαλύματα προσομοίωσης του AH, παρουσία ασκορβικού οξέος ($C_6H_8O_6$, AA).

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Μελέτη της κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP

Η κρυσταλλική ανάπτυξη υδροξυαπατίτη ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, HAP) σε υπέρκορα διαλύματα φωσφορικού ασβεστίου, με την εισαγωγή φύτρων κρυσταλλικού HAP, μελετήθηκε ως σύστημα αναφοράς. Το pH των υπέρκορων διαλυμάτων ρυθμίζονταν στο 7.4, με διάλυμα 0.1M NaOH και η ιοντική ισχύς ήταν 0.15M NaCl. Η ειδική επιφάνεια, BET των κρυσταλλιτών HAP οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν ήταν $71 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Η συγκέντρωση του ασβεστίου στα υπέρκορα διαλύματα ήταν μεταξύ 0.8-1.7mM, με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις των ολικών φωσφορικών σε αναλογία Ca/P=1.67. Η κρυσταλλική ανάπτυξη του HAP στα φύτρα του, έγινε σε συνθήκες σταθερού υπερκορεσμού και σε αδρανή ατμόσφαιρα αζώτου κορεσμένου σε υδρατμούς, και θερμοκρασία $37.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ (Σχήμα 1).



Σχήμα 1: Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης μελέτης κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP σε σταθερό υπερκορεσμό. [1] Διπλότοιχο θερμοστατούμενο δοχείο Pyrex®, [2] Ηλεκτρόδιο μέτρησης pH, [3] pH-μετρο [4] Μαγνητικός αναδευτήρας, [5] Σύστημα ελέγχου των συζευγμένων προχοϊδων, [6] Φιάλη παροχής N_2 , [7] Θερμοστατούμενο υδατόλουτρο & [8] Δειγματοφορέας ενδοφακών

Το pH των διαλυμάτων καταγράφονταν με συνδυασμένο ηλεκτρόδιο υάλου-Ag/AgCl συνδεδεμένο με Η/Υ και η πτώση του σηματοδοτούσε την προσθήκη διαλυμάτων $CaCl_2$, NaH_2PO_4 και NaOH με στοιχειομετρική αναλογία Ca:P:OH=5:3:1 από αυτόματο τιτλοδότη, τροποποιημένο ώστε να φέρει δύο μηχανικά συζευγμένες σύριγγες. Η προσθήκη των αντιδραστηρίων αυτών είχε ως αποτέλεσμα τη διατήρηση του υπερκορεσμού σταθερού. Κατά τη μελέτη της κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP σε υδρόφιλους IOL, οι IOL εισάγονταν στον αντιδραστήρα με τη χρήση δειγματοφορέα από PTFE ο οποίος εξασφάλιζε την επαφή της μέγιστης δυνατής επιφάνειας των ενδοφακών στα υπέρκορα διαλύματα. Από τις μετρήσεις του ρυθμού προσθήκης των αντιδραστηρίων για τη διατήρηση σταθερού υπερκορεσμού υπολογίστηκαν οι ρυθμοί κρυσταλλικής ανάπτυξης στον αντίστοιχο υπερκορεσμό.

Μελέτη κινητικής της διάλυσης HAP

Η μελέτη της διάλυσης των κρυσταλλιτών HAP, έγινε σε διαλύματα ακόρεστα ως προς HAP. Οι τιμές ακορεστότητας (E_x , 3), σ_{HAP} , κυμάνθηκαν από 0.17 έως 0.51. Για την μελέτη της διάλυσης χρησιμοποιήθηκαν δυο μεθοδολογίες. Η πρώτη αφορούσε τη διατήρηση σταθερής τιμής pH των ακόρεστων διαλυμάτων με την προσθήκη προτύπου διαλύματος HCl $10^{-3}M$ και η δεύτερη με διατήρηση σταθερής της ακορεστότητας των διαλυμάτων. Από τις καμπύλες όγκου-χρόνου του προστιθέμενου προτύπου διαλύματος και από τις αντίστοιχες καμπύλες μεταβολής της συγκέντρωσης του ολικού ασβεστίου και των ολικών φωσφορικών συναρτήσεως του χρόνου, υπολογίστηκαν οι ρυθμοί διάλυσης των κρυστάλλων HAP στα αντίστοιχα ακόρεστα διαλύματα. Ακολούθησε η μελέτη της διάλυσης του κρυσταλλικού HAP, παρουσία ασκορβικού οξέος ($C_6H_8O_6$, AA) συγκέντρωσης $10^{-4}M$, σε ακόρεστα ως προς HAP διαλύματα, ενώ μελετήθηκε και η επίδραση της παρουσίας του AA στην διάλυση εναποθέσεων φωσφορικού ασβεστίου σε υδρόφιλους ενδοφακούς, οι οποίοι είχαν ασβεστοποιηθεί από επικαθίσεις HAP, όπως περιγράφηκε παραπάνω.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κρυσταλλική ανάπτυξη HAP

Η κινούσα δύναμη για την κρυσταλλική ανάπτυξη HAP σε υπέρκορα διαλύματά του, ή για τη διάλυσή του σε ακόρεστα διαλύματα φωσφορικού ασβεστίου, είναι ο κορεσμός των διαλυμάτων, Ω :

$$\Omega = \frac{(Ca^{2+})^5 (PO_4^{3-})^3 (OH^-)^1}{K_s^0} \quad (1)$$

Όπου οι () δηλώνουν την ενεργότητα των περικλειομένων ιόντων και K_s^0 είναι το θερμοδυναμικό γινόμενο διαλυτότητας του HAP. Εάν $\Omega > 1$ το διάλυμα είναι υπέρκορο (κρυσταλλική ανάπτυξη), ενώ αν $\Omega < 1$, ακόρεστο (διάλυση). Ο σχετικός υπερκορεσμός και η σχετική ακορεστότητα αντίστοιχα, ορίζονται από τις Εξισώσεις 2 και 3 αντίστοιχα:

$$\sigma_{HAP} = \Omega^{\frac{1}{9}} - 1 \quad (2)$$

$$\sigma_{HAP} = 1 - \Omega^{\frac{1}{9}} \quad (3)$$

Ο ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP σε φύτρα HAP σε υπέρκορα διαλύματα του, μετρήθηκε σε περιοχή τιμών σχετικού υπερκορεσμού σ_{HAP} από 4.7 έως 9.88. Οι πειραματικές συνθήκες και οι ρυθμοί κρυσταλλικής ανάπτυξης, οι οποίοι υπολογίστηκαν φαίνονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Τιμές συγκέντρωσης ασβεστίου, Ca_t ($Ca_t/P_t = 1.67$), σχετικού υπερκορεσμού ως προς HAP, σ_{HAP} και του ρυθμού κρυσταλλικής ανάπτυξης. $\theta = 37^\circ C$, $pH = 7.4$, $I = 0.15M NaCl$.

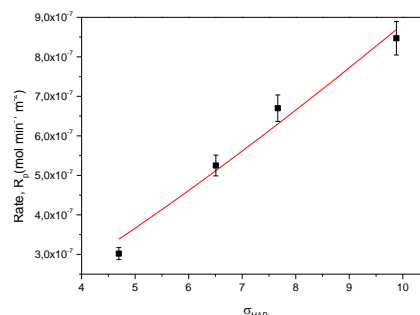
Πείραμα	Ca, t (mM)	Σχετικός υπερκορεσμός, σ_{HAP}	Ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης, R_p ($/\times 10^{-7} \text{ mol HAP m}^{-2} \text{ min}^{-1}$)
8	0.8	4.70	3.0
7	1.1	6.51	5.3
3	1.3	7.66	6.7
9	1.7	9.88	8.5

Η εξάρτηση του ρυθμού κρυσταλλικής ανάπτυξης από τον σχετικό υπερκορεσμό παρουσιάζεται στο Σχήμα 2. Προσαρμογή των δεδομένων στην ημιεμπειρική σχέση:

$$R_p = k \sigma_{HAP}^n \quad (4)$$

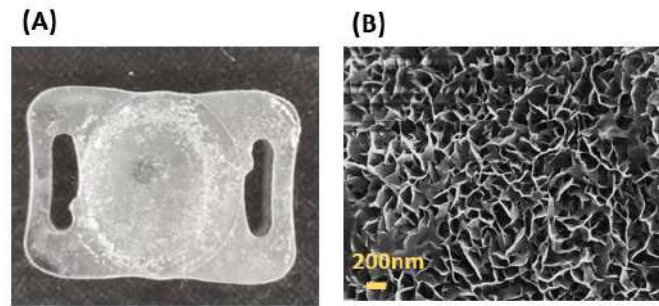
Όπου, k η φαινόμενη σταθερά της κρυσταλλικής ανάπτυξης και n η αντίστοιχη φαινόμενη τάξη.

Η γραμμική εξάρτηση του ρυθμού από τον σχετικό υπερκορεσμό ($n = 1.3 \pm 0.2$) οδήγησε στο συμπέρασμα, ότι ο μηχανισμός καθορίζεται από την διάχυση των δομικών μονάδων στην επιφάνεια των κρυσταλλικών φύτρων.



Σχήμα 2: Ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP σε φύτρα του, συναρτήσει του σχετικού υπερκορεσμού, σε σταθερό υπερκορεσμό. $\theta = 37^\circ C$, $pH = 7.4$, $I = 0.15M$.

Η ασβεστοποίηση των υδρόφιλων IOL, μελετήθηκε σε σχετικό υπερκορεσμό, $\sigma_{HAP} = 9.88$ ($pH = 7.4$, $37^\circ C$). Τα δοκίμια φακών εισάγονταν στον αντιδραστήρα σε ειδικά ικρίωματα από Teflon®, στα υπέρκορα διαλύματα. Ο ρυθμός κρυσταλλικής ανάπτυξης HAP, υπολογίστηκε ανά μονάδα (γεωμετρικής) επιφάνειας των IOL. Ο ρυθμός ασβεστοποίησης των IOL ήταν $(5.5 \pm 1.0) \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. Η διαφορετική τάξη μεγέθους του ρυθμού σε σύγκριση με την αντίστοιχη των φύτρων HAP οφείλεται στο ότι στους IOL ο υπολογισμός έγινε βάσει της γεωμετρικής επιφάνειας ενώ για τα φύτρα βάσει της ειδικής επιφάνειας BET. Στην εικόνα του Σχήματος 3(A) παρουσιάζεται μακροσκοπική εικόνα του ασβεστοποιημένου IOL. Η μορφολογία των εναποθέσεων φαίνεται στην φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης SEM (Σχήμα 3(B)). Οι εναποθέσεις HAP στην επιφάνεια του IOL δείχνουν φυλλοειδείς νανοκρυσταλλίτες.

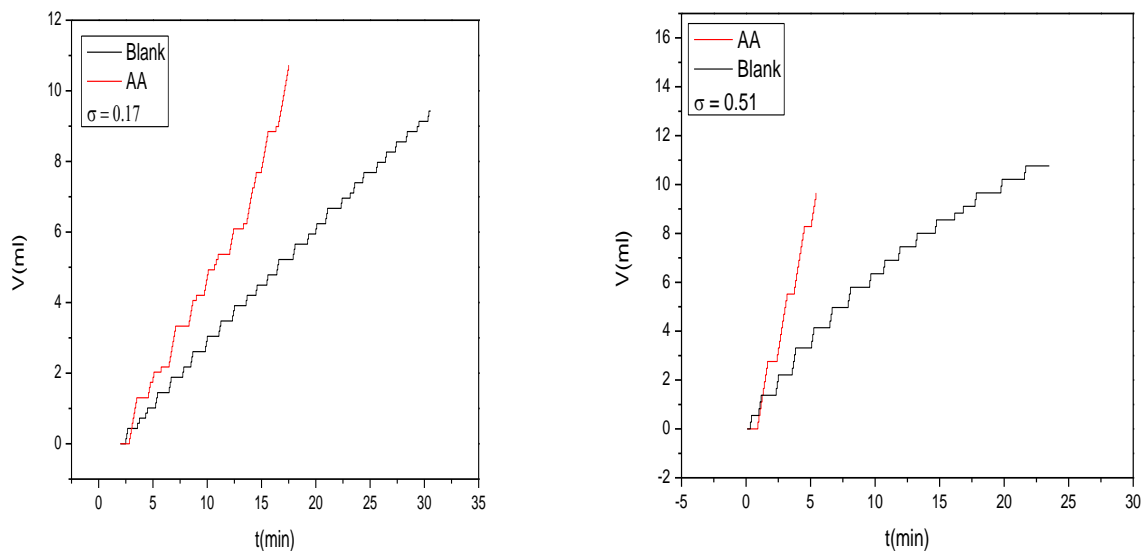


Σχήμα 3: Ασβεστοποίηση IOL με εναπόθεση HAP σε σταθερό υπερκορεσμό ($\vartheta=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.4$, $I=0.15\text{M}$). (A) Μακροσκοπική εικόνα. (B) Φωτογραφία από SEM, η οποία δείχνει τη μορφολογία των κρυσταλλικών εναποθέσεων στην επιφάνεια του IOL.

Μελέτη κινητικής διάλυσης HAP

Η διάλυση κρυσταλλικών φύτρων HAP σε ακόρεστα διαλύματα φωσφορικού ασβεστίου, μελετήθηκε σε σταθερό pH (7.40), και σε σταθερή ακορεστότητα, απουσία και παρουσία 10^{-4}M AA. Ο ρυθμός διάλυσης, υπολογίστηκε από τα προφίλ της συγκέντρωσης ασβεστίου και φωσφόρου συναρτήσει του χρόνου σε περιοχές τιμών του σ_{HAP} από 0.17 έως 0.51. Στο Σχήμα 4 παρουσιάζονται ενδεικτικά διαγράμματα προστιθέμενου όγκου διαλύματος (NaH_2PO_4 , NaCl , CaCl_2 , HCl) σε συνθήκες σταθερής ακορεστότητας.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του ρυθμού διάλυσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 2 τόσο για τη διάλυση HAP παρουσία ασκορβικού οξέος όσο και απουσία του. Η παρουσία του AA φαίνεται να έχει καταλυτική δράση στην διάλυση του HAP.



Σχήμα 4: Διάλυση HAP σε συνθήκες σταθερής ακορεστότητας παρουσία και απουσία ασκορβικού οξέος. ($\vartheta=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.4$, $I=0.15\text{M}$)

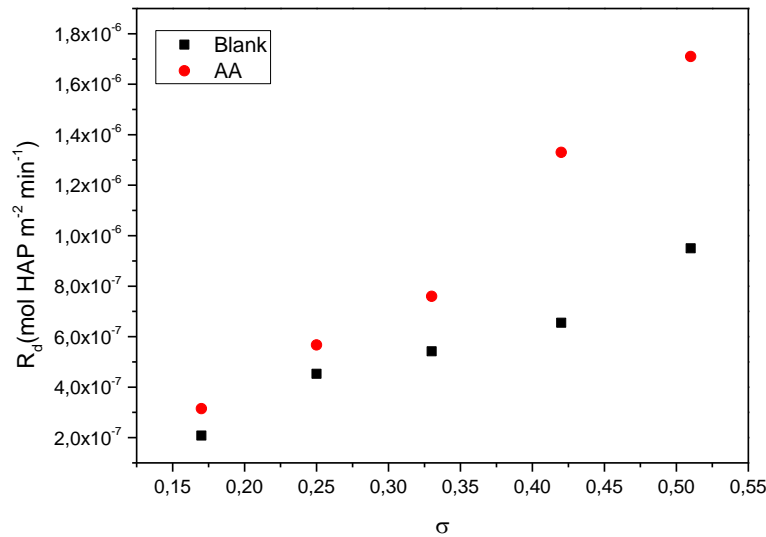
Πίνακας 2: Συγκέντρωση ασβεστίου (ολική, Ca_t), σχετική ακορεστότητα και ρυθμός διάλυσης κρυσταλλικών φύτρων HAP απουσία και παρουσία ασκορβικού οξέος (AA) (AA) σε συνθήκες σταθερής σύστασης. $\text{Ca}_i/\text{P}_i=1.67$, $\vartheta=37^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.4$, $I=0.15\text{M}$.

Ca_t (mM)	Σχετική ακορεστότητα, σ_{HAP}	Ρυθμός κρυσταλλικής αποδόμησης, R_d ($/\times 10^{-7}\text{ mol HAP m}^{-2}\text{ min}^{-1}$)	
		Απουσία AA	10^{-4}M AA
0.05	0.51	9.5	17.1
0.06	0.42	6.55	13.3
0.07	0.33	5.42	7.6
0.08	0.25	4.53	5.67
0.09	0.17	2.08	3.15

Συγκεκριμένα όπως φαίνεται και στα συγκριτικά διαγράμματα του Σχήματος 5, στην περιοχή τιμών σ_{HAP} , η οποία μελετήθηκε, ο ρυθμός σχηματισμού HAP στους IOL, παρουσία του AA, ήταν σχεδόν διπλάσιος σε σύγκριση με τον αντίστοιχο απουσία του. Συνεπώς, η παρουσία του AA στα υπέρκορα διαλύματα έχει ως αποτέλεσμα τη σημαντική επιτάχυνση του ρυθμού διάλυσης των κρυσταλλικών φύτρων HAP, ενώ δεν φαίνεται να επιδρά στον μηχανισμό διάλυσης ο οποίος καθορίζεται από τη διάχυση των δομικών μονάδων, όπως προέκυψε από την γραμμική εξάρτηση του ρυθμού διάλυσης, R_d , από την σχετική ακορεστότητα, σύμφωνα με την εξίσωση (5):

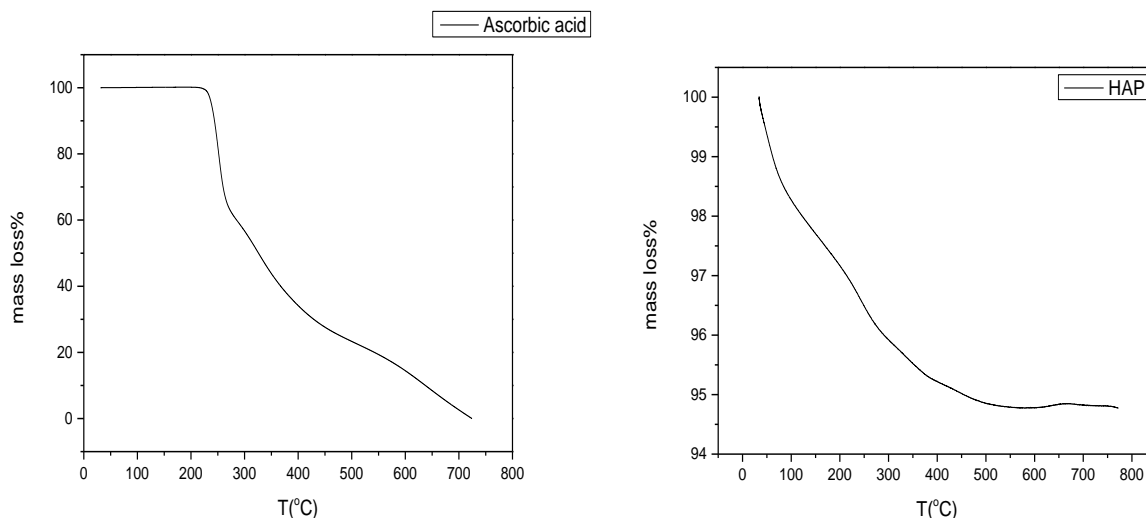
$$R_d = k_d \sigma_{\text{HAP}}^n \quad (5)$$

Όπου k_d , n , η φαινόμενη σταθερά και η φαινόμενη τάξη αντίστοιχα για τη διάλυση.

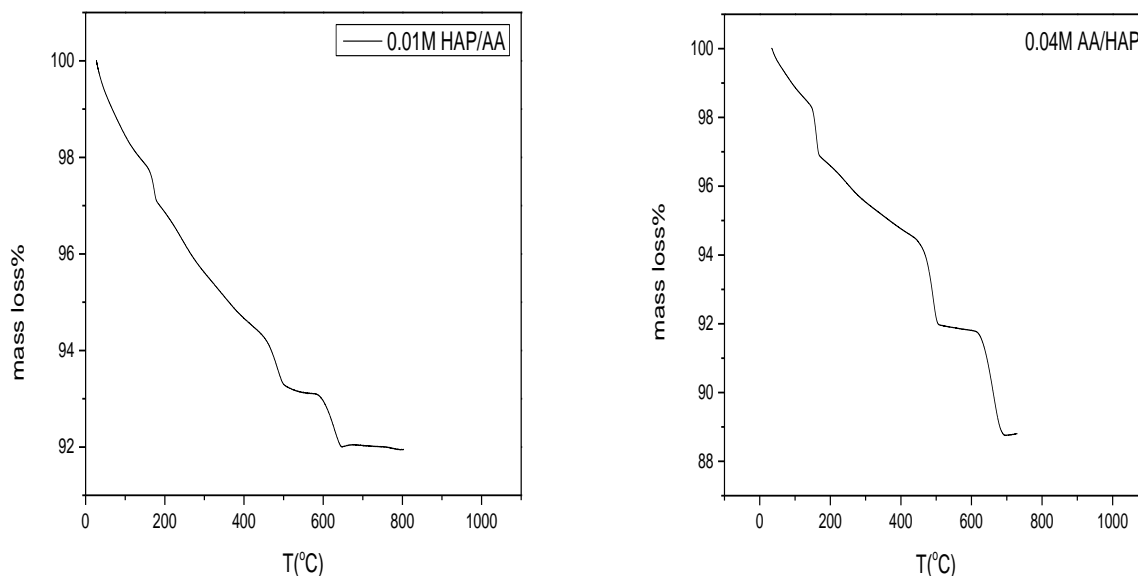


Σχήμα 5: Διάγραμμα ρυθμού διάλυσης συναρτήσει της σχετικής ακορεστότητας ως προς HAP παρουσία και απουσία AA ($\theta = 37^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7.4$, $I=0.15\text{M}$)

Η επιταχυντική δράση του AA στο σύστημα του HAP, διερευνήθηκε μελετώντας τη ρόφησή του στην επιφάνεια κρυσταλλιτών HAP. Δείγματα των στερεών αναλύθηκαν με θερμοσταθμική ανάλυση (TGA). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων έδειξαν μια επιπλέον απώλεια βάρους στα δείγματα του HAP που φαίνονται στο Σχήμα 7, το οποίο αποδίδεται στο ροφημένο AA.



Σχήμα 6: Διάγραμματα TGA (A) ασκορβικού οξέος και (B) Υδροξυαπατίτη



Σχήμα 7: Διαγράμματα θερμοσταθμικής ανάλυσης δειγμάτων HAP, μετά τη ρόφηση από διαλύματα AA διαφόρων συγκεντρώσεων

Όπως φαίνεται από τα γραφήματα, στην περιοχή θερμοκρασιών μεταξύ 300–600°C, εμφανίσθηκαν σημεία καμπής χαρακτηριστικά της παρουσίας AA, δηλώνοντας την παρουσία ροφημένου AA, παρά το γεγονός ότι η διαφορά συγκέντρωσης του AA στο διάλυμα προ και μετά τη ρόφηση δεν υπερέβαινε το αναλυτικό σφάλμα. Η παρουσία AA στην επιφάνεια των κρυσταλλινών HAP ταυτοποιήθηκε και με αναλύσεις φασματοσκοπίας φωτοηλεκτρονίων (XPS) [8].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η διάλυση εναποθέσεων HAP σε υδρόφιλους IOL, οι οποίες σχηματίστηκαν σε υπέρκορα διαλύματα σε φυσιολογικές συνθήκες ακολουθεί τον αυτό μηχανισμό με τον αντίστοιχο του σχηματισμού τους. Παρουσία AA συγκέντρωσης 0.1 mM στα ακόρεστα διαλύματα ο ρυθμός διάλυσης του HAP αυξήθηκε σημαντικά. Η αύξηση ήταν σημαντικότερη όσο μεγαλύτερη ήταν η τιμή της ακορεστότητας των διαλυμάτων ως προς HAP.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Werner L, Apple DJ, Kaskaloglu M, Pandey SK. Dense opacification of the optical component of a hydrophilic acrylic intraocular lens: a clinicopathological analysis of 9 explanted lenses. *J Cataract Refract Surg* 2001;27(9):1485–1492.
- [2] Werner L. Calcification of hydrophilic acrylic intraocular lenses. *Am J Ophthalmol* 2008;146(3):341–343.
- [3] Bucher PJ, Büchi ER, Daicker BC. Dystrophic calcification of an implanted hydroxyethyl methacrylate intraocular lens. *Arch Ophthalmol* 1995;113(11):1431–1435.
- [4] Nakanome S, Watanabe H, Tanaka K, Tochikubo T. Calcification of Hydroview H60M intraocular lenses: aqueous humor analysis and comparisons with other intraocular lens materials. *J Cataract Refract Surg* 2008;34(1):80–86.
- [5] Drimtzias EG, Rokidi SG, Gartaganis SP, Koutsoukos PG. Experimental investigation on mechanism of hydrophilic acrylic intraocular lens calcification. *Am J Ophthalmol* 2011; 152(5):824–833.
- [6] Gartaganis SP, Prahs P., Lazari ED, Gartaganis PS, Helbig H, Koutsoukos PG, Calcification of Hydrophilic Acrylic Intraocular Lenses With a Hydrophobic Surface: Laboratory Analysis of 6 Cases, *Am J Ophthalmol* 2016;168:68–77.
- [7] Kalantzis J., Natsi P.N., Sygellou L., Koutsoukos P.G., The HAP/electrolyte interface in the presence of ascorbic acid, unpublished data.