

# Medikal (Farmakolojik) Vitreoliz

## Medical (Pharmacologic) Vitreolysis

Hürkan KERİMOĞLU<sup>1</sup>

Derleme

Editorial Review

### ÖZ

Vitreoretinal patolojilerin tedavisinde mekanik vitrektomiye kolaylaştırmak için veya mekanik vitrektomi yerine vitreoretinal ayrılmayı sağlamak ve vitreus yapısını değiştirmek için enzimatik ajanların kullanımı giderek popülerlik kazanmaktadır. Bu enzimlerin nasıl çalıştığını anlamak ve yeni ve daha iyi tedaviler geliştirmek için moleküler düzeyde vitreus yapısının iyi anlaşılması gerekir. Tamamlanmamış arka hyaloid dekolmanının (AVD) ve halen yapışık olan vitreus korteksinin sık rastlanan retinal hastalıkların gelişiminde rol oynaması nedeniyle tam bir AVD'nin oluşturulması hem vitreoretinal cerrahi hem de medikal retina için önemli bir konudur. Bu bölüm vitreus biyokimyası, vitreusun moleküler organizasyonu ve farmakolojik vitreolizdeki güncel konular üzerine odaklanacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Farmakolojik vitreolizis, arka vitreus dekolmanı.

### ABSTRACT

There is an increasing interest in the concept of using enzymes to induce vitreoretinal separation and modulate the structure of the vitreous as an aid to, or replacement for, mechanical vitrectomy. In order to understand how these enzymes work and develop new and better therapeutics, knowledge of vitreous structure at a molecular level is key. As incomplete posterior vitreous detachment (PVD) and attached vitreous cortex are associated with the progression of common retinal diseases, induction of complete PVD is a major issue both in vitreoretinal surgery and in medical retina. This chapter focuses on vitreus biochemistry, molecular organization and current concepts of pharmacologic vitreolysis.

**Key Words:** Pharmacologic vitreolysis, posterior vitreus detachment.

Ret-Vit 2010;18:Özel Sayı:37-41

Geliş Tarihi : 15/06/2010

Kabul Tarihi : 25/06/2010

Received : June 15, 2010

Accepted : June 25, 2010

1- Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları A.D., Konya, Yrd. Doç. Dr.

1- M.D. Asistant Professor, Selçuk University Faculty of Medicine Department of Ophthalmology Konya/TURKEY  
KERİMOĞLU H., hurkanka@yahoo.com

**Correspondence:** M.D. Asistant Professor, Hürkan KERİMOĞLU  
Selçuk University Faculty of Medicine Department of Ophthalmology Konya/TURKEY

## GİRİŞ

Fiziksel özelliği itibarı ile görünmez olan vitreusun oküler fizyoloji ve vitreoretinal patolojilerdeki rolü görmezden gelinemeyecek kadar önemlidir.<sup>1</sup> Son yıllarda vitreusun retinal patolojilerdeki rolü daha iyi anlaşılakta ve tedavide cerrahinin yanı sıra medikal çözümler aranmaktadır. Vitreus moleküler yapısına etki edebilen farmakolojik ajanlar hem tedavi hem de korunma anlamında gelecek vaat etmektedir.

Farmakolojik olarak vitreusa etki edebilmek için vitreusun biyokimyasal yapısını ve moleküler organizasyonunu anlamak, yaşa ve sistemik hastalıklara bağlı olarak gelişen vitreal değişimleri bilmek gerekir.

### Vitreus biyokimyası ve yapısal iskeleti

Genel itibarı ile vitreus %98 su içerikli, saydam, jel kıvamında ve heterojen viskoelastik ekstraselüler matris yapısındadır. Karanlık alan mikroskopisinin verdiği bilgiler doğrultusunda morfolojik olarak arkadan öne uzanan ve vitreus tabanına yapışan liflerden müteşekkildir. Arka yüzünde peripapiller ve premaküler deliklerin olduğu gösterilmiştir.<sup>2</sup>

Biyokimyasal olarak vitreusun yapıtaşları glikozaminoglikanlar, kollajenler ve optisin, fibrillin gibi kollajen olmayan yapısal proteinlerdir. Hyaluronik asit (Hyaluronan), kondroitin sülfat ve heparan sülfat proteoglikanlar vitreus glikozaminoglikanlarını oluşturmaktadır. Hyaluronan vitreus yapısındaki en önemli makromoleküllerden bir tanesidir. İlk kez inek vitreusundan 1934 yılında izole edilmiştir. Birbirine 1-4 bağları ile bağlı tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşan polimer yapısındadır.<sup>3</sup> Vitreus yapısında proteine kovalent olarak bağlı olduğundan dolayı proteoglikan yapıdadır.

Vitreusun diğer bir önemli yapıtaşı da kollajendir. Vitreus yapısında kollajen tip II, hibrid tip V/XI ve tip IX; %75:10:15 oranında bulunur. Kollajen tip II'nin vitreusun yanı sıra kıkırdak yapısında da en fazla oranda bulunan kollajen olması kollajen metabolizma defektlerinde vitreus patolojilerine eşlik eden eklem bulgularını açıklar. Kollajenler fibriller yapıda organize olmuşlardır. Tip V/XI merkezde yer alırken, tip II onun etrafında ve tip IX ise yüzeyde yerleşim gösterir.<sup>4</sup>

Önceleri Balazs tarafından öne sürülen ve sonra Mayne tarafından desteklenen model vitreus yapısını arasına hyaluronan molekülleri serpiştirilmiş kollajen ağ olarak tarifler.<sup>5</sup> Bu modelde kollajen fibriller ana iskelet ağı oluştururken, hidrofilik hyaluronan molekülleri ise bu yapının hacim kazanmasından sorumludur. Comper ve Laurent negatif yüklü hyaluronan ile pozitif yüklü kollajen arasında elektrostatik bağlanmanın söz konusu olduğunu ileri sürmüşlerdir.<sup>6</sup> Teorik olarak eğer bu yapıdan kollajen uzaklaştırılırsa geriye kalan hyaluronan visköz bir solüsyon halini alacak, eğer hyaluronan uzaklaştırılırsa kollajen ağ büzülecek ancak yok olmayacaktır. Ayrıca yapılan çalışmalar tip IX kollajen üzerindeki kondroitin

sülfat zincirlerinin bitişik kollajen fibrilleri arasında köprü vazifesi görerek birbirlerine yapışmayı engellediğini ve bu sayede vitreusun saydamlığını sağladığını göstermektedir.<sup>7</sup>

### Vitreoretinal bağlantı

Vitreoretinal bağlantılar arka kutupta ve vitreus tabanında farklılık arz etmektedir. Vitreus tabanında kollajen fibrillerin iç limitan membrandaki (İLM) defektlerden içeri girmesi ve hücresel kısımdaki bazal membran yapısında yer alan kollajen ile bağlantı göstermesi nedeniyle retina ile vitreus arasında kırılması zor bir bağ mevcuttur.<sup>8</sup> Vitreus bazının gerisinde, arka kutupta vitreus fibrilleri İLM'ı geçmez, arka vitreoretinal yüzey boyunca kortikal vitreal kollajen lifler İLM'a paralel uzanır ve İLM'a yüzeyel moleküler bağlar ile tutunur.<sup>4</sup> Ancak paravasküler sahalarda doğrudan İLM ile fokal sıkı bağlantılar izlenebilir.<sup>9</sup>

### Yaşa bağlı vitreus dejenerasyonu ve arka vitreus dekolmanı

Yaşlanmayla beraber vitreusta önemli yapısal değişiklikler gözlenir. Yaşamın dördüncü dekadından itibaren vitreusun gel formu azalırken sıvı vitreus hacmi artar. Postmortem çalışmalar normal hyaluronan – kollajen bağlantısını bozulduğunu ve eş zamanlı olarak vitreusun sıvılaşmış kollajen fibrillerin demetler halinde birleşerek makroskopik vitreus fibrilleri haline dönüştüğünü göstermektedir.<sup>1</sup> Yaşla beraber tip IX kollajen miktarında azalma ve kollajen fibrilleri birbirinden ayrı tutan kondroitin sülfat zincirlerinin kaybı söz konusudur. Böylelikle kollajen fibriller demetler halinde birleşmekte ve kollajensiz kalan geniş sahalarda sıvılaşmış vitreus lakünleri oluşmaktadır.<sup>1,10</sup> 8, 9. dekadlarda vitreus sıvı hacmini %50 oranına ulaştığı düşünülmektedir.

Vitreusun sıvılaşmasına vitreus ile retina arasındaki bağlantıların zayıflaması eşlik eder. Zayıflamış olan vitreoretinal bağlantılar nedeniyle sıvılaşmış olan vitreus prepapiller ve premaküler vitreus korteks boşluklarından retrokortikal mesafeye ilerleyerek arka vitreus dekolmanının (AVD) gelişmesini sağlar. AVD'nin komplikasyonsuz olarak gelişmesi için vitreus sıvılaşmasının ve vitreoretinal bağlantıdaki zayıflamanın eş zamanlı olarak gerçekleşmesi gerekir. Aksi takdirde vitreusun sıvılaşmasına vitreoretinal bağlantıdaki zayıflama eşlik etmez ise retina dekolmanı, vitreus hemorajisi veya vitreomaküler traksiyon sendromları ile sonuçlanabilecek anormal AVD'den bahsedilebilir.<sup>3,11</sup>

### Farmakolojik Vitreolizis

Farmakolojik vitreolizis vitreus yapısının kimyasal olarak değiştirilmesi yolu ile vitreusu sıvılaştırıp, vitreoretinal bağlantıları zayıflatarak güvenli bir AVD'ni hedefleyen gelişmekte olan bir medikal tedavi yöntemidir. Bu tedavi yöntemi sadece vitreoretinal cerrahiye kolaylaştırmakla kalmayıp, bazı hastalıkların tedavisinde veya önlenmesinde tek başına yeterli olabilecek potansiyele sahiptir. Bugüne kadar çeşitli ajanlar üzerinde çalışılmış

ve müsbet ve menfi birtakım sonuçlara ulaşılmıştır. Bu ajanları şu şekilde özetlemek mümkündür.

### **Kollajenaz**

Bu ajan ile vitreus yapısındaki kollajenin parçalanması amaçlanmıştır. Ancak hayvan deneylerinde etkinliğinin zayıf bulunmasının yanı sıra retinal vasküler yapıda hasara rastlanması üzerine çalışmaların devamı gelmemiştir.<sup>12</sup>

### **Kondroitinaz**

Vitreoretinal arayüz bağlantısında rol aldığı düşünülen kondroitin sülfata etkilidir. Maymun gözlerinde ve donör insan gözlerinde kullanılmış, maymun gözlerinde İLM'a zarar vermeden AVD olduğu gözlenmiştir. 14-16 aylık takipte maymun gözlerinde morfolofik ve elektrofizyolojik değişiklik izlenmemiştir.<sup>13</sup> Ayrıca epiretinal membranların ayrılmasında da faydalı bulunmuştur.<sup>14</sup> Bu ajanla ilgili faz I çalışma başlatılmış ancak tamamlanmamıştır. Klinik kullanımı bildirilmemiştir.

### **Nattokinaz**

Plazminojen aktivasyonu yapabilen serin proteaz yapıdadır. Her ne kadar tavşan gözlerinde AVD oluşturduğu bildirilmiş olsa da preretinal hemoraji ve ERG değişikliklerine neden olduğu için klinik uygulamaya geçmemiştir.<sup>15</sup>

### **Dispaz**

Selektif olarak tip IV kollajeni ve fibronektini parçalayan nötral bir proteazdır. Domuz gözlerinde ve donör insan gözlerinde AVD gelişimi üzerine etkili bulunmuştur.<sup>16</sup> Ancak tavşan gözlerinde AVD üzerine etkisi gösterilemediği gibi intraretinal kanamalara ve İLM hasarına yol açtığı bildirilmiştir. Bunlara ek olarak doza bağımlı proliferatif vitreoretinopati (PVR) gelişimi de gözlenmiştir.<sup>17</sup>

### **Hyaluronidaz**

Hyaluronik asidin glikozidik bağlarını parçalayarak etki gösterir.<sup>18</sup> Bu sayede vitreusu sıvılaştırır, viskoziteyi azaltır.<sup>18</sup> Ayrıca eritrosit ve fagositlerin vitreus difüzyon oranının artırdığı için vitreus içi kanamaların emilimini hızlandırabileceği iddia edilmiştir.<sup>18</sup> Bu etki faz III klinik çalışma ile desteklenmiştir. 55IU saflaştırılmış koyun hyaluronidazı (Vitrace, ISTA pharmaceuticals, calif., USA) enjekte edilen gözlerde vitreus hemorajisinin emilimini hızlandırmış ve önemli bir oküler komplikasyon bildirilmemiştir.<sup>19,20</sup> Bu çalışmalarda AVD gelişimi ile ilgili bir bilgi verilmemiştir.<sup>19,20</sup> Tavşan gözlerinde parsiyel AVD gelişimi bildirilmişse de bu bulgu başka çalışmalarda desteklenememiştir.<sup>21,22</sup>

### **Plazmin**

Fibrinolitik özellikte spesifik olmayan bir serin proteazdır. Vitreoretinal arayüzde varlığı bilinen laminin ve fibronektini de kapsayan çeşitli glikoproteinler üzerine etkinliği bilinmektedir.<sup>23,24</sup> Bu nedenle AVD gelişimi için en fazla ümit vadeden ajandır.

Tavşan gözlerinde intravitreal plazmin enjeksiyonunun tam AVD gelişimini sağlayabildiği gösterilmiştir.<sup>25,26</sup> Domuz gözlerinde ve postmortem donör insan gözlerinde intravitreal enjeksiyon sonrası doza ve zamana bağımlı bir AVD gelişimi izlenmiştir.<sup>27,28</sup> Tarayıcı elektron mikroskopi çalışmaları domuz gözlerinde 1U plazmin enjeksiyonundan 1 saat sonra, 2U plazmin enjeksiyonundan 30 dakika sonra ve donör insan gözlerinde 2U plazmin enjeksiyonundan 30 dakika sonra kortikal vitreustan tamamen arınmış çıplak İLM dokusunu göstermişlerdir.<sup>27,28</sup> Hem domuz, hem de insan gözlerinde iç retinal katmanlarda herhangi bir hasara rastlanmamıştır.<sup>27,28</sup> Ayrıca başka bir grup tarafından plazmin enjeksiyonu uygulanan gözlerde vitreoretinal arayüzde laminin ve fibronektin immünoreaktivitesinin azaldığı gösterilmiştir.<sup>29</sup>

Ancak plazminin klinik uygulamalar için hazır bir formu henüz yoktur. Plazminin etkisinden faydalanmak için geliştirilen stratejilerden bir tanesi doku plazminojen aktivatörlerinin (TPA) kullanımıdır. Bu yöntemde ajanın etkili olabilmesi için vitreus içerisinde plazminojen bulunması gerekir. Bu ise kriyokoagülasyon ile kan retina bariyerinin bozulması yoluyla sağlanır. Bu yöntemle müdahale edilen tavşan gözlerinin tümünde 25µg doku plazminojen aktivatörü enjeksiyonu sonrasında tam AVD gelişimi sağlanmıştır.<sup>30</sup>

Bu ajan kan retina bariyerinin bozulmuş olduğu proliferatif diyabetik insan gözlerinde de vitrektomiden 15 dakika öncesinde enjekte edilmiş ancak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bir grup enjeksiyon yapılan gözlerde vitreus korteksinin ve proliferatif membranların ayrılmasının çok kolaylaşmış olduğunu bildirirken,<sup>31</sup> diğer bir grup ise TPA enjeksiyonu yapılan grup ile kontrol grubu arasında bir fark gözlememiştir. Araştırmacılar farklı dozda veya enjeksiyon sonrası daha uzun sürede sonuçların farklı çıkabileceğini özellikle vurgulamışlardır.<sup>32</sup>

Plazmin otolog olarak kişinin kendi plazmasından da elde edilebilir. Eldesi güç ve maliyetli olsa da otolog plazmin travmatik maküler holü olan pediatrik hastalarda, diyabetik retinopatide ve evre 3 maküler hollü gözlerde vitrektomiye ek olarak kullanılmış ve hastalarda güvenli ve etkin AVD gelişimi izlenmiştir.<sup>33-35</sup>

Son yıllarda farmakolojik vitreoliz hususunda en fazla ilgi uyandıran ajan ise mikroplazmindir. Mikroplazmin insan plazmininin katalitik kısmını içeren rekombinan bir proteindir. Proteaz aktivitesi plazmine eşdeğerdir ve en önemli üstünlüğü toz halinde stabil olarak saklanabilmesidir. Mikroplazmin periferik vasküler oklüzyonlarda kullanılmak üzere klinik çalışma amaçlı olarak Thrombogenics firması (ThromboGenics LTD., Dublin, İrlanda) tarafından geliştirilmiş ve daha sonra gözde farmakolojik vitreoliz amaçlı olarak denenmiştir.

Öncelikle postmortem insan ve domuz gözlerinde daha sonra in vivo tavşan ve kedi gözlerinde denenmiş doz bağımlı olarak tam AVD gelişimi izlenmiş ve iç retina

katmanlarında bir değişiklik meydana gelmemiştir.<sup>36,37</sup> Mikrop plazminin etkinliğini ve güvenliğini belirlemek için vitreomaküler tarksiyonlu 60 gözde faz II çalışma (MIVI-1) başlatılmış, ilacın doz ve süreye bağımlı olarak etkin AVD geliştirebildiği ancak yan etki olarak yüksek dozlarda retina dekolmanı geliştiği bildirilmiştir.<sup>38</sup> Mikrop plazminle ilgili olarak halen vitrektomisiz olarak diyabetik maküler ödemdeki etkinliğini araştıran çalışma devam etmektedir.

### Farmakolojik vitreodinami ve moleküler akım

Son yıllarda ortaya atılan bu kavram ile AVD oluştuktan sonra vitreoretinal mesafede meydana gelen mekanik ve biyokimyasal değişiklikler açıklanmaya çalışılmaktadır.<sup>39</sup> Mikrop plazmin ile indüklenen AVD sonrası pek çok molekülün vitreus seviyelerinde değişiklikler meydana gelmekte ve bu değişimlerin de çeşitli hastalıklarda koruyucu rol oynayabileceği idda edilmektedir.<sup>39</sup> Önceden pars plana vitrektomi sonrasında vitreusta oksijen konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir.<sup>40</sup> Yakın zamanda mikrop plazmin ile AVD'nin oluşturulduğu hayvan gözlerinde vitreoretinal arayüzde ve vitreus boşluğunda oksijen akımının arttığı gösterilmiştir.<sup>41</sup>

Ancak aynı etki vitreus sıvılaşmasını sağlayan hyaluronidaz ile elde edilememiştir. Bu sonuç oksijen difüzyonunun vitreusun sıvılaşmasından ziyade AVD gelişimi ile yakından ilişkili olduğunu düşündürmektedir.<sup>41</sup> Vitreusta oksijen konsantrasyonunun artması özellikle diyabetik hastalarda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üzerine etki gösterebilir. Kedi modelinde mikrop plazmin ile oluşturulan AVD'nin vitreus VEGF seviyesini azalttığı gösterilmiştir.<sup>42</sup> Ayrıca mikrop plazmin ile AVD oluşturulan tavşan gözlerinde intravitreal bevacizumabın retinal penetrasyonunun arttığı izlenmiştir.<sup>43</sup> Bu çalışmalar farmakolojik vitreolizin vitrektomisiz olarak tek başına diyabetik gözlerde tedavide etkin olabileceği yönünde ümit vermektedir.

Yaşa bağlı maküla dejenerasyonlu (YBMD) hastaların gözlerinde ayrılmamış arka hyaloïd insidansının yüksek olması dikkat çekicidir.<sup>44</sup> Bu nedenle persistan arka hyaloïd yapışıklığının eksudatif tip YBMD gelişimi için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür.<sup>45</sup> Persistan vitreomaküler traksiyonu sebep olabileceği kronik inflamasyon veya vitreomaküler arayüzde oksijen transportunun engellenmesi bu durumu açıklamak için öne sürülen hipotezlerdir. Ancak bilindiği üzere YBMD gelişimi multifaktöryeldir. YBMD önlenmesinde farmakolojik vitreodinaminin rolü ve tedavideki potansiyeli ilerleyen yıllarda yapılacak detaylı çalışmalarla daha iyi anlaşılabilir.

Farmakolojik vitreoliz halen gelişme aşamasında olan bir tedavidir. Özet olarak bu tedavinin amaçları; temiz bir İLM yüzeyi bırakacak tam bir vitreoretinal ayrılma, vitreoretinal arayüzde mevcut vitreoretinal tekniklere göre çok daha az manuplasyon, moleküler akımdaki değişimlere bağlı olarak daha iyi oksijenasyon ve ileride seçilmiş patolojilerde profilaksi olarak sıralanabilir. Bugün

için bu amaçlara en yakın olarak plazmin ve derivelerini görmekteyiz. Tedavide belki tek ağından ziyade kombine kullanımlar daha iyi sonuçlara ulaşılmasını sağlayabilir. Vitreus yapısının ve vitreoretinal yapışmanın daha iyi anlaşılması bu tedavide etkin, güvenilir ve kullanımı pratik ajanların geliştirilmesini sağlayabilir.

### KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Sebag J, Balazs EA.: Morphology and ultrastructure of human vitreous fibers. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1989;30:1867-1871.
2. Sebag J, Balazs EA.: Human vitreous fibres and vitreoretinal disease. Trans Ophthalmol Soc U K. 1985;104:123-128.
3. Sebag J.: Molecular biology of pharmacologic vitreolysis. Trans Am Ophthalmol Soc. 2005;103:473-494.
4. Bishop PN.: Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel. Prog Retin Eye Res. 2000;19:323-344.
5. Mayne R.: The eye. In: Royce PM, Steinman B, eds. Connective tissue and heritable disorders. New York: Wiley-Liss. 2002:131-141.
6. Comper WD, Laurent TC.: Physiological function of connective tissue polysaccharides. Physiol Rev. 1978;58:255-315.
7. Scott JE, Chen Y, Brass A.: Secondary and tertiary structures involving chondroitin and chondroitin sulphates in solution, investigated by rotary shadowing/electron microscopy and computer simulation. Eur J Biochem. 1992;209:675-680.
8. Wang J, McLeod D, Henson DB, et al.: Age-dependent changes in the basal retinovitreal adhesion. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44:1793-800.
9. Spencer LM, Foos RY.: Paravascular vitreoretinal attachments. Role in retinal tears. Arch Ophthalmol. 1970;84:557-564.
10. Bishop PN, Holmes DF, Kadler KE, et al.: Age-related changes on the surface of vitreous collagen fibrils. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004;45:1041-1046.
11. Sebag J.: Anomalous posterior vitreous detachment: a unifying concept in vitreo-retinal disease. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2004;42:690-698.
12. O'Neill R, Shea M.: The effects of bacterial collagenase in rabbit vitreous. Can J Ophthalmol. 1973;8:366-370.
13. Hageman GS, Russell SR.: Chondroitinase-mediated disinsertion of the primate vitreous body. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1994;35:1260.
14. Russell SR, Hageman GS.: Chondroitin sulfate-induced generation of epiretinal membranes. Arch Ophthalmol. 1992;110:1000-1006.
15. Takano A, Hirata A, Ogasawara K, et al.: Posterior vitreous detachment induced by nattokinase (subtilisin NAT): a novel enzyme for pharmacologic vitreolysis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006;47:2075-2079.
16. Tezel TH, Del Priore LV, Kaplan HJ.: Posterior vitreous detachment with dispase. Retina. 1998;18:7-15.
17. Jorge R, Oyamauchi EK, Cardillo JA, et al.: Intravitreal injection of dispase causes retinal hemorrhages in rabbit and human eyes. Curr Eye Res. 2003 ;26:107-112.
18. Narayanan R, Kuppermann BD.: Hyaluronidase for pharmacologic vitreolysis. Dev Ophthalmol. 2009;44:20-25.
19. Kuppermann BD, Thomas EL, de Smet MD, et al.: Vitrase for Vitreous Hemorrhage Study Groups. Pooled efficacy results from two multinational randomized controlled clinical trials of a single intravitreal injection of highly purified ovine hyaluronidase (Vitrase) for the management of vitreous hemorrhage. Am J Ophthalmol. 2005;140:573-584.

20. Kuppermann BD, Thomas EL, de Smet MD, et al.: Vitrase for Vitreous Hemorrhage Study Groups. Safety results of two phase III trials of an intravitreal injection of highly purified ovine hyaluronidase (Vitrase) for the management of vitreous hemorrhage. *Am J Ophthalmol.* 2005;140:585-597
21. Gottlieb JL, Antoszyk AN, Hatchell DL, et al.: The safety of intravitreal hyaluronidase. A clinical and histologic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1990;31:2345-2352.
22. Hikichi T, Kado M, Yoshida A.: Intravitreal injection of hyaluronidase cannot induce posterior vitreous detachment in the rabbit. *Retina.* 2000;20:195-198.
23. Kohno T, Sorgente N, Ishibashi T, et al.: Immunofluorescent studies of fibronectin and laminin in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1987;28:506-514.
24. Liotta LA, Goldfarb RH, Brundage R, et al.: Effect of plasminogen activator (urokinase), plasmin, and thrombin on glycoprotein and collagenous components of basement membrane. *Cancer Res.* 1981;41:4629-4636.
25. Verstraeten TC, Chapman C, Hartzler M, et al.: Pharmacologic induction of posterior vitreous detachment in the rabbit. *Arch Ophthalmol.* 1993 ;111:849-854.
26. Hikichi T, Yanagiya N, Kado M, et al.: Posterior vitreous detachment induced by injection of plasmin and sulfur hexafluoride in the rabbit vitreous. *Retina.* 1999;19:55-58.
27. Gandorfer A, Putz E, Welge-Lüssen U, et al.: Ultrastructure of the vitreoretinal interface following plasmin assisted vitrectomy. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:6-10.
28. Gandorfer A, Priglinger S, Schebitz K, et al.: Vitreoretinal morphology of plasmin-treated human eyes. *Am J Ophthalmol.* 2002;133:156-159.
29. Li X, Shi X, Fan J: Posterior vitreous detachment with plasmin in the isolated human eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2002;240:56-62.
30. Hesse L, Nebeling B, Schroeder B, et al.: Induction of posterior vitreous detachment in rabbits by intravitreal injection of tissue plasminogen activator following cryopexy. *Exp Eye Res.* 2000;70:31-39.
31. Hesse L, Chofflet J, Kroll P.: Tissue plasminogen activator as a biochemical adjuvant in vitrectomy for proliferative diabetic vitreoretinopathy. *Ger J Ophthalmol.* 1995;4:323-327.
32. Le Mer Y, Korobelnik JF, Morel C, et al.: TPA-assisted vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy: results of a double-masked, multicenter trial. *Retina.* 1999;19:378-382.
33. Margherio AR, Margherio RR, Hartzler M, et al.: Plasmin enzyme-assisted vitrectomy in traumatic pediatric macular holes. *Ophthalmology.* 1998 ;105:1617-1620.
34. Williams JG, Trese MT, Williams GA, et al.: Autologous plasmin enzyme in the surgical management of diabetic retinopathy. *Ophthalmology.* 2001;108:1902-1905
35. Trese MT, Williams GA, Hartzler MK.: A new approach to stage 3 macular holes. *Ophthalmology.* 2000;107:1607-1611.
36. Gandorfer A, Rohleder M, Sethi C, et al.: Posterior vitreous detachment induced by microplasmin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:641-647.
37. Sakuma T, Tanaka M, Mizota A, et al.: Safety of in vivo pharmacologic vitreolysis with recombinant microplasmin in rabbit eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:3295-3299.
38. de Smet MD, Gandorfer A, Stalmans P, et al.: Microplasmin intravitreal administration in patients with vitreomacular traction scheduled for vitrectomy: the MIVI I trial. *Ophthalmology.* 2009;116:1349-1355.
39. Goldenberg DT, Trese MT: Pharmacologic vitreodynamics and molecular flux. *Dev Ophthalmol.* 2009;44:31-36.
40. Barbazetto IA, Liang J, Chang S, et al.: Oxygen tension in the rabbit lens and vitreous before and after vitrectomy. *Exp Eye Res.* 2004;78:917-924.
41. Quiram PA, Leverenz VR, Baker RM, et al.: Microplasmin-induced posterior vitreous detachment affects vitreous oxygen levels. *Retina.* 2007;27:1090-1096.
42. Quiram PA, Leverenz V, Baker R, et al.: Enzymatic induction of a posterior vitreous detachment alters molecular vitreodynamics in animal models (ARVO abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007:83.
43. Goldenberg DT, Leverenz V, Giblin FJ, et al.: Posterior vitreous detachment alters retinal penetration of intravitreal bevacizumab (Avastin) in rabbit eyes (ARVO abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008: 5616.
44. Ondaş F, Yılmaz G, Acar MA, et al.: Role of the vitreous in age-related macular degeneration. *Jpn J Ophthalmol.* 2000;44:91-93.
45. Krebs I, Brannath W, Glittenberg C, Zeiler et al.: Posterior vitreomacular adhesion: a potential risk factor for exudative age-related macular degeneration? *Am J Ophthalmol.* 2007;144:741-746.