

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

RODRIGO SANCHES OLIVEIRA

**Ranibizumabe intravítreo para o tratamento de
pacientes portadores de retinopatia diabética
proliferativa com neovascularização de retina
persistente**

**RIBEIRÃO PRETO
2013**

RODRIGO SANCHES OLIVEIRA

**Ranibizumabe intravítreo para o tratamento de
pacientes portadores de retinopatia diabética
proliferativa com neovascularização de retina
persistente**

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
Audio-Vestibular.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

RIBEIRÃO PRETO

2013

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

Oliveira, Rodrigo Sanches

Ranibizumabe intravítreo para o tratamento de pacientes portadores de retinopatia diabética proliferativa com neovascularização de retina persistente. Rodrigo Sanches Oliveira. Ribeirão Preto, 2013.

77p.: 6il.; 30 cm

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

Orientador: Jorge, Rodrigo

1. Retinopatia Diabética; 2. Ranibizumabe; 3. Bevacizumabe; 4. Neovasos; 5. Edema macular.

Agradecimentos

A todos os professores, colegas, pacientes e demais profissionais da área de saúde, que contribuíram para a realização deste estudo.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluno: Rodrigo Sanches Oliveira

Título: Ranibizumabe intravítreo para o tratamento de pacientes portadores de retinopatia diabética proliferativa com neovascularização de retina persistente.

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 Audio-Vestibular.

Aprovado em: ____/____/____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Resumo

OLIVEIRA, R.S. **Ranibizumabe intravítreo para o tratamento de pacientes portadores de retinopatia diabética proliferativa com neovascularização de retina persistente.** 77f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

Objetivo: Avaliar os efeitos do uso intravítreo do ranibizumabe no tratamento de pacientes portadores de neovascularização de retina persistente secundária à retinopatia diabética proliferativa. **Métodos:** Foram incluídos no estudo 22 olhos de 22 pacientes diabéticos com neovasos de retina ativos e refratários ao tratamento a laser com a melhor acuidade visual corrigida (MAVC) igual ou pior que 20/32 na tabela do ETDRS. Foi realizada avaliação oftalmológica completa na visita inicial e nas semanas 1, 6, 12, 24, 36 e 48 após injeção intravítrea de ranibizumabe (0,5 mg). Foi realizado retratamento nas semanas 12, 24 e 36 quando houve vazamento de contraste na angiofluoresceinografia. Os efeitos do procedimento do estudo foram avaliados pela medida em mm² (IMAGEnet) da área total de vazamento da fluoresceína proveniente de neovasos ativos, mudanças na MAVC em LogMAR e os efeitos sobre a espessura do subcampo macular central na tomografia de coerência óptica (Stratus) medidos em µm. **Resultados:** Dezenove pacientes completaram as 48 semanas do estudo. Na avaliação inicial, a média ± erro-padrão da média (EPM) da área de vazamento de fluoresceína da neovascularização retiniana ativa foi de 4,8 ± 1,2 mm² e diminuiu significativamente para 0,1 ± 0,1 mm² (p=0,001); 0,3 ± 0,1 mm² (p=0,001); 2,1 ± 0,5 mm² (p=0,011); 2,1 ± 0,5 mm² (p=0,025); 1,79 ± 0,5 mm² (p=0,009) e 1,42 ± 0,36 mm² (p=0,010) nas semanas 1, 6, 12, 24, 36 e 48, respectivamente. A média ± EPM da MAVC, anotada em LogMAR na visita inicial foi de 0,70 ± 0,08 (20/100) e melhorou para 0,63 ± 0,08 (20/85) (p=0,013), 0,61 ± 0,07 (20/81) (p=0,022) e 0,63 ± 0,08 (20/85) (p=0,027) nas semanas 1, 6, e 12, respectivamente, com significância estatística. Após a semana 12, a média da MAVC não evidenciou diferenças estatisticamente significativas em relação à visita inicial, sendo 0,61 ± 0,08 (20/81) p=0,147 na semana 24, 0,60 ± 0,08 (20/80) (p=0,114) na semana 36 e 0,61 ± 0,09 (20/81) (p=0,390) na semana 48. A média da espessura do subcampo macular central (ESMC) ± EPM avaliada pela tomografia de coerência óptica foi de 321 ± 38 µm na avaliação inicial, diminuindo significativamente para 268 ± 22 µm (p=0,037), 277 ± 26 µm (p = 0,011), 261 ± 24 µm (p=0,017), 242 ± 21µm (p=0,034) nas semanas 1, 6, 24 e 36, respectivamente. No entanto, nas semanas 12 e 48 os valores da espessura macular foram: 298 ± 32 µm (p=0,166) e 244 ± 26 µm (p=0,064), respectivamente, não sendo estatisticamente significativos. **Conclusão:** Houve redução estatisticamente significativa na área de vazamento dos neovasos persistentes ativos durante as 48 semanas, ocorrendo, ainda, melhora na acuidade visual em todas as avaliações, porém estatisticamente significativa somente até a semana 12, e redução na espessura do subcampo macular central na tomografia de coerência óptica estatisticamente significativa em todas as visitas, exceto nas semanas 12 e 48.

Palavras-chave: Retinopatia Diabética; Ranibizumabe; Bevacizumabe; Neovasos; Edema macular.

Abstract

OLIVEIRA, R.S. **Intravitreal ranibizumab for the treatment of patients with persistent new vessels in proliferative diabetic retinopathy.** 77f. Thesis (Doctoral) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

Objective: To evaluate effects of intravitreal ranibizumab (IVR) for the management of persistent new vessels (NV) associated with diabetic retinopathy. **Methods:** Twenty-two eyes of twenty-two diabetic patients with actively leaking retinal NV refractory to laser treatment and ETDRS best-corrected visual acuity (BCVA) worse than 20/32. Comprehensive ophthalmic evaluation was performed at baseline and at weeks 1, 6, 12, 24, 36 and 48 following IVR (0.5 mg). Retreatment with IVR was performed at weeks 12, 24 and 36 if actively leaking retinal NV were detected on fluorescein angiography. Total fluorescein leakage area (FLA) from NV measured using IMAGEnet software. ETDRS BCVA and central subfield macular thickness (CSMT) measured with Stratus optical coherence tomography were also verified. **Results:** Nineteen patients completed the 48-week study period. At baseline, mean \pm SEM FLA (mm^2) was 4.8 ± 1.2 , and was significantly reduced to 0.1 ± 0.1 ($p=0.001$); 0.3 ± 0.1 ($p=0.001$); 2.1 ± 0.5 ($p=0.011$); 2.1 ± 0.5 ($p=0.025$); 1.79 ± 0.5 ($p=0.009$) and 1.42 ± 0.36 ($p=0.010$) at weeks 1, 6, 12, 24, 36 and 48, respectively. Mean BCVA (logMAR) was 0.70 ± 0.08 (20/100) at baseline and improved to 0.63 ± 0.08 (20/85; $p=0.013$); 0.61 ± 0.07 (20/81; $p=0.022$); and 0.63 ± 0.08 (20/85; $p=0.027$) at weeks 1, 6, and 12, respectively. After week 12, mean BCVA did not differ significantly from baseline; BCVA was 0.61 ± 0.08 (20/81; $p=0.147$) at week 24, 0.60 ± 0.08 (20/80; $p=0.114$) at week 36, and 0.61 ± 0.09 (20/81; $p=0.390$) at week 48. Mean CSMT (μm) was 321 ± 38 at baseline and decreased significantly to 268 ± 22 ($p=0.037$), 277 ± 26 ($p=0.011$) 261 ± 24 ($p=0.017$), 242 ± 21 ($p=0.034$) at weeks 1, 6, 24, 36, respectively; however, at weeks 12 and 48 mean CSMT did not differ significantly from baseline: 298 ± 32 ($p=0.166$) and 244 ± 26 ($p=0.064$), respectively. **Conclusions:** IVR is associated with significant reduction of fluorescein leakage. The significant improvement in BCVA after IVR observed during the first 12 weeks was not sustained at weeks 24, 36 and 48. Significant, although modest, reduction of CSMT in eyes with persistent NV due to diabetic retinopathy was observed at all study follow-up visits except for weeks 12 and 48.

Key-words: Diabetic retinopathy; Ranibizumab; Bevacizumab; New vessels; Macular edema.

Lista de Figuras

Figura 1:	Comportamento da área de vazamento de fluoresceína (média±EPM), decorrente de neovasos ativos durante todos os períodos do estudo.	49
Figura 2:	Angiogramas do paciente nº 9, visita inicial e semanas 1, 6, 12, 24, 36 e 48.	50
Figura 3:	Retinografia colorida, aneritra e angiogramas do paciente nº 8. Regressão importante dos neovasos, observados na visita inicial (setas em azul). Foi notada nas semanas 1 e 6, após 0,5 mg de ranibizumabe intravítreo. Na semana 12, observou-se recorrência parcial dos neovasos.	51
Figura 4:	Comportamento da melhor acuidade visual corrigida (média±EPM) durante todos os períodos do estudo.	52
Figura 5:	Comportamento da espessura do subcampo macular central (média±EPM) durante todos os períodos do estudo.	53
Figura 6:	Comparação entre a variação da área de vazamento de fluoresceína (média ± EPM) em pacientes tratados com ranibizumabe intravítreo neste presente estudo (linha azul; n=22) e pacientes tratados com bevacizumabe intravítreo (linha vermelha; n=15) (JORGE et al., 2006).	58

Lista de Tabelas

Tabela 1: Características dos pacientes com retinopatia diabética proliferativa com neovascularização de retina persistente tratados com ranibizumabe intravítreo.47

Tabela 2: Características clínicas: área total de neovasos ativos (medida em mm²) pela angiofluoresceinografia, melhor acuidade visual corrigida (valor do logaritmo do menor ângulo de resolução visual com tabelas do ETDRS) e espessura do subcampo macular central (medida em µm), observadas na visita inicial e durante as 48 semanas do período de estudo.48

Lista de Símbolos e Abreviaturas

ANVISA-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AV-	Acuidade visual
CATT-	<i>Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials</i>
DD-	Diâmetro de disco
DM-	Diabetes mellitus
DMRI-	Degeneração Macular Relacionada à Idade
DP-	Desvio padrão
DRCRnet-	<i>Retinopathy Clinical Research Network</i>
EM-	Edema macular
ESMC-	Espessura do subcampo macular central
EMCS-	Edema macular clinicamente significativo
EMD-	Edema macular diabético
EPM-	Erro-padrão da média
EPR-	Epitélio pigmentado da retina
ETDRS-	<i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i>
EUA-	Estados Unidos da América
FDA-	<i>Food and Drug Administration</i>
HbA1c-	Hemoglobina glicosilada
HCFM-USP-	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCFMRP-USP-	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IRMAs-	Anormalidades microvasculares intrarretinianas
MAVC-	Melhor acuidade visual corrigida

NP-	Neuropilinas
NRP-	Neovascularização retiniana persistente
NVD-	Neovasos do disco
NVE-	Neovasos extradisciais
OCT-	Tomografia de coerência óptica
PEDF-	Fator derivado do epitélio pigmentar
RD-	Retinopatia diabética
RDNP-	Retinopatia diabética não proliferativa
RDP-	Retinopatia diabética proliferativa
V.I.S.I.O.N.-	<i>VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization</i>
VEGF-	Fator de crescimento endotelial vascular - do inglês <i>vascular endothelial growth factor</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Anatomia da retina	18
1.2. Retinopatia Diabética	22
1.2.1. Epidemiologia	23
1.2.2. Fisiopatologia	25
1.2.3. Classificação	26
1.2.3.1. Retinopatia Diabética Proliferativa	28
1.2.4. Tratamento	29
1.2.4.1. Fotocoagulação a laser	29
1.2.4.2. Drogas anti-VEGF	31
1.2.4.2.1. Pegaptanibe	32
1.2.4.2.2. Bevacizumabe	34
1.2.4.2.3. Ranibizumabe	35
2. OBJETIVOS	38
2.1. Geral	39
2.2. Específicos	39
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	40
3.1. Desenho do estudo	41
3.2. Elegibilidade dos pacientes e avaliação inicial	41
3.3. Procedimentos de Tratamento	44
3.4. Seguimento, Retratamento e Variáveis do Estudo	44
3.5. Análise Estatística	45
4. RESULTADOS	46
4.1. Área de vazamento da fluoresceína	49
4.2. Acuidade visual	51
4.3. Tomografia de coerência óptica	52
4.4. Efeitos colaterais	54
5. DISCUSSÃO	55
6. CONCLUSÕES	60
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
8. ANEXOS	74

ANEXO DE PUBLICAÇÃO

1- Introdução

1.1 Anatomia da retina

A retina ou túnica nervosa é a camada mais interna do globo ocular, constituída por dois componentes principais: uma camada sensorial e outra camada pigmentada. É um tecido fino e transparente com origem ectoblástica, formado a partir do tubo neural, após a invaginação da vesícula óptica primária sobre ela mesma para formar a vesícula óptica secundária. Nesta última, a camada externa se diferencia no epitélio pigmentado e a camada interna na retina neurossensorial (DANTÉS; SIQUEIRA, 2004).

A face interna da retina está em contato com o corpo vítreo através da membrana hialóide estabelecendo forte aderência, principalmente na ora serrata, no nervo óptico e nas arcadas vasculares, enquanto a face externa se relaciona com a membrana de Bruch da coróide.

Os principais pontos de referência da retina são: disco óptico, vasos retinianos, área *centralis* com a fóvea e fovéola, retina periférica e ora serrata. A retina é mais espessa próxima ao nervo óptico (0,56 mm) com afinamento progressivo em direção à periferia (BRON; TRIPATHI, RC; TRIPATHI, BJ, 1997).

O disco óptico está situado no polo posterior do olho. Seu diâmetro é de 1,5 mm e sua espessura de alguns décimos de milímetros. Possui formato circular ou ovalar e coloração rósea, a sua face anterior é oca e no centro encontra-se a escavação fisiológica em relação com o corpo vítreo, enquanto que a face posterior convexa para trás é constituída pela lâmina crivosa (DANTAS, 2002).

A circulação retiniana é o complexo de artérias, veias e capilares que surgem na cabeça do nervo óptico e supre a retina interna (camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares, camada de fibras nervosas e membrana limitante interna), já que a retina externa (epitélio pigmentado, camada de fotorreceptores, membrana limitante externa, camada nuclear externa e camada plexiforme externa) é nutrida pelos vasos da coróide. A artéria central da retina, que é ramo da artéria oftálmica, divide-se em dois ramos temporais e dois nasais que vão se subdividindo ao longo do

seu trajeto em modo dicotômico. As veias retinianas acompanham a distribuição das artérias, compartilhando com estas a mesma adventícia nos cruzamentos arteriovenosos. Os capilares retinianos têm como principal característica o fato de não apresentarem fenestrações e possuem *zonulae occludens* ligando as suas células endoteliais, constituindo a barreira hematorretiniana interna. Outra característica importante é a presença de pericitos recobrimdo cerca de 60% da superfície externa dos capilares, sendo estas células de fundamental relevância na fisiopatologia da retinopatia diabética (RD) (DANTÉS; SIQUEIRA, 2004).

Topograficamente, a área central da retina é denominada de região macular e é composta pela fóvea, parafóvea e perifóvea, medindo aproximadamente 5,5 mm de diâmetro, localizada entre as arcadas vasculares temporais. A fóvea subdivide-se em umbo, foveóla e clivus. A foveóla é a área com melhor acuidade visual (AV) da retina, mesmo correspondendo a somente 1° grau do campo visual. Isto se dá devido à presença única de cone e por sua natureza avascular. A parafóvea consiste em um cinturão de 0,5 mm de largura que circunda a fóvea, e a perifóvea é um anel de 1,5 mm de largura em torno da primeira.

A periferia retiniana aumenta o campo visual se dividindo, classicamente, em quatro zonas: a periferia próxima ao pólo posterior (1,5 mm), a média periferia (3 mm), a periferia afastada (9 a 10 mm do lado temporal e 16 mm do lado nasal) e a ora serrata (2,1 mm do lado temporal e 0,8 mm do lado nasal) (DUKE-ELDER, 1961).

Na anatomia microscópica, a retina é dividida em 10 camadas: epitélio pigmentado, camada de fotorreceptores, membrana limitante externa, camadas nuclear externa, plexiforme externa, nuclear interna, plexiforme interna, de células ganglionares, de fibras nervosas e membrana limitante interna.

O **epitélio pigmentado da retina (EPR)** é composto por uma camada única de células poligonais nas secções horizontais e cuboidais nas transversais, unidas por complexos juncionais ou unitivos, principalmente na sua parte apical, formando uma barreira à difusão entre a coróide e retina, que é uma das principais funções do EPR, além do transporte de íons, água e

metabólitos, fagocitose dos segmentos externos dos fotorreceptores eliminados, podendo ainda estar envolvido na modulação da imunidade intraocular e remoção de debris da retina. A superfície basal apresenta numerosas invaginações cobertas por uma membrana basal aumentando sua área de contato e sugerindo função de transporte celular, enquanto que a superfície apical é coberta por muitos processos que se estendem entre os segmentos externos dos fotorreceptores (DANTAS, 2002).

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). Apresenta, ainda, 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).

A **camada de fotorreceptores** é constituída pelos segmentos externos dos bastonetes e cones que são os dois tipos de células fotorreceptoras presentes nos vertebrados.

Os cones trabalham em condições ditas fotópicas ou de iluminação intensa e os bastonetes com pouca luminosidade ou escotópicas. Admite-se que existam três tipos de cones, segundo o espectro de absorção da luz pelos pigmentos encontrados nos seus segmentos externos: os verdes, vermelhos e azuis.

Tanto os cones como os bastonetes apresentam um segmento externo e outro interno com um cílio conector do tipo não vibrátil que se estende da base do segmento externo ao segmento interno, onde se distinguem duas zonas principais: elipsoide, mais externa e rica em mitocôndrias e a mioide, mais interna e rica em ribossomos livres e retículo endoplasmático. Histologicamente, os bastonetes têm segmentos externos longos e

terminações esféricas e pequenas, enquanto que os cones possuem segmentos externos curtos e internos longos.

A **membrana limitante externa** não é uma membrana verdadeira e sim um complexo juncional que une as células de Müller aos fotorreceptores, observada à microscopia eletrônica.

A **camada nuclear externa** é formada pelos núcleos das células fotorreceptoras. Os núcleos dos bastonetes são mais numerosos do que os cones, exceto na fóvea, e distribuem-se em várias camadas. A camada nuclear externa é mais espessa na região foveal, onde apresenta aproximadamente 10 fileiras de núcleos de cones, se tornando progressivamente mais fina em direção à periferia.

A **camada plexiforme externa** é o local onde os axônios dos bastonetes e cones entram em sinapses com os dendritos das células bipolares e os processos horizontais. Possui espessura aproximada de 20 a 30 micra, sendo mais espessa na região macular onde é chamada de camada de fibras de Henle, podendo ser dividida em três zonas: uma externa, contendo fibras dos bastonetes, cones e processos das células de Müller, uma média formada pelas esférulas dos bastonetes e pedículos dos cones e uma interna com os processos das células horizontais, bipolares e de Müller.

A **camada nuclear interna** contém os núcleos dos neurônios bipolares, amácrinas, horizontais e das células de sustentação de Müller.

A **camada plexiforme interna** consiste nos processos das células amácrinas, axônios das células bipolares e dendritos das células ganglionares. Alguns núcleos podem ser vistos ocasionalmente nesta região e representam os corpos celulares deslocados das células ganglionares e amácrinas, sendo o restante preenchido pelas células de Müller.

A **camada de células ganglionares** é composta pelos núcleos ganglionares que representam o terceiro neurônio da via óptica, podendo ser divididas histologicamente em dois tipos: células ganglionares com redes dendríticas difusas que se espalham em toda a camada plexiforme interna e as com redes estratificadas que se distribuem em um ou mais planos na camada plexiforme interna (BOYCOTT; DOWLING, 1969). As células ganglionares são

neurônios que coletam toda a informação visual processada na retina e a enviam ao cérebro.

A **camada de fibras nervosas** é formada pelos axônios das células ganglionares constituindo o nervo óptico e distribuídas em feixes amielínicos paralelos à superfície retiniana, sendo que entre estes existem numerosas células neurogliais e fileiras de células de Müller.

A **membrana limitante interna** é uma membrana basal verdadeira. À microscopia eletrônica é possível observar que os processos das células de Müller e algumas células gliais compreendem o término celular da retina, propriamente dita.

1.2 Retinopatia Diabética

A RD pode ser definida como o conjunto de alterações que ocorrem na retina e em sua microcirculação, decorrentes da patogenia diabética. É a complicação mais comum do diabetes mellitus (DM) crônico, sendo responsável por aproximadamente 10.000 novos casos de cegueira a cada ano nos Estados Unidos da América (EUA) (FONG et al., 2004).

A RD possui caráter crônico e progressivo culminando em alterações como o aumento da permeabilidade vascular e a não perfusão tecidual, levando, nos estágios mais avançados, à severa isquemia retiniana e proliferação vascular patológica (AIELLO et al., 1998).

Apesar de o edema macular diabético (EMD) ser a principal causa de diminuição da AV (KLEIN et al., 1984), a forma proliferativa da RD é que se relaciona com mais frequência à perda visual grave, devido a eventos oculares que levam à cegueira irreversível, como a isquemia macular e o descolamento tracional de retina (ETDRS RESEARCH GROUP, 1991c).

A retinopatia diabética proliferativa (RDP) afeta cerca de 10 a 20% dos pacientes diabéticos, sendo caracterizada pela presença da neovascularização (KOHNER, 1993), processo que depende da produção local de fatores angiogênicos e componentes da matriz extracelular, que será substrato para a

migração endotelial. O fator de crescimento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor* - VEGF) é um potente indutor da angiogênese e permeabilidade vascular, estando fortemente relacionado à fisiopatologia da RDP (KECK et al., 1989; SENGER et al., 1983).

A função do VEGF como mediador de neovascularização retiniana tem sido demonstrada em vários estudos. Níveis aumentados foram encontrados na retina e no vítreo de pacientes e animais laboratoriais com retinopatias isquêmicas, inclusive a diabética (ADAMIS et al., 1994; AIELLO et al., 1994; MALECAZE et al., 1994).

A fotocoagulação a laser foi a primeira modalidade descrita para o tratamento da RDP, sendo ainda considerada o tratamento padrão para a neovascularização retiniana. Entretanto, em alguns casos, a regressão total dos neovasos não ocorre após este procedimento, e a esse evento se dá o nome de neovascularização retiniana persistente (NRP) (ETDRS RESEARCH GROUP, 1991a).

O ranibizumabe é uma molécula derivada do bevacizumabe, capaz de inibir a ação das diferentes isoformas do VEGF-A (van WIJNGAARDEN; COSTER; WILLIAMS, 2005), despertando grande interesse na confirmação do sucesso do seu uso na RDP com NRP, conforme já observado com o bevacizumabe (JORGE et al., 2006).

1.2.1 Epidemiologia

O número de indivíduos diabéticos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, fruto de uma associação entre predisposição genética e fatores ambientais como alta ingestão calórica, sedentarismo e envelhecimento populacional (CECIL; GOLDMAN; BENNEDET, 2007).

Acredita-se que a quantidade de pessoas portadoras de DM no mundo, estimada em 180 milhões no ano 2000, mais que dobrará no ano de 2030 (WHO, 2008). A Índia é o país com a maior população diabética, logo à frente da China e dos EUA, sendo denominada de “capital diabética do mundo”, em

decorrência do aumento em cinco vezes (de 2,1% para 12,1%) da prevalência desta patologia entre 1970 e 2000 (KING; AUBERT; HERMAN, 1998).

No Brasil, estima-se que 7,6% da população urbana entre 30 e 69 anos apresentem DM, sendo que 46% destes não têm conhecimento da doença (MALERBI; FRANCO, 1992). O DM é, ainda, responsável por 4,58% das deficiências visuais no país (SCHELLINI; SILVA, MRBM; SILVA, MAM, 1994) e considerado uma das principais causas de cegueira irreversível devido à RD, principal acometimento ocular desta enfermidade.

A RD é a principal causa de cegueira da população economicamente ativa no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996), e no mundo (KLEIN et al., 1984; SÁNCHEZ-THORIN, 1998). Nos EUA representa a principal causa de cegueira em pessoas com idade entre 20 e 74 anos, e cerca de 12% dos casos novos de cegueira legal (KLEIN, R; KLEIN, BEK, 2000).

Estima-se que, após 15 anos de doença, 80% dos portadores de DM tipo 2 e 97% dos DM tipo 1 apresentem algum grau de retinopatia (KLEIN et al., 1984; SILVA et al., 2005).

No Brasil, a prevalência da RD na população geral varia de 24% a 39,4%, de acordo com alguns estudos (ESCARIÃO et al., 2008; FOSS et al., 1989; RAMOS et al., 1999), sendo de 17,3% na população pediátrica, segundo estudo realizado em pacientes diabéticos do tipo 1 no Ambulatório de Endocrinologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo (PEREIRA et al., 2004).

Quanto ao tipo de RD, Escarião et al. (2008), em Pernambuco, encontraram prevalência de RDP de 2,6% na população urbana e 12,6% na rural. Garcia et al. (2003), em estudo retrospectivo, desenvolvido em Natal-RN, relataram prevalência de 7,15%, sendo 2,65% com RDP compensada. Já em Ribeirão Preto-SP, Souza, EV, Souza, NV e Rodrigues (2004) relataram 8% de pacientes com RDP, dados semelhantes aos de Hirata et al. (1986), que encontraram 9,4% no Ambulatório de Oftalmologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFM-USP).

1.2.2 Fisiopatologia

A RD é a manifestação retiniana de uma microangiopatia sistêmica generalizada e como as demais complicações do DM proveniente, principalmente, de um estado de hiperglicemia crônico.

Várias vias bioquímicas relacionam a hiperglicemia e as complicações microvasculares, entre elas, o acúmulo excessivo de sorbitol intracelular (produto da degradação da glicose pela enzima aldose-redutase), a glicosilação de colágeno da membrana basal endotelial, o estresse oxidativo e a ativação patológica da proteína Kinase C.

A inflamação crônica, também, parece exercer papel importante nas fases precoces da RD, após a constatação da adesão leucocitária no endotélio vascular retiniano desencadeando a morte de células endoteliais, extravasamento e oclusão vascular (DURHAM; HERMAN, 2011).

O espessamento da membrana basal e a perda dos pericitos são as alterações histopatológicas iniciais na RD (BLOODWORTH; ENGERMAN, 1973; BLOODWORTH; MOLITOR, 1965). A perda dos pericitos tem efeitos importantes como a fragilidade da parede vascular e perda do efeito inibitório sobre a proliferação das células endoteliais, o que levaria à formação de microaneurismas, hemorragias intrarretinianas, exsudação e, posteriormente, a alterações no fluxo sanguíneo e neovascularização retiniana (FRANK, 1994).

O espessamento da membrana basal, os danos e a proliferação das células endoteliais dos capilares, as alterações nas hemácias levando ao transporte ineficiente de oxigênio, o 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, cujas células passam a produzir fatores angiogênicos, dentre eles o VEGF. Em decorrência da hipóxia e consequente estímulo pelo VEGF, desenvolvem-se os *shunts* arteriovenosos associados a oclusões capilares significativas que seguem das vênulas para as arteríolas, denominados de IRMAs (anormalidades microvasculares intrarretinianas) e a

neovascularização, numa tentativa de revascularizar as áreas hipóxicas da retina (KOHNER, 1993).

É provável que a RDP seja consequência de um desequilíbrio entre fatores angiogênicos e antiangiogênicos, dentre esses, principalmente pelo aumento do VEGF e diminuição do fator derivado do epitélio pigmentar (PEDF), este último um potente inibidor da angiogênese (MATSUMOTO; TAKAHASHI; OGATA, 2002).

Os fatores angiogênicos agem no lado venoso do leito capilar e com a proliferação celular, ocorre a produção de collagenases e outras enzimas digestivas que dissolvem a membrana basal que envolve os capilares. As células estimuladas migram pelos espaços na parede dos vasos em direção ao estímulo angiogênico. Os neovasos crescem, inicialmente, dentro da retina e, em seguida, invadem a membrana limitante interna crescendo sobre a superfície retiniana e face posterior do vítreo descolado (GARNER, 2003; STANFORD, 2004).

A neovascularização vitreoretiniana estimula a fibroplasia e fibrose vítrea que progridem com o aumento do descolamento do vítreo posterior pela contração das membranas vítreas rasgando os delicados vasos sanguíneos. O resultado é a presença de hemorragias pré-retinianas e vítreas cuja organização induz mais fibrose e tração. Como o vítreo é mais aderido nas arcadas vasculares temporais, o descolamento macular acontece devido à contração dessa ponte fibrovascular, juntamente com a tração ântero-posterior da retina (GARNER, 2003; STANFORD, 2004).

1.2.3 Classificação

O processo patológico de progressão da RD está associado à formação de microaneurismas, ao aumento da permeabilidade vascular e à oclusão capilar.

Os microaneurismas são os primeiros sinais visíveis na RD, sendo definidos como pontos avermelhados variando de 15 µm a 60 µm de diâmetro e muitas vezes confundidos com hemorragias intrarretinianas profundas. Estão

localizados, principalmente, no polo posterior e são característicos da RD, apesar de serem encontrados também em outras patologias, como as oclusões venosas (RYAN, 2006).

Com o acréscimo do número de microaneurismas, ocorre o aumento da permeabilidade vascular resultando em edema, frequentemente na região macular. O EMD é o espessamento retiniano devido ao acúmulo de fluido localizado a um diâmetro de disco (DD) do centro da mácula (FERRIS; PATZ, 1984).

O EM, geralmente é acompanhado pela presença de exsudatos duros que são depósitos lipoprotéicos amarelados que refletem a quebra da barreira hematorretiniana interna. O edema macular clinicamente significativo (EMCS) é assim determinado quando apresenta: a) espessamento retiniano dentro de 500 μm do centro da mácula, ou b) exsudatos duros dentro de 500 μm do centro da mácula associados a espessamento retiniano adjacente ou c) área de espessamento retiniano de um DD e qualquer porção dessa área a um DD do centro da mácula (ETDRS RESEARCH GROUP, 1985; BROWNING et al., 2004).

Outra alteração clínica presente na fase não proliferativa da RD são as hemorragias intrarretinianas que podem ser superficiais quando localizadas na camada de fibras nervosas com formato de farpa e profundas, quando situadas nas camadas nuclear interna e plexiforme externa com aspecto arredondado e borrado (CORREA; EAGLE Jr, 2005).

O surgimento de manchas algodinosas, que são áreas focais de infarto da camada de fibras nervosas com bloqueio do fluxo axoplasmático normal, dilatação e tortuosidade vascular, anormalidades microvasculares intrarretinianas (IRMAs) e elevação da quantidade de hemorragias intrarretinianas, marcam a fase pré-proliferativa da RD.

A classificação da retinopatia diabética não proliferativa (RDNP) atualmente é baseada na classificação de Arlie House modificada (DRS, 1981a; ETDRS RESEARCH GROUP, 1991b):

- **RDNP leve:** pelo menos um microaneurisma, não chegando à definição de RDNP moderada;

- **RDNP moderada:** hemorragias e/ou microaneurismas piores que fotografia padrão 2A e/ou manchas algodinosas, veias em rosário ou IRMA, não chegando à definição de RDNP grave;
- **RDNP 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 (fotografia padrão 8A) em um ou mais quadrantes;
- **RDNP muito grave:** duas ou mais das características acima descritas na forma grave.

1.2.3.1 Retinopatia Diabética Proliferativa

A RDP caracteriza-se pela presença de neovasos, que, geralmente se originam de vênulas. Quando estão a menos de 1 DD do disco óptico ou se originam dele, são denominados neovasos do disco (NVD). Quando estão situados a mais de 1 DD do disco óptico recebem o nome de neovasos extradisciais (NVE). Os NVE quase sempre crescem em direção ou estão situados em áreas retinianas de não perfusão capilar (SHIMUZU; KOBAYASHI; MURAOKA, 1981).

A classificação da RDP se dá em relação ao risco de perda visual grave, conforme determinado abaixo:

- **RDP sem características de alto risco:** Caracteriza-se pela presença de NVE ou NVD menores que um quarto da área do disco ou hemorragia vítrea ou pré-retiniana com NVE menores que metade da área do disco óptico e sem NVD.
- **RDP com características de alto risco:** Caracteriza-se por NVDs maiores que um quarto da área do disco (fotografia padrão 10A) ou NVD associados à hemorragia vítrea ou pré-retiniana ou NVE maiores

que metade da área do disco associados à hemorragia vítrea ou pré-retiniana.

- **RDP avançada:** Presença de descolamento de retina tracional acometendo a mácula ou hemorragia vítrea que impeça a classificação da RDP.

Os neovasos crescem em áreas de menor resistência como o nervo óptico devido à ausência de membrana limitante interna e a face posterior do vítreo (McMEEL, 1971).

O curso natural dos neovasos segue uma sequência: a) proliferação vascular, crescimento na superfície retiniana, aumento de calibre e regressão; b) proliferação fibrovascular e contração vítrea, levando a hemorragias pré-retiniana e vítrea; c) distorção e descolamento tracional de retina; d) estabilização ou involução com diminuição das hemorragias, descolamento total do vítreo exceto nas áreas de adesão vitreoretiniana e atrofia retiniana.

Os olhos com RDP podem, ainda, apresentar neovascularização de íris e glaucoma neovascular (JOHN; SASSANI; EAGLE Jr, 1983).

1.2.4 Tratamento

1.2.4.1 Fotocoagulação a laser

A fotocoagulação a laser foi primeiramente realizada por Meyer-Schwickerath que achou a terapia ineficaz para o tratamento de quatro pacientes com retinopatia proliferativa avançada, porém observou a absorção parcial de exsudatos duros em um olho com circinata. A técnica empregada era a fotocoagulação direta dos neovasos na superfície retiniana, particularmente, aqueles que aparentavam ser a fonte de hemorragias vítreas (MEYER-SCHWICKERATH, 1960). Alguns anos depois, Aiello et al (1968) sugeriram o uso do laser de rubi obtendo melhores resultados no controle da doença proliferativa.

O primeiro estudo prospectivo que validou os benefícios da fotocoagulação a laser na RD foi o ensaio clínico multicêntrico, randomizado

(DRS), que entre 1972 e 1975 avaliou 1742 pacientes com RDNP severa e RDP com AV igual ou melhor que 20/100 em cada olho. Um olho foi designado para tratamento com laser e outro para controle. O resultado foi a diminuição do risco de perda visual grave em 50% nos olhos tratados, o que culminou com a mudança do protocolo do estudo em 1976, sendo iniciado o tratamento também no grupo controle (DRS, 1981b).

Após o DRS, ficaram evidentes as vantagens da terapia da fotocoagulação a laser nos pacientes com RDP com características de alto risco, porém surgiu a dúvida se o tratamento precoce para os estágios menos avançados da doença traria resultados positivos. Deste modo, foi criado o Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) Research Group, que tinha como um dos seus objetivos responder a essa questão (ETDRS RESEARCH GROUP, 1991a). Nesse estudo foram avaliados 3.711 pacientes portadores de RDNP leve a grave e RDP sem características de alto risco, com e sem EM. Foram excluídos pacientes com RDP de alto risco e AV menor que 20/200. Um olho de cada paciente foi randomizado para panfotocoagulação imediata, enquanto o outro apenas observado. Este último foi tratado quando a RD progrediu e apresentou características de alto risco. A comparação entre o grupo submetido à panfotocoagulação precoce e o de observação mostrou discreta redução na incidência de perda visual grave nos olhos tratados. Entretanto, as taxas de perda visual grave em cinco anos foram similares nos dois grupos. Em olhos com RDNP leve a moderada, cujas taxas de progressão para perda visual grave foram ainda menores, os efeitos colaterais inerentes ao tratamento não justificavam o início do tratamento precoce com panfotocoagulação. Por outro lado, em olhos com RDNP grave ou RDP inicial, os riscos do tratamento precoce seriam justificados pela maior possibilidade de progressão para RDP de alto risco (ETDRS RESEARCH GROUP, 1991a). A segurança e eficácia da fotocoagulação macular (focal e/ou em grade) para o tratamento do EMD também foram demonstradas pelo grupo de pesquisadores do ETDRS.

A fotocoagulação a laser é o tratamento padrão para a RDP, sendo a técnica “full scatter” a mais aceita e usada. A forma de aplicação da

panfotocoagulação, segundo o ETDRS, sugere 1.200 a 1.600 disparos de moderada intensidade com 500 micras de diâmetro e tempo de duração de 0,1 segundos. Emprega-se, nesses casos, tratamento a partir do polo posterior até ou além do equador aproximadamente em dois episódios (ETDRS RESEARCH GROUP, 1987). A ideia de aplicação do laser sobre a neovascularização de disco foi abandonada, pelo consernimento de danos diretos ao nervo óptico. Apesar de a fotocoagulação a laser ser benéfica e reduzir o risco de perda visual grave, é um procedimento doloroso e destrutivo, que frequentemente leva a algumas complicações como diminuição do campo visual periférico, alteração na visão de cores e na visão noturna e aumento do risco de EM (ETDRS RESEARCH GROUP, 1991b; SCHMIDINGER et al., 2011).

Aproximadamente 60% dos pacientes tratados com a fotocoagulação a laser do tipo *scatter* apresentam regressão completa dos neovasos num período de três meses, quando isto não acontece é denominada de NRP, conforme já relatado. Muitos pacientes necessitam de tratamento adicional com laser e 4,5% evoluem para vitrectomia posterior via *pars plana* a despeito desse tratamento (FLYNN et al., 1992).

Acredita-se que a panfotocoagulação retiniana leva à recuperação dos níveis de po_2 na retina hipóxica, pela diminuição do consumo de O_2 pela retina externa com melhora da oxigenação difundida pela coroide. Nas áreas tratadas com LASER, pode ser observada a diminuição da expressão do VEGF, mediador da neovascularização retiniana (SCHILINGEMANN; van HINSBERGH, 1997).

1.2.4.2 Drogas anti-VEGF

O VEGF é uma glicoproteína de 45-kDa com grande poder angiogênico e indutor da permeabilidade vascular, sendo 50.000 vezes mais potente que a histamina (LUTTY et al., 1996). Apresenta vários subtipos: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D e VEGF-E. Nos seres humanos, quatro isoformas de VEGF-A foram identificadas (VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉ e VEGF₂₀₆), com variação no número de aminoácidos que compõem a molécula. Muitos tipos celulares são

capazes de produzir VEGF, como fibroblastos, células endoteliais, macrófagos e queratinócitos. Na retina, o VEGF tem sua expressão aumentada pela hipóxia em células gliais, como demonstrado em células de Müller e astrócitos de retinas de ratos (SUEISH et al., 1996), e em pericitos, células endoteliais e do epitélio pigmentar da retina (EPR) humana cultivadas em laboratório (AIELLO et al., 1995; SHIMA et al., 1995). Especialmente nos diabéticos, o VEGF foi identificado nas células de Müller e gliais na porção anterior do nervo óptico (AMIN et al., 1997).

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 correceptores do VEGF (ZACHARY et al., 2009).

No diabetes, 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 às 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. O VEGF atua estimulando o estreitamento do lúmen capilar por hipertrofia das células endoteliais, contribuindo, dessa forma, para o fechamento capilar (HOFMAN et al., 2001). Na RDP, o VEGF atua sinergisticamente com outros fatores de crescimento, mas é o fator necessário e suficiente para induzir a neovascularização retiniana e de íris em modelos experimentais (WITMER et al., 2003).

1.2.4.2.1. Pegaptanibe

O pegaptanibe sódico (Macugen; EyeTech Pharmaceuticals/Pfizer Inc, New York, USA) foi a primeira droga antiangiogênica aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para uso oftalmológico. Trata-se de um aptâmero de

ácido ribonucleico ligado a moléculas de polietileno glicol de 20-kD com capacidade de bloquear especificamente a isoforma 165 do VEGF-A.

Dois estudos randomizados duplo-cegos conhecidos como V.I.S.I.O.N. (*VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization*) demonstraram a segurança e efetividade do pegaptanibe na degeneração macular relacionada à idade (DMRI) neovascular. Nesses estudos foram avaliados 1186 indivíduos com qualquer subtipo de DMRI neovascular à angiofluoresceinografia, evidenciando que 70% dos pacientes que receberam injeções intravítreas com 0,3 mg da medicação apresentaram perda menor que 15 letras na AV após o período de um ano (GRAGOUDAS et al., 2004).

O Macugen Diabetic Retinopathy Study Group testou a segurança e eficácia do pegaptanibe no EMD em um estudo fase II randomizado, duplo-cego e controlado com placebo, envolvendo 172 indivíduos. Respectivamente, para o grupo tratado com a dose de 0,3 mg e o grupo placebo, a proporção de pacientes que ganharam dez ou mais letras na AV foi de 34% contra 10%; a redução média na espessura central da retina de 68 μm contra aumento de 4 μm e a proporção de pacientes necessitando de fotocoagulação subsequente de 25% contra 48% (CUNNINGHAM et al., 2005). Além disso, a análise retrospectiva de subgrupos revelou que o tratamento com pegaptanibe levou à regressão da neovascularização de retina em oito de 13 pacientes com RDP (ADAMIS et al., 2006).

Outro estudo aberto, randomizado, comparando pegaptanibe intravítreo com panfotocoagulação retiniana em RDP demonstrou que a droga foi capaz de induzir rápida regressão dos neovasos de retina em curto prazo (GONZÁLEZ et al., 2009).

O pegaptanibe também foi utilizado no EM secundário à oclusão de ramo venoso e veia central da retina. Os resultados observados foram favoráveis ao ganho de letras na AV e redução da espessura macular na tomografia de coerência óptica (OCT) (WROBLEWSKI et al., 2009).

1.2.4.2.2 Bevacizumabe

O bevacizumabe (Avastin®, Genentech, South San Francisco, CA, USA) é um anticorpo recombinante, monoclonal, humanizado, produzido por tecnologia de DNA recombinante em um sistema de expressão em célula de ovário de Hamster Chinês, direcionado ao VEGF circulante, capaz de inibir todas as suas isoformas, bloqueando a interação VEGF receptor (DORREL et al., 2007). É constituído por 214 aminoácidos e tem peso molecular de aproximadamente 149.000 daltons.

Após os resultados de uma série de estudos clínicos fase II e III, o medicamento foi aprovado em 26 de fevereiro de 2004, pelo FDA norte-americano, para o tratamento de câncer metastático de cólon, associado à quimioterapia baseada no 5-fluouracil, passando a constituir a primeira droga antiangiogênica aprovada para uso em humanos (KABBINAVAR et al., 2003)

O bevacizumabe obteve aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como antineoplásico e, segundo a indicação na bula, em combinação com quimioterapia a base de fluoropirimidina, é indicado para tratamento de primeira-linha de pacientes com carcinoma metastático do cólon ou reto.

Os primeiros relatos da utilização do bevacizumabe no tratamento de patologias coroidianas e retinianas, por meio de injeção intravítrea, datam de agosto de 2005 (ROSENFELD; MOSHFEGHI; PULIAFITO, 2005ab). Em um caso de neovascularização de coroide em paciente com degeneração macular relacionada à idade e um caso de EM em paciente com oclusão da veia central da retina, observou-se melhora clinicamente significativa (>3 linhas do ETDRS) na AV e completa restauração da arquitetura retiniana normal no período de quatro semanas, após única injeção intravítrea de 1.0 mg de bevacizumabe, sem constatação de eventos adversos no período. Desde então, diversas doenças da retina já foram tratadas alternativamente com bevacizumabe intravítreo, incluindo casos de neovascularização de coroide, RDP e EMD (AVERY et al., 2006; COSTA et al., 2006; JORGE et al., 2006).

Na RDP, vários estudos evidenciaram o benefício do uso do Bevacizumabe com rápida regressão dos neovasos retinianos e de íris após

uma única injeção intravítrea de 1,25 mg (AVERY et al., 2006; MINELLA et al. 2008). 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 de a AV não ter sofrido mudança significativa em relação ao grupo com tratamento convencional (fotocoagulação a laser) (TONELLO et al., 2008). Foi observada ausência de vazamento à angiofluoresceinografia em 100% dos olhos com NRP secundária à RDP seis semanas após a administração de 1,5 mg de bevacizumabe intravítreo, embora uma semana após o uso do antiangiogênico já houvesse redução significativa (JORGE et al., 2006).

Apesar de a dose de bevacizumabe, comumente administrada, ser em torno de 1,25 mg, doses menores podem também induzir regressão dos neovasos de disco e retina em RDP (STERGIOU; SYMEONIDIS; DIMITRAKOS, 2009).

1.2.4.2.3. 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 todas as isoformas do VEGF. Estudos demonstraram que o ranibizumabe é um potente inibidor da angiogênese e permeabilidade vascular (LOWE et al., 2007).

Esta droga foi obtida a partir da fragmentação do Bevacizumabe, com redução do seu peso molecular para 58 KDa. Em teoria, o Bevacizumabe não atravessaria a membrana limitante interna da retina neurosensorial devido ao seu alto peso molecular. Sendo assim, o ranibizumabe teria maior penetração e ação, alcançando níveis significativos de concentração no espaço subretiniano e coroidiano (MORDENTI et al., 1999).

Diferentemente do bevacizumabe, o ranibizumabe foi aprovado pelo FDA para uso oftalmológico no tratamento da DMRI exsudativa. No começo de 2005, a Genentech anunciou os resultados do ensaio clínico randomizado fase III MARINA (*minimally classic CNV ou occult CNV lesions em 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, 2006a). 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 (definida 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; ANCHOR), outros estudos com injeções menos frequentes de ranibizumabe foram realizados (PIER, PrONTO, SAILOR) (ROSENFELD et al., 2006b), respaldando cada vez mais o uso desse agente antiangiogênico para casos de DMRI neovascular.

Em relação à RD em uma série de 10 casos de EMD, cinco pacientes tratados mensalmente com a administração de três doses de ranibizumabe, ganharam mais que 15 letras da tabela do ETDRS, cinco mais que 10 letras da mesma tabela e oito mais que uma letra na AV (CHUN et al., 2006).

O Retinopathy Clinical Research Network (DRCRnet), reuniu 854 olhos (691 pacientes), comparando os efeitos na AV e espessura macular central (EMC) em pacientes com EMD, tratados com: 1) injeção simuladora + laser focal/*grid*; 2) ranibizumabe IV seguido de laser focal/*grid*; 3) ranibizumabe IV + laser focal/*grid* a partir de 24 semanas; 4) triancinolona IV seguida de laser focal/*grid*. Esse estudo mostrou que, nos dois grupos tratados com ranibizumabe, houve melhora significativa da visão, se comparados aos outros grupos. A redução da EMC foi similar nos grupos de ranibizumabe e

triancinolona; e superior, comparando-se os casos tratados somente com o laser.

Em conclusão, a terapia combinada de ranibizumabe e laser mostrou ser mais efetiva no tratamento do EMD em um ano de seguimento, quando comparada com o laser sozinho. Entre um e dois anos de seguimento, os resultados das AVs se mantiveram estáveis. Em olhos pseudofácicos, a triancinolona seguida de laser mostrou melhora da AV comparável aos grupos de ranibizumabe, porém aumentou o risco de elevação da pressão intraocular (DRCR NETWORK, 2010).

Diante da eficácia dos antiangiogênicos na RD e, principalmente, após as evidências de controle da NRP secundária à RDP com o uso do bevacizumabe intravítreo, este estudo propõe comprovar os efeitos do ranibizumabe intravítreo, também, no tratamento da NRP secundária à RDP.

2. Objetivos

Os objetivos deste estudo foram:

2.1 Geral

Avaliar os efeitos do uso intravítreo do ranibizumabe no tratamento de pacientes portadores de NRP secundária à RDP.

2.2 Específicos

- Quantificar a área total de vazamento dos neovasos na angiofluoresceinografia;
- Verificar a mudança na melhor AV corrigida;
- Verificar os efeitos sobre a ESMC pela OCT.

3. Casuística e Métodos

3.1 Desenho do estudo

Foi realizado estudo prospectivo, não randomizado, aberto, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), Processo nº 10770/2008 (Anexo 1), assim como o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2).

3.2 Elegibilidade dos pacientes e avaliação inicial

Todos os pacientes atendidos no Setor de Retina e Vítreo do Ambulatório de Oftalmologia do HCFMRP-USP, entre setembro de 2008 e julho de 2009, foram convidados a participar do estudo desde que apresentassem os seguintes critérios de inclusão:

- idade acima de dezoito anos;
- RDP com características de alto risco para perda visual grave, já tratada com panfotocoagulação a laser do tipo “full scatter”, há pelo menos quatro meses, e com NRP ativa definida como vasos de retina finos com dilatações saculares ou extremidades cobertas com sangue ou associados com hemorragia vítrea recorrente, ou acompanhados de pequena fibrose, ou com aumento na sua extensão comparada à última avaliação;
- melhor acuidade visual corrigida (MAVC) em logaritmo do menor ângulo de resolução visual (LogMAR) (ETDRS) de 0,2 (em equivalente Snellen igual a 20/32) ou inferior.

Os pacientes eram excluídos do estudo se possuísem qualquer uma das seguintes características:

- história de vitrectomia no olho estudado;
- história de evento tromboembólico (incluindo infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral);

-
- cirurgias realizadas antes de seis meses ou programada dentro do período de 28 dias após o procedimento inicial do estudo;
 - hipertensão arterial sistêmica descontrolada (pressão arterial diastólica >90 mmHg e/ou pressão arterial sistólica >140 mmHg, em conformidade com os critérios estabelecidos pelo *Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure* (CHOBANIAN et al., 2003; [JNC-7]);
 - distúrbios de coagulação ou uso de medicação anticoagulante, com exceção do ácido acetil salicílico;
 - hemorragia vítrea que impedisse a documentação do fundo de olho na avaliação de entrada;
 - tratamento com radiação ionizante na região da face, do crânio e pescoço;
 - alergia à fluoresceína;
 - uso conhecido e abusivo de álcool ou drogas;
 - condições médicas ou psicológicas que impedissem o paciente de concluir o estudo ou assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
 - participação em outro estudo clínico.

A avaliação inicial consistia de exame oftalmológico completo, incluindo anamnese, medida da MAVC em LogMAR com tabelas do ETDRS (Tabelas 1 e 2), tonometria de aplanção (utilizando-se tonômetro de Goldmann) e exame biomicroscópico em lâmpada de fenda. Após dilatação medicamentosa da pupila, foram realizadas avaliação do cristalino (utilizando-se Lens Opacities Classification System III), biomicroscopia do fundo de olho com lente de 78 dioptrias e oftalmoscopia binocular indireta com lente de 20 dioptrias. Os pacientes ainda foram submetidos à dosagem laboratorial da hemoglobina glicosilada (HbA1c) e aos exames de imagem de retinografia colorida, aneritra, angiofluoresceinografia (TRC-50IA; Topcon, Tóquio, Japão) e OCT (Stratus OCT3; Carl Zeiss Meditec, Dublin, Califórnia, USA).

A angiofluoresceinografia foi realizada após a injeção de 2,5 ml de fluoresceína a 20% na veia antecubital utilizando-se técnica padronizada em ambos os olhos, com enfoque no olho de estudo. As imagens para comparação foram obtidas entre um minuto e meio e dois minutos e meio após a injeção do contraste para avaliação da localização e do tamanho da área de atividade neovascular. A quantificação da área de NV foi mensurada por um *software* específico (IMAGEnet 2000, Topcon, Tóquio, Japão), delimitando em mm² a área total de vazamento de fluoresceína.

A avaliação tomográfica (Stratus, OCT3; Carl Zeiss Meditec, Dublin, Califórnia, USA) consistiu na aquisição de seis tomogramas (*B-scans*) lineares de alta densidade (512 *A-scans* por tomograma) medindo 6,00 mm em extensão orientados em intervalos regulares de 30° e centrados na região central macular. Para minimizar possíveis vieses inerentes ao algoritmo de delineamento automático do *software* do aparelho, a delimitação automática dos limites internos e externos da retina neurosensorial em cada um dos seis tomogramas adquiridos era verificada em separado pelo protocolo de análise *retinal thickness (single eye)* ao final do exame, e imagens adicionais eram obtidas caso fossem verificados erros de delineamento (COSTA et al., 2004). Ao término das avaliações, o valor da espessura do subcampo macular central, gerado automaticamente pelo aparelho, era anotado. A espessura do subcampo central da mácula (*central subfield macular thickness, CSMT*) consiste no valor médio da espessura retiniana obtida a partir de todos os *A-scans* dentro de uma área de 1000 µm de diâmetro centrada na região central macular.

Se ambos os olhos fossem eleitos para o estudo, apenas o olho com pior AV era incluído e o olho contralateral era submetido à panfotocoagulação a laser adicional. Todos os 22 pacientes foram esclarecidos verbalmente e por escrito sobre os riscos e benefícios do procedimento em estudo e somente foram incluídos após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.3 Procedimentos de Tratamento

O tratamento foi realizado até sete dias após a avaliação inicial. Em ambiente cirúrgico e em condições estéreis (campo cirúrgico, blefarostato e solução de iodopovidona), todos os pacientes receberam uma injeção intravítrea de 0,5 mg (0,05 ml) de ranibizumabe, utilizando-se agulha de seringa descartáveis 29 gauge 1/2- inch (BDUltra-fine®; BD Biosciences, Fraklin Lakes, NJ), via *pars plana* na região temporal superior 3,00 mm posterior ao limbo em olhos pseudofácicos e 3,50 mm posterior ao limbo em olhos fácicos e sob anestesia tópica. Após a injeção, a perfusão da artéria central da retina foi realizada com oftalmoscopia indireta, considerando-se a paracentese de câmara anterior nos casos de má perfusão. Após a aplicação, os pacientes foram orientados a utilizar colírio antibiótico de ciprofloxacina 0,3%, na frequência de quatro vezes ao dia durante uma semana.

3.4 Seguimento, Retratamento e Variáveis do Estudo

As visitas de seguimento foram programadas nas semanas 1, 6, 12 (± 1), 24 (± 2), 36 (± 2) e 48 (± 2), após o primeiro procedimento de tratamento intravítreo com ranibizumabe. Em todas as visitas, os pacientes foram submetidos às mesmas avaliações realizadas na visita inicial (MAVC, exame oftalmológico completo, retinografia colorida, angiografia com fluoresceína e OCT).

Após a semana 12, os pacientes foram retratados com nova injeção intravítrea de 0,5 mg de ranibizumabe, quando era observada a presença de neovascularização ativa na angiofluoresceinografia, e submetidos à fotocoagulação a laser macular focal ou *grid*, se observado EM clinicamente significativo ou ESMC maior que 300 μm , caso ainda não tivesse sido realizada por completo.

Os efeitos adversos locais e sistêmicos foram monitorados durante todo o período de acompanhamento, como condições da lente (lente intraocular ou cristalino) e pressão intraocular.

Os efeitos do tratamento com ranibizumabe intravítreo foram avaliados de três maneiras: 1) medida em mm^2 da área total de vazamento da fluoresceína proveniente de neovasos ativos; 2) mudanças na MAVC em LogMAR; 3) efeitos sobre a ESMC na OCT medidos em μm .

3.5 Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada pelo método de MANOVA, adotando-se como valor significativo $p < 0,05$

4. Resultados

Vinte e dois pacientes foram incluídos no estudo, sendo 13 homens (59%) e 9 (41%) mulheres. A média \pm desvio padrão (DP) da idade foi de 61 ± 8 anos (mediana de 62; variação de 31-69 anos). O tempo médio de duração \pm DP do diagnóstico de DM foi 19 ± 9 anos (mediana de 16; variação de 4-40 anos). Vinte e um pacientes (95%) tinham DM do tipo II e apenas um paciente apresentava níveis de HbA1c abaixo de 7%. Dos 22 participantes do estudo somente 19 completaram as 48 semanas, sendo que dos 3 pacientes excluídos, dois perderam seguimento e um faleceu de causa desconhecida. O resumo das principais características dos pacientes está apresentado nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Características dos pacientes com retinopatia diabética proliferativa com neovascularização de retina persistente tratados com ranibizumabe intravítreo.

Pacientes	Sexo	Diabetes Melito Tipo	Idade (anos)	Duração (anos)	HbA1C (%)
1	M	II	58	4	8.9
2	M	II	55	25	8.1
3	M	II	61	20	9.8
4	M	II	53	15	7.3
5	M	II	72	30	10.2
6	F	II	62	23	10.3
7	M	II	56	15	8.3
8	M	I	31	16	10.4
9	F	II	67	10	12.7
10	M	II	59	15	7.8
11	M	II	68	14	10.3
12	M	II	64	23	11.6
13	M	II	61	20	10.0
14	M	II	56	30	10.6
15	F	II	65	30	9.6
16	F	II	68	40	12.1
17	F	II	62	10	7.6
18	F	II	60	10	6.0
19	M	II	69	10	8.2
20	F	II	62	29	10.7
21	F	II	62	15	8.1
22	F	II	61	14	7.9

HbA1C = hemoglobina glicosilada.

Tabela 2. Características clínicas: área total de neovasos ativos (medida em mm²) pela angiofluoresceinografia, melhor acuidade visual corrigida (valor do logaritmo do menor ângulo de resolução visual com tabelas do ETDRS) e espessura do subcampo macular central (medida em µm), observadas na visita inicial e durante as 48 semanas do período de estudo.

Pacientes	Área de vazamento total dos neovasos ativos							MAVC							ESMC						
	Visita inicial	Sem 1	Sem 6	Sem 12	Sem 24	Sem 36	Sem 48	Visita inicial	Sem 1	Sem 6	Sem 12	Sem 24	Sem 36	Sem 48	Visita inicial	Sem 1	Sem 6	Sem 12	Sem 24	Sem 36	Sem 48
1	7,55	0	0,82	8,01	7,08	4,44	4,37	0,3	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	116	126	124	116	116	118	116
2	4,47	0	1,34	3,24				0,7	0,7	0,6	0,6				135	144	133	144			
3	3,44	0	0	5,14	4,7	7,24	5,14	0,6	0,6	0,5	0,6	0,7	0,7	0,6	437	373	364	497	475	450	611
4	2,88	0	0,21	0,31	0,51	0,52	0,56	1,6	1,2	1,0	1,3	1,0	1,0	0,8	672	320	553	673	529	196	191
5	10,64	0	0	5,34	0,89	1,21	0,2	0,4	0,5	0,5	0,4	0,5	0,4	0,7	415	418	394	421	421	410	414
6	1,03	0	0	1,37	1,43			1,3	1,0	1,0	1,0	1,0			197	173	188	150	179		
7	25,12	0	0	6,06	6,2	7,1	2,5	0,8	0,8	0,9	0,9	1,0	1,0	1,6	371	425	363	392	306	421	348
8	1,34	0	0	0,46	0,37	0,26	0,25	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	237	236	224	232	222	224	247
9	2,16	0	0,21	2	2,57	2,21	1,94	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	215	204	197	209	201	201	208
10	0,26	0	0	0	0,8	0	0,54	0,5	0,3	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3	185	192	197	197	201	192	187
11	0,77	0	0	1,29	1,35	0,91	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	191	184	186	184	189	192	192
12	0,1	0	0	0	0	0,7	0	0,7	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	287	283	203	212	221	247	203
13	1,13	0	0	0,72	1	0,47	0,47	0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4	0,4	255	230	249	265	312	239	239
14	7,09	0	0	6,22	7,8	2	3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	215	190	182	207	224	219	231
15	0,67	0	0	0	0	0	0,42	0,7	0,8	0,9	0,9	1,0	0,9	0,8	163	160	187	177	176	185	188
16	2,67	2,52	0,98	0,77	3,5	2	0,8	1,6	1,5	1,5	1,5	1,5	1,3	1,5	542	267	302	392	266	227	217
17	4,37	0	0	0,41	0,4	0,4	0,37	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	275	218	209	212	203	188	172
18	8,53	0	1	1,28	2	2	2	0,7	0,6	0,6	0,7	0,6	0,5	0,7	190	152	198	196	197	198	199
19	12,28	0	0	0,9	1	2	3,26	1,2	1,1	1,0	0,9	1,0	1,1	0,9	823	484	500	566	363	289	199
20	4,01	0	1,08	1,39				0,7	0,7	0,7	0,7				263	232	230	206			
21	3,75	0	0	0	0	0	0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	384	380	249	252	246	239	298
22	2	0	0	0,36	0	0,6	1	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	186	174	162	170	170	162	170

ETDRS: *Early treatment diabetic retinopathy study*; Sem: semana; MAVC: melhor acuidade visual corrigida; ESMC: espessura do subcampo macular central.

4.1 Área de vazamento da fluoresceína

Na avaliação inicial, a média \pm erro-padrão da média (EPM) da área de vazamento de fluoresceína da neovascularização retiniana ativa foi de $4,8 \pm 1,2$ mm^2 e diminuiu significativamente para $0,1 \pm 0,1$ mm^2 ($p=0,0009$); $0,3 \pm 0,1$ mm^2 ($p=0,0011$); $2,1 \pm 0,5$ mm^2 ($p=0,0113$); $2,1 \pm 0,5$ mm^2 ($p=0,0254$); $1,79 \pm 0,5$ mm^2 ($p=0,0097$) e $1,42 \pm 0,36$ mm^2 ($p=0,0103$) nas semanas 1, 6, 12, 24, 36 e 48, respectivamente.

Foi observado vazamento de contraste na angiofluoresceinografia em somente um paciente na semana 1, em sete na semana 6, em dezoito na semana 12, em dezesseis na semana 24, em dezesseis na semana 36 e em dezessete na semana 48. Assim, dezoito pacientes foram retratados com injeção intravítrea de ranibizumabe na semana 12, dezesseis na semana 24 e dezesseis na semana 36.

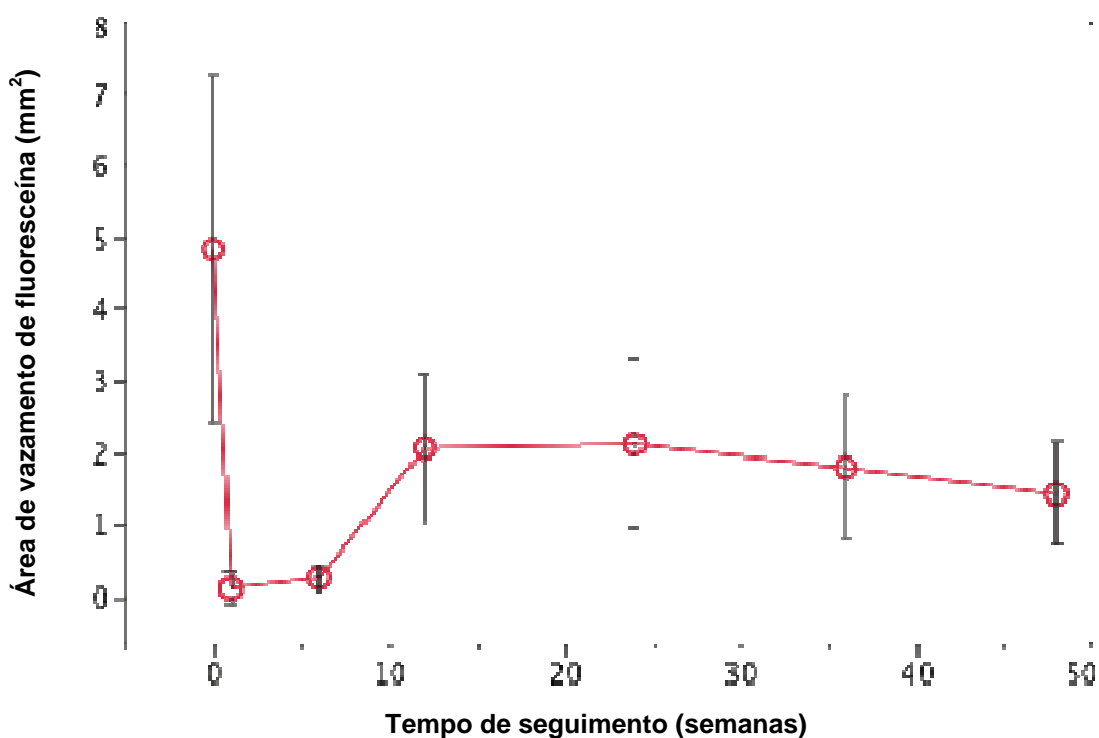


Figura 1- Comportamento da área de vazamento de fluoresceína (média \pm EPM), decorrente de neovasos ativos durante todos os períodos do estudo.

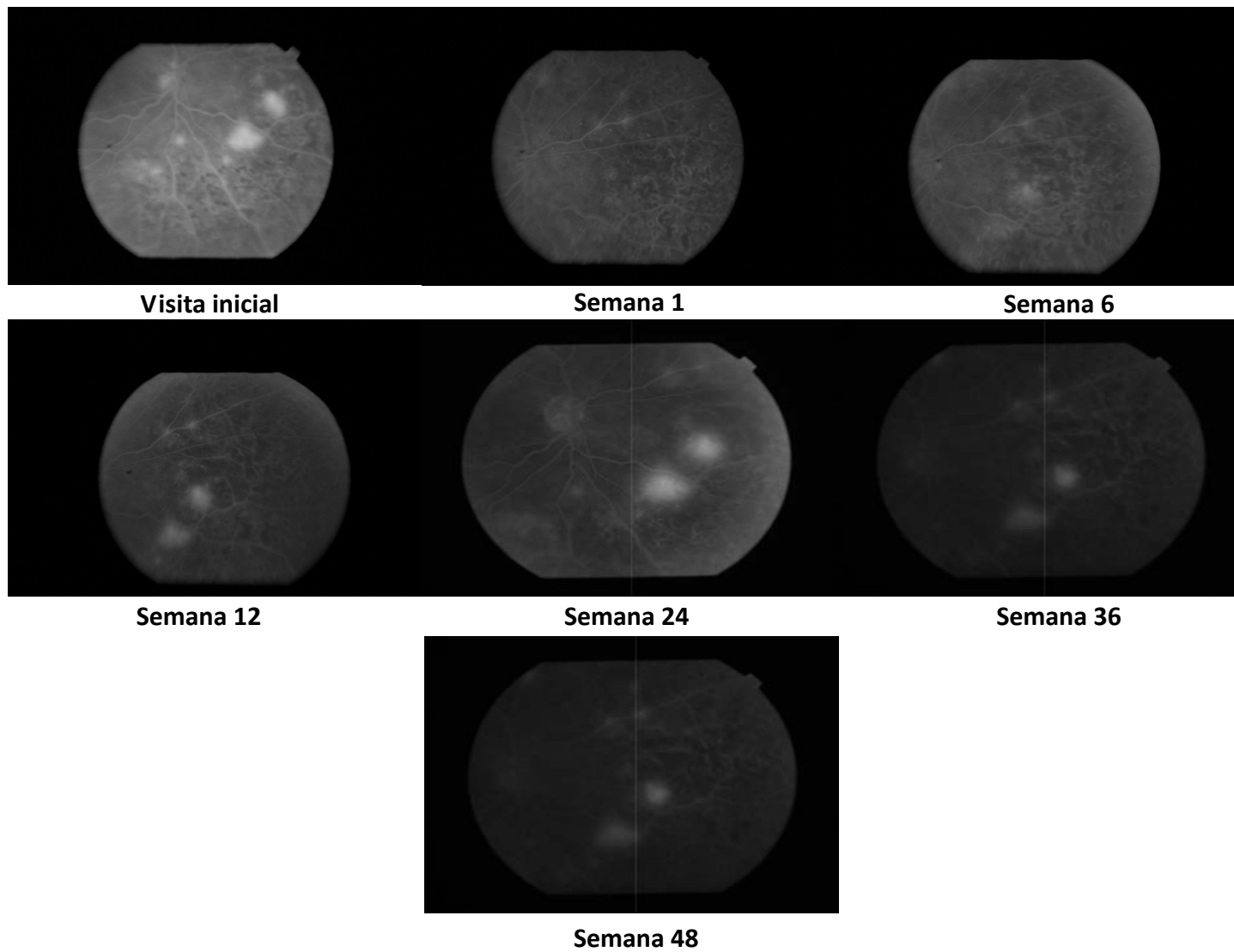


Figura 2- Angiogramas do paciente nº 9, visita inicial e semanas 1, 6, 12, 24, 36 e 48.

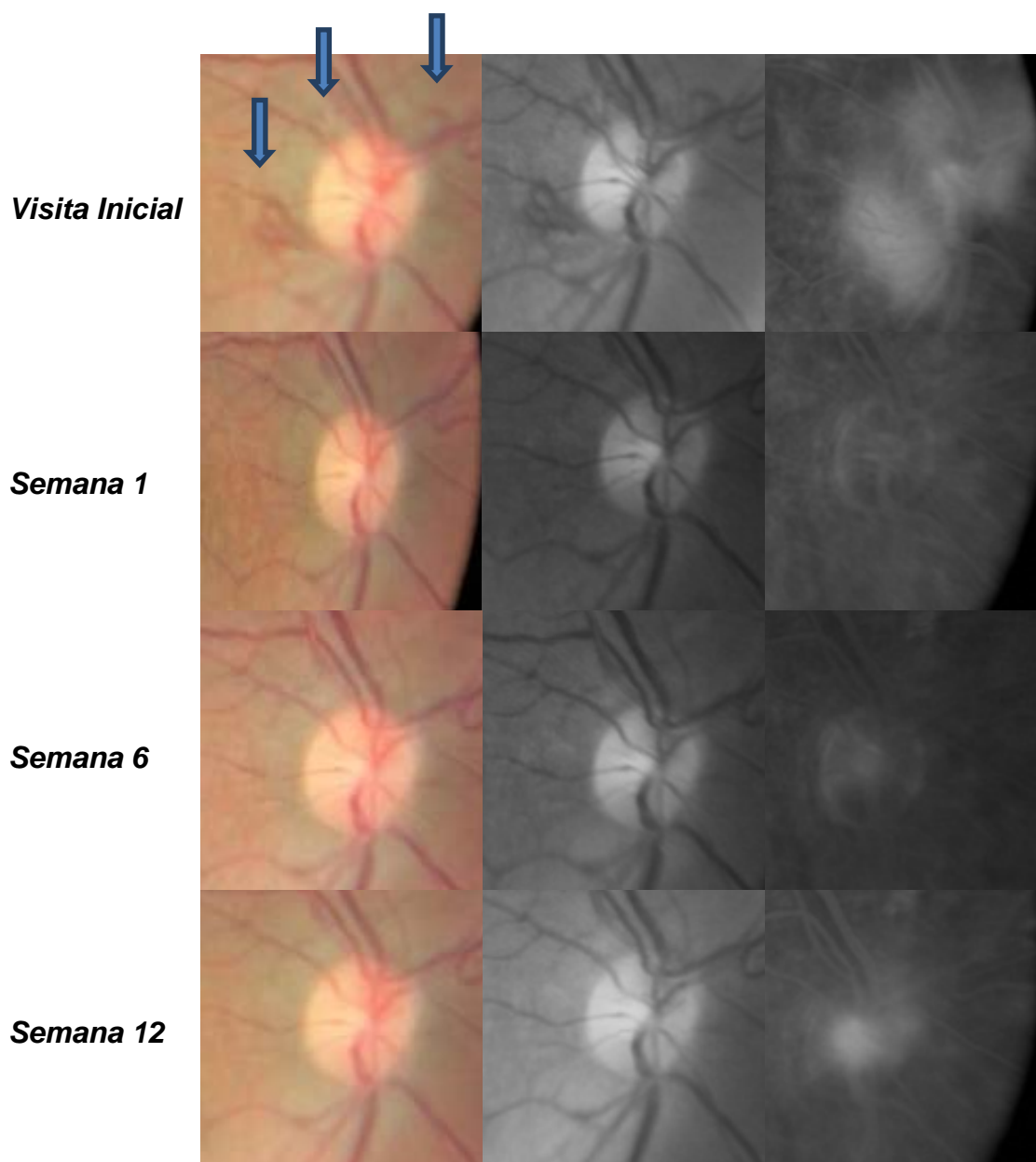


Figura 3- Retinografia colorida, aneritra e angiogramas do paciente nº 8. Regressão importante dos neovasos, observados na visita inicial (setas em azul) foi notada nas semanas 1 e 6, após 0,5 mg de ranibizumabe intravítreo. Na semana 12, verificou-se recorrência parcial dos neovasos.

4.2 Acuidade visual

A média \pm EPM da MAVC, anotada em LogMAR na visita inicial foi de $0,70 \pm 0,08$ (20/100) e melhorou para $0,63 \pm 0,08$ (20/85) ($p=0,0136$), $0,61 \pm$

0,07 (20/81) ($p=0,0222$) e $0,63 \pm 0,08$ (20/85) ($p=0,0273$) nas semanas 1, 6, e 12, respectivamente, sendo estatisticamente significativa. Após a semana 12, a média da MAVC não evidenciou diferenças estatisticamente significativas em relação à visita inicial, sendo $0,61 \pm 0,08$ (20/81) ($p=0,147$) na semana 24, $0,60 \pm 0,08$ (20/80) ($p=0,114$) na semana 36 e $0,61 \pm 0,09$ (20/81) ($p=0,390$) na semana 48.

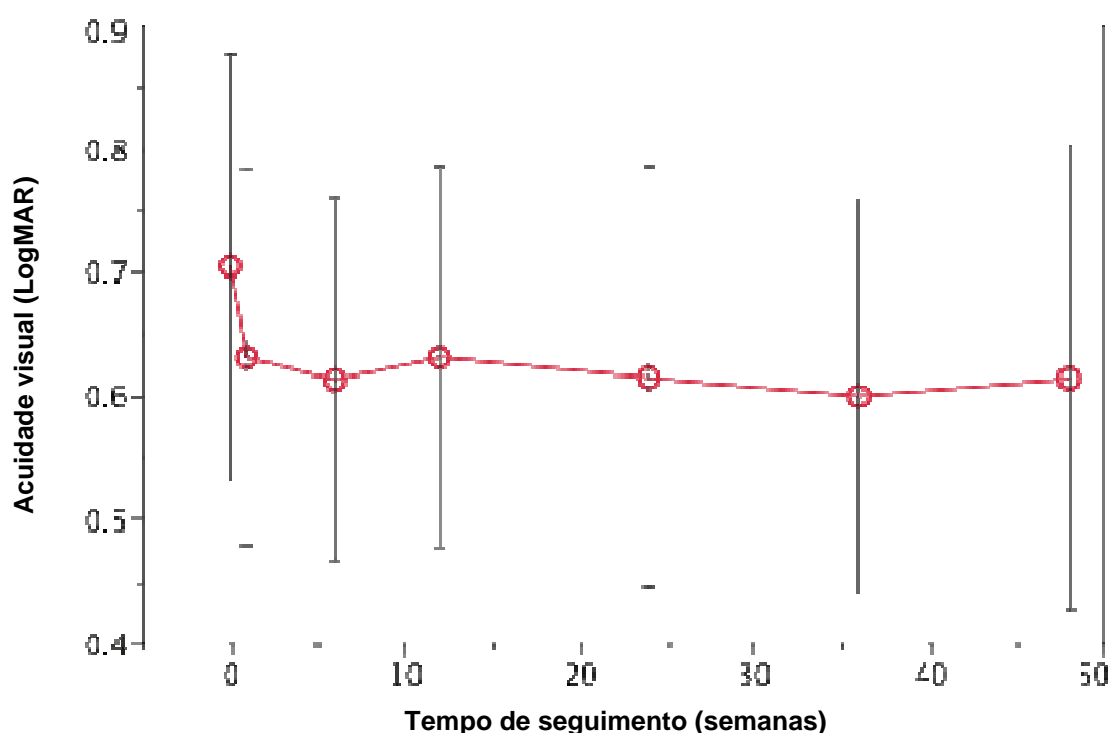


Figura 4- Comportamento da melhor acuidade visual corrigida (média \pm EPM) durante todos os períodos do estudo.

4.3 Tomografia de coerência óptica

A média da ESMC \pm EPM avaliada pela OCT foi de 321 ± 38 μ m na avaliação inicial, diminuindo significativamente para 268 ± 22 μ m ($p=0,037$), 277 ± 26 μ m ($p = 0,011$), 261 ± 24 μ m ($p=0,017$), 242 ± 21 μ m ($p=0,034$) nas semanas 1, 6, 24 e 36, respectivamente. No entanto, nas semanas 12 e 48 os

valores da espessura macular foram: $298 \pm 32 \mu\text{m}$ ($P=0,166$) e $244 \pm 26 \mu\text{m}$ ($P=0,064$), respectivamente, sem significância estatística. A ESMC foi maior que $300 \mu\text{m}$ em sete pacientes (32%) na visita inicial, sendo tratados com fotocoagulação a laser em região macular (grid/focal) antes da injeção intravítrea de ranibizumabe, seis pacientes (27%) na semana 1; seis (27%) na semana 6; seis (27%) na semana 12; cinco (25%) semana 24; três (15%) semana 36 e três (15%) na semana 48. Foi realizada fotocoagulação a laser adicional (focal/grid) em dois pacientes na semana 12; em um na semana 24 e em nenhum na semana 36.

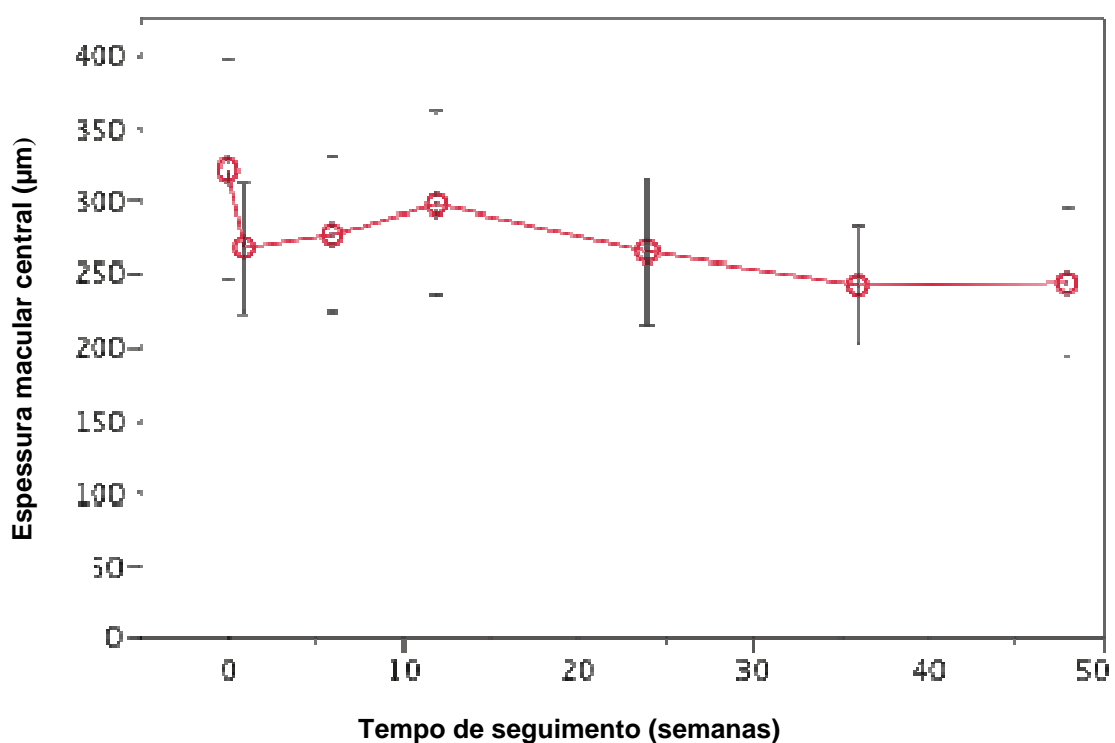


Figura 5- Comportamento da espessura do subcampo macular central (média \pm EPM) durante todos os períodos do estudo.

4.4 Efeitos colaterais

Nenhum efeito adverso relacionado à droga foi observado nos vinte e dois pacientes do estudo. O procedimento de tratamento foi bem tolerado, sem evidências clínicas de uveíte, endoftalmite ou toxicidade ocular. Não houve variação nas condições da lente (cristalino ou lente intraocular), em nenhum dos pacientes estudados, durante o período de tratamento. A média \pm EPM da pressão intraocular na visita inicial foi de $15,77 \pm 0,47$ mmHg e não houve diferença estatisticamente significativa em todas as semanas do estudo. Nas semanas 1, 6, 12, 24, 36 e 48, após a injeção intravítrea de ranibizumabe, a média \pm EPM da pressão intraocular foi: $16,05 \pm 0,50$ mmHg ($p=0,4923$); $15,18 \pm 0,62$ mmHg ($p=0,2379$); $15,50 \pm 0,57$ mmHg ($p=0,5827$); $16,42 \pm 0,82$ mmHg ($p=0,6344$); $17,00 \pm 0,71$ mmHg ($p=0,1944$); $16,68 \pm 0,78$ mmHg ($p=0,3374$), respectivamente.

5. Discussão

Apesar de a fotocoagulação a laser panretiniana ser a principal ferramenta de tratamento para a RDP, reduzir a perda visual e evitar procedimentos mais invasivos como a vitrectomia posterior (AABERG; ABRAMS, 1987), sabe-se que a redução completa da neovascularização retiniana, característica marcante da RDP, ocorre somente em 60% dos casos dentro de três meses após a realização do procedimento, o que leva a se buscarem novas estratégias terapêuticas, principalmente quando o tratamento com laser adicional não é possível (ETDRS RESEARCH GROUP, 1987).

Após os resultados de Adamis et al. (2006), que reportaram a regressão de NV de retina após tratamento de pacientes portadores de EMD com o agente anti-VEGF pegaptanibe (Macugen) e de Avery et al. (2006) e Jorge et al. (2006), que verificaram a regressão de NRP em pacientes com RDP após a injeção intravítrea de bevacizumabe, foi proposto o presente estudo, realizando-se avaliação prospectiva do comportamento dos NRP em pacientes diabéticos, após o tratamento intravítreo com ranibizumabe.

Este estudo é o primeiro a oferecer evidência prospectiva do efeito favorável do uso intravítreo do ranibizumabe para NRP associado com RD.

Em relação à média da área de vazamento de fluoresceína dos neovasos ativos na visita inicial, após a injeção intravítrea de ranibizumabe houve redução de 98% na primeira semana, 94% na semana 6, 56% na semana 12, 56% na semana 24, 63% na semana 36 e 70% na semana 48, evidenciando rápido efeito da droga, pois na semana 1 apenas um paciente apresentou neovasos ativos na angiofluoresceinografia. Após a semana 12, observando a Figura 1, nota-se certa estabilização da área de vazamento, com valores em todas as semanas menores que a metade da média na avaliação inicial.

Jorge et al. (2006), utilizando metodologia semelhante, seguiram, prospectivamente, pacientes com NRP tratados com 1,5 mg de bevacizumabe intravítreo. Considerando que os dois estudos não foram desenvolvidos simultaneamente e, também, que os pacientes incluídos no estudo anterior (JORGE et al., 2006) tinham significativamente maior média basal da área de vazamento ($p < 0,001$) em comparação com o presente estudo ($25,0 \text{ mm}^2$

versus 4,8 mm²), foi realizada análise estatística comparando as variações da área de vazamento de fluoresceína, em ambos os grupos, durante as primeiras 12 semanas de acompanhamento. Curiosamente, as médias das variações foram semelhantes em ambos os grupos uma semana após a injeção, mas foi significativamente superior nas semanas 6 e 12 após a injeção de bevacizumabe (Figura 6). Comparativamente, o efeito do bevacizumabe parece ser mais duradouro do que o ranibizumabe, já que, com 12 semanas houve redução de 80% da área de vazamento de fluoresceína decorrente de NV de retina persistentes tratados com bevacizumabe *versus* 56% tratados com ranibizumabe.

Especula-se que o efeito mais duradouro do bevacizumabe deve-se à sua meia-vida duas vezes maior na cavidade vítrea, quando comparado ao ranibizumabe (BAKRI et al., 2007) (Figura 6). No entanto, o estudo CATT (Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials) mostrou resultados favoráveis ao ranibizumabe em relação ao número de injeções necessárias para controlar a DMRI quando comparadas ao bevacizumabe. Talvez a afinidade ao VEGF ou ainda o tamanho da molécula são outras características importantes a serem consideradas em relação aos tipos de antiangiogênicos usados na regressão da neovascularização retiniana.

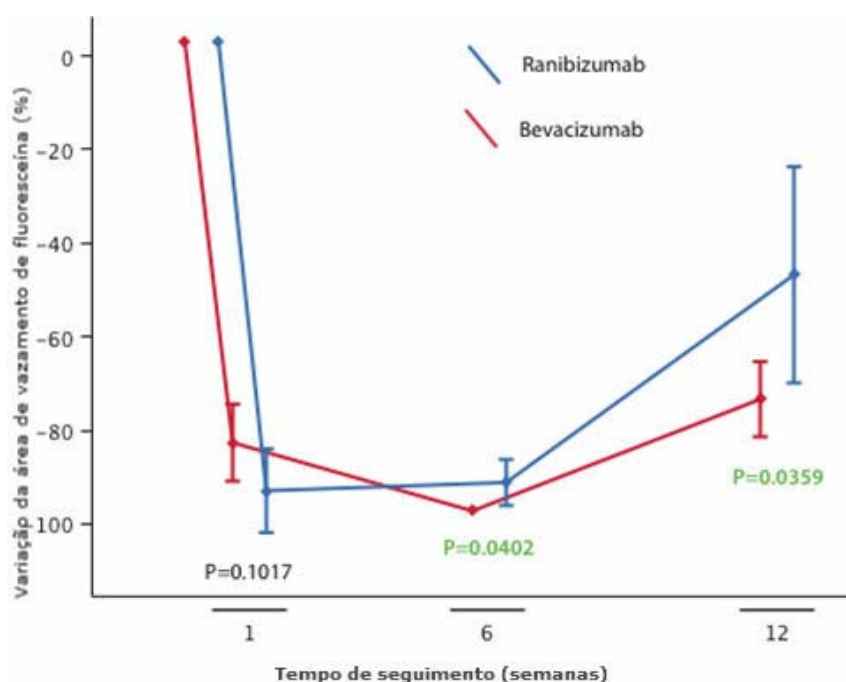


Figura 6- Comparação entre a variação da área de vazamento de fluoresceína (média \pm EPM) em pacientes tratados com ranibizumabe intravítreo neste presente estudo (linha azul; n=22) e pacientes tratados com bevacizumabe intravítreo (linha vermelha; n=15) (JORGE et al., 2006).

Melhora significativa na AV ocorreu durante as primeiras 12 semanas do estudo. Após esse período, essa melhora não foi estatisticamente significativa, provavelmente devida à perda de seguimento de três pacientes, sendo que dois desses já haviam demonstrado melhora da AV. Outros fatores que podem ter influenciado na AV foram a mudança da perfusão macular e o retratamento com laser macular focal/*grid*.

No presente estudo, a análise da ESMC foi limitada devido à pequena porcentagem de pacientes (n=7/22), que demonstraram ESMC>300 μ m na linha de base. Apesar dessa limitação, foi observada redução significativa da ESMC nas semanas 1, 6, 24 e 36, mas não mais na semana 48, momento em que houve tendência à significância (p=0,06). A associação independente da injeção intravítrea de ranibizumabe com redução da ESMC em períodos mais longos de seguimento (após a semana 12) pode também estar relacionada

com a pequena proporção de pacientes que continuaram o estudo e tiveram ESMC linha de base superior a 300 μm .

É importante salientar que nenhum paciente foi excluído por apresentar forma avançada da RDP, diferentemente de estudo anterior (JORGE et al., 2006), em que um paciente apresentou hemorragia vítrea impossibilitando a documentação e continuação do protocolo. A ausência de evolução para formas avançadas da retinopatia se deve ao controle sistemático a cada três meses e reinjeção do agente anti-VEGF caso houvesse sinal de reativação, ao contrário do estudo de Cintra et al. (2013), no qual não houve critério definido de retratamento, ficando a julgamento do oftalmologista.

Os resultados deste estudo não mostraram qualquer associação com aumento de pressão intraocular, desenvolvimento ou progressão de catarata, aumento das taxas de endoftalmite, toxicidade ocular e uveíte, sendo condizente com outros estudos realizados com o ranibizumabe (DRCR NETWORK, 2010; RAMOS-FILHO et al., 2011).

Sendo assim, o ranibizumabe se apresenta como uma alternativa terapêutica viável para a RDP com NRP. Estudos com número maior de pacientes serão necessários para corroborarem os achados do presente estudo e reafirmar a viabilidade do uso do ranibizumabe intravítreo para o controle da NRP em pacientes com RDP.

6. Conclusões

O presente estudo demonstrou que o tratamento intravítreo com ranibizumabe promoveu redução estatisticamente significativa na área de vazamento dos neovasos persistentes ativos durante as 48 semanas. Evidenciou, ainda, melhora na AV em todas as avaliações, porém estatisticamente significativa somente até a semana 12 e redução na ESMC estatisticamente significativa em todas as visitas, exceto nas semanas 12 e 48.

7. Referências Bibliográficas

AABERG, T.M.; ABRAMS, G.W. Changing indications and techniques for vitrectomy in management of complications of diabetic retinopathy. **Ophthalmology**. 94(7):775-779, 1987.

ADAMIS, A.P.; MILLER, J.W.; BERNAL, M.T.; D'AMICO, D.J.; FOLKMAN, J.; YEO, T.K.; YEO, K.T. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. **Am J Ophthalmol**. 118(4):445-450, 1994.

ADAMIS, A.P.; ALTAWHEEL, M.; BRESSLER, N.M.; CUNNINGHAM, E.T. Jr.; DAVIS, M.D.; GOLDBAUM, M.; GONZALES, C.; GUYER, D.R.; BARRETT, K.; PATEL, M.; MACUGEN DIABETIC RETINOPATHY STUDY GROUP. Changes in retinal neovascularization after pegaptanib (Macugen) therapy in diabetic individuals. **Ophthalmology**. 113(1):23-28, 2006.

AIELLO, L.M. et al. Ruby laser photocoagulation in treatment of diabetic proliferating retinopathy: Preliminary report. In: GOLDBERG, M.F.; FINE, S.L. **Symposium on the Treatment of Diabetic Retinopathy**, 1968. p. 437-463.

AIELLO, L.P.; AVERY, R.L.; ARRIGG, P.G.; KEYT, B.A.; JAMPEL, H.D.; SHAH, S.T.; PASQUALE, L.R.; THIEME, H.; IWAMOTO, M.A.; PARK, J.E. et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. **N Engl J Med**. 331(22):1480-1487, 1994.

AIELLO, L.P.; PIERCE, E.A.; FOLEY, E.D.; TAKAGI, H.; CHEN, H.; RIDDLE, L.; FERRARA, N.; KING, G.L.; SMITH, L.E. Suppression of retina neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. **Proc Natl Acad Sci**. 92(23):10457-10461, 1995.

AIELLO, L.P.; GARDNER, T.W.; KING, G.L.; BLANKENSHIP, G.; CAVALLERANO, J.D.; FERRIS 3rd, F.L.; KLEIN, R. Diabetic retinopathy. **Diabetes Care**. 21(1):143-156, 1998.

AMIN, R.H.; FRANK, R.N.; KENNEDY, A.; ELIOTT, D.; PUKLIN, J.E.; ABRAMS, G.W. Vascular endothelial growth factor is present in glia cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 38(1):36-47, 1997.

AVERY, R.L.; PEARLMAN, J.; PIERAMICI, D.J.; RABENA, M.D.; CASTELLARIN, A.A.; NASIR, M.A.; GIUST, M.J.; WENDEL, R.; PATEL, A. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. **Ophthalmology**. 113(10):1695.e1-15, 2006.

BAKRI, S.J.; SNYDER, M.R.; REID, J.M.; PULIDO, J.S.; EZZAT, M.K.; SINGH, R.J. Pharmacokinetics of intravitreal ranibizumab (Lucentis). **Ophthalmology**. 114(12):2179-2182, 2007.

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.

BOYCOTT, B.B.; DOWLING, J.E. Organization of primate retina: light microscopy. **Philos Trans. R. Soc. Lond. B**. 255:109-184, 1969.

BRON, A.J.; TRIPATHI, R.C.; TRIPATHI, B.J. The retina. In: **Wolff's Anatomy of the Eye and Orbit**. 8th Edition. London: Chapman & Hall Medical. 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(14):1432-1444, 2006.

BROWNING, D.J.; McOWEN, M.D.; BOWEN, R.M.; O'Marah, T.L. Comparison of the clinical diagnosis of diabetic macular edema with diagnosis by optical coherence tomography. **Ophthalmology**. 111(4):712-715, 2004.

CECIL, R.; GOLDMAN, L.J.; BENNETT, J.C. **Cecil Textbook of Medicine**. 23rd ed. Philadelphia: Saunders, 2007.

CHOBANIAN, A.V.; BAKRIS, G.L.; BLACK, H.R.; CUSHMAN, W.C.; GREEN, L.A.; IZZO Jr., J.L.; JONES, D.W.; MATERSON, B.J.; OPARIL, S.; WRIGHT Jr., J.T.; ROCCELLA, E.J.; NATIONAL HEART LUNG, AND BLOOD INSTITUTE JOINT NATIONAL COMMITTEE ON PREVENTION; DETECTION,

EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE; NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM COORDINATING COMMITTEE. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **JAMA**. 289:2560-2572, 2003. Erratum in: **JAMA**. 290:197, 2003.

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(10):1706-1712, 2006.

CINTRA, L.P.; COSTA, R.A.; RIBEIRO J.A.; CALUCCI, D.; SCOTT, I.U.; MESSIAS, A.; JORGE, R. Intravitreal bevacizumab (avastin) for persistent new vessels in diabetic retinopathy (IBEPE STUDY): 1-year results. **Retina**. 33(6):1109-1116, 2013.

CORREA, Z.M.S.; EAGLE Jr, R. Aspectos patológicos da retinopatia diabética. **Arq. Bras. Oftalmol**. 68(3):410-414, 2005.

COSTA, R.A.; CALUCCI, D.; SKAF, M.; CARDILLO, J.A.; CASTRO, J.C.; MELO, L.A. Jr.; MARTINS, M.C.; KAISER, P.K. Optical coherence tomography 3: Automatic delineation of the outer neural retinal boundary and its influence on retinal thickness measurements. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 45(7):2399-2406, 2004.

COSTA, R.A.; JORGE, R.; CALUCCI, D. et al. Intravitreal bevacizumab for choroidal neovascularization caused by AMD (IBeNA Study): results of a phase 1 dose-escalation study. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 47(10):4569-4578, 2006.

CUNNINGHAM Jr, E.T.; ADAMIS, A.P.; ALTAWHEEL, M.; AIELLO, L.P.; BRESSLER, N.M.; D'AMICO, D.J.; GOLDBAUM, M.; GUYER, D.R.; KATZ, B.; PATEL, M.; SCHWARTZ, S.D.; MACUGEN DIABETIC RETINOPATHY STUDY GROUP. A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an anti-vascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. **Ophthalmology**. 112(10):1747-1757, 2005.

DANTAS, A. M. **Anatomia funcional do olho e seus anexos**. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Colina. 2002, cap. 3, pag. 65-253.

DANTÉS, D.; SIQUEIRA, R.C. **Angiografia da retina - fluoresceína e indocianina verde**. Rio de Janeiro: Revinter, 2004, cap. 1, pag. 1-9.

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(14):977-986, 1993.

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

DRCR NETWORK (DIABETIC RETINOPATHY CLINICAL RESEARCH NETWORK). Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. **Ophthalmology**. 117(6):1064-1077, 2010.

DRS (THE DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). Diabetic retinopathy study. Report Number 6. Design, methods, and baseline results. Report Number 7. A modification of the Airlie House classification of diabetic retinopathy. Prepared by the Diabetic Retinopathy. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 21(1 Pt 2):210-226, 1981a.

DRS (THE DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). Clinical application of Diabetic Retinopathy Study (DRS) findings, DRS report number 8. **Ophthalmology**, 88(7):583-600, 1981b.

DUKE-ELDER S. **System of ophthalmology. The anatomy of visual systems**. London: H Kimpton, v. II, 1961, 901p.

DURHAM, J.T.; HERMAN, I.M. Microvascular modifications in diabetic retinopathy. **Curr Diab Rep**. 11(4):253-264, 2011.

ETDRS RESEARCH GROUP (EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. **Arch Ophthalmol**. 103(12):1796-1806, 1985.

ETDRS RESEARCH GROUP (EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). Techniques for scatter and local photocoagulation treatment of diabetic retinopathy. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report nº 3. **Int Ophthalmol Clin.** 27(4):254-264, 1987.

ETDRS RESEARCH GROUP (EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). Early photocoagulation for diabetic retinopathy. Report Nº 9. **Ophthalmology.** 98(5):766-785, 1991a.

ETDRS RESEARCH GROUP (EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). Grading Diabetic retinopathy from Stereoscopic Color Fundus Photographs - An extension of the modified Arlie House Classification. Report Nº 10. **Ophthalmology.** 98(5):786-806, 1991b.

ETDRS RESEARCH GROUP (EARLY TREATMENT DIABETIC RETINOPATHY STUDY RESEARCH GROUP). Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. Report Nº 12. **Ophthalmology.** 98(5):823-833, 1991c.

ESCARIÃO, P.H.; ARANTES, T.E.; FIGUEIROA FILHO, N.C.; URTIGA, R.D.; FLORÊNCIO, T.L.; ARCOVERDE, A.L. Epidemiology and regional differences of diabetic retinopathy in Pernambuco, Brasil. **Arq Bras Oftalmol.** 71(2):172-175, 2008.

FERRIS, F.L. III; PATZ A. Macular edema: a complication of diabete retinopathy. **Surv Ophthalmol.** 28(Suppl. 2):452-461, 1984.

FLYNN Jr., H.W.; CHEW, E.Y.; SIMONS, B.D.; BARTON, F.B.; REMALEY, N.A.; FERRIS 3rd, F.L. Pars plana vitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. Report Nº 17. **Ophthalmology.** 99(9):1351-1357, 1992.

FONG, D.S.; AIELLO, L.P.; FERRIS 3rd, F.L.; KLEIN, R. Diabetic retinopathy. **Diabetes Care.** 27(10):2540-2553, 2004.

FOSS, M.C.; PACCOLA, G.M.G.F.; SOUZA, N.V.; IAZIGI, N. Estudo analítico de uma amostra populacional de diabéticos tipo II da região de Ribeirão Preto (SP). **AMB Rev Assoc Med Bras.** 35(5):179-183, 1989.

FRANK, R.N. Etiologic mechanisms in diabetic retinopathy. In: RYAN, S.J. **Retina**. 2nd Ed. St Louis: Mosby, 1994. v. 2. p. 1243-1276.

GARCIA, C.A.A.; GOMES, A.H.B.; NUNES, I.M.; OLIVEIRA, T.L.; MONTEIRO, J. Incidência e fatores de risco da retinopatia diabética em pacientes do Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal-RN. **Arq Bras Oftalmol**. 66:355-8, 2003.

GARNER, A. Histopathology of diabetic retinopathy in mam. **Eye**. 7:250-3, 2003.

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.

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

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.

JOHN T., SASSANI, J.W.; EAGLE, R.C. Jr. The myofibroblastic component of rubeosis iridis. **Ophthalmology**. 90(6):712-718, 1983.

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(9):1006-1013, 2006.

KABBINAVAR, F.; HURWITZ, H.I.; FEHRENBACHER, L.; MEROPOL, N.J.; NOVOTNY, W.F.; LIEBERMAN, G.; GRIFFING, S.; BERGSLAND, E. Phase III trial comparing Bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with

FU/LValone in patients with metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol.** 21(1):60-65, 2003.

KECK, P.J.; HAUSER, S.D.; KRIVI, G.; SANZO, K.; WARREN, T.; FEDER, J.; CONNOLY, D.T. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. **Science.** 246(4935):1309-1312, 1989.

KING, H.; AUBERT, R.; HERMAN, W.H. Global burden of diabetes, 1995-2025 prevalence, numerical estimates, and projections. **Diabetes Care.** 21(9):1414-1431, 1998.

KLEIN, R.; KLEIN, B.E.; MOSS, S.E.; DAVIS, M.D.; DeMETS, D.L. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy, II: prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. **Arch Ophthalmol.** 102(4):520-526, 1984.

KLEIN, R.; KLEIN, B.E.K. Epidemiology of eye disease in diabetes. In: FLYNNJR., H.W.; SMIDDY, W.E. **Diabetes and Ocular Disease: Past, Present, and Future Therapies.** The Foundation of the American Academy of Ophthalmology. 19-61, 2000.

KOHNER, E.M. Diabetic retinopathy. **BMJ.** 307(6913):1195-1199, 1993.

LOWE, J.; ARAUJO, J.; YANG, J.; REICH, M.; OLDENDORP, A.; SHIU, V.; QUARMBY, V.; LOWMAN, H.; LIEN, S.; GAUDREAU, J.; MAIA, M. Ranibizumab inhibits multiple forms of biologically active vascular endothelial growth factor in vitro and in vivo. **Exp Eye Res.** 85(4):425-430, 2007.

LUTTY, G.A.; MCLEOD, D.S.; MERGES, C.; DIGGS, A.; PLOUÉT, J. Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroid. **Arch Ophthalmol.** 114(8):971-977, 1996.

MALECAZE, F.; CLAMENS, S.; SIMORRE-PINATEL, V.; MATHIS, A.; CHOLLET, P.; FAVARD, C.; BAYARD, F.; PLOUET, J. Detection of vascular endothelial growth factor messenger RNA and vascular endothelial growth factor-like activity in proliferative diabetic retinopathy. **Arch Ophthalmol.** 112(11):1476-1482, 1994.

MALERBI, D.A; FRANCO, L.J. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69yr. TheBrazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. **Diabetes Care**. 15(11):1509-1516, 1992.

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

MEYER-SCHWICKERATH G. **Light coagulation (translate by Drance SM)**. St Louis: Mosby, 1960.

MINELLA, A.M.; SAVASTANO, C.M.; ZICCARDI, L.; SCUPOLA, A.; SASSO, P.; FALSINI, B; BALESTRAZZI, E. Intarvitreal bevacizumab (Avastin®) in proliferative diabetic retinopathy. **Acta Ophthalmol**. 86(6):683-687, 2008.

MORDENTI, J.; CUTHBERTSON, R.A.; FERRARA, N. THOMSEN, K.; BERLEAU, L.; LICKO, V.; ALLEN, P.C.; VALVERDE, C.R.; MENG, Y.G.; FEI, D.T.; FOURRE, K.M.; RYAN, A.M. Comparisons of the intraocular tissue distribution, pharmacokinetics, and safety of 125I-labeledfull-length and Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. **Toxicol Pathol**. 27(5):536-544, 1999.

MATSUMOTO, Y.; TAKAHASHI, M.; OGATA, M. Relationship between glycoxidation and cytokines in the vitreous of eyes with diabetic retinopathy. **Jpn J Ophthalmol**. 46(4):406-412, 2002.

PEREIRA, D.S.; REIS, F.A.C.; WAETGE, R.T.L.; CALIARI, L.E.; AIHAR, T. A Prevalência da retinopatia diabética no Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. **Arq. Bras. Oftalmol**. 67(1):111-114, 2004.

RAMOS, S.R.; SABBAG, F.P.; BUSATO, D.; MIRANDA, A.B.; MOREIRA Jr, C.A. Retinopatia Diabética: estudo de uma associação de diabéticos. **Arq. Bras Oftalmol**. 62(6):735-7, 1999.

RAMOS FILHO, J.A.; MESSIAS, A; ALMEIDA, F.P.P.; RIBEIRO, J.A.S.; COSTA, R.A.; SCOTT, I.U.; JORGE, R. Panretinal photocoagulation (PRP) versus PRP plus intravitreal ranibizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy. **Acta Ophthalmol**. 89(7):567-572, 2011.

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(4):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 Laser 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(3):361-372, 2006a.

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(14):1419-1431, 2006b.

RYAN, S.J. **Retina** (Fourth Edition). Philadelphia, PA, USA: Elsevier, cap. 67, 2006, pag. 1271-1284.

SANCHEZ-THORIN, J.C. The epidemiology of diabetes mellitus and diabetic retinopathy. **Int Ophthalmol Clin. Spring**. 38(2):11-18, 1998. Review.

STANFORD, M.R. The pathogenesis of diabetic retinopathy. **Br J Ophthalmol**. 88(4):444-445, 2004.

SCHELLINI, S.A.; SILVA M.R.B.M.; SILVA, M.A.M. Diabetes, retinopatia diabética e cegueira. **J Bras Med**. 67:171-174, 1994.

SCHLINGEMANN, R.O.; van HINSBERGH, V.W.M. Role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in eye disease. **Br J Ophthalmol**. 81(6):501-512, 1997.

SCHMIDINGER, G.; MAAR, N.; MATTHIAS, B.M.; SCHOLDA, C.; SCHMIDTFURTH, U. Repeated intravitreal bevacizumab (Avastin®) treatment of persistent new vessels in proliferative diabetic retinopathy after complete panretinal photocoagulation. **Acta Ophthalmol**. 89(1):76-81, 2011.

SENGER, D.R.; GALLI, S.J.; DVORAK, A.M.; PERRUZZI, C.A.; HARVEY, V.S.; DVORAK, H.F. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. **Science**. 219(4587):983-985, 1983.

SHIMA, D.T.; ADAMIS, A.P.; FERRARA, N.; YEO, K.T.; YEO, T.K.; ALLENDE, R.; FOLKMAN, J.; D'AMORE, P.A. Hypoxic induction of endothelial cell growth factors in retinal cells: identification and characterization of vascular endothelial growth factor (VEGF) as the mitogen. **Mol Med**. 1(2):182-193, 1995.

SHIMUZU, K.; KOBAYASHI, Y.; MURAOKA, K. Midperipheral fundus involvement in diabetic retinopathy. **Ophthalmology**. 88(7):601-612, 1981.

SILVA, V.B.; TEMPORINI, E.R.; MOREIRA FILHO, D.C.; KARA-JOSE, N. Tratamento da retinopatiadiabética: percepções de pacientes em Rio Claro (SP) - Brasil. **Arq Bras Oftalmol**. 68(3):363-368, 2005.

SOUZA, E.V.; SOUZA, N.V.; RODRIGUES, M.L.V. Retinopatia diabética em pacientes de um programa de atendimento multidisciplinar do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto-USP. **Arq Bras Oftalmol**. 67:433-436, 2004.

STERGIOU, P.K.; SYMEONIDIS, C.; DIMITRAKOS, S.A. Descending doses of intravitreal bevacizumab for the regression of diabetic neovascularization. **Acta Ophthalmol**. 89(3):218-221, 2011.

SUEISHI, K.; HATA, Y.; MURATA, T.; NAKAGAWA, K.; ISHIBASHI, T.; INOMATA, H. Endothelial and glial cell interaction in diabetic retinopathy via the function of vascular endothelial growth factor (VEGF). **Pol J Pharmacol**. 48(3):307-316, 1996.

TONELLO, M.; COSTA, R.A. ALMEIDA, F.P. BARBOSA, J.C.; SCOTT, I.U.; JORGE, R. Panretinal photocoagulation versus PRP plus intravitreal bevacizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy (IBeHi study). **Acta Ophthalmol**. 86(4):385-389, 2008.

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.

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.



WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Diabetes: diabetes facts.** Fact sheet nº 312. 2008. November 2009. Disponível em: [http:// www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html). Acessado em 10/08/2012.

WROBLEWSKI, J.J.; WELLS, J.A.; ADAMIS, A.P.; BUGGAGE, R.R.; CUNNINGHAM Jr, E.T.; GOLDBAUM, M.; GUYER, D. R.; KATZ, B.; ALTAWEEL, 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.

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**

 HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
www.hcrp.fmrp.usp.br 

Ribeirão Preto, 11 de dezembro de 2008

Ofício nº 4459/2008
CEP/MGV

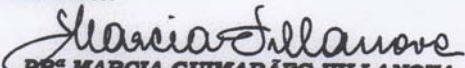
Prezados Senhores,

O trabalho intitulado "**RANIBIZUMAB (LUCENTIS®) INTRAVÍTREO PARA O TRATAMENTO DE PACIENTES PORTADORES DE RETINOPATIA DIABÉTICA PROLIFERATIVA COM NEOVASCULARIZAÇÃO DE RETINA PERSISTENTE**", 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 10770/2008.

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.


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

Ilustríssimos Senhores
RODRIGO SANCHES OLIVEIRA
PROF. DR. RODRIGO JORGE (Orientador)
Depto. de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA - 0000 2733; IRB - 0000 2186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.fmrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você tem um tipo de doença denominada de Retinopatia Diabética. O tecido que forra o interior do seu fundo de olho chama-se retina e é o responsável por captar a luz que entra pela frente do mesmo. Este tecido está doente e está sendo machucado por alterações da circulação causadas pelo diabetes.

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo intitulado **Ranibizumabe (Lucentis®) Intravítreo para o Tratamento de Pacientes Portadores de Retinopatia Diabética Proliferativa com Neovascularização de Retina Persistente**. Os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, por isso a sua participação é importante.

O objetivo desta pesquisa é tratar a doença da retina causada pelo Diabetes com injeção de medicação anti-angiogênica (Ranibizumabe) dentro do olho. Este medicamento pode reverter partes das alterações da circulação da retina causadas pelo Diabetes e que NÃO melhoraram com o tratamento a LASER.

O Ranibizumabe já foi utilizado como injeção ocular para o tratamento de Retinopatia Diabética com alterações graves, como a sua. Quando a doença atinge o estágio encontrado em sua retina, o termo científico usado para descrevê-la é "Retinopatia Diabética Proliferativa com características de alto risco para perda visual grave". Para se ter uma ideia do que chamamos perda visual grave, caso esta ocorra, você não conseguirá ler nenhuma das letrinhas da tabela de visão, estando a 6 metros da mesma.

De acordo com outros trabalhos realizados no exterior, o Ranibizumabe melhorou a visão prejudicada pelo Diabetes.

Caso você participe da pesquisa, 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, angiografia da retina e medida do tamanho do edema através da Tomografia de Coerência Óptica da retina e medida da glicemia de jejum.

Como em qualquer tratamento, você poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados à anestesia, que é com colírio. A injeção na maioria das vezes não doí mais que uma picada de agulha para colher sangue.

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

Os benefícios esperados com este tipo de tratamento são: evitar a piora da acuidade visual do olho comprometido, promover melhora ou estabilização da visão e diminuir as chances de sangramento e consequente perda visual pelo Diabetes.

Para que o estudo tenha sucesso você deverá comparecer no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP) para consultas oftalmológicas mensais idênticas à consulta descrita acima por um período de 12 meses.

Os médicos Rodrigo Jorge (CRM 81886) e Rodrigo Sanches Oliveira (CRM 132392) poderão ser contatados todos os dias da semana através dos seguintes telefones (16) 3602-2323, (16) 3602 2523, (16) 3602-2312 ou (16) 3336-0808, serão os responsáveis pelo seu tratamento e farão o seu acompanhamento conforme consta no padrão Ético e Vigente no Brasil.

Caso não deseje participar do estudo, você será tratado de modo convencional. O tratamento convencional consiste em seguimento clínico e cirurgia caso ocorram hemorragias. Mais marcas de LASER também podem ser tentadas, porém seu olho pode continuar não respondendo ao LASER e a proliferação fibrovascular pode progredir, provocando hemorragias e/ou descolamento de retina, com conseqüente perda visual pela retinopatia diabética.

Estão garantidas todas as informações que você queira, antes durante e depois do estudo.

Neste estudo será formado 1 (um) grupo de pacientes que receberá o Ranibizumabe e será utilizada dose intravítrea de 0,5 mg, já utilizada na literatura.

A sua participação neste estudo é voluntária. Você tem a liberdade de recusar a participação do estudo, ou se aceitar a participação, 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, você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você terá a garantia de que qualquer problema decorrente do estudo será tratado no próprio Hospital das Clínicas de 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 e os tratamentos alternativos. 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

Intravitreal ranibizumab for persistent new vessels in diabetic retinopathy: one-year results

Rodrigo S. Oliveira¹, Andre Messias¹, Felipe P. Almeida¹, Mario L. Strambe¹, Rogério A. Costa¹, Ingrid U. Scott², Rodrigo Jorge¹

¹Department of Ophthalmology, Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil;

²Departments of Ophthalmology and Public Health Sciences, Penn State College of Medicine, Hershey, PA, USA.

Corresponding author:

Prof. Dr. Rodrigo Jorge. Department of Ophthalmology, Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery - School of Medicine of Ribeirão Preto - University of São Paulo. Avenida Bandeirantes 3900. Ribeirão Preto-SP, 14049-900, Brazil. Fone: +55(16)36022523 /Fax: +55(16)3602-2860. E-mail: rjorge@fmrp.usp.br

Supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), grant n° 2008/58444-3.

Clinical Trial register: NCT00993525

Word count: abstract: 336; text: 3257

Keywords: Diabetic retinopathy; Ranibizumab; Bevacizumab; new vessels; Macular edema.

ABSTRACT

Objective: To evaluate effects of intravitreal ranibizumab (IVR) for the management of persistent new vessels (NV) associated with diabetic retinopathy. **Design:** Nonrandomized clinical trial. **Participants and/or Controls:** Twenty-two eyes of twenty-two diabetic patients with actively leaking retinal NV refractory to laser treatment and ETDRS best-corrected visual acuity (BCVA) worse than 20/32. **Intervention/Methods/Testing:** Comprehensive ophthalmic evaluation was performed at baseline and at weeks 1, 6, 12±1, 24±2, 36±2 and 48±2 following IVR (0.5 mg). Retreatment with IVR was performed at weeks 12, 24 and 36 if actively leaking retinal NV were detected on fluorescein angiography. **Main Outcome Measure:** Total fluorescein leakage area (FLA) from NV measured using IMAGENet software. ETDRS BCVA and central subfield macular thickness (CSMT) measured with Stratus optical coherence tomography were also verified. **Results:** Nineteen patients completed the 48-week study period. At baseline, mean ± SEM FLA (mm²) was 4.8±1.2, and was significantly reduced to 0.1±0.1 (P=0.001); 0.3±0.1 (P=0.001); 2.1±0.5 (P=0.011); 2.1±0.5 (P=0.025); 1.79±0.5 (P=0.009) and 1.42±0.36 (P=0.010) at weeks 1, 6, 12, 24, 36 and 48, respectively. Mean BCVA (logMAR) was 0.70±0.08 (20/100) at baseline and improved to 0.63±0.08 (20/85; P=0.013); 0.61±0.07 (20/81; P=0.022); and 0.63±0.08 (20/85; P=0.027) at weeks 1, 6, and 12, respectively. After week 12, mean BCVA did not differ significantly from baseline; BCVA was 0.61±0.08 (20/81; P=0.147) at week 24, 0.60±0.08 (20/80; P=0.114) at week 36, and 0.61±0.09 (20/81; P=0.390) at week 48. Mean CSMT (µm) was 321±38 at baseline and decreased significantly to 268±22 (P=0.037), 277±26 (P=0.011) 261±24 (P=0.017), 242±21

($P=0.034$) at weeks 1, 6, 24, 36, respectively; however, at weeks 12 and 48 mean CSMT did not differ significantly from baseline: 298 ± 32 ($P=0.167$) and 244 ± 26 ($P=0.064$), respectively. **Conclusions:** IVR is associated with significant reduction of fluorescein leakage. Significant, although modest, reduction of CSMT in eyes with persistent NV due to diabetic retinopathy was observed at all study follow-up visits except for weeks 12 and 48. The modest improvement in BCVA after IVR observed during the first 12 weeks was not sustained at weeks 24, 36 and 48.

Keywords: Diabetic retinopathy; Ranibizumab; Bevacizumab; new vessels; Macular edema.

INTRODUCTION

Proliferative diabetic retinopathy (PDR) represents an important cause of severe vision loss in patients with diabetes mellitus.¹ The growth of retinal or optic disc neovascularization in PDR is associated with upregulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the vitreous cavity due to retinal ischemia.²⁻⁴ Laser photocoagulation is the standard treatment for retinal or optic disc neovascularization, and approximately 60% of patients respond to panretinal photocoagulation (PRP) with regression of neovascularization within 3 months.⁵ However, in some cases complete regression of neovascularization does not occur after PRP, but rather, persistent retinal neovascularization is present⁶ and patients require additional laser treatment and 4.5% require pars planavitrectomy despite PRP.⁷

The role of VEGF as a mediator of retinal neovascularization has been demonstrated in several studies. High levels of VEGF were found in the retina and vitreous of laboratory animals with ischemic retinopathies and patients with diabetic retinopathy.^{2-4,8,9} Blockage of VEGF has been associated with inhibition of iris neovascularization and suppression of retinal new vessel formation in primates.^{10,11} These findings provide the rationale for anti-VEGF therapy in retinal vascular diseases associated with new vessel formation.

Ranibizumab (Genentech; San Francisco, CA), a recombinant humanized monoclonal Fab fragment of an antibody that specifically binds all isoforms of VEGF-A with high affinity, is approved by the Food and Drug Administration for the treatment of age-related macular degeneration.¹² Intravitreal injection of ranibizumab has been reported to be associated with reduced central macular thickness and improved visual acuity in patients with diabetic macular edema (DME), but to our knowledge and based

on a search of the Medline database, there are no published reports of the use of intravitreal ranibizumab for persistent new vessels associated with PDR.^{13,14}

Based on the promising results of anecdotal reports using bevacizumab^{15,16}, which is also a humanized anti-VEGF-A neutralizing drug, we evaluated the effects of intravitreal ranibizumab in diabetic patients with persistent new vessels (NV) refractory to PRP. This article reports consecutive patients treated with intravitreal ranibizumab through 48 weeks of follow-up.

METHODS

The study protocol adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the local Institutional Review Board, and all participants gave written informed consent before enrolling in the study. All patients evaluated at the Retina and Vitreous Section of the Department of Ophthalmology, School of Medicine of Ribeirão Preto, with a diagnosis of persistent NV due to diabetic retinopathy between September 2008 and July 2009 were invited to participate in the study. Throughout the study, measurement of ETDRS best-corrected visual acuity (BCVA) was performed by a single certified examiner before any other study procedure. Ophthalmic evaluation was performed by a single retinal specialist (R.S.O.); and stereoscopic fundus photography, fluorescein angiography (FA) and optical coherence tomography (OCT) were performed by a single certified ophthalmic technician (M.L.S). Study data were interpreted and analyzed by A.M., R.A.C., I.U.S., and R.J.

Patient Eligibility and Baseline Evaluation

Patients were included if they had 1) persistent NV, defined as active NV (fine retinal vessels with dilated buds or tips covered with hemorrhage or associated with recurrent vitreous hemorrhage or and/or increased in extent compared to the previous visit)¹⁷ unresponsive to complete PRP performed at least 4 months prior; and 2) logarithm of minimum angle of resolution (logMAR) ETDRS BCVA of 0.2 (20/32) or worse. Exclusion criteria included 1) history of vitrectomy in the study eye; 2) history of thromboembolic event (including myocardial infarction or cerebral vascular accident); 3) major surgery within the prior 6 months or planned within the next 28 days; 4) uncontrolled hypertension (according to guidelines of the seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure [JNC-7])¹⁸; or 5) known coagulation abnormalities or current use of anticoagulative medication other than aspirin. If both eyes were eligible for treatment, the eye with worse visual acuity was included in the study. Twenty-two eyes of 22 patients were included in the study.

At baseline, each patient received a detailed ophthalmologic examination including measurement of BCVA according to a standardized refraction protocol using a retroilluminated Lighthouse for the Blind distance visual acuity test chart (using modified ETDRS charts 1, 2, and R), applanation tonometry, undilated and dilated slit lamp biomicroscopic examinations (including grading of lenticular status using the Lens Opacities Classification System III)¹⁹, and indirect funduscopy examination.

Digital red-free fundus photography and fluorescein angiography were performed using a certified fundus camera system (TRC-50IA/IMAGENet; Topcon, Tokyo, Japan), and fluorescein leakage area (FLA) was measured using the IMAGENet

software. Optical coherence tomography (Stratus OCT3; Carl Zeiss Meditec, Dublin, California, USA) was also performed at all study visits.

Treatment Assignment

All patients received one intravitreal injection of 0.5 mg (0.05 ml) of ranibizumab (IVR) within 1 week of baseline evaluation. Injections were performed by a single retinal specialist (R.J.), using topical proparacaine eyedrops, and under sterile conditions (eyelid speculum and povidone-iodine). Ranibizumab was injected into the vitreous cavity using a 29 gauge ½ inch needle inserted through the superotemporal pars plana 3.0 to 3.5 mm posterior to the limbus. After the injection, central retinal artery perfusion was confirmed with indirect ophthalmoscopy. Patients were instructed to instill one drop of 0.3% ciprofloxacin into the injected eye four times daily for 1 week after the procedure.

Patients were retreated with one 0.5 mg intravitreal injection of IVR at weeks 12, 24 and 36, if any active new vessels were detected on fluorescein angiography.

Follow-Up Examinations and Outcome Measures

Patients were scheduled for follow-up examinations at weeks 1, 6, 12 (± 1), 24 (± 2), 36 (± 2) and 48 (± 2) after initial treatment with IVR. The same procedures performed at baseline were performed at each study visit (e.g., ETDRS BCVA, complete ophthalmic examination, photography, FA and OCT). Systemic and local adverse events were monitored throughout the study, including changes in intraocular pressure and lens status.

The main outcome measure used to evaluate the short-term effects of ranibizumab was total area (measured in mm²) of fluorescein leakage from active NV (NVD and/or NVE). Changes in logMAR BCVA and central subfield macular thickness (CSMT) were also verified. When there was more than one site of active NV, all sites were included for analysis.

Rescue Treatment for DME

For patients with central subfield macular thickness higher than 300 µm at weeks 12, 24 and 36, focal/grid laser was performed if the investigator felt that complete focal/grid laser had not yet been administered. If IVR injection was also indicated at these study visits, the focal/grid laser treatment was administered prior to IVR injection.

Statistical Analysis

One-way analysis of variance for repeated measures (MANOVA) was used to evaluate differences in NV area, logMAR BCVA, CSMT and intraocular pressure between each visit. The significance level adopted was 0.05.

RESULTS

Twenty-two patients completed study visits at baseline and at weeks 1, 6, and 12; twenty completed 24 weeks of follow-up (one patient died and another one patient missed two consecutive study visits after week 12) and nineteen patients completed 36 and 48 weeks (one patient missed two consecutive study visits after week 24). Of the 22 participants, 13 (59%) were men and 9 (41%) were women. The mean ± SD age was 61

± 8 years (median, 62; range, 31-69 years). The mean \pm SD duration of diabetes was 19 ± 9 years (median, 16; range: 4-40 years). Twenty-one patients (95%) had type II diabetes mellitus; only one patient had a glycosylated hemoglobin level below 7%. Baseline characteristics are summarized in Table 1.

The treatment procedure was well tolerated, and no clinical evidence of uveitis, endophthalmitis, or ocular toxicity was observed. No serious drug-related adverse events were observed for the 22 patients treated in this study. The mean \pm standard error (SEM) intraocular pressure at baseline was 15.77 \pm 0.47 mmHg, and did not vary significantly throughout the follow-up. At 1, 6, 12, 24, 36 and 48 weeks after IVR, the mean \pm SEM intraocular pressure was: 16.05 \pm 0.50 mmHg (P=0.4923); 15.18 \pm 0.62 mmHg (P=0.2379); 15.50 \pm 0.57 mmHg (P=0.5827); 16.42 \pm 0.82 mmHg (P=0.6344); 17.00 \pm 0.71 mmHg (P=0.1944); 16.68 \pm 0.78 mmHg (P=0.3374), respectively. No changes in lens status were observed throughout follow-up.

Fluorescein leakage area (FLA)

At baseline, mean \pm SEM FLA was 4.8 \pm 1.2 mm², and was significantly reduced to 0.1 \pm 0.1 mm² (P=0.0009); 0.3 \pm 0.1 mm² (P=0.0011); 2.1 \pm 0.5 mm² (P=0.0113); 2.1 \pm 0.5 mm² (P=0.0254); 1.79 \pm 0.5 mm² (P=0.0097) and 1.42 \pm 0.36 mm² (P=0.0103) at weeks 1, 6, 12, 24, 36 and 48, respectively. Eighteen patients were retreated with IVR at week 12, 16 patients at week 24, and 16 patients at week 36. Figure 1A shows mean FLA during follow-up. Fluorescein leakage from active NV was observed in 1/22, 7/22, 18/22, 16/20, 16/19 and 17/19 patients at 1, 6, 12, 24, 36 and 48 weeks, respectively.

Best-Corrected Visual Acuity (BCVA)

At baseline, mean \pm SEM BCVA was 0.70 ± 0.08 logMAR (20/100) and improved to 0.63 ± 0.08 (20/85) ($P=0.0136$), 0.61 ± 0.07 (20/81) ($P=0.0222$), and 0.63 ± 0.08 (20/85) ($P=0.0273$) at 1, 6, and 12 weeks after IVR, respectively. After week 12, mean BCVA did not differ significantly from baseline; BCVA was 0.61 ± 0.08 (20/81) ($P=0.147$) at week 24, 0.60 ± 0.08 (20/80) ($P=0.114$) at week 36, and 0.61 ± 0.09 (20/81) ($P=0.390$) at week 48. Figure 1B shows mean BCVA during follow-up.

Central subfield macular thickness (CSMT)

Mean CSMT was 321 ± 38 μ m at baseline; 8 patients had CSMT >300 μ m and received additional focal/grid laser treatment within one week from baseline evaluation, before IVR injection. CSMT decreased significantly to 268 ± 22 μ m ($P=0.037$), 277 ± 26 μ m ($P = 0.011$), 261 ± 24 μ m ($P=0.017$), 242 ± 21 μ m ($P=0.034$) at weeks 1, 6, 24, and 36, respectively; however, at weeks 12 and 48 mean CSMT was closer to baseline values: 298 ± 32 μ m ($P=0.166$) and 244 ± 26 μ m ($P=0.064$), respectively (Figure 1C). CSMT was greater than 300 μ m in 7/22 (32%) eyes at baseline, 6/22 (27%) at week 1, 6/22 (27%) at week 6, 6/22 (27%) at week 12, 5/20 (25%) at week 24, 3/19 (15%) at week 36 and 3/19 (15%) at week 48 after IVR. Additional focal/grid laser was administered in 2/22 patients at week 12, 1/22 at week 24, and 0/22 patients at week 36.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, and based on a search of the Medline database, the current study is the first to provide prospective evidence of a favorable effect of IVR for persistent retinal NV associated with diabetic retinopathy. This clinical scenario is a

good model to test the effects of ranibizumab by directly monitoring FLA on fluorescein angiography.

In the absence of previous studies regarding ranibizumab and persistent new vessels associated with diabetic retinopathy, a comparison of FLA results with a previous study from our group, which included 15 patients with persistent diabetic new vessels treated with 1.5 mg of intravitreal bevacizumab.¹⁶ Bearing in mind that both studies were not undertaken simultaneously, and also considering that patients included in the previous study by Jorge et al. had significantly ($p < 0.001$) higher baseline mean FLA compared to the present study (25.0 mm^2 versus 4.8 mm^2), we performed a statistical analysis considering the intra-individual FLA change from baseline in both cohorts during the first 12 weeks of follow-up. Interestingly, the mean FLA intra-individual change was similar in both studies one week after injection, but was significantly higher at 6 and 12 weeks after injection of bevacizumab (Figure 2). Thus, although eyes treated with bevacizumab demonstrated significantly higher FLA at baseline, they demonstrated lower percentage of remaining FLA at weeks 6 and 12, suggesting a longer lasting effect of bevacizumab on FLA reduction. This difference maybe explained by the 2-times higher half-life of bevacizumab when compared to ranibizumab²⁰, and consequently, fewer injections of bevacizumab may be necessary to control persistent retinal new vessels in the long term. Further, the relatively consistent number of patients needing retreatment at weeks 12 (18 patients), 24 (16 patients) and 36 (16 patients), and the maintenance of mean FLA around 2 mm^2 on these visits (Figure 1A), suggest that the persistent new vessels did not tend to regress after an IVR injection every 3 months during a one year follow-up and additional injections would probably be necessary on subsequent follow-up visits.

With one-year follow-up, intravitreal ranibizumab was associated with a significant reduction in active NV area. It is important to note that full PRP according to ETDRS guidelines was insufficient to induce regression of active new vessels for patients included in this study. In fact, in two previous studies from our group, 0/11²¹ and 0/16²² patients with high-risk PDR demonstrated complete regression of new vessels 16 weeks after PRP. In the more recent study²², all patients were retreated at week 16 (with a maximum of 500 additional spots per quadrant where active new vessels were present) and at week 32, yet no patients demonstrated complete FLA regression (unpublished data). Emanuele et al.²³ have reported a more aggressive behavior of PDR among Latinos and black Americans with diabetes; 64% and 28% of the patients included in our study were white Hispanic and black patients, respectively. The main reason for disease aggressiveness has been reported to be poor glycemic control²³ and, indeed, 96% of patients in the present study (21/22) had glycosylated hemoglobin values higher than 7%, consistent with other high-risk PDR studies from our group by Tonello et al.²¹ and Ramos-Filho et al.²², in which 97% and 100% of patients, respectively, had glycosylated hemoglobin values higher than 7%.

In the current study, CSMT analysis was limited due to a small proportion of patients (n=7/22) who demonstrated clinically significant macular edema (CSMT > 300 μ m) at baseline. Despite this limitation, during the first 6-week period, a significant reduction in CSMT was observed. Additionally, significant improvement in visual acuity occurred during the first 12 weeks of follow-up. After follow-up week 12, the improvement in BCVA was no longer statistically significant, probably due to loss of follow-up of 3 patients who had previously shown BCVA and CSMT improvement. A significant CSMT reduction was observed at weeks 24 and 36, but no longer at week

48, at which time there was a trend towards significance ($p=0.06$). The independent association of IVR with CSMT reduction at longer follow-up durations (after week 12) may also be related to the small proportion of patients who continued the study and had baseline CSMT higher than $300\mu\text{m}$. With a limited margin for CSMT improvement, BCVA had also limited improvement and did not reach statistical significance after week 12. Other factors, such as macular perfusion status change and influence of rescue focal/grid laser may have influenced BCVA outcomes after week 12 and also limit the present study results.

The study suggests that a 0.5 mg IVR injection every three months was safe in patients with persistent diabetic new vessels. Further, IVR treatment was associated with significant regression of NV in patients with diabetic NV refractory to PRP, as well as maintenance of BCVA and CSMT close to baseline values throughout a 48-week follow-up period (Figures 1B and 1C). Additionally, no sight-threatening complications of PDR, such as vitreous hemorrhage or tractional retinal detachment, were observed. Future studies with larger sample sizes are warranted to more comprehensively evaluate the potential role of ranibizumab treatment in patients with persistent new vessels secondary to diabetic retinopathy.

REFERENCES

1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. *Ophthalmology*. 1991;98:823-33.

-
2. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 1994;118:445-50.
 3. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med.* 1994;331:1480-7.
 4. Malecaze F, Clamens S, Simorre-Pinatel V, et al. Detection of vascular endothelial growth factor messenger RNA and vascular endothelial growth factor-like activity in proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 1994;112:1476-82.
 5. Vander JF, Duker JS, Benson WE, et al. Long-term stability and visual outcome after favorable initial response of proliferative diabetic retinopathy to panretinal photocoagulation. *Ophthalmology.* 1991;98:1575-9.
 6. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. *Ophthalmology.* 1991;98:766-85.
 7. Flynn HW Jr, Chew EY, Simons BD, et al. Pars planavitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ETDRS report number 17. *Ophthalmology.* 1992;99: 1351-7.
 8. Miller JW, Adamis AP, Shima DT, et al: Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is temporally and spatially correlated with ocular angiogenesis in a primate model. *Am J Pathol.* 1994;145:574-84.
 9. Pierce EA, Avery RL, Foley ED, et al: Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in a mouse model of retinal neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:905-9.

-
10. Adamis AP, Shima DT, Tolentino MJ, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor prevents retinal ischemia associated iris neovascularization in a nonhuman primate. *Arch Ophthalmol*. 1996;114:66-71.
 11. Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, et al. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:10457-61.
 12. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, et al; MARINA Study Group Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006;355:1419-31.
 13. Chun DW, Heier JS, Topping TM, et al, A Pilot Study of Multiple Intravitreal Injections of Ranibizumab in Patients with Center-Involving Clinically Significant Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology*. 2006;113:1706-12.
 14. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Elman MJ, Aiello LP, Beck RW, Bressler NM, Bressler SB, Edwards AR, Ferris FL 3rd, Friedman SM, Glassman AR, Miller KM, Scott IU, Stockdale CR, Sun JK. Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2010;117:1064-77.
 15. Schmidinger G, Maar N, Matthias Bolz M, et al. Repeated intravitreal bevacizumab (Avastin®) treatment of persistent new vessels in proliferative diabetic retinopathy after complete panretinal photocoagulation. *Acta Ophthalmol*. 2011;89(1):76-81.
 16. Jorge R, Costa RA, Calucci D, et al; Intravitreal Bevacizumab (AVASTIN) For Persistent New Vessels in Diabetic Retinopathy (IBEPE STUDY). *Retina*. 2006;26:1006-13.
 17. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. Early vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy in eyes with useful vision. Results of a

-
- randomized trial–Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Report 3. *Ophthalmology*. 1988;95(10):1307-20.
18. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289:2560-72. Erratum in: *JAMA* 2003;290:197.
19. Chylack LT, Wolfe JK, Singer DM, et al. The lens opacities classification system III. *Arch Ophthalmol*. 1993;111:831-6.
20. Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, Pulido JS, Ezzat MK, Singh RJ. Pharmacokinetics of intravitreal ranibizumab (Lucentis). *Ophthalmology*. 2007; 114:2179-82.
21. Tonello M, Costa RA, Almeida FPP, et al. Panretinal photocoagulation versus PRP plus intravitreal bevacizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy (IBeHi study). *Acta Ophthalmol*. 2007;86:385-9.
22. Ramos-Filho JA, Messias A, Almeida FPP, Ribeiro JAS, Costa RA, Scott IU, Jorge R. Panretinal photocoagulation (PRP) versus PRP plus intravitreal ranibizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2011;89(7):e567-72.
23. Emmanuele N, Sacks J, Klein R, et al. Veterans affairs diabetes trial group. *Diabetes Care*. 2005;28:1954-8.

FIGURES LEGEND

Figure 1: (A) Shows mean FLA during follow-up. Fluorescein leakage from active NV was observed in 1/22, 7/22, 18/22, 16/20, 16/19 and 17/19 patients at 1, 6, 12, 24, 36 and 48 weeks, respectively. (B) Shows mean BCVA during follow-up. (C) Shows mean CSMT during follow-up.

Figure 2: Mean FLA change (%) comparison between patients treated with intravitreal bevacizumab (blue line (data from Jorge et al., 2006, n=15) and patients from the present study treated with intravitreal ranibizumab (red line; n=22). Points are the mean and error bars represent error of the mean FLA = fluorescein leakage area.

Figure 1

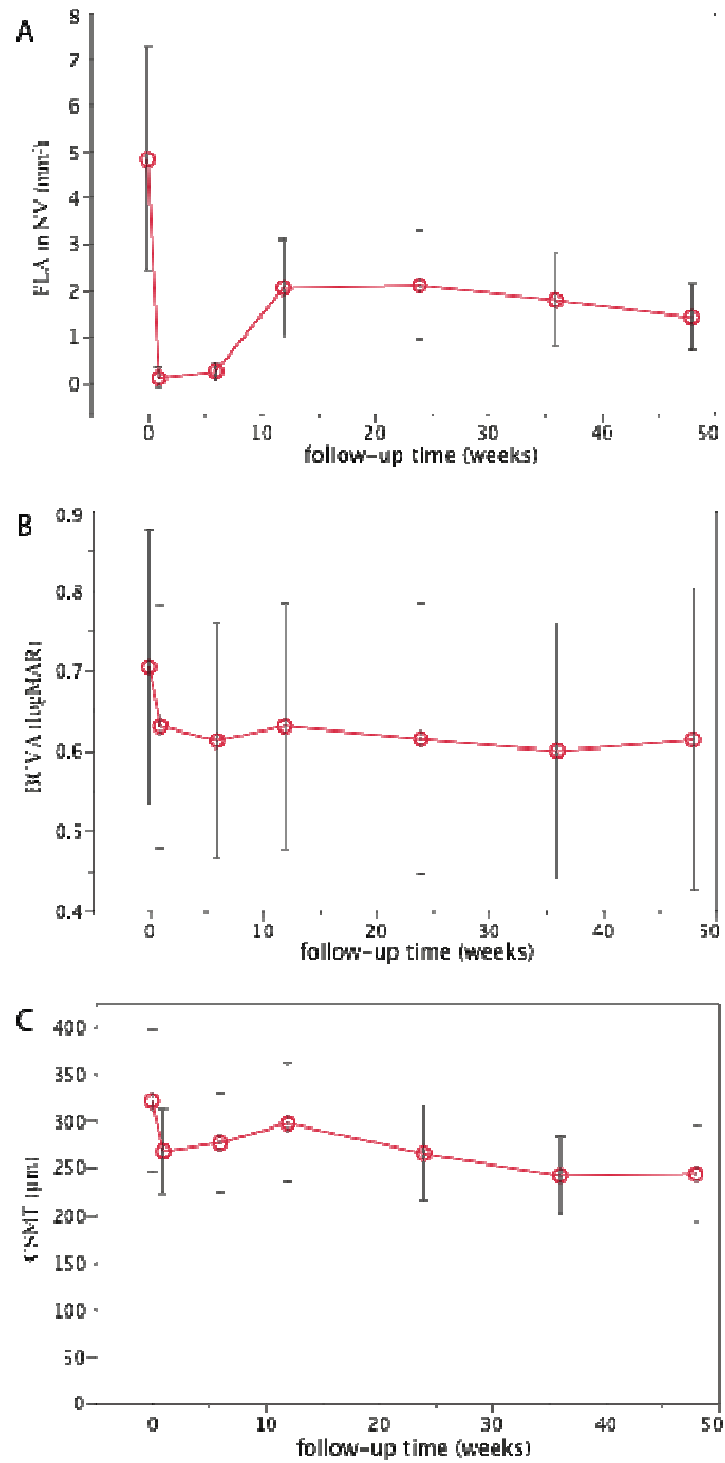


Figure 2

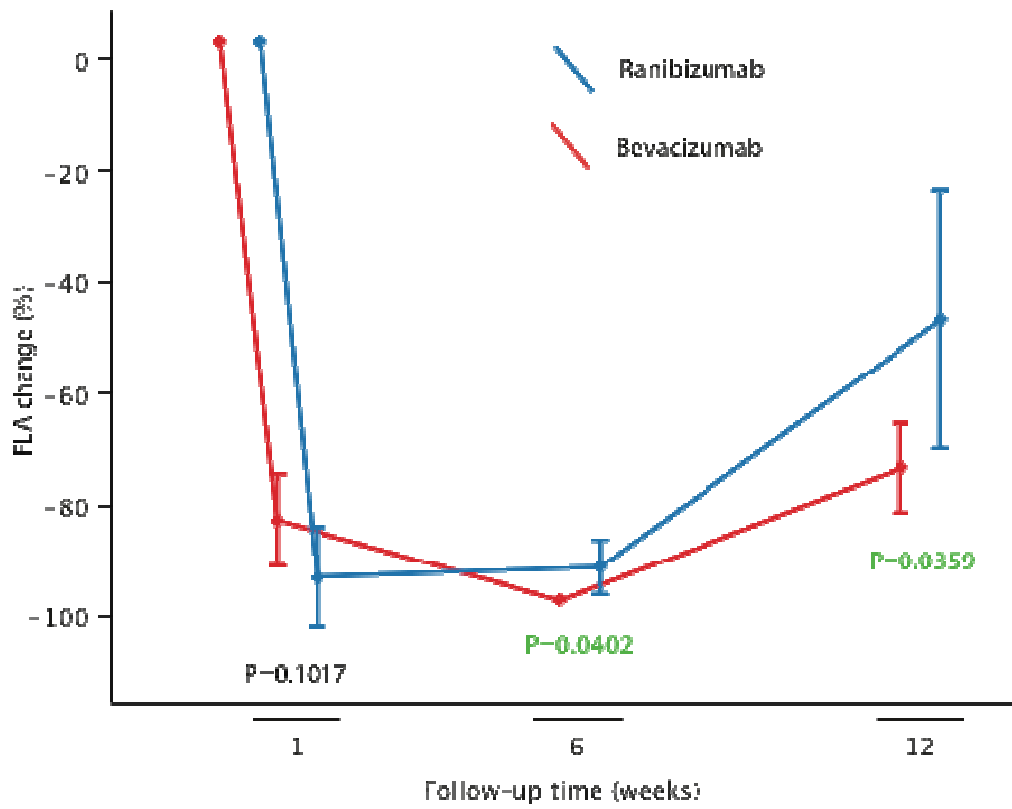


Table 1: Diabetes type, glycosylated hemoglobin levels and patients demographics.

#	Sex	DM (type)	Age (years)	Duration (years)	HbA1C (%)
1	M	II	58	4	8.9
2	M	II	55	25	8.1
3	M	II	61	20	9.8
4	M	II	53	15	7.3
5	M	II	72	30	10.2
6	F	II	62	23	10.3
7	M	II	56	15	8.3
8	M	I	31	16	10.4
9	F	II	67	10	12.7
10	M	II	59	15	7.8
11	M	II	68	14	10.3
12	M	II	64	23	11.6
13	M	II	61	20	10.0
14	M	II	56	30	10.6
15	F	II	65	30	9.6
16	F	II	68	40	12.1
17	F	II	62	10	7.6
18	F	II	60	10	6.0
19	M	II	69	10	8.2
20	F	II	62	29	10.7
21	F	II	62	15	8.1
22	F	II	61	14	7.9
Mean ± SD			61 ± 8 (SD)	19 ± 9 (SD)	9.4±1.7(SD)

DM = diabetes mellitus; HbA1C = glycosylated hemoglobin; SD: standard deviation.

Ranibizumab for Retinal Neovascularization



Dear Editor:

Proliferative diabetic retinopathy (PDR) is an important cause of severe vision loss in patients with diabetes mellitus.¹ Laser photocoagulation is the standard treatment for retinal or optic disc neovascularization, and approximately 60% of patients respond to panretinal photocoagulation (PRP) with regression of neovascularization within 3 months.² However, in some cases complete regression of neovascularization does not occur after PRP, but rather, persistent retinal neovascularization is present³ and approximately 4.5% of patients require pars plana vitrectomy despite PRP. Such cases, as well as the demonstrated upregulation of intravitreal vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with retinal neovascularization, have prompted investigations about anti-VEGF drugs for management of this condition.

Based on the promising results using bevacizumab,³ we evaluated the effects of another humanized anti-VEGF-A neutralizing drug, intravitreal ranibizumab (IVR), in diabetic patients with persistent new vessels (NV) unresponsive to PRP performed at least 4 months prior,⁴ with best-corrected visual acuity (BCVA) of 20/32 or worse. Patients were not enrolled if they had a history of vitrectomy, thromboembolic event, surgery within the prior 6 months or planned within the next 28 days, uncontrolled hypertension, or known coagulation abnormalities. If both eyes were eligible for treatment, the eye with worse visual acuity was included.

Evaluations included Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) BCVA, slit lamp biomicroscopy, indirect funduscopic examination, and fluorescein angiography (FA) (TRC-501A; Topcon, Tokyo, Japan). Fluorescein leakage area (FLA) was measured using IMAGEnet software. Patients were scheduled for follow-up examinations at weeks 1, 6, 12(±1), 24(±2), 36(±2), and 48(±2) after IVR treatment, and were re-treated if any active new vessel was detected on FA. Three measures were used to evaluate the short-term effects of ranibizumab: (1) total area (measured in mm²) of fluorescein leakage from active NV (NV at the disc and/or NV elsewhere); (2) changes in logMAR BCVA; and (3) central subfield macular thickness (CSMT). One-way analysis of variance for repeated measures (MANOVA) was used to evaluate differences in NV area, logMAR BCVA, CSMT and intraocular pressure between each visit. The significance level adopted was 0.05.

Twenty-two patients (9 women; mean age: 61 ± 9 years; mean glycosylated hemoglobin: 9.4 ± 1.7%; 21 with diabetes mellitus type II) completed the 24 weeks of follow-up (1 patient died and 1 missed 2 consecutive study visits after week 12), while 19 patients completed 36 and 48 weeks (1 patient missed 2 consecutive study visits after week 24). No clinical evidence of ocular toxicity was observed for the 22 patients treated in this study. Intraocular pressure and lens status did not change significantly throughout follow-up (data not presented).

On average, FLA was reduced to 4% of baseline 1 week after treatment, and although it returned to 45% of baseline at week 48, it remained statistically significantly lower than baseline throughout follow-up (Table 1, available at <http://aaojournal.org>). Eighteen patients were retreated with IVR at week 12, 16 patients at week 24, and 16 patients at week 36 (Figure 1 and Table 1; available at <http://aaojournal.org>).

Mean BCVA was 20/100 at baseline and showed improvement of 1 ETDRS line from the 1st until 12th after treatment. CSMT demonstrated significant, although modest, reduction compared with baseline at weeks 1, 6, 24, and 36 (Table 1; available at <http://aaojournal.org>). Eight of 22 eyes received focal/grid laser treatment for macular edema (CSMT >300 μm) during follow-up.

FLA reduction 1 week after IVR injection was similar to our previous findings in 15 patients, also with persistent new vessels, treated with 1.5 mg of intravitreal bevacizumab,³ but interestingly, effects of bevacizumab injection were stronger than IVR at the 6th and 12th weeks after treatment (Figure 2, available at <http://aaojournal.org>), suggesting a longer lasting effect of bevacizumab on FLA reduction. This difference may be explained by the 2-times higher half-life of bevacizumab,⁵ and consequently, fewer injections of bevacizumab may be necessary to control persistent retinal new vessels in the long term.

The relatively consistent number of patients needing IVR retreatment at weeks 12 (18 patients), 24 (16 patients), and 36 (16 patients), and the maintenance of mean FLA around 2 mm² on these visits (Figure 1, available at <http://aaojournal.org>), suggest that the persistent new vessels did not tend to regress after an IVR injection every 3 months during a 1 year follow-up and additional injections would likely be needed on subsequent follow-up visits.

No ocular adverse events including sight-threatening complications of PDR, such as vitreous hemorrhage or tractional retinal detachment, were observed. Future studies with larger sample sizes are warranted to more comprehensively evaluate the potential role of ranibizumab treatment in patients with persistent new vessels secondary to diabetic retinopathy.

RODRIGO JORGE, MD, PhD
RODRIGO S. OLIVEIRA, MD
ANDRE MESSIAS, MD
FELIPE P. ALMEIDA, MD
MARIO L. STRAMBE, COT
ROGÉRIO A. COSTA, MD, PhD
Ribeirão Preto, Brazil

INGRID U. SCOTT, MD, MPH
Hershey, Pennsylvania

References

1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. *Ophthalmology* 1991; 98:823–33.
2. Vander JF, Duker JS, Benson WE, et al. Long-term stability and visual outcome after favorable initial response of proliferative diabetic retinopathy to panretinal photocoagulation. *Ophthalmology* 1991;98:1575–9.
3. Jorge R, Costa RA, Calucci D, et al; Intravitreal bevacizumab (AVASTIN) for persistent new vessels in diabetic retinopathy (IBEPE study). *Retina* 2006;26:1006–13.
4. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. Early vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy in eyes with useful vision. Results of a randomized trial—Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Report 3. *Ophthalmology* 1988;95:1307–20.
5. Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, et al. Pharmacokinetics of intravitreal ranibizumab (Lucentis). *Ophthalmology* 2007; 114:2179–82.

Letters to the Editor

Table 1. Means and Standard Deviations for Fluorescein Angiography Leakage from Active New Vessels (FLA), Best-Corrected Visual Acuity (BCVA); Central Subfield Macular Thickness (CSMT) and Intraocular Pressure (IOP) for All Visits

Week	FLA (mm ²)	BCVA (LogMAR)	CSMT (μm)	IOP (mmHg)
Baseline	4.8±5.7	0.7±0.4	321.3±175.8	15.8±2.2
1	0.1±0.5 (P = 0.0009)	0.6±0.4 (P = 0.0136)	267.6±104.5 (P = 0.0373)	16.0±2.3 (P = 0.4923)
6	0.3±0.4 (P = 0.0011)	0.6±0.3 (P = 0.0222)	276.7±123.9 (P = 0.0110)	15.2±2.9 (P = 0.2379)
12	2.1±2.4 (P = 0.0113)	0.6±0.4 (P = 0.0273)	297.7±148.1 (P = 0.1665)	15.4±2.6 (P = 0.4543)
24	2.1±2.5 (P = 0.0254)	0.6±0.4 (P = 0.1472)	260.9±109.1 (P = 0.0179)	16.5±3.5 (P = 0.5434)
36	1.8±2.2 (P = 0.0097)	0.6±0.3 (P = 0.1141)	241.9±89.9 (P = 0.0349)	17.0±3.1 (P = 0.1944)
48	1.4±1.6 (P = 0.0103)	0.6±0.4 (P = 0.3900)	243.7±111.6 (P = 0.0641)	16.7±3.4 (P = 0.3374)

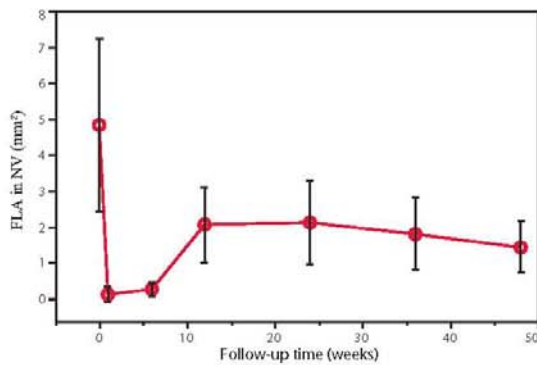


Figure 1. Mean FLA (mm²) after intravitreal ranibizumab injection by visit in diabetic patients with persistent actively leaking new vessels. The bars indicate the range of 95% and the circles represent the mean. FLA = fluorescein leakage area; NV = new vessels.

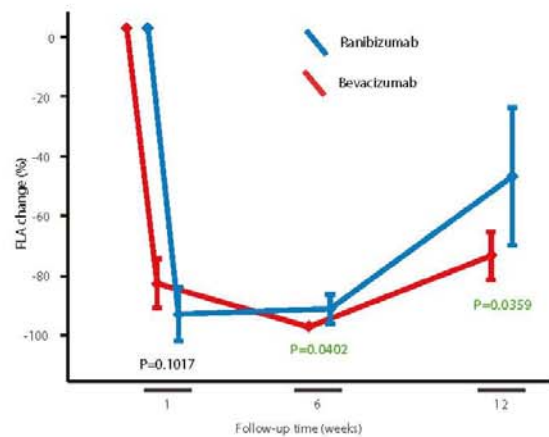


Figure 2. Mean FLA change (%) comparison between patients treated with intravitreal bevacizumab (blue line) (data from Jorge et al., 2006; n = 15) and patients from the present study treated with intravitreal ranibizumab (red line; n = 22). Points are the mean and error bars represent the standard error of the mean. FLA = fluorescein leakage area.