

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

JEFFERSON AUGUSTO SANTANA RIBEIRO

**Ranibizumabe intravítreo no pré-operatório de
vitrectomia via *pars plana* em pacientes
diabéticos com descolamento de retina tracional**

RIBEIRÃO PRETO

2010

JEFFERSON AUGUSTO SANTANA RIBEIRO

**Ranibizumabe intravítreo no pré-operatório de
vitrectomia via *pars plana* em pacientes
diabéticos com descolamento de retina tracional**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Mecanismos Fisiopatológicos nos Sistemas Visual e Audiovestibular.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

RIBEIRÃO PRETO

2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Ribeiro, Jefferson Augusto Santana

Ranibizumabe intravítreo no pré-operatório de vitrectomia via *pars plana* em pacientes diabéticos com descolamento de retina tracional. Ribeirão Preto, 2010.

91p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Mecanismos Fisiopatológicos nos Sistemas Visual e Audiovestibular.

Orientador: Jorge, Rodrigo

1. descolamento de retina; 2. retinopatia diabética; 3. vitrectomia; 4. VEGF; 5. ranibizumabe.

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram para a minha formação, que se iniciou em Manaus e continua com a realização deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANCHOR-Anti-VEGF- *Antibody for the treatment of predominantly classic choroidal neovascularization in age-related macular degeneration*

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AVCC- Acuidade visual com correção

CEP- Comitê de Ética em Pesquisa

DM- Diabetes *mellitus*

DMRI- Degeneração Macular Relacionada à Idade

DR- Descolamento de retina

DRS- *Diabetic retinopathy study*

DRT- Descolamento de retina tracional

DRVS- *Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study*

DV- Desvio padrão

EPM- Erro padrão da média

EPR- Epitélio pigmentado da retina

ETDRS- *Early treatment diabetic retinopathy study*

FDA- *Food and Drug Administration*

FGF- *Fibroblast growth factor*

HCFMRP-USP- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

HV- Hemorragia vítrea

IGF- *Insulin-like growth factor*

IRMA- *Intraretinal microvascular abnormalities*

IVR- Ranibizumabe intravítreo

MARINA-	<i>Minimally Classic/Occult Trial of the Anti-VEGF Antibody Ranibizumab in the treatment of neovascular AMD</i>
MAVC-	Melhor acuidade visual corrigida
NVC-	Neovascularização de coroide
OCT-	Tomografia de Coerência Óptica
PDGF-	<i>Platelet derived growth factor</i>
PIER-	<i>Phase IIIb, Multicenter, Randomized, Double-Masked, Sham-Injection-Controlled Study of the Efficacy and Safety of Ranibizumab in Subjects with Subfoveal Choroidal Neovascularization with or without Classic CNV Secondary to Age-Related Macular Degeneration</i>
PrONTO-	<i>Prospective optical coherence tomography (OCT) imaging of patients with neovascular AMD treated with intravitreal Lucentis®</i>
PRP-	Panfotocoagulação retiniana
PubMed-	Arquivo digital gratuito de literatura biomédica, desenvolvido pela Livraria Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América
RD-	Retinopatia diabética
RDP-	Retinopatia diabética proliferativa
REM	<i>Rapid eye movement</i>
RNA-	Ácido ribonucléico
SAILOR-	<i>Safety assessment of intravitreal Lucentis® for age-related macular degeneration</i>
VEGF-	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VVPP-	Vitrectomia via <i>pars plana</i>

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Desenho ilustrando a distribuição de quadrantes da câmara de Neubauer a partir dos quais foi realizada a contagem de células..... 54
- Figura 2:** Câmara de Neubauer e tubo com amostra do fluido obtido do cassete da máquina de vitrectomia ao final da cirurgia..... 54
- Figura 3:** Identificação das células por meio de microscopia óptica com aumento de 400 X na câmara de Neubauer 55
- Figura 4:** Contagem de eritrócitos. Os pontos correspondem aos valores individuais e as linhas às médias em cada grupo (Eixo das ordenadas = contagem de células * 10^6) 58
- Figura 5:** Progressão do descolamento de retina tracional uma semana após a injeção intravítrea de ranibizumabe 0,5 mg, observada em um único paciente do grupo RANI/PPV, que apresentava fibrose em anel envolvendo a região macular e não havia sido submetido à fotocoagulação retiniana prévia. **(a)** retinografia uma semana antes da injeção intravítrea de ranibizumabe. **(b)** retinografia no dia da cirurgia e uma semana após o ranibizumabe intravítreo..... 60
- Figura 6:** Casos do grupo RANI/PPV na avaliação de base (anéritra pré-IVR), no dia da cirurgia de vitrectomia e sete dias após a injeção de ranibizumabe (anéritra pós-IVR); sem evidência de progressão do descolamento de retina. (IVR=ranibizumabe intravítreo)..... 61

RESUMO

RIBEIRO, J.A.S. **Ranibizumabe intravítreo no pré-operatório de vitrectomia via *pars plana* em pacientes diabéticos com descolamento de retina tracional.** 91f. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Objetivos: Investigar os efeitos do ranibizumabe intravítreo (IVR) no sangramento intraocular durante vitrectomia via *pars plana* (VVPP) 23-gauge para descolamento de retina tracional (DRT) em pacientes diabéticos.

Métodos: Trata-se de estudo prospectivo, duplo mascarado, envolvendo 18 olhos consecutivos com retinopatia diabética proliferativa (RDP), que foram submetidos à VVPP para DRT envolvendo a mácula de até três meses de duração. Os pacientes foram aleatoriamente designados para 0,5 mg IVR (grupo RANI/PPV, n = 9) ou injeção simulada (grupo PPV, n = 9) uma semana antes do VVPP. Todos os pacientes completaram 12 semanas de acompanhamento após a VVPP. A hemorragia intraocular durante a cirurgia foi medida pela contagem do número de hemácias no líquido obtido do reservatório do equipamento de vitrectomia ao final do procedimento.

Resultados: A média \pm EPM da contagem de eritrócitos ($\times 10^6$ células) foi $63,2 \pm 25,2$ para o grupo RANI/PPV, e $185,1 \pm 49,2$ para o grupo PPV ($p = 0,0192$, Wilcoxon). Não houve alteração estatisticamente significativa na acuidade visual do grupo RANI/PPV; mas melhora de $0,35 \pm 0,1$ logMAR ($p < 0,05$) foi observada no grupo PPV 12 semanas após a cirurgia. **Conclusão:** A administração de ranibizumabe intravítreo esteve associada à redução da hemorragia intraocular durante a VVPP em olhos com DRT envolvendo a mácula, secundária à RDP, podendo contribuir, assim, para uma cirurgia segura e tecnicamente mais fácil. Estudos posteriores com maior número de pacientes serão necessários para avaliar se o IVR pré-operatório afeta a função visual em longo prazo.

Palavras-chave: descolamento de retina; retinopatia diabética; vitrectomia; VEGF; ranibizumabe.

ABSTRACT

RIBEIRO, J.A.S. **Intravitreal ranibizumab as adjunct before *pars plana* vitrectomy for diabetic traction retinal detachment.** 91f. (Thesis) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Aims: To investigate the effects of intravitreal ranibizumab (IVR) on intraocular bleeding during 23-gauge pars plana vitrectomy (PPV) for diabetic traction retinal detachment (TRD). **Methods:** Prospective, double-masked study including 18 consecutive eyes with proliferative diabetic retinopathy (PDR) that underwent PPV for macula-involving TRD of up to three months duration. Patients were randomly assigned to 0.5 mg IVR (RANI/PPV group; n=9) or sham injection (PPV group; n=9) one week before PPV. All patients completed 12 weeks follow-up after PPV. Intraocular bleeding during PPV was measured by erythrocyte count in the fluid retrieved from the vitrectomy cassette. **Results:** Mean \pm SE erythrocyte count ($\times 10^6$ cells) was 63.2 ± 25.2 for RANI/PPV; and 185.1 ± 49.2 for PPV ($p=0.0192$; Wilcoxon). There was no within-group statistically significant BCVA change in the RANI/PPV group, but a 0.35 ± 0.1 logMAR BCVA improvement ($p<0.05$) was observed in the PPV group 12 weeks after surgery. **Conclusion:** IVR was associated with reduced intraocular bleeding during PPV in eyes with macula-involving TRD secondary to PDR, which may contribute to a safer and technically easier surgery. Further study in a larger number of patients is warranted to investigate whether preoperative IVR affects visual function in the long-term.

Keywords: retinal detachment; diabetic retinopathy; vitrectomy; VEGF; ranibizumab.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Anatomia da Retina	16
1.2. Retinopatia Diabética	20
1.2.1. Epidemiologia	21
1.2.2. Fisiopatologia	22
1.2.3. História natural	24
1.2.3.1. Descolamento de retina tracional	26
1.2.4. Tratamento	27
1.2.4.1. Vitrectomia <i>via pars plana</i>	28
1.2.4.1.1. Vitrectomia <i>via pars plana</i> com incisões de pequeno calibre	29
1.2.4.1.2. Óleo de silicone	30
1.2.4.2. Drogas anti-VEGF	31
1.2.4.2.1. VEGF e retinopatia diabética	31
1.2.4.2.2. Ranibizumabe	33
1.2.4.2.3. Bevacizumabe	35
1.2.4.2.4. Pegaptanibe	37
1.2.4.2.5. Anti-VEGF e retinopatia diabética proliferativa	40
1.2.4.2.6. Anti-VEGF no pré-operatório de vitrectomia em complicações da retinopatia diabética	41
1.2.4.2.6.1. <i>Complicações do uso adjuvante de anti-VEGF em vitrectomia para retinopatia diabética</i>	44
2. OBJETIVOS	46
3. MATERIAL E MÉTODOS	48
3.1. Desenho do Estudo	49
3.2. Seleção de Pacientes	49
3.3. Critérios de Inclusão	50
3.4. Critérios de exclusão	50
3.5. Exame Oftalmológico	50
3.6. Injeção Intravítrea	51
3.7. Simulação de injeção intravítrea	51
3.8. Vitrectomia Posterior Via <i>pars plana</i>	52
3.9. Quantificação da Hemorragia Vítreo Intraoperatória	53
3.10. Análise Estatística	55
4. RESULTADOS	56
4.1. Contagem de Eritrócitos	57
5. DISCUSSÃO	62

6. CONCLUSÕES.....	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
8. ANEXOS.....	87

ANEXO DE PUBLICAÇÃO

1- INTRODUÇÃO

1.1. Anatomia da Retina

A retina é a camada interna do globo ocular. Constitui uma fina camada nervosa com área de aproximadamente 266 mm^2 , sendo formada por dois componentes principais: um estrato nervoso e um estrato pigmentoso. Estas duas camadas estão frouxamente aderidas entre si pela matriz extracelular. Os principais pontos de referência da retina são o nervo óptico, os vasos retinianos, a área *centralis* com a fóvea e a fovéola, a retina periférica e a ora serrata. A retina é mais espessa próxima ao nervo óptico com afinamento progressivo em direção à periferia (BRON; TRIPATHI; TRIPATHI; 1997). A camada mais externa da retina está em contato com a membrana de Bruch da coroide, enquanto a superfície interna está em contato com o vítreo.

A área *centralis* possui diâmetro de aproximadamente 5,5 mm e é divisível em fóvea e fovéola, com as regiões parafoveal e perifoveal ao redor da fóvea. A fóvea, localizada aproximadamente no centro da área *centralis*, representa uma área com espessura da retina diminuída na parte central, produzindo a concavidade conhecida como fovéola. A fovéola é a área com melhor acuidade visual (AV) da retina, mesmo correspondendo a somente 1° do campo visual. Isto é em parte devido à presença única de cone e em parte a sua natureza avascular (BRON; TRIPATHI; TRIPATHI; 1997).

A mácula lútea é uma área oval de coloração amarelada na retina central. Esta coloração é provavelmente devida à presença de pigmento carotenoide e xantofila nas células ganglionares e bipolares.

A periferia retiniana aumenta o campo visual e é dividida em quatro regiões: uma mais posterior, ao redor da área *centralis*; a média-periferia; extrema periferia e ora serrata.

A organização funcional do sistema visual é similar ao observado em outros sistemas sensoriais no corpo. Todos apresentam receptores que transmitem informação ao cérebro por meio de uma série de neurônios. No

olho, os fotorreceptores captam a informação externa (fótons), convertem-na em um evento celular (alteração na resistência da membrana) e passam a informação ao cérebro por meio de uma série de neurônios. No caso mais simples, a cadeia é iniciada com as células bipolares, seguidas pelas células ganglionares. Os neurônios primários na via óptica são os fotorreceptores, que constituem a camada de fotorreceptores, a nuclear externa e a plexiforme externa. A membrana limitante externa representa a adesão entre fotorreceptores e células de Müller observada à microscopia óptica. As células bipolares, horizontais, amácrinas e interplexiformes constituem os neurônios de segunda ordem. As camadas de células ganglionares e de fibras nervosas formam a trama de neurônios de terceira ordem que enviam a informação gerada pelos fotorreceptores para processamento posterior no córtex visual. A membrana limitante interna está em contato com o vítreo. As células de Müller se estendem entre as duas membranas limitantes.

A retina possui canais separados para detecção do aparecimento e desaparecimento da luz, chamados de canais *On* e *Off*. Todas as células fotorreceptoras da retina dos vertebrados hiperpolarizam à luz. E este sinal pode ser transmitido, tanto inalterado pela via *Off* como ser passado com despolarização pela via *On*. Na via dos cones, estes canais já são presentes na camada plexiforme externa, conectando tanto células bipolares *On* quanto *Off*, enquanto os bastonetes se ligam somente a células bipolares *On*. A divisão *On/Off* na via escotópica aparece somente quando o sinal é passado para as vias *On* e *Off* dos cones e para o meio das células amácrinas AII.

A observação da retina à microscopia óptica evidencia a presença de 10 estratos, do mais externo ao mais interno: epitélio pigmentar da retina, fotorreceptores, membrana limitante externa, estrato nuclear externo, estrato plexiforme externo, estrato nuclear interno, estrato plexiforme interno, estrato de células ganglionares, estrato de fibras nervosas e membrana limitante interna. Na fóvea, os únicos estratos presentes são o epitélio pigmentar, os fotorreceptores (somente cones), a membrana limitante externa, estrato

nuclear externo, o estrato de fibras internas dos fotorreceptores (camada de Henle) e limitante interna.

Epitélio pigmentar da retina. As células do epitélio pigmentado (EPR) são regularmente organizadas como telhas hexagonais constituindo uma única camada de epitélio cuboide que separa os segmentos externos dos fotorreceptores da coroide. O EPR dá suporte e mantém a função dos fotorreceptores. A membrana celular das células do EPR é convoluta com invaginações no seu lado basal, que aumentam a sua superfície sugerindo função de transporte celular. Na superfície apical, as células apresentam microvilos que se estendem ao redor dos segmentos externos dos fotorreceptores. Estes microvilos parecem isolar os segmentos externos dos cones e dos bastonetes (FISHER; STEINBERG, 1982). O citoplasma das células do EPR apresenta grânulos contendo melanina, principalmente em sua região apical. Estes grânulos pigmentados absorvem luz e também participam na eliminação de radicais livres, e não têm variação racial por derivarem do neuroepitélio (WEITER et al., 1986).

O citoplasma das células do EPR também apresenta outras organelas, especialmente retículo endoplasmático liso. Os discos dos segmentos externos dos fotorreceptores, fagocitados pelos microvilos, são encontrados nos fagossomos, sofrendo digestão gradual que dá origem a produtos finais que são depositados na membrana de Bruch ou retidos nas células como grânulos de lipofuscina (WING; BLANCHARD; WEITER, 1978).

As células do EPR estão em contato entre si por meio de complexos juncionais, formando uma barreira à difusão entre coroide e retina, que é uma das principais funções do EPR, além do transporte de íons, água e metabólitos entre retina e coroide, e fagocitose dos segmentos externos dos fotorreceptores eliminados, podendo ainda o EPR estar envolvido na modulação da imunidade intraocular e remoção de debris da retina.

Estrato nuclear externo. Os corpos celulares dos fotorreceptores estão localizados nesta camada. O número de bastonetes é superior ao de cones na periferia, invertendo-se essa situação na retina central. Nesta

região, os cones têm os axônios dispostos obliquamente, que juntamente com o processo das células de Müller adjacentes, formam a camada de fibras de Henle.

O estrato nuclear externo é mais espesso na região foveal, onde contém aproximadamente 10 fileiras de núcleos de cones, se tornando progressivamente mais fina em direção à periferia.

Os fotorreceptores são altamente especializados em converter luz em sinais nervosos pela fototransdução. Os bastonetes são responsáveis pela visão escotópica, enquanto os cones são responsáveis pela visão em condições de iluminação de alta intensidade, na qual a distinção de cores é importante (CURCIO et al., 1990). Todos os bastonetes possuem a mesma rodopsina, entretanto os cones humanos têm três tipos diferentes de opsinas sensíveis a três regiões diferentes do espectro luminoso, com picos de absorção de 420 (azul), 531 (verde) e 588 nm (vermelho).

Estrato plexiforme externo. Os fotorreceptores formam sinapses com as células bipolares e horizontais no estrato plexiforme externo. As longas fibras de Henle fazem esta camada espessa na região macular, com afinamento progressivo em direção à periferia. Os seus corpos sinápticos (esférulas dos bastonetes e pedículos dos cones) ocupam o meio da camada e os dendritos das células bipolares e horizontais, juntamente com os processos das células de Müller, ocupam a parte mais interna.

Estrato nuclear interno. Esta camada contém quatro tipos de células: horizontais, bipolares, amácrinas e de Müller. As células horizontais se localizam na parte mais distal da camada, enquanto as células amácrinas se localizam proximalmente. Os núcleos das células de Müller e bipolares ocupam as partes intermediárias desta camada.

Estrato plexiforme interno. Nesta camada, as células bipolares, amácrinas e ganglionares fazem conexão. Células ocasionais encontradas nesta camada podem ser células amácrinas ou ganglionares deslocadas, sendo então camadas de células intersticiais.

Estrato de células ganglionares. Esta camada é mais espessa na região macular, onde contém de oito a dez fileiras de núcleos. Na região foveal esta camada é completamente ausente. Nas outras regiões, a camada de células ganglionares tem tipicamente uma única fileira de células, sendo menos espessa. As células ganglionares são neurônios que coletam toda a informação visual processada na retina e a enviam ao cérebro. Os axônios destas células formam o nervo óptico e terminam predominantemente no corpo geniculado lateral ou seus equivalentes. Aproximadamente 10% se projetam para estruturas subtalâmicas, servindo a processos não visuais como reflexos pupilares e ritmo circadiano (SCHILLER; MALPELI, 1977).

Estrato de fibras nervosas. Formado pelos axônios das células ganglionares, esta camada se torna mais espessa próxima ao nervo óptico. Os axônios das células ganglionares formam pequenos feixes na camada de fibras nervosas; estes feixes são frequentemente cercados por processos de células gliais pertencentes aos astrócitos ou células de Müller. As fibras oriundas da mácula chegam ao nervo óptico por uma estrutura direta chamada de feixe papilomacular. As fibras nervosas da retina normalmente não são mielinizadas, entretanto, esta condição pode estar presente, principalmente próximo ao nervo óptico, sendo uma anomalia benigna.

1.2. Retinopatia Diabética

A retinopatia diabética (RD) constitui doença vascular da retina que, por seu caráter crônico e progressivo, é importante causa de cegueira da humanidade. A patogênese da RD envolve a isquemia retiniana, que leva a alteração de fatores reguladores da angiogênese induzindo a formação patológica de novos vasos (neovascularização) (ASHTON, 1957; MICHAELSON, 1948; STEPHAN; BROCK, 1996). Os neovasos de retina podem crescer sobre o vítreo, formando pontes fibrovasculares, que posteriormente podem contrair-se e ocasionar hemorragias e descolamento de retina tracional (DRT), caracterizando estágios avançados da retinopatia

diabética proliferativa (RDP) (AIELLO et al., 1998; GARNER, 1981; KOHNER, 1993; PORTA; BANDELLO, 2002).

No paciente diabético, o DRT consiste em uma complicação da RDP avançada que pode levar a grave déficit de visão, devendo ser considerado tratamento cirúrgico com vitrectomia posterior via *pars plana* para desfazer trações vitreoretinianas (ELIOTT; LEE; ABRAMS, 2006).

1.2.1. Epidemiologia

A RD é um dos mais graves problemas oculares, constituindo-se um importante problema de saúde pública por sua elevada prevalência. Nos Estados Unidos da América (EUA), aproximadamente 8% dos casos de cegueira legal são atribuídos ao diabetes, sendo a RD a principal causa de novos casos de cegueira em indivíduos entre 20 e 74 anos de idade (*National Society to Prevent Blindness*, 1980). Entre diabéticos do tipo 1 com 30 anos ou mais de doença, aproximadamente 12% são cegos. Além do desastroso impacto social há um elevado custo financeiro, que nos EUA fica em torno de \$500 milhões de dólares anualmente (CHIANG; BASSI; JAVITT, 1992). A prevalência da retinopatia aumenta em relação direta com o aumento da idade, chegando ao máximo em pacientes entre 65 e 74 anos, havendo um declínio a partir dessa idade, possivelmente atribuído à maior taxa de mortalidade em diabéticos idosos com outras lesões em órgãos-alvo (*National Society to Prevent Blindness*, 1980).

No Brasil, as estatísticas sobre RD são escassas. Fernandez, Moura e Jorge (1998) encontraram prevalência de 41,7% de retinopatia em pacientes do tipo 1 e 33,9% de retinopatia em diabéticos do tipo 2 no ambulatório da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais. Steck, Esteves e Gonçalves (1993) encontraram prevalência de 71,43% em pacientes insulino-dependentes em contraposição a 64,52% dos não insulino-dependentes em ambulatório do Hospital das Clínicas de Franco da Rocha. Em uma população atendida pelo SUS de Londrina, estado do Paraná, Casella, Bonomo e Farah (1994) encontraram uma prevalência de 29,7% de RD. Hirata et al. (1986)

relataram presença de RD em 43,48% (9,42% de retinopatia proliferativa) dos pacientes do ambulatório de diabetes da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sendo que 26,5% não tinham conhecimento da doença na retina. Ulson e Abujamra (1986) observaram que, dos 400 pacientes com RD avaliados em clínica oftalmológica particular, 42% apresentavam RD não proliferativa e 58% a forma proliferativa.

Em Ribeirão Preto, Souza Jr. (2003) avaliou 2303 pacientes diabéticos no Mutirão do “Olho Diabético”, um programa do governo Federal especialmente designado para melhorar a assistência aos pacientes com problema retiniano causado pelo diabetes, e encontrou RD em 28%. As taxas de prevalência de cegueira legal foram de 19% nos pacientes do tipo 1 e 13% nos pacientes do tipo 2.

Outro estudo sobre a prevalência da RD em Ribeirão Preto foi realizado por Alves (2004) e teve como principal característica a utilização do planejamento amostral do estudo prévio feito por Torquato et al. (2003), no qual foi estudada a prevalência do diabetes na população adulta de Ribeirão Preto. Este estudo avaliou uma amostra de 1473 indivíduos representativos dessa população e encontrou 178 diabéticos (12,1%). Destes, 132 (74,16%) foram incluídos no trabalho de Alves (2004), no qual foi verificada prevalência de 12% de RD na população adulta urbana de Ribeirão Preto, e uma taxa de cegueira legal de 17,42%, sendo 5,3% devido à RD.

1.2.2. Fisiopatologia

A RD decorre de uma microangiopatia que afeta as arteríolas pré-capilares, capilares e vênulas retinianas. Contudo, vasos maiores podem também estar envolvidos (KOHNER, 1993). Fatores relacionados à gravidade do acometimento retiniano incluem tempo de doença, níveis glicêmicos e de hemoglobina glicosilada, níveis tensionais e tabagismo (DCCT, 1993; MULHAUSER; SAWICKI; BERGER, 1986; UKPDS, 1998).

As primeiras alterações histopatológicas da RD são o espessamento da membrana basal e a perda de pericitos (BLOODWORTH; ENGERMAN,

1973; BLOODWORTH; MOLITOR, 1965), enquanto a primeira manifestação clínica da RD é o microaneurisma, pois o espessamento da membrana basal e a perda de pericitos dos capilares não são detectáveis clinicamente. Existem duas teorias para a formação dos mesmos: a primeira postula que os microaneurismas decorram da proliferação focal de células endoteliais, que perderam o estímulo inibitório (anti-proliferação) proveniente dos pericitos (LINDAHL et al., 1997); a segunda teoria seria que o microaneurisma decorra de fragilidades focais da parede vascular pela perda dos pericitos (KOHNER, 1993).

O espessamento da membrana basal dos capilares, os danos e a proliferação das células endoteliais dos capilares, alterações nas hemácias levando ao transporte ineficiente de oxigênio e aumento na adesividade e agregação das plaquetas estão relacionados à oclusão de microvasos. A consequência da não perfusão dos capilares é a isquemia que, por sua vez, causa hipóxia da retina. Em longo prazo, o comprometimento da microcirculação gera áreas de retina com má ou ausente perfusão capilar (identificáveis pelo estudo de angiofluoresceinografia), cujas células passam a produzir fatores angiogênicos, dentre eles o VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*). Em decorrência da hipóxia e consequente estímulo pelo VEGF, desenvolvem-se: 1) Os *shunts* arteriovenosos associados a oclusões capilares significativas que seguem das vênulas para as arteríolas, denominados de IRMA (*Intraretinal microvascular abnormalities*); 2) A neovascularização, numa tentativa de revascularizar as áreas hipóxicas da retina (KOHNER, 1993).

De modo geral, a formação dos neovasos tende a ocorrer ao longo das áreas de menor resistência, o que explica a sua presença no disco óptico devido à ausência de uma membrana limitante interna verdadeira. Pelo mesmo princípio, a face vítrea posterior não descolada é um local frequente de crescimento de neovasos (McMEEL, 1971). Associada aos neovasos ocorre a formação de tecido conectivo levando ao aparecimento de tecido fibrótico que pode ser vascular ou avascular. A variedade fibrovascular

geralmente se apresenta com vasos que se estendem dentro da cavidade vítrea ou com neovasos na superfície da retina ou do disco. A variedade avascular geralmente resulta do espessamento da face hialoide posterior (GARNER, 1981; McMEEL, 1971).

As alterações da RDP levam a hemorragias vítreas (HV) severas e/ou descolamento de retina (DR), podendo levar à total perda da visão (ausência de percepção luminosa). Há muito se estabeleceu que contrações vítreas súbitas podem levar à ruptura dos neovasos causando HV que é uma complicação frequente da RDP, ocorrendo em 62% a 83% dos casos durante o sono (ANDERSON, 1980; TASMAN, 1979). Isso talvez se explique pelo aumento da pressão arterial secundário à hipoglicemia matinal ou devido ao movimento rápido dos olhos (REM). A consequente contração do vítreo após a hemorragia pode causar estrias envolvendo a área macular ou até causar heterotopia da mácula. A contração do tecido fibrovascular ancorado no vítreo posterior também pode levar ao DRT (AIELLO et al., 1998; GARNER, 1981; KOHNER, 1993; PORTA; BANDELLO, 2002) caracterizando o estágio mais avançado da RD. A tração vítrea também pode causar áreas de retinosquise de difícil diferenciação com áreas de DRT.

1.2.3. História natural

As manifestações da RD variam dentro de um espectro clínico que pode ser caracterizado por presença de alguns microaneurismas retinianos, inicialmente sem comprometimento funcional importante até formas mais avançadas com DRT e grave perda visual. A RD progride gradativamente dos estados mais leves aos mais graves se não houver intervenção terapêutica.

Nas fases iniciais, a RD clinicamente evidente é chamada de RD não proliferativa e é caracterizada por anormalidades vasculares retinianas que incluem microaneurismas, hemorragias intrarretinianas e manchas algodinosas. Aumento da permeabilidade vascular pode ocorrer nestes estágios iniciais ou mais avançados e pode resultar em edema de retina e depósito de lipídios (exsudatos duros). O edema macular é classificado como

cl clinicamente significativo quando apresenta: (1) edema retiniano localizado em 500 μm do centro da mácula; (2) exsudatos duros localizados em uma área de 500 μm do centro da fóvea associados a espessamento adjacente de retina; ou (3) uma área de espessamento retiniano maior que 01 diâmetro de disco localizado em 1500 μm do centro da fóvea (ETDRS, 1985; BROWNING et al., 2004).

Com a progressão da RD, ocorre oclusão gradual dos vasos retinianos resultando em diminuição da perfusão e isquemia retiniana. Os sinais de aumento da isquemia incluem anormalidades venosas, como veias em rosário e alças vasculares, IRMA, e vazamento vascular mais intenso com aumento das hemorragias retinianas e da exsudação.

O estágio mais avançado, a RDP, é caracterizado pelo início de neovascularização na superfície interna da retina e nervo óptico induzidos pela isquemia retiniana. A proliferação fibrovascular pode resultar em HV e tração vitreoretiniana, com formação de membranas epirretinianas e DR. Glaucoma neovascular pode ocorrer pelo crescimento de neovasos no ângulo da câmara anterior.

A fim de normatizar a classificação da RD e permitir uma caracterização do quadro ocular reprodutível, vários sistemas de classificação foram desenvolvidos. Um sistema amplamente difundido e empregado atualmente é baseado na classificação de Arlie House modificada da RD (DRS, 1981; ETDRS, 1991), a seguir:

RD não proliferativa leve: pelo menos um microaneurisma, não chegando à definição de RD não proliferativa moderada; RD não proliferativa moderada: hemorragias e/ou microaneurismas pior que fotografia padrão 2A utilizada no EDTRS e/ou manchas algodonosas, veias em rosário ou IRMA, não chegando à definição de RD não proliferativa grave; RD não proliferativa grave: presença de uma das seguintes características: microaneurismas mais veias em rosário e/ou hemorragias/microaneurismas maiores ou iguais à fotografia padrão 2A em quatro quadrantes, ou veias em rosários notórias em dois ou mais quadrantes, ou IRMA moderada, tendo como parâmetro a

fotografia padrão 8A do ETDRS, em um ou mais quadrantes; RD não proliferativa muito grave: duas ou mais das características acima descritas na forma grave; RDP sem características de alto risco: neovasos, sem preencher as definições para características de alto risco; RDP com características de alto risco: neovasos dentro de um disco de diâmetro do disco óptico \geq fotografia padrão 10^A do ETDRS, com ou sem HV ou pré-retiniana; ou HV e/ou pré-retiniana acompanhada de neovasos de disco $<$ fotografia padrão 10A ou neovasos extra-discais \geq 1/2 da área do disco.

Quando há HV impedindo a classificação da RD ou DRT, esta é classificada como avançada.

1.2.3.1. Descolamento de retina tracional

O DRT é uma importante causa de perda visual grave em pacientes com RDP (FONG et al., 1999; RICE; MICHELS; RICE, 1983) e uma indicação comum de vitrectomia via *pars plana* (VVPP) em RD (AABERG; ABRAMS, 1987; HO; SMIDDY; FLYNN Jr, 1992).

O DRT se desenvolve em diabéticos de longa data causado por progressiva formação de membranas fibrovasculares, que crescem na face da hialoide posterior (DAVIS, 1965). Na histopatologia, a neovascularização invade a lamela posterior do vítreo cortical, explicando, desta maneira, a adesão firme entre o tecido neovascular e o vítreo posterior (FAULBORN; BOWALD, 1985). Estes locais de adesão são geralmente próximos do ou no polo posterior, de modo que as proliferações fibrovasculares surgem mais frequentemente do disco ou ao longo das arcadas temporais inferior e superior (McMEEL, 1971). O componente fibroso das proliferações fibrovasculares provavelmente inicia a contração do vítreo, implicando em tração sobre os frágeis neovasos e consequente HV (MACHEMER, 1978). As proliferações fibrosas e contrações são possivelmente aumentas pela HV, constituindo assim um ciclo vicioso (WIEDEMANN, 1992). O DRT pode ocorrer então em decorrência do aumento da fibrose e contração vítrea.

A tração sobre a retina pelo tecido fibrovascular na RDP pode ser paralela à superfície retiniana (tração plana) ou em direção ao centro do globo ocular, para a cavidade vítrea (tração centrípeta). Os vetores da tração determinam a extensão e direção do deslocamento das estruturas retinianas. A tração plana produz deslocamento lateral das estruturas enquanto a tração centrípeta causa o DR (McMEEL, 1971).

No DRT, um fator crucial em determinar a AV é o *status* da mácula, sendo o tratamento cirúrgico com vitrectomia posterior via *pars plana* (VPP) indicado, em geral, quando o DRT envolve ou ameaça a mácula, embora o resultado funcional pós-operatório possa não ser tão bom quanto o resultado anatômico (HO; SMIDDY; FLYNN Jr, 1992; MEIER; WIEDEMANN 1997; MILLER et al., 1980). A técnica cirúrgica inclui remoção de membranas fibrovasculares e alívio da tração vitreoretiniana. Atenção especial deve ser dada à hemorragia intraocular durante a cirurgia e à ocorrência de roturas retinianas iatrogênicas (HO; SMIDDY; FLYNN Jr, 1992; RICE; MICHELS; RICE, 1983).

1.2.4. Tratamento

O principal tratamento da RDP é a fotocoagulação retiniana com laser realizada em tempo adequado a fim de reduzir a perda visual e evitar a necessidade de vitrectomia (AABERG; ABRAMS, 1987). Entretanto, apesar do tratamento apropriado e cuidados preventivos, número considerável de olhos desenvolverá formas avançadas da retinopatia que podem requerer vitrectomia (FLYNN et al., 1992). Nestes casos, a cirurgia não é isenta de complicações e os resultados funcionais e anatômicos podem ser desapontadores. A fim de melhorar estes resultados, novos métodos têm sido empregados na cirurgia vitreoretiniana, incluindo-se o uso de medicações intravítreas adjuvantes.

1.2.4.1. Vitrectomia via *pars plana*

Quando a cirurgia de vitrectomia foi inicialmente introduzida, suas indicações principais eram HV grave e persistente e DRT envolvendo o centro da mácula (AABERG, 1977). Com o avanço das técnicas cirúrgicas e diminuição das complicações graves, novas indicações surgiram, incluindo tração no disco óptico, retina peripapilar ou mácula causando distorção destas estruturas e levando a importante redução da AV (de BUSTROS et al., 1987; RAMSAY; KNOBLOCH; CANTRILL, 1986).

Atualmente, a indicação mais comum de vitrectomia no diabético é o DRT de retina com envolvimento recente da mácula (ELIOTT; LEE; ABRAMS, 2006). Em alguns pacientes com DRT progressivo que ameaça a mácula, A vitrectomia precoce também é benéfica (RATNER et al., 1983). Em casos de DRT sem envolvimento da mácula ou com descolamento macular crônico, em geral a cirurgia não é indicada, exceto em casos especiais (ELIOTT; LEE; ABRAMS, 2006).

A cirurgia de vitrectomia pode eliminar a tração vitreoretiniana por excisão da hialoide posterior e membranas fibrovasculares epirretinianas (AABERG; ABRAMS, 1987; PEYMAN et al., 1978).

Nos períodos intra e pós-operatórios de vitrectomia em pacientes com RD, a ocorrência de hemorragia é uma importante complicação (de BUSTROS et al., 1985; ISHIKAWA et al., 2009). No intraoperatório, a maioria dos sangramentos intraoculares pode ser controlada, porém pode piorar o resultado cirúrgico ou mesmo ser incontrolável impedindo a realização dos objetivos planejados (THOMPSON et al., 1986). Hemorragia no intraoperatório de vitrectomia posterior em RD ocorre em 15% a 28% dos casos (THOMPSON et al., 1986). Além disso, a ocorrência de hemorragia intraocular durante a cirurgia de vitrectomia aumenta o risco de HV no pós-operatório precoce, realçando a necessidade de meticulosa hemostasia durante a cirurgia (THOMPSON et al., 1987). No pós-operatório de vitrectomia para complicações da RD, HV recorrente é comum, com incidência de 12 a 63% (NOVAK et al., 1984; SCHACHAT et al., 1983; WEST; GREGOR, 2000;

YANG, 1998). A maioria das HV no pós-operatório imediato desses casos é leve e não dificulta a oftalmoscopia, tendo resolução geralmente espontânea. Todavia, hemorragias mais graves podem ocorrer tardiamente, semanas a meses após a vitrectomia, apresentando prognóstico mais reservado, podendo estar associada à proliferação fibrovascular retiniana, neovasos de íris, de ângulo ou de tecido neovascular no local das esclerotomias. O controle meticuloso no intraoperatório pode diminuir a incidência e a gravidade da hemorragia no pós-operatório (ELIOTT; LEE; ABRAMS, 2006).

1.2.4.1.1. Vitrectomia via *pars plana* com incisões de pequeno calibre

As escolhas da melhor incisão em VVPP é um desafio desde a introdução da cirurgia em 1971 (MACHEMER et al., 1971), devendo-se primar por um procedimento menos invasivo e que permita ótimo uso do instrumental. Na última década, diferentes tipos de esclerotomias auto-selantes mostraram diminuição do tempo cirúrgico, diminuição da variação da pressão intraocular durante remoção dos instrumentos e diminuição da irritação conjuntival induzida pelas suturas (CHEN, 1996; KWOK et al., 1999; JACKSON, 2000; SCHMIDT; NIETGEN; BRIEDEN, 1999; THEELEN et al., 2003). O sistema 25 G foi um passo importante, sendo desenvolvido em 2002 (FUJII et al., 2002a; FUJII et al., 2002b), com incisão autosselante e proporcionando recuperação pós-operatória mais rápida.

A incisão transconjuntival 23 G (0.72 mm) desenvolvida por Eckardt (ECKARDT, 2005) é realizada com túnel escleral oblíquo no primeiro passo e inserção de microcânulas no segundo passo. Outra variação desta técnica é a colocação direta dos trocateres 23 G em um único passo, podendo-se lançar mão também de sistemas com válvulas na extremidade, que limitam a saída do fluido durante a cirurgia. A incisão escleral oblíqua e a diminuição do diâmetro de 20 para 23 gauge permitiram uma incisão autosselante e sem suturas. O uso de microcânulas preserva a borda da esclerotomia durante o manuseio dos instrumentos e a incarceration de vítreo residual também pode

atuar como *plug* nas incisões. Este sistema 23 G desenvolvido por Eckardt e DORC (Dutch Ophthalmic Research Company, Holland) demonstrou ser seguro e sem complicações importantes relacionadas ao sistema (SCWEITZER et al., 2009). Outro ponto importante do instrumental 23 G é sua maior rigidez em comparação com instrumentos 25 G, que permite melhor movimentação do olho durante a cirurgia (WILLIAMS, 2008).

A melhora do instrumental para cirurgia de vitrectomia de pequeno calibre e a técnica cirúrgica levaram à remoção vítrea mais eficiente e ajudaram a expandir as indicações cirúrgicas em condições relacionadas ao diabetes, tanto na RD não proliferativa quanto na forma proliferativa (GOLDENBERG; HASSAN, 2009), incluindo HV, glaucoma de células-fantasma e DRT.

1.2.4.1.2. Óleo de silicone

Óleos de silicone, introduzidos em cirurgia vitreoretiniana em 1962 (CIBIS et al., 1962), são amplamente usados para tamponamento cirúrgico em casos graves de patologia vitreoretiniana e consistem de polidimetilsiloxanes lineares não ramificados (LAKITS et al., 1999). No olho, a dinâmica do tamponamento com óleo de silicone envolve fluatuabilidade, tensão de superfície e viscosidade. Os óleos de silicone utilizados clinicamente são polidimetilsiloxanes altamente purificados com viscosidade de 1000 a 5000 centistokes (cSt). Óleos de silicone com baixa viscosidade são mais rápidos de injetar e remover da cavidade vítrea, entretanto estão mais propensos à emulsificação mais rápida do que os óleos de maior viscosidade (HEIDENKUMMER; KAMPIK; THIERFELDER, 1992).

O endotamponamento em VVPP para DRT em RD pode ser útil especialmente se roturas retinianas são identificadas durante a cirurgia e em casos com grande possibilidade de ressangramento no pós-operatório. O fato de proporcionar tamponamento intraocular prolongado facilita a reaplicação da retina após a cirurgia, além de, por meio da compartimentalização do olho (CHARLES, 1987), poder atuar como inibidor da neovascularização do

segmento anterior por evitar a difusão de substâncias angiogênicas. Além disso, o óleo de silicone pode evitar a hipotonia e subsequente *phthisis bulbi* (MORSE; McCUEN, 1991).

Em comparação, o endotamponamento com gás proporciona uma tensão de superfície maior e é absorvido espontaneamente, entretanto seu efeito é mais curto e nem sempre cria uma situação anatômica estável (CASTELLARIN et al., 2003).

Atualmente, o óleo de silicone tem sido empregado em vitrectomia com incisões de pequeno calibre e sem sutura (OLIVEIRA; REIS, 2007).

1.2.4.2. Drogas anti-VEGF

As drogas antiangiogênicas têm sido amplamente utilizadas no tratamento de distúrbios vasculares coriorretinianos (ADAMIS et al., 2006; COSTA et al., 2006; COSTA et al., 2007; GONZÁLEZ et al., 2009; HEIER et al., 2006; ROSENFELD; MOSHFEGHI; PULIAFITO, 2005a; ROSENFELD; FUNG; PULIAFITO, 2005b; ROSENFELD; RICH; LALWANI, 2006; SPAIDE et al., 2009; TONELLO et al., 2008). O ranibizumabe, assim como o bevacizumabe, são drogas antiangiogênicas que inibem a ação das diferentes isoformas do VEGF-A (van WIJNGAARDEN; COSTER; WILLIAMS, 2005). O uso de bevacizumabe, ranibizumabe e pegaptanib intravítreo mostrou efeitos positivos em RD. A inibição do VEGF por estas drogas é capaz de induzir à regressão neovascular da RD e combater os fenômenos exsudativos, desta forma podendo ser útil no manejo pré-operatório destes pacientes (AVERY et al., 2006a, JORGE et al., 2006, PACCOLA et al., 2008), nos quais o VEGF é um fator importante (CHUN et al., 2006). O método de administração destas drogas, por meio de injeção intravítrea, é seguro e com baixos riscos inerentes ao procedimento (JAGER et al., 2004).

1.2.4.2.1. VEGF e retinopatia diabética

A angiogênese envolve mecanismos complexos com a participação de moléculas pro e antiangiogênicas, podendo estar associada, tanto a

processos fisiológicos como condições patológicas (STEPHAN; BROCK, 1996). O VEGF é um dos agentes angiogênicos mais amplamente estudados, tendo papel essencial no desenvolvimento vascular, na angiogênese e linfangiogênese (IKEDA et al., 2006).

A família dos VEGF inclui o fator de crescimento placentário (PIGF), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D e o homólogo do VEGF viral VEGF-E (WITMER et al., 2003). Nos humanos, quatro isoformas de VEGF-A foram identificadas, com variação no número de aminoácidos.

Os VEGF-A e -B têm maior participação na angiogênese, enquanto os VEGF-C e -D, na linfangiogênese (NAMIECINSKA; MARCINIAKI; NOWAK, 2005). O VEGF-A age também aumentando a permeabilidade vascular. E, além de sua ação como fator chave na angiogênese, o VEGF também possui atividade neurotrófica e neuroprotetora, tanto no sistema nervoso central quanto no periférico (NAMIECINSKA; MARCINIAKI; NOWAK, 2005).

Três receptores tirosinaquinase, KDR (VEGFR-2), Flt-1 (VEGFR-1) e Flt-4 (VEGFR-3), medeiam a atividade do VEGF, enquanto dois outros receptores sem atividade tirosinaquinase, as neuropilinas (NP), parecem ser importantes co-receptores do VEGF (ZACHARY et al., 2009).

Em processos patológicos, a produção de VEGF e seus receptores está relacionada à hipóxia tecidual, compartilhando possivelmente um fator comum, HIF (fator induzido pela hipóxia), que se acumula quando há baixo teor de oxigênio e desencadeia a ativação de um grande número de genes, inclusive o responsável pelo VEGF (ARJAMAA; NIKINMAA, 2006). A hipóxia estimula a expressão do mRNA VEGF-A, enquanto os mRNA VEGF-C e VEGF-D têm sua expressão diminuída (IKEDA et al., 2006). O aumento do VEGF resulta em estímulo à vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, proliferação das células endoteliais e ativação das metaloproteinases que lisam a matriz extracelular, deixando espaço para o crescimento de um novo vaso (OLIVEIRA; GODOY; SOUZA, 2002).

No diabetes, o VEGF desempenha importante papel nas complicações microvasculares da retina. O aumento do VEGF-A atua como fator de

permeabilidade vascular na RD, acompanhando-se do aumento de receptores VEGF, dentre os quais, a localização do VEGFR-1 nos pericitos o torna possível responsável pelos efeitos iniciais do aumento de VEGF-A. O aumento de VEGFR-2 se relaciona a áreas de vazamento vascular, sugerindo-se que a expressão vascular do VEGFR-2 ocorra somente em áreas com RD estabelecida. O VEGFR-3 também foi encontrado aumentado em áreas de extravasamento vascular, sendo possível, então, que outros membros da família VEGF, como os VEGF-C e -D, também participem do processo. Assim, a expressão aumentada de VEGF-A verificada no período pré-clínico da retinopatia diabética pode atuar como mecanismo de proteção do leito vascular retiniano, enquanto, em fases avançadas, as alterações da retinopatia estão associadas ao aumento de VEGF-A e VEGFR-2 em áreas isquêmicas, levando a neovascularização e aumento da permeabilidade vascular (WITMER et al., 2003). O VEGF também pode atuar estimulando o estreitamento do lúmen capilar por hipertrofia das células endoteliais, dessa forma contribuindo para o fechamento capilar (HOFMAN et al., 2001). Na RDP, o VEGF atua sinergisticamente com outros fatores de crescimento, mas é fator necessário e suficiente para induzir a neovascularização retiniana e de íris em modelos experimentais (WITMER et al., 2003).

1.2.4.2.2. Ranibizumabe

O ranibizumabe (Lucentis[®], Novartis Pharma S.A.S., França) é o fragmento humanizado do sítio de ligação ao antígeno do anticorpo monoclonal contra o VEGF, desenvolvido pela empresa farmacêutica Genentech, exclusivamente para uso oftálmico, e tem por principal finalidade se ligar e inibir a atividade do VEGF. Não obstante, o ranibizumabe inibe, em teoria, todas as isoformas do VEGF (incluindo a isoforma 165). Estudos demonstram que o ranibizumabe é um potente inibidor da angiogênese e da permeabilidade vascular (LOWE et al., 2007).

No início de 2005, a Genentech anunciou os resultados do ensaio clínico randomizado fase III MARINA (membranas neovasculares de coroide

minimamente clássicas ou ocultas em degeneração macular relacionada à idade (DMRI) neovascular). Aproximadamente 95% dos pacientes tratados com ranibizumabe mantiveram ou melhoraram a visão após um ano de seguimento, sendo este resultado mantido após dois anos de seguimento (ROSENFELD; RICH; LALWANI, 2006). Em novembro de 2005, a Genentech anunciou os resultados do ensaio clínico randomizado fase III ANCHOR (lesões predominantemente clássicas em DMRI neovascular). Após um ano de seguimento, aproximadamente 94% dos pacientes tratados com 0,3 mg e 96% daqueles tratados com 0,5 mg de ranibizumabe mantiveram ou apresentaram alguma melhora de AV (definido como perda de até 15 letras em AV), comparado com aproximadamente 64% daqueles submetidos à terapia fotodinâmica com verteporfina (Visudyne®) (BROWN et al., 2006). Após esses estudos clínicos pioneiros (MARINA e ANCHOR), outros estudos com injeções menos frequentes de ranibizumabe foram desenvolvidos (PIER, PrONTO e SAILOR) (ROSENFELD et al., 2006), respaldando cada vez mais o uso desse agente antiangiogênico para casos de DMRI neovascular.

No tocante à RD, existem séries de casos em que o ranibizumabe foi utilizado para edema macular diabético. Em uma série de dez casos, a administração mensal de três doses de ranibizumabe (5 pacientes tratados com 0,3 mg e 5 pacientes tratados com 0,5 mg) levou à redução da média da espessura macular de 45,3µm no grupo tratado com 0,3 mg e de 197,8 µm no grupo tratado com 0,5 mg. No mês 3 (final do terceiro mês após a terceira injeção), quatro de dez pacientes ganharam mais que 15 letras da tabela do ETDRS, cinco ganharam mais que 10 letras da mesma tabela e oito mais que uma letra em termos de AV (CHUN et al., 2006). Em outra série de 10 casos de pacientes diabéticos com edema macular crônico, injeções repetidas de 0,5mg de ranibizumabe, administradas na consulta basal e 1, 2, 4 e 6 meses após a mesma, levaram à melhora da AV e redução da espessura macular no mês 7 do estudo (NGUYEN et al., 2006). Importante mencionar que o ranibizumabe (Lucentis®) foi desenvolvido pela Genentech a partir da fragmentação do bevacizumabe, uma vez que estudos experimentais teriam

demonstrado que o bevacizumabe, quando injetado intravítreo, não penetraria a membrana limitante interna da retina neurosensorial (MORDENTI et al, 1999). Em outras palavras, pode-se dizer que o bevacizumabe é a molécula “mãe” do ranibizumabe.

1.2.4.2.3. Bevacizumabe

O Bevacizumabe (Avastin[®], Genentech, South San Francisco, CA) é um anticorpo recombinante, monoclonal, humanizado, direcionado ao VEGF circulante, ligando-se a todas as suas isoformas, inibindo a interação VEGF-receptor, bloqueando, assim, tanto o aumento da permeabilidade vascular quanto a angiogênese. Trata-se, portanto, de um agente antiangiogênico (DORREL et al., 2007).

Inicialmente, após os resultados de uma série de estudos clínicos fase II e III, o Bevacizumabe foi aprovado em 26 de fevereiro de 2004 pelo FDA (US Food and Drugs Administration, 2004) para o tratamento de primeira linha do câncer colorretal metastático, associado à quimioterapia baseada no 5-fluorouracil (KABBINAVAR et al., 2003), demonstrando efeitos benéficos em grande variedade de outros tumores humanos em ensaios clínicos (MULCAHY; BENSON, 2005).

O bevacizumabe tem aprovação da ANVISA, como antineoplásico, e segundo consta na bula, o “Avastin[®] (bevacizumabe) em combinação com quimioterapia a base de fluoropirimidina é indicado para tratamento de primeira-linha de pacientes com carcinoma metastático do cólon ou do reto”.

O uso intravítreo do bevacizumabe é “*off label*”, porém é um uso já consagrado na literatura para o tratamento de doenças vasculares coriorretinianas. O bevacizumabe intravítreo tem-se mostrado uma droga segura, sendo utilizado em baixa dose intraocular (1.50 mg), comparado à dosagem recomendada para tratamento de câncer (5 mg/kg de peso) uma vez a cada 14 dias em infusão venosa.

O pioneirismo do uso sistêmico do bevacizumabe no tratamento de doenças oculares ocorreu com a administração da droga em 2 a 3 injeções na

dose de 5 mg/kg em intervalos de duas semanas levando à melhora significativa da AV, OCT (Tomografia de Coerência Óptica), e angiografia em estudo fase I SANA (*Systemic Avastin for Neovascular AMD*) em nove pacientes, desde a avaliação inicial até uma e 12 semanas, não sendo identificado efeito colateral importante (MICHELS et al., 2005).

Os primeiros relatos da utilização do bevacizumabe em oftalmologia por meio de injeção intravítrea datam de agosto de 2005 no tratamento de patologias coroideas e retinianas (ROSENFELD; MOSHFEGHI; PULIAFITO, 2005a; ROSENFELD; FUNG; PULIAFITO, 2005b). Em um caso de neovascularização coroidea (NVC) em atividade em um paciente com degeneração macular relacionada à idade, e em um caso de edema de mácula em um paciente com oclusão da veia central da retina, observou-se melhora clinicamente significativa (>3 linhas ETDRS) na AV e completa restauração da arquitetura retiniana normal dentro de um período de quatro semanas após uma única injeção intravítrea de 1.0 mg de bevacizumabe, em ambos os pacientes, sem constatação de eventos adversos no período.

Em relação a estudos de segurança, Manzano et al. (2006) reportaram recentemente ausência de sinais de toxicidade retiniana do bevacizumabe intravítreo em dosagens variando de 0.5 a 5.0 mg por meio de estudos eletrorretinográficos e dados de histologia em coelhos albinos. Em outro estudo de segurança, Shahar et al. (2006), além de confirmarem os resultados do trabalho de Manzano et al., demonstraram elevadas concentrações de bevacizumabe em todas as camadas da retina, contrário à premissa inicial. O primeiro estudo de segurança em humanos foi reportado por Maturi, Bleau e Wilson (2006). Segundo dados desta pesquisa, envolvendo pacientes com DMRI neovascular, o uso intravítreo do bevacizumabe resultou em melhora da resposta pelo mf-ERG (eletrorretinografia multifocal) e relativa estabilização das respostas pelo G-ERG (eletrorretinografia Ganzfeld), sugerindo, respectivamente, melhora da função macular e ausência de toxicidade mensurável à retina externa após o tratamento.

No cenário clínico, diversas doenças da retina já foram tratadas com bevacizumabe intravítreo, incluindo casos de RDP e edema macular (AVERY et al., 2006a; COSTA et al., 2006; JORGE et al., 2006; PAULA et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006; TEIXEIRA et al., 2006).

No trabalho de Avery et al. (2006b), foram estudados 81 olhos de 79 pacientes portadores de degeneração macular, forma neovascular. Todos foram tratados com injeções intravítreas mensais de 1,25 mg de bevacizumabe até a resolução do edema, reabsorção do fluido subretiniano ou resolução do descolamento seroso. Concluíram que o tratamento esteve associado à diminuição da espessura retiniana, melhora da AV e redução no vazamento à angiografia na maioria dos pacientes, não sendo verificado nenhum efeito adverso sistêmico ou ocular importante. Wu et al. (2007), em estudo apresentado na ARVO (Congresso da *American Research for Vision and Ophthalmology*) em abril de 2007, estudaram doses de injeção intravítrea de bevacizumabe variando de 1,25 a 2,50 mg em diversas patologias retinianas, incluindo RDP e concluíram que as doses foram seguras e bem toleradas em todos os casos.

1.2.4.2.4. Pegaptanibe

O pegaptanibe sódico (Macugen; EyeTech Pharmaceuticals/Pfizer Inc, New York, New York, USA) é um aptâmero de ácido ribonucleico ligado a moléculas de polietileno glicol de 20-kD, que foi desenvolvido para ligar e bloquear a atividade do VEGF extracelular, especificamente a isoforma com 165 aminoácidos (VEGF₁₆₅). Aptâmeros caracteristicamente se ligam com alta especificidade e afinidade a moléculas-alvo, incluindo proteínas (GRAGOUDAS et al., 2004).

O pegaptanibe demonstrou ser estável no plasma humano por mais de 18 horas, enquanto em macacos, quando administrado intravítreo, foi detectado no vítreo quatro semanas após uma única dose (NG et al., 2006).

Estudos clínicos demonstraram que o pegaptanibe é efetivo e seguro no tratamento da DMRI neovascular. Este dados são derivados de dois

estudos randomizados duplo-cegos conhecidos como V.I.S.I.O.N. (*VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization*) (CHAKRAVARTHY et al., 2006; GRAGOUDAS et al., 2004). Um total de 1186 indivíduos com qualquer subtipo de DMRI neovascular à angiofluoresceinografia foram incluídos. Os pacientes receberam injeções intravítreas de 0,3 mg, 1 mg ou 3 mg de pegaptanibe ou simulações de injeção a cada 6 semanas por 48 semanas. Indivíduos com lesões predominantemente clássicas também poderiam ter recebido terapia fotodinâmica com verteporfina (PDT; Visudyne, Novartis) a critério do investigador. Depois de um ano, a dose de 0,3 mg demonstrou benefício clínico em comparação à simulação de injeção, considerando-se a proporção de pacientes que perderam < 15 letras de AV. Comparados com 55% (164/296) dos pacientes que receberam simulação de injeção, 70% (206/294) dos que receberam 0.3 mg de pegaptanibe atingiram este parâmetro ($p < 0.001$). Diferentemente do PDT, benefício clínico foi observado independente do subtipo de DMRI neovascular, AV basal ou tamanho da lesão, levando à aprovação clínica do pegaptanibe para tratamento de todos os subtipos angiográficos de DMRI neovascular. As doses de 1 mg e 3 mg não mostraram benefícios adicionais além da dose de 0.3 mg em termos de mudança média na AV, proporção de pacientes que ganharam visão e chance de perda visual grave (GRAGOUDAS et al., 2004). Em uma extensão do estudo V.I.S.I.O.N., os pacientes que receberam pegaptanibe foram randomizados para continuar ou descontinuar o tratamento por mais 48 semanas (CHAKRAVARTHY et al., 2006). Comparados aos pacientes que descontinuaram pegaptanibe ou receberam o cuidado usual, aqueles que permaneceram com 0.3 mg de pegaptanibe tiveram benefício clínico significativo no segundo ano. A análise de subgrupos sugeriu que o tratamento com pegaptanibe foi especialmente efetivo em pacientes no início da doença (GONZALEZ et al., 2005).

Com relação ao edema macular diabético, a segurança e eficácia do pegaptanibe foram avaliadas em estudo fase II, randomizado, duplo-cego e controlado com placebo, envolvendo 172 indivíduos diabéticos com edema

macular acometendo o centro foveal. Injeções intravítreas foram administradas na visita basal e cada seis semanas após. Na semana 36, o pegaptanibe administrado na dose 0,3 mg foi significativamente superior à simulação de injeção em relação à mudança média na AV (+4.7 letras vs. -0.4 letras, $p = 0.04$), proporção de pacientes que ganharam ≥ 10 letras na AV (34% vs. 10%; $p = 0.003$), alteração média na espessura central da retina (diminuição de $68\mu\text{m}$ vs. aumento de $4\mu\text{m}$; $p = 0.02$) e proporção de pacientes necessitando de fotocoagulação subsequente (25% vs. 48%, $p = 0.04$) (CUNNINGHAM et al., 2005). Além disso, a análise retrospectiva de subgrupos revelou que o tratamento com pegaptanibe levou à regressão da neovascularização de retina basal em oito de 13 pacientes com RDP, não se observando regressão dos neovasos em três olhos submetidos à simulação de injeção e nem nos quatro olhos contralaterais não tratados (ADAMIS et al., 2006). Estudo aberto, randomizado, comparando o pegaptanibe intravítreo com panfotocoagulação retiniana em RDP demonstrou que o pegaptanibe foi capaz de induzir rápida regressão dos neovasos de retina, mantendo-a em curto prazo (GONZÁLEZ et al., 2009).

O pegaptanibe também foi utilizado em edema macular secundário à oclusão venosa da retina. Wroblewski, Wells e González (2010) conduziram estudo prospectivo, randomizado, envolvendo pacientes com edema macular secundário à oclusão de ramo venoso de retina de duração de um a seis meses. Os pacientes foram randomizados para receber três injeções intravítreas de 0,3 mg ou 1 mg de pegaptanibe iniciais seguidas por novas injeções a cada seis semanas a critério do investigador até a semana 48 do estudo. Os resultados observados foram favoráveis em termos de ganho de letras na AV e redução da espessura macular à OCT, não havendo diferença entre as doses. Em outro estudo envolvendo pacientes com edema macular secundário à oclusão de veia central da retina com menos de seis meses de duração, Wroblewski et al. (2009) compararam as doses de 0,3 mg e 1 mg de pegaptanibe com simulação de injeção. A análise primária em 30 semanas não mostrou diferenças significativas entre os grupos em relação à proporção

de pacientes que ganharam 15 ou mais letras, embora a proporção de pacientes que perderam 15 ou mais letras tenha sido menor naqueles tratados com pegaptanibe.

1.2.4.2.5. Anti-VEGF e retinopatia diabética proliferativa

O efeito das drogas antiangiogênicas em RDP foi estudado por vários autores. Inicialmente, foi demonstrada a capacidade do pegaptanibe intravítreo em induzir regressão dos neovasos de retina em RDP (ADAMIS et al., 2006; GONZÁLEZ et al., 2009). González et al. (2009), com injeções de pegaptanibe 0,3 mg a cada 6 semanas por 30 semanas, mostraram que o pegaptanibe intravítreo foi capaz de induzir regressão dos neovasos de retina em três semanas em 90% dos pacientes tratados.

O bevacizumabe intravítreo apresenta efeito semelhante de regressão dos neovasos retinianos (AVERY et al., 2006a; JORGE et al., 2006; MASON et al., 2008). Spaide e Fisher (2006) verificaram regressão da neovascularização de retina e da HV em dois pacientes tratados com bevacizumabe 1,25 mg um mês após sua administração. Regressão dos neovasos de segmento anterior também foi observada (AVERY, 2006; OSHIMA et al., 2006; PAULA et al., 2006). Oshima et al (2006) verificaram que o bevacizumabe intravítreo foi capaz de induzir a regressão dos neovasos de íris em 100% dos sete olhos com RDP e neovasos de íris tratados em uma semana após a administração da droga, facilitando também o controle da pressão intraocular.

Avery et al. (2006a), em uma série retrospectiva de casos, observaram rápida regressão dos neovasos de retina e íris em pacientes com RDP submetidos ao bevacizumabe intravítreo em doses de 6,2 microgramas a 1,25 mg. Ausência de vazamento à angiofluoresceinografia foi observada em 100% dos olhos com RDP e neovasos persistentes de retina em seis semanas após a administração de bevacizumabe 1,5 mg intravítreo, embora uma semana após o uso do antiangiogênico, redução significativa do vazamento já fosse observada (JORGE et al., 2006). O uso adjuvante do

bevacizumabe intravítreo na dose de 1,5 mg na panfotocoagulação retiniana em pacientes com RDP de alto risco mostrou efeito positivo na redução do vazamento de corante à angiofluoresceinografia em curto prazo, apesar da AV não ter sofrido mudança significativa em relação ao grupo com tratamento convencional (fotocoagulação a laser) no estudo de Tonello et al. (2008). Mason et al. (2008) verificaram que uma injeção de bevacizumabe na dose de 1,25 mg antes da panfotocoagulação retiniana em olhos com RDP foi capaz de diminuir a espessura foveal e melhorar a AV em 24 semanas após a laserterapia, podendo ser benéfica em evitar as complicações associadas à panfotocoagulação. Em outro estudo, Cho et al. (2009), avaliando o uso adjuvante do bevacizumabe (1,25 mg) em panfotocoagulação para RDP, verificaram que a ocorrência de HV foi significativamente menor no grupo que recebeu antiangiogênico do que no submetido apenas ao laser. Apesar da dose de bevacizumabe comumente administrada ser em torno de 1,25 mg, dose menores podem também induzir regressão dos neovasos de disco e retina em RDP (STERGIOU; SYMEONIDIS; DIMITRAKOS, 2009).

Com relação ao ranibizumabe, um dos primeiros estudos sobre o efeito da droga em RDP foi apresentado no *Association for Research in Vision and Ophthalmology's (ARVO 2010 Annual Meeting)*. Oliveira et al. (2010) demonstraram que uma injeção intravítrea de 0.5 mg de ranibizumabe foi capaz de reduzir significativamente a área de vazamento de neovasos persistentes à angiofluoresceinografia por 12 semanas, além de induzir à redução da espessura macular à OCT e melhora da AV em curto prazo (OLIVEIRA et al., 2010).

1.2.4.2.6. Anti-VEGF no pré-operatório de vitrectomia em complicações da retinopatia diabética

O bevacizumabe como adjuvante em vitrectomia foi utilizado no pré-operatório de indivíduos com DRT, HV, DR misto, proliferação fibrovascular (PFV) em atividade (AHMADIEH et al., 2009; CHEN; PARK, 2006; EL-BATARNY, 2008; ISHIKAWA et al., 2009; LO et al., 2009; MODARRES et.,

2009; OSHIMA et al, 2009; RIZZO et al., 2008; ROMANO et al., 2009a; YANG et al, 2008; YEH et al., 2009; YEOH et al., 2008; YEUNG et al., 2009) e glaucoma neovascular (MIKI et al., 2008).

Há um estudo piloto do bevacizumabe para vitrectomia em HV diabética (ROMANO et al., 2009b) e uma série de casos em edema macular diabético (HERNÁNDEZ-DA MOTA CHACÓN-LARA; HERNÁNDEZ-VAZQUEZ, 2008). A dose utilizada nestes estudos variou de 1 a 2.5 mg e o tempo de administração da droga antes da cirurgia variou de 1 a 30 dias, sendo, em geral, o paciente operado em torno de sete dias após a injeção intravítrea (AHMADIEH et al., 2009; EI-BATARNY, 2008; MODARRES et al., 2009; RIZZO et al., 2008; ROMANO et al. 2009b; YANG et al., 2008; YEH et al., 2009; YEOH et al., 2008), tempo considerado seguro a fim de evitar complicações do aumento da fibrose e da tração vitreoretiniana, já tendo ocorrido regressão dos neovasos em atividade e redução dos altos níveis de VEGF característicos da RDP (SAWADA et al., 2007).

Os aspectos técnicos da realização da vitrectomia posterior mostraram-se favoráveis ao uso do bevacizumabe pré-operatório, que foi capaz de reduzir o tempo cirúrgico, diminuir a troca de materiais, facilitar a remoção de membranas fibrovasculares, diminuir a hemorragia intra-operatória e a necessidade de uso da endodiatermia (CHEN; PARK, 2006; EI-BATARNY, 2008, ISHIKAWA et al., 2009; RIZZO et al., 2008; YEH et al., 2009; YEOH et al., 2008; YEUNG et al., 2009). A melhora da técnica cirúrgica na vitrectomia provavelmente se deve à indução da regressão neovascular e redução do calibre vascular (AVERY et al., 2006a; CHEN; PARK, 2006; ISHIKAWA et al., 2009; JORGE et al., 2006; YEH et al., 2009), que conseqüentemente facilitam a manipulação intraoperatória das proliferações fibrovasculares. Entretanto, outras variáveis também influenciam a técnica cirúrgica, além da atividade dos neovasos na PFV, como extensão e adesão da PFV à retina, fatores que pouco são modificados pela uso das drogas anti-VEGF no curto período antecedendo a cirurgia.

Uma das principais premissas do uso adjuvante de anti-VEGF em vitrectomia é reduzir a ocorrência de hemorragia no pós-operatório e, desta forma, promover recuperação visual mais rápida. Entretanto, considerando-se os resultados pós-operatórios, os estudos não provam de maneira inequívoca os benefícios do bevacizumabe pré-operatório, não havendo estudos randomizados com avaliação em longo prazo. Enquanto alguns estudos mostram ganho estatisticamente significativo de AV no pós-operatório em pacientes tratados previamente com bevacizumabe (AHMADIEH et al., 2009; MODARRES et al., 2009; RIZZO et al., 2008; YEH et al., 2009; YEUNG et al., 2009), outros não verificaram este benefício (EI-BATARNY, 2008; LO et al., 2009; OSHIMA et al., 2009; YANG et al., 2008). Com relação à ocorrência de HV no pós-operatório, há tendência em observar redução de sua frequência com o bevacizumabe adjuvante (AHMADIEH et al., 2009; MODARRES et al., 2009; YEH et al., 2009; YEUNG et al., 2009), fato não constatado em alguns estudos (LO et al., 2009; OSHIMA et al., 2009; YANG et al., 2008). A HV pós-operatória também pode ser combatida com o tamponamento com gás, que se mostrou tão eficaz quanto o bevacizumabe pré-operatório no estudo de Yeung et al. (2009), embora os melhores resultados tenham sido obtidos com o uso do bevacizumabe pré-operatório associado ao gás ao final da vitrectomia neste estudo. Yang et al. (2008) sugerem que, apesar de a frequência de HV no pós-operatório não ser diferente em grupos tratados com e sem bevacizumabe adjuvante em seu estudo, o uso de antiangiogênico possibilitou o clareamento vítreo mais rápido no pós-operatório.

A redução do calibre vascular após administração do bevacizumabe pode resultar em menor hemorragia intra-operatória por menor lesão das estruturas vasculares com consequente redução da hemorragia pós-operatória (YEH et al., 2009; YEUNG et al., 2009;) e, apesar de o bevacizumabe pré-operatório ser eliminado do vítreo com a vitrectomia, sua ação pode ser prolongada pela penetração tecidual, uma vez que já foi demonstrada a presença da droga na coroide e retina interna um dia após a

administração intravítrea, permanecendo detectável até 14 dias após o seu uso (HEIDUSCHKA et al., 2007).

Outro uso descrito do bevacizumabe em vitrectomia é no intraoperatório. No estudo de Romano et al. (2009b), uma série prospectiva de casos, nos quais o bevacizumabe em dose de 2.5 mg foi administrado ao final da vitrectomia posterior, a incidência de HV no pós-operatório não pareceu ser menor que o reportado na literatura. Uma das possibilidades para se explicar tal fato é que a inibição do VEGF no pós-operatório imediato possa comprometer a regeneração vascular e favorecer ressangramentos (YANG et al., 2008).

1.2.4.2.6.1. Complicações do uso adjuvante de anti-VEGF em vitrectomia para retinopatia diabética

O uso adjuvante de antiangiogênicos em vitrectomia, entretanto, pode ocasionar complicações, descritas na literatura em alguns relatos de casos e estudos comparativos. Aumento da zona avascular foveal após vitrectomia posterior com bevacizumabe 2.5 mg intraoperatório para HV diabética foi relatado por Lee e Koh (2009). Apesar da preocupação com o aumento da isquemia retiniana em RD, há que se considerar que a dose de bevacizumabe administrada neste relato foi maior do que o geralmente empregado na literatura, não havendo estudos comparativos avaliando o uso de antiangiogênico intraoperatório em vitrectomia. Ainda, pesquisa recente envolvendo pacientes com edema macular diabético e isquemia macular grave tratados com bevacizumabe intravítreo, demonstrou melhora da AV e do edema macular sem piora da isquemia retiniana (BONINI-FILHO et al., 2009). A ocorrência de buraco macular foi verificada por Gandhi et al. (2009) após a administração de 1.25 mg de bevacizumabe antes de vitrectomia posterior para proliferação fibrovascular em RD, podendo ser atribuída à tração tangencial exercida pelo tecido fibrovascular. Outra complicação relatada com o uso do bevacizumabe intraoperatório foi a ocorrência de múltiplas hemorragias retinianas (LEE; KOH, 2008). Hemorragias sub-

retinianas no pós-operatório também foram notadas por Yeh et al. (2009), em um estudo prospectivo de pacientes com complicações da RDP, que receberam 1.25 mg de bevacizumabe entre sete e nove dias antes da vitrectomia posterior, sendo atribuídas provavelmente a aumento da tração e formação de micro-roturas, não tendo, entretanto, influenciado significativamente o resultado cirúrgico.

A progressão ou surgimento de DRT e ocorrência de DR misto são as complicações mais temidas e frequentemente relatadas. Considerando-se somente os estudos comparativos, dois em 10 artigos relatam progressão do DR tracional após a administração do anti-VEGF pré-operatório (OSHIMA et al., 2009; YEH et al., 2009;). Yeh et al. (2009) relataram um caso de progressão do DR tracional para misto após a injeção de 1.25 mg de bevacizumabe intravítreo. Oshima et al., 2009, em um estudo retrospectivo, identificaram progressão do DR em sete olhos, 18% de sua amostra de pacientes tratados com bevacizumabe pré-operatório entre 2 e 30 dias (média de 7.6 dias) antes da vitrectomia. A dose de bevacizumabe administrada neste estudo foi de 1 mg, e os autores não verificaram relação do intervalo de tempo entre a injeção do antiangiogênico e a vitrectomia com a progressão do DR, sendo implicados como fatores de risco para progressão a ausência de panfotocoagulação retiniana prévia e fibrose retiniana em anel, cercado o pólo posterior. O manejo da RDP envolve o tratamento da isquemia retiniana que leva ao estímulo pró-angiogênese, o que pode ser conseguido com a administração de drogas antiangiogênicas, como o bevacizumabe, implicando em redução do estímulo vasoproliferativo a favor da fibrose das estruturas fibrovasculares existentes e consequente aumento da tração retiniana (KUIPER et al., 2008; MOSESSON, 2005). No pré-operatório de vitrectomia em pacientes com proliferação fibrovascular intensa e com grande estímulo isquêmico, a administração do bevacizumabe pode favorecer a rápida fibrose e ocasionar piora do DR (YEH et al., 2009). Assim, a contribuição de Oshima et al. (2009), deve alertar em quais pacientes o anti-VEGF pré-operatório pode ser benéfico e quais devem ser acompanhados com mais frequência após administração do antiangiogênico.

2. OBJETIVOS

Geral

- Avaliar comparativamente a hemorragia intraocular no transoperatório de vitrectomia posterior via *pars plana* 23 gauge em pacientes com RDP avançada e DRT que receberam ou não ranibizumabe intravítreo no pré-operatório.

Específicos

- Quantificar a hemorragia intraocular ocorrida no período transoperatório e avaliar comparativamente a mesma entre pacientes que recebem ou não o ranibizumabe pré-operatório;
- Avaliar a ocorrência de HV no pós-operatório;
- Verificar a ocorrência de progressão do DR com o uso de ranibizumabe intravítreo uma semana antes da intervenção cirúrgica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo prospectivo, randomizado e duplo mascarado, em que paciente e avaliador desconheciam o tratamento administrado: injeção de ranibizumabe ou simulada uma semana antes da cirurgia.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), Processo nº HCRP 11230/2008 (Anexo 1), assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2).

3.2. Seleção de Pacientes

Foram incluídos 18 pacientes consecutivos atendidos pelo Setor de Retina e Vítreo do HCFMRP-USP que apresentavam diagnóstico de RDP avançada com DRT envolvendo a mácula, com indicação de tratamento cirúrgico com vitrectomia posterior via *pars plana*.

Dois grupos foram seguidos: grupo RANI/PPV (n=9) - os pacientes foram submetidos à injeção intravítrea de ranibizumabe (Lucentis®) 0,05 ml (0,5 mg) durante a semana da avaliação de base, e vitrectomia posterior via *pars plana* 23 G uma semana após a injeção; e grupo PPV (n=9) - os pacientes foram submetidos à simulação de injeção intravítrea dentro de uma semana da avaliação de base e vitrectomia posterior via *pars plana* 23 G uma semana após a simulação de injeção intravítrea.

A alocação dos pacientes nos grupos do estudo foi realizada de forma aleatória por um técnico, baseando-se em sorteio de um envelope contendo o grupo do indivíduo, sendo o indivíduo subsequente necessariamente pertencente ao outro grupo.

3.3. Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes acima de 18 anos de idade apresentando RDP avançada com DRT envolvendo mácula com até três meses de duração e com MAVC entre 20/800 e 20/60. Todos foram informados sobre a realização do referido estudo e havendo concordância dos mesmos em participar da pesquisa, foi solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.4. Critérios de Exclusão

- HV que impedisse a visualização com detalhes de todo o pólo posterior.
- Cirurgia intraocular prévia, exceto cirurgia de catarata.
- Qualquer condição clínica que prejudicasse a documentação do fundo de olho, ou o seguimento do paciente.
- Glaucoma sem controle clínico.
- Eventos trombo-embólicos prévios (incluindo infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral).
- Distúrbios da coagulação conhecidos ou uso de medicamentos anticoagulantes, exceto aspirina, que foi descontinuada uma semana antes da vitrectomia posterior.
- Condições médicas ou psicológicas que impedissem assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- Doença significativa e não controlada que, na opinião do investigador, pudesse interferir no estudo.
- Participação em outro estudo clínico nos últimos 30 dias.

3.5. Exame Oftalmológico

O exame oftalmológico na avaliação inicial de ambos os grupos constou de AV com correção para longe e utilizando-se a tabela do ETDRS, biomicroscopia do segmento anterior, tonometria de aplanção com tonômetro de Goldmann, mapeamento de retina, e retinografia. Nas visitas subsequentes de acompanhamento, os mesmos exames foram realizados, avaliando-se a situação da mácula (aplicada ou descolada). Os pacientes foram avaliados na visita de base, no dia da cirurgia de vitrectomia (uma semana após a injeção intravítrea ou simulação de injeção) e em 1, 4, 8 e 12 semanas após a cirurgia.

3.6. Injeção Intravítrea

A aplicação do antiangiogênico foi realizada em ambiente cirúrgico. A medicação foi administrada com agulha de seringa descartável BD Ultra-Fine™ 29G, via *pars plana*, com anestesia tópica, a 3 mm do limbo em pseudofácicos ou afácicos e a 3,5 mm do limbo em fácicos (RIBEIRO et al., 2009). A dose empregada foi 0,5 mg (0,05 ml) de ranibizumabe no grupo RANI/PPV. Após o procedimento, foi avaliada a perfusão do nervo óptico por oftalmoscopia indireta, considerando-se paracentese de câmara anterior em casos de má perfusão. Os pacientes eram instruídos a usar colírio antibiótico (moxifloxacino 0,5%), uma gota de 3 em 3 horas no olho que seria submetido ao procedimento, iniciando 24 hs antes da injeção, para fins de profilaxia, e permanecendo por uma semana após a injeção (AIELLO et al., 2004).

3.7. Simulação de injeção intravítrea

A simulação de injeção intravítrea é consagrada por vários estudos (GRAGODAS et al., 2004; PATEL et al., 2008; ROSENFELD; MOSHFEGHI; POLIAFITO, 2005a) e foi realizada em ambiente cirúrgico uma semana após a avaliação inicial somente nos pacientes do grupo PPV e sete dias antes da

cirurgia de VVPP. A simulação foi realizada da seguinte forma: antissepsia com PVPI, instilação de colírio anestésico, colocação de blefarostato, compressão escleral com seringa sem agulha. Os pacientes foram instruídos a usar colírio antibiótico (moxifloxacino 0,5%) uma gota de 3 em 3 horas no olho que era submetido ao procedimento por uma semana após a injeção.

3.8. Vitrectomia Posterior Via *pars plana*

Conforme procedimento de rotina do Setor de Retina e Vítreo do HCFMRP-USP, foram solicitados exames pré-operatórios (hemograma completo, glicemia de jejum, sódio e potássio séricos, TP, TTPA, hemoglobina glicosilada e eletrocardiograma) para todos os pacientes na avaliação inicial.

O tipo de anestesia empregada ficou a critério do serviço de anestesia do HCFMRP-USP, considerando-se os padrões normalmente utilizados em cirurgias oftalmológicas do segmento posterior, sendo, em geral, utilizado bloqueio peri-bulbar com 10 ml de ropivacaína 1%.

A técnica cirúrgica consistiu de VVPP com instrumentos de calibre 23 G e trocartes valvulados, sendo realizado adicionalmente facoemulsificação com implante de lente intraocular nos casos com catarata ou em cuja cirurgia de vitrectomia houvesse a possibilidade de infusão de óleo de silicone. A panfotocoagulação retiniana foi realizada e/ou completada com endolaser durante a cirurgia em todos os casos cujo LASER prévio fosse julgado insuficiente pelo cirurgião. Endodiatermia, óleo de silicone, injeção de gás C₃F₈ e troca fluido-gás também foram utilizados dependendo das condições identificadas no pré ou intraoperatório. Vale salientar que, nos olhos que necessitaram de injeção de óleo de silicone, esta foi realizada através da ampliação de uma das esclerotomias.

O tempo de cirurgia foi mensurado considerando-se “tempo 0” o início da vitrectomia posterior após a colocação dos trocateres e realização da cirurgia de catarata, se necessária, e “tempo 1”, o momento imediatamente antes da retirada dos trocateres.

3.9. Quantificação da Hemorragia Vítrea Intraoperatória

A cirurgia de vitrectomia posterior via *pars plana* 23 G utiliza um sistema de irrigação intraocular (infusão) de solução salina balanceada (BSS - *Balanced Saline Solution*), sendo a drenagem deste líquido realizada, principalmente por meio de aspiração pela ponteira do vitreóforo para um sistema coletor estéril e fechado. No final da cirurgia, o volume de líquido no sistema coletor foi mensurado e uma amostra de 3 ml do material coletado durante o intraoperatório foi enviada para análise laboratorial (citologia de fluidos com contagem manual de hemácias) no Laboratório de Hematologia do HCFMRP-USP, buscando a contagem de hemácias para que se pudesse quantificar o sangramento intraoperatório (LUCENA et al., 2009). O material foi coletado em tubo com EDTA K2 (BD Vacutainer®) para preservar a morfologia celular na amostra obtida e transportado para o laboratório para análise no mesmo dia da cirurgia.

Para a contagem do número de hemácias, 25 µL da amostra foram diretamente adicionados à câmara de Neubauer. A contagem foi feita por meio de identificação das células por microscopia óptica com aumento de 400 X, contando-se os cinco quadrados diagonais do quadrante central da câmara de Neubauer (Figuras 1, 2 e 3).

O número de células foi calculado da seguinte maneira:

$$\begin{array}{l} \text{Células/mm}^3 = \text{n}^\circ \text{ de células contadas} \quad \times \quad \frac{\text{diluição}}{\text{área} \times \text{altura}} \\ \\ \text{Hemácias/mm}^3 = \text{n}^\circ \text{ de hemácias contadas} \quad \times \quad \frac{1}{5 \times 0,04 \times 0,1} \end{array}$$

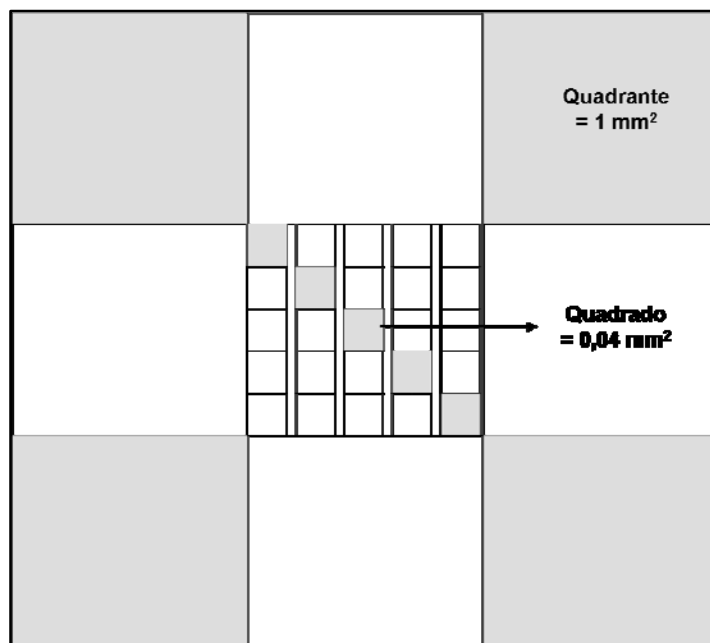


Figura 1. Desenho ilustrando a distribuição de quadrantes da câmara de Neubauer a partir dos quais foi realizada a contagem de células.

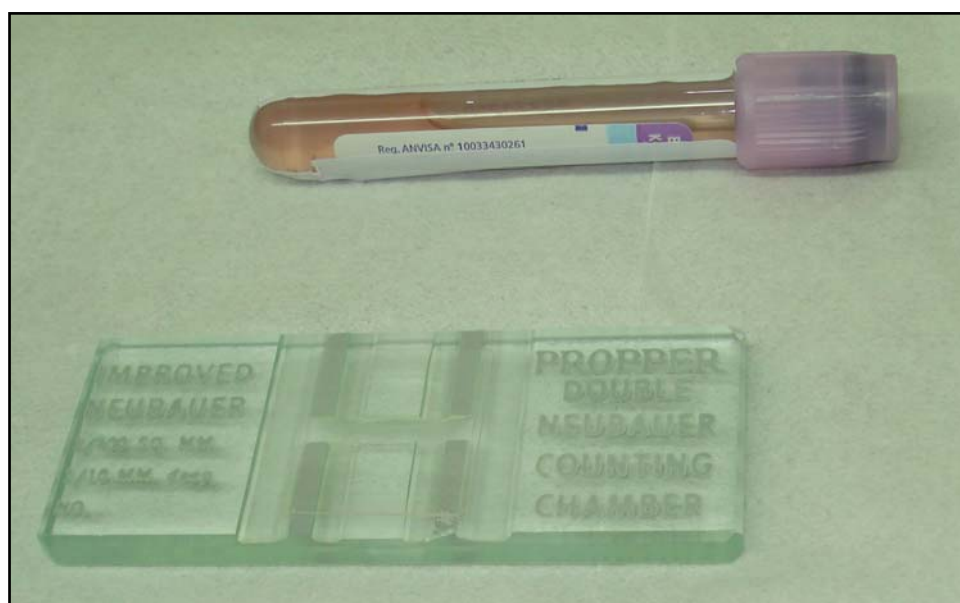


Figura 2. Câmara de Neubauer e tubo com amostra do fluido obtido do cassete da máquina de vitrectomia ao final da cirurgia.

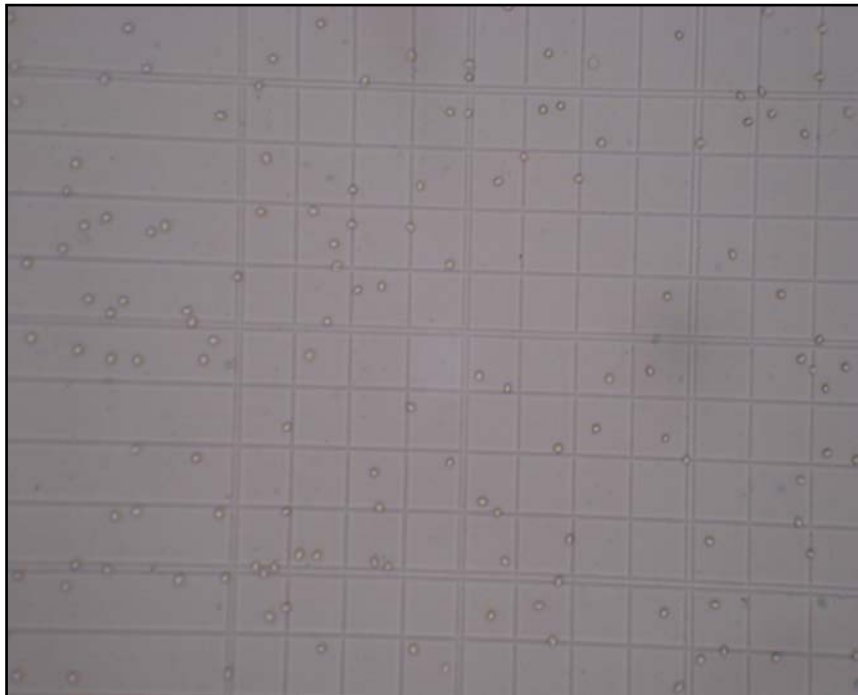


Figura 3. Identificação das células por meio de microscopia óptica com aumento de 400 X na câmara de Neubauer.

Este método manual de contagem de células utilizando a câmara de Neubauer e um microscópio demonstrou ser capaz de estimar a quantidade de sangue perdido com erros de 7,4 a 2,4% em amostras conhecidas em estudo de Boliston (1984).

3.10. Análise Estatística

A comparação da contagem de eritrócitos entre os grupos foi realizada com o Wilcoxon *Rank-test*. O teste de Fisher foi utilizado para variáveis nominais e o Teste t não-pareado foi aplicado para outras comparações entre os grupos, após a realização do teste de normalidade. Todos os testes consideraram nível de significância de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

As características de base de cada grupo estão resumidas na Tabela 1. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao sexo, idade, duração e tipo de diabetes, e presença de panfotocoagulação prévia. O tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada e a contagem de plaquetas estavam dentro dos limites normais em todos os participantes do estudo.

Tabela 1. Características de base.

	RANI/PPV	PPV	p
Idade (anos, média ± DP)	51.7 ± 8.3	56.8 ± 6.5	0.1677**
Sexo (M/F)	5/4	5/4	1*
Tipo do DM (tipo 1/tipo 2)	2/7	1/8	1*
Duração do DM (anos, média ± DP)	16.5 ± 6.1	17.5 ± 12.2	0.8293**
HbA1c (% , média ± DP)	8.6 ± 1.9	9.4 ± 2.4	0.4992**
PRP prévia (sim/não)	6/3	7/2	1*

DM = diabetes mellitus; PRP = panfotocoagulação retiniana; *Teste de Fisher; **Teste t

4.1. Contagem de Eritrócitos

A média ± EPM (erro padrão da média) da contagem de eritrócitos (* 10^6 células) foi $63,2 \pm 25,2$ no grupo RANI/PPV e $185,1 \pm 49,2$ no grupo de PPV ($p = 0,0192$, Wilcoxon), demonstrando que, em comparação com simulação de injeção, o ranibizumabe intravítreo esteve associado com redução média de 65% da contagem de eritrócitos. Oito dos nove pacientes do grupo RANI/PPV

apresentaram contagem de eritrócitos menor do que a contagem média de eritrócitos do grupo PPV (Figura 4).

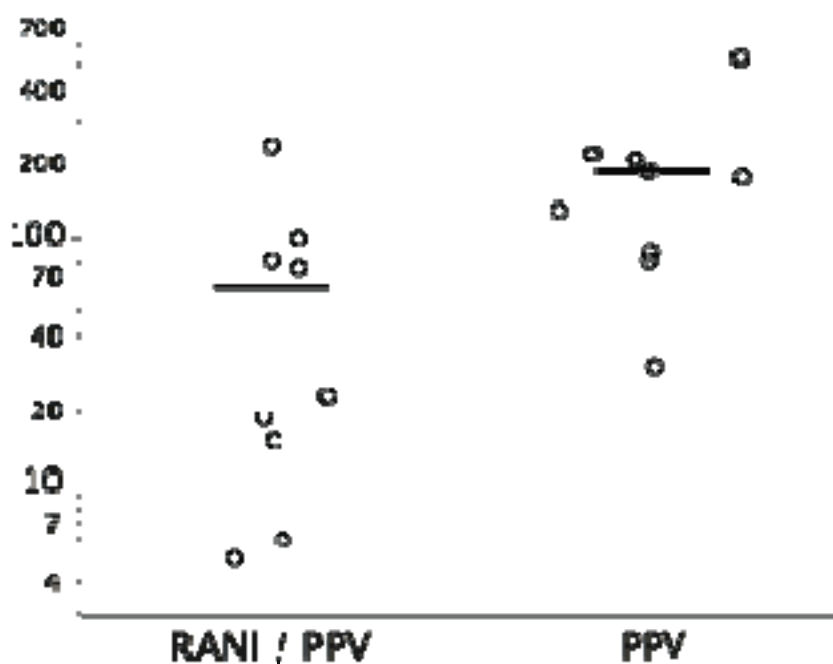


Figura 4. Contagem de eritrócitos. Os pontos correspondem aos valores individuais e as linhas correspondem às médias em cada grupo (Eixo das ordenadas = contagem de células * 10⁶).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com relação aos procedimentos cirúrgicos realizados. Facoemulsificação com implante de lente intraocular foi realizada em oito pacientes em cada grupo. Óleo de silicone foi utilizado em oito olhos do grupo RANI/PPV e em sete olhos do grupo PPV. Um paciente do grupo RANI/PPV e dois do grupo PPV receberam tamponamento com C₃F₈ no final da VVPP ($p = 0,5765$, teste de Fisher). Roturas de retina durante a cirurgia foram observadas em cinco olhos do grupo RANI/PPV e em quatro olhos do grupo PPV. A média \pm DP do tempo de vitrectomia (minutos) foi $71,6 \pm 25,7$ e $56,6 \pm 11,4$ nos grupos RANI/PPV e PPV, respectivamente ($p = 0,1298$, Teste t).

A média \pm EPM da AVCC basal foi $1,0 \pm 0,07$ no grupo RANI/PPV e $1,43 \pm 0,07$ no grupo PPV ($p = 0,0005$, Teste t). Fatores não controlados pela

randomização, como a densidade da catarata e isquemia macular, podem ter sido responsáveis por esta diferença. Melhora de 0,35 logMAR da MAVC foi observada no grupo PPV ($p < 0,05$), e perda de 0,01 logMAR foi verificada no grupo RANI/PPV ($p > 0,05$), na semana 12 em relação à avaliação de base. Não houve diferença significativa na variação intraindividual média da MAVC entre os grupos RANI/PPV e PPV.

Dois pacientes no grupo PPV foram de 1,26 e 1,6 logMAR na avaliação de base para percepção de luz e movimentos das mãos, respectivamente, na 12^a semana pós-operatória. No grupo RANI/PPV não houve paciente com AV $< 1,6$ logMAR na semana 12.

HV residual esteve presente em quatro e sete olhos dos grupos RANI/PPV e PPV, respectivamente, uma semana após a VVPP ($p = 0,3348$), não sendo observada HV na visita de 12 semanas em nenhum paciente.

Após a injeção intravítrea de ranibizumabe e antes da VVPP, um paciente apresentou progressão do DR (Figura 5) e foi excluído do estudo antes da realização da vitrectomia, não tendo seus dados analisados na pesquisa, enquanto nos outros pacientes submetidos ao ranibizumabe pré-operatório observou-se regressão do componente vascular das proliferações fibrovasculares sem progressão do DR, conforme observado na oftalmoscopia binocular indireta e documentado por retinografia (Figura 6). O caso em que se observou progressão do DRT não havia sido previamente tratado com panfotocoagulação e apresentava proliferação fibrovascular em anel em torno do pólo posterior. Nenhum outro efeito adverso ocular ou sistêmico foi verificado. Dezoito indivíduos completaram o estudo de 12 semanas e redescolamento da retina foi observado em apenas um paciente (no grupo PPV) no final do estudo.

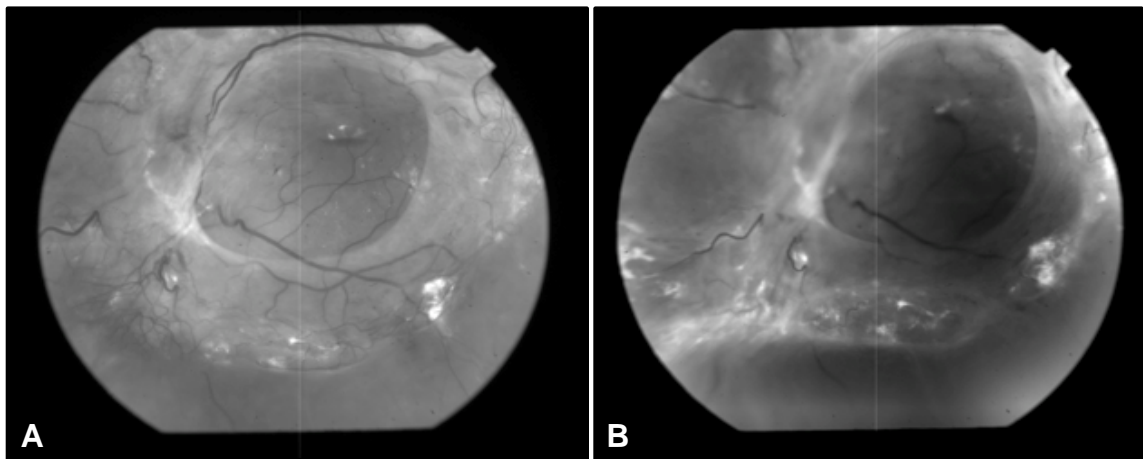


Figura 5. Progressão do descolamento de retina tracional uma semana após a injeção intravítrea de ranibizumabe 0,5 mg, observada em um único paciente do grupo RANI/PPV, que apresentava fibrose em anel envolvendo a região macular e não havia sido submetido à fotocoagulação retiniana prévia. **(A)** retinografia uma semana antes da injeção intravítrea de ranibizumabe; **(B)** retinografia no dia da cirurgia, uma semana após o ranibizumabe intravítreo.

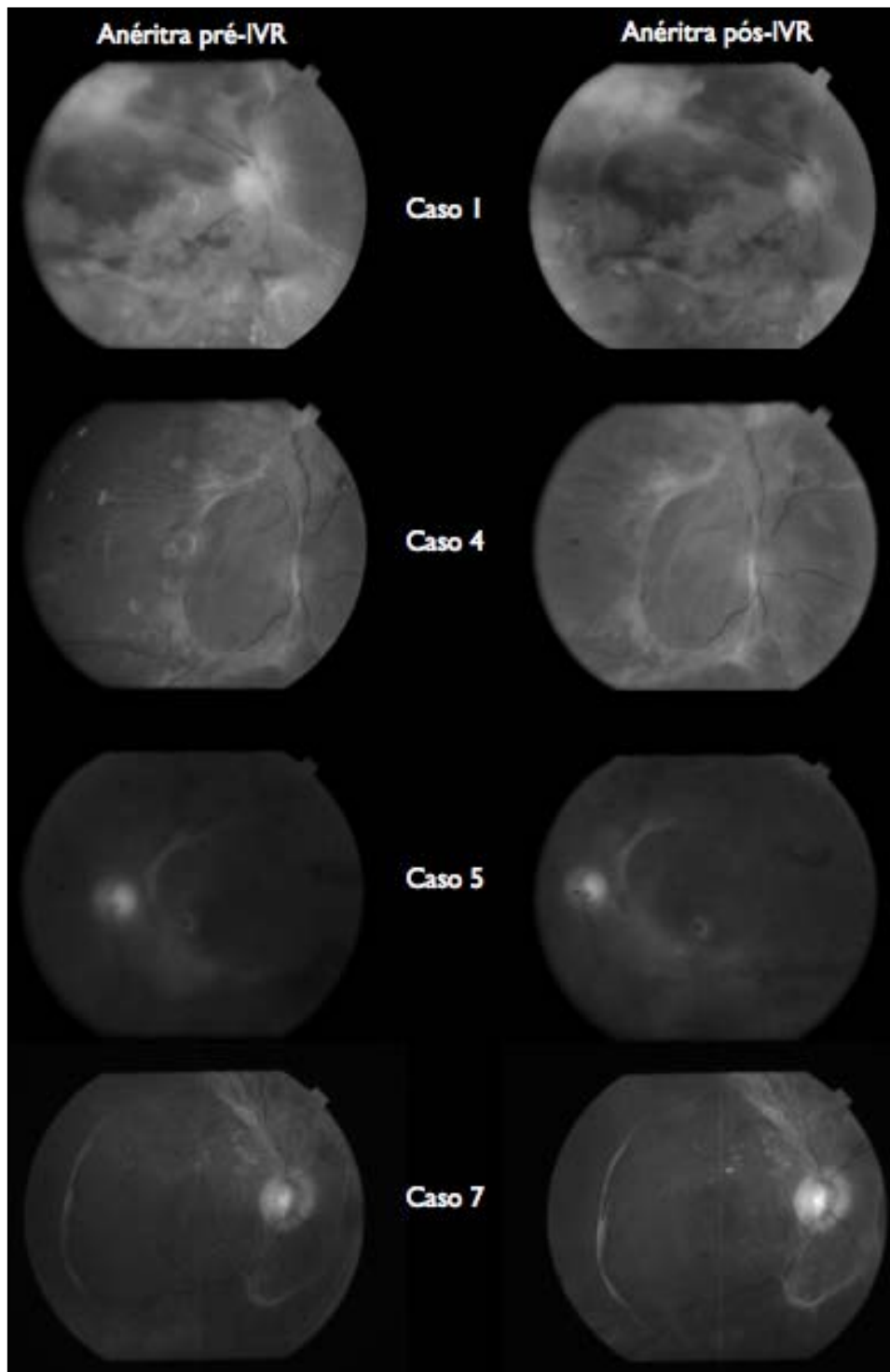


Figura 6. Casos do grupo RANI/PPV na avaliação de base (anéritra pré-IVR) e no dia da cirurgia de vitrectomia, sete dias após a injeção de ranibizumabe (anéritra pós-IVR), sem evidência de progressão do descolamento de retina. (IVR=ranibizumabe intravítreo).

5. *DISCUSSÃO*

Com base em pesquisa do banco de dados *Medline*, em abril de 2010, este é o primeiro estudo sobre o uso de ranibizumabe para controlar a hemorragia intraoperatória em olhos com DRT por RDP. O estudo atual demonstra redução significativa no sangramento intraoperatório associado à administração intravítrea de ranibizumabe pré-operatório, o que é consistente com os efeitos previamente relatados da administração de bevacizumabe no pré-operatório (LUCENA et al., 2009). Chen e Park (2006) relataram um caso de DRT secundário à RDP tratado com bevacizumabe intravítreo (1,25 mg) antes da VVPP, observando redução significativa da neovascularização e mínimo sangramento intraoperatório durante a segmentação e delaminação de membranas. Avery et al. (2006a) relataram redução do sangramento intraoperatório durante VVPP para RDP avançada após a administração de bevacizumabe intravítreo entre dois e onze dias antes da cirurgia. Lucena et al. (2009) administraram bevacizumabe duas semanas antes da VVPP em pacientes diabéticos com DRT e observaram redução significativa do sangramento intraocular durante a cirurgia. Neste último estudo, nenhum paciente apresentou progressão do DRT nas duas semanas entre a administração do bevacizumabe e a VVPP. Ishikawa et al. (2009) sugeriram um período inferior a sete dias entre a administração do bevacizumabe e a VVPP a fim de reduzir o risco de aumento da tração vitreoretiniana devido à fibrose excessiva em pacientes com RDP avançada, embora o tempo ideal entre injeção e vitrectomia não seja bem estabelecido (LO et al., 2009; OSHIMA et al., 2009). Neste estudo, um paciente do grupo RANI/PPV apresentou progressão do DRT após a administração do ranibizumabe. Este paciente tinha as características associadas ao risco elevado de progressão da RD em indivíduos tratados com bevacizumabe adjuvante, ou seja, ausência de panfotocoagulação retiniana prévia e fibrose em anel em torno do pólo posterior (OSHIMA et al., 2009). Drogas anti-VEGF devem ser usadas com

cautela no pré-operatório de tais pacientes, que requerem acompanhamento mais frequente e cirurgia precoce.

No presente estudo, o ranibizumabe reduziu a ocorrência da hemorragia intraocular durante a vitrectomia em casos de DRT secundário à RDP quando administrado no pré-operatório. Entretanto, não foram observadas diferenças entre os grupos com relação ao tempo de vitrectomia, incidência de roturas de retina no intraoperatório e HV pós-operatória. A regressão dos neovasos e, conseqüentemente, menor ocorrência de hemorragia intraoperatória podem contribuir para um procedimento cirúrgico tecnicamente mais fácil (YEOH et al., 2008), enquanto as complicações intraoperatórias estão provavelmente mais relacionadas com a complexidade do caso em termos de extensão da proliferação fibrovascular e aderência à retina do que ao sangramento em si (MEIER; WIEDEMANN, 1997). Outrossim, a grande variabilidade dos quadros de DRT em RDP e o pequeno número de casos estudados podem ter impedido que benefícios do tratamento adjuvante com anti-VEGF verificados por outros autores (AHMADIEH et al., 2009; RIZZO et al., 2008), como redução da hemorragia no pós-operatório (YEUNG et al., 2009) e do tempo cirúrgico (EL-BATARNY, 2008), fossem observados no presente estudo.

A importância da realização de uma cirurgia de vitrectomia tecnicamente mais fácil nos casos de DRT em RDP com menor ocorrência de hemorragia intraocular durante o procedimento, decorre do fato de que o melhor controle de uma das variáveis que podem interferir no sucesso da cirurgia, a hemorragia, favorece que o cirurgião direcione seus esforços a outros aspectos cirúrgicos cruciais para a reaplicação retiniana e recuperação visual mais rápida. Uma situação que pode estar diretamente relacionada à ocorrência de HV no pós-operatório é a hemorragia intraocular durante a cirurgia (THOMPSON et al., 1987), sendo observada tendência a menor hemorragia pós-operatória no grupo tratado com ranibizumabe do que no grupo controle, no presente estudo. Outros parâmetros como tempo cirúrgico e incidência de roturas intraoperatórias foram semelhantes entre os grupos. Acredita-se que estes parâmetros estão mais relacionados à complexidade do que à regressão

dos neovasos de retina no pré-operatório, e que, na mão de cirurgiões experientes, o resultado final pode ser o mesmo, apesar da ocorrência de maior hemorragia e conseqüente maior grau de dificuldade quando não se usa o anti-VEGF.

Outros métodos podem ser utilizados para reduzir a ocorrência de hemorragia no intraoperatório como endodiatermia, aumento da pressão de infusão de fluido durante a vitrectomia e compressão direta (HO; SMIDDY; FLYNN Jr, 1992). Entretanto, apesar de eficazes, estas manobras podem aumentar o tempo cirúrgico e tornar a cirurgia mais complexa com necessidade de troca de instrumentos e possibilidade de dano isquêmico ao nervo óptico (de BUSTROS; GLASER; JOHNSON, 1985).

No seguimento pós-operatório de três meses dos pacientes, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em termos de mudança na AV ou sucesso anatômico da cirurgia, embora os grupos tenham apresentado diferença na AV basal, o que pode ter sido resultado de fatores não controlados pela randomização. No entanto, o estudo é limitado pelo pequeno número de pacientes e seguimento relativamente curto. Os dados sugerem que, embora o ranibizumabe esteja associado com a redução de hemorragia intraoperatória, outros fatores podem influenciar a recuperação visual após a cirurgia, como a característica do DR, extensão e tempo de descolamento e a presença de isquemia macular. Este último parâmetro, a perfusão da região macular, não foi avaliado no protocolo do estudo, constituindo, desta forma, uma limitação da pesquisa, que poderia ser contornada pela realização da angiofluoresceinografia pré-operatória. Outrossim, condições associadas, como densidade da catarata e localização de opacidades vítreas, são fatores que contribuem independentemente do descolamento de retina para a diminuição da visão, sendo totalmente tratados pela cirurgia realizada no estudo, o que pode implicar em maior ganho de visão em alguns indivíduos em comparação a outros.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou, de maneira objetiva, que a administração de ranibizumabe intravítreo esteve associada à redução da hemorragia intraocular durante a VVPP em pacientes com DRT envolvendo a mácula e RDP.

A hemorragia intraocular durante a cirurgia de vitrectomia foi significativamente menor no grupo tratado com ranibizumabe pré-operatório do que no grupo tratado com simulação de injeção antes da cirurgia.

A frequência de HV nos três primeiros meses após a cirurgia foi menor no grupo tratado com ranibizumabe no pré-operatório do que no grupo controle, entretanto esta diferença não foi estatisticamente significativa.

No pré-operatório, a injeção intravítrea de ranibizumabe esteve associada à redução da vascularização das proliferações fibrovasculares sem progressão do DR, exceto por um caso do grupo tratado com ranibizumabe antes da cirurgia, no qual foi observada progressão do DRT.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AABERG, T.M. Vitrectomy for diabetic retinopathy. In: FREEMAN HM, HIROSE T, SCHEPENS CL, eds. **Vitreous surgery and advances in fundus diagnosis and treatment**. New York. Appleton-Century-Crofts. 1977, 297-313.

AABERG, T.M.; ABRAMS, G.W. Changing indications and techniques for vitrectomy in management of complications of diabetic retinopathy. **Ophthalmology**. 94:775-779, 1987.

ADAMIS, A.P.; ALTAWHEEL, M.; BRESSLER, N.M. et al. Changes in retinal neovascularization after pegaptanib (Macugen) therapy in diabetic individuals. **Ophthalmology**. 113:23-28, 2006.

AHMADIEH, H.; SHOEIBI, N.; ENTEZARI, M.; MONSHIZADEH, R. Intravitreal bevacizumab for prevention of early postvitrectomy hemorrhage in diabetic patients: a randomized clinical trial. **Ophthalmology**. 116(10):1943-1948, 2009.

AIELLO, L.P.; GARDNER, T.W.; KING, G.L. et al. Diabetic Retinopathy. **Diabetes Care**. 21(1):143-156, 1998.

AIELLO, L.P.; BRUCKER, A.J.; CHANG, S.; CUNNINGHAM Jr, E.T.; D'AMICO, D.J.; FLYNN Jr, H.W.; GRILLONE, L.R.; HUTCHERSON, S.; LIEBMANN, J.M.; O'BRIEN, T.P.; SCOTT, I.U.; SPAIDE, R.F.; TA, C.; TRESE, M.T. Evolving guidelines for intravitreal injections. **Retina**. 24(5 Suppl):S3-19, 2004.

ALVES, L.A. **Prevalência da retinopatia diabética na população urbana, adulta de Ribeirão Preto-São Paulo**. 74p. Dissertação (Mestrado em Oftalmologia). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. 2004.

ANDERSON, B.J. Activity and diabetic vitreous hemorrhage. **Ophthalmology**. 87(3): 173-175, 1980.

ARJAMAA, O.; NIKINMAA, M. Oxygen-dependent diseases in the retina: role of hypoxia-inducible factors. **Exp Eye Res**. 83(3):473-483, 2006.

ASHTON, N. Retinal vascularization in health and disease: Proctor Award Lecture of the Association for Research in Ophthalmology. **Am J Ophthalmol.** 44(4, Part 2):7-17, 1957.

AVERY, R.L. Regression of retinal and iris neovascularization after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment. **Retina.** 26(3):352-354, 2006.

AVERY, R.L.; PEARLMAN, J.; PIERAMICI, D.J. et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. **Ophthalmology.** 113:1695.e1-15, 2006a.

AVERY, R.L.; PIERAMICI, D.J.; RABENA, M.D. et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmology.** 113:363-372, 2006b.

BLOODWORTH Jr, J.M.B.; MOLITOR, D.L. Ultrastructural aspects of human and canine diabetic retinopathy. **Invest Ophthalmol.** 4:1037, 1965.

BLOODWORTH Jr, J.M.B.; ENGERMAN, R.L. Diabetic microangiography in the experimentally - diabetic dog and its prevention by careful control with insulin. **Diabetes.** 22:290, 1973.

BOLISTON, T.A. Determination of blood loss during transurethral surgery by cell counts on irrigation fluid. **Ann R Coll Surg Engl.** 66:94-95, 1984.

BONINI-FILHO, M.; COSTA, R.A.; CALUCCI, D.; JORGE, R.; MELO Jr, L.A.; SCOTT, I.U. Intravitreal bevacizumab for diabetic macular edema associated with severe capillary loss: one-year results of a pilot study. **Am J Ophthalmol.** 147(6): 1022-30, 1030.e1-5, 2009.

BRON, A.J.; TRIPATHI, R.C.; TRIPATHI, B.J. The retina. In: **Wolff's Anatomy of the eye and orbit.** 8th edition. Chapman & Hall Medical. London. 1997, chapter 14, pg. 454-488.

BROWN, D.M.; KAISER, P.K.; MICHELS, M.; SOUBRANE, G.; HEIER, J.S.; KIM, R.Y.; SY, J.P.; SCHNEIDER, S.; ANCHOR STUDY GROUP. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. **N Engl J Med.** 355:1432-1444, 2006.

BROWNING, D.J.; McOWEN, M.D.; BOWEN, R.M. et al. Comparison of the clinical diagnosis of diabetic macular edema with diagnosis by optical coherence tomography. **Ophthalmology**. 111:712-715, 2004.

CASELLA, A.M.B.; BONOMO, P.P.; FARAH, M.E. Prevalência da retinopatia diabética em pacientes diabéticos atendidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS), de Londrina-Paraná. **Arq Bras Oftalmol**. 57(1):5-9, 1994.

CASTELLARIN, A.; GRIGORIAN, R.; BHAGAT, N.; DEL PRIORE, L.; ZARBIN, M.A. Vitrectomy with silicone oil infusion in severe diabetic retinopathy. **Br J Ophthalmol**. 87:318-321, 2003.

CHAKRAVARTHY, U.; ADAMIS, A.P.; CUNNINGHAM Jr, E.T.; GOLDBAUM, M.; GUYER, D.R.; KATZ, B.; PATEL, M; V.I.S.I.O.N. (VEGF INHIBITION STUDY IN OCULAR NEOVASCULARIZATION CLINICAL TRIAL GROUP). Year 2 efficacy results of 2 randomized controlled clinical trials of pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmology**. 113:1508-1521, 2006.

CHARLES, S. **Vitreous surgery**. 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1987, 122pg.

CHEN, E.; PARK, C.H. Use of intravitreal bevacizumab as a preoperative adjunct for tractional retinal detachment repair in severe proliferative diabetic retinopathy. *Retina*. 26(6):699-700, 2006.

CHEN, J.C. Sutureless pars plana vitrectomy through self-sealing sclerotomies. **Arch Ophthalmol**. 114:1273-1275, 1996.

CHIANG, Y.P.; BASSI, L.J.; JAVITT, J.C. Federal budgetary costs of blindness. **Milbank Q**. 70:319-340, 1992.

CHO, W.B.; OH, S.B.; MOON, J.W.; KIM, H.C. Panretinal photocoagulation combined with intravitreal bevacizumab in high-risk proliferative diabetic retinopathy. **Retina**. 29(4): 516-522, 2009.

CHUN, D.W.; HEIER, J.S.; TOPPING, T.M.; DUKER, J.S.; BANKERT, J.M. A Pilot Study of Multiple Intravitreal Injections of Ranibizumab in Patients with

Center-Involving Clinically Significant Diabetic Macular Edema. **Ophthalmology**. 113:1706-1712, 2006.

CIBIS, P.A.; BECKER, B.; OKUN, E.; CANAAN, S. The use of liquid silicone in retinal detachment surgery. **Arch Ophthalmol**. 68:590-599, 1962.

COSTA, R.A.; JORGE, R.; CALUCCI, D. et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin®) for choroidal neovascularization in AMD (IBeNA Study): Phase 1 dose-escalation study. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 47:4569-4578, 2006.

COSTA, R.A.; JORGE, R.; CALUCCI, D. et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for central and hemicentral retinal vein occlusions: IBeVO study. **Retina**. 27:141-9, 2007.

CUNNINGHAM Jr, E.T.; ADAMIS, A.P.; ALTAWHEEL, M.; AIELLO, L.P.; BRESSLER, N.M.; D'AMICO, D.J. et al. A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an anti-vascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. **Ophthalmology**. 112:1747-1757, 2005.

CURCIO, C.A.; SLOAN, K.R.; KALINA, R.E.; HENDRICKSON, A.E. Human photoreceptor topography. **J Comp Neurol**. 292(4):497-523, 1990.

DAVIS, M.D. Vitreous contraction in proliferative diabetic retinopathy. **Arch Ophthalmol**. 74:741, 1965.

DCCT (DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med**. 329:977-986, 1993.

de BUSTROS, S.; GLASER, B.M.; JOHNSON, M.A. Thrombin infusion for the control of intraocular bleeding during vitreous surgery. **Arch Ophthalmol**. 103:837-839, 1985.

de BUSTROS, S.; THOMPSON, J.T.; MICHELS, R.G. et al. Vitrectomy for progressive proliferative diabetic retinopathy. **Arch Ophthalmol**. 105(2):196-199, 1987.

DORRELL, M.; UUSITALO-JARVINEN, H.; AGUILAR, E. et al. Ocular Neovascularization: Basic Mechanisms and Therapeutic Advances. **Surv Ophthalmol.** 52(1):S3-19, 2007.

DRS (THE DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). A modification of the Airlie House Classification of Diabetic Retinopathy: DRS Report Number Seven. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 21:210-226, 1981.

ECKARDT, C. Transconjunctival sutureless 23-gauge vitrectomy. **Retina.** 25: 208-211, 2005.

EI-BATARNY, A.M. Intravitreal bevacizumab as an adjunctive therapy before diabetic vitrectomy. **Clin Ophthalmol.** 2(4):709-716, 2008.

ELIOTT, D.; LEE M,S.; ABRAMS, G.W. Proliferative diabetic retinopathy: principles and techniques of surgical treatment. In: Ryan SJ, Schachat AP, eds. **Retina: Surgical Retina.** China. CV Mosby Co. 2006, v. 3. p. 2413-2449.

ETDRS (EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY STUDY). Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group. **Arch Ophthalmol.** 103:1796-1806, 1985.

ETDRS (EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY STUDY). Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs-an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. **Ophthalmology.** 98(5 Suppl):786-806, 1991.

FAULBORN, J.; BOWALD, S. Microproliferations in proliferative diabetic retinopathy and their relationship to the vitreous: corresponding light and electron microscopic studies. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.** 223:130-138, 1985.

FERNANDEZ, M.L.M.P.; MOURA, C.A.A.; JORGE, P.T. Estudo da prevalência da retinopatia diabética no ambulatório da Universidade Federal de Uberlândia. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 42(5):368-373, 1998.

FISHER, S.K.; STEINBERG, R.H. Origin and organization of pigment epithelial apical projections to cones in cat retina. **J Comp Neurol.** 206(2):131-145, 1982.

FLYNN Jr., H.W.; CHEW, E.Y.; SIMONS, B.D.; BARTON, F.B.; REMALEY, N.A.; FERRIS III, F.L. Pars plana vitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ETDRS report number 17. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. **Ophthalmology.** 99(9):1351-1357, 1992.

FONG, D.S.; FERRIS III, F.L.; DAVIS, M.D.; CHEW, E.Y. Causes of severe visual loss in the early treatment diabetic retinopathy study: ETDRS report number 24. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. **Am J Ophthalmol.** 127(2): 137-141, 1999.

FUJII, G.Y.; DE JUAN Jr., E.; HUMAYUN, M.S.; PIERAMICI, D.J.; CHANG, T.S.; AWH, C. et al. A new 25-gauge instrument system for transconjunctival sutureless vitrectomy surgery. **Ophthalmology.** 109: 1807-1812, 2002a.

FUJII, G.Y.; DE JUAN Jr., E.; HUMAYUN, M.S.; CHANG, T.S.; PIERAMICI, D.J.; BARNES, A. et al. Initial experience using the transconjunctival sutureless vitrectomy system for vitreoretinal surgery. **Ophthalmology.** 109:1814-1820, 2002b.

GANDHI, J.S.; TAN, L.T.; PEARCE, I.; CHARLES, S.J. Bevacizumab (Avastin) as a surgical adjunct in diabetic vitrectomy for fibrovascular disease. **Eye.** 23(3): 742-743, 2009.

GARNER, A. Developments in the pathology of diabetic retinopathy: a review. **J R Soc Med.** 74:427-431, 1981.

GOLDENBERG, D.T.; HASSAN, T.S. Small gauge, sutureless surgery techniques for diabetic vitrectomy. **Int Ophthalmology Clinics.** 49(2):141-151, 2009.

GONZALES, C.R. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization (V.I.S.I.O.N.) Clinical Trial Group. Enhanced efficacy associated with early treatment of neovascular age-related macular degeneration with pegaptanib sodium: an exploratory analysis. **Retina.** 25(7):815-827, 2005.

GONZÁLEZ, V.H.; GIULIARI, G.P.; BANDA, R.M.; GUEL, D.A. Intravitreal injection of pegaptanib sodium for proliferative diabetic retinopathy. **Br J Ophthalmol**. 93(11):1474-1478, 2009.

GRAGOUDAS, E.S.; ADAMIS, A.P.; CUNNINGHAM Jr, E.T.; FEINSOD, M.; GUYER, D.R. VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization Clinical Trial Group. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. **N Engl J Med**. 351(27):2805-2816, 2004.

HEIDENKUMMER, H.P.; KAMPIK, A.; THIERFELDER, S. Experimental evaluation of in vitro stability of purified polydimethylsiloxanes (silicone oil) in viscosity ranges from 1000 to 5000 centistokes. **Retina**. 12(3 Suppl):S28-32, 1992.

HEIDUSCHKA, P.; FIETZ, H.; HOFMEISTER, S.; SCHULTHEISS, S.; MACK, A.F.; PETERS, S. et al. Penetration of bevacizumab through the retina after intravitreal injection in the monkey. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 48(6):2814-2823, 2007.

HEIER, J.S.; ANTOSZYK, A.N.; PAVAN, P.R.; LEFF, S.R.; ROSENFELD, P.J.; CIULLA, T.A.; DREYER, R.F.; GENTILE, R.C.; SY, J.P.; HANTSBARGER, G.; SHAMS, N. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. **Ophthalmology**. 113(4):633.e1-4, 2006.

HERNÁNDEZ-DA MOTA, S.E.; CHACÓN-LARA, A.; HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, E. Use of triamcinolone and bevacizumab in 25G phaco-vitreotomy surgery for the treatment of cataract and diabetic macular edema. **Arch Soc Esp Oftalmol**. 83(5):293-300, 2008.

HIRATA, C.E.; FANG, T.; CASELLA, A.M.B.C. et al. Prevalência de retinopatia em uma população de diabéticos. **Arq Bras Oftalmol**. 49:31-33, 1986.

HO, T.; SMIDDY, W.E.; FLYNN Jr, H.W. Vitrectomy in the management of diabetic eye disease. **Surv Ophthalmol**. 37:190-202, 1992.

HOFMAN, P.; van BLIJSWIJK, B.C.; GAILLARD, P.J.; VRENSEN, G.F.; SCHLINGEMANN, R.O. Endothelial cell hypertrophy induced by vascular

endothelial growth factor in the retina: new insights into the pathogenesis of capillary nonperfusion. **Arch Ophthalmol.** 119(6):861-866, 2001.

IKEDA, Y.; YONEMITSU, Y.; ONIMARU, M.; NAKANO, T.; MIYAZAKI, M.; KOHNO, R.; NAKAGAWA, K.; UENO, A.; SUEISHI, K.; ISHIBASHI, T. The regulation of vascular endothelial growth factors (VEGF-A, -C, and -D) expression in the retinal pigment epithelium. **Exp Eye Res.** 83(5):1031-1040, 2006.

ISHIKAWA, K.; HONDA, S.; TSUKAHARA, Y.; NEGI, A. Preferable use of intravitreal bevacizumab as a pretreatment of vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy. **Eye (Lond).** 23(1):108-111, 2009.

JACKSON, T. Modified sutureless sclerotomies in pars plana vitrectomy. **Am J Ophthalmol.** 129: 116-117, 2000.

JAGER, R.D.; AIELLO, L.P.; PATEL, S.C.; CUNNINGHAM Jr, E.T. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. **Retina.** 24:676-698, 2004.

JORGE, R.; COSTA, R.A.; CALUCCI, D.; CINTRA, L.P.; SCOTT, I.U. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for persistent new vessels in diabetic retinopathy (IBEPE study). **Retina.** 26:1006-1013, 2006.

KABBINAVAR, F.; HURWITZ, H.I.; FEHRENBACHER, L.; MEROPOL, N.J.; NOVOTNY, W.F.; LIEBERMAN, G.; GRIFFING, S.; BERGSLAND, E. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol.** 21:60-65, 2003.

KOHNER, E.M. Diabetic retinopathy. **BMJ.** 307:1195-1199, 1993.

KUIPER, E.J.; van NIEUWENHOVEN, F.A.; DE SMET, M.D.; van MEURS, J.C.; TANCK, M.W.; OLIVER, N. et al. The angio-fibrotic switch of VEGF and CTGF in proliferative diabetic retinopathy. **PLoS One.** 3(7):e2675, 2008.

KWOK, A.K.; THAM, C.C.; LAM, D.S.; LI, M.; CHEN, J.C. Modified sutureless sclerotomies in pars plana vitrectomy. **Am J Ophthalmol.** 127: 731-733, 1999.

LAKITS, A.; NENNADAL, T.; SCHOLDA, C.; KNAUS, S.; GRUBER, H. Chemical stability of silicone oil in the human eye after prolonged clinical use. **Ophthalmology**. 106(6):1091-100, 1999.

LEE, C.S.; KOH, H.J. Multiple retinal haemorrhages in diabetic retinopathy after adjunctive intravitreal bevacizumab (Avastin) with pars plana vitrectomy. **Acta Ophthalmol**. 86(7):812-813, 2008.

LEE, S.J.; KOH, H.J. Enlargement of the foveal avascular zone in diabetic retinopathy after adjunctive intravitreal bevacizumab (Avastin) with pars plana vitrectomy. **J Ocul Pharmacol Ther**. 25(2):173-174, 2009.

LINDAHL, P.; JOHANSSON, B.R.; LEVÉEN, P. et al. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. **Science**. 277(5323):242-245, 1997.

LO, W.R.; KIM, S.J.; AABERG Sr, T.M.; BERGSTROM, C.; SRIVASTAVA, S.K.; YAN, J. et al. Visual outcomes and incidence of recurrent vitreous hemorrhage after vitrectomy in diabetic eyes pretreated with bevacizumab (avastin). **Retina**. 29(7):926-931, 2009.

LOWE, J.; ARAUJO, J.; YANG, J et al. Ranibizumab inhibits multiple forms of biologically active vascular endothelial growth factor in vitro and in vivo. **Exp Eye Res**. 85(4):425-430, 2007.

LUCENA, D.R.; RIBEIRO, J.A.S.; COSTA, R.A. et al. Intraoperative bleeding during vitrectomy for diabetic tractional retinal detachment with versus without preoperative intravitreal bevacizumab (IBeTra Study). **Br J Ophthalmol**. 93:688-91, 2009.

MACHEMER, R.; BUETTNER, H.; NORTON, E.W.; PAREL, J.M. Vitrectomy: a pars plana approach. **Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol**. 75:813-820, 1971.

MACHEMER, R. Pathogenesis of proliferative neovascular retinopathies and the role of vitrectomy: a hypothesis. **Int Ophthalmol**. 1:1-3, 1978.

MANZANO, R.P.; PEYMAN, G.A.; KHAN, P.; KIVILCIM, M. Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). **Retina**. 26:257-261, 2006.

MASON, J.O.; YUNKER, J.J.; VAIL, R.; McGWIN Jr, G. Intravitreal bevacizumab (Avastin) prevention of panretinal photocoagulation-induced complications in patients with severe proliferative diabetic retinopathy. **Retina**. 28(9):1319-24, 2008.

MATURI, R.K.; BLEAU, L.A.; WILSON, D.L. Electrophysiologic findings after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment. **Retina**. 26:270-274, 2006.

McMEEL, J.W. Diabetic retinopathy: fibrotic proliferation and retinal detachment. **Trans Am Ophthalmol Soc**. 69:440-493, 1971.

MEIER, P.; WIEDEMANN, P. Vitrectomy for traction macular detachment in diabetic retinopathy. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol**. 235:569-574, 1997.

MICHAELSON, I. The mode of development of the vascular system of the retina with some observations on its significance for certain retinal diseases. **Trans Ophthalmol Soc UK**. 68:137-180, 1948.

MICHELS, S.; ROSENFELD, P.J.; PULIAFITO C.A.; MARCUS, E.N.; VENKATRAMAN, A.S. Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration twelve-week results of an uncontrolled open-label clinical study. **Ophthalmology**. 112:1035-1047, 2005.

MIKI, A.; OSHIMA, Y.; OTORI, Y.; KAMEI, M.; TANO, Y. Efficacy of intravitreal bevacizumab as adjunctive treatment with pars plana vitrectomy, endolaser photocoagulation, and trabeculectomy for neovascular glaucoma. **Br J Ophthalmol**. 92(10): 1431-1433, 2008.

MILLER, .SA.; BUTLER, J.B.; MYERS, F.L. et al. Pars plana vitrectomy. Treatment for tractional macula detachment secondary to proliferative diabetic retinopathy. **Arch Ophthalmol**. 98:659-664, 1980.

MODARRES, M.; NAZARI, H.; FALAVARJANI, K.G.; NASERIPOUR, M.; HASHEMI, M.; PARVARESH, M.M. Intravitreal injection of bevacizumab before

vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy. **Eur J Ophthalmol.** 19(5):848-52, 2009.

MORDENTI, J.; CUTHBERTSON, R.A.; FERRARA, N. et al. Comparisons of the intraocular tissue distribution, pharmacokinetics, and safety of 125I-labeled full-length and Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. **Toxicol Pathol.** 27:536-544, 1999.

MORSE, L.S.; McCUEN, B.W. The use of silicone oil in uveitis and hypotony. **Retina.** 11:399-404, 1991.

MOSESSON, M.W. Fibrinogen and fibrin structure and functions. **J Thromb Haemost.** 3(8):1894-904, 2005.

MULCAHY, M.F.; BENSON, A.B. Bevacizumab in the treatment of colorectal cancer. **Expert Opin Biol Ther.** 5:997-1005, 2005.

MULHAUSER, I.; SAWICKI, P.; BERGER, M. Cigarette-smoking as a risk factor for macro-proteinuria and proliferative retinopathy in type 1 (insulin-dependent) diabetes. **Diabetologia.** 29:500-502, 1986.

NAMIECINSKA, M.; MARCINIAK, K.; NOWAK, J.Z. VEGF as an angiogenic, neurotrophic, and neuroprotective factor. **Postepy Hig Med Dosw (Online).** 59: 573-583, 2005.

NATIONAL SOCIETY TO PREVENT BLINDNESS. **Vision problems in the U.S.: A Statistical Analysis.** New York: National Society to Prevent Blindness, 1980.

NG, E.W.; SHIMA, D.T.; CALIAS, P.; CUNNINGHAM Jr, E.T.; GUYER, D.R.; ADAMIS, A.P. Pegaptanib, a targeted anti-VEGF aptamer for ocular vascular disease. **Nat Rev Drug Discov.** 5:123-132, 2006.

NGUYEN, Q.D.; TATLIPINAR, S.; SHAH, S.M. et al. Vascular endothelial growth factor is a critical stimulus for diabetic macular edema. **Am J Ophthalmol.** 142:961-969, 2006.

NOVAK, M.A.; RICE, T.A.; MICHELS, R.G. et al. Vitreous hemorrhage after vitrectomy for diabetic retinopathy. **Ophthalmology**. 91:1485-1489, 1984.

OLIVEIRA, L.B.; REIS, P.A.C. Silicone oil tamponade in 23-gauge transconjunctival sutureless vitrectomy. **Retina**. 27:1054-1058, 2007.

OLIVEIRA, M.A.B.; GODOY, M.F.; SOUZA, D.R.S. Angiogênese e o fator endotelial de crescimento vascular. **RBM Rev. Bras. Med.** 59(1/2):81-84, 2002.

OLIVEIRA, R.S.; MESSIAS, A.M.V.; ALMEIDA, F.P.P.; COSTA, R.A.; JORGE, R. **Intravitreal ranibizumab for persistent new vessels in diabetic retinopathy**. In: Association for Research in Visual and Ophthalmology, 2010, Fort Lauderdale. ARVO, 2010.

OSHIMA, Y.; SAKAGUCHI, H.; GOMI, F.; TANO, Y. Regression of iris neovascularization after intravitreal injection of bevacizumab in patients with proliferative diabetic retinopathy. **Am J Ophthalmol**. 142(1):155-158, 2006.

OSHIMA, Y.; SHIMA, C.; WAKABAYASHI, T.; KUSAKA, S.; SHIRAGA, F.; OHJI, M. et al. Microincision vitrectomy surgery and intravitreal bevacizumab as a surgical adjunct to treat diabetic traction retinal detachment. **Ophthalmology**. 116(5): 927-938, 2009.

PACCOLA, L.; COSTA, R.A.; FOLGOSA, M.S.; BARBOSA, J.C.; SCOTT, I.U.; JORGE, R. Intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for treatment of refractory diabetic macular oedema (IBEME study). **The British journal of Ophthalmology**. 92:76-80, 2008.

PATEL, P.J.; BUNCE, C.; TUFAIL, A.; ABC TRIAL INVESTIGATORS. A randomised, double-masked phase III/IV study of the efficacy and safety of Avastin(R) (Bevacizumab) intravitreal injections compared to standard therapy in subjects with choroidal neovascularisation secondary to age-related macular degeneration: Clinical trial design. **Trials**. 9:56, 2008.

PAULA, J.S.; JORGE, R.; COSTA, R.A.; RODRIGUES, M.D.E.L.; SCOTT, I.U. Short-term results of intravitreal bevacizumab (Avastin) on anterior segment neovascularization in neovascular glaucoma. **Acta Ophthalmol Scand**. 84(4): 556-557, 2006.

PEYMAN, G.A.; HUAMONTE, F.U.; GOLDBERG, M.F. et al. Four hundred consecutive pars plana vitrectomies with the vitreophage. **Arch Ophthalmol.** 96(1):45-50, 1978.

PORTA, M.; BANDELLO, F. Diabetic retinopathy: a clinical update. **Diabetologia.** 45:1617-1634, 2002.

RAMSAY, R.C.; KNOBLOCH, W.H.; CANTRILL, H.L. Timing of vitrectomy for active proliferative diabetic retinopathy. **Ophthalmology.** 93(3):283-289, 1986.

RATNER, C.M.; MICHELS, R.G.; AUER, C. et al. Pars plana vitrectomy for complicated retinal detachments. **Ophthalmology.** 90(11):1323-1327, 1983.

RIBEIRO, J.A.; MESSIAS, A.; SCOTT, I.U.; JORGE, R. Alternative technique for reducing compound waste during intravitreal injections. **Arq Bras Oftalmol.** 72(5):641-644, 2009.

RICE, T.A.; MICHELS, R.G.; RICE, E.F. Vitrectomy for diabetic traction retinal detachment involving the macula. **Am J Ophthalmol.** 95:22-33, 1983.

RIZZO, S.; GENOVESI-EBERT, F.; DI BARTOLO, E.; VENTO, A.; MINIACI, S.; WILLIAMS, G. Injection of intravitreal bevacizumab (Avastin) as a preoperative adjunct before vitrectomy surgery in the treatment of severe proliferative diabetic retinopathy (PDR). **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.** 246(6):837-842, 2008.

RODRIGUES, E.B.; ROSSI, E.E.; GRUMANN Jr, A. et al. Treatment of neovascular age-related macular degeneration with antiangiogenic drugs. **Arq Bras Oftalmol.** 69:756-765, 2006.

ROMANO, M.R.; GIBRAN, S.K.; MARTICORENA, J.; WONG, D.; HEIMANN, H. Can an intraoperative bevacizumab injection prevent recurrent postvitrectomy diabetic vitreous hemorrhage? **Eur J Ophthalmol.** 19(4):618-621, 2009a.

ROMANO, M.R.; GIBRAN, S.K.; MARTICORENA, J.; WONG, D.; HEIMANN, H. Can a preoperative bevacizumab injection prevent recurrent postvitrectomy diabetic vitreous haemorrhage? **Eye.** 23(8):1698-701, 2009b.

ROSENFELD, P.J.; MOSHFEGHI, A.A.; PULIAFITO, C.A. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmic Surg Lasers Imaging** . 36:331-335, 2005a.

ROSENFELD, P.J.; FUNG, A.E.; PULIAFITO, C.A. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) for macular edema from central retinal vein occlusion. **Ophthalmic Surg Lasers Imaging**. 36:336-339, 2005b.

ROSENFELD, P.J.; RICH, R.M.; LALWANI, G.A. Ranibizumab: Phase III clinical trials results. **Ophthalmol Clin North Am**. 19:361-372, 2006.

ROSENFELD, P.J.; BROWN, D.M.; HEIER, J.S.; BOYER, D.S.; KAISER, P.K.; CHUNG, C.Y.; KIM, R.Y.; MARINA STUDY GROUP. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. **N Engl J Med**. 355:1419-1431, 2006.

SAWADA, O.; KAWAMURA, H.; KAKINOKI, M.; SAWADA, T.; OHJI, M. Vascular endothelial growth factor in aqueous humor before and after intravitreal injection of bevacizumab in eyes with diabetic retinopathy. **Arch Ophthalmol**. 125(10):1363-1366, 2007.

SCHACHAT, A.P.; OYAKAWA, R.T.; MICHELS, R.G. et al. Complications of vitreous surgery for diabetic retinopathy. II. Postoperative complications. **Ophthalmology**. 90:522-530, 1983.

SCHILLER, P.H.; MALPELI, J.G. Properties and tectal projections of monkey retinal ganglion cells. **J Neurophysiol**. 40(2):428-445, 1977.

SCHMIDT, J.; NIETGEN, G.W.; BRIEDEN, S. Self-sealing, sutureless sclerotomy in pars plana vitrectomy. **Klin Monatsbl Augenheilkd**. 215:247-251, 1999.

SCHWEITZER, C.; DELYFER, M.N.; COLIN, J.; KOROBELNIK, J.F. 23-Gauge transconjunctival sutureless pars plana vitrectomy: results of a prospective study. **Eye**. 23:2206-2214, 2009.

SHAHAR J, AVERY RL, HEILWEIL G et al. Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of bevacizumab (Avastin). **Retina**. 26:262-269, 2006.

SOUZA Jr, G.S. **Estudo da frequência de retinopatia diabética e fatores associados na população do primeiro Mutirão do Olho Diabético da região de Ribeirão Preto**. 83p. Dissertação (Mestrado em Oftalmologia). Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cabeça e Pescoço, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. 2003.

SPAIDE, R.F.; FISHER, Y.L. Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment of proliferative diabetic retinopathy complicated by vitreous hemorrhage. **Retina**. 26(3): 275-278, 2006.

SPAIDE, R.F.; CHANG, L.K.; KLANCNIK, J.M.; YANNUZZI, L.A.; SORENSON, J.; SLAKTER, J.S.; FREUND, K.B.; KLEIN, R. Prospective study of intravitreal ranibizumab as a treatment for decreased visual acuity secondary to central retinal vein occlusion. **Am J Ophthalmol**. 147(2):298-306, 2009.

STECK, A.D.; ESTEVES, R.A.; GONÇALVES, J.C.M. Prevalência de retinopatia diabética em uma população de diabéticos do HC de Franco da Rocha. **Arq Bras Oftalmol**. 56(3):125-128, 1993.

STEPHAN, C.C.; BROCK, T.A. Vascular endothelial growth factor, a multifunctional polypeptide. **P R Health Sci J**. 15(3):169-178, 1996.

STERGIOU, P.K.; SYMEONIDIS, C.; DIMITRAKOS, S.A. Descending doses of intravitreal bevacizumab for the regression of diabetic neovascularization. **Acta Ophthalmol**. 2009 Oct 23. [Epub ahead of print]

TASMAN, W. Diabetic vitreous hemorrhage and its relationship to hypoglycemia. **Mod Probl Ophthalmol**. 20:413-414, 1979.

TEIXEIRA, A.; MORAES, N.; FARAH, M.E. et al. Choroidal neovascularization treated with intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) in angioid streaks. **Acta Ophthalmol Scand**.84(6):835-836, 2006.

THEELEN, T.; VERBEEK, A.M., TILANUS, M.A.; Van den BIESEN, P.R. A novel technique for self-sealing, wedge-shaped pars plana sclerotomies and its features in ultrasound biomicroscopy and clinical outcome. **Am J Ophthalmol** 136:1085-1092, 2003.

THOMPSON, J.T.; GLASER, B.M.; MICHELS, R.G. et al. The use of intravitreal thrombin to control hemorrhage during vitrectomy. **Ophthalmology**. 93:279-282, 1986.

THOMPSON, J.T.; de BUSTROS, S.; MICHELS, R.G. et al. Results and prognostic factors in vitrectomy for diabetic traction retinal detachment of the macula. **Arch Ophthalmol**. 105:497-502, 1987.

TONELLO, M.; COSTA, R.A. ALMEIDA, F.P. et al. Panretinal photocoagulation versus PRP plus intravitreal bevacizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy (IBeHi study). **Acta Ophthalmol**. 86:385-9, 2008.

TORQUATO, M.T.C.G.; MONTENEGRO Jr, R.M.; VIANA, L.A.L. et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban population aged 30-69 years in Ribeirão Preto (São Paulo), Brazil. **São Paulo Med J**. 121(6):224-230, 2003.

UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP (UKPDS). Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes (UKPDS 38). **Br Med J**. 317:703-713, 1998.

ULSON, A.C.B.; ABUJAMRA, S. Análise de 400 pacientes diabéticos portadores de retinopatia. **Arq Bras Oftalmol**. 49(1):9-12, 1986.

van WIJNGAARDEN, P.; COSTER, D.J.; WILLIAM, S K.A. Inhibitors of Ocular Neovascularization: Promises and Potential Problems. **JAMA**. 293(12):1509-1513, 2005.

WEITER, J.J.; DELORI, F.C.; WING, G.L.; FICH, K.A. Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 27(2):145-152, 1986.

WEST, J.F.; GREGOR, Z.J. Fibrovascular ingrowth and recurrent haemorrhage following diabetic vitrectomy. **Br J Ophthalmol.** 84:822-825, 2000.

WIEDEMANN, P. Growth factors in retinal diseases; proliferative vitreoretinopathy, proliferative diabetic retinopathy, and retinal degeneration. **Surv Ophthalmol.** 36:373-384, 1992.

WILLIAMS, G.A. 25-, 23-, or 20-gauge instrumentation for vitreous surgery? **Eye.** 22:1263-1266, 2008.

WING, G.L.; BLANCHARD, G.C.; WEITER, J.J. The topography and age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 17(7):601-607, 1978.

WITMER, A.N.; VRENSEN, G.F.; van NOORDEN, C.J.; SCHLINGEMANN, R.O. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. **Prog Retin Eye Res.** 22(1):1-29, 2003.

WROBLEWSKI, J.J.; WELLS, J.A.; ADAMIS, A.P.; BUGGAGE, R.R.; CUNNINGHAM Jr, E.T.; GOLDBAUM, M.; GUYER, D.R.; KATZ, B.; ALTAWHEEL, M.M. Pegaptanib in Central Retinal Vein Occlusion Study Group. Pegaptanib sodium for macular edema secondary to central retinal vein occlusion. **Arch Ophthalmol.** 127(4):374-380, 2009.

WROBLEWSKI, J.J.; WELLS, J.A.; GONZALES, C.R. Pegaptanib sodium for macular edema secondary to branch retinal vein occlusion. **Am J Ophthalmol.** 149(1):147-154, 2010.

WU, L.; QUIROZ-MERCADO, H.; ROCA, J. PAN AMERICAN RETINA COLLABORATIVE STUDY GROUP. Safety of an Intravitreal Injection of Bevacizumab (Avastin): Results of a Multicenter Trial. Trabalho apresentado no Congresso da ARVO em Fort Lauderdale, 2007.

YANG, C.M. Surgical treatment for diabetic retinopathy: 5-year experience. **J Formos Med Assoc.** 97:477-484, 1998.

YANG, C.M.; YEH, P.T.; YANG, C.H.; CHEN, M.S. Bevacizumab pretreatment and long-acting gas infusion on vitreous clear-up after diabetic vitrectomy. **Am J Ophthalmol.** 146(2):211-217, 2008.

YEH, P.T.; YANG, C.M.; LIN, Y.C.; CHEN, M.S.; YANG, C.H. Bevacizumab pretreatment in vitrectomy with silicone oil for severe diabetic retinopathy. **Retina.** 29(6): 768-74, 2009.

YEOH, J.; WILLIAMS, C.; ALLEN, P.; BUTTERY, R.; CHIU, D.; CLARK, B. et al. Avastin as an adjunct to vitrectomy in the management of severe proliferative diabetic retinopathy: a prospective case series. **Clin Experiment Ophthalmol.** 36(5):449-454, 2008.

YEUNG, L.; LIU, L.; WU, W.C.; KUO, Y.H.; CHAO, A.N.; CHEN, K.J. CHEN, T.L.; LAI, C.C. Reducing the incidence of early postoperative vitreous haemorrhage by preoperative intravitreal bevacizumab in vitrectomy for diabetic tractional retinal detachment. **Acta Ophthalmol.** 635-640, 2009.

ZACHARY, I.C.; FRANKEL, P.; EVANS, I.M.; PELLET-MANY, C. The role of neuropilins in cell signalling. **Biochem Soc Trans.** 37(Pt 6):1171-1178, 2009.

8. *ANEXOS*

ANEXO 1

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Ribeirão Preto, 11 de dezembro de 2008

Ofício nº 4461/2008
CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“RANIBIZUMABE INTRA-VÍTREO NO PRÉ-OPERATÓRIO DE VITRECTOMIA VIA PARS PLANA EM PACIENTES DIABÉTICOS COM DESCOLAMENTO DE RETINA TRACIONAL”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 278ª Reunião Ordinária realizada em 08/12/2008 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 11230/2008.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente,


DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores

JEFFERSON AUGUSTO SANTANA RIBEIRO
PROF. DR. RODRIGO JORGE (Colaborador)

Depto. de Oftalmo, Otorrino e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Ranibizumabe intravítreo no pré-operatório de vitrectomia via *pars plana* em pacientes diabéticos com descolamento de retina tracional

O sr. (a) tem um tipo de doença denominada descolamento tracional de retina por retinopatia diabética proliferativa avançada e está sendo convidado(a) a participar de um estudo intitulado **Ranibizumabe intra-vítreo no pré-operatório de vitrectomia via *pars plana* em pacientes diabéticos com descolamento de retina tracional**.

O descolamento de retina tracional é a separação entre a parte neurosensorial e o epitélio pigmentar da retina causado por fibrose (cicatriz) que gera uma força puxando a retina. Esta fibrose é consequência do efeito do diabetes na retina, causando a retinopatia diabética proliferativa, na qual o descolamento de retina ocorre nos estágios avançados da doença, com risco de perda visual importante.

No presente momento, o tratamento para descolamento tracional de retina por retinopatia diabética avançada é uma cirurgia chamada vitrectomia posterior via *pars plana*, que consiste em aspirar o gel vítreo de dentro do olho, e retirar ou cortar a fibrose causadora do descolamento de retina, através de aberturas feitas no branco do olho. Durante essa operação é comum haver sangramento dentro do olho devido às alterações dos vasos sanguíneos e fibrose dentro do mesmo, sangramento este que pode limitar o sucesso da cirurgia dificultando sua realização. A anestesia planejada para a cirurgia será o bloqueio peri-bulbar, a menos que o serviço de anestesia indique outra técnica, como anestesia geral, considerando os aspectos próprios de cada paciente.

O objetivo desta pesquisa é comparar o sangramento durante a cirurgia para tratamento do descolamento tracional de retina, utilizando 2 grupos de pacientes: RANI/PPV- que usarão uma medicação dentro do olho chamada ranibizumabe 1 semana antes da cirurgia, e PPV- que farão o tratamento convencional, ou seja, somente a cirurgia e procedimento de simulação de injeção dentro do olho, porém sem introdução de agulha ou medicação intraocular, antes da cirurgia. Estaremos avaliando se o ranibizumabe intra-vítreo é capaz de reduzir o sangramento durante a cirurgia.

O sangramento intraoperatório provém de vasos mal formados decorrentes da retinopatia diabética. O ranibizumabe inibe uma das principais substâncias responsáveis pelo surgimento destes novos vasos podendo induzir sua regressão. Portanto, o uso pré-operatório pode fazer com que os vasos ruins desapareçam antes da cirurgia, tornado mais fácil sua realização pelo cirurgião, pela provável redução da hemorragia intra-operatória. A redução da hemorragia facilita a retirada da cicatriz que matem a retina descolada.

Durante o procedimento da injeção intra-vítrea de ranibizumabe o sr. (a) poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados à agulhada (dor no local da injeção, queda temporária da pálpebra e olho vermelho), sendo utilizada anestesia local (colírio). Por outro lado, a droga precisa ser injetada dentro do olho e há o risco

adicional de infecção de 0,01%, ou seja, de cada 10.000 pacientes que fazem a injeção intra-vítrea, um pode ter infecção no olho.

A simulação da injeção intra-vítrea não trará riscos ao sr. (a), tendo que usar somente um colírio antibiótico após o procedimento.

Caso aceite participar da pesquisa, o sr. (a) será sorteado para ser incluído em um dos dois grupos da pesquisa, podendo ser submetido ao tratamento em estudo para o seu caso, ou seja, cirurgia de vitrectomia COM o uso da medicação ranibizumabe 1 semanas antes da cirurgia, ou somente o tratamento convencional, a cirurgia de vitrectomia com simulação de injeção intra-vítrea antes da cirurgia.

Caso o sr. (a) não deseje participar do estudo ou não deseje ser sorteado para um dos grupos do estudo, receberá o tratamento convencional dado aos pacientes com problemas semelhantes ao seu, descolamento tracional de retina por retinopatia diabética avançada, sendo indicado o tratamento cirúrgico com vitrectomia posterior. Optando pelo acompanhamento clínico, sem cirurgia, a retina permanecerá descolada, podendo haver progressão do descolamento com perda da visão irreversível.

Antes da cirurgia, será necessária a realização de consultas oftalmológicas direcionadas, com os seguintes exames: medida da acuidade visual, medida da pressão intraocular, biomicroscopia (avaliação da porção anterior e posterior do olho com lâmpada de fenda), mapeamento de retina, exame por ultra-som do olho e medida da glicemia de jejum.

Serão feitas avaliações oftalmológicas durante 1 semanas depois dessa injeção. A vitrectomia será realizada no final deste seguimento, ou seja, 1 semanas após a injeção.

Os riscos que envolvem o seu tratamento são: aumento da pressão intraocular (pressão interna do olho), inflamação ocular, infecção ocular, hemorragia dentro do gel vítreo, e piora do descolamento de retina. Para resolver as complicações podem ser necessárias medicações específicas e/ou cirurgias adicionais.

Os benefícios esperados do tratamento com cirurgia e ranibizumabe são: diminuir o sangramento durante a cirurgia de vitrectomia, tratando os vasos com problema que podem sangrar, e evitar a piora da visão do olho comprometido, promovendo a melhora ou estabilização da visão.

Para que o estudo tenha sucesso, o sr. (a) deverá comparecer ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP) para consultas oftalmológicas mensais idênticas à consulta descrita acima até a realização da cirurgia, sendo após a cirurgia seguido no ambulatório de retina do HCFMRP, como ocorre de rotina com os pacientes operados devido a problemas semelhantes ao seu pelo setor de retina e vítreo do HCFMRP.

Os médicos Rodrigo Jorge (CRM-SP 81886) e Jefferson A. S. Ribeiro (CRM-SP 127579), que podem ser contatados todos os dias da semana através dos seguintes telefones (16) 3602-2523 ou (16) 3602-2323 e no endereço Divisão de Oftalmologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Avenida Bandeirantes, 3900, Ribeirão Preto – São Paulo – Brasil, são os responsáveis pelo seu tratamento e farão o seu acompanhamento conforme consta no padrão Ético e Vigente no Brasil.

Estão garantidas todas as informações que o sr. (a) queira, antes durante e depois do estudo.

A sua participação neste estudo é voluntária, tendo a liberdade de recusar participar. Caso o sr. (a) aceite participar, poderá retirar seu consentimento a qualquer

momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos médicos que executam a pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.

Pela sua participação no estudo, o sr. (a) não receberá qualquer valor em dinheiro. O sr. (a) terá a garantia de que qualquer problema decorrente do estudo será tratado no próprio Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina Ribeirão Preto.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, _____ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo, assim como o tratamento alternativo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico. Eu entendi o que não posso fazer durante o tratamento e sei que qualquer problema relacionado ao tratamento será tratado sem custos para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Assinatura do paciente

___/___/___

Nome do pesquisador

___/___/___

ANEXO DE PUBLICAÇÃO

The Effect of Intravitreal Ranibizumab on Intraoperative Bleeding During Pars Plana Vitrectomy for Diabetic Traction Retinal Detachment

Jefferson A. S. Ribeiro, MD,¹ André Messias, MD,PhD,¹ Felipe P. P. de Almeida, MD,¹
Rogerio A. Costa, MD, PhD,¹ Ingrid U. Scott, MD, MPH,² Lorena L. de Figueiredo-
Pontes, MD,³ Rodrigo Jorge, MD, PhD¹

¹Department of Ophthalmology, School of Medicine of Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil; ²Departments of Ophthalmology and Public Health Sciences, Penn State College of Medicine, Hershey, PA, USA; ³Laboratory of Hematology, School of Medicine of Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Corresponding Author:

Prof. Dr. Rodrigo Jorge. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Avenida Bandeirantes 3900. Ribeirão Preto-SP, 14049-900, Brazil.

Tel./FAX: + 55 (16) 3602-2860. E-mail: rjorge@fmrp.usp.br

Word count: Title, 17; Abstract, 197; Text, 1872.

ABSTRACT

Aims: To investigate the effects of intravitreal ranibizumab (IVR) on intraocular bleeding during 23-gauge pars plana vitrectomy (PPV) for diabetic traction retinal detachment (TRD). **Methods:** Prospective, double-masked study including 18 consecutive eyes with proliferative diabetic retinopathy (PDR) that underwent PPV for macula-involving TRD of up to three months duration. Patients were randomly assigned to 0.5 mg IVR (RANI/PPV group; n=9) or sham injection (PPV group; n=9) one week before PPV. All patients completed 12 weeks follow-up after PPV. Intraocular bleeding during PPV was measured by erythrocyte count in the fluid retrieved from the vitrectomy cassette. **Results:** Mean \pm SE erythrocyte count ($\times 10^6$ cells) was 63.2 ± 25.2 for RANI/PPV; and 185.1 ± 49.2 for PPV ($p=0.0192$; Wilcoxon). There was no within-group statistically significant BCVA change in the RANI/PPV group, but a 0.35 ± 0.1 logMAR BCVA improvement ($p<0.05$) was observed in the PPV group 12 weeks after surgery. **Conclusion:** IVR was associated with reduced intraocular bleeding during PPV in eyes with macula-involving TRD secondary to PDR, which may contribute to a safer and technically easier surgery. Further study in a larger number of patients is warranted to investigate whether preoperative IVR affects visual function in the long-term.

Clinical trial register: NCT01201161

Keywords: retinal detachment; diabetic retinopathy; vitrectomy; VEGF; ranibizumab.

INTRODUCTION

Traction retinal detachment (TRD) is an important cause of visual impairment in patients with advanced proliferative diabetic retinopathy (PDR).[1, 2] The treatment of TRD in PDR is surgical, aimed at the removal of media opacity and fibrovascular membranes, and the release of vitreoretinal traction during pars plana vitrectomy (PPV), with special care taken to ensure hemostasis and avoid iatrogenic retinal breaks.[1, 3] In general, surgery is indicated when TRD presents with macula involvement, but early vitrectomy may be indicated in patients with progressive traction detachment that threatens the macula.[4, 5]

One of the important complications during PPV in eyes with PDR is intraoperative vitreous hemorrhage [6, 7] which occurs in 15 to 28% of cases, possibly limiting the surgical objectives and at times being uncontrollable and causing the interruption of surgery.[5] This complication also increases the possibility of early postoperative vitreous hemorrhage, underscoring the need for careful hemostasis during the procedure.[8]

Ranibizumab is an antiangiogenic and antipermeability drug that inhibits the action of all VEGF-A isoforms,[9] and has been reported to be an effective treatment of diabetic macular edema.[10, 11]

Studies have reported the use of bevacizumab, the full-length anti-VEGF A antibody from which ranibizumab is derived, before PPV in eyes with advanced diabetic retinopathy and vitreous hemorrhage or TRD,[6, 12, 13] with favorable results in terms of reduced intraoperative bleeding and easier execution of surgery.

The objective of the current prospective randomized study was to assess the effect of ranibizumab in reducing intraoperative bleeding during 23-gauge PPV for macula-involving TRD secondary to PDR.

MATERIALS AND METHODS

The research protocol adhered to the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the local Research Ethics Committee and registered at ClinicalTrials.gov (NCT01201161). All patients gave written informed consent to participate in the study. Eighteen consecutive patients with PDR scheduled to undergo PPV for macula-involving TRD of up to three months duration were recruited from the Retina and Vitreous Service of the University Hospital, School of Medicine of Ribeirão Preto between December 1, 2008 and January 31, 2010. Patients were randomly assigned to administration of either 0.5 mg IVR (RANI/PPV group; n=9) or sham injection (PPV group; n=9) one week before PPV. All patients completed 12 weeks follow-up after PPV. Data from one patient from in the RANI/PPV group was not analyzed due to progression of the retinal detachment after IVR. The main outcome measure was intraocular bleeding during PPV measured by erythrocyte count in the fluid used during surgery (ACCURUS[®] Surgical System fluid set).

Eligibility criteria and baseline assessment

Inclusion criteria were: 1) macula-involving TRD of up to three months duration secondary to PDR, and 2) BCVA between 20/60 and 20/800. Exclusion criteria were: 1) vitreous hemorrhage preventing a detailed visualization of the entire posterior retinal pole, 2) previous intraocular surgery except for cataract surgery, 3) any clinical

condition that would impair the documentation of the ocular fundus, 4) previous thromboembolic events including acute myocardial infarction and cerebrovascular accidents, 5) known clotting disorders or use of anticoagulant medications except aspirin, and 6) significant and uncontrolled diseases that, in the opinion of the investigator, might interfere with study participation.

Each patient received a detailed ophthalmologic examination including the measurement of best-corrected visual acuity (BCVA), by masked examiners, according to the ETDRS standard refraction protocol, applanation tonometry, biomicroscopy of the anterior segment, indirect binocular ophthalmoscopy, redfree and colour fundus pictures.

Study procedures

The patients were assigned randomly to administration of either 0.5 mg/0.05 ml IVR (RANI/PPV group; n=9) or sham injection (PPV group; n=9) at Week 0 (within one week after baseline assessment); patients in both groups underwent 23-gauge PPV one week after injection (Week 1).

Patients were evaluated (according to the same protocol as the baseline assessment, including assessment as to whether the macula was attached or detached) on the day of surgery prior to PPV and were re-evaluated at 1, 4, 8 and 12 weeks after surgery (Weeks 2, 5, 9 and 13, respectively).

Evaluation of intraoperative hemorrhage

The main outcome was intraocular hemorrhage occurring intraoperatively, measured by counting the number of erythrocytes accumulated in the surgical fluid by the ACCURUS[®] PPV aspiration system.

Intraoperative intraocular hemorrhage was quantified as follows: at the end of PPV, the volume of the fluid in the collecting system of the vitreophage was measured and a 3 ml sample of this fluid was sent to the Haematology Laboratory of Ribeirão Preto Medical School Clinics' Hospital for erythrocyte count, which was performed manually using a Neubauer chamber (as described previously by Lucena et al., 2009).[13]

Data were also collected on adverse events related to intravitreal injection of ranibizumab (such as vitreous hemorrhage, progression of retinal detachment, endophthalmitis and uveitis), as well as systemic thromboembolic events.

Statistical analysis

Group comparison of erythrocyte count was performed with the Wilcoxon Rank-test. The Fisher test was used for nominal variables and a non-paired t-test was applied to the other comparisons between groups. All tests considered a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS

Baseline characteristics of each group are summarized in Table 1. There were no significant differences between groups with respect to gender, age, duration and type of diabetes, and presence of previous panretinal photocoagulation. Prothrombin time,

partial activated thromboplastin time and platelet count were within normal limits in all study participants.

Main outcome

Erythrocyte count

The mean \pm SE erythrocyte count ($\times 10^6$ cells) was 63.2 ± 25.2 in the RANI/PPV group and 185.1 ± 49.2 in the PPV group ($p=0.0192$; Wilcoxon), demonstrating that, compared to sham injection, IVR associated with an average reduction in erythrocyte count of 65%. Eight of the 9 patients in the RANI/PPV group had an erythrocyte count lower than the mean erythrocyte count of the PPV group (Figure 1).

There were no statistically significant differences between the groups with respect to the surgical procedures performed. Phacoemulsification with posterior chamber intraocular lens implantation was performed in eight patients in each group. Silicone oil was used in eight eyes of the RANI/PPV group and 6 eyes of the PPV group. One patient in the RANI/PPV group and two in the PPV group received C_3F_8 tamponade at the end of PPV ($p = 0.5765$, Fisher's exact test). Intraoperative retinal tears were noted in five eyes of the RANI/PPV group and four eyes of the PPV group. Mean \pm SD time of vitrectomy (minutes) was 71.6 ± 25.7 and 56.6 ± 11.4 in the RANI/PPV and PPV groups, respectively ($p = 0.1298$, t-Test).

Mean \pm SE BCVA at baseline was 1.0 ± 0.07 in the RANI/PPV group and 1.43 ± 0.07 in the PPV group ($p=0.0005$, t-Test). Factors not controlled by randomization, such as cataract density and macular capillary nonperfusion may have been responsible for this difference. At week 12 compared to baseline, a BCVA improvement of 0.35 logMAR was observed in the PPV group, and a loss of 0.01 logMAR was observed in

the RANI/PPV group ($p < 0.05$). No significant difference in mean intra-individual BCVA change was observed between RANI/PPV and PPV groups.

There were two patients in the PPV group whose BCVA went from 1.26 and 1.6 logMAR at baseline to light perception and hand movements, respectively, at week 12 postoperatively. In the RANI/PPV group, there was no patient with a BCVA < 1.6 logMAR at week 12.

Residual vitreous hemorrhage was present in 4 and 7 eyes of the RANI/PPV and PPV groups, respectively, at one week after PPV ($p = 0.3348$), and no vitreous hemorrhage was observed in any patient at the 12-week visit.

After intravitreal injection of ranibizumab and before PPV, one patient demonstrated progression of retinal detachment and was excluded from the study. This individual had not been treated previously with panretinal photocoagulation and presented with ring retinal fibrosis surrounding the posterior pole.[14] No other adverse ocular or systemic effects were observed. Eighteen individuals completed the 12-week study and retinal re-detachment was observed in only one patient (in the PPV group) at the end of the study.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, and based on a search of the Medline database, this is the first report on the use of ranibizumab to control intraoperative bleeding in eyes with diabetic traction retinal detachment. The current study demonstrates a significant reduction in intraoperative bleeding associated with administration of preoperative IVR, which is consistent with the previously reported effects of administration of preoperative bevacizumab.[13] Chen and Park (2006) [12] reported

one case of TRD secondary to PDR treated with 1.25 mg intravitreal bevacizumab before PPV, with a significant reduction of neovascularization and minimal intraoperative bleeding during membrane segmentation and delamination. Avery et al. (2006) [15] reported a reduction of intraoperative bleeding during PPV in patients with advanced PDR after intravitreal bevacizumab administration 2 to 11 days prior to PPV. Lucena et al. (2009) [13] administered bevacizumab two weeks before PPV to patients with TRD and observed a significant reduction of intraocular bleeding. In the latter study, no patient demonstrated progression of TRD in the 2 weeks between bevacizumab administration and PPV. Ishikawa et al. (2009) [6] suggested that the period between bevacizumab administration and PPV should be less than seven days in order to reduce the risk of increased vitreoretinal traction due to excessive fibrosis in patients with advanced PDR. In the current study, one patient in the RANI/PPV group demonstrated progression of TRD after the administration of ranibizumab. This patient had characteristics previously reported to be associated with a high risk of diabetic retinopathy progression in individuals treated with adjuvant bevacizumab, i.e., absence of previous panretinal photocoagulation and ring retinal fibrosis surrounding the posterior pole.[14] A preoperative anti-VEGF drug should be used with caution in such patients who require more frequent monitoring and early surgery.

In the current study, no differences were observed between the study groups with respect to vitrectomy time and incidence of intraoperative retinal breaks and postoperative hemorrhage. The regression of new vessels and less intraoperative bleeding may contribute to a technically easier procedure,[16] while intra-operative complications are likely to be more related to the complexity of the case in terms of

extension of the fibrovascular proliferation and adhesion to the retina than the bleeding itself.[17]

The 3-month postoperative follow-up of the patients did not demonstrate significant differences between groups in terms of change in visual acuity or anatomical success of surgery. However, the study is limited by the small number of patients and relatively short follow-up. The data suggest that, although ranibizumab is associated with reduced intraoperative bleeding, other factors may influence the visual recovery after surgery, such as the characteristic of retinal detachment and status of macular perfusion. One patient experienced progression of TRD after IVR and before PPV; it is unknown whether or not this adverse event was related to drug administration, and no increased risk of other adverse events associated with ranibizumab administration was observed.

In summary, in the current study demonstrated, in an objective and quantitative manner, that IVR is associated with reduced intraocular bleeding during PPV in diabetic patients with TRD involving the macula. This, in turn, may contribute to a technically easier surgical procedure with reduced risk of complications. Studies with a larger number of participants and longer follow-up are needed to investigate whether preoperative administration of an anti-VEGF drug in eyes with TRD associated with PDR effects visual function in the long-term.

ACKNOWLEDGMENTS/DISCLOSURE

Competing Interest: none declared.

Funding/Support: none.

This study protocol adhered to the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the local Research Ethics Committee. All patients signed an informed consent form before joining the study.

License for publication

I, Rodrigo Jorge, The Corresponding Author, have the right to grant on behalf of all authors and do grant on behalf of all authors, an exclusive license (or non exclusive for government employees) on a worldwide basis to the BMJ Publishing Group Ltd and its Licensees to permit this article (if accepted) to be published in BJO and any other BMJ PGL products to exploit all subsidiary rights, as set out in our license.

REFERENCES

1. Rice TA, Michels RG, Rice EF. Vitrectomy for diabetic traction retinal detachment involving the macula. *Am J Ophthalmol.* 1983;95:22-33.
2. Fong DS, Ferris FL 3rd, Davis MD, et al. Causes of severe visual loss in the early treatment diabetic retinopathy study: ETDRS report no. 24. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Am J Ophthalmol.* 1999;127:137-41.
3. Ho T, Smiddy WE, Flynn HW Jr. Vitrectomy in the management of diabetic eye disease. *Surv Ophthalmol.* 1992;37:190-202.

-
4. Ratner CM, Michels RG, Auer C, et al. Pars plana vitrectomy for complicated retinal detachments. *Ophthalmology*. 1983;90:1323-27.
 5. Thompson JT, Glaser BM, Michels RG, et al. The use of intravitreal thrombin to control hemorrhage during vitrectomy. *Ophthalmology*. 1986;93:279-82.
 6. Ishikawa K, Honda S, Tsukahara Y, et al. Preferable use of intravitreal bevacizumab as a pretreatment of vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy. *Eye (Lond)*. 2009;23:108-11. [published Online First: 21 September 2007].
 7. de Bustros S, Glaser BM, Johnson MA. Thrombin infusion for the control of intraocular bleeding during vitreous surgery. *Arch Ophthalmol*. 1985;103:837-39.
 8. Thompson JT, de Bustros S, Michels RG, et al. Results and prognostic factors in vitrectomy for diabetic traction retinal detachment of the macula. *Arch Ophthalmol*. 1987;105:497-502.
 9. van Wijngaarden P, Coster DJ, Williams KA. Inhibitors of ocular neovascularization: promises and potential problems. *JAMA*. 2005;293:1509-13.
 10. Elman MJ, Aiello LP, Beck RW, et al. Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2010;117:1064-77.

-
11. Nguyen QD, Tatlipinar S, Shah SM, et al. Vascular endothelial growth factor is a critical stimulus for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol*. 2006;142:961-9.
 12. Chen E, Park CH. Use of intravitreal bevacizumab as a preoperative adjunct for tractional retinal detachment repair in severe proliferative diabetic retinopathy. *Retina*. 2006;26:699-700.
 13. Lucena DR, Ribeiro JAS, Costa RA, et al. Intraoperative bleeding during vitrectomy for diabetic tractional retinal detachment with versus without preoperative intravitreal bevacizumab (IBeTra Study). *Br J Ophthalmol*. 2009;93:688-91. [published Online First: 10 February 2009].
 14. Oshima Y, Shima C, Wakabayashi T, et al. Microincision vitrectomy surgery and intravitreal bevacizumab as a surgical adjunct to treat diabetic traction retinal detachment. *Ophthalmology*. 2009;116: 927-38.
 15. Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2006;113:1695.e1-15.
 16. Yeoh J, Williams C, Allen P, et al. Avastin as an adjunct to vitrectomy in the management of severe proliferative diabetic retinopathy: a prospective case series. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2008;36(5):449-54.
 17. Meier P, Wiedemann P. Vitrectomy for traction macular detachment in diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1997;235:569-74.

FIGURE LEGEND

Figure 1. Erythrocyte count. Dots correspond to individual values and lines correspond to means in each group.

Figure 1

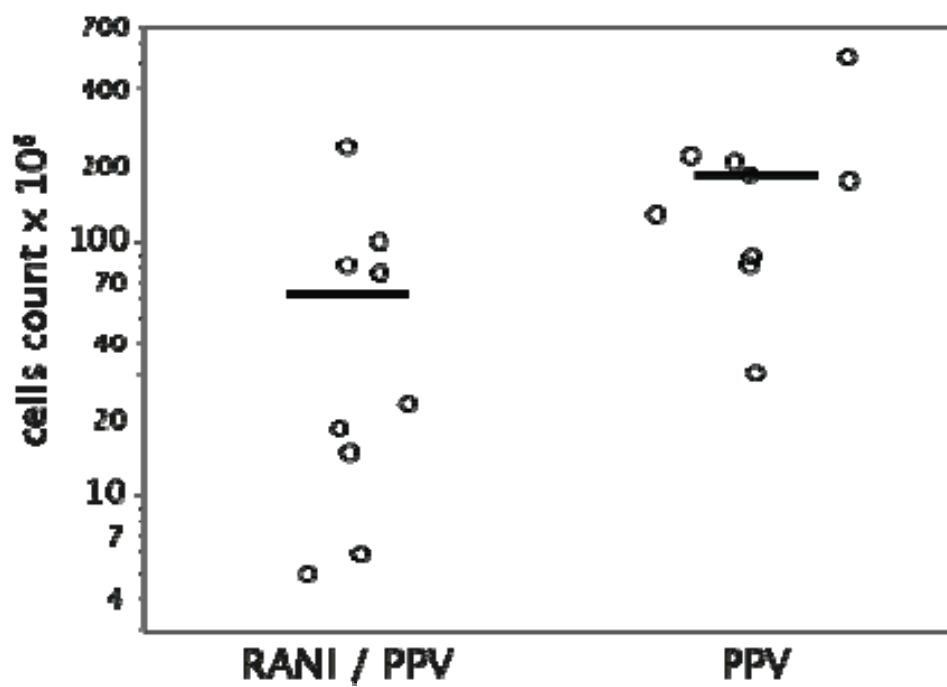


Table 1. Baseline characteristics.

	RANI/PPV	PPV	p
Age (years, mean \pm SD)	51.7 \pm 8.3	56.8 \pm 6.5	0.1677**
Gender (M/F)	5/4	5/4	1*
DM type (type 1/type 2)	2/7	1/8	1*
DM duration (years, mean \pm SD)	16.5 \pm 6.1	17.5 \pm 12.2	0.8293**
HbA1c (% , mean \pm SD)	8.6 \pm 1.9	9.4 \pm 2.4	0.4992**
Previous PRP (yes/no)	6/3	7/2	1*

DM = diabetes mellitus; **PRP** = panretinal photocoagulation; * Fisher's exact test; ** t-Test