DANIEL ARAUJO FERRAZ

**Estudo comparativo de fotocoagulação panretiniana
com e sem ranibizumabe intravítreo no tratamento
da retinopatia diabética proliferativa**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo como parte dos requisitos
para obtenção de título de Doutor em Ciências

Programa de Oftalmologia

Orientador: Prof. Dr. Walter Yukihiro Takahashi

São Paulo

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ferraz, Daniel Araujo

Estudo comparativo de fotocoagulação panretiniana com e sem ranibizumabe intravítreo no tratamento da retinopatia diabética proliferativa / Daniel Araújo Ferraz. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Oftamologia.

Orientador: Walter Yukihiro Takahashi.

Descritores: 1.Complicações do diabetes 2.Retinopatia diabética/terapia 3.Retinopatia diabética/complicações 4.Tomografia de coerência óptica/métodos 5.Lasers/utilização 6.Inibidores da angiogênese/uso terapêutico 7.Fator A de crescimento endotelial vascular/antagonistas & inibidores 8.Ranibizumabe

USP/FM/DBD-236/15

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Izabel e Mariano, por me transmitirem seus valores de vida e pelo amor incondicional. São meus espelhos e fontes de inspiração e orgulho.

Ao meu irmão, Thiago, *in memoriam*, pelo constante incentivo e por estar presente em importantes etapas de minha vida.

Ao professor Walter Yukihiro Takahashi, por uma irretocável e excelente orientação e por me mostrar o caminho para a ciência crítica e de mais alta qualidade. Modelo não só de ética, mas também de conhecimento e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Mário Luiz Monteiro, chefe da Pós Graduação do departamento de Oftalmologia da FMUSP, pelos ensinamentos acadêmicos e pelo incentivo constante durante a pós-graduação.

À Dra. Cleide Guimarães Machado, por toda contribuição e atenção dispensados na análise e comentários deste trabalho.

À Dra. Lisa Mariel Vasquez Ramirez, grande amiga e contribuidora durante toda a pós-graduação.

Ao Dr. Celso Morita, pelo apoio e amizade inestimável. Pessoa determinante para minha formação profissional e pessoal.

Ao Dr. Eduardo Cunha de Souza, amigo acolhedor, sincero, conselheiro, honesto e grande contribuidor de nossos conhecimentos de Retina e Vítreo.

À Senhora Regina Ferreira de Almeida, cuja ajuda e atuação presente tornam-se fundamentais para a realização dos nossos projetos na pós-graduação na Disciplina de Oftalmologia da FMUSP.

À Senhora Ana Maria de Queiroz Praxedes, pela ajuda na correção da língua portuguesa.

Aos colegas da pós-graduação, pelo apoio e pela ajuda em diversos momentos de dúvidas e necessidades, em especial, André Torricelli e Clara Afonso.

Aos doutores: Millena Bittencourt e Raafay Sophie, pela ajuda na análise estatística e escrita do trabalho, e a toda a equipe do *Retinal Imaging Research and Reading Center, Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins University, Baltimore,*

Maryland, United States, em especial, a Quan Dong Nguyen, pelo senso crítico e pela gentileza que inspira a todos.

Aos médicos assistentes, pós-graduandos, residentes e estagiários da Disciplina de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial aos doutores: Augusto Alves da Motta, André Barros, Tiago Arantes, Raquel Paes Barreto, Vinicius Paganini, Sonia Lee, Mariana Yamaguishi, Beatriz Takahashi, Allan Pieroni Gonçalves, Jeane Chiang e Paulo Zantut.

À enfermeira Heloisa Helena Ramos e a auxiliar de enfermagem Deize Meire Cândido, por ter contribuído com sua ajuda nas instalações do ambulatório, para que os pacientes fossem plenamente atendidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro por meio da bolsa de doutorado demanda social e do programa de doutorado sanduíche no exterior 12258-12-1.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por me apoiar financeiramente como bolsista.

Aos pacientes, sem os quais esta pesquisa não seria possível.

À todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

Lista de Figuras

Lista de Gráficos

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1	Introdução.....	1
2	Objetivos.....	3
3	Revisão da Literatura.....	4
3.1	Epidemiologia do <i>Diabetes Mellitus</i> e retinopatia diabética	4
3.2	Patogênese	7
3.3	Classificação da Retinopatia Diabética	9
3.4	Tratamento	13
3.4.1	Fotocoagulação a <i>LASER</i>	13
3.4.2	Injeção intravítrea	15
4	Métodos.....	27
4.1	Tipo de Estudo	27
4.2	População e Amostra	27
4.3	Crítérios de Inclusão.....	29
4.4	Crítérios de Exclusão.....	30
4.5	Visita de Qualificação	31
4.5.1	Exame Oftalmológico.....	31
4.5.2	Retinografia e Angiofluoresceinografia	34
4.5.3	Tomografia de Coerência Óptica	34
4.6	Tratamento	36
4.6.1	Panfotocoagulação retiniana	36
4.6.2	Injeção intravítrea de Ranibizumabe.....	38

4.7	Avaliações no seguimento.....	39
4.8	Plano de Trabalho	41
4.9	Análise Estatística	43
5	Resultados.....	44
5.1	Pacientes no <i>Baseline</i>	44
5.2	Tratamento	47
5.3	Resultados Principais	50
5.4	Resultados de segurança	60
6	Discussão	62
7	Conclusões	69
8	Anexos.....	70
9	Referências.....	71

Apêndice

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	-	porcentagem
±	-	mais ou menos
AALM	-	Augusto Alves Lopes da Motta
AV	-	Acuidade visual
AGE	-	Produtos de glicação avançada
AGF	-	Angiofluoresceinografia
AMD	-	<i>Age-related Macular Degeneration</i>
ANCHOR	-	<i>Anti-VEGF Antibody for the Treatment of Predominantly Classic Choroidal Neovascularization in AMD</i>
BVZ	-	Bevacizumabe
CA	-	Califórnia
CAPPesq	-	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HC-FMUSP
cpg	-	Ciclos por grau
DAF	-	Daniel Araujo Ferraz
DCCT	-	<i>Diabetes Control and Complications Study</i>
DM	-	<i>Diabetes mellitus</i>
DMRI	-	Degeneração macular relacionada à idade
dp	-	Desvio-padrão
DRCR.net	-	<i>Diabetic Retinopathy Clinical Research Network</i>
DRS	-	<i>Diabetic Retinopathy Study</i>
DRVS	-	<i>Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study</i>

DVP	-	Descolamento de vítreo posterior
ETDRS	-	<i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i>
EF	-	Espessura foveal
EM	-	Edema macular
EMCS	-	Edema macular clinicamente significativo
EMD	-	Edema macular diabético
EPR	-	Epitélio pigmentar da retina
et al	-	e outros autores
EUA	-	Estados Unidos da América
FDA	-	<i>Food and Drug Administration</i>
GC	-	Grupo Controle
GE	-	Grupo de Estudo
HbA1C	-	Hemoglobina glicada
HCFMUSP	-	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HV	-	Hemorragia vítrea
HAS	-	Hipertensão arterial sistêmica
ICAM-1	-	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>
ICHCFMUSP	-	Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Inc	-	<i>Incorporated</i>
LASER	-	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
LMV	-	Lisa Mariel Vasquez
Log	-	Logaritmo

MARINA	-	<i>(Minimally Classic/ Occult Trial of the Anti-VEGF Antibody Ranibizumab in the Treatment of Neovascular AMD)</i>
mg	-	Miligrama
mmHg	-	Milímetro de Mercúrio
NDIC	-	<i>National Diabetes Information Clearinghouse</i>
NV	-	Neovasos
OH	-	Ohio
NO	-	Óxido Nítrico
p	-	Significância Estatística
PFC	-	Panfotocoagulação
PEDF	-	<i>Pigment Epithelium-Derived Growth Factor</i>
PRN	-	do latim, <i>pro re nata</i>
PCK	-	Proteína C quinase
PRP	-	Panretinal photocoagulation
RBZ	-	Ranibizumabe
RCP	-	Rony Carlos Preti
RD	-	Retinopatia diabética
RDP	-	Retinopatia diabética proliferativa
READ	-	<i>Ranibizumab for Edema of the Macula in diabetes</i>
RESOLVE	-	<i>Safety and Efficacy of Ranibizumab in Diabetic Macular Edema With Center Involvement</i>
RESTORE	-	<i>A 12 Month Core Study to Assess the Efficacy and Safety of Ranibizumab (Intravitreal Injections) in Patients With Visual Impairment Due to Diabetic Macular Edema and a 24 Month Open-label Extension Study</i>

<i>RIDE</i>	- <i>A Study of Ranibizumab Injection in Subjects With Clinically Significant Macular Edema (ME) With Center Involvement Secondary to Diabetes Mellitus (RIDE)</i>
<i>RISE</i>	- <i>A Study of Ranibizumab Injection in Subjects With Clinically Significant Macular Edema (ME) With Center Involvement Secondary to Diabetes Mellitus (RISE)</i>
SC	- Sensibilidade ao contraste
Seg	- Segundos
Stratus OCT	- terceira versão comercial do OCT
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
OCT	- Tomografia de coerência óptica
TAAC	- Triancinolona
<i>UKPD</i>	- <i>United Kingdom Prospective Diabetic Study</i>
<i>USA</i>	- <i>United States of America</i>
USG	- Ultrassonografia
<i>VCTS</i>	- <i>Vistech Consultants Incorporation</i>
VEGF	- Fator de crescimento vascular endotelial
VVPP	- Vitrectomia posterior via pars plana
<i>WESDR</i>	- <i>Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy</i>
µm	- micrômetro

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Classificação da Retinopatia Diabética Segundo o *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*. 10
- Figura 2.** Tabela de sensibilidade ao contraste (*VCTS 6500, Vistech Consultants Inc., Dalton, Ohio, USA*) 33
- Figura 3.** Mapa topográfico da superfície macular da retina dos olhos direito e esquerdo..... 35
- Figura 4.** Instrumentos utilizados para a realização da panfotocoagulação retiniana. Aparelho de LASER Ophthalas 532 Eyelite, Alcon Surgical, acima e direita, lente Mainster OMRA-PRP 160, Volk Instruments, Bellevue, CA, USA e Area Centralis Volk Instruments, Bellevue, CA, USA e abaixo marcas de LASER no setor inferior da retina..... 37
- Figura 5.** Graduação da hemorragia vítrea pela oftalmoscopia indireta 40

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Média de acuidade visual (AV) corrigida através da tabela de ETDRS a 4,0 metros em letras, para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para todos os olhos estudados..... 51
- Gráfico 2.** Média da espessura foveal (EF) mensuradas pelo OCT em micra para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para todos os olhos estudados 51
- Gráfico 3.** Média de acuidade visual (AV) corrigida através da tabela de ETDRS a 4,0 metros em letras, para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para os olhos com edema macular diabético (EMD) 52
- Gráfico 4.** Média da espessura foveal (EF) mensuradas pelo OCT em micra para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para os olhos com edema macular diabético (EMD) 52
- Gráfico 5.** Média de acuidade visual (AV) corrigida através da tabela de ETDRS a 4,0 metros em letras, para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para os olhos sem EMD54
- Gráfico 6.** Média da espessura foveal (EF) mensuradas pelo OCT em micra para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle 54

Gráfico 7.	Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 1,5 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle	56
Gráfico 8.	Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 3,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle	56
Gráfico 9.	Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 6,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle	57
Gráfico 10.	Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 12,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle	57
Gráfico 11.	Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 18,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle	58
Gráfico 12.	Evolução da sensibilidade nos diferentes contrastes durante o período de acompanhamento segundo os grupos tratados a <i>LASER</i> e o grupo tratado a <i>LASER</i> + RBZ	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Dados demográficos e características oculares de todos os pacientes	45
Tabela 2.	Dados demográficos e características oculares dos pacientes com EMD	46
Tabela 3.	Dados demográficos e características oculares dos pacientes sem EMD	47
Tabela 4.	Sumário do tratamento com <i>LASER</i> em todos os pacientes.....	48
Tabela 5.	Sumário do tratamento com <i>LASER</i> dos pacientes com EMD.....	49
Tabela 6.	Sumário do tratamento com <i>LASER</i> dos pacientes sem EMD.....	49

RESUMO

Ferraz DA. *Estudo comparativo de fotocoagulação panretiniana com e sem ranibizumabe intravítreo no tratamento da retinopatia diabética proliferativa* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015. 84p.

Objetivo: Comparar o efeito da terapia da fotocoagulação panretiniana (PFC) associada à injeção intravítrea de Ranibizumabe (RBZ) versus terapia isolada com PFC em pacientes com retinopatia diabética proliferativa (RDP) precoce, virgens de tratamento, com ou sem edema macular diabético (DME) durante 6 meses de acompanhamento. **Projeto:** Estudo prospectivo intervencionista, randomizado e controlado. **Métodos:** Sessenta olhos de 30 pacientes com RDP bilateral precoce foram randomizados para o grupo de estudo (GE) que foram tratados com PFC associado a duas injeções de RBZ intravítreo (0.5mg/0.05ml) ou para o grupo controle (GC) tratados apenas com PFC. Mudanças na acuidade visual (AV) corrigida, na sensibilidade ao contraste (SC) e na espessura foveal (EF) foram comparados no início, e nos 1, 3 e 6 meses após o tratamento. **Resultados:** No GE, a diferença na média da AV do *baseline* para o mês 6 teve um aumento significativo de + 3,4 letras ($p = 0,006$) e uma diminuição significativa na EF de - 47.6 μ m ($p < 0,001$). No GC, a diferença na média da AV teve uma diminuição de - 3,4 letras ($p = 0,04$) e uma mudança na EF de -3.8 μ m ($p = 0,96$). Com relação ao teste de SC dentre os 28 olhos do GE, houve uma melhora no mês 6 em relação ao *baseline* nos ciclos: 1,5 ($p < 0,001$) e 3,0 ciclo ($p = 0,023$). Dentre os 30 olhos do GC, não houve uma diferença estatística nos momentos estudados. **Conclusão:** A injeção intravítrea de RBZ associado com PFC pode ser um tratamento eficaz em olhos de pacientes com RDP precoce e EMD.

Descritores: 1.Complicações do diabetes 2.Retinopatia diabética/terapia 3.Retinopatia diabética/complicações 4.Tomografia de coerência óptica/métodos 5.Lasers/utilização 6.Inibidores da angiogênese/uso terapêutico 7.Fator A de crescimento endotelial vascular/ antagonistas & inibidores 8.Ranibizumabe

ABSTRACT

Ferraz DA. *A comparative study of panretinal photocoagulation with and without intravitreal ranibizumab in treatment of proliferative diabetic retinopathy* [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2015. 84p.

Purpose: To compare the efficacy of therapy with panretinal photocoagulation (PRP) and intravitreal ranibizumab (RBZ) injection versus PRP alone in patients with treatment-naïve bilateral non-high risk proliferative diabetic retinopathy (PDR) with and without diabetic macular edema (DME) with a 6-month follow-up. **Design:** Prospective, interventional, randomized controlled trial. **Methods:** Sixty eyes of 30 patients with bilateral non-high risk PDR were randomized either to the study group (SG) receiving PRP plus two intravitreal ranibizumab injections (0.5mg/0.05ml), the first one week before and the second four weeks after the PRP or to the control group (CG) receiving PRP alone. Mean change in best-corrected visual acuity (BCVA), contrast sensitivity (CS) and central macular thickness (CMT) were compared at baseline and 1, 3 and 6 months after treatment. **Results:** Changes from baseline to 6 months showed in the SG an increased in the BCVA by +3.4 letters ($p= 0.006$) with a decrease in CMT by $- 47.6\mu\text{m}$ ($p < 0.001$). In the CG, a decrease by $- 3.4$ letters ($p = 0.04$) and an decrease by $-3.8\mu\text{m}$ ($p= 0.96$). Regarding the CS in the SG, there was an improvement compared to baseline for the sixth month in the 1.5 ($p < 0.001$) and 3.0 cycles ($p = 0.023$). The CG did not show significant results from baseline to month 6. **Conclusion:** Intravitreal RBZ associated with PRP can be an effective treatment in eyes with non-high risk PDR and DME.

Descriptors: 1.Diabetes complications 2.Diabetic retinopathy/therapy 3.Diabetic retinopathy/complications 4.Optical coherence tomography/methods 5.Lasers/utilization 6.Angiogenesis inhibitors/therapeutic use 7.Vascular endothelial growth factor A/antagonists & inhibitors 8.Ranibizumab

1 Introdução

A retinopatia diabética (RD) é uma das mais importantes causas de perda de visão nos países desenvolvidos⁽¹⁾. Em pacientes com RD, a presença de neovascularização da retina (NV) é um fator de risco considerável para perda de visão severa⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾. Entretanto, a fotocoagulação panretiniana (PFC) a *LASER* é considerada o tratamento padrão para NV associada à RD de acordo com o *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* (ETDRS)⁽⁵⁾. Aproximadamente 60% dos pacientes com retinopatia diabética proliferativa (RDP) tratados com PFC tem uma redução dos NV em 3 meses⁽⁶⁾. No entanto, uma certa proporção de pacientes necessitam de *LASER* adicional, e alguns deles ainda precisam de Vitrectomia Posterior (VVPP) apesar de ter recebido tratamento adequado com PFC⁽⁷⁾⁽⁸⁾. Além disso, a PFC também está associada com um risco aumentado de desenvolver edema macular diabético (EMD)⁽²⁾⁽⁹⁾. Apesar do prognóstico visual a longo prazo em pacientes com RDP tratados com PFC ser geralmente bom⁽⁴⁾, a perda visual progressiva pode ocorrer em quase 5% dos pacientes, a despeito do tratamento⁽²⁾.

Como o tratamento com PFC não alcança resultados ideais, tem sido relatada a utilização de agentes como o inibidor do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) como terapia adjuvante⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾. Dentre eles, o Ranibizumabe (RBZ) (Lucentis Novartis Pharma AG, Basileia, Suíça e

Genentech Inc., South San Francisco, CA, EUA) é um agente aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de EMD. O RBZ é um fragmento de anticorpo monoclonal humanizado que liga-se a múltiplas isoformas de VEGF-A⁽¹²⁾. Recentemente, Filho et al.⁽¹³⁾ analisaram o uso adjuvante com uma única injeção de RBZ uma semana após o tratamento com PFC em pacientes com RDP de alto risco e relataram que o RBZ aparentemente, tinha um efeito protetor contra a perda de visão, quando comparados com pacientes tratados apenas com PFC.

Porém, nenhuma subdivisão de olhos de acordo com a presença ou ausência de EMD foi realizada. Googe et al.⁽¹⁴⁾ da mesma forma investigaram o uso de RBZ ou triancinolona (TAAC) intravítreos associado à PFC no tratamento de pacientes com EMD e RD não proliferativa muito grave e RDP. Neste ensaio clínico os resultados favoráveis ao tratamento do EMD foram atribuídos ao efeito da TAAC ou RBZ, particularmente num período a curto prazo, comprovado pela melhora da AV e redução do EMD na 14^a. semana. No entanto, o impacto destes tratamentos não pode ser determinado além das 14 semanas. Até o momento não foi descrito o efeito adjuvante do RBZ associado a PFC em pacientes com RDP precoce, com ou sem EMD.

2 Objetivos

O presente ensaio clínico comparativo, mascarado, de centro único e randomizado propõe-se a avaliar os efeitos do Ranibizumabe associado à fotocoagulação panretiniana no tratamento da retinopatia diabética proliferativa, comparando-se entre os grupos de estudo e controle as seguintes variáveis:

- 1) Avaliação da função visual: medida da acuidade visual e sensibilidade ao contraste;
- 2) Avaliação estrutural retiniana: medida da espessura macular (espessura foveal);
- 3) Incidência de hemorragia vítrea;
- 4) Identificar os efeitos adversos da aplicação do RBZ intravítreo tais como: aumento da pressão intraocular, aparecimento de catarata e de endoftalmite.

3 Revisão da Literatura

3.1 Epidemiologia do *Diabetes Mellitus* e retinopatia diabética

O *Diabetes mellitus* (DM) é uma doença metabólica caracterizada por um aumento anormal da glicose sanguínea⁽¹⁵⁾. A glicose é a principal fonte de energia do organismo porém, quando em excesso, pode trazer várias complicações à saúde como por exemplo o excesso de sono no estágio inicial, problemas de cansaço e problemas físicos-táticos em efetuar as tarefas desejadas. Quando não tratada adequadamente, podem ocorrer complicações como infarto agudo do miocárdio, derrame cerebral, insuficiência renal, problemas de visão, amputação de membros e lesões de difícil cicatrização, dentre outras complicações. Embora ainda não haja uma cura definitiva para o diabetes há vários tratamentos disponíveis que, quando seguidos de forma regular, proporcionam saúde e qualidade de vida para o paciente diabético⁽¹⁶⁾.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde em 2006 havia cerca de 170 milhões de diabéticos, e esse índice aumenta rapidamente. É estimado que, em 2030 esse número dobre. A DM ocorre em todo o mundo, mas é mais comum (especialmente a do tipo II) nos países mais desenvolvidos. Estima-se que cerca de 50% dos portadores de diabetes desconhecem o diagnóstico⁽¹⁷⁾.

Segundo uma projeção internacional, com o aumento do sedentarismo, obesidade e envelhecimento da população o número de pessoas com diabetes no mundo vai aumentar em mais de 50%, passando de 380 milhões em 2025⁽¹⁸⁾.

A DM está na lista das 5 doenças de maior índice de morte no mundo, e está chegando cada vez mais perto do topo da lista. Por pelo menos 20 anos, o número de diabéticos na América do Norte está aumentando consideravelmente. Em 2005 eram em torno de 20.8 milhões de pessoas com diabetes somente nos Estados Unidos. De acordo com a *American Diabetes Association* existem cerca de 6.2 milhões de pessoas não diagnosticadas e cerca de 41 milhões de pessoas que poderiam ser consideradas pré-diabéticas. Os Centros de Controles de Doenças classificaram o aumento da doença como epidêmico, e a NDIC (*National Diabetes Information Clearinghouse*) fez uma estimativa de US\$132 bilhões de dólares em gastos anuais com pacientes diabéticos, somente para os Estados Unidos⁽¹⁹⁾.

A DM é uma doença metabólica complexa, na qual ocorre deficiência relativa ou absoluta de insulina, caracterizada por hiperglicemia crônica, com distúrbios no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas. A DM está associada frequentemente a lesões específicas na microcirculação, a alterações neuropáticas e à aterosclerose. As formas mais frequentes de diabetes são o DM tipo 1 e o tipo 2. A DM tipo 2 é o mais comum, perfazendo cerca de 90% dos casos de diabetes. Desenvolve-se frequentemente em etapas adultas da vida e é muito frequente a associação com a obesidade e idosos. Fármacos e outras causas podem, contudo, causar este tipo de diabetes, como o uso prolongado de corticóides⁽²⁰⁾.

A RD é uma das complicações microvasculares mais temidas da DM, devido à incapacidade funcional que ela provoca, sendo considerada importante causa de cegueira na população economicamente ativa⁽²¹⁾. O *Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy* (WESDR) evidenciou que o tipo e duração da DM são fatores importantes para o aparecimento e progressão da RD. No caso de portadores de DM tipo 2, o WESDR mostrou que, em 15 anos de DM, aproximadamente 10% dos pacientes evoluíram para RD proliferativa, sendo observada maior incidência naqueles usuários de insulina⁽²²⁾.

Estudos recentes sugerem diminuição na prevalência da RD. Uma maior eficácia no tratamento da DM (melhor controle da glicemia e da pressão arterial sanguínea), diagnóstico mais precoce (por meio de programas de rastreamento e de redução na taxa glicêmica para definir o portador da doença) e avanços propedêuticos para examinar a retina são fatores que, possivelmente, estão associados a este decréscimo⁽²³⁾⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾. Devido a esses fatores, Brown et al⁽²³⁾ demonstraram que portadores de DM tipo 2 tiveram menor prevalência de RD não proliferativa leve, quando comparados ao resultado do WESDR⁽²²⁾⁽²⁶⁾; por outro lado, não foi observada mudança na progressão para formas avançadas da RD⁽²³⁾.

Vários estudos têm demonstrado que a chave para a redução de complicações diabéticas, incluindo a RD, encontra-se no rigoroso controle metabólico⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾. Embora estes resultados tenham sido utilizados para desenvolver diretrizes para o atendimento ao paciente em todo o mundo, considerável morbidade associada à RD permanece, e esta doença ainda é a principal causa de cegueira entre pessoas com idade entre 20-64 anos, nos Estados Unidos⁽²⁹⁾.

3.2 Patogênese

A RD é uma doença multifatorial e sua patogenia é extremamente complexa. Várias células da retina estão envolvidos neste processo, incluindo as de Müller, ganglionares, endoteliais e células do epitélio pigmentar da retina (EPR). A hiperglicemia, inflamação e disfunção neuronal são os principais fatores envolvidos na fisiopatologia da RD⁽³⁰⁾. Fatores sistêmicos, como hipertensão e hiperlipidemia, e fatores genéticos também estão envolvidos neste processo multifatorial. As disfunções microvasculares que ocorrem na RD podem resultar em dois processos principais: aumento da permeabilidade e obliteração capilar, que levam, respectivamente ao EMD e NV da retina, sendo que a hiperglicemia é o principal fator implicado nas mudanças estruturais e funcionais da retina.

O dano celular é produzido principalmente através dos seguintes mecanismos: a formação dos produtos de glicação avançada (AGEs), a promoção da via poliol, ativação da proteína C quinase (PCK), e estimulação do estresse oxidativo⁽³¹⁾⁽³²⁾⁽³³⁾. AGEs e seus receptores estão implicados no desenvolvimento da RD, promovendo o aumento de inflamação e processo neurodegenerativo⁽³⁴⁾. Além disso, a hiperglicemia ativa a via metabólica da aldose-redutase, resultando no acúmulo de poliol. Como consequência, há um aumento do estímulo do estresse oxidativo e do dano celular⁽³⁵⁾. Os AGEs também estão implicados na ativação da PCK, que está envolvida em diversos processos, como o aumento da capacidade e vasopermeabilidade e oclusão capilar, liberação de proteínas pró-inflamatórias e estimulação do estresse

oxidativo⁽³⁶⁾. Outro fator adicional na fisiopatologia da RD é a inflamação, levando ao edema macular (EM), isquemia e NV. Diversos mediadores pró-inflamatórios estão envolvidos neste processo como o VEGF, o óxido nítrico (NO), citocinas, quimiocinas, angiotensina II, e o sistema renina – angiotensina⁽³⁷⁾. O VEGF induz a angiogênese e aumenta a permeabilidade vascular^{(38),(39)}. Vários estudos sugerem que o VEGF pode induzir mudanças estruturais nas junções das células endoteliais, e também está associado com o aumento da expressão de ICAM-1, uma molécula de adesão endotelial, levando a degradação das células endoteliais e leucostase. Um aumento da expressão de VEGF pode ser induzida por hiperglicemia e hipóxia⁽⁴⁰⁾. Algumas células da retina podem produzir VEGF, como tem sido relatado por trabalhos recentes, como pericitos, neurônios, células endoteliais, de Müller, ganglionares e do EPR⁽⁴¹⁾.

A neurodegeneração é um fator importante para a microvasculopatia diabética⁽⁴²⁾. Trabalhos recentes mostraram que a disfunção neuronal foi detectada em pacientes diabéticos através da sensibilidade ao contraste e visão de cores e em análises de eletrorretinografia e eletrorretinograma multifocal^{(43),(44)}. O aumento dos níveis de glutamato extracelular, que também já foi demonstrado em diabéticos, ativa o processo de apoptose⁽⁴⁵⁾. A microglia também desempenha um papel importante na ativação da cascata inflamatória neurodegenerativa através da liberação de vários fatores neurotróficos e pró-inflamatórios⁽⁴⁶⁾.

3.3 Classificação da Retinopatia Diabética

O ETDRS classificou a RD em não proliferativa e proliferativa, sendo esta classificação extremamente importante para determinar a progressão, o tratamento e o prognóstico da doença. O estágio inicial, não proliferativo, é caracterizado por microaneurismas capilares, hemorragias e exsudatos. Com a progressão das alterações bioquímicas, hemodinâmicas e anatômicas, a RD avança, surgindo as anormalidades da microvasculatura intra-retiniana e ingurgitamento venoso, os quais sinalizam instalação do processo isquêmico⁽⁴⁷⁾.

A RD proliferativa é caracterizada pela presença de neovascularização na retina e/ou no disco óptico⁽⁴⁷⁾. A RD proliferativa precoce é a fase proliferativa inicial, sem as características da RD de alto risco (neovasos extensos na papila > 1/3 disco de área de disco óptico ou neovasos de retina > 1/2 disco de área associados à hemorragia vítrea ou pré-retiniana⁽¹⁾). Há uma perda de células murais, pericitos e células do endotélio dos capilares, além do que os NV não exercem a função de barreira hematorretiniana interna⁽⁴⁸⁾. Dessa forma, com a não integridade dessa barreira, há um extravasamento de componentes séricos intravasculares para o parênquima retiniano⁽²⁹⁾⁽⁴⁹⁾. Além disso, os capilares possuem endotélio muito fino, o que os torna frágeis e fáceis de romper, causando hemorragia na cavidade vítrea ou pré-retiniana⁽²⁹⁾ (Figura 1).

Classificação	Características fundoscópicas
Retinopatia diabética não proliferativa	
A - Leve	Pelo menos, 1 microaneurisma (MA). Definição não se enquadra em B, C, D, E ou F.
B - Moderada	Hemorragias e/ou MA em 1 Quadrante. Presença de manchas algodinosas, veia em rosário e IRMA. Definição não se enquadra em C, D, E e F.
C - Grave	Hemorragia e MA em todos os quadrantes. Veias em rosário em dois ou mais quadrantes e IRMA em, pelo menos, um quadrante.
D - Muito grave	Dois ou mais achados do C, acima com a definição não se enquadrando em E ou F.
Retinopatia diabética proliferativa	
E - Proliferativa Precoce	Presença de neovasos com a definição não se enquadrando em F.
F - Alto risco	NVD $\geq 1/3$ - $1/2$ área de disco. NVD e hemorragia vítrea ou pré-retiniana. NVE $\geq 1/2$ área de disco com hemorragia vítrea e pré-retiniana

FONTE: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* Report Number 12: Fundus photography risk factors for progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1991; 98:823-833.

Legendas: MA = microaneurismas; IRMA = anormalidade microvascular intrarretiniana; NVD = neovasos de disco óptico; NVE = neovasos de retina.

Figura 1. Classificação da Retinopatia Diabética Segundo o *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*

Em qualquer estágio da RD, pode-se observar edema macular clinicamente significativo (EMCS). A caracterização de EMCS envolve, pelo menos, uma das seguintes alterações maculares: espessamento retiniano localizado dentro de 500µm da fóvea, exsudatos duros localizados dentro de 500µm da fóvea, se associados com espessamento de retina adjacente, ou espessamento retiniano de, pelo menos, um diâmetro de disco papilar, parte do

qual está localizado a pelo menos um disco de diâmetro do centro da fóvea⁽⁵⁰⁾. Num estudo populacional, a incidência de edema macular foi determinada de acordo com o tipo e duração de DM. Acima de 10 anos de doença, a incidência de EMCS nos portadores de DM tipo 1, de DM tipo 2 usuários de insulina e de DM tipo 2 não usuários de insulina foi de, respectivamente, 20,1 %, 25,4% e 13,9%⁽⁵¹⁾. Nesse mesmo estudo, a incidência de EMCS em 10 anos de doença, para ambos os tipos de DM, esteve associada com alta taxa de hemoglobina glicada, aumento da pressão sanguínea diastólica e retinopatia em estágio mais avançado⁽⁵¹⁾. Moss et al. demonstraram que, nos portadores de DM tipo 2, a perda visual é comum e poucos fatores modificáveis estão associados com essa prevalência⁽⁵²⁾.

Fong et al.⁽⁴⁾ realizaram um estudo para descrever as causas e os fatores de risco para perda visual grave ocorrida no ETDRS, definida como AV com melhor correção de 5/200 em pelo menos duas visitas consecutivas, em quatro meses de seguimento. A causa mais comum de perda visual grave foi HV ou hemorragia pré-retiniana, sendo que 30% desses olhos evoluíram com descolamento de retina associado. A segunda causa de perda visual grave persistente foi o EMCS e as alterações pigmentares relacionadas ao próprio edema. Dos fatores de risco sistêmicos avaliados, baseando-se na persistência de perda visual grave, como sexo, idade, tipo e duração de DM, índice de massa corpórea, tabagismo, hemoglobina glicada, uso de aspirina, nível de colesterol, hipertensão arterial sistêmica, proteinúria, hematócrito e creatinina sérica, apenas a hemoglobina glicada e o nível de colesterol foram as variáveis com valores preditivos significantes, quando comparados com aqueles sem perda

visual grave; por outro lado, nenhum desses fatores foi significativo, quando comparados com aqueles que melhoraram a AV de 5/200⁽²⁹⁾.

Outra causa direta de perda de AV grave é a exclusão capilar, ou seja, a isquemia macular. Uma das razões dessa causa hemodinâmica ser pouco descrita é a dificuldade diagnóstica. Primeiro, a exclusão pode gerar o desenvolvimento da NV, a qual pode ser responsável pelo descolamento de retina, HV ou hemorragia pré-retiniana, causas mais evidentes de perda visual. Segundo, a dificuldade de interpretação da angiofluoresceinografia (AGF), em casos de hipoperfusão com fluxo muito reduzido da fluoresceína, que pode subdiagnosticar esta alteração macular⁽⁴⁾.

O controle glicêmico é o principal fator de risco para o aparecimento e progressão da RD, sendo avaliado pela dosagem da A1C⁽⁵³⁾. O *UKPD - United Kingdom Prospective Diabetic Study* (UKPDS)⁽²⁸⁾ avaliou por 10 anos 3.867 pacientes com DM tipo 2 recém diagnosticados. Esse ensaio clínico randomizado demonstrou que o controle intensivo da glicemia permite redução em cerca de 25% dos riscos de complicações microvasculares, incluindo HV e necessidade de fotocoagulação, quando comparado com o grupo de tratamento convencional. O *Diabetes Control and Complications Study* (DCCT), estudo realizado com 1.441 pacientes com DM tipo 1 e 6,5 anos de acompanhamento, mostrou que o controle glicêmico rigoroso apresenta efeitos adversos ⁽⁵⁴⁾. Dentre eles, tem-se o risco de piora precoce da RD, isto ocorreu em 13,1% daqueles pertencentes ao controle rigoroso contra 7,6% dos pertencentes ao grupo de tratamento convencional. Contudo, este efeito foi revertido em 18 meses, nenhum caso de piora precoce evoluiu com perda

visual grave. Sendo o controle glicêmico, o fator de risco independente mais relevante para a RD, o paciente deve ser instruído a aderir de forma consistente ao tratamento clínico para prevenir o aparecimento e reduzir a progressão da RD.

3.4 Tratamento

3.4.1 Fotocoagulação a *LASER*

O tratamento com PFC a *LASER* tem sido considerado o tratamento padrão baseado em evidências para EMD e RDP por um longo tempo. Mesmo com novas terapias com anti-VEGF e corticosteróides intravítreos, a PFC ainda é considerada uma boa opção de tratamento, tanto no RDP e como no EMD.

Desde 1985, a fotocoagulação a *LASER* mostrou ser um tratamento eficaz. O ETDRS definiu o conceito de EMCS e revelou que a fotocoagulação com o *LASER* de argônio, protocolo GRID, foi eficaz na redução do risco da perda visual moderada em 50% nos pacientes com EMCS em 3 anos⁽⁵⁵⁾. O estudo também mostrou que a AV corrigida agravou-se em 12% dos olhos tratados, no terceiro ano de seguimento, contra 24% dos olhos não tratados ⁽⁵⁰⁾.

Várias hipóteses têm sido sugeridas para explicar a eficácia da terapia com laser: aumento da oxigenação da retina interna, diminuindo assim o estímulo para a produção de VEGF; além de destruir diretamente pontos de vazamento vascular, tais como microaneurismas e as células produtoras de

citoquinas. Como também estimular o EPR a produzir fatores antiangiogênicos e citocinas de proteção e de reduzir sua atividade metabólica. Mesmo com o mecanismo incerto, algumas complicações têm sido relatadas com o uso da PFC, tais como defeitos para-centrais visuais de campo, redução da SC e visão de cores, áreas de atrofia de retina que pode ampliar ao longo do tempo devido a fluência do *LASER* e ocasionalmente neovascularização de coróide com subsequente cicatriz retiniana⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁷⁾.

Ao longo do tempo, novas tecnologias do *LASER*, menos dolorosas, e minimamente invasivas foram desenvolvidas, além de várias estratégias de tratamento que diferentes parâmetros, como a energia, o tempo de exposição, o tamanho da marca do *LASER* foram adotadas no tratamento do EMD⁽⁵⁸⁾.

A PFC com *LASER* de argônio, tem demonstrado ser efetiva na redução da perda visual e prevenção do aparecimento subsequente de NV em olhos com RD grave⁽⁵⁹⁾. A técnica preconizada pelo ETDRS seria a panfotocoagulação ("full scatter photocoagulation"), nos pacientes com RD não proliferativa muito grave e RDP. Utilizando-se mira de 500µm, tempo de exposição de 0,1seg e intensidade moderada, verificada pelas marcas dos disparos. A distância entre as marcas é aproximadamente metade do seu diâmetro, sendo iniciada a partir de 2 diâmetros papilares do centro da mácula (margeando as arcadas vasculares) em direção à periferia. A média de disparos para realizar esta PFC completa é de 1600 tiros, geralmente em 3 episódios ou mais. Recomenda-se não ultrapassar de 900 disparos em um episódio, iniciando a aplicação pelas regiões nasal ou inferior⁽²⁾. O efeito adverso mais comum da PFC é a possibilidade de induzir mudança da AV e EM, acarretando redução transitória

ou permanente da visão. A causa exata da fisiopatologia do EM pós-laser ainda não é compreendida, entretanto acredita-se que as alterações inflamatórias e do fluxo sanguíneo retiniano podem ser responsáveis pelo desenvolvimento do EM após a PFC⁽⁶⁰⁾.

3.4.2 Injeção intravítrea

As injeções intravítreas de alguns fármacos são consideradas atualmente uma opção de tratamento para RD⁽⁵⁸⁾. Os resultados de vários estudos demonstraram que estes agentes intravítreos são eficazes não apenas na prevenção da perda de visão, mas também na recuperação da AV⁽¹²⁾.

Devido ao tempo meia-vida relativamente curto, injeções repetidas são necessárias para se obter e manter os efeitos terapêuticos desejados, aumentando o risco de complicações relacionadas com a injeção, como a endoftalmite infecciosa, roturas retinianas, descolamento da retina e HV. As duas principais categorias de drogas intravítreas utilizadas atualmente no tratamento do EMD e RDP são esteroides e agentes anti-VEGF. Resultados satisfatórios surgiram a partir de estudos com a combinação ou a associação de drogas intravítreas e tratamento a *LASER*⁽¹²⁾.

3.4.2.1 Esteróides intravítreos

Devido às suas propriedades anti-inflamatórias e anti-angiogênicas, os corticosteroides intravítreos têm sido utilizados por quase duas décadas como uma modalidade de tratamento para EMD⁽⁶¹⁾⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾. Os esteroides reduzem a

permeabilidade vascular, a deposição de fibrina, o movimento de leucócitos, e a migração de células inflamatórias, e podem inibir a síntese de várias citocinas e fatores vasoativos, tais como VEGF⁽⁶⁴⁻⁶⁷⁾.

A maioria dos trabalhos relatam alguma resposta favorável ao tratamento em termos de recuperação de AV e resolução do EMD. No entanto, o aumento da pressão intra-ocular (PIO) pode ocorrer, necessitando de terapia com colírios anti-glaucomatosos ou até mesmo intervenção cirúrgica. Também tem sido relatado progressão da catarata como complicações do uso de esteroides^(68,69). Atualmente, existem várias formulações de esteroides, com diferentes tempos de ação, que podem variar de quase um mês a 3 anos⁽⁷⁰⁾.

3.4.2.2 Anti- VEGF intravítreos

Novas diretrizes promissoras no tratamento do EMD e RDP incluem drogas que atuam nos principais fatores implicados na patogênese da RD, como os anti-VEGF (RBZ , Bevacizumabe (BVZ) , Pegaptanibe , VEGF Trap- Eye)⁽⁷¹⁾.

Ranibizumabe

O RBZ (Lucentis, Genentech, Inc., South San Francisco, CA) é um fragmento de anticorpo humanizado que se liga a todas as isoformas de VEGF-A e também aos seus produtos de degradação neutralizando assim a sua atividade biológica⁽¹²⁾.

Estudos experimentais demonstraram sua efetividade em reduzir a permeabilidade vascular e angiogênese in vivo⁽⁷²⁾, assim como em modelo experimental de neovascularização subretiniana induzida por laser terapia⁽⁷³⁾.

Com relação à farmacocinética da droga, Gaudreault e colaboradores, utilizando olhos de coelhos, calcularam a meia vida de RBZ após injeção intravítrea em 2.9 dias, e constataram que a droga atinge todas as camadas da retina, estando presente na coriocapilar 1, 2 ou 4 dias após a injeção. Neste estudo, a concentração sistêmica foi inferior a 0.01% da observada no vítreo⁽⁷⁴⁾. O mesmo autor, utilizando olhos de macacos, observou meia vida da droga ao redor de 3 dias. A molécula de RBZ penetrou toda a espessura da retina entre 6 e 24 horas, e atingiu concentrações na retina de aproximadamente um terço da concentração observada no vítreo⁽⁷⁵⁾. Bakri et al utilizando olhos de coelhos, calcularam a meia vida de RBZ em 2.88 dias, significativamente mais curta que a de BVZ (4.32 dias). Além disto, a concentração de RBZ sistêmica ou no olho contralateral foi indetectável, enquanto que o BVZ foi detectado da corrente sanguínea e no olho contralateral⁽⁷⁶⁾.

Dados iniciais de segurança e eficácia de injeções intravítreas de RBZ foram obtidos após estudos clínicos em fase I ou II envolvendo múltiplas injeções⁽⁷⁷⁾⁽⁷⁸⁾⁽⁷⁹⁾. Os resultados destes estudos estimularam o desenvolvimento de dois ensaios clínicos em fase III para tratamento de degeneração macular relacionada à idade: *MARINA (Minimally Classic/ Occult Trial of the Anti-VEGF Antibody Ranibizumab in the Treatment of Neovascular AMD)* e *ANCHOR (Anti-VEGF Antibody for the Treatment of Predominantly Classic Choroidal Neovascularization in AMD)*, cujos dados levaram o FDA a aprovar o RBZ em junho de 2006 para o tratamento de todas as formas exsudativas de degeneração macular relacionada à idade (DMRI)⁽⁸⁰⁾⁽⁸¹⁾.

Em estudo com finalidade de avaliar a segurança do RBZ, 4300 pacientes foram acompanhados por 12 meses, recebendo em média 4 injeções intravítreas durante este período. Ao final do acompanhamento, a taxa de mortalidade e a porcentagem de pacientes apresentando fenômenos tromboembólicos não foi significativamente mais alta que a observada na população de mesma idade⁽⁸²⁾.

Avery e col. relataram uma diminuição no extravasamento ao exame angiofluoresceinográfico de 44 pacientes com RDP, sendo que em 82% dos casos, o extravasamento havia desaparecido completamente após uma semana⁽⁸³⁾.

RBZ e EMD

Com base nos resultados dos ensaios clínicos randomizados, o RBZ atualmente é uma opção terapêutica aprovada para o tratamento do EMD. A eficácia e segurança do RBZ foi avaliada como monoterapia ou como tratamento combinado com fotocoagulação a *LASER*^(84–87). Inicialmente, os resultados foram publicados em 2006 a partir de um ensaio clínico não randomizado (*READ -1*) onde foram avaliados dez pacientes com EMD crônico tratados com RBZ (0,5 mg)⁽⁸⁸⁾. Mesmo sendo um estudo pequeno, uma redução significativa no edema foi evidenciado pelo OCT e como também uma melhora na AV.

Após, outro estudo, o *RESOLVE*, com 12 meses de seguimento, multicêntrico, fase II, controlado, duplo-cego, avaliou a eficácia do RBZ em EMD e comparou com o placebo. Os pacientes foram randomizados para o

grupo do RBZ (0,3 ou 0,5 mg) com três injeções mensais iniciais, e em seguida, administração se necessária (“PRN”); ou para o grupo de tratamento simulado. No mês 12, a AV melhorou em 10,3 letras no grupo do RBZ e diminuiu 1,4 letras com placebo, enquanto a redução média foi de 194,2µm na EF com RBZ e 48,4µm no grupo placebo. Um ganho de 10 ou mais letras foi observado em 60,8% dos casos no grupo do RBZ versus 18,4% do grupo placebo. Os resultados deste estudo demonstraram que o RBZ é mais eficaz que o placebo e que é bem tolerado no tratamento do EMD⁽⁸⁹⁾.

Em outro recente ensaio clínico randomizado (*RISE & RIDE*), o RBZ foi avaliado no tratamento do EMD e comparado com placebo. Os pacientes foram randomizados para receber RBZ mensal (0,3 ou 0,5 mg) ou injeção de placebo. Aos 24 meses, no estudo *RISE*, 44,8% dos pacientes do grupo 0,3mg e 39,2% do grupo 0,5mg ganharam mais de 15 letras, em comparação com 18,1% dos pacientes do grupo placebo, enquanto no estudo *RIDE*, 33,6% dos pacientes do grupo 0,3 mg e 45,7% do grupo 0,5 mg ganharam mais de 15 letras, em comparação com 12,3% do grupo simulado. Uma redução significativa da espessura retiniana e um abrandamento na evolução da RD também foram relatados em pacientes tratados com RBZ. Assim, o RBZ foi eficaz na melhora e manutenção da AV como na redução da EF⁽⁸⁴⁾.

No estudo READ-2, 126 pacientes foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: no primeiro grupo, o RBZ (0,5 mg) foi administrado no *baseline* e nos meses 1, 3, e 5; no segundo grupo, o *LASER* macular foi realizado no *baseline* e com 3 meses, se necessário; e o terceiro grupo foi tratado com uma combinação de RBZ (0,5 mg) e *LASER* macular no *baseline* e 3 meses.

Nos resultados iniciais (no mês 6) foram relatados que a melhora na AV foi significativamente melhor no grupo do RBZ quando comparado com o grupo de *LASER* (+7,24 letras versus -0,43 letras), enquanto que no grupo do tratamento combinado, não houve diferença estatística (+3.80 letras). Uma melhora de 3 linhas de visão foi encontrada em 22%, 0% e 8% nos três grupos, respectivamente. Uma redução no EF ocorreu em 50%, 33% e 45% nos 3 grupos, respectivamente. Ao final de 2 anos, todos os pacientes que preencheram os critérios de tratamento receberam o RBZ, e o número médio de aplicações foi de 5,3, 4,4 e 2,9 injeções nos três grupos, respectivamente. Os resultados mostraram uma melhora de AV de 7,7, 5,1, e 6,8 letras, bem como na porcentagem de pacientes que ganhou 3 linhas ou mais foi de 24%, 18% e 26%, nos três grupos, respectivamente. A porcentagem de pacientes com EF inferior ou igual a 250µm foi 36%, 47% e 68%, respectivamente. Os resultados revelaram que o grupo do RBZ teve um melhor resultado visual do que o grupo do *LASER* macular, já que os benefícios foram sustentados por pelo menos 2 anos. O tratamento combinado do RBZ com *LASER* proporcionou uma melhora na AV e uma maior diminuição do EMD. Concluindo assim que o RBZ isolado ou combinado com o *LASER* parece ser mais eficaz do que a fotocoagulação isolada^(85,86).

Resultados semelhantes também foram obtidos com o estudo RESTORE, que avaliou: monoterapia com RBZ, RBZ em combinação com *LASER* e *LASER* isoladamente. Este ensaio clínico revelou que RBZ como monoterapia ou em combinação com *LASER*, proporcionou uma melhor AV em comparação com *LASER* isolado. Não foi evidenciado diferença significativa

entre o RBZ isolado e a terapia combinada em um período de 12 meses. Recentemente, os resultados de 24 meses confirmaram os dados prévios sobre a eficácia e segurança do RBZ⁽⁸⁷⁾.

Os resultados do DRCR.net com 1 e 2 anos, levam a conclusões paralelas e confirmaram que RBZ associado a *LASER* imediato ou tardio pode ser considerado um tratamento válido em comparação com o *LASER* isoladamente⁽⁹⁰⁾⁽⁹¹⁾.

RBZ e RDP

Mesmo a PFC sendo considerada o tratamento padrão para RDP, tratamento combinado com RBZ e PFC está atualmente em fase de avaliação. Como relatado anteriormente, o DRCR.net avaliou os efeitos da TAAC e do RBZ intravítreos em pacientes com EMD que receberam *LASER* macular e PFC⁽¹⁴⁾. A terapia combinada teve um resultado mais satisfatório do que a PFC isolada proporcionando um maior ganho de AV e redução da EF num curto período de seguimento (14 semanas) .

Em recente estudo prospectivo, a eficácia da PFC isolada contra PFC combinada com RBZ para RDP de alto risco foi avaliada⁽¹³⁾. A PFC foi realizada em duas sessões, e o RBZ foi injetado no final da primeira sessão de *LASER* no grupo combinado. Houve uma maior redução de vazamento de fluoresceína no grupo PFC+RBZ em comparação com o grupo de PFC isolada na semana. Assim, os autores concluíram que o RBZ utilizado como tratamento adjuvante protege contra a queda moderada da AV e o aumento do edema macular visto no grupo com PFC isolada⁽¹³⁾.

Bevacizumabe

O BVZ (Avastin, Genentech Inc., San Francisco, CA, EUA) é um anticorpo humanizado recombinante, que se liga e neutraliza todas as isoformas de VEGF. Atualmente, é um tratamento aprovado para o câncer de cólon metastático; porem o BVZ é atualmente usado benéficamente no tratamento *off-label* de DMRI forma úmida, oclusão de veia central da retina ou de ramo, e RD⁽⁹²⁾.

BVZ e EMD

Têm sido relatados vários estudos com BVZ em diferentes doses para o tratamento do EMD. Os resultados destes estudos retrospectivos ou prospectivos mostraram uma melhora na AV e OCT, mesmo estando associado com uma eficácia a curto prazo e alta taxa de recorrência⁽⁹²⁻⁹⁴⁾.

Em 2007, o DRCR.net originalmente relatou os resultados iniciais de um ensaio clinico randomizado, fase II, onde avaliou os efeitos do BVZ a curto prazo quando comparado com o *LASER* para EMD⁽⁹³⁾.

Recentemente, os resultados de um estudo prospectivo randomizado, controlado (Estudo *Bolt*), comparou BVZ com *LASER* macular modificado (EDTRS) em pacientes com EMD persistente⁽⁹⁴⁾. Os resultados de 2 anos mostraram que o ganho significativo em letras foi de 9 e 2,5 letras dos grupos BVZ e BVZ + *LASER*, e uma melhora de 10 ou mais letras foi observado no 45% e 7% dos dois grupos, respectivamente. O decréscimo significativo na EF foi de 146 contra 118 μ m, respectivamente. Ao longo dos 24 meses, a média do número de injeções foi de 13 e 4, respectivamente⁽⁹⁴⁾.

Vários trabalhos foram publicados comparando os efeitos do BVZ versus TAAC e terapia de combinação⁽⁹⁵⁻⁹⁷⁾. Um ensaio clínico randomizado com três grupos, foi desenhado para comparar os efeitos do BVZ (1,25 mg) isolado ou combinado com TAAC (2 mg) versus *LASER* macular, como tratamento primário do EMD. A variação média da AV na 36ª semana foi maior no grupo BVZ, e os dados foram, respectivamente, -0,28, -0,04, e +0,01 letras nos três grupos. Uma melhora da AV de 2 ou mais linhas foi observada em 37%, 25% e 14,8% nos três grupos, respectivamente. Assim, BVZ obteve uma melhor recuperação de AV quando comparado com o *LASER* nos 24 meses de seguimento⁽⁹⁷⁾.

BVZ E RDP

A eficácia do BVZ em RDP, como também na HV e glaucoma neovascular tem sido investigada em alguns trabalhos^(83,98-100). O maior estudo (80 olhos), publicado em 2008, é um estudo randomizado, duplo-cego que avaliou o efeito terapêutico da PFC com uma dose única de BVZ (1,25 mg) em comparação com PFC isolado, em pacientes com RDP de alto risco⁽⁹⁹⁾. A regressão completa dos NV foi obtida em 87,5% dos casos no grupo combinado versus 25 % do grupo PFC isolado na 6ª semana. No entanto, foi observado uma recorrência da RDP na 16ª semana no grupo combinado.

A eficácia do BVZ foi avaliada em casos de RDP persistente em um estudo de 12 semanas, aberto não randomizado, em uma pequena amostra de pacientes refratária à PFC⁽¹⁰⁰⁾. O BVZ adjuvante produziu uma significativa redução no extravasamento de fluoresceína nos NV persistentes, sem perda visual, em um curto prazo de seguimento.

Em um estudo prospectivo de série de casos, a ação do BVZ como tratamento adjuvante com a PFC foi analisada nos olhos afetados com HV secundária a RDP⁽⁹⁸⁾. No protocolo do estudo, a primeira injeção intravítrea (1,25 mg) foi administrada e em seguida, a PFC foi realizada quando se era possível visualizar a periferia da retina. Uma segunda injeção de BVZ foi realizada entre 4 a 6 semanas após a primeira caso não houvesse nenhum decréscimo da HV. Em caso de hemorragia persistente após 12 semanas, foi realizada então a VVPP. Os resultados revelaram que 1 ou 2 injeções de BVZ combinadas com PFC, em comparação com o PFC isolado, alcançava uma regressão mais rápida da HV, diminuindo assim a necessidade de VVPP. Ferraz et al, realizaram um estudo com uso de TAAC ou BVZ como adjuvantes no pré-operatório de VVPP em pacientes com RDP e HV. Foi demonstrado que a incidência de re-sangramento pós VVPP foi menor no grupo do BVZ⁽¹⁰¹⁾.

Aflibercepte

Aflibercepte (VEGF Trap- Eye, Regeneron Inc., New York) é uma proteína de fusão de administração intravítrea que é projetada para se ligar tanto com o VEGF-A e com o fator de crescimento placentário com maior afinidade do que seus receptores naturais. Os dados disponíveis mostram que o VEGF *Trap-Eye* tem uma meia-vida mais longa no vítreo e isso provavelmente poderia explicar uma maior duração de ação⁽¹⁰²⁾.

Este novo agente foi investigado recentemente para o tratamento de EMD. O *Estudo Da Vinci* é um ensaio clínico randomizado, fase II, duplo-cego, desenhado para comparar as diferentes doses e regime de dosagem da droga no

tratamento do EMD^(103,104). Os indivíduos foram randomizados em um de 5 braços: VEGF Trap-Eye 0,5mg a cada 4 semanas, 2mg a cada 4 semanas, 2mg a cada 8 semanas depois de 3 doses mensais iniciais, ou 2 mg de dosagem conforme necessário após 3 doses mensais iniciais, ou *LASER* macular. Recentemente, foram publicados os resultados de um ano de estudo. A melhora da AV na 24ª semana foi de 8,6, 11,4, 8,5, 10,3 e 2,5 letras nos 5 grupos, respectivamente, e de 11,0, 13,1, 9,7, 12,0 e -1,3 letras nos cinco grupos, respectivamente, na 52ª semana. Um ganho de AV de 15 ou mais letras foi relatada em 40,9%, 45,5%, 23,8%, 42,2%, e 11,4% nos 5 grupos, respectivamente. Enquanto que a redução média na EF na 52ª semana foi de -165,4, -227,4, -187,8, -180,3, e - 58,4µm nos 5 grupos, respectivamente. Concluindo que a significativa melhora na AV foi alcançada na 24ª semana e mantendo-se até a 52ª semana de seguimento.

Desde o ETDRS, a fim de se evitar a perda da visão, foi instituído o uso do *LASER* como opção padrão ouro no tratamento de pacientes com RDP com e sem EMD. No entanto, uma certa proporção de pacientes necessitam de *LASER* adicional, e alguns deles ainda precisam de VVPP apesar de ter recebido tratamento adequado com PFC⁽⁷⁾⁽⁸⁾. Além disso, a PFC está associada com um risco aumentado de desenvolver EM⁽²⁾⁽⁹⁾. Apesar do prognóstico visual a longo prazo de pacientes com RDP tratados com PFC ser geralmente bom⁽⁴⁾, a perda visual progressiva pode ocorrer em quase 5% dos pacientes, a despeito do tratamento⁽²⁾. Atualmente, o tratamento da RD está mudando. Os resultados de ensaios clínicos randomizados têm mostrado que o uso intravítreo de anti-VEGF como também de esteroide é eficaz não só na prevenção da perda, como também na recuperação de AV. Assim, esses novos agentes estão se

tornando um tratamento comum na prática clínica diária, tanto como uma abordagem de primeira escolha segura e eficaz, como um terapia adjuvante em casos graves.

Até o momento há poucos estudos que investigaram o efeito adjuvante do anti-VGEF associado à PFC em pacientes com RDP com ou sem EM. Portanto este estudo foi desenvolvido para avaliar os potenciais efeitos adjuntos de da injeção intravítrea de RBZ uma semana antes e um mês após o tratamento com PFC, em olhos virgens de tratamento com RDP precoce, com ou sem EM e comparar tais resultados com olhos similares, tratados apenas com PFC por um seguimento de 6 meses.

4 Métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq do HCFMUSP, sob o processo número 140/10 (ANEXO). Todos os sujeitos concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes do seu início.

4.1 Tipo de Estudo

Ensaio clínico prospectivo, duplo-mascarado, comparativo, randomizado, de centro único com duração de 6 meses.

4.2 População e Amostra

A amostra compôs-se de pacientes atendidos na Clínica Oftalmológica do HC-FMUSP, setor de Retina e Vítreo, que se dispuseram a ser acompanhados por este protocolo, sendo o estudo conduzido entre maio de 2012 e junho de 2013.

O estudo do tipo exploratório apresentou amostra constituída de 30 pacientes com RDP, para tanto, aproximadamente, 450 pacientes com RD foram avaliados. Esta amostra de 420 pacientes excluídos foi composta de: 50% com algum grau de HV ou tração, 30% já tinha recebido algum tratamento prévio, 10% apresentavam nível de hbG elevada e outros 10% preencheram outros critérios de exclusão. Aos que preencheram os critérios de inclusão, foram explicados os objetivos e os métodos da pesquisa, assegurando o sigilo e o anonimato dos resultados.

Ambos os olhos do mesmo paciente foram randomizados para o estudo. O grupo de estudo (GE) foi composto de: 28 olhos (2 olhos foram excluídos por HV) com RDP precoce que receberam PFC retiniana associada a 2 injeções de RBZ, e o grupo controle (GC) foi composto de 30 olhos com RDP precoce que receberam tratamento somente com PFC da retina. A injeção intravítrea de RBZ foi administrada em um dos olhos antes e após a última sessão da PFC e o olho contralateral foi adotado como controle. Foi realizada injeção simulada no olho contra-lateral.

Uma subdivisão pela presença ou não de EMD, determinado pela medida da espessura foveal $>250\mu\text{m}$ no OCT e vazamento de contraste na angiografia, foi feita em cada grupo. O seguimento longitudinal de 6 meses foi estabelecido para avaliar efeitos do RBZ intravítreo associada à PFC. Ao mesmo tempo, estudaram-se efeitos adversos da medicação no período de estudo.

O método de randomização usado foi a randomização simples, na qual os olhos dos participantes são colocados diretamente nos grupos de estudo e controle, sem etapas intermediárias e, nesse caso, foi utilizado uma tabela de randomização.

O mascaramento duplo-cego, no qual cada procedimento do estudo foi realizado por um médico diferente a fim de se evitar viés nos resultados. A medida de AV, SC e EF foi realizada por um profissional qualificado (LMV), o tratamento com *LASER* por outro profissional (RCP), assim como as injeções intravítreas (AALM).

O projeto foi registrado no ClinicalTrials.gov sob o número de identificação: NCT01746563

O aluno recebeu bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior por demanda social e também realizou período de doutorado sanduiche na Johns Hopkins University, Baltimore, USA sob orientação do Dr. Quan Dong Nguyen, processo número: 12258-12-1.

4.3 Critérios de Inclusão

- AV melhor ou igual a 20/200 (1.0 logMAR) em ambos os olhos;
- Idade superior a 18 anos;
- Portadores de DM tipo 2;
- Pacientes com e sem EMD;
- Presença de RDP precoce similar em ambos os olhos;
- Indicação de PFC em ambos os olhos;
- Satisfatória fixação para a realização dos exames e colaboração suficiente para PFC e injeção intravítrea.

4.4 Critérios de Exclusão

- Nível sérico de HbA1C >11%;
- Tratamento prévio da RD (*LASER*, medicações intravítreas ou cirurgias intraoculares);
- HV ou hemorragia pré-retiniana;
- Presença de alteração na interface vitreorretiniana, como membrana epiretiniana, buraco macular, descolamento de retina e síndrome de tração vitreorretiniana;
- Atrofia macular, exsudatos duros densos na fóvea ou outras doenças maculares;
- Opacidade de meios que dificultem os procedimentos terapêuticos, realização de exames clínicos e complementares ou que afetem a AV (catarata, lesões corneanas e alterações vítreas);
- Isquemia Macular
- Pacientes amblíopes, estrábicos e com equivalente esférico maior que seis dioptrias;
- Presença de neuropatia óptica isquêmica;
- Eventos tromboembólicos prévios, incluindo infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e trombose venosa profunda;
- Distúrbio de coagulação conhecido ou uso de medicamentos anticoagulantes exceto aspirina;

- Participação em outro estudo clínico nos últimos 30 dias;
- Grávidas;
- Glaucoma;
- Pacientes com insuficiência renal; e
- Pressão arterial sistólica e diastólica maior que 180 e 110 mmHg, respectivamente.

4.5 Visita de Qualificação

4.5.1 Exame Oftalmológico

A amostra foi composta de 30 pacientes (60 olhos). O GE foi composto de 28 olhos com RDP que receberam PFC associado a RBZ. Uma subdivisão foi realizada pela presença de EMD, onde o GE com EMD foi composto por 15 olhos e o sem EMD por 13 olhos. Já o GC foi composto por 30 olhos que receberam tratamento com PFC e injeção simulada. Quando foi realizada a subdivisão, o GC com EMD foi composto de 16 e o GC sem EMD 14 olhos. Foi coletada a anamnese completa com atenção aos critérios de inclusão e exclusão, tipo e tempo de diagnóstico do DM, assim como a presença da hipertensão arterial sistêmica.

A definição da duração do DM foi de forma subjetiva, levando-se em consideração a resposta do paciente, quando do diagnóstico da doença. Depois desta etapa, todos os pacientes realizavam medida de AV por numero

de letras, por uma examinadora mascarada, utilizando a tabela ETDRS colocada a 4 metros de distância. O paciente era instruído a falar cada letra da tabela da esquerda para a direita e de cima para baixo e a última letra reconhecida era então somada a todas as outras. Após esta etapa, os pacientes realizavam o teste de SC.

A SC foi mensurada com a tabela VCTS® 6500 (*Vistech Consultants Incorporation, Dayton, OH, USA*), em condições fotópticas (85 cd/m) colocadas a 3 metros de distância. No caso, o paciente era instruído a falar a orientação das faixas de cada *patch* da tabela da esquerda para a direita até o *patch* de menor contraste em que as faixas poderiam ser identificadas, depois era feita a conversão para log10 para a análise estatística.

Figura 2. Tabela de sensibilidade ao contraste (VCTS 6500, Vistech Consultants Inc., Dalton, Ohio, USA)

Posteriormente, os exames de biomicroscopia e aferição da PIO pelo tonômetro de aplanção de Goldman acoplado à lâmpada de fenda foram realizados. A biomicroscopia estereoscópica foi feita com lente de 78 dioptrias, Volk Ocular Instruments, Bellevue, CA, USA, sob midríase pupilar com a instilação de uma gota de colírio de mistura de fenilefrina 10% e homatropina 2% frasco de 10 ml (Divisão de Farmácia do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICHCFMUSP)), e o paciente teve sua RD classificada, conforme o critério determinado pelo ETDRS. E após estas etapas os pacientes realizavam os exames de: Retinografia, AGF, OCT e USG, este último quando necessário.

4.5.2 Retinografia e Angiofluoresceinografia

Os indivíduos com pupilas já sob midríase foram encaminhados ao exame de retinografia e AGF que foram realizados com o retinógrafo topcon TRC-50IX número de série 175.843. A retinografia foi captada pelo sistema digital, assim como a AGF; para sua realização, foi usada a ampola de fluoresceína sódica 5 ml a 10% (Divisão de Farmácia do ICHCFMUSP). A injeção de contraste foi na veia cubital, tendo o acesso sido mantido até o final do exame que, em média, teve a duração de 10 minutos.

Dentre os principais objetivos para realização do exame de AGF: confirmar a presença de NV, diagnosticar e orientar o tratamento do EMD.

4.5.3 Tomografia de Coerência Óptica

Os pacientes foram encaminhados para realização do OCT pelo aparelho *Stratus OCT (version 4.0 software, Carl Zeiss Meditec Inc. Dublin, CA, USA)*. Os exames foram realizados à tarde (entre 13 e 18 horas), de modo padronizado, com o objetivo de captar um exame com melhor qualidade. Cada indivíduo foi orientado a fixar a mira no interior do aparelho e após, foi usada a ferramenta *polarization* e *Z- offset*. O protocolo usado foi o *fast macular thickness map*, apresentando 6 *scans* de 6 mm cada, que proporcionam resolução de 128 *A-scans*/seg. Imagens com qualidade de sinal, *signal strength*, maiores que 5 foram consideradas satisfatórias.

Uma vez captado o exame, o protocolo de análise *retinal thickness* foi usado para avaliar se todos os seis tomogramas apresentavam o limite interno, interface vitreorretiniana, e o externo, superfície dos fotorreceptores, sem irregularidades, pois somente assim, as medidas quantitativas do estudo (EF) poderia ser confiável.

Depois desta conferência, o examinador solicitava ao aparelho o cálculo das medidas quantitativas pelo protocolo de análise *tabular macular volume*, que eram fornecidas automaticamente.

Figura 3. Mapa topográfico da superfície macular da retina dos olhos direito e esquerdo

4.6 Tratamento

4.6.1 Panfotocoagulação retiniana

A técnica da PFC retiniana aplicada foi a preconizada pelo ETDRS⁽²⁾. Todos os pacientes foram submetidos a PFC retiniana em ambos os olhos com *LASER (Ophthalas 532 Eyelite, Alcon Surgical)*, lente ocular de *Mainster OMRA-PRP 165 (Ocular Instruments, Inc)* e gel anestésico em contato com globo ocular, pelo mesmo pesquisador (RCP). O procedimento foi realizado com o paciente sentado, após a instilação de uma gota de colírio anestésico de tetracaína a 0,5% (Farmacotécnica Hospitalar da Divisão de Farmácia HC-FMUSP). Semanalmente, realizou-se o tratamento binocular. Iniciou-se a PFC na região inferior (1º episódio), seguida da região nasal (2º episódio) e região superior e temporal (3º episódio). A quantidade de disparos, por episódio, para cada olho foi registrada.

Foi realizado PFC adicional no terceiro mês de seguimento se ainda houvesse a presença de NV retiniana em atividade evidenciada na AGF por vazamento de contraste. Também foi realizado *LASER* focal macular se após três meses iniciais de seguimento de fossem identificadas áreas de EM no OCT (EF>250µm) e pontos de vazamento de na AGF.

Figura 4. Instrumentos utilizados para a realização da fotocoagulação panretiniana. Aparelho de *LASER Ophthalas 532 Eyelite, Alcon Surgical*, acima e direita, lente *Mainster OMRA-PRP 160, Volk Instruments, Bellevue, CA, USA* e *Area Centralis Volk Instruments, Bellevue, CA, USA* e abaixo marcas de *LASER* no setor inferior da retina

4.6.2 Injeção intravítrea de Ranibizumabe

A injeção intravítrea de RBZ, como também a injeção simulada foi realizada no *baseline* e no mês 1 de seguimento em instalações do ambulatório do HC-FMUSP numa sala apropriada, seguindo diretrizes previamente publicadas⁽¹⁰⁵⁾. Após anestesia tópica com colírio de tetracaína, realizou-se antissepsia com solução de iodo povidona e colocou-se o blefarostato, seguidos de instalação de iodo povidona a 5% no saco conjuntival.

O RBZ (Lucentis^R), na concentração de 0.5mg (0,05ml) foi injetado por meio de seringa de insulina com agulha 27 gauge, na região temporal inferior a 4 ou 3,5 mm do limbo, dependendo se o paciente era fático ou pseudofático, perpendicular à parede do bulbo ocular e no centro da cavidade vítrea, com o bisel voltado para o cristalino. A injeção simulada foi realizada por meio de seringa de insulina com 27 gauge, apenas pressionando-a sobre o olho, sob anestesia tópica, sem ter penetração intra-ocular, na região temporal inferior.

Determinou-se através de tabela de randomização pareada, qual olho do paciente foi submetido ao tratamento combinado (GE), e qual foi realizado apenas a PFC (GC). Durante o procedimento, o paciente encontrava-se em decúbito dorsal com pupilas dilatadas e apenas sob anestesia tópica ocular. Após injeção, a artéria central da retina era avaliada por meio da oftalmoscopia indireta e, se diagnosticada oclusão vascular, a PIO era mensurada e verificada necessidade de paracentese na câmara anterior. Por outro lado, não havendo esta oclusão, uma gota de colírio de moxifloxacino 0,5% ou gatifloxacino 0,3%, 4 vezes ao dia, era prescrita por 3 dias e o paciente recebia orientações quanto ao retorno ao ambulatório para seguimento⁽¹⁰⁵⁾.

4.7 Avaliações no seguimento

Após 2 a 3 dias da injeção intravítrea do RBZ no olho em estudo e do 3º episódio da PFC em ambos os olhos, o paciente retornava ao ambulatório para avaliar alguma complicação do procedimento, sendo aferida a PIO e realizado a fundoscopia.

As informações sobre os eventos adversos, relatados voluntariamente pelo paciente, descobertos através de questionamento feito pelo investigador ou detectados por exame físico, ou de outras maneiras, foram coletadas e registradas. Um evento adverso foi considerado qualquer sinal, sintoma ou condição médica indesejável que ocorra após o início do estudo.

As condições médicas/doenças existentes antes do início do tratamento do estudo só foram consideradas como um evento adverso se pioraram ou ficaram mais frequentes após o início do tratamento do estudo. Os eventos adversos que ocorrerem antes de iniciar o tratamento do estudo, mas após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido foram registrados.

A PIO, biomicroscopia anterior, fundoscopia, medida da AV (usando refração da visita de qualificação), SC, e exame de OCT e AFG foram repetidos na primeira semana, no primeiro, terceiro e sexto meses do tratamento. Pacientes que evoluíssem com HV e/ou hemorragia pré-retiniana foram acompanhados, se necessário, com ultrassonografia ocular para melhor definição do quadro e conduta. Estes olhos foram excluídos das avaliações quantitativas da AV e do OCT se apresentassem HV importante (grau 4 e 5), assim como aqueles que apresentassem descolamento de retina, membrana

epiretiniana ou tração vitreomacular após tratamento. A graduação da presença de HV no período do estudo foi realizada através de oftalmoscopia indireta de acordo com a classificação abaixo⁽¹⁰⁶⁾:

Grau	Descrição	Achados clínicos
1	Mínimo	Polo posterior claramente visível
2	Leve	Polo posterior com detalhes ligeiramente turvo
3	Moderado	Polo posterior com detalhes turvo
4	Marcado	Polo posterior com detalhes pouco visíveis
5	Severo	Detalhes não visualizados

Figura 5. Graduação da hemorragia vítrea pela oftalmoscopia indireta

Diante de aumento da PIO (elevação >5mmHg do valor basal), optava-se, inicialmente, por prescrição de colírios hipotensores oculares, mantidos até a próxima visita. Caso não obtivesse redução dos níveis pressóricos, associação de colírios, ou cirurgia filtrante poderia ser aventada.

Se houvesse suspeita de endoftalmite, uma abordagem rápida e intervencionista com injeção intravítrea de antibióticos e corticóide, associada ou não à VVPP, seria a conduta adotada. Pacientes que evoluíssem com catarata após tratamento, teriam conduta expectante e posterior avaliação de facectomia com implante de lente intra-ocular.

Caso houvessem dúvidas ou piora do quadro, os pacientes foram orientados a entrar em contato com o médico responsável pela pesquisa (DAF)

ou procurar os médicos do serviço de Oftalmologia do Pronto Socorro do HC-FMUSP.

Os relatos contendo evento adverso grave e/ou gravidez deveriam ser encaminhados ao respectivo laboratório fabricante e à autoridade sanitária conforme legislação local.

4.8 Plano de Trabalho

Todos os pacientes foram seguidos durante 6 meses com retornos semanais até o final do 1 mês e depois nos 3 e 6 meses. No exame oftalmológico, na avaliação inicial de ambos os olhos constaram da avaliação geral, medida da AV e SC, retinografia, AGF e OCT no momento da randomização e nos 1, 3 e 6 meses de seguimento.

Este ensaio clínico teve dois grupos de tratamento e agenda dos procedimentos conforme definido a seguir:

Esquema de Tratamento:

Grupo de Tratamento	Número de olhos	Tipo de droga do estudo	Composição	Dose	Frequência	Rota de Admin.
PFC + Ranibizumabe	30	Ranibizumabe	Antiangiogênico	0,5mg	2x (visita 1 e 4)	Intravítrea
		PFC	LASER		Semanal por 3 sem + se necessário após	
PFC	30	Injeção Simulada			2x (visita 1 e 4)	
		PFC	LASER		Semanal por 3 sem + se necessário após	

Agenda dos procedimentos:

VISITA (semanas)	1 (baseline)	2 (sem 1)	3 (sem 2)	4 (sem 3)	5 (sem 4)	6 (sem 12)	7 (sem 24)
Avaliação Oftalmológica (1)	X	X	X	X	X	X	X
Retinografia de Fundo	X				X	X	X
Coleta de Efeitos Colaterais	x	X	X	X	X	X	X
Angiofluoresceinografia	X				X	X	X
OCT	X				X	X	X
Injeção de Ranibizumabe	X				X		
Procedimento Placebo	X			X			
PFC		X	X	X		X*	
Hb glicada	X						
Randomização	X						

(1) Incluem: acuidade visual, teste de sensibilidade ao contraste, pressão intraocular, biomicroscopia, exame de fundo de olho e ultrassonografia ocular.

X* - Se necessário

4.9 Análise Estatística

A estatística descritiva das variáveis quantitativas da amostra consistiu na observação dos valores mínimos e máximos, do cálculo de médias e desvios-padrão. Para as variáveis qualitativas foram calculadas as frequências absolutas e relativas.

Dependendo da adesão aos pressupostos normais, características basais foram avaliadas usando o teste de amostras independentes t ou Mann Whitney para variáveis contínuas, e quer teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher para as variáveis categóricas. Comparação inter-grupo para VA e EF foi realizada ao final de 6 meses, seguido de análise sub-grupo pré-planejada para os olhos com e sem EMD dentro de cada grupo. O teste não paramétrico de Wilcoxon foi aplicado para comparar a variação média da AV, SC e EF dentro de cada grupo e subgrupo. Foi realizado o teste exato de Fisher para comparar a porcentagem de pacientes que tiveram EF < 250µm ao mês 6 entre os subgrupos.

O SPSS 15,0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, Illinois, EUA) foi utilizado para análise estatística. A hipótese nula foi rejeitada para valores de $p < 0,05$.

5 Resultados

5.1 Pacientes no *Baseline*

Cerca de 450 pacientes com RD foram avaliados para este estudo, sendo que um total de 30 pacientes (60 olhos) preencheram os critérios de elegibilidade. A Média $\pm$ desvio padrão (DP) da idade e tempo de diagnóstico de DM foram de $52,3 \pm 7,8$ e $14 \pm 6,4$ anos, respectivamente. A média e DP de hemoglobina glicada foi de $8,1 \pm 1,1\%$. Os dados demográficos dos pacientes e características oculares são demonstrados na Tabela 1. Dos 420 pacientes excluídos, aproximadamente 50% dos pacientes apresentavam algum grau de HV ou tração vítreo-retiniana, 30% já tinham realizado algum tratamento prévio, 10% apresentavam níveis de hemoglobina glicada fora dos padrões exigidos e 10% preencheram outros critérios de exclusão.

Tabela 1. Dados demográficos e características oculares de todos os pacientes

Parâmetro	N=30		
Média de Idade (DP) / anos	52.6(7.9)		
Gênero (Feminino) / n (%)	15(50.0)		
Raça / n (%)			
Caucasiano	12 (40.0)		
Negro	15 (50.0)		
Asiático	3 (10.0)		
Duração média da Diabetes (DP) / anos	14(6.5)		
Média de Hb A1c (DP) / %	8.1(1.1)		
Usuários de insulina/ n (%)	19 (67.9)		
HAS / n (%)	25 (89.3)		
Hipercolesterolemia / n (%)	11(39.3)		
Características oculares	Grupo Controle n=30	Grupo RBZ n=28	Valor de p-
Média da AV (DP) / letras	44.4 (13.8)	44.8 (12.8)	0.92
Média de EF(DP)/ μm	265.8(104.3)	256.4(67.5)	0.84
Média da PIO/ mmHg	14.1 (2.2)	13.9(2.1)	0.72
Fácicos/ n (%)	23(76.7)	19(67.9)	0.56

DP = desvio padrão, Hb = hemoglobina, AV = acuidade visual, *ETDRS* = *Early treatment diabetic retinopathy study*, EF = espessura foveal, PIO = pressão intra-ocular.

A média $\pm$ DP da AV no início do estudo foi de $44,4 \pm 13,8$ letras no GC e $44,8 \pm 12,8$ letras em GE ($p = 0,82$). A média $\pm$ DP da EF no início era de $265,8 \pm 104,3 \mu\text{m}$ no CG e $256,4 \pm 67,5 \mu\text{m}$ no GE ($p = 0,84$). Quatorze dos 30 (46,7%) pacientes do grupo de controle e 15 de 28 (53,6%) pacientes no grupo RBZ apresentavam EMD ($p = 0,79$) .

Uma análise comparativa da SC em olhos com e sem EMD não mostrou significativas diferenças entre os grupos no início do estudo em 1,5, 3, 6, 12 ou 18 cpq ($p = 0,677$, $p = 0,697$, $p = 0,325$, $p = 0,299$ e $p = 0,904$, respectivamente).

O subgrupo de pacientes com EMD e o subgrupo de pacientes sem DME foram bem balanceados tanto para os dados demográficos como para as características oculares no início do estudo. Os detalhes dos dados demográficos, AV e EF são apresentados na Tabela 2 e 3.

Tabela 2. Dados demográficos e características oculares dos pacientes com EMD

Parâmetro	Grupo Controle n=14	Grupo RBZ n=15	Valor de p
Média de Idade (DP) / anos	50.8(7.0)	53.2(7.7)	0.38
Gênero (Feminino) / n (%)	7(50.0)	9(60.0)	0.72
Raça / n (%)			0.71
Caucasiano	7(50.0)	9(60.0)	
Negro	7(50.0)	6(40.0)	
Asiático	0(0)	0(0)	
Duração média da Diabetes (DP) / anos	12.4(7.2)	13.6(7.8)	0.71
Média de Hb A1c (DP) / %	8.3(1.2)	8.1(1.1)	0.79
Usuários de insulina/ n (%)	9(64.3)	11(73.3)	0.70
HAS / n (%)	12(85.7)	13(86.7)	1.0
Hipercolesterolemia / n (%)	5(35.7)	6(40.0)	1.0
Características oculares			
Média da AV (DP) / letras	41.8(17.5)	42.1(16.1)	0.75
Média de EF(DP)/ μm	345.2(103.4)	304.1 (52.5)	0.25
Média da PIO/ mmHg	14.8(2.3)	14.3 (2.3)	0.60
Fácicos/ n (%)	11(78.6)	10(66.7)	0.68

EMD = edema macular diabético, DP= desvio padrão, Hb = hemoglobina, AV = acuidade visual, *ETDRS* = *Early treatment diabetic retinopathy study*, EF = espessura foveal, PIO = pressão intra-ocular.

Tabela 3. Dados demográficos e características oculares dos pacientes sem EMD

Parâmetro	Grupo Controle n=16	Grupo RBZ n=13	Valor de p
Média de Idade (DP) / anos	53.1(8.7)	51.9(8.2)	0.69
Gênero (Feminino) / n (%)	8(50.0)	6(46.2)	1.0
Raça / n (%)			0.88
Caucasiano	5(31.3)	3(23.1)	
Negro	9(56.3)	8(61.5)	
Asiático	2(12.5)	2(15.4)	
Duração média da Diabetes (DP) / anos	15.4(5.7)	14.5(4.8)	0.59
Média de Hb A1c (DP) / %	8.0(1.0)	8.2(1.0)	0.62
Usuários de insulina/ n (%)	12(75.0)	8(61.5)	0.68
HAS / n (%)	15(93.8)	12(92.3)	1.0
Hipercolesterolemia / n (%)	7 (43.8)	5(38.5)	1.0
Características oculares			
Média da AV (DP) / letras	46.8(9.5)	47.9(6.6)	0.71
Média de EF(DP)/ μ m	196.2 (26.7)	201.3 (30.1)	0.63
Média da PIO/ mmHg	13.5 (2.0)	13.4(2.0)	0.88
Fácicos/ n (%)	12(75.0)	9(69.2)	1.0

EMD = edema macular diabético, DP= desvio padrão, Hb = hemoglobina, AV = acuidade visual, ETDRS = *Early treatment diabetic retinopathy study*, EF = espessura foveal, PIO = pressão intra-ocular.

5.2 Tratamento

Trinta olhos do GC e 28 olhos em GE completaram o estudo. Dois olhos do grupo RBZ desenvolveram HV exigindo VVPP antes do tratamento e não foram incluídos na análise. Os pacientes receberam uma média de $1.466,9 \pm 202,6$

disparos de PFC no início do estudo, não houve diferença significativa entre o número médio de disparos dados em cada grupo ou entre os subgrupos (Tabelas 4, 5 e 6). Os pacientes poderiam receber *LASER* focal ou PFC adicional no 3 mês. Trinta e três por cento dos pacientes do GC e 32,1% no GE precisaram de tratamento adicional com PFC. Sessenta e três por cento dos pacientes do GC e 53,6% no GE recebeu tratamento com *LASER* focal em 3 meses de follow-up. Não houve diferença significativa na proporção de olhos que receberam PFC adicional ou tratamento com *LASER* focal nos dois grupos ($p=1,0$ e $0,60$, respectivamente).

Tabela 4. Sumário do tratamento com *LASER* em todos os pacientes

Tratamento com <i>LASER</i>	Grupo Controle n=30	Grupo RBZ n=28	Valor de p
Média do número de disparos na PFC (DP)	1460.8(236.6)	1473.4(162.6)	0.82
Olhos que receberam PFC adicional no 3º mês / n (%)	10 (33.3)	9(32.1)	1.0
Média do número de disparos adicionais da PFC no 3º mês(DP)	334.8(159.9)	230.4(79.4)	0.10
Olhos que receberam <i>LASER</i> focal no 3º mês / n (%)	19 (63.3)	15(53.6)	0.60
Média do número de disparos do <i>LASER</i> focal no 3º mês (DP)	110.1(21.8)	110.9(28.1)	0.93

EMD= Edema macular diabético, DP= desvio padrão, PFC= fotocoagulação panretiniana.

Tabela 5. Sumário do tratamento com *LASER* dos pacientes com EMD

Tratamento com <i>LASER</i>	EMD		Valor de p
	Grupo Controle n=14	Grupo RBZ n=15	
Média do número de disparos na PFC (DP)	1421.6(315.6)	1459.4(180.8)	0.69
Olhos que receberam PFC adicional no 3º mês / n (%)	4(28.6)	4(26.7)	1.0
Média do número de disparos adicionais da PFC no 3º mês(DP)	254.0(37.3)	201.8(68.8)	0.23
Olhos que receberam <i>LASER</i> no 3º mês/n (%)	12(85.7)	9(60.0)	0.22
Média do número de disparos do <i>LASER</i> focal no 3º mês (DP)	104.2(16.8)	106.2(31.0)	0.85

EMD= Edema macular diabético, DP= desvio padrão, PFC= fotocoagulação panretiniana.

Tabela 6. Sumário do tratamento com *LASER* dos pacientes sem EMD

Tratamento com <i>LASER</i>	Sem EMD		Valor de p
	Grupo Controle n=16	Grupo RBZ n=13	
Média do número de disparos na PFC (DP)	1495.1(138.5)	1489.5(144.4)	0.92
Olhos que receberam PFC adicional no 3º mês / n (%)	6(36.5)	5(38.5)	1.0
Média do numero de disparos adicionais da PFC no 3º mês(DP)	388.7(191.0)	253.4(104.7)	0.19
Olhos que receberam <i>LASER</i> focal no 3º mês / n (%)	7(43.8)	6(46.2)	1.0
Média do número de disparos do <i>LASER</i> focal no 3º mês (DP)	120.3(26.7)	118.0(24.0)	0.88

EMD= Edema macular diabético, DP= desvio padrão, PFC= fotocoagulação panretiniana.

O procedimento de injeção intravítrea foi bem tolerado. Não houve nenhuma evidência clínica de inflamação estéril, endoftalmite, catarata, ou toxicidade ocular, como também não houve efeitos colaterais graves relacionados à droga dentre os 28 olhos que receberam RBZ.

5.3 Resultados Principais

No GE, a diferença na média da AV do *baseline* para o mês 6 teve um aumento significativo de 3,4 letras ($p = 0,006$) e uma diminuição significativa na EF de $47,6\mu\text{m}$ ($p < 0,001$). No GC, a diferença na média da AV teve uma diminuição de 3,4 letras ($p = 0,04$) e uma mudança na EF de $-3,8\mu\text{m}$ ($p = 0,96$). Ao comparar os dois grupos, a alteração média na AV no mês 6 (ganho de 3,4 letras no GE vs perda de 3,4 letras no GC), houve uma diferença significativa ($p=0,002$). Da mesma forma, uma diferença significativa foi encontrada nos resultados com relação a EF ($-47,6\mu\text{m}$ no GE vs $-3,8\mu\text{m}$ no GC, $p=0,001$) (Gráficos 1 e 2).

Dentre os 29 olhos com EMD (15 no GE e 14 no GC), a AV melhorou do *baseline* para o 6 mês, no GE em 3,6 letras, $p = 0,06$) e piorou em relação ao *baseline* no GC em 4,4 letras, $p=0,03$). Essas variações na AV foram estatisticamente significantes entre os dois grupos no sexto mês de seguimento ($p = 0,003$). A EF diminuiu significativamente no GE em $69,3\mu\text{m}$ ($p=0,001$), enquanto que a diminuição da EF observada no CG não foi significativa, $45,5\mu\text{m}$ ($p = 0,11$). A EF foi diferente entre os dois grupos no 6 mês ($p = 0,01$) (Gráficos 3 e 4).

Gráfico 1. Média de acuidade visual (AV) corrigida através da tabela de ETDRS a 4,0 metros em letras, para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para todos os olhos estudados.

Gráfico 2. Média da espessura foveal (EF) mensuradas pelo OCT em micra para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para todos os olhos estudados.

Gráfico 3. Média de acuidade visual (AV) corrigida através da tabela de ETDRS a 4,0 metros em letras, para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para os olhos com edema macular diabético (EMD)

Gráfico 4. Média da espessura foveal (EF) mensuradas pelo OCT em micra para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para os olhos com edema macular diabético (EMD)

Ao fim de 6 meses, 11 (73,3%) em olhos do GE tinham EF < 250µm em comparação com 4 (28,6%) do GC ($p = 0,03$). Os 11 olhos do GE com EF < 250µm tiveram uma redução média de 67,5 µm e ganho de 3,9 letras, enquanto os quatro restantes (EF > 250µm) tiveram uma redução de 74,3µm e ganho de 2,8 letras. Todos os quatro olhos do GC com EF < 250µm realizaram uma sessão extra de *LASER* focal no mês 3, com média de redução na EF de 117µm e redução média de 3,2 letras. Os restantes dez olhos com EF ≥ 250 µm no GC tiveram uma redução média de 16,8 µm e uma perda média de 4,2 letras.

Dentre os 29 olhos sem EMD (13 no GE e 16 no GC), a AV média melhorou em 3,2 letras ($p = 0,03$) do início até o mês 6 no GE enquanto houve uma perda de 2,4 letras no GC, entretanto não foi estatisticamente significativa ($p = 0,4$). Os olhos do GE apresentaram melhor AV ao final de 6 meses em comparação com os pacientes do GC (51,2 letras vs 44,3 letras, $p = 0,05$). A EF diminuiu em 22,5 µm no GE ($p = 0,003$) e um aumentou em 32,7 µm no GC ($p = 0,02$). A EF ao fim de 6 meses (228,9 vs 178,8 µm, $p = 0,002$), foi estatisticamente significantes (Gráficos 5 e 6).

Gráfico 5. Média de acuidade visual (AV) corrigida através da tabela de ETDRS a 4,0 metros em letras, para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle. Resultados para os olhos sem EDM.

Gráfico 6. Média da espessura foveal (EF) mensuradas pelo OCT em micra para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle.

Ao final de seis meses, todos os 13 olhos no GE tinham EF < 250 μ m, enquanto 4 (25%) olhos do GC tiveram EF $\geq$ 250 μ m ($p = 0,10$). Estes quatro olhos tiveram uma redução média de 14,3 letras e aumento de 98,5 μ m em comparação com os 10 olhos restantes que tiveram um ganho médio de 1,5 letras e redução média de 10,8 μ m EF ($p = 0,08$ e $p = 0,004$). Analisando estes 4 olhos separadamente, evidenciamos que 2 olhos apresentam valores de hemoglobina glicada próximo do limite superior tolerado no início de estudo, sugerindo que o controle glicêmico é importante na resposta terapêutica. Os outros 2 olhos: 1 piorou AV e EF entre 1-3 meses e o outro com 6 meses.

Com relação ao teste de SC, os resultados foram expressos em log₁₀. Não houve diferença de SC em todas as frequências espaciais pré-tratamento no GE e GC ($p > 0,05$). Dentre os 30 olhos do GC, houve um detrimento estatisticamente significativo da sensibilidade ao contraste em relação ao *baseline* nos seguintes momentos: no mês 1 nos ciclos 1,5 ($p=0.017$), 6,0 ($p=0.007$) e 18,0 ($p=0.001$); mês 3 nos ciclos 1,5 ($p=0.025$), 6,0 ($p=0.022$) e 18,0 ($p=0.039$). E dentre os 28 olhos do GE a SC melhorou em relação ao *baseline* nos seguintes momentos: no mês 1 no 1,5 ciclo ($p=0.004$), mês 3 no 1,5 ciclo ($p=0.036$) e mês 6 no 3,0 ciclo ($p=0.023$). Uma análise comparativa das mudanças da SC entre os dois grupos mostraram diferenças significativas no mês 1 em 1,5 cpg ($p = 0,000$) e 3,0 cpg ($p = 0,04$); no mês 3 em 1,5 cpg ($p = 0,016$) e no sexto mês em 1,5 cpg ($p = 0,001$) e 3,0 cpg ($p = 0,026$) (Gráficos 7 a 12).

Gráfico 7. Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 1,5 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle.

Gráfico 8. Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 3,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle.

Gráfico 9. Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 6,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle.

Gráfico 10. Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 12,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle.

Gráfico 11. Média de Sensibilidade ao Contraste (SC) mensurada na tabela VCTS em 18,0 ciclos/grau a 3m para todas as visitas desde o início até o mês 6 do tratamento, tanto para o grupo de estudo (RBZ) como grupo controle.

Gráfico 12. Acompanhamento da sensibilidade nos diferentes contrastes durante o período de acompanhamento segundo os grupos tratados a *LASER* e o grupo tratado a *LASER* + RBZ.

Entre os 29 olhos com EMD (15 no GE e 14 no GC) houve um detrimento da SC no GC em relação ao *baseline* no mês 3 no ciclo 1,5 ($p=0.012$). Nos olhos do GE não houve resultados significantes, mas uma tendência a melhora nos momentos estudados. Uma análise comparativa das mudanças da SC entre ambos os grupos apresentaram diferenças significativas no mês 1 em 1,5 cpg ($p = 0.008$), 3,0 cpg ($p=0.025$), 12,0 cpg ($p=0.025$); com 3 meses no 1,5 cpg ($p=0.025$) e 12,0 cpg ($p=0.036$).

Entre os 29 olhos sem EMD (13 no GE e 16 em GC) houve um detrimento da SC no GC em relação ao *baseline* no mês 3 no ciclo 1,5 ($p=0.039$). Nos olhos do GE não houve resultados significantes, mas uma tendência a melhora nos momentos estudados. Uma análise comparativa das mudanças da SC entre os dois grupos apresentaram diferenças significativas em 1 mês no 1,5 cpg ($p=0.012$) e em 6 meses no 1,5 cpg ($p=0.028$).

5.4 Resultados Secundários

Avaliando a incidência de HV após o início do tratamento, doze olhos (20%) desenvolveram algum grau de sangramento, considerando-se todos os grupos. Oito de trinta olhos (26,7%) do GC e 4 de 30 olhos (13,3%) no GE desenvolveram HV ($p = 0,33$). Dois olhos no GE desenvolveram HV antes da injeção de RBZ e foram submetidos a VVPP e tratamento com Endolaser.

Com relação ao grau da HV e o intervalo de tempo entre o *LASER* e o início do sangramento foram encontrados no GE: 1 olho grau 1 no 3 mês; e 1

olho grau 2 no 1 mês. Já no GC: 2 olhos grau 1 no 1 mês, 1 olho grau 3 no 1 mês, 2 olho grau 1 no 3 mês e 1 olho grau 3 no 3 mês de seguimento.

Não foi realizada cirurgia de catarata em nenhum dos olhos e não se observou aumento significativo na média da PIO durante o período de estudo, como também casos de endoftalmite após a injeção de RBZ.

6 Discussão

No presente estudo, foram avaliados os possíveis efeitos adjuvantes de duas injeções de RBZ em combinação com PFC a *LASER* para o tratamento de pacientes com RDP precoce, virgens de tratamento, com ou sem EMD associado. Tem sido relatado que 25-43% dos pacientes com RDP tratados com PFC, podem desenvolver um aumento da espessura macular e agravamento do EM prévio, resultando em distúrbios visuais^(60,107,108). O papel do efeito adjuvante de proteção do RBZ na estabilização da AV e do EM ainda não foi elucidado nesta população. Os resultados do nosso estudo podem ajudar a fornecer elementos sobre esta relação.

Filho et al.⁽¹³⁾ investigaram o uso de RBZ associado com PFC em pacientes com RDP de alto risco. Foi relatado uma diminuição no vazamento da NV com uma estabilização da AV em pacientes tratados com RBZ e PFC em comparação com pacientes tratados apenas com PFC onde tiveram uma perda de AV no final de 1 ano de seguimento. Entretanto não foi realizada uma divisão entre os pacientes com e sem EM, mas foi relatado que aqueles tratados com PFC isoladamente tiveram um aumento de cerca de 40µm na EF, enquanto aqueles tratados com RBZ e PFC tiveram uma diminuição de 12,5µm na EF.

No presente estudo, quando a AV foi avaliada comparando os dois grupos em todos os 58 olhos, com e sem DME, houve diferença significativa

entre os grupos, com uma piora da AV e nenhuma mudança significativa observada na EF no GC com 6 meses, ao passo que houve uma melhora na AV acompanhada por uma diminuição da EF no grupo tratado com RBZ. Os resultados dos estudos READ-2 relataram que os olhos com EMD, que foram tratados com RBZ ganharam mais visão em comparação com aqueles que foram tratados com uma combinação de RBZ e o *LASER* focal, apesar de olhos que foram tratados com *LASER* terem tido uma maior redução no EMD^(85,86,109).

O OCT tem sido empregado para mensurar as alterações morfológicas na retina de varias patologias e dentre elas, a RD e o EMD. Os resultados deste trabalho mostraram que o RBZ parece estabilizar ou melhorar o EMD em olhos com RDP precoce (com EMD) tratados com o PFC durante um período de acompanhamento de 6 meses; tal como tem sido mostrado em olhos com EMD sem RDP⁽¹⁴⁾. Melhoras anatômicas (diminuição media de -69,3µm) foram sugeridas pelo OCT, com um ganho correspondente na AV no grupo RBZ. No GC, houve uma diminuição da AV com uma diminuição global de 45,5µm na EF que não foi significativa com comparação pareada.

Googe et al.⁽¹⁴⁾ trataram pacientes com edema macular com RBZ ou injeção de placebo no início do estudo, seguido pelo *LASER* em grade e depois PFC tratados dentro de 14 dias, e depois outro RBZ ou injeção de placebo um mês apos. Neste estudo *DRCR.net*, o Centro de Diagnóstico graduou os pacientes em: 20% olhos com retinopatia diabética não-proliferativa (RDNP) moderadamente grave, 5% de olhos com RDNP grave, e 75% com RDP incluindo 35% com RDP de alto risco. Ao final da 14 semana, a AV diminuiu

nos pacientes tratados com placebo (n = 123) em comparação com pacientes tratados com RBZ (n = 113) (- 4 letras vs +1 letra, p <0.001), que foi correlacionada com alterações na EF (+ 10µm vs - 91µm, p = 0,01). O resultado é semelhante ao obtido no nosso estudo, na qual tem uma população com RDP precoce, virgem de tratamento, que foi seguida por 24 semanas, sendo feito o tratamento com *LASER* em grade na 12 semana se necessário. Preti et al.⁽¹¹⁰⁾ investigaram o uso de BVZ em pacientes com RDP de alto-risco em que os pacientes receberam uma injeção intravítrea (placebo ou BVZ) uma semana antes e após a conclusão do tratamento com PFC. Foi relatado então que a AV diminuiu acompanhada por um aumento da EF e volume macular em pacientes que realizaram o tratamento simulado. Não ocorreram alterações significativas na AV, EF ou volume macular em pacientes tratados com o BVZ.

Considerando pacientes sem EMD, aqueles tratados com RBZ tiveram uma melhora em 3,2 letras na AV e redução de 22,5 µm na EF, enquanto que a diminuição de 2,8 letras na AV no grupo controle foi conduzido por 4 pacientes que tiveram uma perda de 14.3 letras e um aumento médio de 98,5 µm na EF. Neste estudo, 25% dos pacientes no grupo controle (em comparação com nenhum no grupo do RBZ), desenvolveram edema evidenciado pelo aumento da EF no OCT, porém este possível efeito protetor deve ser investigado em estudos com uma amostra maior.

Os efeitos da PFC na função visual e na SC ainda não são bem elucidados, especialmente em diferentes fases da RD. Mackie e Walsh relataram, em um estudo transversal, que a PFC causa deterioração no limiar médio da SC⁽¹¹¹⁾. Khosla et al. realizaram um estudo prospectivo e também demonstrou

deterioração no seguimento inicial, que não foi mantido no fim de 3 meses⁽¹¹²⁾. Nossos resultados mostraram piora na SC na maioria das frequências espaciais no GC quando comparado com os valores antes do tratamento. Essas mudanças foram mantidas durante todo o acompanhamento com resultados significativos nos ciclos: 1,5 cpg nos meses 1 e 3, 6,0 cpg nos meses 1 e 3, e 18,0 cpg nos meses 1 e 3. Por outro lado, quando foi realizada a análise no GE, pôde-se notar uma tendência na melhoria da SC durante o período de seguimento. A SC não piorou na maioria das frequências no GE e houve uma melhora em algumas frequências com valores dos ciclos significativos: 1,5 cpg nos meses 1 e 3, e 3,0 cpg no mês 3. Quando foi realizada a análise intergrupos foi evidenciado uma diferença significativa nos seguintes ciclos: mês 1 nos ciclos 1,5 e 3,0, mês 3 no ciclo 1,5 e mês 6 no ciclos 1 e 3. Estes resultados sugerem que o efeito de RBZ foi mais evidente no ciclos periféricos, havendo assim uma proteção a perda de SC causada pela PFC.

Entretanto, deve-se levar em consideração a hipótese de que o RBZ pode estar fortemente associado com alguma proteção da SC após a PFC. Essa proteção atinge o platô em 1 mês, provavelmente devido a ação das 2 injeções de RBZ (início do estudo e mês 1). Após este período nota-se uma tendência de seguir a deterioração esperada após a PFC (vide gráfico), mas mantendo-se em níveis melhores do que o GC ate o final do seguimento.

De acordo com os resultados obtidos, foi notado uma deterioração em todas as frequências espaciais em todas as fases de seguimento do GC. Estudos anteriores sugerem que esta deterioração seria um efeito deletério da PFC na SC ⁽¹¹¹⁾⁽¹¹²⁾. Esta diminuição da SC, especialmente nas frequências

médias-espaciais, pode explicar por que alguns pacientes podem relatar a inconveniência na vida diária, tais como dificuldade de reconhecimento de rosto de pessoas em baixo contraste.

Atribui-se que o RBZ esteve fortemente envolvido na manutenção da SC em pacientes tratados com PFC e RBZ. Na verdade, o GE atingiu valores satisfatórios na CS com 6 meses nos ciclos 1,5 e 3,0 cpg ($p < 0,05$), no qual apoiam essa hipótese, demonstrando que os ciclos periféricos foram mais influenciados pela droga do que os ciclos centrais. Mesmo com a piora da SC durante o acompanhamento, após a concentração do RBZ diminuir na cavidade vítrea, os resultados com 6 meses de seguimento, demonstraram que os valores da SC eram melhores no GE quando comparado ao GC.

Estudos publicados na literatura relatam que a incidência de HV após e durante o tratamento da RDP com PFC situa-se em aproximadamente 30%⁽¹¹³⁾⁽⁷⁾. Neste estudo, foi observado uma incidência de 20%. Para ambos os grupos de tratamento, as taxas de HV foram menores do que o esperado com base em estudos anteriores, já que foi encontrado uma taxa de 26,7% no GC e de 13,3% no GE. No entanto, a incidência de HV no GC foi detectada como sendo 2,0 vezes maior que no GE, sendo que a diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa. A HV ocorreu em diferentes momentos do seguimento, tanto no 1 mês de seguimento, como também no 3 mês. A frequência de HV recorrente menor no GE, sugere uma atividade biológica e talvez um clareamento mais rápido da HV com a injeção intravítrea de RBZ⁽¹¹⁴⁾.

Também não foram observados durante o estudo nenhum caso de evento adverso relacionado ao procedimento da injeção intravítrea como também ao RBZ, comprovando a tolerabilidade e segurança do procedimento.

Este protocolo foi adaptado para reduzir os níveis de VEGF, antes e após a conclusão do *LASER*. A primeira injeção de RBZ foi feita no momento da randomização para reduzir a concentração de VEGF intravítreo. Foi observada que uma redução da espessura da retina pode ocorrer entre 7-15 dias após a injeção de RBZ⁽¹¹⁵⁾. Uma semana após a injeção, a primeira sessão de *LASER* foi realizada com níveis reduzidos ou suprimidos de VEGF; a segunda injeção de RBZ foi realizada uma semana depois da terceira sessão de *LASER* para evitar qualquer aumento na produção de VEGF causada pela potencial resposta inflamatória do *LASER*, atenuando os efeitos do VEGF em causar ou piorar o EM.

Reconhecemos que o número de pacientes incluídos no presente estudo é pequeno, no entanto, existem pontos fortes em nosso estudo que valem a pena mencionar. O mesmo experiente especialista em retina realizou tratamento da PFC (RCP) em ambos os grupos e não foi observada diferença significativa quanto ao número de disparos do laser *LASER* ou os episódios de tratamento necessários para completar cada sessão de disparos totais da PFC. Além disso, uma vez que o olho de cada paciente foi aleatoriamente para um grupo, as características oculares de cada grupo estudados foram semelhantes, e por conseguinte, a comparação em relação ao efeito de terapia adjuvante associada ao PFC foi mais concisa.

O estudo é relevante, pois muitos pacientes se apresentam com RDP (com ou sem EMD) sem ter recebido qualquer tratamento prévio, particularmente em países em desenvolvimento. Os resultados podem, portanto, fornecer subsídios sobre a abordagem de tratamento mais satisfatório para este importante grupo de pacientes, a fim de se obter um melhor prognóstico visual. Embora mais estudos com maior tempo de seguimento e maior número de pacientes são necessários para confirmar esses resultados, o presente estudo mostra que a injeção intravítrea RBZ em conjunto com o PFC pode ser um método de tratamento eficaz no manejo de pacientes com RDP não alto risco virgens de tratamento com EMD. Os dados também sugerem que em olhos com RDP sem EMD uma avaliação mais aprofundada sobre o papel preventivo do RBZ pode ser indicado.

7 Conclusões

Considerando-se o uso da injeção intravítrea de Ranibizumabe como adjuvante na fotocoagulação panretiniana no tratamento da RDP, em pacientes virgens de tratamento, concluiu-se que o Ranibizumabe:

- 1) Promoveu diferença estatisticamente significativa na acuidade visual e sensibilidade ao contraste (alguns ciclos) no sexto mês de estudo. A função visual avaliada por meio da tabela ETDRS e VCTS no grupo de estudo foi significativamente melhor do que no grupo controle,
- 2) Promoveu diferença estatisticamente significativa da espessura foveal no sexto mês de seguimento. A reestruturação anatômica macular por meio da análise na tomografia de coerência óptica no grupo de estudo foi significativamente melhor do que no grupo controle,
- 3) Promoveu uma diminuição do número de olhos com hemorragia vítrea durante os 6 meses de seguimento. Na comparação entre os grupos, a diferença nas taxas de sangramento não foi estatisticamente significativa, provavelmente em razão do tamanho amostral,
- 4) Não apresentou nenhum efeito adverso ocular.

8 Anexos

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 28/04/2010, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0140/10**, intitulado: **"AVALIAÇÃO ESTRUTURAL E FUNCIONAL DA MÁCULA NOS PACIENTES COM RETINOPATIA DIABÉTICA PROLIFERATIVA SUBMETIDOS A PANFOTOCOAGULAÇÃO ASSOCIADA A RANIBIZUMABE (LUCENTIS®)"** apresentado pelo Departamento de **OFTALMOLOGIA E OTORRINOLARINGOLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Dr. Walter Yukihiro Takahashi**

Pesquisador (a) Executante: **Daniel Araújo Ferraz, Leandro Cabral Zacharias, Rony Carlos Preti**

CAPPesq, 29 de Abril de 2010

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão
de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br

9 Referências

1. Kinyoun J, Barton F, Fisher M, Hubbard L, Aiello L, Ferris F. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and *baseline* patient characteristics. ETDRS report number 7. Ophthalmology. 1991;98:741–56.
2. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology [Internet]. 1991 May [cited 2014 Jan 30];98(5 Suppl):766–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2062512>
3. Fluorescein angiographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 13. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology [Internet]. 1991 May [cited 2014 Jan 30];98(5 Suppl):834–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2062516>
4. Fong DS, Ferris FL, Davis MD, Chew EY. Causes of severe visual loss in the early treatment diabetic retinopathy study: ETDRS report no. 24. American Journal of Ophthalmology. 1999. p. 137–41.
5. Ferris FL. Photocoagulation for diabetic retinopathy. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. JAMA [Internet]. 1991 Sep 4 [cited 2014 Jan 30];266(9):1263–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1870253>
6. Vander JF, Duker JS, Benson WE, Brown GC, McNamara JA, Rosenstein RB. Long-term stability and visual outcome after favorable initial response of proliferative diabetic retinopathy to panretinal photocoagulation. Ophthalmology [Internet]. 1991 Oct [cited 2014 Jan 30];98(10):1575–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1961647>
7. Flynn HW, Chew EY, Simons BD, Barton FB, Remaley NA, Ferris FL. Pars plana vitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ETDRS report number 17. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Ophthalmology [Internet]. 1992 Sep [cited 2014 Jan 30];99(9):1351–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1407968>

8. Early vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy in eyes with useful vision. Results of a randomized trial--Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Report 3. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. *Ophthalmology* [Internet]. 1988 Oct [cited 2014 Jan 30];95(10):1307–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2465517>
9. Tsujikawa A, Kiryu J, Dong J, Yasukawa T, Suzuma I, Takagi H, et al. Quantitative analysis of diabetic macular edema after scatter laser photocoagulation with the scanning retinal thickness analyzer. *Retina* [Internet]. 1999 Jan [cited 2014 Jan 30];19(1):59–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10048375>
10. Cho W Bin, Oh SB, Moon JW, Kim HC. Panretinal photocoagulation combined with intravitreal bevacizumab in high-risk proliferative diabetic retinopathy. *Retina* [Internet]. 2009 Apr [cited 2014 Jan 30];29(4):516–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19262436>
11. Cho W Bin, Moon JW, Kim HC. Intravitreal triamcinolone and bevacizumab as adjunctive treatments to panretinal photocoagulation in diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2010 Jul [cited 2014 Jan 30];94(7):858–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20606024>
12. Thomas BJ, Shienbaum G, Boyer DS, Flynn HW. Evolving strategies in the management of diabetic macular edema: clinical trials and current management. *Can J Ophthalmol* [Internet]. 2013 Mar [cited 2014 Jan 30];48(1):22–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23419295>
13. Filho JAR, Messias A, Almeida FPP, Ribeiro JAS, Costa RA, Scott IU, et al. Panretinal photocoagulation (PRP) versus PRP plus intravitreal ranibizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* [Internet]. 2011 Nov [cited 2014 Jan 30];89(7):e567–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21726427>
14. Googe J, Brucker AJ, Bressler NM, Qin H, Aiello LP, Antoszyk A, et al. Randomized trial evaluating short-term effects of intravitreal ranibizumab or triamcinolone acetonide on macular edema after focal/grid laser for diabetic macular edema in eyes also receiving panretinal photocoagulation. *Retina* [Internet]. 2011 Jun [cited 2014 Jan 30];31(6):1009–27. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3489032&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
15. Meillet L, Combes J, Penfornis A. [Management of type 2 diabetes: patient education]. *Presse Med* [Internet]. 2013 May [cited 2014 Jan 30];42(5):880–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23523080>

16. Barzilay JI, Spiekerman CF, Wahl PW, Kuller LH, Cushman M, Furberg CD, et al. Cardiovascular disease in older adults with glucose disorders: comparison of American Diabetes Association criteria for diabetes mellitus with WHO criteria. *Lancet* [Internet]. 1999 Aug 21 [cited 2014 Jan 30];354(9179):622–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10466662>
17. Malerbi DA, Franco LJ. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. *Diabetes Care* [Internet]. 1992 Nov [cited 2014 Jan 30];15(11):1509–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1468278>
18. Rathmann W, Giani G. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 Oct [cited 2014 Jan 30];27(10):2568–9; author reply 2569. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15451946>
19. Diabetes today. An update for patients and clinicians. Centers for Disease Control and Prevention. *Adv Nurse Pract* [Internet]. 1999 Apr [cited 2014 Jan 30];7(4):64–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10382391>
20. Schuster DP, Duvuuri V. Diabetes mellitus. *Clin Podiatr Med Surg* [Internet]. 2002 Jan [cited 2014 Jan 30];19(1):79–107. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11806167>
21. Klein R, Klein BE, Moss SE. Epidemiology of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care* [Internet]. 1992 Dec [cited 2014 Jan 30];15(12):1875–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1464243>
22. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *Ophthalmology* [Internet]. 1998 Oct [cited 2014 Jan 30];105(10):1801–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9787347>
23. Brown JB, Pedula KL, Summers KH. Diabetic retinopathy: contemporary prevalence in a well-controlled population. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Sep [cited 2014 Jan 30];26(9):2637–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12941732>

24. Ozmen B, Boyvada S. The relationship between self-monitoring of blood glucose control and glycosylated haemoglobin in patients with type 2 diabetes with and without diabetic retinopathy. *J Diabetes Complications* [Internet]. Jan [cited 2014 Jan 30];17(3):128–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12738396>
25. Klein R. Has the frequency of proliferative diabetic retinopathy declined in the US? *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Sep [cited 2014 Jan 30];26(9):2691–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12941740>
26. Klein R, Klein BE, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 1984 Apr [cited 2014 Jan 30];102(4):527–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6367725>
27. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* [Internet]. 1993 Sep 30 [cited 2014 Jan 30];329(14):977–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8366922>
28. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* [Internet]. 1998 Sep 12 [cited 2014 Jan 21];352(9131):837–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9742976>
29. Fong DS, Aiello LP, Ferris FL, Klein R. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 Oct [cited 2014 Jan 30];27(10):2540–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15451934>
30. Bhagat N, Grigorian RA, Tutela A, Zarbin MA. Diabetic macular edema: pathogenesis and treatment. *Surv Ophthalmol* [Internet]. Jan [cited 2014 Jan 30];54(1):1–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19171208>
31. Goh S-Y, Cooper ME. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Apr [cited 2014 Jan 27];93(4):1143–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18182449>
32. Pinach S, Burt D, Berrone E, Barutta F, Bruno G, Porta M, et al. Retinal heat shock protein 25 in early experimental diabetes. *Acta Diabetol* [Internet]. 2013 Aug [cited 2014 Jan 30];50(4):579–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22068623>

-
33. Ghanem AA, Elewa A, Arafa LF. Pentosidine and N-carboxymethyl-lysine: biomarkers for type 2 diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* [Internet]. Jan [cited 2014 Jan 30];21(1):48–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20544678>
34. Zong H, Ward M, Stitt AW. AGEs, RAGE, and diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep* [Internet]. 2011 Aug [cited 2014 Jan 30];11(4):244–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21590515>
35. Geraldles P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res* [Internet]. 2010 Apr 30 [cited 2014 Jan 30];106(8):1319–31. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2877591&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
36. Coral K, Angayarkanni N, Gomathy N, Bharathselvi M, Pukhraj R, Rupak R. Homocysteine levels in the vitreous of proliferative diabetic retinopathy and rhegmatogenous retinal detachment: its modulating role on lysyl oxidase. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2009 Aug [cited 2014 Jan 30];50(8):3607–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19369240>
37. Madsen-Bouterse SA, Kowluru RA. Oxidative stress and diabetic retinopathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Rev Endocr Metab Disord* [Internet]. 2008 Dec [cited 2014 Jan 30];9(4):315–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18654858>
38. Zhang X, Bao S, Hambly BD, Gillies MC. Vascular endothelial growth factor-A: a multifunctional molecular player in diabetic retinopathy. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2014 Jan 30];41(12):2368–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19646547>
39. Aiello LP, Bursell SE, Clermont A, Duh E, Ishii H, Takagi C, et al. Vascular endothelial growth factor-induced retinal permeability is mediated by protein kinase C in vivo and suppressed by an orally effective beta-isoform-selective inhibitor. *Diabetes* [Internet]. 1997 Sep [cited 2014 Jan 30];46(9):1473–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9287049>
40. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* [Internet]. 1994 Dec 1 [cited 2014 Jan 30];331(22):1480–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7526212>

41. Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, Takagi H, Iwamoto MA. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 1995 Dec [cited 2014 Jan 30];113(12):1538–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7487623>
42. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* [Internet]. 2012 Mar 29 [cited 2014 Jan 30];366(13):1227–39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22455417>
43. Bearse MA, Han Y, Schneck ME, Barez S, Jacobsen C, Adams AJ. Local multifocal oscillatory potential abnormalities in diabetes and early diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2004 Sep [cited 2014 Jan 30];45(9):3259–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15326149>
44. Han Y, Adams AJ, Bearse MA, Schneck ME. Multifocal electroretinogram and short-wavelength automated perimetry measures in diabetic eyes with little or no retinopathy. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2004 Dec [cited 2014 Jan 30];122(12):1809–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15596584>
45. Aiello LP, Davis MD, Girach A, Kles KA, Milton RC, Sheetz MJ, et al. Effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with diabetic retinopathy. *Ophthalmology* [Internet]. 2006 Dec [cited 2014 Jan 30];113(12):2221–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16989901>
46. VanGuilder HD, Brucklacher RM, Patel K, Ellis RW, Freeman WM, Barber AJ. Diabetes downregulates presynaptic proteins and reduces basal synapsin I phosphorylation in rat retina. *Eur J Neurosci* [Internet]. 2008 Jul [cited 2014 Jan 30];28(1):1–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18662330>
47. Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* [Internet]. 1991 May [cited 2014 Feb 1];98(5 Suppl):823–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2062515>
48. Mizutani M, Kern TS, Lorenzi M. Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy. *J Clin Invest* [Internet]. 1996 Jun 15 [cited 2014 Feb 1];97(12):2883–90. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=507384&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
49. Alder VA, Su EN, Yu DY, Cringle SJ, Yu PK. Diabetic retinopathy: early functional changes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* [Internet]. Jan [cited 2014 Feb 1];24(9-10):785–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9315390>

-
50. Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group. Arch Ophthalmol [Internet]. 1985 Dec [cited 2014 Feb 1];103(12):1796–806. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2866759>
 51. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. XV. The long-term incidence of macular edema. Ophthalmology [Internet]. 1995 Jan [cited 2014 Feb 1];102(1):7–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7831044>
 52. Moss SE, Klein R, Klein BE. Ten-year incidence of visual loss in a diabetic population. Ophthalmology [Internet]. 1994 Jun [cited 2014 Feb 1];101(6):1061–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8008348>
 53. Twito O, Frankel M, Nabriski D. Impact of glucose level on morbidity and mortality in elderly with diabetes and pre-diabetes. World J Diabetes [Internet]. 2015 Mar 15 [cited 2015 Mar 23];6(2):345–51. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4360429&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 54. Early worsening of diabetic retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. Arch Ophthalmol [Internet]. 1998 Jul [cited 2015 Mar 22];116(7):874–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9682700>
 55. Photocoagulation for diabetic macular edema: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report no. 4. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Int Ophthalmol Clin [Internet]. 1987 Jan [cited 2014 Feb 1];27(4):265–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3692708>
 56. Jain A, Collen J, Kaines A, Hubschman J-P, Schwartz S. Short-duration focal pattern grid macular photocoagulation for diabetic macular edema: four-month outcomes. Retina [Internet]. Jan [cited 2014 Feb 1];30(10):1622–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21060272>
 57. Schatz H, Madeira D, McDonald HR, Johnson RN. Progressive enlargement of laser scars following grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema. Arch Ophthalmol [Internet]. 1991 Nov [cited 2014 Feb 1];109(11):1549–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1755735>

-
58. Kozak I, Oster SF, Cortes MA, Dowell D, Hartmann K, Kim JS, et al. Clinical evaluation and treatment accuracy in diabetic macular edema using navigated laser photocoagulator NAVILAS. *Ophthalmology* [Internet]. 2011 Jun [cited 2014 Feb 1];118(6):1119–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21269701>
 59. 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* [Internet]. 1981 Jul [cited 2015 Mar 23];21(1 Pt 2):1–226. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7195893>
 60. McDonald HR, Schatz H. Macular edema following panretinal photocoagulation. *Retina* [Internet]. Jan [cited 2014 Feb 1];5(1):5–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4001591>
 61. Nauck M, Roth M, Tamm M, Eickelberg O, Wieland H, Stulz P, et al. Induction of vascular endothelial growth factor by platelet-activating factor and platelet-derived growth factor is downregulated by corticosteroids. *Am J Respir Cell Mol Biol* [Internet]. 1997 Apr [cited 2014 Feb 1];16(4):398–406. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9115750>
 62. Tamura H, Miyamoto K, Kiryu J, Miyahara S, Katsuta H, Hirose F, et al. Intravitreal injection of corticosteroid attenuates leukostasis and vascular leakage in experimental diabetic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2005 Apr [cited 2014 Feb 1];46(4):1440–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15790913>
 63. Maia OO, Takahashi BS, Costa RA, Scott IU, Takahashi WY. Combined laser and intravitreal triamcinolone for proliferative diabetic retinopathy and macular edema: one-year results of a randomized clinical trial. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2009 Feb [cited 2015 May 6];147(2):291–7.e2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18929352>
 64. Haller JA, Bandello F, Belfort R, Blumenkranz MS, Gillies M, Heier J, et al. Randomized, sham-controlled trial of dexamethasone intravitreal implant in patients with macular edema due to retinal vein occlusion. *Ophthalmology* [Internet]. 2010 Jun [cited 2014 Feb 1];117(6):1134–46.e3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20417567>
 65. Antonetti DA, Barber AJ, Khin S, Lieth E, Tarbell JM, Gardner TW. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occludin content: vascular endothelial growth factor decreases occludin in retinal endothelial cells. Penn State Retina Research Group. *Diabetes* [Internet]. 1998 Dec [cited 2014 Feb 1];47(12):1953–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9836530>

-
66. Antonetti DA, Wolpert EB, DeMaio L, Harhaj NS, Scaduto RC. Hydrocortisone decreases retinal endothelial cell water and solute flux coincident with increased content and decreased phosphorylation of occludin. *J Neurochem* [Internet]. 2002 Feb [cited 2014 Feb 1];80(4):667–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11841574>
 67. Nauck M, Karakiulakis G, Perruchoud AP, Papakonstantinou E, Roth M. Corticosteroids inhibit the expression of the vascular endothelial growth factor gene in human vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 1998 Jan 12 [cited 2014 Feb 1];341(2-3):309–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9543253>
 68. Campochiaro PA, Brown DM, Pearson A, Ciulla T, Boyer D, Holz FG, et al. Long-term benefit of sustained-delivery fluocinolone acetonide vitreous inserts for diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2011 Apr [cited 2014 Feb 1];118(4):626–35.e2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21459216>
 69. Beck RW, Edwards AR, Aiello LP, Bressler NM, Ferris F, Glassman AR, et al. Three-year follow-up of a randomized trial comparing focal/grid photocoagulation and intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2014 Jan 28];127(3):245–51. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2754047&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 70. Lee SS, Hughes PM, Robinson MR. Recent advances in drug delivery systems for treating ocular complications of systemic diseases. *Curr Opin Ophthalmol* [Internet]. 2009 Nov [cited 2014 Feb 1];20(6):511–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19667987>
 71. Bandello F, Cunha-Vaz J, Chong N V, Lang GE, Massin P, Mitchell P, et al. New approaches for the treatment of diabetic macular oedema: recommendations by an expert panel. *Eye (Lond)* [Internet]. 2012 Apr [cited 2014 Feb 1];26(4):485–93. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3325561&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 72. Murohara T, Horowitz JR, Silver M, Tsurumi Y, Chen D, Sullivan A, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation* [Internet]. Jan [cited 2015 Apr 15];97(1):99–107. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9443437>
 73. Krzystolik MG, Afshari MA, Adamis AP, Gaudreault J, Gragoudas ES, Michaud NA, et al. Prevention of experimental choroidal neovascularization with intravitreal anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 2002 Mar [cited 2015 Apr 15];120(3):338–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11879138>

-
74. Gaudreault J, Fei D, Beyer JC, Ryan A, Rangell L, Shiu V, et al. Pharmacokinetics and retinal distribution of ranibizumab, a humanized antibody fragment directed against VEGF-A, following intravitreal administration in rabbits. *Retina* [Internet]. Jan [cited 2015 Apr 15];27(9):1260–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18046235>
75. Gaudreault J, Fei D, Rusit J, Suboc P, Shiu V. Preclinical pharmacokinetics of Ranibizumab (rhuFabV2) after a single intravitreal administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2005 Feb [cited 2015 Apr 15];46(2):726–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15671306>
76. Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, Pulido JS, Ezzat MK, Singh RJ. Pharmacokinetics of intravitreal ranibizumab (Lucentis). *Ophthalmology* [Internet]. 2007 Dec [cited 2015 Apr 15];114(12):2179–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18054637>
77. Rosenfeld PJ, Heier JS, Hantsbarger G, Shams N. Tolerability and efficacy of multiple escalating doses of ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* [Internet]. 2006 Apr [cited 2015 Apr 15];113(4):623.e1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16581423>
78. Heier JS, Antoszyk AN, Pavan PR, Leff SR, Rosenfeld PJ, Ciulla TA, et al. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. *Ophthalmology* [Internet]. 2006 Apr [cited 2015 Apr 15];113(4):633.e1–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16483659>
79. Rosenfeld PJ, Schwartz SD, Blumenkranz MS, Miller JW, Haller JA, Reimann JD, et al. Maximum tolerated dose of a humanized anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment for treating neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* [Internet]. 2005 Jun [cited 2015 Apr 15];112(6):1048–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15885778>
80. Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 Oct 5 [cited 2015 Jan 10];355(14):1419–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17021318>
81. Brown DM, Michels M, Kaiser PK, Heier JS, Sy JP, Ianchulev T. Ranibizumab versus verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration: Two-year results of the ANCHOR study. *Ophthalmology* [Internet]. 2009 Jan [cited 2014 Nov 15];116(1):57–65.e5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19118696>

-
82. Boyer DS, Heier JS, Brown DM, Francom SF, Ianchulev T, Rubio RG. A Phase IIIb study to evaluate the safety of ranibizumab in subjects with neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* [Internet]. 2009 Sep [cited 2015 Mar 8];116(9):1731–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19643495>
83. Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* [Internet]. 2006 Oct [cited 2014 Jan 30];113(10):1695.e1–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17011951>
84. Nguyen QD, Brown DM, Marcus DM, Boyer DS, Patel S, Feiner L, et al. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology* [Internet]. 2012 Apr [cited 2014 Feb 1];119(4):789–801. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22330964>
85. Nguyen QD, Shah SM, Heier JS, Do D V, Lim J, Boyer D, et al. Primary End Point (Six Months) Results of the Ranibizumab for Edema of the macula in diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology* [Internet]. 2009 Nov [cited 2014 Feb 1];116(11):2175–81.e1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19700194>
86. Nguyen QD, Shah SM, Khwaja AA, Channa R, Hatef E, Do D V, et al. Two-year outcomes of the ranibizumab for edema of the macula in diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology* [Internet]. 2010 Nov [cited 2014 Feb 1];117(11):2146–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20855114>
87. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Massin P, Schlingemann RO, et al. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2011 Apr [cited 2014 Feb 1];118(4):615–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21459215>
88. Nguyen QD, Tatlipinar S, Shah SM, Haller JA, Quinlan E, Sung J, et al. Vascular endothelial growth factor is a critical stimulus for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2006 Dec [cited 2014 Feb 1];142(6):961–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17046701>
89. Massin P, Bandello F, Garweg JG, Hansen LL, Harding SP, Larsen M, et al. Safety and efficacy of ranibizumab in diabetic macular edema (RESOLVE Study): a 12-month, randomized, controlled, double-masked, multicenter phase II study. *Diabetes Care* [Internet]. 2010 Nov [cited 2014 Feb 1];33(11):2399–405. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2963502&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

90. Elman MJ, Qin H, Aiello LP, Beck RW, Bressler NM, Ferris FL, et al. Intravitreal ranibizumab for diabetic macular edema with prompt versus deferred laser treatment: three-year randomized trial results. *Ophthalmology* [Internet]. 2012 Nov [cited 2014 Jan 27];119(11):2312–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3490003&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
91. Elman MJ, Bressler NM, Qin H, Beck RW, Ferris FL, Friedman SM, et al. Expanded 2-year follow-up of ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2011 Apr [cited 2014 Jan 27];118(4):609–14. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3096445&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
92. Arevalo JF, Sanchez JG, Fromow-Guerra J, Wu L, Berrocal MH, Farah ME, et al. Comparison of two doses of primary intravitreal bevacizumab (Avastin) for diffuse diabetic macular edema: results from the Pan-American Collaborative Retina Study Group (PACORES) at 12-month follow-up. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* [Internet]. 2009 Jun [cited 2014 Feb 1];247(6):735–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19189118>
93. Scott IU, Edwards AR, Beck RW, Bressler NM, Chan CK, Elman MJ, et al. A phase II randomized clinical trial of intravitreal bevacizumab for diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2007 Oct [cited 2014 Jan 27];114(10):1860–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2245885&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
94. Michaelides M, Kaines A, Hamilton RD, Fraser-Bell S, Rajendram R, Quhill F, et al. A prospective randomized trial of intravitreal bevacizumab or laser therapy in the management of diabetic macular edema (BOLT study) 12-month data: report 2. *Ophthalmology* [Internet]. 2010 Jun [cited 2014 Feb 1];117(6):1078–86.e2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20416952>
95. Paccola L, Costa RA, Folgosa MS, Barbosa JC, Scott IU, Jorge R. Intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for treatment of refractory diabetic macular oedema (IBEME study). *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2008 Jan [cited 2014 Feb 1];92(1):76–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17965109>
96. Shimura M, Nakazawa T, Yasuda K, Shiono T, Iida T, Sakamoto T, et al. Comparative therapy evaluation of intravitreal bevacizumab and triamcinolone acetonide on persistent diffuse diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2008 May [cited 2014 Feb 1];145(5):854–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18328456>

-
97. Soheilian M, Ramezani A, Obudi A, Bijanzadeh B, Salehipour M, Yaseri M, et al. Randomized trial of intravitreal bevacizumab alone or combined with triamcinolone versus macular photocoagulation in diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2009 Jun [cited 2014 Feb 1];116(6):1142–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19376585>
 98. Huang Y-H, Yeh P-T, Chen M-S, Yang C-H, Yang C-M. Intravitreal bevacizumab and panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy associated with vitreous hemorrhage. *Retina* [Internet]. 2009 Sep [cited 2014 Feb 1];29(8):1134–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19672218>
 99. Mirshahi A, Roohipour R, Lashay A, Mohammadi S-F, Abdoallahi A, Faghihi H. Bevacizumab-augmented retinal laser photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy: a randomized double-masked clinical trial. *Eur J Ophthalmol* [Internet]. Jan [cited 2014 Feb 1];18(2):263–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18320520>
 100. Jorge R, Costa RA, Calucci D, Cintra LP, Scott IU. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for persistent new vessels in diabetic retinopathy (IBEPE study). *Retina* [Internet]. Jan [cited 2014 Feb 1];26(9):1006–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17151487>
 101. Ferraz DA, Morita C, Preti RC, Nascimento VP, Maia Junior OO, Barros AC de, et al. Use of intravitreal bevacizumab or triamcinolone acetate as a preoperative adjunct to vitrectomy for vitreous haemorrhage in diabetics. *Rev Bras Oftalmol* [Internet]. Sociedade Brasileira de Oftalmologia; 2013 Feb [cited 2015 May 7];72(1):12–6. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-72802013000100003&lng=en&nrm=iso&tlng=en
 102. Moradi A, Sepah YJ, Sadiq MA, Nasir H, Kherani S, Sophie R, et al. Vascular endothelial growth factor trap-eye (Aflibercept) for the management of diabetic macular edema. *World J Diabetes* [Internet]. 2013 Dec 15 [cited 2014 Jan 27];4(6):303–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3874490&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 103. Do D V, Schmidt-Erfurth U, Gonzalez VH, Gordon CM, Tolentino M, Berliner AJ, et al. The DA VINCI Study: phase 2 primary results of VEGF Trap-Eye in patients with diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2011 Sep [cited 2014 Jan 26];118(9):1819–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21546089>
 104. Do D V, Nguyen QD, Boyer D, Schmidt-Erfurth U, Brown DM, Vitti R, et al. One-year outcomes of the da Vinci Study of VEGF Trap-Eye in eyes with diabetic macular edema. *Ophthalmology* [Internet]. 2012 Aug [cited 2014 Jan 26];119(8):1658–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537617>

-
105. Aiello LP, Brucker AJ, Chang S, Cunningham ET, D'Amico DJ, Flynn HW, et al. Evolving guidelines for intravitreal injections. *Retina* [Internet]. 2004 Oct [cited 2014 Feb 1];24(5 Suppl):S3–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15483476>
 106. Two-year course of visual acuity in severe proliferative diabetic retinopathy with conventional management. *Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study (DRVS) report #1. Ophthalmology* [Internet]. 1985 Apr [cited 2015 Apr 15];92(4):492–502. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4000644>
 107. Shimura M, Yasuda K, Nakazawa T, Kano T, Ohta S, Tamai M. Quantifying alterations of macular thickness before and after panretinal photocoagulation in patients with severe diabetic retinopathy and good vision. *Ophthalmology* [Internet]. 2003 Dec [cited 2014 Feb 1];110(12):2386–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14644723>
 108. Higgins KE, Meyers SM, Jaffe MJ, Roy MS, de Monasterio FM. Temporary loss of foveal contrast sensitivity associated with panretinal photocoagulation. *Arch Ophthalmol* [Internet]. 1986 Jul [cited 2014 Feb 1];104(7):997–1003. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3729795>
 109. Do D V, Nguyen QD, Khwaja AA, Channa R, Sepah YJ, Sophie R, et al. Ranibizumab for edema of the macula in diabetes study: 3-year outcomes and the need for prolonged frequent treatment. *JAMA Ophthalmol* [Internet]. 2013 Feb [cited 2014 Feb 1];131(2):139–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23544200>
 110. Preti RC, Vasquez Ramirez LM, Ribeiro Monteiro ML, Pelayes DE, Takahashi WY. Structural and functional assessment of macula in patients with high-risk proliferative diabetic retinopathy submitted to panretinal photocoagulation and associated intravitreal bevacizumab injections: a comparative, randomised, controlled trial. *Ophthalmologica* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Feb 1];230(1):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23689115>
 111. Mackie SW, Walsh G. Contrast and glare sensitivity in diabetic patients with and without pan-retinal photocoagulation. *Ophthalmic Physiol Opt* [Internet]. 1998 Mar [cited 2014 Feb 1];18(2):173–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9692039>
 112. Khosla PK, Rao V, Tewari HK, Kumar A. Contrast sensitivity in diabetic retinopathy after panretinal photocoagulation. *Ophthalmic Surg* [Internet]. 1994 Aug [cited 2014 Feb 1];25(8):516–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7970533>

-
113. Kaiser RS, Maguire MG, Grunwald JE, Lieb D, Jani B, Brucker AJ, et al. One-year outcomes of panretinal photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2000 Feb [cited 2015 Apr 15];129(2):178–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10682970>
 114. Bhavsar AR, Torres K, Glassman AR, Jampol LM, Kinyoun JL. Evaluation of results 1 year following short-term use of ranibizumab for vitreous hemorrhage due to proliferative diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol* [Internet]. 2014 Jul [cited 2015 May 7];132(7):889–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25010170>
 115. Krohne TU, Liu Z, Holz FG, Meyer CH. Intraocular pharmacokinetics of ranibizumab following a single intravitreal injection in humans. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2012 Oct [cited 2015 Mar 18];154(4):682–6.e2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22818800>

A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL OF PANRETINAL PHOTOCOAGULATION WITH AND WITHOUT INTRAVITREAL RANIBIZUMAB IN TREATMENT-NAIVE EYES WITH NON-HIGH-RISK PROLIFERATIVE DIABETIC RETINOPATHY

DANIEL A. FERRAZ, MD,*† LISA M. VASQUEZ, MD,* RONY C. PRETI, MD, PhD,*
AUGUSTO MOTTA, MD,* RAAFAY SOPHIE, MD,‡ MILLENA G. BITTENCOURT, MD,‡
YASIR J. SEPAH, MBBS,† MÁRIO L. R. MONTEIRO, MD, PhD,* QUAN DONG NGUYEN, MD, MSc,†
WALTER YUKIHIKO TAKAHASHI, MD, PhD*

Purpose: To compare the efficacy of panretinal photocoagulation (PRP) and intravitreal ranibizumab injection with PRP alone in patients with treatment-naïve bilateral non-high-risk proliferative diabetic retinopathy.

Methods: Sixty eyes of 30 patients were randomized either to the study group (SG) receiving PRP plus 2 ranibizumab injections or to the control group (CG) receiving PRP alone. Mean change in best-corrected visual acuity and in optical coherence tomography were compared at baseline and 1, 3, and 6 months.

Results: Best-corrected visual acuity was significantly better at 6 months in the SG; however, there was decrease in best-corrected visual acuity in the CG. Central macula thickness decreased significantly at 6 months in SG when compared with baseline ($-47.6 \mu\text{m}$, $P < 0.001$) and did not reveal significant difference in the CG. In eyes with diabetic macular edema, best-corrected visual acuity increased by 3.6 letters ($P = 0.06$) in the SG and decreased by 4.4 letters in the CG ($P = 0.003$). Central macula thickness decreased by $69.3 \mu\text{m}$ ($P = 0.001$) in the SG and decreased by $45.5 \mu\text{m}$ ($P = 0.11$) in the CG.

Conclusion: Intravitreal ranibizumab in combination with PRP can be an effective treatment in eyes with non-high-risk proliferative diabetic retinopathy and diabetic macular edema.

RETINA 35:280–287, 2015

Diabetic retinopathy (DR) is one of the most important causes of vision loss in individuals in developed nations.¹ In patients with DR, the presence of retinal neovascularization is an important risk factor for severe vision loss.^{2–4} Panretinal laser photocoagulation (PRP) is considered the standard treatment of DR-associated neovascularization according to The Diabetic Retinopathy Study Research Group⁵ and supported by the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS).^{2,6}

Nearly 60% of patients with proliferative diabetic retinopathy (PDR) treated with PRP had reduction in

neovascularization at 3 months.⁷ However, a proportion of patients require additional laser treatment, and some of them require pars plana vitrectomy despite having received adequate PRP treatment.^{8,9} However, PRP may be associated with an increased risk of macular edema.^{2,10} Although the long-term visual prognosis of patients with PDR treated with PRP is generally good,⁴ progression of visual loss continues to occur in nearly 5% of patients despite treatment.²

Because of less than ideal outcome in eyes with PDR submitted to laser photocoagulation, adjuvant

treatment with anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) agents was introduced in years.^{11,12} Ranibizumab (RBZ) (Lucentis; Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland and Genentech Inc, South San Francisco, CA) is an agent that has been approved by the US Food and Drug Administration to treat diabetic macular edema (DME).¹³ It is a fully humanized monoclonal antibody fragment that binds to the multiple variants of VEGF-A.¹³ Filho et al¹⁴ investigated the adjunctive use of a single RBZ injection 1 week after PRP treatment for patients with high-risk PDR and found that RBZ apparently had protective effect against visual acuity loss compared with patients treated with PRP alone. No subdivision of eyes according to the presence or absence of macular edema was performed. Googe et al¹⁵ similarly investigated the use of intravitreal RBZ or triamcinolone injection in combination with PRP for treatment of patients with DME and severe non-PDR or PDR. In this clinical trial, favorable results for the treatment of DME were attributed to the effect of triamcinolone or RBZ, particularly in the short term, as well to improvement of visual acuity and decreased macular edema by 14 weeks. However, the impact of such treatments beyond 14 weeks could not be determined.

No previous study has investigated the adjunctive effect of RBZ treatment in patients with non-high-risk PDR with or without macular edema and followed it for 6 months or more. The purpose of this study was therefore to evaluate the potential adjunctive effects of RBZ injected 1 week before and 1 month after PRP treatment for the management of treatment-naïve eyes with non-high-risk PDR with or without macular edema and to compare those results with similar patients treated with PRP alone with a 6-month follow-up.

Methods

This interventional, prospective masked randomized study received approval from the Institutional Review Board and Ethics Committee of the University of São

From the *Division of Ophthalmology, University of São Paulo, São Paulo Medical School, São Paulo, Brazil; †Ocular Imaging Research and Reading Center, Stanley M. Truhlsen Eye Institute, University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska; and ‡Retinal Imaging Research and Reading Center, Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland.

Q. D. Nguyen serves on the Scientific Advisory Board for various studies sponsored by Genentech, and chairs the steering committee for the RISE/RIDE studies. The authors have no financial/conflicting interests to disclose.

Clinical Trial Registration—URL: <http://www.clinicaltrials.gov>. Unique identifier: NCT01746563.

Reprint requests: Walter Yukihiko Takahashi, MD, PhD, University of São Paulo, Av. São Gualter, 99, São Paulo, SP 05455-000 Brazil; e-mail: wytakahashi@uol.com.br

Paulo and was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Eligible patients from the Retina Service of the Division of Ophthalmology, University of São Paulo, Brazil, were enrolled between July 2011 and June 2012. Written informed consent was obtained from all patients before enrollment in the study.

Type II diabetic patients, 18 years and older, were included if they had: 1) non-high-risk PDR in *both* eyes; 2) ETDRS letters-measured best-corrected visual acuity (BCVA) ranging from 20/40 to 20/320 Snellen equivalent; and 3) no previous treatment (of any type) in either eye.

Exclusion criteria included 1) aphakia; 2) macular ischemia; 3) cataract surgery in the past 12 months; 4) history of glaucoma or ocular hypertension; 5) loss of vision as a result of other causes; 6) history of systemic corticosteroid therapy within the last 3 months; 7) severe systemic disease other than diabetes mellitus; and 8) any condition that could affect follow-up or documentation (including preretinal or vitreous hemorrhage).

Patients screened in clinics were called for the baseline visit within 10 days of the clinic visit. At baseline, all patients were treated with 0.5 mg RBZ injection in one eye, included in the study group (SG), and sham injection in the other, labeled as control group (CG), with the eyes being randomly assigned to one of the SGs. One week later, both eyes received bilateral full-scatter PRP treatment, performed in three sessions according to the ETDRS guidelines.² Macular laser treatment was not allowed at baseline. Ranibizumab (0.5 mg) or sham injections were given again at Month 1. All intravitreal injections were performed under sterile conditions using topical anesthesia followed by 0.3% ciprofloxacin eye drops 4 times a day for 5 days.¹⁶

Patients were then subjected to follow-up examinations 3 months and 6 months after the treatment. At each visit, a detailed ophthalmologic examination including applanation tonometry, nondilated and dilated slit-lamp biomicroscopic examination, and indirect fundus examination were performed. A single retina specialist (W.Y.T.) performed all laser and injection procedures. Additional macular (grid and/or focal) laser treatment was performed if DME and treatable lesions on fluorescein angiography were still present at 3 months.

A single certified examiner using the ETDRS protocol performed BCVA measurements. Digital color fundus photograph and fluorescein angiogram were obtained using a 30° fundus camera system (TRC-50X/IMAGENet; Topcon, Tokyo, Japan). Fast macular scan protocol (6 linear 6-mm scans oriented at

intervals of 30° centered at the fovea) was performed using a third-generation time domain optical coherence tomography device (Stratus, Model 3000; Carl Zeiss Ophthalmic Systems Inc, Humphrey Division, Dublin, CA). Central macula thickness (CMT) was calculated as the average thickness of a central macular area 1 mm in diameter centered on the patient's fovea. All examiners were masked throughout the study period. Patients with CMT ≥ 250 μm were considered as having DME.

Statistical Analysis

Depending on adherence to normal assumptions, baseline characteristics were assessed using either independent samples *t*-test or Mann–Whitney *U* test for continuous variables, and either chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables.

Intergroup comparison for BCVA and CMT was done at the 6-month end point, followed by preplanned subgroup analysis for eyes with and without DME within each group. The Wilcoxon signed-rank test was applied to compare the mean change in BCVA and CMT within each group and subgroup. Mann–Whitney *U* test was used for intergroup and intersubgroup comparison. Fisher's exact test was performed to compare the percentage of patients who had CMT < 250 μm at Month 6 between subgroups. SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL) was used for statistical analysis. The null hypothesis was rejected for values of $P \leq 0.05$.

Results

Patients at Baseline

Among the 450 patients with DR evaluated for this study, a total of 30 patients (60 eyes) met the eligibility criteria. Mean $\pm$ standard deviation (SD) of age and time from diabetes mellitus diagnosis was 52.3 ± 7.8 years and 14 ± 6.4 years, respectively. Mean $\pm$ SD glycated hemoglobin (HbA1C) was $8.8 \pm 1.1\%$. Patient demography and ocular characteristics are demonstrated in Table 1.

Mean $\pm$ SD BCVA at baseline was 44.4 ± 13.8 letters in the CG and 44.8 ± 12.8 letters in SG ($P = 0.82$). Mean $\pm$ SD CMT at baseline was 265.8 ± 104.3 μm in the CG and 256.4 ± 67.5 μm in the SG ($P = 0.84$). Fourteen of 30 eyes (46.7%) in the CG and 15 of 28 (53.6%) in the RBZ group had DME ($P = 0.79$).

The subgroup of patients with DME and the subgroup without DME were well balanced for demographics and ocular characteristics at baseline. Details of the baseline demographics, BCVA, and CMT are given in Tables 2 and 3.

Table 1. Baseline Demographics and Ocular Characteristics for All Patients

Parameter	N = 30, n (%)	
Mean age (SD), years	52.6 (7.9)	
Gender (female)	15 (53.6)	
Race		
White	12 (42.9)	
African American	14 (50.0)	
Asian	2 (7.1)	
Mean duration of diabetes (SD), years	14 (6.5)	
Mean HbA1c (SD), %	8.9 (1.1)	
Insulin users	19 (67.9)	
Hypertension	25 (89.3)	
Hypercholesterolemia	11 (39.3)	

Ocular Characteristics	CG (n = 30), n (%)	RBZ Group (n = 28), n (%)	P
Mean BCVA (SD)/ ETDRS at 4 m	44.4 (13.8)	44.8 (12.8)	0.92
Mean CMT (SD), μm	265.8 (104.3)	256.4 (67.5)	0.84
Mean intraocular pressure, mmHg	14.1 (2.2)	13.9 (2.1)	0.72
Phakic, n (%)	23 (76.7)	19 (67.9)	0.56

ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study.

Treatment

Thirty eyes in the CG and 28 eyes in SG reached the study end point. Two eyes in the RBZ group developed vitreous hemorrhage before RBZ treatment but after the screening visit, which did not resolve and required vitrectomy several weeks later; these are not included in the analysis for BCVA and CMT. Patients received a mean $\pm$ SD of $1,466.9 \pm 202.6$ spots for PRP at baseline; there was no significant difference between the mean number of burns given in each group or among subgroups (Tables 4–6). Patients could receive focal laser or additional PRP at Month 3. Thirty-three percent of the patients in the CG and 32.1% in the SG needed additional PRP treatment. Sixty-three percent of the patients in the CG and 53.6% in the SG received focal laser treatment at a 3-month follow-up. There was no significant difference in the proportion of eyes that received additional PRP or focal laser treatment in the two groups ($P = 1.0$ and 0.60 , respectively).

The intravitreal injection procedure was well tolerated. There was no clinical evidence of sterile inflammation, endophthalmitis, or ocular toxicity observed; there were no serious drug-related adverse events among the 28 eyes that received RBZ. There were no adverse events related to laser treatment.

Primary Outcomes

In the SG, mean change in BCVA from baseline to Month 6 was an increase of 3.4 letters ($P = 0.006$),

Table 2. Baseline Demographics and Characteristics of Patients With Macular Edema

Parameter	CG (n = 14), n (%)	RBZ Group (n = 15), n (%)	P
Mean age (SD), years	50.8 (7.0)	53.2 (7.7)	0.38
Gender (female)	7 (50.0)	9 (60.0)	0.72
Race			0.71
White	7 (50.0)	9 (60.0)	
African American	7 (50.0)	6 (40.0)	
Asian	0 (0)	0 (0)	
Mean duration of diabetes (SD), years	12.4 (7.2)	13.6 (7.8)	0.71
Mean HbA1c (SD), %	9.0 (1.2)	8.8 (1.1)	0.79
Insulin users	9 (64.3)	11 (73.3)	0.70
Hypertension	12 (85.7)	13 (86.7)	1.0
Hypercholesterolemia	5 (35.7)	6 (40.0)	1.0
Ocular characteristics			
Mean BCVA (SD)/ETDRS at 4 m	41.8 (17.5)	42.1 (16.1)	0.75
Mean CMT (SD), μm	345.2 (103.4)	304.1 (52.5)	0.25
Mean intraocular pressure, mmHg	14.8 (2.3)	14.3 (2.3)	0.60
Phakic	11 (78.6)	10 (66.7)	0.68

ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study.

and mean change in CMT was $-47.6 \mu\text{m}$ ($P < 0.001$) (Figures 1A and 2A). In the CG, mean change in BCVA was a decrease of 3.4 letters ($P = 0.04$) and mean change in CMT was $-3.8 \mu\text{m}$ ($P = 0.96$). When comparing the two groups, regarding the mean change in BCVA at Month 6 (3.4-letter gain vs. 3.4-letter loss), there was a statistically significant difference ($P = 0.002$). Similarly, a significant difference was found in outcome regarding CMT (-47.6 vs. -3.8 , $P = 0.001$). As a result, BCVA and CMT outcomes at Month 6 were significantly different between the 2 groups (48.2 vs. 41.1 letters, $P = 0.04$) (208.8 vs. $261.9 \mu\text{m}$, $P = 0.05$).

Patients With Diabetic Macular Edema at Baseline

Amongst the 29 eyes with DME (15 in the SG and 14 in the CG), the mean BCVA improved from baseline to Month 6 in the SG ($\Delta\text{BCVA} = 3.6$ letters, $P = 0.06$) and worsened compared with baseline in the CG ($\Delta\text{BCVA} = -4.4$ letters, $P = 0.03$) (Figure 1B). These changes in BCVA were statistically different between the two groups ($P = 0.003$). The CMT significantly decreased in the RBZ group, $\Delta\text{CMT} = -69.3 \mu\text{m}$ ($P = 0.001$), whereas the decrease in CMT noted in the CG was not found to be significant with pairwise comparison, $\Delta\text{CMT} = -45.5 \mu\text{m}$ ($P = 0.11$) (Figure 2B). The CMT was different between the 2 groups at Month 3 ($P = 0.04$) and Month 6 ($P = 0.01$) (Figure 2B).

Table 3. Baseline Demographics and Characteristics of Patients Without Macular Edema

Parameter	CG (n = 16), n (%)	RBZ Group (n = 13), n (%)	P
Mean age (SD), years	53.1 (8.7)	51.9 (8.2)	0.69
Gender (female)	8 (50.0)	6 (46.2)	1.0
Race			0.88
White	5 (31.3)	3 (23.1)	
African American	9 (56.3)	8 (61.5)	
Asian	2 (12.5)	2 (15.4)	
Mean duration of diabetes (SD), years	15.4 (5.7)	14.5 (4.8)	0.59
Mean HbA1c (SD), %	8.7 (1.0)	8.9 (1.0)	0.62
Insulin users	12 (75.0)	8 (61.5)	0.68
Hypertension	15 (93.8)	12 (92.3)	1.0
Hypercholesterolemia	7 (43.8)	5 (38.5)	1.0
Ocular characteristics			
Mean BCVA (SD)/ETDRS at 4 m	46.8 (9.5)	47.9 (6.6)	0.71
Mean CMT (SD), μm	196.2 (26.7)	201.3 (30.1)	0.63
Mean intraocular pressure, mmHg	13.5 (2.0)	13.4 (2.0)	0.88
Phakic	12 (75.0)	9 (69.2)	1.0

ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study.

Table 4. Summary of Laser Treatments in All Patients

Laser Treatment	CG (n = 30), n (%)	RBZ Group (n = 28), n (%)	P
Mean no. spots for PRP (SD)	1,460.8 (236.6)	1,473.4 (162.6)	0.82
Patients receiving additional PRP at Month 3	10 (33.3)	9 (32.1)	1.0
Mean no. spots for additional PRP at Month 3 (SD)	334.8 (159.9)	230.4 (79.4)	0.10
Patients receiving additional focal laser at Month 3	19 (63.3)	15 (53.6)	0.60
Mean no. spots for focal laser at Month 3 (SD)	110.1 (21.8)	110.9 (28.1)	0.93

At the end of 6 months, 11 eyes with DME (73.3%) in the SG had CMT $<250\ \mu\text{m}$ compared with 4 (28.6%) in the CG ($P = 0.03$). The 11 patients in the RBZ group with CMT $<250\ \mu\text{m}$ had reduction of $67.5\ \mu\text{m}$ and gain of 3.9 letters while the remaining 4 had reduction of $74.3\ \mu\text{m}$ and gain of 2.8 letters. All 4 eyes with CMT $<250\ \mu\text{m}$ in the CG received focal laser at Month 3, with mean CMT reduction of $117\ \mu\text{m}$ and mean BCVA reduction of 3.2 letters. The remaining 10 patients with CMT $\geq 250\ \mu\text{m}$ in the CG had mean reduction of $16.8\ \mu\text{m}$ and a mean loss of 4.2 letters.

Patients Without Diabetic Macular Edema at Baseline

In 29 eyes without DME (13 in the SG and 16 in CG), the mean BCVA improved by 3.2 letters ($P = 0.03$) from baseline to Month 6 in the RBZ group, whereas the drop of 2.4 letters in the CG did not achieve statistical significance ($P = 0.4$) (Figure 1C). Patients in the SG had better BCVA at Month 6 compared with patients in the CG (51.2 vs. 44.3, $P = 0.05$). Central macula thickness decreased by $22.5\ \mu\text{m}$ in the SG ($P = 0.003$) and increased by $32.7\ \mu\text{m}$ in the CG ($P = 0.02$) (Figure 2C). Both the difference in change in CMT ($P = 0.001$) and the final CMT at Month 6 (228.9 vs. $178.8\ \mu\text{m}$, $P = 0.002$) were statistically significant.

At the end of 6 months, all 13 eyes in the SG had CMT $<250\ \mu\text{m}$ while 4 patients (25%) in the CG had CMT $\geq 250\ \mu\text{m}$ ($P = 0.10$). These 4 patients had mean reduction of 14.3 letters and mean increase of $98.5\ \mu\text{m}$

compared with the remaining 10 patients who had a mean gain of 1.5 letters and mean CMT reduction of $10.8\ \mu\text{m}$ ($P = 0.08$ and $P = 0.004$).

Safety Outcomes

Eight of 30 patients (26.7%) in the CG and 4 of 30 (13.3%) in the SG developed vitreous hemorrhage ($P = 0.33$). Two patients in the SG developed vitreous hemorrhage before RBZ injection and underwent vitrectomy and endolaser treatment. There was no cataract surgery performed, and no significant increase in mean intraocular pressure was observed during the study period.

Discussion

In this study, we evaluated the possible adjunctive effects of two RBZ injections in combination with laser photocoagulation for the management of patients with treatment-naïve non-high-risk PDR with or without DME. It has been reported that 25% to 43% of patients with PDR treated by PRP alone may develop increase in macular thickness and worsening of their macular edema, resulting in visual disturbances.^{17–19} The role of the protective adjunctive effect of RBZ in the stabilization of BCVA and edema is yet to be elucidated. The results of our study may help to provide insights into this relationship.

Filho et al¹⁴ have investigated the use of RBZ with PRP in patients with high-risk PDR. They found a decrease in leakage from neovascularization with

Table 5. Summary of Laser Treatments in Patients With Macular Edema

Laser Treatment	DME		P
	CG (n = 14), n (%)	RBZ Group (n = 15), n (%)	
Mean no. spots for PRP (SD)	1,421.6 (315.6)	1,459.4 (180.8)	0.69
Patients receiving additional PRP at Month 3	4 (28.6)	4 (26.7)	1.0
Mean no. spots for additional PRP at Month 3 (SD)	254.0 (37.3)	201.8 (68.8)	0.23
Patients receiving additional focal laser at Month 3	12 (85.7)	9 (60.0)	0.22
Mean no. spots for focal laser at Month 3 (SD)	104.2 (16.8)	106.2 (31.0)	0.85

Table 6. Summary of Laser Treatments in Patients Without Macular Edema

Laser Treatment	No DME		P
	CG (n = 16), n (%)	RBZ Group (n = 13), n (%)	
Mean no. spots for PRP (SD)	1,495.1 (138.5)	1,489.5 (144.4)	0.92
Patients receiving additional PRP at Month 3	6 (36.5)	5 (38.5)	1.0
Mean no. spots for additional PRP at Month 3 (SD)	388.7 (191.0)	253.4 (104.7)	0.19
Patients receiving additional focal laser at Month 3	7 (43.8)	6 (46.2)	1.0
Mean no. spots for focal laser at Month 3 (SD)	120.3 (26.7)	118.0 (24.0)	0.88

resulting stabilization of vision in patients treated with RBZ and PRP compared with patients treated with PRP only who had a loss in visual acuity at a 1-year end point. They did not classify patients into groups with or

without edema but showed that those treated with PRP had an increase of $\sim 40 \mu\text{m}$ in CMT while those treated with RBZ and PRP had a decrease of $12.5 \mu\text{m}$ in CMT. In this study, the BCVA was evaluated comparing both groups in all 58 eyes with and without DME. There was a significant difference between groups, with the worsening of BCVA and no significant change noted in CMT in the CG at 1, 3, and 6 months, whereas improvement in BCVA accompanied by a decrease in CMT was noted in the RBZ group.

Optical coherence tomography has been used to measure morphologic retinal changes associated with RBZ in eyes with DME. Our results clearly show that RBZ stabilizes or improves DME in non-high-risk PDR eyes (with DME) treated with PRP in a follow-up period of 6 months, as has been shown in eyes with DME and no PDR.^{15,20–22} Anatomical improvements (mean decrease of $69.3 \mu\text{m}$) were demonstrated by optical coherence tomography with a corresponding gain in BCVA in the RBZ group. The READ-2 studies have reported that eyes with DME treated with RBZ gained more vision compared with those that were treated with a combination of RBZ and focal laser, although eyes that had laser treatments may have had more reduction in retinal edema.^{20–22} An analysis of fluorescein angiograms and other factors showed that patients who had poor visual acuity at the 2-year end point either had unresolved edema or were likely to have received laser burns within 1 mm of the fovea.²³ In this study, the CG had a decrease in BCVA with an overall decrease in CMT of $45.5 \mu\text{m}$, which was not significant with pairwise comparison. Nineteen of 30 patients who received focal grid laser had a mean loss of 5.8 ± 10.2 letters compared with a gain of 0.9 ± 13.4 letters in the 11 patients who did not receive any focal laser. Seventeen of 30 patients had reduction in CMT at the end of 6 months; the 11 patients who got focal laser had a mean decrease of $82.5 \pm 77.4 \mu\text{m}$ compared with a decrease of $8.8 \pm 4.2 \mu\text{m}$ in the remaining 6 patients. Patients who received grid laser in the CG tended to have CMT decrease and lose vision in this study, similar to findings from the READ-2 study.²⁰

Fig. 1. Mean BCVA in Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) letters read at 4 m is plotted for all visits from baseline to Month 6 in the RBZ group and the CG. **A.** Results for all eyes studied. **B.** Results for eyes with DME. **C.** Results for eyes without DME. An asterisk (*) next to the BCVA value denotes that the BCVA values between the two groups are significantly different at the given time point ($P < 0.05$).

Fig. 2. Mean CMT is plotted for all visits from baseline to Month 6 in the RBZ group and the CG. **A.** Results for all eyes studied. **B.** Results for eyes with DME. **C.** Results for eyes without DME. An asterisk (*) next to the CMT value denotes that the CMT values between the two groups are significantly different at the given time point ($P < 0.05$).

Google et al¹⁵ treated patients with central involved macular edema with RBZ or sham injection at baseline, followed by grid laser and then PRP within 14 days, and then another RBZ or sham injection 1 month later. In this DRCR.net study, the Reading Center graded 20% of eyes to have moderately severe non-PDR, 5% to have severe non-PDR, and 75% to have PDR including 35% with high-risk PDR. At the 14-week end point, BCVA decreased in the sham-treated patients ($n = 123$) compared with RBZ-treated patients ($n = 113$) (−4 letters vs. +1 letter, $P < 0.001$), which was correlated to

CMT changes (+10 vs. −91 μm , $P = 0.01$). The results are similar to those of our study, which has a treatment-naïve population with non-high-risk PDR followed till 24 weeks, with grid laser given at 12 weeks, if required. Preti et al²⁴ investigated the use of bevacizumab in patients with high-risk DR who received an injection (of either sham or bevacizumab) 1 week before and at the completion of PRP treatment. They found that BCVA decreased, accompanied by an increase in foveal thickness and macular volume, in the sham-treated patients. No significant change in BCVA, foveal thickness, or macular volume was noted in the bevacizumab-treated patients.

Considering patients without DME in our study, those treated with RBZ had improvement of 3.2 letters in BCVA and reduction of 22.5 μm in CMT, whereas the decrease of 2.8 letters in BCVA in the CG was driven by 4 patients who had a loss of 14.3 letters and mean increase of 98.5 μm in CMT. Twenty-five percent of patients in the CG (compared with none in the RBZ group) developed edema as reflected by the increase in CMT; such protective effect should be investigated further in studies with a larger sample size.

Our protocol was tailored to reduce VEGF levels before and after the completion of laser. The first RBZ injection was made at the time of randomization to reduce intravitreal VEGF concentration. Reduction of retinal thickness has been observed to occur between 7 and 15 days after RBZ injection. One week after the injection, the first session of laser was given in an eye with reduced or suppressed levels of VEGF. The second RBZ injection was done a week after the third session of laser to prevent any further increase in VEGF production caused by the potential inflammatory response to laser, thus mitigating the effects of VEGF on causing or worsening macular edema.

One may expect that adding RBZ to laser photocoagulation would decrease the need for repeat scatter treatment and/or additional focal/grid photocoagulation. Although 19 patients in the CG compared with 15 patients in the SG received additional focal laser at Month 3, and the number of spots of additional PRP laser was higher in the CG (334.8 vs. 230.4), this trend for requiring lesser treatment did not reach statistical significance. This issue would be interesting to evaluate in a larger SG.

We recognize that the number of patients included in this study is small and that the follow-up time is 6 months that precludes any conclusions to be drawn about the prognosis of these patients out till 24 or 36 months; however, there are particular strengths in our study that are worth mentioning. The same experienced retina specialist performed PRP treatments in both groups,

and no significant difference was observed regarding the number of laser burns or the treatment episodes necessary to complete each full-scatter PRP session. Furthermore, because the same patient's eyes were randomized to each group and the ocular characteristics within each group were similar at baseline, the comparison regarding the effect of adjuvant therapy to PRP was more accurate. Our study is important because it is composed of patients with PDR (with or without DME) who have not received *any previous* treatment, a scenario which is often encountered in developing countries. Our results may therefore provide insights into the most appropriate approach to treating such patients in this particular region of the world to improve visual outcomes.

In conclusion, although further studies with longer follow-ups and larger number of patients are needed to confirm our findings, this study shows that intravitreal RBZ injection in conjunction with PRP can be an effective treatment approach in the management of treatment-naïve eyes with non-high-risk PDR and DME. Further evaluation of the preventive role of RBZ in eyes with PDR and no DME is indicated. Based on our findings, treatment of patients with non-high-risk PDR and DME should be supplemented with RBZ therapy, before and after laser treatment.

Key words: proliferative diabetic retinopathy, ranibizumab, panretinal photocoagulation.

References

1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology* 1991;98:S741–S756.
2. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991;98:S766–S785.
3. Fluorescein angiographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 13. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991;98:S834–S840.
4. Fong DS, Ferris FL III, Davis MD, Chew EY. Causes of severe visual loss in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study: ETDRS report no. 24. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Am J Ophthalmol* 1999;127:137–141.
5. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. Photocoagulation treatment of proliferative diabetic retinopathy. Clinical application of Diabetic Retinopathy Study (DRS) findings, DRS Report Number 8. *Ophthalmology* 1981;88:583–600.
6. Ferris FL III. Photocoagulation for diabetic retinopathy. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *JAMA* 1991;266:1263–1265.
7. 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;98:1575–1579.
8. Flynn HW Jr, Chew EY, Simons BD, et al. Pars plana vitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ETDRS report number 17. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1992;99:1351–1357.
9. Early vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy in eyes with useful vision. Results of a randomized trial—Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study report 3. The Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group. *Ophthalmology* 1988;95:1307–1320.
10. Tsujikawa A, Kiryu J, Dong J, et al. Quantitative analysis of diabetic macular edema after scatter laser photocoagulation with the scanning retinal thickness analyzer. *Retina* 1999;19:59–64.
11. Cho WB, Oh SB, Moon JW, Kim HC. Panretinal photocoagulation combined with intravitreal bevacizumab in high-risk proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 2009;29:516–522.
12. Cho WB, Moon JW, Kim HC. Intravitreal triamcinolone and bevacizumab as adjunctive treatments to panretinal photocoagulation in diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2010;94:858–863.
13. Thomas BJ, Shienbaum G, Boyer DS, Flynn HW Jr. Evolving strategies in the management of diabetic macular edema: clinical trials and current management. *Can J Ophthalmol* 2013;48:22–30.
14. Filho JA, Messias A, Almeida FP, et al. Panretinal photocoagulation (PRP) versus PRP plus intravitreal ranibizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2011;89:e567–e572.
15. Googe JBA, Bressler NM, Qin H, et al. Randomized trial evaluating short-term effects of intravitreal ranibizumab or triamcinolone acetonide on macular edema after focal/grid laser for diabetic macular edema in eyes also receiving panretinal photocoagulation. *Retina* 2011;31:1009–1027.
16. Aiello LP, Brucker AJ, Chang S, et al. Evolving guidelines for intravitreal injections. *Retina* 2004;24:S3–S19.
17. Shimura M, Yasuda K, Nakazawa T, et al. Quantifying alterations of macular thickness before and after panretinal photocoagulation in patients with severe diabetic retinopathy and good vision. *Ophthalmology* 2003;110:2386–2394.
18. McDonald HR, Schatz H. Macular edema following panretinal photocoagulation. *Retina* 1985;5:5–10.
19. Higgins KE, Meyers SM, Jaffe MJ, et al. Temporary loss of foveal contrast sensitivity associated with panretinal photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 1986;104:997–1003.
20. Nguyen QD, Shah SM, Heier JS, et al. Primary end point (six months) results of the Ranibizumab for Edema of the macula in Diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology* 2009;116:2175–2181.e1.
21. Nguyen QD, Shah SM, Khwaja AA, et al. Two-year outcomes of the Ranibizumab for Edema of the macula in Diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology* 2010;117:2146–2151.
22. Do DV, Nguyen QD, Khwaja AA, et al. Ranibizumab for edema of the macula in diabetes study: 3-year outcomes and the need for prolonged frequent treatment. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:139–145.
23. Channa R, Sophie R, Khwaja AA, et al. Factors affecting visual outcomes in patients with diabetic macular edema treated with ranibizumab. READ-2 Study Group. *Eye (Lond)* 2014;28:269–278.
24. Preti RC, Vasquez Ramirez LM, Ribeiro Monteiro ML, et al. Structural and functional assessment of macula in patients with high-risk proliferative diabetic retinopathy submitted to panretinal photocoagulation and associated intravitreal bevacizumab injections: a comparative, randomised, controlled trial. *Ophthalmologica* 2013;230:1–8.