

# Farmakolojik Vitreolizis

## Pharmacologic Vitreolysis

A. Hakan DURUKAN<sup>1</sup>

### ÖZ

Arka vitreus dekolmanı oluşturmak ve retina üstündeki traksiyonel kuvvetleri azaltmak, vitreoretinal cerrahinin temel hedefidir. Vitreusun retinadan ayrılmasında halen mekanik olan cerrahi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yaklaşım, iyatrojenik retina yırtıklarına, retina dekolmanına ve sinir lifi hasarına neden olabilmektedir. Vitreoretinal hastalıklara karşı invaziv olmayan yaklaşımlara olan ihtiyaç, yeni yöntemlerin gelişmesini sağlamıştır. Retinaya hasar vermeden, selektif olarak vitreoretinal bağlantıyı ayırabilecek, farmakolojik bir ajana sahip olmak, vitreoretinal cerrahide oldukça yardımcı olacaktır. Farmakolojik vitreolizis, vitreusun moleküler organizasyonunu değiştirecek ajanların kullanılarak, vitreusun kollapsını ve retinadan ayrılmasını sağlamaya yönelik bir girişimdir. Bu amaçla birçok enzim çalışılmıştır. Bu makalede, farmakolojik vitreoliziste kullanılan ajanlar ve yöntemler hakkında bilgi sunulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Farmakolojik vitreolizis, Vitreoretinal arayüz.

### ABSTRACT

Inducing a posterior vitreous detachment and the release of tractional forces on the retina is a major objective of vitreoretinal surgery. At present, surgical separation of the vitreous from the retina is achieved by mechanical means only. This approach may cause iatrogenic retinal breaks, retinal detachment, and nerve fiber damage. The need for a noninvasive approach to vitreoretinal disorders is being met by new methods. It would be helpful to have a pharmacologic agent that could cleave the vitreoretinal interface selectively without damaging the retina for vitreoretinal surgery. Pharmacologic vitreolysis refers to the use of agents that alter the molecular organization of vitreous leading to the separation and collapse of the vitreous away from the retina. Several enzymes have been explored for this purpose. In this article, one can find information about the agents and methods for pharmacologic vitreolysis.

**Key Words:** Pharmacologic vitreolysis, vitreoretinal interface.

*Ret-Vit 2007;15:Özel Sayı:143-146*

### GİRİŞ

#### Vitreusun Makromoleküler Organizasyonu ve Vitreoretinal Bağlantı

Son yıllarda, çeşitli retinopatilerin patogeneğinde vitreusun önemi artan bir şekilde anlaşılmıştır. Farmakolojik vitreolizis terimi, vitreusun hastalıklardaki rolünü ortadan kaldırmak veya azaltmak için, vitreusun moleküler organizasyonunu değiştirecek ajanların kullanımını ifade eder.<sup>1</sup> Vitreus jelinin farmakolojik olarak etkin bir şekilde likefaksiyonu (sıvılaştırılması) ve vitreusun retinadan emniyetli olarak ayrılması, vitreus ve vitreoretinal arayüzeyin moleküler organizasyonunun tam olarak anlaşılmasını gerektirir.<sup>2</sup>

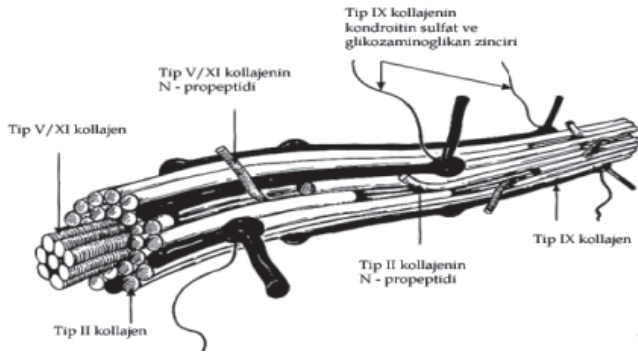
Vitreus, %98'i sudan oluşan viskoelastik ekstrasellüler bir matrikstir. İçerdiği makromoleküler komponentlerin karmaşık organizasyonu nedeniyle jel kıvamındadır. Yapısal olarak gövdesini kollajen (esas olarak tip II, aynı zamanda tip IX ve V/XI hibrid tipler) oluştururken, visko-

lastisite hyaluronan tarafından sağlanır.<sup>3</sup> Tip IX kollajen, fibrilin yüzeyinde yerleşir ve muhtemelen kollajen fibrilin diğer moleküllerle karşılıklı etkileşimini düzenler (Resim 1). Böylece jel kıvamının korunmasında önemli bir rol oynar. İki temel yapısal makromolekülün, üç boyutlu bir ağ örgüsü oluşturmak üzere organize edilmesinde çeşitli proteoglikanlar, glikoproteinler ve diğer moleküllerin (fibrilin, optisin) rol oynadığı düşünülmektedir. Periferik vitreus, yoğun bir şekilde kümelenmiş kollajen fibrillerden ve yüksek konsantrasyonda hyaluronandan oluşur. Gençlerde arka vitreus korteksi, retinanın iç limitan lamina-sına sıkıca bağlıdır. Müller hücrelerinin bazal lamina-sından oluşan iç limitan lamina, glikoproteinlerle yakın ilişkide olan tip IV kollajenden oluşmaktadır.

Vitreoretinal bağlantının özellikleri tam olarak bilinmese de, bu arayüzde bulunan ekstrasellüler matriks moleküllerinin biyofiziksel özelliklerinin bu bağlantıyı sağlamada muhtemelen görev almaktadır. Yaşlanmayla beraber, bu bağlantı zayıflar.

1- GATF Göz Hastalıkları A.D., Ankara, Doç. Dr.

**Correspondence:** M.d. Associate Professor, A. Hakan DURUKAN  
Gülhane Military Hospital, Department of Ophthalmology Ankara - Turkey  
ahakand@yahoo.com



**Resim 1:** Vitreus kollajen lifinin yapısı.<sup>2</sup>

Zayıflamanın muhtemel nedeni, tüm vücuttaki bazal membranlarda meydana gelen tipik değişikliklerle beraber vitreusu çevreleyen dokulardaki hücre metabolizması ve ışık tarafından oluşturulan serbest radikallerdir. Jelin likefaksiyonunun diğer nedenleri arasında ışık, proteolitik enzimler ve endojen metalloproteazlar ileri sürülmektedir.<sup>4-6</sup> 80-90 yaşlarına gelindiğinde, vitreusun yarısından fazlası artık sıvı halindedir. Eş zamanlı olarak gelişen vitreoretinal arayüzün zayıflaması ve jelin likefaksiyonu, arka vitreus dekolmanı (AVD) ile sonuçlanır. AVD'nin komplikasyona neden olmaması için iki farklı olay aynı anda meydana gelmelidir: vitreoretinal adezyonun zayıflaması ve vitreus likefaksiyonu. Vitreoretinal bağlantının zayıflamasının eşlik etmediği likefaksiyon, anormal AVD ile sonuçlanır ve retina üzerinde traksiyon oluşur. Bu olay birçok vitreoretinopatinin patogeneğinde rol oynayan ortak bir sonuçtur. Traksiyonun uygulandığı yere bağlı olarak farklı klinik tablolar ortaya çıkar. Periferde retina yırtıkları ve dekolmanlar oluşurken; makulada vitreomakuler traksiyon sendromu, makuler holler veya pukerla beraber premakuler membranlar ortaya çıkar.<sup>2</sup>

## FARMAKOLOJİK VİTREOLİZİS

Vitreusun jel yapısına ve onun retina ile olan bağlantılarına müdahale etmek için uygun bir farmakolojik yöntem geliştirilmesinin ideal yolu, öncelikle bu yapının moleküler organizasyonunu ortaya koymak ve daha sonra bunu değiştirecek uygun yöntemleri geliştirmektir. Farmakolojik vitreolizis terimi, vitreusun hastalıklardaki rolünü ortadan kaldırmak veya azaltmak için, vitreusun moleküler organizasyonunu değiştirecek ajanların kullanımını ifade eder.<sup>1</sup> Vitreoretinal cerrahiye yardımcı olabilecek veya cerrahi yerine bile kullanılabilecek çeşitli enzimler ileri sürülmüştür. Kondroitinaz, hyaluronidaz, dispaz ve plazmin bunlardan bazılarıdır. Bu yaklaşımın amacı, farmakolojik olarak vitreus kollajenine müdahale ederek, hem santral olarak vitreusta sıvılaşma (sinkizis), hem de arka vitreus dekolmanı (AVD, sinerezis) oluşturmak için vitreoretinal arayüz boyunca çözülme elde edilmesidir. Böylece, günümüzde mekanik yaklaşımla elde edilenden

daha emniyetli ve daha temiz bir ayrılma düzlemi elde edilir.<sup>7</sup> Aksi takdirde anormal PVD gelişecektir.

### Farmakolojik Vitreoliziste Kullanılabilecek

#### Enzim Adayları

**Kondroitinaz:** 240 kDa'luk kondroitin sulfat proteoglikanın vitreoretinal arayüzle ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>8</sup> Bu proteoglikanın en yüksek immünoreaktivitesi, vitreus tabanı ve papilla kenarı gibi vitreoretinal bağlantının sıkı olduğu bölgelerde gözlenmiştir. Bu durum vitreoretinal bağlantıda önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Kondroitinaz bu proteoglikanı parçalar. İki insan gözüyle, 57 cynomolgus maymununda vitrektomiye yardımcı ajan olarak çalışılmıştır.<sup>8</sup> Enzimin intravitreal enjeksiyonu, vitreus tabanı da dahil olmak üzere, internal limitan membrana (İLM) zarar vermeden vitreusun retinadan ayrılmasına neden olmuştur. Üç maymun cerrahiden sonra 14-16 ay takip edilmişlerdir. Gözler takip süresince berrak ve sessiz kalmışlar, elektoretinogramlar (ERG) kontrol grubundan farksız bulunmuştur.<sup>8</sup> Ayrıca, dört maymunda kondroitinaz epiretinal membranları ayırmak için kullanılmıştır. Bu gözlem, epiretinal membranların İLM'a yapışmasında kondroitin sulfat proteoglikanın katkısı bulunduğu yolunda kanıt sağlamıştır.<sup>8</sup> Kondroitinaz faz I insan çalışmalarında kullanılmış, fakat sonuçlar henüz yayınlanmamıştır.

**Hyaluronidaz:** Hyaluronidaz, vitreusun iki majör makromolekülünden biri olan hyaluronan üzerine etki eder.<sup>1</sup> Hyaluronidazın (Vitrace, ISTA Pharmaceuticals, Irvine, CA) vitreusu sıvılaştıracak bir ajan olduğu öne sürülmüştür. Bu durum vitreus boşluğunun daha hızlı bir şekilde temizlenmesine ve kanama durumunda, vitreus hemorajisinin daha erken çözünmesine olanak sağlayabilir. Faz III klinik çalışmada, vitreus hemorajili hastalarda hyaluronidazın etkisi gösterilmiştir. 55 IU oldukça saflaştırılmış koyun hyaluronidazının intravitreal enjeksiyonundan bir ay sonra gözlerde berraklaşma gözlenmiş<sup>9</sup> ve ciddi komplikasyon bildirilmemiştir.<sup>10</sup> Özellikle, retina dekolmanı insidansı yönünden tedavi edilen gözlerle, kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir.<sup>10</sup>

Hyaluronidaz, vitreoretinal yapışıklıktan sorumlu molekülleri parçalamadığından AVD oluşturmada etkili olabileceği düşünülmektedir.<sup>2</sup> Gerçekten de, tavşanlardaki hyaluronidaz çalışmalarında, AVD oluşturulması başarısızlıkla sonuçlanmıştır.<sup>11</sup>

**Dispaz:** *Bacillus polymixa*'nın kültür filtratlarından elde edilen 41 kDa nötral bir proteindir. Selektif olarak Tip IV kollajeni ve fibronektini parçalar.<sup>12</sup> Enzimin in vivo domuz gözlerinde, enükle insan ve domuz gözlerinde AVD oluşumunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir.<sup>13</sup> İn vivo tavşan ve enükleasyondan 15 dakika önce insan gözlerine intravitreal olarak enjekte edilen dispaz, intraretinal hemorajilere ve kanama yerlerinde İLM'in parçalanmasına

neden olmuştur.<sup>14</sup> Bu serilerde, dispazın AVD oluşturma üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

**Plazmin:** Fibrinolize aracılık eden nonspesifik bir serin proteazıdır. Aynı zamanda matriks metalloproteinaz 2 (MMP-2) ve çeşitli glikoproteinler (laminin ve fibronektin) üzerinde etkilidir. Laminin ve fibronektin, vitreoretinal arayüzde bulunurlar ve vitreus ile retinayı bir arada tutan "yapıştırıcıyı" oluşturdukları düşünülmektedir.<sup>15</sup> 1993'te, tavşan gözlerinde plazminin intravitreal enjeksiyonunu takiben vitrektomi ile AVD oluşturulabileceği gösterilmiştir.<sup>16</sup> 1 U insan plazmini uygulaması sonrası, berrak bir vitreoretinal arayüzün izlendiğini ve elektoretinogramda retinal toksisiteye ait hiçbir bulgu olmadığını bildirmişlerdir.<sup>16</sup> 1999'da Hikichi ve arkadaşları, tavşan modelinde 0.5 ml sülfür hekzaflorid (SF<sub>6</sub>) ve 1 U plazmin enjeksiyonu sonrası, tam bir AVD oluştuğunu ve retinal toksisiteye rastlanmadığını tespit etmişlerdir.<sup>17</sup>

Postmortem domuz gözlerinde, ilave vitrektomi veya gaz enjeksiyonu uygulamadan, enzimin intravitreal enjeksiyonu sonrası vitreus korteksinin İLM'dan doz-bağımlı bir şekilde ayrıldığı gözlenmiştir.<sup>18</sup> Tarayıcı elektron mikroskopi, 1 ve 2 U domuz plazminin intravitreal enjeksiyonunun, sırasıyla 30 ve 60 dakika sonra çıplak bir İLM yüzeyi oluşturduğunu göstermiştir. Dengeli tuz solüsyonu (BSS) enjekte edilen diğer gözlerde (kontrol), kortikal vitreusun retinaya yapışık olduğu tespit edilmiştir. İnsan donör gözlerinde, 2 U insan plazmini, enjeksiyon sonrası 30 dakikada tam bir AVD oluşturmuştur. Oysa kontrol grubu olan diğer gözlerin vitreoretinal yüzeyinin, kollajen fibrillerle kaplı olduğu gözlenmiştir.<sup>19</sup> Her iki çalışmada, transmisyon elektron mikroskobisi, plazmin uygulanan gözlerde tamamiyle korunmuş ve temiz bir İLM olduğunu göstermiştir. İç retinal hasara ait hiçbir bulguya rastlanmamıştır. Vitreus tabanında ayrılma gözlenmemiştir.<sup>18,19</sup>

Bununla beraber, plazmin klinik uygulama için mevcut değildir. Bu nedenle vitreoretinal cerrahide plazmin enzimini uygulamak için üç alternatif strateji geliştirilmiştir. İlki, endojen plazminojenin intravitreal aktivasyonu ile plazmin oluşturmak için, vitreus boşluğuna rekombinant doku plazminojen aktivatörü (rtPA) enjekte edilmesidir. Tavşan gözlerinde, 25 µg rtPA uygulanan tüm gözlerde tam bir AVD gözlenmiştir.<sup>20</sup> Plazminojenin vitreusa girmesine olanak sağlamak için, kan-retina bariyerinin yıkılması gereklidir ve bu, kriyokoagülasyonla sağlanmıştır.<sup>20</sup>

İkincisi, kromatografiyle hastanın kendi plazmasından saflaştırılan otolog plazminojenin, in vitro streptokinaz aracılığıyla plazmine döndürülmesidir. 0.4 U otolog plazmin enzimi (APE) pediatrik maküler holü, diyabetik retinopatisi ve stage 3 maküler holü olan hastaların vitreusuna enjekte edilmiş ve 15 dakika sonra vitrektomi uygulanmıştır.<sup>21-22</sup> Tüm APE uygulanan gözlerde, arka hyaloidin spontan olarak veya kolayca ayrıldığı (dekole

retina alanı üzerinde vitreoskizisi olan bir göz dahil) tespit edilmiştir.

Üçüncüsü, insan plazmininin katalitik bölgesini içeren budanmış bir molekül olan rekombinant mikroplazminin (ThromboGenics Ltd., Dublin, İrlanda) postmortem insan<sup>23</sup> ve domuz<sup>24</sup> gözlerinin vitreusuna, tavşan gözlerine ve in vivo bir kedi modeline başarıyla uygulanmasıdır.<sup>23,24</sup> Tüm deneysel modellerde, doz-bağımlı bir şekilde tam bir AVD elde edilmiştir. Elektron mikroskopide iç retinada hiçbir değişiklik gözlenmemiştir. Nöronların ve glial hücrelerin antijenitisinde değişiklik olmamıştır.

**Kollajenaz:** 1973 yılında tavşan vitreusunda kullanılmıştır.<sup>25</sup> Kollajenazın kullanımıyla ilgili son zamanlarda çalışma olmadığı görülmektedir. Kollajenazın oldukça spesifik bir formu (tip IX kollajenaz) uygulanırsa, bu molekülün vitreusun jel kıvamının sağlanmasındaki etkisi zayıflatılabilir. Diğer kollajenlere bir etki olmayacağından, istenmeyen yan etkilerden kaçınılmış olur.

**Nattokinaz:** *Bacillus Subtilis*'ten ele edilen bir serin proteazdır. Plazminojen aktivasyonu yapar ve plazminojen aktivatör inhibitörlerini inhibe eder. Tavşan gözlerinde AVD oluşturduğu gösterilmiştir.<sup>26</sup> Yüksek dozlarda preretinal hemopaji ve ERG değişikliklerine yol açtığı bildirilmiştir.<sup>26</sup>

Vitreusun moleküler morfolojisinin ve vitreoretinal arayüzün yapısının daha iyi bir şekilde anlaşılması, farmakolojik vitreolizis için daha etkili ve uygun ajanların geliştirilmesini sağlayacaktır. Birçok vitreoretinal hastalıkta görülen fizyopatolojiyi düzeltmek için tek bir ajan muhtemelen yeterli olmayacaktır. Gelecekte, hastanın yaşına, hastalığın cinsine ve elde edilmek istenen etkiye göre dozlarının ayarlanacağı kombine ajanların kullanımı görülecektir. İdeal olarak, farmakolojik vitreolizis vitreoretinal bağlantının çözülmesiyle başlamalı ve jel vitreusun likefaksiyonu ile devam ettirilmelidir.

## KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Sebag J.: Pharmacologic vitreolysis. *Retina*. 1998;18:1-3.
2. Sebag J.: Is pharmacologic vitreolysis brewing? *Retina*. 2002;22:1-3.
3. Scott JE.: The chemical morphology of the vitreous. *Eye*. 1992;6:553-555.
4. Ueno N, Sebag J, Hirokawa H, et al.: Effects of visible-light irradiation on vitreous structure in the presence of a photosensitizer. *Exp Eye Res*. 1987;44:863-870.
5. Vaughan-Thomas A, Gilbert SJ, Duance VC.: Elevated levels of proteolytic enzymes in the aging human vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:3299-3304.
6. Brown DJ, Bishop P, Hamdi H, et al.: Cleavage of structural components of mammalian vitreous by endogenous matrix metalloproteinase-2. *Curr Eye Res*. 1996; 15:439-445.
7. Trese MT.: Enzymatic-assisted vitrectomy. *Eye*. 2002;16:365-368.
8. Hageman GS, Russell SR.: Chondroitinase-mediated disinsertion of the primate vitreous body. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35:1260.

9. 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 (Vitrased) for the management of vitreous hemorrhage. *Am J Ophthalmol.* 2005;140:573-584.
10. 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 (Vitrased) for the management of vitreous hemorrhage. *Am J Ophthalmol.* 2005;140:585-597.
11. Hikichi T, Kado M, Yoshida A.: Intravitreal injection of hyaluronidase cannot induce posterior vitreous detachment in the rabbit. *Retina.* 2000;20:195-198.
12. Stenn KS, Link R, Moellmann G, et al.: Dispase, a neutral protease from *Bacillus polymyxa*, is a powerful fibronectinase and type IV collagenase. *J Invest Dermatol.* 1989;93:287-290.
13. Tezel TH, Del Priore LV, Kaplan HJ.: Posterior vitreous detachment with dispase. *Retina.* 1998;18:7-15.
14. Jorge R, Oyamaguchi EK, Cardillo JA, et al.: Intravitreal injection of dispase causes retinal hemorrhages in rabbit and human eyes. *Curr Eye Res.* 2003;26:107-112.
15. 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.
16. Verstraeten TC, Chapman C, Hartzler M, et al.: Pharmacologic induction of posterior vitreous detachment in the rabbit. *Arch Ophthalmol.* 1993;111:849-854.
17. 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.
18. 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.
19. Gandorfer A, Priglinger S, Schebitz K, et al.: Vitreoretinal morphology of plasmin-treated human eyes. *Am J Ophthalmol.* 2002;133:156-159.
20. 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.
21. Williams JG, Trese MT, Williams GA, et al.: Autologous plasmin enzyme in the surgical management of diabetic retinopathy. *Ophthalmology.* 2001;108:1902-1905.
22. Trese MT, Williams GA, Hartzler MK.: A new approach to stage 3 macular holes. *Ophthalmology.* 2000;107:1607-1611.
23. Gandorfer A, Rohleder M, Sethi C, et al.: Posterior vitreous detachment induced by microplasmin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:641-647.
24. 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.
25. O'Neill R, Shea M.: The effects of bacterial collagenase in rabbit vitreous. *Can J Ophthalmol.* 1973;8:366-370.
26. 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.