

nice Okulistyki AMB w latach 1994-1997. Łącznie przebadano 32 ciała szkliste – 18 w jaskrze dokonanej i 14 w guzach wewnątrzgałkowych. Wszystkie kliniczne rozpoznania przedoperacyjne potwierdzone zostały badaniami histopatologicznymi. W 13 przypadkach guzów rozpoznano czerniaka złośliwego naczyniówki, a w jednym – guz przerzutowy. Ciało szkliste zanieczyszczone krwią lub innymi tkankami eliminowano z badań.

Ciało szkliste homogenizowano w homogenizatorze Pottera w temperaturze 4°C 3×15 s z dodatkiem 0,2% Tritonu X-100. Do badań posłużył płyn nadosadowy uzyskany po odwirowaniu homogenatu w temperaturze 4°C przy 1500×g przez 30 minut. Aktywność katepsyny A mierzono metodą ninhydrynową przy użyciu syntetycznego substratu: N-karbobenzoksyl-L-fenylalaninylo-L-alaniny (N-Cbz-Phe-Ala) w optimum pH 5,0. Mieszaninę złożoną z 0,25 ml substratu i 0,25 ml homogenatu tkanki inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny. Reakcję przerywano przez dodanie 1,25 ml 10% TCA (kwasu trójchlorooctowego). Próby kontrolne wytrącano kwasem w czasie zero. Po odwirowaniu próbek do 0,5 ml uzyskanego nadosadu dodawano 0,5 ml odczynnika ninhydrynowego i ogrzewano we wrzącej łaźni wodnej przez 20 minut. Po oziębieniu i dodaniu 2 ml mieszaniny n-propanol + woda (1:1, v.v.) mierzono absorpcję przy 570 nm. Ilość uwolnionego azotu α -aminowego, będącego miarą aktywności enzymu, odczytywano z wykresu kalibracyjnego sporządzonego przy użyciu wzorcowych roztworów leucyny. W identyczny sposób śledzono degradację białek własnych badanego materiału, zastępując substrat – 0,1 M buforem octanowym. O aktywności katepsyny A wnoszono na podstawie różnicy przyrostu azotu α -aminowego w próbach inkubowanych z substratem i bez.

Wyniki

Aktywność katepsyny A stwierdzono we wszystkich próbkach ciała szklistego. Aktywność enzymu w ciele szklistym uzyskanym od pacjentów z jaskrą dokonaną prawie dwukrotnie przewyższała aktywność enzymu w ciele szklistym w przypadku czerniaka naczyniówki. Różnica ta jest znamienna statystycznie ($p < 0,02$). Wartości aktywności katepsyny A w poszczególnych jednostkach chorobowych przedstawiono w tabeli I.

Omówienie

Uzyskane przez nas wyniki aktywności katepsyny A w ludzkim ciele szklistym w przebiegu jaskry dokonanej i guzów wewnątrzgałkowych pokrywają się z wynikami podobnych badań innych autorów, dotyczących aktywności katepsyny D (6). W obu przypadkach aktywność proteolityczna ciała szklistego była około dwukrotnie wyższa w jaskrze, w stosunku do guzów wewnątrzgałkowych. Mimo że na podstawie przeprowadzonych badań trudno jest wypowiadać się o aktywności katepsyny A w ciele szklistym w przebiegu guzów naczyniówki, to widać wyraźnie, że w jaskrze dokonanej poziom enzymu w ciele szklistym jest podwyższony. Różnica ta jest znamienna statystycznie. Wzrost aktywności proteolitycznej katepsyny A w ciele szklistym w przebiegu długo trwającej jaskry może sugerować udział me-

Tabela I: Aktywność katepsyny A w ludzkim ciele szklistym mierzona przyrostem azotu α -aminowego w pH 5,0 przy użyciu N-Cbz-Phe-Ala jako substratu
Table I: Cathepsin A activity in the human vitreous body measured by the increase of α -amino nitrogen at pH 5.0 with N-Cbz-Phe-Ala as a substrate

Ciało szkliste Vitreous body	Liczba próbek ciała szklistego No. of vitreous body samples	Katepsyna A ($\mu\text{mol/ml/24 h}$) \pm SD Cathepsin A ($\mu\text{mol/ml/24 h}$) \pm SD
Jaskra dokonana Absolute glaucoma	18	1,697 \pm 0,110
Czerniak złośliwy naczyniówki Malignant melanoma of choroid	13	0,851 \pm 0,072
Guz przerzutowy do naczyniówki Metastatic tumor of choroid	1	0,551

SD – odchylenie standardowe / standard deviation

chanizmów proteolizy w procesach prowadzących do uszkodzenia nerwu wzrokowego i siatkówki. Być może fotoreceptory i włókna nerwowe, narażone na wpływ podwyższonego ciśnienia śródgałkowego oraz przewlekłe niedokrwienie, ulegają powolnym procesom zwyrodnieniowym związanym z rozpadem ich struktury białkowej, w których to procesach uczestniczą enzymy proteolityczne.

Na podstawie przeprowadzonych badań nie można jednoznacznie ocenić źródła enzymu, ale należy przypuszczać, że katepsyna A obecna w ciele szklistym pochodzi zarówno z lizosomów hialocytów, jak i z lizosomów komórek siatkówki, a najbardziej prawdopodobnym jej źródłem jest nabłonek barwnikowy siatkówki (1, 3).

Piśmiennictwo

- Burke J.M., Twinning S.S.: *Regional comparisons of cathepsin D activity in bovine retinal pigment epithelium*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1988, 29, 1789-1793.
- Galewska Z., Bańkowski E.: *Cathepsin D – a main proteolytic enzyme of the bovine vitreous*. Roczn. Akad. Med. Białymski, 1994, 39, 38-43.
- Obuchowska I., Stankiewicz A., Mariak Z.: *Cathepsin A activity of normal bovine ocular tissues and pathological human intraocular fluids*. Acta Bioch. Pol., 1996, 43, 687-692.
- Obuchowska I., Stankiewicz A., Mariak Z., Proniewska-Skrętek E.: *Aktywność katepsyny A w płynie podsiatkówkowym w pierwotnym odwarstwieniu siatkówki*. Klin. Oczna, 1997, 99, 83-85.
- Twinning S.S., Potts D., Burke J.M.: *Acid proteases of vitreal macrophages*. Curr. Eye Res., 1984, 3, 1055-1062.
- Wolańska M., Bakunowicz-Lazarczyk A.: *Białka ciała szklistego IV. Aktywność proteolityczna patologicznego ciała szklistego*. Klin. Oczna, 1992, 94, 44-45.
- Wolańska M., Galewska Z., Bańkowski E., Stankiewicz A.: *Aktywność proteolityczna ciała szklistego*. Klin. Oczna, 1995, 97, 173-175.

Praca wpłynęła do Redakcji 12 marca 1998 r. (657)

Prace oryginalne

Klinika Oczna 1999, 101 (3): 169-173
ISSN 0023-2157 Indeks 362 646

Can the functional outcome in macular hole surgery be improved by internal limiting membrane maculorhexis?

Czy wyniki czynnościowe chirurgii otworów plamki mogą ulec poprawie po zastosowaniu techniki *maculorhexis* podczas usuwania błony granicznej wewnętrznej?

Wolfgang F. Schrader, Maria Schrenker

Cel: Mimo zastosowania środków wspomagających (adjuwantów), takich jak surowica, fibrynogen czy czynniki wzrostu, chirurgiczne leczenie zaawansowanych stadiów otworów plamki prowadzi zaledwie do ograniczonej poprawy czynnościowej. Rice oraz Eckardt przedstawili w ostatnim czasie technikę *maculorhexis* usuwania błony granicznej wewnętrznej, która pozwoliła na uzyskanie lepszych wyników czynnościowych. W obecnej pracy opisujemy nasze doświadczenia, związane z tą techniką.

Materiał i metodyka: Leczeniu poddano 38 chorych (39 oczu) z pełnościennymi otworami plamki w stadium 2-4 (wg Gassa). Wykonywano witrektomię przez *pars plana*, usuwano błony siatkówkowe, podawano gaz SF₆ i układano pacjentów w pozycji twarzą w dół przez osiem dni. U 30 chorych spośród 38 próbowano usunąć błonę graniczną wewnętrzną, stosując opisaną przez Rice'a i Eckarda technikę *maculorhexis*.

Wyniki: W 26 spośród 30 oczu usunięto błonę graniczną wewnętrzną. W 24 z 26 przypadków osiągnięto całkowite zamknięcie otworu w plamce, co stwierdzono wzmikowo i przy użyciu tomografii laserowej (Heidelberg Retina Tomograph i/lub Ocular Coherent Tomography). Trzy miesiące po zabiegu w 14 spośród 26 przypadków stwierdzono poprawę ostrości wzroku co najmniej o 2 linie, podczas gdy tylko w dwójgu z 13 oczu, w których nie stosowano techniki *maculorhexis*, osiągnięto taką poprawę. Ostrość wzroku po zabiegu *maculorhexis* pozostawała w granicach ± 2 linii w 10 z 26 oczu, a w oczach operowanych bez *maculorhexis* w ośmiorgu z 13 oczu. Ostrość wzroku uległa pogorszeniu o więcej niż dwie linie odpowiednio w dwójgu oczach z 26 i w trojgu z 13. W ośmiorgu oczach spośród 13, w których nie udało się usunąć błony granicznej, brzegi otworu w plamce pozostawały usunięte.

Wnioski: Usunięcie błony granicznej wewnętrznej techniką *maculorhexis* pozwala na osiągnięcie sukcesu anatomicznego w ponad 90% przypadków i wydaje się prowadzić do znacznej poprawy pooperacyjnej ostrości wzroku bez konieczności dalszego stosowania środków wspomagających.

Key words: macular hole, internal limiting membrane, *pars plana* vitrectomy

Słowa kluczowe: otwór w plamce, błona graniczna wewnętrzna, witrektomia przez *pars plana*

Introduction

It is widely accepted that tangential traction by contraction of myofibroblast-like cells on both surfaces of the internal limiting membrane is a major factor in the

development of macular holes (1, 4, 8, 16). From these findings one can conclude that it may be appropriate not only to peel all visible epiretinal membranes but also the – primarily not visible – internal limiting membrane to remove all contractile elements as the myofibroblasts on the membrane surface (2, 11).

Rice (13) described a technique of the removal of the inner retinal surface in macular surgery as an alternative to the application of platelet concentrates (5), autologous serum (15), growth factors (6) or tissue glue (14). The functional outcome of the different techniques are differing. However, they seem to be independent of the method used (7).

Universitätsaugenklinik, Würzburg, Germany

Reprint requests to (Adres do korespondencji)

Wolfgang F. Schrader

Universitätsaugenklinik

Josef-Schneider-Str. 11

D-97080 Würzburg, Germany

Tel. +49 931 2015610

Fax +49 931 2012400

e-mail: w.schrader@augenklinik.uni-wuerzburg.de

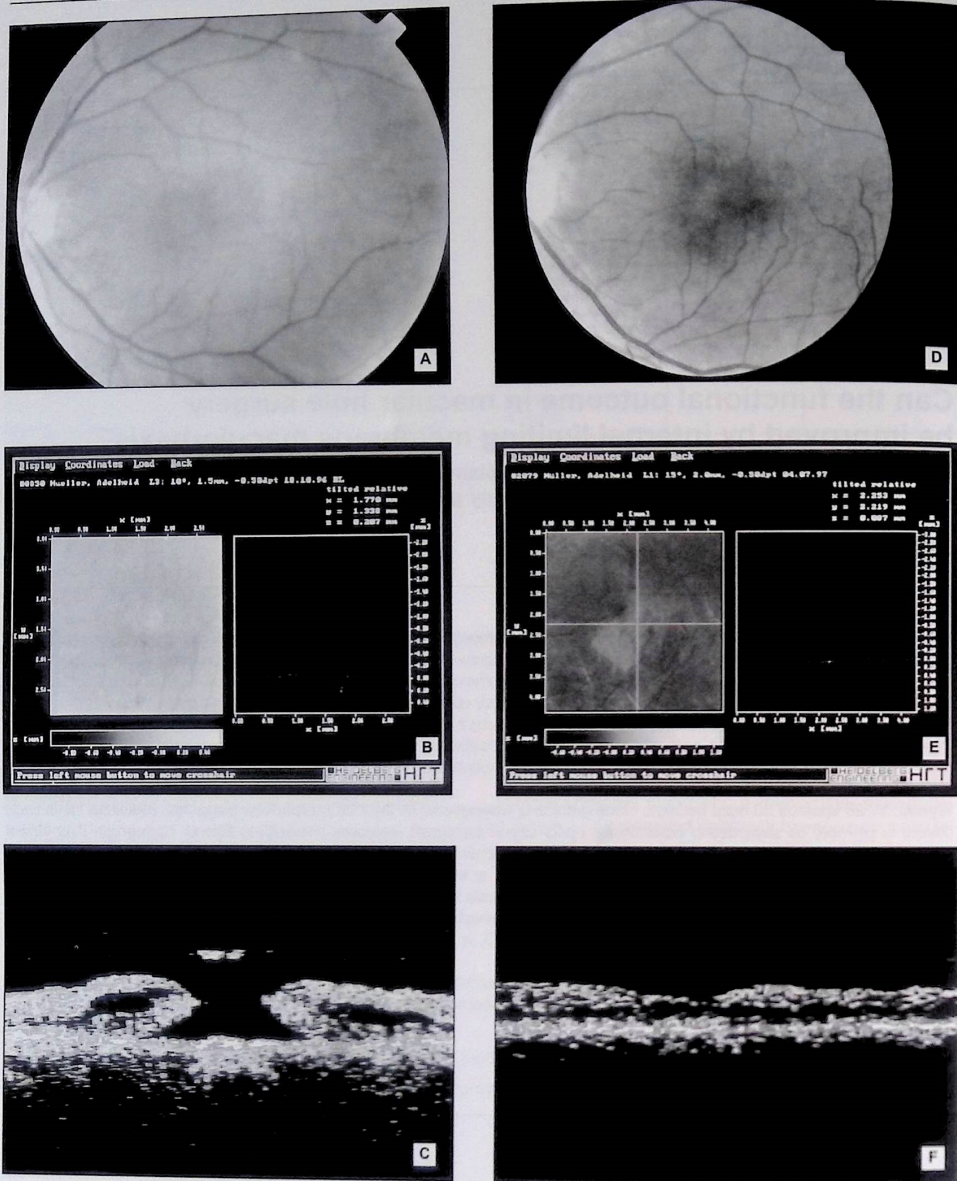


Fig. 1.
 A: Preoperative fundus photography showing a stage 3 macular hole
 B: HRT (Heidelberg retina tomography) of the same eye preoperatively
 C: OCT-scan (Optical coherence tomography) of the same eye preoperatively
 D: Fundus photography 3 months postoperatively showing a complete closure of the macular hole
 E: HRT (Heidelberg retina tomography) of the same eye 3 months postoperatively
 F: OCT-scan (Optical coherence tomography) of the same eye 3 months postoperatively

Ryc. 1.
 A: Przedoperacyjne zdjęcie dna oka ukazujące otwór w plamce w stadium trzecim
 B: Tomografia laserowa HRT tego samego oka przed zabiegiem
 C: Tomografia OCT tego samego oka przed zabiegiem
 D: Zdjęcie dna oka 3 miesiące po zabiegu ukazujące całkowite zamknięcie
 E: Tomografia HRT tego samego oka 3 miesiące po zabiegu
 F: Tomografia OCT tego samego oka 3 miesiące po zabiegu

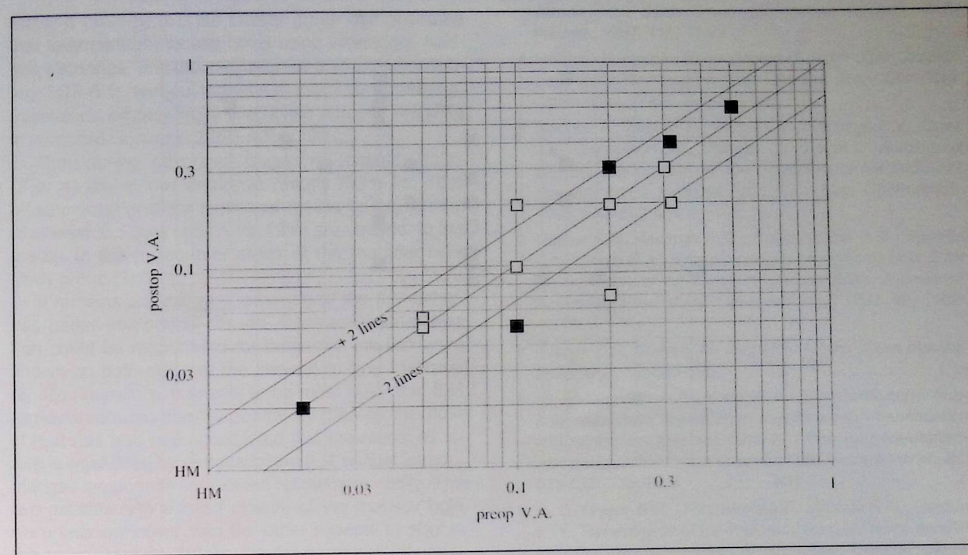


Fig. 2. Visual acuity obtained preoperatively and 3 months postoperatively after *pars plana* vitrectomy with detaching of the posterior vitreous surface and epiretinal membrane peeling, but without removal of the internal limiting membrane. Open rectangles indicate detached rims, filled rectangles a completely attached hole

Ryc. 2. Ostrość wzroku przed zabiegiem i 3 miesiące po zabiegu witektoemii przez *pars plana* z uniesieniem tylnej powierzchni ciała szklistego i usunięciem błony siatkówkowej, ale bez usunięcia błony granicznej wewnętrznej. Otwarte prostokąty oznaczają uniesione brzegi, a wypełnione – całkowicie zamknięty otwór

We report on our results in macular hole surgery without medical adjuvants. We have employed the technique presented by Rice and Eckardt in a subgroup of our patients (2, 13)

Methods and patients

Surgery

We performed a complete *pars plana* vitrectomy using the wide field system BIOM. After the attached posterior hyaloid was detached and removed, all visible membranes were peeled off using high magnification and plano concave contact lenses. In 30 eyes we tried and in 26 patients we succeeded to remove a circular area of the internal limiting membrane of about 3-4 disc diameters in size with special forceps designed by Eckardt (DORC 1286 W). A typical greyish colouring of the retina developed, indicating a retinal edema in the area where the ILM was successfully removed. At the conclusion of the operation 20% of SF6 were injected and the patient was instructed to stay strictly in a prone position for at least 7 days. The patients were divided into two groups with or without successful ILM peeling according to a statement in the operation report.

Patients

Between January 1996 and December 1997 we treated 39 consecutive patients with full thickness idiopathic macular holes and a follow up of at least 3 months. There were 32 women (82%) and 7 men (18%) with a mean age of 67.8 ± 8.5 years (range 42-83 years, median 70 years). 8 patients presented with a stage

2 defect, according to Gass classification, and 31 patients with a stage 3 or 4 defect. All patients had a history of visual deterioration within the last 6 months.

Pars plana vitrectomy was combined with cataract surgery (phacoemulsification, tunnel incision and intra-capsular lens implantation) in 9 patients. 2 eyes had been pseudophakic before macular surgery, and the posterior lens capsule was excised for better visualization during surgery. In all these eyes preoperative visual acuity was determined by the macular hole and not by the lens opacity.

Prior to surgery and 3 months postoperatively anatomic situation and function were determined by refraction, visual acuity, Amsler-grid, funduscopic examination with 78 dpt lens and Goldmann contact lens, the Watzke-Allen sign, photography, and confocal tomography using the Heidelberg retina tomography (HRT) and the optical coherent tomography (OCT).

Results

Anatomic results

In 9 cases we did not try and in 4 cases we did not succeed to perform the maculorhexis technique. Only 5 of these 13 eyes had completely closed holes postoperatively, 8 had detached rims (fig. 2).

In 26 cases the internal limiting membrane was successfully removed according to the intraoperative statement. In 24 of these 26 cases (92%) the macular hole was found to be completely closed by ophthalmoscopy (fig.1 and 3). This finding was confirmed by HRT or OCT examinations (fig. 1).

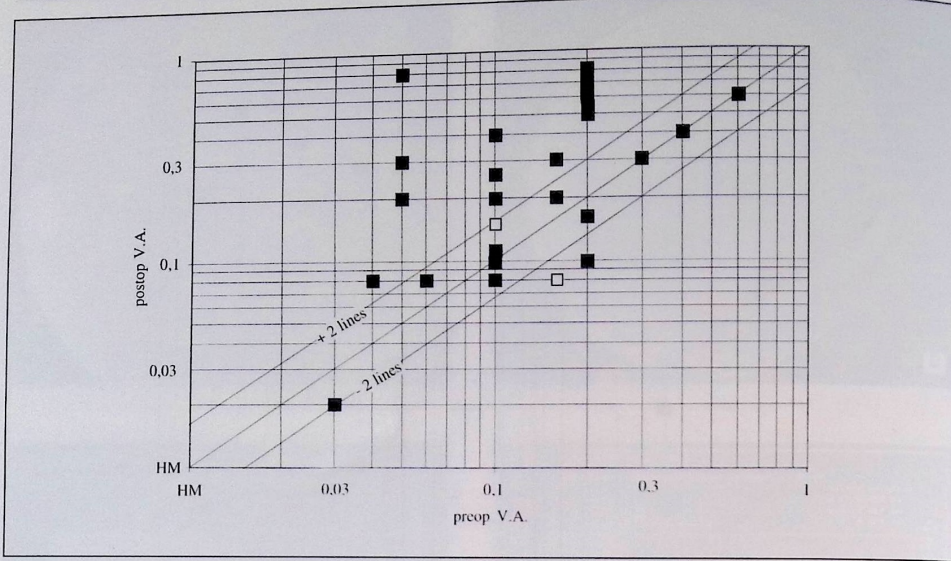


Fig. 3. Visual acuity obtained preoperatively and 3 months postoperatively after pars plana vitrectomy with detaching of the vitreous surface and epiretinal membrane peeling, including the removal of the internal limiting membrane. Open rectangles indicate detached rims, filled rectangles a completely attached hole

Ryc. 3. Ostrość wzroku przed zabiegiem i 3 miesiące po zabiegu witekotomii przez pars plana z uniesieniem tylnej powierzchni ciała szklistego oraz usunięciem błony siatkówkowej i wraz z usunięciem błony granicznej wewnętrznej. Otwarte prostokąty oznaczają uniesione brzegi, a wypełnione – całkowicie zamknięty otwór

Functional results

Mean preoperative visual acuity was 0.17 ± 0.13 (range 0.02-0.6), mean postoperative acuity was 0.27 ± 0.22 (range 0.02-0.8). The operation was followed by a significant improvement of visual acuity (paired Student's t-test, $p=0.03$). After no intended or no successful removal of the ILM, 8 of 13 eyes (62%) remained functionally at the same level within 2 lines (fig. 2). Two eyes (15%) improved visual acuity by at least two lines, 3 eyes (23%) deteriorated by more than 2 lines.

After successful removal of the ILM, functional results were much better. 10 eyes (38%) remained stable, 14 eyes (54%) improved by at least two lines, 2 eyes (8%) deteriorated by more than 2 lines (fig. 3).

Altogether, successful anatomic closure of the macular hole, either with or without removal of the ILM, was reached in 28 cases. The functional results after successful anatomic closure were the same as after successful ILM removal irrespectively of the anatomical outcome, 15/28 (54%) ameliorated visual acuity by 2 lines or more, 11 eyes (39%) remained stable and 2 eyes (7%) deteriorated.

Considering only advanced stages 3 or 4 ($n=31$), anatomic closure rate was reached in 2/8 eyes (25%), after the ILM had not been successfully removed. Only one eye improved visual acuity by at least two lines, 2/8 eyes deteriorated by more than 2 lines.

Anatomic closure was obtained in 21/23 eyes (91%) after successful removal of the ILM in advanced stages of macular holes (3 or 4). 12/23 eyes (52%) improved by at least two lines, 2 eyes (9%) deteriorated by more than 2 lines. ILM removal seemed to be more impor-

tant in the surgery of advanced stages of macular hole than in early stages.

We observed no major intraoperative or postoperative complications, such as retinal detachment. 2 eyes developed cataract within 3 months after surgery and were considered for cataract surgery in the further course.

Discussion

In histological specimens multiple layers of tangentially inserting membranes can be found at the rims of a macular hole. Macrophages of myofibroblast-like cells are shown on both sides of the internal limiting membrane (8,16). Therefore, it seems reasonable to remove the internal limiting membrane completely in addition to a complete pars plana vitrectomy (2, 11, 13). Our anatomic and functional results after successful surgery of the ILM (92% attached holes, 54% visual improvement by at least 2 lines) correspond well to the results of Rice (98% closure in 58 eyes) and Eckardt (92% closure and 72% visual improvement by at least 2 lines in 39 eyes), who used the same technique. Our results also correspond to the results obtained after administration of medical adjuvants in macular hole surgery less aggressive to the ILM. After injection of platelet concentrates Gaudric *et al.* reached a reattachment of the edge of the hole to the retinal pigment epithelium in 19/20 patients (5). Administering autologous serum, Ligett *et al.* achieved an anatomic success in 11/11 cases (12), Wells *et al.* an anatomical closure of the macular hole in 29/43 eyes (67%) (15). Having shown the effectiveness of transforming-growth

factor β (TGF- β) (6), the Glaser group demonstrated that treatment of macular holes using vitrectomy, fluid-gas exchange, and the instillation of a solution containing TGF- β 2, without epiretinal membrane peeling, maintained efficacy while simplifying surgery, resulting in anatomic closure in 22/23 eyes (10).

Considering advanced stages of macular holes (3 or 4) alone, our anatomic results (91% vs. 69% attachments) and the functional results (improvement of at least two lines in 54% vs. 19%) are superior to the results in the multicenter study of the macular hole study group (3).

It remains unclear why removing of the ILM achieves better anatomical results. Contractile structures that could be responsible for tangential traction were shown on both sides of the internal limiting membrane (8, 16). Therefore, it seems to be most likely that ILM removal reduces the tangential traction to the hole (11). It has also been postulated that the retinal structure is weakened by removal of the ILM so that intraocular gas tamponade flattens the retina more easily. The two patients with a failed closure of the macular hole were less compliant than the other patients to stay in the prone position, but we did not systematically control our patients for this parameter. Finally, it can be speculated whether the trauma by the peeling itself induces a proliferation on the holes margins to facilitate closure (2).

Our results indicate that ILM removal is not possible in all cases and remains a difficult step in macular hole surgery. We observed no learning curve in the success rate of this procedure. When ILM removal cannot be achieved, the use of adjuvants should be considered, either in the same or in a later procedure. Still, retreatment of persistent full-thickness macular holes with transforming growth factor- β 2 after prior vitrectomy with failed closure of the hole was successful in 12 of 12 eyes and appeared to have a beneficial effect on both neurosensory retinal flattening and visual outcome (9).

Acknowledgements: The authors thank Dr. Winfried Göbel for providing the OCT-scans (Fig. 1 C and F).

References

1. Aaberg T.M., Blair C.J., Gass J.D.M.: *Macular holes*. Am. J. Ophthalmol., 1970, 69, 555-562.
2. Eckardt C., Eckardt U., Groos S., Luciano L., Reale E.: *Entfernung der Membrana limitans interna bei Makulalöchern. Klinische und morphologische Befunde*. Ophthalmologie, 1997, 94, 545-551.
3. Freeman W.R., Azen S.P., Kim J.W., Haig W., Mishell D., Bailey I.: *Vitrectomy for the treatment of full-thickness stage 3 or 4 macular holes. Results of a multicentered randomized clinical trial. The Vitrectomy for Treatment of*

Macular Hole Study Group (see comments). Arch. Ophthalmol., 1997, 115, 11-21.

4. Gärtner J.: *Histologische Beobachtungen über Glaskörperindenzellen und Hyalitis*. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 1962, 164, 473-495.
5. Gaudric A., Massin P., Paques M., Santiago P.Y., Guez J.E., Gargasson J.F., Mandler O., Drouet L.: *Autologous platelet concentrate for the treatment of full-thickness macular holes*. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 1995, 233, 549-554.
6. Glaser B.M., Michels R.G., Kuppermann B.D., Sjaarda R.N., Pena R.A.: *Transforming growth factor-beta 2 for the treatment of full-thickness macular holes. A prospective randomized study*. Ophthalmology, 1992, 99, 1162-1172.
7. Gregor Z.J.: *Surgery for idiopathic full-thickness macular holes*. Eye, 10, 685-690.
8. Heidenkummer H.P., Kampik A.: *Morphologische Analyse epiretinaler Membranen bei chirurgisch behandelten idiopathischen Maculaforamina. Licht- und elektronenmikroskopische Ergebnisse*. Ophthalmologie, 1996, 93, 675-679.
9. Ie, D., Glaser B.M., Thompson J.T., Sjaarda R.N., Gordon L.W.: *Retreatment of full-thickness macular holes persisting after prior vitrectomy. A pilot study*. Ophthalmology, 1993, 100, 1787-1793.
10. Lansing M.B., Glaser B.M., Liss H., Hanham A., Thompson J.T., Sjaarda R.N., Gordon A.J.: *The effect of pars plana vitrectomy and transforming growth factor-beta 2 without epiretinal membrane peeling on full-thickness macular holes* (see comments). Ophthalmology, 1993, 100, 868-871.
11. Liesenhoff O., Messmer E.M., Pulur A., Kampik A.: *Operative Behandlung durchgreifender Makulaforamina*. Ophthalmologie, 1996, 93, 655-659.
12. Liggett P.E., Skolik S.A., Horio B., Saito Y., Alfaro V., Mieler W.: *Human autologous serum for the treatment of full-thickness macular holes*. Ophthalmology, 1995, 102, 1071-1076.
13. Rice T.A.: *Technique of removal of the inner retinal surface in macular hole surgery* (Abstract). Annual meeting of the Retina Society 68, 1995.
14. Tilanus M.A., Deutman A.F.: *Full-thickness macular holes treated with vitrectomy and tissue glue*. Int. Ophthalmol., 1994, 18, 355-358.
15. Wells J.A., Gregor Z.J.: *Surgical treatment of full-thickness macular holes using autologous serum*. Eye, 1996, 10, 593-599.
16. Yooh H.S., Brooks H.J., Capone A.J., L'Hernault N.L., Grossniklaus H.E.: *Ultrastructural features of tissue removed during idiopathic macular hole surgery*. Am. J. Ophthalmol., 1996, 122, 67-75.

Praca wpłynęła do Redakcji 28 stycznia 1999 r. (743)