

**Universidad Cardenal Herrera C.E.U.**

**Departamento de Ciencias Biomédicas**



**Aplicación de la plasmina autóloga  
simplificada intravítrea en patología de la  
interfase vítreoretiniana**

**TESIS DOCTORAL**

Presentada por:

Patricia Udaondo Mirete

Dirigida por:

Dr. Salvador García Delpech; Dr. David Salom Alonso

VALENCIA

2017



## Certificado de los directores de la tesis doctoral

Los abajo firmantes, D. Salvador García Delpech, Doctor en Medicina y Cirugía y Profesor Asociado de la Universidad de Valencia y D. David Salom Alonso, Doctor en Medicina y Cirugía, actuando en calidad de directores del a tesis doctoral realizada por Patricia Udaondo Mirete con el título “Aplicación de la plasmina autóloga simplificada intravítrea en patología de la interfase vítreoretiniana” en el Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad Cardenal Herrera C.E.U,

### CERTIFICAN:

1. Que Patricia Udaondo Mirete ha realizado la tesis bajo nuestra dirección, en el Departamento de Ciencias Biomédicas y
2. Que una vez revisada opr nosotros, esta Tesis Doctoral es apta para su depósito y posterior lectura y defensa públicas en la Universidad Cardenal Herrera C.E.U

Y para que conste a efectos oportunos firmamos el presente certificado en Valencia, a 21 Marzo de 2017

Salvador García Delpech

David Salom Alonso



## **DEDICATORIA**

Para mi madre por todo y por siempre, gracias. Yo soy como soy gracias a ti.

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría agradecer en primer lugar a Salvador García y David Salom por su apoyo no sólo para hacer esta tesis sino por el trabajo en equipo desde el primer día de mi incorporación laboral que hace que todo sea mejor, más fácil y productivo; está claro que lo que no suma resta y vosotros sumáis siempre como compañeros y amigos.

En segundo lugar a mi familia: mis tíos, mi abuela, mi primo y a Davide que siempre habéis confiado en mi a ciegas y me habéis apoyado y animado en todo momento; os pido perdón por todo el tiempo que os he robado y os seguiré robando por mi profesión. Se que respetáis mis decisiones aunque a veces sea difícil.

Quisiera una mención especial para los que anónimamente habéis dado el último empujón imprescindible para que esta tesis salga a la luz finalmente.

En último lugar, pero no menos importante, a Paco Bosch por ayudarme con los pequeños pero imprescindibles detalles y todos los consejos para que esta tesis llegara a tiempo.

# ÍNDICE

## Capítulo 1. **INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

- 1.1 El vítreo y la interfase vítreorretiniana
- 1.2 Vitreolisis farmacológica
  - 1.2.1 Agentes vitreolíticos
    - 1.2.1.1 Activador del plasminógeno tisular
    - 1.2.1.2 Nattokinasa
    - 1.2.1.3 Condroitina
    - 1.2.1.4 Dispasa
    - 1.2.1.5 Hialuronidasa
    - 1.2.1.6 Colagenasa
    - 1.2.1.7 Ocriplasmina
- 1.3 Plasmina autóloga
- 1.4 Justificación de la Tesis

## Capítulo 2. **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## Capítulo 3. **MATERIALES Y MÉTODOS**

- 3.1 Diseño
- 3.2 Criterios de inclusión y exclusión
  - 3.2.1 Pacientes con EMD difuso
  - 3.2.2 Pacientes con MER macular
  - 3.2.3 Pacientes con síndrome de TVM
  - 3.2.4 Pacientes con edema macular secundario a OVRV
- 3.3 Examen preoperatorio

3.4 Preparación de la plasmina autóloga

3.5 Técnica de inyección

3.6 Variables y mediciones

3.7 Análisis estadístico

## Capítulo 4. **RESULTADOS**

4.1 Fiabilidad de la técnica de preparación de la plasmina autóloga con uroquinasa

4.2 Resultados en pacientes con EDM difuso

4.3 Resultados en pacientes con MER macular y/o síndrome de TVM

4.4 Resultados en pacientes con edema macular secundario a OVRV

## Capítulo 5. **DISCUSIÓN**

## Capítulo 6. **RESUMEN Y CONCLUSIONES**

## Capítulo 7. **BIBLIOGRAFÍA**

**ABREVIATURAS**

AVM	Adherencia vítreomacular
AVMC	Agudeza visual mejor corregida
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica
DMAE	Degeneración macular asociada a la edad
DVP	Desprendimiento del vítreo posterior
EDM	Edema macular diabético
MER	Membrana epirretiniana
ORVR	Oclusión de rama venosa de la retina
rPA	Activador del plasminógeno tisular recombinante
tPA	Activador del plasminógeno tisular
TCO	Tomografía de coherencia óptica
TVM	Tracción vítreomacular
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular

## Capítulo 1. **INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

## 1.1 El vítreo y la interfase vítreorretiniana

El vítreo es una matriz extracelular de forma esférica que rellena el centro del ojo con un material viscoelástico transparente que mantiene claridad y protege las estructuras internas frente a movimientos del ojo, la cabeza y el cuerpo. Tiene un volumen de aproximadamente 4 mL, un peso cercano a los 4 g y ocupa cuatro quintas partes del volumen total del ojo (80%). Desde el nacimiento el vítreo sufre un crecimiento importante aumentando desde los 10,5 mm en el recién nacido a los 16,5 mm de media del varón adulto.

Respecto a la composición molecular del vítreo, el 99% es agua. Tiene un escaso contenido celular, destacando algunos fibroblastos, células gliales y macrófagos. No obstante, la estructura principal del vítreo está formada por una matriz de ácido hialurónico rodeado de fibrillas de colágeno. La relación y proporción entre estos dos componentes es lo que confiere al vítreo su estructura al vítreo. El vítreo cortical tiene un mayor contenido de ambos componentes comparado con el vítreo central que es menos denso. Esta diferencia se va haciendo más evidente con la edad al progresar la licuefacción del vítreo central con los años. Como parte del proceso de envejecimiento, en la parte anterior del vítreo se produce la licuefacción en estadios más tempranos que en la posterior, pudiéndose deber dichos cambios a las alteraciones en las moléculas de ácido hialurónico [1-3].

Las fibras de colágeno vítreas contienen principalmente colágeno tipo II y, en menor medida un híbrido de los tipos V y IX [4]. El colágeno tipo II constituye el 80% del colágeno total. Se sintetiza como procolágeno y es excretado luego al

espacio extracelular donde es mucho más soluble. Será la actividad de las enzimas N-proteinasa y C-proteinasa las que reducirán la solubilidad del colágeno permitiéndole a las moléculas cruzarse y conectarse entre sí [9]. El colágeno tipo IX tiene una configuración que se encuentra, por lo general, ubicada a los lados de las fibras más grandes de colágeno, pero es probable que tenga una escasa interacción con otros componentes del matriz extracelular que compone el vítreo [5]. Este colágeno tiene siempre una cadena de condroitín sulfato conectada que se tiñe con tintes catiónicos y es posible su visualización mediante microscopía electrónica. Finalmente, el colágeno V se cree que compone el núcleo central de las fibras del vítreo, forma un híbrido con fibras tipo XI e interacciona con otras estructuras de la matriz.

El ácido hialurónico es un polisacárido (glucosaminoglucano) formado por ácido D-glucurónico y por N-acetil-D-glucosamina. La tasa de ácido hialurónico aumenta desde el nacimiento hasta, aproximadamente, los 13 años para después mantenerse estable; aparentemente no hay ningún tipo de degradación extracelular en la vida adulta. El volumen del ácido hialurónico es variable según la hidratación que presente entre 2000 y 3000 cc/g; de esta manera puede extenderse o contraerse, dentro de unos límites, según las condiciones del vítreo, variando a su vez el tamaño del mismo. Esta es la razón por la que cualquier patología que altere los niveles de hidratación de manera importante puede influir en una disminución del tamaño del cuerpo vítreo, como en el caso de la diabetes. En la diabetes se ha observado, asimismo, un aumento del contenido de glucosa que originan alteraciones estructurales del

vítreo de la contracción e inflamación del cuerpo vítreo y transmitiendo tracción a la retina [6,7]. Otra propiedad del ácido hialurónico es la exclusión estérica [8] que afecta a la presión osmótica y actividad enzimática, fenómenos involucrados en la formación patológica de opacidades [9].

Otros componentes moleculares del vítreo incluyen proteínas no colágenas, glucoproteínas, ácido ascórbico y metaloproteinasas. Respecto a las metaloproteinasas y sus inhibidores se ha descrito que desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la transparencia vítrea, aunque también se han involucrado en diversas patologías, como la proliferación vítreoretiniana, la neovascularización retiniana, la retinopatía del prematuro o la retinopatía proliferativa [5].

Morfológicamente, el gel vítreo está formado por el cuerpo vítreo y una estructura externa continua, en forma de membrana, que se extiende desde la ora serrata al polo posterior denominada membrana hialoidea o corteza vítrea.

El cuerpo del vítreo está dividido según Eisner [10] en tres partes:

- Vítreo anterior: adherido a la cara posterior del cristalino y con una sección libre hasta la parte media de la pars plana, en la cual se describen los ligamentos retrolental, ciliar anterior y ciliar posterior que dan origen a los tractos vítreos.
- Vítreo central: compuesto por fibras de baja densidad y que contiene en su interior los tractos vítreos que forman un conglomerado de velos superpuestos en pliegues en forma de "S".

- Vítreo periférico: se extiende desde la ora serrata con un grosor aproximado de 2 a 3 mm, adelgazándose progresivamente hasta el polo posterior. En esta zona encontramos las lagunas prefoveal, prepapilar, prevasos sanguíneos y las que aparecen en el vítreo circundante a las degeneraciones ecuatoriales, anomalías periféricas y cicatrices retinianas.

La membrana hialoidea anterior está formada por dos partes. La primera está adherida desde la zona anterior de la pars plana del cuerpo ciliar hasta 2 mm por delante de la ora serrata. Se mezcla con las fibras zonulares y recorre la cara posterior del cristalino hasta el ligamento hialoideo-capsular de Wieger, circular y muy sólido en gente joven. La segunda parte de la membrana hialoidea anterior es retrocristaliniana, a nivel de la foseta patelar. La membrana hialoidea posterior se adhiere a la retina a través de la lámina limitante interna.

El vítreo se encuentra adherido a varias estructuras:

- La base del vítreo: es la más fuerte de estas adherencias, siendo la parte del gel con mayor densidad de fibras de colágeno [11] y es la zona de adhesión anular entre el vítreo, la parte posterior de la pars plana del cuerpo ciliar y la retina periférica. La inserción posterior de la membrana hialoidea anterior marca su borde anterior, unos 2 mm delante de la ora serrata y llega hasta 4 mm por detrás de la misma sobre la periferia retiniana. La fuerte adherencia de la base del vítreo así como la relación de la línea posterior con la retina periférica hacen muy importante la

asociación de esta estructura con los desgarros retinianos periféricos [12].

- Papila óptica: la unión entre su borde periférico y el vítreo cortical es muy firme en persona jóvenes. En este nivel se entremezclan fibras vítreas con la membrana basal de las células de Müller que está engrosada.
- Área macular: aquí la adherencia no es muy sólida y abarca un anillo de 3-4 mm de diámetro.
- Vasos retinianos: a nivel de los cruces arteriovenosos en la media periferia retiniana. La naturaleza de estas uniones no se conoce con exactitud. Según Foos [13,14], puede deberse a la discontinuidad de la membrana limitante interna con la consiguiente insinuación del vítreo en las criptas de la retina. Algunos autores denominan a estos entrantes del vítreo bandas vítreoretinovasculares.
- Áreas degenerativas del desarrollo: son la degeneración reticular y los glomérulos retinianos quísticos. La proliferación glial y la adherencia vítreoretiniana en los márgenes de estas degeneraciones predisponen a la formación de agujeros y desgarros retinianos.
- Algunas cicatrices coriorretinianas, incluyendo las provocadas por la fotocoagulación con láser.

En condiciones normales, la interfase vítreoretiniana es muy laxa, salvo en las zonas de adherencia fisiológica del vítreo a la retina: su inserción anterior o base del vítreo (área de 6 mm que se extiende desde 2 mm anterior a la ora serrata hasta 4 mm posterior a la misma) y sus inserciones posteriores en la

papila y la mácula. En estos puntos las adherencias vítreas son perpendiculares a la retina, a diferencia del en el resto de ésta en que son tangenciales a la misma. Sin embargo, pueden existir también tras adherencias firmes vítreoretinianas, especialmente cerca del ecuador sobre áreas de retina sana, en focos de degeneración vítreoretiniana (miópica, senil, traumática) o cerca de los vasos (adherencias paravasculares). El mecanismo de producción de estas adherencias no es del todo conocido, pero se cree que probablemente la mayoría son adquiridas, en relación al proceso fisiológico de envejecimiento de la retina, proceso mediante al cual los astrocitos y células de Müller perforan la limitante interna y se unen a las fibrillas de colágeno del córtex vítreo.

En el paciente joven, el vítreo presenta una estructura homogénea con una porción central más fluida y una porción periférica (córtes) más densa. Con el tiempo, la parte central se va haciendo más líquida, y aparecen en su interior unos espacios ópticamente vacíos o lagunas. Si éstas confluyen forman una gran cavidad central que produce una inestabilidad mecánica dentro del gel, que puede determinar que en el mismo ocurra la separación de la membrana limitante interna desde la porción próxima a la papila, dando lugar a un desprendimiento del vítreo posterior (DVP), que posteriormente irá extendiéndose hacia la periferia.

La sinéresis vítreo es un proceso relacionado principalmente con la edad, ya que las lagunas solo están presentes en un 9% de los sujetos menores de 20 años y en más del 90% de las personas mayores de 40 años [15]. De la misma forma, el DVP está presente en menos de un 10% de sujetos de manos de 50

años y en más de dos tercios de los mayores de 65 años, explicándose además de por la licuefacción del vítreo, por la disminución de las adherencias fisiológicas entre el vítreo y la membrana limitante interna con la edad. No se conocen los fundamentos fisicoquímicos de la licuefacción del vítreo, tan solo se ha observado que la malla de colágeno se colapsa y disminuye la concentración de ácido hialurónico. La separación completa del vítreo en su unión posterior a la retina da lugar al anillo de Weiss, que es anillo de inserción peripapilar flotante en el vítreo.

El DVP constituye el factor más importante en la génesis de las tracciones vítreoretinianas que pueden originar los desgarros retinianos. El porcentaje de desgarros asociados a DVP es un 8-15% y aumenta hasta un 50-70% si se acompaña de hemovítreo. La sintomatología del DVP incluye miodesopsias (moscas volantes) producido por la percepción de anillo de Weiss, pero también por restos de glia adheridos a la hialoides posterior o hemovítreo. La aparición de miodesopsias de novo o el cambio en la percepción de las mismas es un signo de consulta urgente. Otro signo del DVP es la aparición de las fotopsias o percepción de 'flashes' de luz originados por la tracción de la hialoides sobre la retina neurosensorial. Con menos frecuencia puede aparecer micropsia o metamorfopsia por tracción del vítreo sobre el área macular o hemorragia retrohialoidea, si al producirse el DVP se desgarra algún vaso adherido a la hialoides.

## 1.2 Vítrealisis farmacológica

En 1998, Sebag [16] fue el primer investigador que definió los agentes farmacológicos vitreolíticos como “aquellos capaces de alterar la organización molecular del vítreo en un esfuerzo para reducir o eliminar su papel en la enfermedad”. El vítreo está implicado en numerosas patologías oculares. El DVP incompleto se considera patológico cuando se asocia con adherencias focales causando el síndrome de tracción vítreomacular (TVM), síndrome de adherencia vítreopapilar, edema macular diabético traccional, roturas retinianas periféricas o desprendimiento de retina regmatógeno, o cuando se asocia con vítreoschisis (segmentación o delaminación de la hialoides), predisponiendo a la membrana epirretiniana, agujero macular y retinopatía diabética con proliferación de neovasos [17]. En estas circunstancias, la vítrealisis farmacológica se postula como una alternativa a la vitrectomía pars plana clásica, con o sin pelado de la membrana limitante interna.

Es bien conocida la menor incidencia de edema macular diabético en ojos con DVP espontáneo que en aquellos con la hialoides engrosada y adherida, jugando esta tracción macular del córtex vítreo un importante papel en el aumento y cronificación del edema macular [18,19]. De hecho, la licuefacción del vítreo y la separación del vítreo posterior, de forma segura y completa son los objetivos de la vitrealisis farmacológica (o enzimática). Este procedimiento representa el abordaje no quirúrgico de la TVM y el agujero macular.

Aunque la vitrealisis farmacológica se ha posicionado como un procedimiento eficaz y seguro simplificando la cirugía (inyección inmediatamente previa a la

vitrectomía) o en sustitución de la misma [20-24], todavía no existe evidencia concluyente acerca del agente vitreolítico más adecuado o de otros detalles referentes a la técnica del procedimiento

En una excelente revisión de la vitreolisis farmacológica, Gandorfer [24] define los objetivos de la misma como forma de romper la unión vítreorretiniana por inducción del DVP y licuefacción vítrea. Las razones que justifican este abordaje incluyen las siguientes:

- Vitrectomía mecánica incompleta, cuando a nivel del polo posterior en retina periférica quedan restos del córtex vítreo por detrás de la membrana limitante interna de la retina, causando tracción vítreorretiniana y proliferación celular, lo que determina el fracaso de la cirugía.
- La vitreolisis farmacológica ofrece un despegue completo de vítreo posterior sin manipulación mecánica a nivel de la interfase vítreorretiniana, tal como cuando se procede a pelar la membrana limitante interna, por lo tanto, minimizando el riesgo de afectación iatrogénica de la mácula.
- La inyección intravítrea del agente vitreolítico causa un DVP completo de forma menos traumática que la vitrectomía, lo que puede ser beneficioso como forma de tratamiento profiláctico en las enfermedades de la retina caracterizadas por proliferación fibrocelular y fibrovascular a nivel de la interfase vítreorretiniana, tales como el edema macular diabético y la retinopatía proliferativa a fin de prevenir los estadios avanzados de la

- enfermedad, con la pérdida de agudeza visual o ceguera completa que pueden comportar.
- La separación completa de la hialoides cortical de la retina determina un cambio en el flujo molecular a través de la interfase vítreoretiniana, mejorando el aporte de oxígeno a la retina. De este modo, actúa como un mecanismo principal para interferir de forma significativa los procesos bioquímicos de hipoxia retiniana, que conducen a una sobreexpresión de sustancias vasoactivas, tales como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF del término inglés *vascular endothelial growth factor*). El VEGF se ha identificado como un factor clave de permeabilidad vascular que contribuye decisivamente a la neovascularización y disfunción de la barrera hematorretiniana [25]. El VEGF aumenta la permeabilidad de los vasos retinianos patológicos, lo que determina una extravasación de líquido en la retina, con un aumento del espesor central responsable en parte de la disminución de la agudeza visual central en el edema macular diabético (EMD) [26].

### **1.2.1 Agentes vitreolíticos**

Se han descrito diferentes agentes vitreolíticos, enzimáticos y no enzimáticos, entre los que destacan el activador del plasminógeno tisular, nattokinasa, condroitina, dispasa, hialuronidasa, colagenasa, integrinas, ocriplasma y plasmina.

**1.2.1.1 Activador del plasminógeno tisular (tPA).** El tPA es una serina proteasa capaz de convertir el plasminógeno en plasmina, el enzima principal

responsable de la lisis del coágulo sanguíneo. Se ha postulado que el tPA tiene una acción liquefactante e interactante [27,28]. En un estudio experimental en conejos blancos de Nueva Zelanda, la inyección intravítrea de 1,5 U de microplasmina incubada con tPA recombinante fue eficaz en la inducción de DVP completo al cabo de 1 día, sin alteraciones en la retina [29].

La inyección intravítrea de tPA recombinante (rPA) se ha propuesto como tratamiento de varias enfermedades vítreoretinianas, incluyendo la formación de fibrina post-vitrectomía [30]. En un estudio de 27 pacientes con EMD refractario sin evidencia de DVP, asignados a observación o a tratamiento con rPA, controlados mediante examen del fondo de ojo, tomografía de coherencia óptica (TCO) o ecografía (B-scan) a la semana, al mes y a los 3 meses, la inyección de 25 µg de rPA determinó una incidencia de DVP durante el seguimiento del 69,2% con diferencia significativa ( $P = 0.01$ ) en el grupo de observación [30]. No obstante, no se observaron cambios en el grosor macular o en la agudeza visual mejor corregida (AVMC) a los 3 meses. En otro estudio de 30 pacientes (30 ojos) con TVM confirmada por TCO con un tiempo de seguimiento de 6 meses, la tasa de disolución de las tracciones fue del 33,3% en el grupo de tratamiento activo y del 16,7% en el grupo control. La rPA fue un fármaco seguro sin que se observaran efectos adversos durante el periodo de seguimiento [31].

**1.2.1.2 Nattokinasa.** Nattokinasa es una serina proteasa producida por el *Bacillus subtilis* y se deriva de la fermentación de la soja. Es un potente fibrinolítico en investigación como trombolítico [32]. Se ha observado que posee

propiedades liquefactantes e interfactantes, pero solo se ha estudiado en modelos animales [33] y los datos respecto a eficacia y seguridad no son concluyentes.

**1.2.1.3 Condroitina.** Este compuesto es una proteasa que se degrada a condroitín sulfato, un glicosaminoglicano. Aunque tiene propiedades liquefactantes e interfactantes, en los estudios en modelos animales no ha demostrado ningún efecto biológicamente significativo [33,34].

**1.2.1.4 Dispasa.** La dispasa es una proteasa que escinde la fibronectina, el colágeno IV y, en menor medida, el colágeno I. Los estudios de esta sustancia en modelos animales y en humanos han demostrado eficacia para liberar la adherencia entre la hialoides posterior y la membrana limitante interna, con daño mínimo a la retina interna [35,36], por lo tanto, con un efecto interfactante. No obstante, se han descrito efectos adversos relacionados con el desencadenamiento de vitreorretinopatía proliferativa, catarata, subluxación del cristalino y toxicidad retiniana [35-39].

**1.2.1.5 Hialuronidasa.** La hialuronidasa ejerce su efecto por disolución de la red de glicosaminoglicanos del gel vítreo, que está prácticamente solo compuesta por hialuronato. Por esta razón se considera un agente liquefactante selectivo. La hialuronidasa bovina altamente purificada (Vitrase®) es el único agente vitreolítico que ha pasado ensayos de fase III en el tratamiento de la hemorragia vítrea [40,41]. Otros estudios que han utilizado la

hialuronidasa sola o en combinación con otros agentes vitreolíticos han demostrado que la hialuronidasa sola es ineficaz para inducir un DVP [42-44].

**1.2.1.6 Colagenasa.** La colagenasa purificada del *Clostridium histolyticum* y actúa escindiendo el colágeno tipo II, que conforma la red fibrilar del gel vítreo [45]. Los fragmentos proteolíticos resultantes son solubles permitiendo la desnaturalización espontánea y la posterior degradación por proteasas no específicas [46]. Tiene una acción liquefactante. En modelos animales, la colagenasa ha demostrado eficacia en la licuefacción del gel vítreo, pero se ha acompañado de lesión de la membrana limitante interna y disrupción de la arquitectura retiniana [47] o de toxicidad histológica y electrofisiológica [48,49]. Los estudios piloto en humanos de vitrectomía asistida por inyección de colagenasa no han dado los resultados esperados [50].

**1.2.1.7 Integrinas.** La conexión primaria entre las proteínas del gel vítreo y la retina está mediada por las integrinas de la membrana limitante interna. Las integrinas están unidas a la matriz extracelular de dicha membrana mediante la secuencia del ligando RGD (arginina-glicina-aspártico) [28]. Los péptidos sintéticos RGD compiten en los sitios de unión de las integrinas, lo que se traduce en una ruptura de la interacción integrina-matriz extracelular y pérdida subsiguiente de las adherencias celulares [51,52]. Aunque los estudios experimentales han sido alentadores [53], no se han seguido del desarrollo de este compuesto para la práctica clínica.

**1.2.1.8 Ocriplasma.** La ocriplasma, anteriormente conocida como microplasma, es un producto recombinante del único dominio catalítico de la serina proteasa humana, plasmina. Aunque se trata de una forma truncada, conserva la misma propiedad proteolítica de la plasmina, teniendo como dianas los componentes principales de la interfase vítreoretiniana, como son la fibronectina y la laminina. Actúa a través de un mecanismo de dos pasos, que incluyen la separación vítreoretiniana y la licuefacción del vítreo. Los estudios preclínicos en diferentes modelos animales, incluyendo cerdos, ratas y conejos, así como en ojos de cadáveres humanos han demostrado que la microplasma causa vítrealisis y DVP en forma dosis- y tiempo-dependiente [54] y que, además no induce alteraciones en la retina estudiadas mediante electroretinogramas y microscopía electrónica [55].

La evidencia principal de la eficacia de la ocriplasma se deriva de una serie de ensayos clínicos sponsorizados por ThromboGenics que comercializó el producto y denominados colectivamente *Microplasmin for Intravitreal Injection-Traction Release without Surgical Treatment* (MIVI-TRUST). El primero de estos estudios fue el MIVI-I, un ensayo fase I/II de seguridad con una dosis escalada de 25-125 µg y aumento del tiempo de exposición de 1 h a 1 semana [56]. En total participaron 60 pacientes en seis cohortes sucesivas y todos ellos presentaban maculopatía por TVM en los que la vitrectomía estaba indicada, incluyendo edema macular asociado a TVM, agujero macular estadio II-III de < 6 meses de duración desde el inicio de los síntomas, demostración de adherencias vítreomaculares (AVM) basadas en hallazgos de la TCO o hialoides posterior insertada en la mácula, pero con alguna zona visible de

separación entre la retina y la hialoides posterior. Los resultados de este ensayo fueron prometedores ya que demostraban la seguridad de la ocriplasma y su capacidad para inducir DVP farmacológico en algunos pacientes.

En el ensayo MIVI-III se evaluaba la seguridad y eficacia de una inyección intravítrea preoperatoria de ocriplasma en pacientes candidatos a cirugía del vítreo. Un total de 125 pacientes en los que se iba a efectuar una vitrectomía pars plana para el tratamiento de la TVM o del agujero macular participaron en este ensayo de fase II controlado con placebo [57]. Siete días antes de la vitrectomía se administró una inyección intravítrea de ocriplasma (25, 75 ó 125 µg) o placebo, evaluándose la presencia o ausencia de DVP en situación basal, el día de la inyección, el día de la cirugía y a los 90 y 180 días de seguimiento. La dosis de 125 µg inducía DVP en 10 de 32 pacientes versus 3 de 30 pacientes en el grupo placebo. Asimismo, las posibilidades de resolución de la patología sin necesidad de cirugía fueron superiores en grupo de tratamiento activo que en el placebo (28,1% vs 3.3%).

En el ensayo MIVI-V en pacientes diagnosticados de DMAE exudativa con AVM focal y que presentaban neovascularización activa coroidal subfoveal, tratados como mínimo con tres inyecciones intravítreas de anti-angiogénicos, la variable primaria de eficacia era la proporción de pacientes con liberación de AVM en el día 28 [58]. El tratamiento con ocriplasma combinado con una inyección de anti-VEGF logró el objetivo primario en un 24% de los casos en comparación con un 12% en el grupo tratado con anti-VEGF y placebo. Finalmente, en el ensayo de fase III, MIVI-TRUST en el que se comparaba una

única inyección de 125 µg de ocriplasma con una inyección de placebo en pacientes con AVM sintomáticas, y en el que las variables de eficacia eran la resolución de la AVM, DVP completo y cierre no quirúrgico de un agujero macular a los 28 días, ocriplasma fue más eficaz que placebo pero con una mayor incidencia de efectos oculares adversos [58]. Concretamente, se estudiaron 625 ojos, de los cuales 464 fueron tratados con ocriplasma y 188 con placebo. El porcentaje de resolución de AVM fue del 26,5% para el tratamiento con ocriplasma versus 10,1% para el grupo placebo. La prevalencia de DVP completa fue superior en el grupo de la ocriplasma que en el grupo placebo (13,4% vs 3,7%); asimismo el cierre del agujero macular se obtuvo en 40,6% de los ojos tratados con ocriplasma y en el 10,6% de los tratados con placebo. Por otra parte, la AVMC era más probable que mejorara con una ganancia de al menos tres líneas en la tabla optométrica. Sin embargo, los efectos adversos oculares (fotopsia, dolor relacionado con la inyección, hemorragia conjuntival, cuerpos flotantes) se registraron en el 68,4% de los pacientes tratados con ocriplasma y en el 53,5% de los tratados con placebo. La incidencia de efectos adversos oculares graves fue similar en ambos grupos.

La evidencia proporcionada por estos ensayos se ha complementado con los resultados de series posteriores incluyendo un ensayo clínico y varias revisiones apoyando la eficacia de la ocriplasma como agente farmacológico por la vítreólisis enzimática [59-65]. No obstante, recientemente se han comunicado algunos efectos secundarios de este tratamiento, como cambios en la reflectividad de la retina externa por TCO de dominio espectral [66], así

como aparición de líquido subretiniano como resultado de la pérdida del complejo fotorreceptor por la acción enzimática de la ocriplasma [67]. Asimismo, no hay evidencia suficiente acerca del coste-efectividad del tratamiento con ocriplasma intravítrea, aunque parece que el coste-efectividad de esta estrategia es más beneficioso en pacientes con TVM sin membrana epirretinaria (MER) o agujero macular completo [68]. García-Pérez y cols. [69] han efectuado una revisión de estudios económicos y análisis de impacto presupuestario de la ocriplasma como tratamiento de la TVM, identificando seis estudios, ninguno realizado en España. Los dos estudios de mejor calidad concluyen que ocriplasma es coste-efectiva en sus respectivos ámbitos (Canadá y Reino Unido) pero solo en pacientes con determinadas condiciones (sin MER, por ejemplo). Los resultados del análisis de impacto presupuestario son contradictorios entre países y el coste-efectividad de ocriplasma no ha sido demostrado en España, aunque por extensión de los datos se sugiere que supondría un ahorro para el Sistema Nacional de Salud superior a un millón de euros en 5 años.

### **1.3 Plasmina autóloga**

La plasmina es, sin duda, el agente vitreolítico más ampliamente estudiado. Es una serina proteasa no específica que desempeña un papel crucial en la fibrinólisis. La plasmina actúa sobre dos dianas principales: degrada directamente la fibrina y otros componentes de la matriz extracelular, incluyendo laminina y fibronectina [70,71] e indirectamente genera un aumento en los niveles de otras proteasas inespecíficas, como las metaloproteinasas de matriz y la elastasa [72]. Todo ello determina la actividad de la plasmina en el

debilitamiento de la inserción vítreoretiniana, siendo capaz de degradar el gel vítreo y de escindir las estructuras de la matriz extracelular, por lo que se trata de un agente con propiedades de licuefacción e interfactantes.

Los estudios iniciales en animales de experimentación y en humanos demostraron la habilidad de la plasmina para lograr una separación completa del vítreo de la retina, ya fuere administrado solo o en combinación con otros procedimientos complementarios, como la vitrectomía o la inyección intraocular de gas [73,74]. Los resultados finales mostraban una sínquisis y sinéresis completa del vítreo con técnicas adyuvantes o con altas dosis de plasmina [75]. De hecho, algunos estudios pusieron de manifiesto una correlación entre la concentración de plasmina, el tiempo de exposición y la extensión de la separación vítreoretiniana [76,77]. El perfil de seguridad de la plasmina fue excelente de acuerdo con los datos de la histología con microscopía óptica y electrónica con dosis hasta 4 U y tiempos de exposición de 30 minutos a 1 semana y sin toxicidad funcional evaluada mediante electrorretinografía [73,74,77].

La plasmina es extraordinariamente inestable por su rápida inactivación vía autólisis y unión con la  $\alpha$ 2-antiplasmina. La aplicación de la plasmina en ensayos clínicos en humanos es complicada por la falta de un plasminógeno comercializado disponible, que esta proenzima necesaria para la activación de la plasmina inmediatamente antes de su uso. En sustitución de la alternativa comercializada, las investigaciones se han basado en generar plasmina autóloga. Sin embargo, este procedimiento tiene el inconveniente de que la

técnica de preparación es compleja y asequible solo a equipamientos hematológicos de élite, ya que supone obtener el plasminógeno derivado del plasma del paciente y purificación mediante cromatografía de afinidad [78] Recientemente, diversos autores han publicado un método simplificado, barato y rápido de preparación en el propio quirófano de Oftalmología, de manera inmediata antes de la inyección utilizando estreptoquinasa como activador enzimático de la plasmina [79-81].

Se han publicado diversos estudios piloto del uso de plasmina autóloga intravítrea, a dosis variables de 0,03 a 2 U, como técnica asociada a la vitrectomía, a fin de simplificar la cirugía facilitando el pelado de la interfase vítreoretiniana y DVP en diferentes trastornos oculares con TVM. A continuación se resumen los trabajos principales y las diversas patologías en las que se ha empleado la vitreolisis con plasmina autóloga asociada la cirugía vítrea:

- Agujeros maculares pediátricos [82], retinopatía estadio 5 del prematuro [83,84], retinosquisis complicada ligada al cromosoma X [85], agujero macular traumático en la infancia [86] y en diferentes procesos vítreoretinianos pediátricos [87].
- Agujeros maculares completos en pacientes adultos sin DVP preexistente, habiéndose descrito altas tasas de DVP espontáneo intraoperatorias [88,89].
- Retinopatía diabética proliferativa complicada y EMD [90-94].
- En casos de TVM para facilitar el pelado de la hialoides posterior [95] y para eliminar restos de córtex vítreo [96].

De acuerdo con la evidencia actual, la adición de plasmina intravítrea es eficaz como adyuvante de la vitrectomía quirúrgica clásica, pero este enfoque terapéutico que incluye un procedimiento quirúrgico no está exento de limitaciones.

#### **1.4 Justificación de la Tesis**

Existe un creciente interés en el desarrollo de nuevas técnicas que faciliten el tratamiento de las diversas patologías que afectan a la interfase vítreoretiniana y, que a su vez, sean lo menos agresivas posible y con aplicabilidad en la práctica clínica. En este sentido, la vitreolisis farmacológica o vitreolisis enzimática se ha posicionado como una estrategia novedosa que actúa a nivel molecular sobre el gel vítreo y la interfase vítreoretiniana en los mecanismos patogénicos de las enfermedades oculares que se desarrollan a este nivel. Los diferentes agentes que se han ensayado en inyección intravítrea tienen un efecto de licuefacción del gel vítreo y/ interfactante (separación del gel vítreo de la retina), pero muchos de ellos no han progresado en fases ulteriores de su desarrollo e indicaciones, quedando actualmente limitados a la ocriplasmina y plasmina autóloga

Respecto a la ocriplasmina se han descrito varias ventajas en comparación con la plasmina autóloga, incluyendo: 1) su menor tamaño (22 versus 88 kDa), lo que permitiría una mayor penetración en el vítreo y tejidos epirretinianos; 2) el hecho de su producción mediante técnicas recombinantes asegura la esterilidad del producto y elimina el riesgo potencial de contaminación

microbiológica asociada a los derivados de la sangre; 3) permite evitar la técnica compleja y rigurosa de la preparación de la plasmina autóloga; y 4) es más estable que la plasmina, lo que simplificaría el almacenamiento y el tiempo de su administración [28,97]. Sin embargo, a pesar de estas ventajas, en España la ocriplasmina tiene el inconveniente de su elevado precio y de que su uso no está financiado en el Sistema Nacional de Salud. Por ello, la plasmina autóloga ocupa un lugar destacado como agente vitreolítico en nuestro entorno.

Si bien existe un cuerpo de evidencia en la literatura acerca de la eficacia de la vitrectomía quirúrgica asistida mediante la inyección intravítrea de plasmina autóloga, hay escasa experiencia respecto al uso de plasmina intravítrea sola como modalidad de vitrectomía enzimática única sin vitrectomía quirúrgica.

Nuestro grupo de investigación ha sido pionero en la introducción de la vitrectomía enzimática por inyección intravítrea de plasmina autóloga, sin vitrectomía quirúrgica, en el tratamiento de pacientes con síndrome de TVM, MER y EMD difuso. Además, hemos perfeccionado la técnica de preparación de la plasmina autóloga, sustituyendo la estreptoquinasa por uroquinasa, lo que confiere la ventaja de que evita el enturbiamiento inicial del vítreo resultante del uso de estreptoquinasa. La descripción de estas experiencias constituye la razón científica fundamental y la justificación del trabajo que se expone en la presente Tesis.

## Capítulo 2. **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## **Hipótesis**

La hipótesis establecida fue que la inyección intravítrea de plasmina autóloga, sin asociar vitrectomía quirúrgica, como una opción terapéutica inicial era un procedimiento factible, eficaz y seguro en el tratamiento de diversas patologías vítreoretinianas en las que estuviera indicada la vitrectomía convencional y el DVP.

## **Objetivos**

Los objetivos del estudio fueron los siguientes:

1. Evaluar la eficacia y seguridad de la inyección intravítrea de plasmina autóloga en las situaciones clínicas siguientes:
  - Pacientes con EMD difuso.
  - Pacientes con MER macular.
  - Pacientes con síndrome de TVM.
  - Pacientes con edema macular secundario a oclusión de rama venosa de la retina (ORVR).
  
2. Describir la técnica alternativa de preparación de plasmina autóloga sustituyendo la estreptoquinasa por uroquinasa, así como las ventajas asociadas a la misma.

## Capítulo 3. **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 Diseño**

Se trata de un estudio piloto, prospectivo y de intervención terapéutica llevado a cabo en la Unidad de Retina del el Servicio de Oftalmología del Hospital General Universitari de Valencia. Debido a que la técnica de inyección intravítrea de plasmina autóloga se indicó en pacientes con varias patologías, los periodos de estudio variaron en función de las mismas. De este modo, el grupo de pacientes con EMD difuso fue reclutado entre septiembre de 2006 y febrero de 2007, el grupo de pacientes con MER macular y síndrome de TVM entre septiembre de 2006 y diciembre de 2007 y, finalmente el grupo de pacientes con edema macular secundario a ORVR fue reclutado entre febrero y octubre de 2008.

Los protocolos de los estudios correspondientes a los pacientes con diferentes patologías fueron aprobados individualmente por el Comité de Ético de Investigación Clínica (CEIC) del hospital. Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito para participar en el estudio y fueron informados del objetivo del mismo, explicándoles claramente los potenciales riesgos de la inyección intravítrea de plasmina autóloga, tales como desprendimiento de retina, endoftalmitis, hemorragia vítrea, traumatismo del cristalino, etc., así como de la posibilidad de requerir tratamientos adicionales posteriores (incluyendo láser, inyección intravítrea de fármacos anti-VEGF u otros en el caso del EMD, o vitrectomía quirúrgica o tinción y pelado mecánico de la MER en el caso de MER macular y síndrome de TVM.

## **3.2 Criterios de inclusión y exclusión**

### **3.2.1 Pacientes con EMD difuso**

En el subgrupo de pacientes EDM difuso, solo se incluyeron pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 1 o tipo 2 confirmado y referidos por la Unidad de Diabetes del hospital, afectados de EDM bilateral. En ambos ojos, el EMD difuso debía cumplir los siguientes criterios: a) presencia de engrosamiento macular confirmado por biomicroscopía y lente de 90 D; b) escapes generalizados por el área macular en la angiografía fluoresceínica; c) ausencia de fotocoagulación con láser previa retiniana (macular o de la periferia); d) confirmación por TCO (Stratus OCT-3, Carl Zeiss Meditec, Dublin. CA. USA) de un engrosamiento en el subcampo central macular  $\geq 360 \mu\text{m}$  (grosor normal  $\leq 200 \mu\text{m}$ ). Los criterios de exclusión incluían: a) presión arterial no controlada, sistólica y diastólica superior a 150 y 90 mm Hg, respectivamente; b) niveles de glucemia no estables y hemoglobina glucosilada (HbA1c)  $> 9.5\%$ ; c) historia de hipertensión ocular o glaucoma; d) signos de isquemia macular o de la periferia retiniana en la angiografía fluoresceínica; e) cirugía ocular durante los 6 meses previos; y f) DVP previo diagnosticado por biomicroscopía y lente de +90 D y/o TCO.

### **3.2.2 Pacientes con MER macular**

Solo se incluyeron pacientes que tuvieran confirmación de MER macular por TCO (Stratus OCT-3, Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Alemania) y que dicha patología fuera primaria o idiopática, sin relación con ninguna otra patología ocular previa (retinopatía diabética, uveítis, desprendimiento de retina, etc.). También se requería que existiera estabilización anatómica y visual como

mínimo durante los 3 meses previos a la inyección intravítrea de plasmina autóloga. Los criterios de exclusión eran los siguientes: presencia de cualquier patología ocular concomitante (glaucoma, retinopatía diabética, etc.); cirugía ocular en los 6 meses previos a la inclusión en el estudio; y agudeza visual superior a 0,4 (escala de Snellen).

### **3.2.3 Pacientes con síndrome de TVM**

En los pacientes con esta patología, la presencia de un síndrome de TVM debía confirmarse por TCO (Stratus OCT-3, Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Alemania), requiriéndose, además, que dicha patología fuera primaria o idiopática, sin relación con ninguna otra patología ocular previa (retinopatía diabética, uveítis, desprendimiento de retina, etc.). Al igual que en el subgrupo de pacientes con EMD difuso también era necesario que se comprobara una estabilización anatómica y visual como mínimo durante los 3 meses previos a la inyección intravítrea de plasmina. Los criterios de exclusión también incluían la presencia de cualquier patología ocular concomitante (glaucoma, retinopatía diabética, etc.); cirugía ocular en los 6 meses previos a la inclusión en el estudio; y agudeza visual superior a 0,4 (escala de Snellen).

### **3.2.4 Pacientes con edema macular secundario a oclusión de rama venosa de la retina (ORVR)**

Los criterios de inclusión eran los siguientes: presencia de edema macular secundario a ORVR, definido como escape de la fluoresceína medible en la angiografía fluoresceínica y grosor macular  $> 300 \mu\text{m}$  en la TCO; falta de respuesta a fotocoagulación con láser u otros tratamientos intravítreos ( $< 20\%$

de reducción y persistencia del grosor macular  $> 300 \mu\text{m}$ ); y AVMC convertida a logaritmo del mínimo ángulo de resolución (logMAR) de 1,0 o superior (20/200). Los pacientes con presión arterial no controlada, sistólica y diastólica superior a 150 y 90 mm Hg, respectivamente; insuficiencia renal; cirugía ocular en los 3 meses previos; e historia de hipertensión ocular y/o glaucoma fueron excluidos del estudio.

### **3.3 Examen preoperatorio**

Todos los pacientes con EMD difuso fueron sometidos a una exploración oftalmológica completa antes de la inyección de plasmina, incluyendo exploración a la lámpara de hendidura, tonometría de aplanación, oftalmoscopia indirecta, escáner macular por TCO, fotografía del fondo del área macular y angiografía fluoresceínica. LA TCO y la biomicroscopia descartaron el desprendimiento del vítreo y confirmaron la adherencia del córtex vítreo en el área macular en todos los casos.

Asimismo, el examen preoperatorio de los pacientes con MER macular y/o síndrome de TVM seguía un protocolo similar, con exploración a la lámpara de hendidura, tonometría de aplanación, oftalmoscopia indirecta, escáner macular por TCO, fotografía del fondo del área macular y angiografía fluoresceínica. LA TCO y la biomicroscopia confirmaron la adherencia de la MER en el área macular en todos los casos, además de permitir diferenciar claramente las MER del síndrome de TVM.

Para los pacientes con edema macular secundario a ORVR, el protocolo de exámenes preoperatorios incluía medición de la AVMC convertida a logMAR, con exploración a la lámpara de hendidura, tonometría de aplanación, oftalmoscopia indirecta, escáner macular por TCO, fotografía del fondo del área macular y angiografía fluoresceínica. En todos los casos se excluyó la presencia de DVP por los resultados de la TCO y de la biomicroscopía.

### **3.4 Preparación de la plasmina autóloga**

La plasmina fue preparada en el quirófano inmediatamente antes de la inyección, como ha sido descrita previamente (79). Se extrajo una muestra de sangre del propio paciente de una vena periférica. Una vez centrifugada la sangre a 4,000 rpm durante 15 minutos, el plasma fue transferido a un vial con estreptoquinasa (Streptase<sup>®</sup>, ZLB Behrig Laboratories) que había sido incubado previamente durante 15 minutos a 37°C. La estreptoquinasa disuelta fue mezclada con el plasma agitando el vial vigorosamente durante 5 minutos. La solución volvió a ser incubada durante 15 minutos a 37°C. Finalmente, fue esterilizada a través de un filtro milipore de 0,22 micras. Después de este paso, la plasmina autóloga simplificada con estreptoquinasa estaba lista para ser inyectada.

Para la técnica en la que la estreptoquinasa se sustituía por uroquinasa (98), los detalles eran los siguientes: a) extracción de una vena periférica del paciente de 7 mL de sangre en un tubo de coagulación, centrifugando la sangre a 4.000 rpm durante 15 minutos. Simultáneamente se calienta un vial de uroquinasa (Urokinase Vedim<sup>®</sup> 100.000 UI, Vedim Pharma, Madrid, España) a

37°C durante 15 minutos; b) a continuación se mezclan 1,8 mL de plasma con 0,2 mL de uroquinasa, agitando vigorosamente la mezcla durante otros 2-3 minutos, manteniéndolo posteriormente incubado a 37°C hasta su uso; c) esterilización de la solución por filtrado a través de filtro milipore de 0,22 micras, procediendo inmediatamente a su inyección en el ojo en cantidad de 0,2 mL, previa generosa paracentesis de cámara anterior para evitar el reflujo.

### **3.5 Técnica de inyección**

La técnica de la inyección de plasmina autóloga fue la misma para todos los grupos de pacientes, a excepción de los pacientes con EMD difuso en el que los ojos fueron asignados de forma aleatoria a tratamiento con plasmina o a grupo control. En el resto de pacientes las inyecciones fueron en un solo ojo. Antes de la inyección se realizó anestesia tópica con colirio de tetracaína al 1% al menos tres veces y lavado conjuntival con solución de povidona. Paracentesis de cámara anterior con aguja de 25 G. A continuación se efectuó la inyección intravítrea de la solución de plasmina autóloga simplificada con estreptoquinasa o uroquinasa con aguja de 30G, a 3,5 ó 4 mm del limbo dependiendo de que el paciente fuera pseudofáquico o fáquico, respectivamente. Aplicación de hemosteta en el punto de inyección para evitar el reflujo. Durante los 5 días postoperatorios se seguía una pauta de colirio de ciprofloxacino y dexametasona, 4 veces al día. En los pacientes con edema macular secundario a ORVR, la duración del tratamiento tópico fue de 10 días.

### **3.6 Variables y mediciones**

Se midieron la agudeza visual (optotipos ETDRS) o AVMC convertida al

equivalente logMAR del mínimo ángulo de resolución y el espesor central de la mácula por TCO antes del tratamiento (el día previo) y después del tratamiento a los 3 y/o 6 meses. Se consideró un valor medio del espesor macular central normal de  $\leq 200 \mu\text{m}$ . Todas las variables del estudio fueron recogidas por un único oftalmólogo (P.U.) que desconocía los datos clínicos de los pacientes.

### **3.7 Análisis estadístico**

Las variables categóricas se expresan en frecuencias absolutas y porcentajes, y las variables continuas en la media y desviación estándar (DE). Para las comparaciones de la agudeza visual y espesor macular entre el ojo tratado y el ojo no tratado (en el subgrupo de pacientes con EMD difuso) o antes y después de la inyección de plasmina autóloga (en el subgrupo de pacientes con edema macular secundario a ORVR) se utilizó el test bilateral de Wilcoxon para datos pareados. Un valor de  $P < 0,05$  se consideró estadísticamente significativo. Los datos fueron procesados usando el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) versión 13.0 para Windows.

## Capítulo 4. **RESULTADOS**

#### **4.1 Fiabilidad de la técnica de preparación de la plasmina autóloga con uroquinasa**

Mediante espectrofotometría a 405 nm de absorbancia y utilizando una sustancia cromogénica HD-NVA-CHA-lys-pN se comprobó que la concentración media (DE) de plasmina era de 1,05 (0,12) UI/mL, lo que era muy similar a la obtenida con el método de activación con estreptoquinasa [79,80], siendo la concentración de la cantidad inyectada (0,2 UI/0,2 mL) muy inferior a los niveles tóxicos (3-4 UI) [79,80]. La plasmina autóloga preparada con uroquinasa tuvo la misma eficacia que la preparada con estreptoquinasa, con la ventaja de la ausencia de reacciones inflamatorias adversas intraoculares y el nulo enturbiamiento vítreo inicial, lo que permite un perfecto seguimiento del fondo de ojo desde el primer momento de la inyección, así como mejor control de la visión del paciente.

#### **4.2 Resultados en pacientes con EDM difuso**

En este grupo se incluyeron 18 pacientes, 6 varones y 12 mujeres, con una edad media de 65 años (rango 56-83 años). Trece pacientes eran pseudofáquicos y 5 fáquicos. Se estudiaron 36 ojos (18 tratados con inyección intravítrea de plasmina y 18 controles). Todos los pacientes tenían retinopatía diabética no proliferativa.

Respecto a la agudeza visual no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las agudezas visuales preoperatorias del grupo control (1,04, datos no mostrados) y la del grupo tratado con plasmina

autóloga intravítrea (1,03) ( $P > 0,05$ ). No hubo cambios significativos en la MAVC del grupo control a los 3 meses del seguimiento (MAVC media 1,03), mientras la MAVC media del grupo tratado con plasmina mejoró a 0,53. Es decir, la mejoría media de la MAVC fue de 0,50 unidades logarítmicas del mínimo ángulo de resolución en el ojo tratado con plasmina y solo de 0,01 en el grupo control ( $P < 0,001$ ). La agudeza visual mejoró en 16 de los 18 ojos tratados: en 7 ojos una línea de visión, en 4 ojos dos líneas, en 2 ojos tres líneas y en 3 ojos cuatro líneas. Los resultados descriptivos de la MAVC en cada paciente individual se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. MAVC en los ojos tratados con plasmina autóloga en pacientes con EMD difuso

Paciente número	MAVC (valores convertidos a escala LogMar)		
	Pre-tratamiento	Post-tratamiento	
		1 mes	3 meses
1	0,3	0,18	0,18
2	0,48	0,3	0,3
3	1,0	1,0	1,0
4	0,9	0,48	0,48
5	0,78	0,6	0,48
6	0,48	0,3	0,3
7	0,6	0,48	0,48
8	0,9	0,6	0,6
9	1,0	0,9	0,9
10	0,9	0,78	0,6
11	0,6	0,48	0,48
12	0,9	0,6	0,48
13	1,0	1,0	1,0
14	0,3	0,18	0,18
15	0,48	0,48	0,3
16	0,6	0,48	0,48
17	0,9	0,6	0,48
18	1,0	0,9	0,9

El espesor macular central medio (DE) del ojo a tratar (525,22 [80,12]  $\mu\text{m}$ ) con plasmina fue discretamente mayor que el ojo control (515,44 [78,13]  $\mu\text{m}$ ), pero sin diferencia significativa ( $P > 0,05$ ). Un mes tras la inyección de plasmina el espesor macular central medio era en el ojo tratado era significativamente inferior que en el ojo control (322,72 [44,87] vs 518,44 [78,13]  $\mu\text{m}$ ,  $P < 0,001$ ). Esta diferencia significativa entre ambos grupos se mantenía a los 3 meses (310,55 [15,58]  $\mu\text{m}$  vs 517,66 [80  $\mu\text{m}$ ],  $P < 0,001$ ). En tanto que no hubo cambios significativos en el grupo control durante el seguimiento, el espesor macular central se redujo en el grupo tratado en todos los casos, en más del 70% en 4 ojos, del 60% al 70% en 11 ojos y más del 50% en los 3 ojos restantes (caso 1 y 2). Los resultados del espesor macular central en los ojos tratados con plasmina autóloga y en los ojos control se describen en la tabla 2.

Tabla 2. Espesor macular central en los ojos tratados con plasmina autóloga y en los ojos no tratados (control) en pacientes con EMD difuso (valores de la TCO expresados en  $\mu\text{m}$ ).

Paciente número	Ojos tratados con plasmina autóloga			Ojos no tratados		
	Pre-tratamiento	1 mes	3 meses	Pre-tratamiento	1 mes	3 meses
1	569	410	367	561	567	572
2	624	305	311	605	619	614
3	451	373	314	446	441	459
4	555	329	335	551	541	560
5	532	321	305	526	532	521
6	467	297	276	456	461	431
7	579	342	346	571	590	582
8	446	286	272	433	442	437
9	512	317	291	507	515	502
10	509	308	296	497	525	516
11	481	271	293	478	462	480
12	632	384	375	620	635	622
13	703	403	374	684	653	662
14	380	247	254	357	349	338
15	405	274	281	416	426	423
16	546	326	315	529	536	549
17	490	279	268	477	471	481
18	573	337	317	564	572	569

La comparación de las medias (DE) del espesor macular central en los ojos tratados con inyección de plasmina autóloga y en los ojos control se muestra en la figura 1.

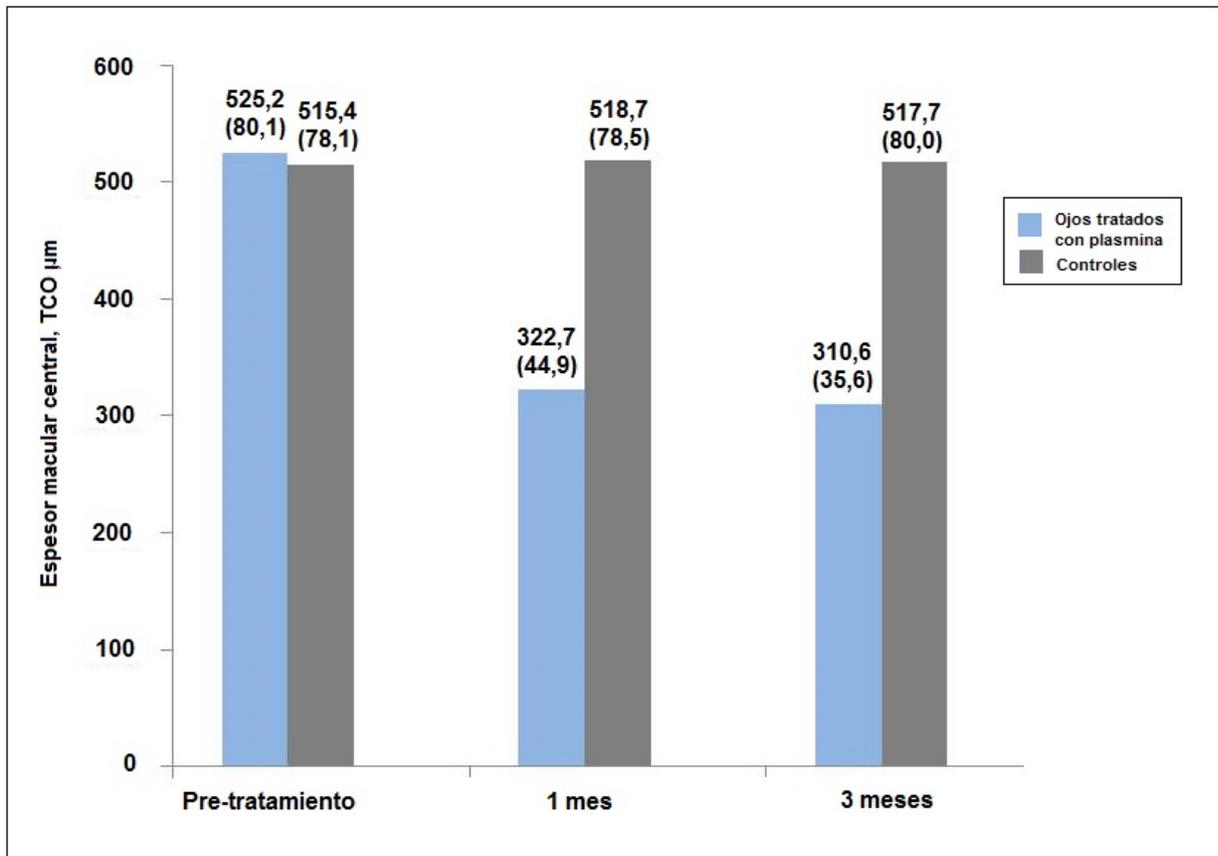
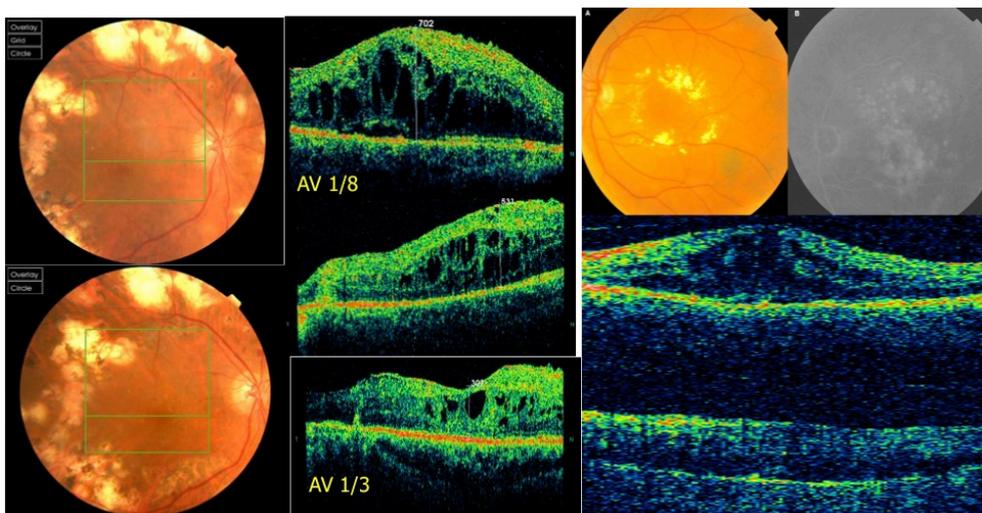


Figura 1. Espesor macular central medio (DE) en los ojos tratados con plasmina autóloga intravítrea y en los ojos no tratados (controles) (valores de la TCO expresados en µm).



Casos 1 y 2: pacientes diabéticos tratados con plasmina autóloga donde se evidencia la mejora en el espesor macular en la OCT

### 4.3 Resultados en pacientes con MER macular y/o síndrome de TVM

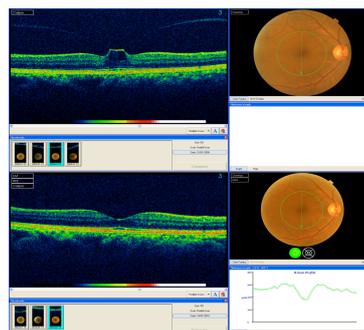
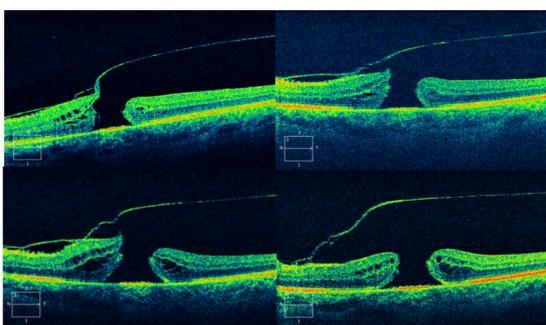
Se incluyeron en el estudio un total de siete pacientes, estudiándose un ojo por paciente (7 ojos). En esta serie la preparación de plasmina autóloga se hizo con uroquinasa. Respecto a los datos demográficos, tres varones y cuatro mujeres, con una edad media de 66 años (rango 42-81 años). Tres pacientes eran pseudofáquicos y cuatro fáquicos. Se inyectó plasmina en tres ojos derechos y cuatro ojos izquierdos. Todos los pacientes tenían una MER macular o un síndrome de TVM como única patología ocular (tabla 3).

No existieron cambios en la agudeza visual en ningún paciente con MER (0,05, 0,1, 0,2, 0,3). En los tres pacientes con síndrome de TVM mejoró la agudeza visual de 0,1 a 0,6, de 0,4 a 0,9 y de 0,2 a 0,8 respectivamente (tabla 3)(caso 3).

Tabla 3. MAVC en los ojos tratados con plasmina autóloga en pacientes con EMD difuso

Paciente número	Edad años	Diagnóstico	MAVC (valores convertidos a escala LogMar)	
			Pre-tratamiento	4 semanas
1	72	MER	0,1	0,1
2	67	MER	0,05	0,05
3	52	MER	0,3	0,3
4	76	MER	0,2	0,2
5	81	Síndrome TVM	0,1	0,6
6	42	Síndrome TVM	0,4	0,9
7	70	Síndrome TVM	0,2	0,8

MER: membrana epirretiniana; TVM: tracción vítreomacular.



Caso 3 : agujero macular asociado a MER donde se aprecia la liberación de la MER tras plasmina. Caso 4: STVM focal con recuperación de perfil macular tras plasmina.

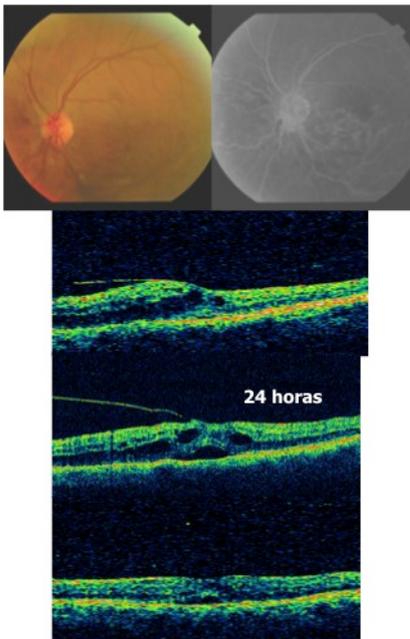
#### 4.4 Resultados en pacientes con edema macular secundario a OVRV

En este grupo se incluyeron ocho pacientes (8 ojos) con edema macular asociado a OVRV. Se trataba de tres varones y cinco mujeres, con una edad media de 65 años (rango 58-73 años). Seis pacientes presentaban una historia de hipertensión arterial (controlada con tratamiento antihipertensivo), 3 pacientes tenían hipercolesterolemia y 1 diabetes mellitus tipo 2. Todos los pacientes habían sido tratados previamente con fotocoagulación con láser, inyecciones intravítreas de triamcinolona o anti-VEGF (bevacizumab) o una combinación de los mismos (fotocoagulación y triamcinolona 2;

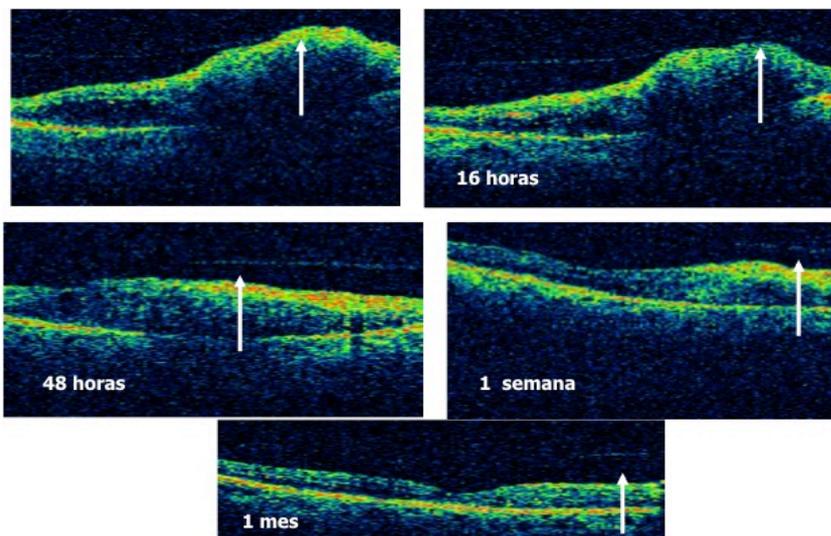
fotocoagulación, triamcinolona y bevacizumab 2; bevacizumab 3; triamcinolona y bevacizumab 1), no obteniéndose respuesta en ningún paciente (< 20% de reducción del grosor central macular). Tres pacientes (#1, #2 y #7) mostraban edema macular isquémico en la imagen angiográfica previa a la vitreólisis enzimática con plasmina autóloga obtenida mediante la técnica simplificada con estreptoquinasa. El tiempo de seguimiento de los pacientes fue de 6 meses. Las características basales de los pacientes se detallan en la tabla 4.

La mejoría de la AVMC era ya evidente al cabo de un mes del tratamiento (tabla 4). La AVMC media (DE) antes del tratamiento era de 0,52 (0,17) (20/80-20/63) y aumentó a 0,197 (0,09) (20/25-20/32) al cabo de 1 mes del tratamiento y a 0,217 (0,09) a los 6 meses de seguimiento (media 20/32 Snellen equivalente), siendo las diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,001$ ) en la comparación entre los valores pre-tratamiento y a los 6 meses. En la última visita del seguimiento, todos los pacientes habían mejorado > 10 letras.

Respecto al espesor central macular en la TCO, también se observaron disminuciones importantes en todos los pacientes (tabla 4). En la exploración basal, la media (DE) del espesor del subcampo central macular era de 494,87 (68,82)  $\mu\text{m}$ . Al caso de 1 mes de la inyección intravítrea de plasmina, el espesor central macular se había reducido a una media de 226,37 (28,67)  $\mu\text{m}$  (caso 5 y 6). En la última medición a los 6 meses del tratamiento, el espesor fue de 228,57 (21,53). La diferencia entre el valor pre-tratamiento y en la visita final (6 meses) era estadísticamente significativo ( $P < 0,001$ ).



Caso 5: paciente con oclusión de rama venosa tratado con plasmina a las 24 horas vemos como empieza el vítreo a desprenderse y al mes una reducción importante de edema macular.



Caso 6: evolución en OCT de un paciente con edema macular secundario a oclusión venosa; edema persiste en la zona de adhesión del vítreo y al desprenderse mejora en la misma zona.

Tabla 4. Resultados funcionales y anatómicos en pacientes con edema macular secundario a ORVR

Variables	Paciente número							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Duración ORVR	11	9	10	12	8	13	8	9
Pre-tratamiento								
Espesor macular, $\mu\text{m}$	432	576	520	464	516	398	610	443
MAVC logMAR	0,52	0,7	0,5	0,5	0,6	0,3	0,9	0,4
1 mes post-tratamiento								
Espesor macular, $\mu\text{m}$	206	224	241	182	276	213	259	210
MAVC logMAR	0,22	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,4	0,16
6 meses post-tratamiento								
Espesor macular, $\mu\text{m}$	211	234	229	191	258	234	271	202
MAVC logMAR	0,2	0,3	0,16	0,2	0,22	0,1	0,4	0,16

Durante el seguimiento, no se observaron efectos secundarios en ninguno de los pacientes tipo catarata, vitreítis, endoftalmitis, hemorragia vítrea, desgarro retiniano o desprendimiento de retina. La tolerabilidad de la inyección de plasmína autóloga intravítrea fue excelente.

## Capítulo 5. **DISCUSIÓN**

El DVP es un proceso degenerativo por el que la hialoides posterior y el córtex vítreo, asociado a un gel vítreo generalmente en proceso de licuefacción progresiva, se despega de la retina. Es un proceso senil, que puede ser considerado casi fisiológico con la edad y más frecuente en miopes. No obstante, se ha reconocido que el DVP es el origen del mecanismo fisiopatológico de patologías graves, como el desprendimiento de retina regmatógeno o del empeoramiento de trastornos ya existentes, entre los que cabe citar la transformación de un agujero macular incompleto en completo, o de un edema macular cistoideo en un agujero macular lamelar. La idea de que podría ser beneficioso una actuación profiláctica y terapéutica poco invasiva y de bajo riesgo “induciendo de manera controlada la aparición de un DVP artificialmente” ha ido adquiriendo relevancia clínica [99]. Ello se ha plasmado en el uso del anillo de succión LASIK para inducir el DVP [100] o en el concepto de la vítreolisis farmacológica del ojo humano. La vítreolisis farmacológica, por tanto, es considerada como una modalidad terapéutica que tiene la finalidad de alterar químicamente la estructura del vítreo y debilitar la adhesión vítreoretiniana para desprender de forma segura el vítreo posterior de la retina interna [20-23,101].

Cuando el vítreo permanece organizado y fuertemente adherido a retina y lo deseable es que se hubiera desprendido con anterioridad, de una forma lenta, progresiva y controlada, se pueden producir las siguientes alteraciones: 1) recidivas postdesprendimiento de retina con o sin proliferación vítreoretiniana; 2) desprendimientos de retina en patologías con vítreos organizadas (p.ej. síndrome de Stickler); 3) bilateralización de un desgarro gigante; 4) persistencia

y cronificación de edemas maculares (diabético, oclusión venosa, uveítis, pseudofáquico síndrome de Irvine-Gass); 5) síndrome de TVM miópica; 6) MER macular; 6) aparición de agujeros maculares y su progresión de incompletos a completos; y 7) progresión de la retinopatía diabética proliferante por tracción vítrea de los neovasos [23]. En estas situaciones, la vitreolisis farmacológica o enzimática tendría la indicación de despegar y licuar el vítreo con una simple inyección intravítrea de un agente vitreolítico.

Este nuevo enfoque terapéutico, que ya se ha hecho realidad, puede suponer un cambio crucial en el paradigma del uso de la vitrectomía en las indicaciones del tratamiento quirúrgico de los procesos que afectan a la interfase vítreoretiniana. Sin embargo, aunque se han ensayado diversas sustancias con efecto vitreolítico, ya sea licuando el gel vítreo y/o actuando sobre la interfase despegando el vítreo posterior de la retina, solamente la inyección intravítrea de ocriplasma y la plasma autóloga, por sus características moleculares y eficacia demostrada, tienen aplicabilidad clínica en el momento actual.

La plasma autóloga, no obstante, parecía relegada a un segundo plano frente a la ocriplasma por las dificultades técnicas de su preparación e inestabilidad en el tiempo. El perfeccionamiento de la técnica, primero ensayando la preparación de plasma autóloga con estreptoquinasa y, más recientemente, sustituyendo la estreptoquinasa por uroquinasa, ha significado un avance determinante para el uso de este agente vitreolítico en condiciones de práctica clínica. El uso de uroquinasa evita el enturbiamiento inicial del vítreo resultante

de la preparación con estreptoquinasa, y que puede tardar entre 1 y 7 días en resolverse, así como casos ocasionales de uveítis post-inyección muy intensas [23]. Dada que la eficacia de ambos agentes es similar, el poder evitar estos efectos secundarios, sitúa a la técnica de preparación de plasmina autóloga con uroquinasa como la de elección para la inyección intravítrea de plasmina.

Los resultados de nuestros estudios avalan la eficacia y seguridad del tratamiento con plasmina intravítrea de diversas patologías (EMD difuso, MER macular y/o síndrome de TVM, edema macular secundario a ORVR) como modalidad única, sin asociación de este procedimiento con la vitrectomía clásica, tal como se ha descrito en la literatura [70,76,83,91,93,102].

Por ello, la demostración de la eficacia y seguridad de la vitrectomía enzimática, sin vitrectomía quirúrgica, mediante una inyección intravítrea de plasmina autóloga, obtenida mediante una técnica simplificada (con uroquinasa), es una aportación muy novedosa, no descrita con anterioridad.

Los resultados del estudio prospectivo y controlado en pacientes con EMD difuso [103] han demostrado la eficacia de la inyección intravítrea de plasmina para mejorar la agudeza visual y reducir el engrosamiento retiniano. Aunque puede no existir una correlación directa entre mejoría de la agudeza visual y la reducción del edema EDM tras la inyección de plasmina, la reducción del edema fue mayor del 50% en todos los ojos tratados (100%), con una mejoría de dos o más líneas de visión en el 50% de los casos. Esta mejoría visual es percibida por el paciente muy precozmente (2-3 días), manteniéndose estable

hasta el tercer mes de seguimiento. Por otra parte, hemos observado un DVP completo del área macular en todos los pacientes, documentado clínicamente por biomicroscopía o por TCO, con un significativo descenso del engrosamiento macular retiniano (edema macular anatómico) en todos los casos (100%). Dicha resolución del edema macular se mantuvo estable durante los tres meses de seguimiento. Asimismo, la inyección intravítrea de 0,4 UI de plasmina ha demostrado en estudios previos ser suficiente para separar el córtex vítreo posterior de la membrana limitante interna, sin toxicidad conocida hasta concentraciones de 3-4 UI [17,92,104]. La cantidad de plasmina autóloga obtenida e inyectada por el método empleado en este estudio es de media de 0,26 UI [79], pero ha demostrado ser suficiente para ser eficaz. Sin embargo, futuros estudios deberán matizar la dosis de plasmina más idónea, la posibilidad de que se presenten recidivas a largo plazo, así como la conveniencia de los otros tratamientos, como fotocoagulación con láser o inyecciones intravítreas de fármacos anti-VEGF, que posteriormente pudieran ser necesarios.

En el estudio piloto prospectivo de pacientes con MER macular y/o síndrome de TVM [105], con un seguimiento de 1 mes en todos los casos, la MER permaneció oftalmoscópicamente adherida, sin cambios ni separación del plano de la retina. Sin embargo, en los casos con síndrome de TVM, la membrana se despegó del área foveal, desapareciendo los pliegues retinianos fraccionales secundarios, y normalizándose la estructura anatómica de la mácula. La agudeza visual no se modificó en ninguno de los casos de MER y mejoró en los casos de síndrome de TVM. Hay que tener presente que la

inyección de plasmina se utilizó como primera opción terapéutica antes de intentar su tratamiento mediante pelado quirúrgico de la MER y de la membrana del síndrome de TVM.

La gran diferencia de eficacia de la plasmina autóloga inyectada intravítrea entre los pacientes con MER y síndrome de TVM es un punto de reflexión. En primer lugar, la TCO permite diferenciar más claramente ambos síndromes que por biomicroscopía en que puede ser fácilmente confundidos, incrementando la identificación de estas patologías frente a la biomicroscopía en un 10% en los casos de MER y hasta un 300% en el síndrome de TVM [106-108]. En segundo lugar, la ausencia de eficacia de la plasmina en las MER podría explicarse porque en ellas se asocia en más del 95% un desprendimiento posterior del vítreo previo [109,110]. Se han descrito casos de MER con vítreo adherido exclusivamente en jóvenes [111], ninguno de ellos incluido en nuestra serie, en los que la eficacia de la vitrectomía quirúrgica ha resultado muy superior a la realizada en pacientes con DPV. Tal vez sea este subgrupo de MER con hialoides adherida en sujetos jóvenes, el único susceptible de ser tratado con plasmina intravítrea. En tercer lugar, debemos recordar que las nuevas generaciones de TCO tridimensionales de alta definición van haciendo progresivamente más compleja e indiferenciables ambos síndromes (MER macular versus síndrome de TVM). Así, Koizumi y cols. [112] observaron la coexistencia en 10 de 12 casos de síndrome de TVM de una MER subyacente. Esta observación tomográfica de superposición clínica de ambos síndromes ha sido corroborado histológicamente, donde las membranas de ambas patologías son similares con la única diferencia de

asociar fragmentos de la membrana limitante interna en las MER [113]. Por último en cuarto lugar, en los casos de síndrome de TVM, donde la plasmina intravítrea ha resultado eficaz, esta opción se perfila como una alternativa terapéutica inicial mínimamente invasiva, sabiendo que es imprevisible la evolución del mismo sin tratamiento, evolucionando algunos casos de manera espontánea hacia el despegamiento completo y resolución entre 1 y 6 meses desde el comienzo de los síntomas y, en otros, hacia la progresión a un agujero macular completo [114].

La vitrectomía enzimática y farmacológica realizada únicamente con la inyección intravítrea de plasmina autóloga ha demostrado ser eficaz y segura en reducir y eliminar la tracción macular, y mejorar la agudeza visual en los casos de síndrome de TVM, evitando la vitrectomía quirúrgica, pero en ningún caso de MER de la serie estudiada. Estos hallazgos en el caso de MER macular deben interpretarse teniendo en cuenta el pequeño número de casos (4 pacientes), lo que impide efectuar conjeturas. Futuros estudios deberán replicar nuestros resultados y evaluar la posibilidad de aumentar la eficacia de la plasmina autóloga intravítrea en los casos de MER inicialmente resistentes con sucesivas reinyecciones y/o a mayores dosis, así como su papel como facilitador de su despegamiento durante la vitrectomía quirúrgica posterior.

Por último, los resultados obtenidos en el estudio prospectivo controlado de pacientes con edema macular secundario a OVRV indican la eficacia de la plasmina autóloga intravítrea en los casos en los que existe una adherencia asociada del córtex vítreo a la mácula [115]. En este caso, con un seguimiento

a 6 meses, las diferencias significativas en agudeza visual y disminución del espesor central macular en beneficio del ojo tratado con plasmina se mantenían durante este tiempo, lo cual es muy alentador.

Hay que destacar que la inyección intravítrea de plasmina autóloga preparada mediante un técnica simplificada ha mostrado una tolerabilidad excelente y ha estado exenta de efectos adversos.

Los resultados presentados en esta Tesis deben interpretarse teniendo en cuenta las limitaciones del trabajo, la más importante referida al pequeño número de pacientes seleccionados para cada patología, los tiempos de seguimiento diferentes y la ausencia de grupo control. Aunque los datos obtenidos son preliminares y proceden de estudios piloto, son prometedores y apoyan la eficacia y seguridad de la inyección intravítrea de plasmina autóloga simplificada como método de vítreolisis enzimática, sin vitrectomía quirúrgica, en el abordaje inicial de pacientes seleccionados con edema macular debido a diversas patologías y en el síndrome de TVM, en los que es deseable lograr un DVP completo, natural y lo más atraumático posible.

Creemos que estos resultados constituyen la base para el diseño de estudios futuros que, en un mayor número de pacientes y con otros diseños mejores (cohorte prospectiva con un grupo control, estudios de casos y controles) puedan evaluar la eficacia y seguridad de la inyección intravítrea de plasmina autóloga en patologías que afectan a la interfase vítreoretiniana. Si las presentes observaciones se confirmaran, la vítreolisis farmacológica o

enzimática podría hacer replantear las estrategias terapéuticas actuales basadas en la vitrectomía quirúrgica.

## Capítulo 6. **RESUMEN Y CONCLUSIONES**

1. La plasmina autóloga obtenida mediante un método simplificado de preparación basado en la adición de uroquinasa es eficaz y segura para uso tópico en administración intravítrea. Este compuesto debe ser añadido a la lista de agentes vitreolíticos para su uso en la vitrectomía farmacológica o enzimática.
2. La inyección intravítrea de plasmina autóloga es eficaz y segura como tratamiento de primera elección en el EMD difuso, mejorando la agudeza visual y disminuyendo el espesor central de la mácula.
3. En pacientes con EMD difuso, la inyección intravítrea de plasmina autóloga podría evitar o retrasar la necesidad de efectuar una vitrectomía quirúrgica.
4. La inyección intravítrea de plasmina autóloga como tratamiento inicial es eficaz en el síndrome de TVM, pero parece ineficaz en las MER maculares. En el síndrome de TVM mejora la agudeza visual y consigue el despegamiento al menos parcial de la membrana.
5. La inyección intravítrea de plasmina autóloga como tratamiento inicial del edema macular secundario a ORVR mejora la agudeza visual y reduce el espesor central macular.

6. La inyección intravítrea de plasmina autóloga preparada mediante una técnica simplificada ha mostrado una tolerabilidad excelente y no se han observado ningún tipo de efecto adverso.
  
7. Los resultados expuestos en la presente Tesis pueden constituir un indicio de que la plasmina autóloga pudiera resultar una opción inicial eficaz y válida en aquellas patologías en las que fuera conveniente obtener un despegamiento del córtex vítreo de la retina lo más natural y atraumático posible a expensas de otros estudios.
  
8. La vitrectomía enzimática por inyección intravítrea de plasmina autóloga podría replantear las indicaciones actuales de la vitrectomía quirúrgica.

## Capítulo 7. **BIBLIOGRAFÍA**

*En esta Tesis las referencias bibliográficas se han ordenado según el estilo Vancouver (orden de mención) recomendado por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (International Committee of Medical Journal Editors) (<http://www.icmje.org>). En el texto las citas se identifican por números arábigos correlativos entre corchetes y en la bibliografía se han incluido los nombres de todos los autores, el dígito que cambia para la última página y el identificador de documentos digitales (digital object identified, doi) cuando este código alfa-numérico constaba en el artículo. Todas las referencias han sido comprobadas en la base de datos PubMed para evitar los errores de citación.*

## BIBLIOGRAFÍA

1. Sebag J. Structure, function and age-related changes of the human vitreous. In: Schepens CL, and Neetens A. The vitreous and vitreoretinal interface. New York: Springer-Verlag; 1987: 37.
2. Goswammy S, Cardoza AA, Mathur RL, Agarwal LP. Hyaluronic acid of vitreous body in different pathologic states. Indian J Med Res 1972;60:953-65.
3. Sebag J. Structure, function, and age-related changes of the human vitreous. Bull Soc Belge Ophthalmol 1987;223:37-57.
4. Akiya S, Uemura Y, Tsuchiya S, Azuma N, Fujita K. Electron microscopic study of the developing human vitreous collagen fibrils. Ophthalmic Res 1986;18:199-200.
5. Yang C, Notbohm H, Açil Y, Heifeng R, Bierbaum S, Müller PK. In vitro fibrillogenesis of collagen II from pig vitreous humour. Biochem J 1995;306:871-5.
6. Quevedo MA, Corcóstegui B. Alteraciones vítreoretinianas predisponentes al desprendimiento de retina. Guía de tratamiento. Barcelona: Editorial Glosa, S.L. 2008: 18-9.
7. Lundquist O, Osterlin S. Glucose concentration in the vitreous of nondiabetic and diabetic human eyes. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1994;232:71-4.
8. Sebag. Diabetic vitreopathy. Ophthalmology 1996;103:205-6.
9. Ogston AG, Phelps CF. Exclusion of inulin from solutions of hyaluronic acid. Nature 1960;187:1024.
10. Eisner G. Clinical examination of the vitreous. Trans Ophthalmol Soc UK. 1975;95:360-3.
11. Comper WD, Laurent TC. An estimate of the enthalpic contribution to the interaction between dextran and albumin. Biochem J 1978;175:703-8.
12. Petermeier K, Szurman P, Bartz-Schmidt UK, Gekeler F. Pathophysiology of cataract formation after vitrectomy. Klin Monbl Augenheilkd 2010;227:175-80.
13. Foos RY. Vitreoretinal juncture; epiretinal membranes and vitreous. Invest Ophthalmol Vis Sci 1977;16:416-22.

14. Foos RY, Kreiger AE, Forsythe AB, Zakka KA. Posterior vitreous detachment in diabetic subjects. *Ophthalmology* 1980;87:122-8.
15. Boixadera Espax A. Descripción y análisis de los hallazgos con tomografía de coherencia óptica en el desprendimiento de la retina regmatógeno primario con afectación ocular. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 2003.
16. Sebag J. Pharmacologic vitreolysis. *Retina* 1998;18:1-3.
17. Gandorfer A. Pharmacological vitreolysis: Rationale, potential indications and promising agents. *Retina* 2012;32 (Suppl 2):S221-4.
18. Schepens CL, Avila MP, Jalkh AE, Trempe CL. Role of the vitreous in cystoid macular edema. *Surv Ophthalmol* 1984;28 Suppl:499-504.
19. Ikeda T, Sato K, Katano T, Hayashi Y. Attached posterior hyaloid membrane and the pathogenesis of honeycombed cystoid macular edema in patients with diabetes. *Am J Ophthalmol* 1999;127:478-9.
20. Rhéaume MA, Viavvas D. Pharmacologic vitreolysis. *Semin Ophthalmol* 2010;25:295-302.
21. El-Asrar AM, Al-Mezain HS. Pharmacologic vitreolysis in diabetic retinopathy. *Curr Pharmacol Biotechnol* 2011;12:406-9.
22. Bishop PN. Vitreous as a substrate for vitreolysis. *Dev Ophthalmol* 2009;44:7-19.
23. Gandorfer A. Pharmacologic vitreolysis. *Dev Ophthalmol* 2007;39:149-56.
24. Gandorfer A. Objective of pharmacologic vitreolysis. *Dev Ophthalmol* 2009;44:1-6.
25. Stewart MW. The expanding role of vascular endothelial growth factor inhibitors in ophthalmology. *May Clin Proc* 2012;87:77-88.
26. Bressler N, Coscóstegui B, Kaiser PK, Lowenstein A, Ruiz. Moreno J, Udaondo P. Perspectivas actuales del uso de aflibercept intravítreo en el edema macular diabético: Consenso de un panel de expertos. Barcelona: Laboratorios Bayer, 2016: 5-6.
27. Kamei M, Estefanous M, Lewis H. Tissue plasminogen activator in the treatment of vitreoretinal diseases. *Semin Ophthalmol* 2000;15:44-50.

28. Bandello F, La Spina C, Iuliano L, Fogliato G, Battaglia Parodi M. Review and perspectives on pharmacological vitreolysis. *Ophthalmologica* 2013;230:179-85.
29. Chen W, Huang X, Ma XW, Mo W, Wang WJ, Song HY. Enzymatic vitreolysis with recombinant microplasminogen and tissue plasminogen activator. *Eye (London)* 2008;22:300-7.
30. Abrishami M, Moosavi MN, Shoeibi N, Hosseinpoor SS. Intravitreal tissue plasminogen activator to treat refractory diabetic macular edema by induction of posterior vitreous detachment. *Retina* 2011;31:2065-70. doi: 10.1097/IAE.0b013e31820f49ff.
31. Raczyńska D, Lipowski P, Zorena K, Skorek A, Glasner P. Enzymatic vitreolysis with recombinant tissue plasminogen activator for vitreomacular traction. *Drug Des Devel Ther* 2015;9:6259-68. doi: 10.2147/DDDT.S88361.
32. Kurosawa Y, Nirengi S, Homma T, Esaki K, Ohta M, Clark JF, Hamaoka T. A single-dose of oral nattokinase potentiates thrombolysis and anti-coagulation profiles. *Sci Rep* 2015;5:11601. doi: 10.1038/srep11601.
33. Takano A, Hirata A, Ogasawara K, Sagara N, Inomata Y, Kawaji T, Tanihara H. Posterior vitreous detachment induced by nattokinase (subtilisin NAT): a novel enzyme for pharmacologic vitreolysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:2075-9.
34. Hermel M, Schrage NF. Efficacy of plasmin enzymes and chondroitinase ABC in creating posterior vitreous separation in the pig: a masked, placebo-controlled in vivo study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007;245:399-406.
35. Staubach F, Nober V, Janknecht P. Enzyme-assisted vitrectomy in enucleated pig eyes: a comparison of hyaluronidase, chondroitinase, and plasmin. *Curr Eye Res* 2004;29:261-8.
36. Jorge R, Oyamaguchi EK, Cardillo JA, Gobbi A, Laicine EM, Haddad A. Intravitreal injection of dispase causes retinal hemorrhages in rabbit and human eyes. *Curr Eye Res* 2003;26:107-12.
37. Wang F, Wang Z, Sun X, Wang F, Xu X, Zhang X. Safety and efficacy of dispase and plasmin in pharmacologic vitreolysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:3286-90.

38. Zhu D, Chen H, Xu X. Effects of intravitreal dispase on vitreoretinal interface in rabbits. *Curr Eye Res* 2006;31:935-46.
39. Kralinger MT, Kieselbach GF, Voigt M, Hayden B, Hernandez E, Fernandez V, Parel JM. Experimental model for proliferative vitreoretinopathy by intravitreal dispase: Limited by zonulolysis and cataract. *Ophthalmologica* 2006;220:211-6.
40. Kuppermann BD, Thomas EL, de Smet MD, Grillone LR. Pooled efficacy results from two multinational randomized controlled clinical trials of a single intravitreal injection of highly purified ovine hyaluronidase (Vitrace) for the management of vitreous hemorrhage. *Am J Ophthalmol* 2005;140:573-84.
41. Kuppermann BD, Thomas EL, de Smet MD, Grillone LR. Safety results of two phase III trials of an intravitreal injection of highly purified ovine hyaluronidase (Vitrace) for the management of vitreous hemorrhage. *Am J Ophthalmol* 2005;140:585-97.
42. Zhi-Liang W, Wo-Dong S, Min L, Xiao-Ping B, Jin J. Pharmacologic vitreolysis with plasmin and hyaluronidase in diabetic rats. *Retina* 2009;29:269-74. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181923ff0.
43. Wang ZL, Zhang X, Xu X, Sun XD, Wang F. PVD following plasmin but not hyaluronidase: implications for combination pharmacologic vitreolysis therapy. *Retina* 2005;25:38-43.
44. Narayanan R, Kuppermann BD. Hyaluronidase for pharmacologic vitreolysis. *Dev Ophthalmol* 2009;44:20-5. doi: 10.1159/000223941.
45. Bishop PN. Vitreous as a substrate for vitreolysis. *Dev Ophthalmol* 2009;44:7-19. doi: 10.1159/000223939.
46. Mandl I. Collagenase. *Science* 1970;169:1234-8.
47. O'Neill R, Shea M. The effects of bacterial collagenase in rabbit vitreous. *Can J Ophthalmol* 1973;8:366-70.
48. Moorhead LC, Chu HH, Garcia CA. Enzyme-assisted vitrectomy with bacterial collagenase. Time course and toxicity studies. *Arch Ophthalmol* 1983;101:265-74.
49. Moorhead LC, Redburn DA, Kirkpatrick DS, Kretzer F. Bacterial collagenase. Proposed adjunct to vitrectomy with membranectomy. *Arch Ophthalmol* 1980;98:1829-39.

50. Moorhead LC, Radtke N. Enzyme-assisted vitrectomy with bacterial collagenase. Pilot human studies. *Retina* 1985;5:98-100.
51. Gehlsen KR, Argraves WS, Pierschbacher MD, Ruoslahti E. Inhibition of in vitro tumor cell invasion by Arg-Gly-Asp-containing synthetic peptides. *J Cell Biol* 1988;106:925-30.
52. Pierschbacher MD, Ruoslahti E. Influence of stereochemistry of the sequence Arg-Gly-Asp-Xaa on binding specificity in cell adhesion. *J Biol Chem* 1987;262:17294-8.
53. Oliveira LB, Meyer CH, Kumar J, Tatebayashi M, Toth CA, Wong F, Epstein DL, McCuen BW 2nd. RGD peptide-assisted vitrectomy to facilitate induction of a posterior vitreous detachment: a new principle in pharmacological vitreolysis. *Curr Eye Res* 2002;25:333-40.
54. Tsui I, Pan CK, Rahimy E, Schwartz SD. Ocriplasmin for vitreoretinal diseases. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:354979. doi: 10.1155/2012/354979.
55. Sakuma T, Tanaka M, Mizota A, Inoue J, Pakola S. Safety on in vivo pharmacologic vitreolysis with recombinant microplasmin in rabbit eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3295-9. doi: 10.1167/jovs.04-1517.
56. de Smet MD, Gandorfer A, Stalmans P, Veckeneer M, Feron E, Pakola S, Kampik A. Microplasmin intravitreal administration in patients with vitreomacular traction scheduled for vitrectomy: the MIVI I trial. *Ophthalmology* 2009;116:1349-55. doi: 10.1016/j.ophtha.2009.03.051.
57. Gonzalez VH; MIVI III Investigators. Microplasmin in vitrectomy: The MIVI III 6 month follow-up results. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2068.
58. Stalmans P, Benz MS, Gandorfer A, Kampik A, Girach A, Pakola S, Haller JA. Enzymatic vitreolysis with ocriplasmin for vitreomacular traction and macular holes, *N Engl J Med* 2012;367:606-14. doi: 10.1056/NEJMoa1110823.
59. Kuppermann BD. Ocriplasmin for pharmacologic vitreolysis. *Retina* 2012;32 Suppl 2:S225-31. doi: 10.1097/IAE.0b013e31825bc593.
60. Khoshnevis M, Sebag J. Pharmacologic vitreolysis with ocriplasmin: rationale for use and therapeutic potential in vitreo-retinal disorders. *BioGrugs* 2015;29:103-12. doi: 10.1007/s40259-015-0120-y.

61. Song SJ, Smiddy WE. Ocriplasmin for symptomatic vitreomacular adhesion: An evidence-based review of its potential. *Core Evid* 2014;9:51-9. doi: 10.2147/CE.S39363.
62. Morescalchi F, Gambicorti E, Duse S, Costagliola C, Semeraro F. From the analysis of pharmacologic vitreolysis to the comprehension of ocriplasmin safety. *Expert Opin Drug Saf* 2016;15:1267-78. doi: 10.1080/14740338.2016.1208169.
63. Dugel PU, Tolentino M, Feiner L, Kozma P, Leroy A. Results of the 2-Year ocriplasmin for treatment for symptomatic vitreomacular adhesion including macular hole (OASIS) randomized trial. *Ophthalmology* 2016;123:2232-47. doi: 10.1016/j.opht.2016.06.043.
64. Maier M, Abraham S, Frank C, Feucht N, Lohmann CP. Ocriplasmin as a treatment option for symptomatic vitreomacular traction with and without macular hole. First clinical experiences. *Ophthalmologe* 2015;112:990-4. doi: 10.1007/s00347-015-0073-z.
65. Chatziralli I, Theodossiadis G, Parikakis E, Datseris I, Theodossiadis P. Real-life experience after intravitreal ocriplasmin for vitreomacular traction and macular hole: A spectral-domain optical coherence tomography prospective study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016;254:223-33. doi: 10.1007/s00417-015-3031-1.
66. Quezada-Ruiz C, Pieramici DJ, Nasir M, Rabena M, Steinle N, Castellarin AA, Dhoot D, Couvillion S, See RF, Avery RL. Outer retina reflectivity changes on sd-oct after intravitreal ocriplasmin for vitreomacular traction and macular hole. *Retina* 2015;35:1144-50. doi: 10.1097/IAE.0000000000000544.
67. Hager A, Seibel I, Riechardt A, Rehak M, Jousseaume AM. Does ocriplasmin affect the RPE-photoreceptor adhesion in macular holes? *Br J Ophthalmol* 2015;99:635-8. doi: 10.1136/bjophthalmol-2014-305620.
68. Bennison C, Stephens S, Lescauwaeet B, Van Hout B, Jackson TL. Cost-effectiveness of ocriplasmin for the treatment of vitreomacular traction and macular hole. *J Marl Access Health Policy* 2016;23:4. doi: 10.3402/jmahp.v4.31472.
69. García-Pérez L, Abreu-González L, Pérez-Ramos J, García-Pérez S, Serrano-Aguilar P. Revisión de estudios económicos y análisis de

- impacto presupuestario de la ocriplasma como tratamiento de la tracción vitreomacular. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2016;91: doi: 10.1016/j.ofthal.2016.01.022.
70. Uemura A, Nakamura M, Kachi S, Nishizawa Y, Asami T, Miyake Y, Terasaki H. Effect of plasmin on laminin and fibronectin during plasmin-assisted vitrectomy. *Arch Ophthalmol* 2005;123:209-13.
  71. 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.
  72. Takano A, Hirata A, Inomata Y, Kawaji T, Nakagawa K, Nagata S, Tanihara H. Intravitreal plasmin injection activates endogenous matrix metalloproteinase-2 in rabbit and human vitreous. *Am J Ophthalmol* 2005;140:654-60.
  73. Gandorfer A, Putz E, Welge-Lüssen U, Grüterich M, Ulbig M, Kampik A. Ultrastructure of the vitreoretinal interface following plasmin assisted vitrectomy. *Br J Ophthalmol* 2001;85:6-10.
  74. Gandorfer A, Priglinger S, Schebitz K, Hoops J, Ulbig M, Ruckhofer J, Grabner G, Kampik A. Vitreoretinal morphology of plasmin-treated human eyes. *Am J Ophthalmol* 2002;133:156-9.
  75. Verstraeten TC, Chapman C, Hartzler M, Winkler BS, Trese MT, Williams GA. Pharmacologic induction of posterior vitreous detachment in the rabbit. *Arch Ophthalmol* 1993;111:849-54.
  76. Gandorfer A, Ulbig M, Kampik A. Plasmin-assisted vitrectomy eliminates cortical vitreous remnants. *Eye (Lond)* 2001;16:95-7.
  77. Hikichi T, Yanagiya N, Kado M, Akiba J, Yoshida A. Posterior vitreous detachment induced by injection of plasmin and sulfur hexafluoride in the rabbit vitreous. *Retina* 1999;19:55-8.
  78. Díaz-Llopis M, Crevera E. Desprendimiento del vítreo posterior y vitreolisis farmacológica: La nueva era de la vitrectomía enzimática. [Editorial]. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2007;82:465-6.
  79. Rizzo S, Pellegrini G, Benocci F, Belting C, Baicchi U, Vispi M. Autologous plasmin for pharmacologic vitreolysis prepared 1 hour before surgery. *Retina* 2006;26:792-6.
  80. Udaondo P, Díaz-Llopis M, García-Delpech S, Cervera E, Salom D. Autologous plasmin for intravitreal injection without associated

- vitrectomy: a simple preparation method with streptokinase. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2008;83:153-4.
81. Hermel M, Dailey W, Trese M, Hartzler MK. A disposable system for rapid purification of autologous plasmin as an adjunct to vitrectomy - performance and safety profile. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2011;249:37-46. doi: 10.1007/s00417-010-1466-y.
  82. Margherio AR, Margherio RR, Hartzler M, Trese MT, Williams GA, Ferrone PJ. Plasmin enzyme-assisted vitrectomy in traumatic pediatric macular holes. *Ophthalmology* 1998;105:1617-20.
  83. Tsukahara Y, Honda S, Imai H, Kondo N, Fujii S, Yokoyama N, Hirata A, Kawaji T, Fukushima M, Tanihara H, Negi A. Autologous plasmin-assisted vitrectomy for stage 5 retinopathy of prematurity: a preliminary trial. *Am J Ophthalmol* 2007;144:139-41.
  84. Wu WC, Drenser KA, Lai M, Capone A, Trese MT. Plasmin enzyme-assisted vitrectomy for primary and reoperated eyes with stage 5 retinopathy of prematurity. *Retina* 2008;28 (3 Suppl):S75-80. doi: 10.1097/IAE.0b013e318158ea0e.
  85. Wu WC, Drenser KA, Capone A, Williams GA, Trese MT. Plasmin enzyme-assisted vitreoretinal surgery in congenital X-linked retinoschisis: Surgical techniques based on a new classification system. *Retina* 2007;27:1079-85.
  86. Wu WC, Drenser KA, Trese MT, Williams GA, Capone A. Pediatric traumatic macular hole: Results of autologous plasmin enzyme-assisted vitrectomy. *Am J Ophthalmol* 2007;144:668-72.
  87. Lee YS, Wang NK, Chen YP, Chen KJ, Hwang YS, Lai CC, Wu WC. Plasmin enzyme-assisted vitrectomy in pediatric patients with vitreoretinal diseases. *Ophthalmic Res* 2016;56:193-201.
  88. Trese MT, Williams GA, Hartzler MK. A new approach to stage 3 macular holes. *Ophthalmology* 2000;107:1607-11.
  89. Sakuma T, Tanaka M, Inoue M, Mizota A, Souri M, Ichinose A. Efficacy of autologous plasmin for idiopathic macular hole surgery. *Eur J Ophthalmol* 2005;15:787-94.

90. Sakuma T, Tanaka M, Inoue J, Mizota A, Souri M, Ichinose A. Use of autologous plasmin during vitrectomy for diabetic maculopathy. *Eur J Ophthalmol* 2006;16:138-40.
91. Asami T, Terasaki H, Kachi S, Nakamura M, Yamamura K, Nabeshima T, Miyake Y. Ultrastructure of internal limiting membrane removed during plasmin-assisted vitrectomy from eyes with diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2004;111:231-7.
92. Azzolini C, D'Angelo A, Maestranzi G, Codenotti M, Della Valle P, Prati M, Brancato R. Intracavitary plasmin enzyme in diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2004;138:560-6.
93. Hirata A, Takano A, Inomata Y, Yonemura N, Sagara N, Tanihara H. Plasmin-assisted vitrectomy for management of proliferative membrane in proliferative diabetic retinopathy: a pilot study. *Retina* 2007;27:1074-8.
94. Williams JG, Trese MT, Williams GA, Hartzler MK. Autologous plasmin enzyme in the surgical management of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 2001;108:1902-6.
95. Codenotti M, Maestranzi G, De Benedetto U, Querques G, Della Valle P, Iuliano L, Fogliato G, D'Angelo A, Bandello F. Vitreomacular traction syndrome: A comparison of treatment with intravitreal plasmin enzyme vs spontaneous vitreous separation without treatment. *Eye (Lond)* 2013;27:22-7. doi: 10.1038/eye.2012.248.
96. Gandorfer A, Ulbig M, Kampik A. Plasmin-assisted vitrectomy eliminates cortical vitreous remnants. *Eye (Lond.)* 2002;16:95-7.
97. Khan MA, Haller JA. Ocriplasmin for treatment of vitreomacular traction: An update. *Ophthalmol Ther* 2016; doi: 10.1007/s40123-016-0062-6.
98. Díaz-Llopis M, Udaondo P, Salom D, García-Delpech S, Romero FJ. Plasmina autóloga intravítrea sin asociar vitrectomía. Vítreolisis farmacológica, método perfeccionado con uroquinasa. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2008;83:291-2.
99. Díaz-Llopis M, Cervera E. Desprendimiento del vítreo posterior y vítreolisis farmacológica: La nueva era de la vitrectomía enzimática. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2008;82:465-6.
100. Venkatesh P, Vajpayee RB, Garg S. Induction of posterior vitreous separation using LASIK suction ring may have a potential role in the

- management of diabetic macular edema. *Med Hypotheses* 2006;66:1137-9.
101. Lopez-Lopez F, Rodríguez-Blanco M, Gómez-Ulla F, Marticonera J, Enzymatic vitreolysis. *Curr Diabetes Rev* 2009;5:57-62.
  102. Vinekar A, Quiram P, Sund N, Wilson J, Capone A Jr. Plasmin-assisted vitrectomy for bilateral combined hamartoma of the retina and retinal pigment epithelium: histopathology, immunohistochemistry, and optical coherence tomography. *Retin Cases Brief Rep* 2009;3:186-9. doi: 10.1097/ICB.0b013e318185ea69.
  103. Díaz-Llopis M, Udaondo P, Garcia-Delpech S, Cervera E, Salom D, Quijada A. Vitrectomía enzimática por inyección intravítrea de plasmina autóloga como tratamiento del edema macular diabético difuso. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2008;83:77-84.
  104. Hermel M, Mahgoub M, Youssef T, Azrak MI, Raza H, Alldredge C, Trese M, Williams GA, Hartzler M. Safety profile of the intravitreal streptokinase-plasmin complex as an adjunct to vitrectomy in the rabbit. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244:996-1002.
  105. Díaz-Llopis M, Udaondo P, Cervera E, García-Delpech S, Salom D, Quijada A, Romero FJ. Vitrectomía enzimática por inyección intravítrea de plasmina autóloga como tratamiento inicial de las membranas epirretinianas maculares y el síndrome de tracción vítreomacular. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2009;84:91-100.
  106. Yamada N, Kishi S. Tomographic features and surgical outcomes of vitreomacular traction syndrome. *Am J Ophthalmol* 2005;139:112-7.
  107. Mirza RG, Johnson MW, Jampol LM. Optical coherence tomography use in evaluation of the vitreoretinal interface: a review. *Surv Ophthalmol* 2007;52:397-421.
  108. Do DV, Cho M, Nguyen QD, Shah SM, Handa JT, Campochiaro PA, Zimmer-Galler I, Sung JU, Haller JA. Impact of optical coherence tomography on surgical decision making for epiretinal membranes and vitreomacular traction. *Retina* 2007;27:552-6.
  109. Wiznia RA. Natural history of idiopathic preretinal macular fibrosis. *Ann Ophthalmol* 1982;14:876-8.

110. Wise GN. Relationship of idiopathic preretinal macular fibrosis to posterior vitreous detachment. *Am J Ophthalmol* 1975;79:358-62.
111. Fang X, Chen Z, Weng Y, Shu Z, Ni H, Jiang J, Yao K. Surgical outcome after removal of idiopathic macular epiretinal membrane in young patients. *Eye (Lond)* 2008;22:1430-5.
112. Koizumi H, Spaide RF, Fisher YL, Freund KB, Klancnik JM Jr, Yannuzzi LA. Three-dimensional evaluation of vitreomacular traction and epiretinal membrane using spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2008;145:509-17.
113. Gandorfer A, Rohleder M, Kampik A. Epiretinal pathology of vitreomacular traction syndrome. *Br J Ophthalmol* 2002;35:379-80.
114. Lee MW, Cheng Bobby CL, Ang CL. Optical coherence tomography evidence of rapid progression from vitreomacular traction to full thickness macular hole. *Clin Exp Ophthalmol* 2007;35:379-80.
115. Udaondo P, Díaz-Llopis M, García-Delpech S, Salom D, Romero FJ. Intravitreal plasmin without vitrectomy for macular edema secondary to branch retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 2011;129:283-7. doi: 10.1001/archophthalmol.2011.8.

Capítulo 7. **ARTÍCULOS PUBLICADOS CON RESULTADOS DE  
ESTA TESIS**