

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

JOSÉ EDÍSIO DA SILVA TAVARES NETO

**Propranolol intravítreo associado a bevacizumabe para
tratamento da degeneração macular relacionada à idade
exsudativa (BEVALOL study): ensaio clínico fase I**

RIBEIRÃO PRETO

2023

JOSÉ EDÍSIO DA SILVA TAVARES NETO

**Propranolol intravítreo associado a bevacizumabe para
tratamento da degeneração macular relacionada à idade
exsudativa (BEVALOL study): ensaio clínico fase I**

Versão corrigida

**A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da
Unidade que aloja o Programa**

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

Área de Concentração: Mecanismos
Fisiopatológicos dos Sistemas Visual e Áudio-
Vestibular.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

RIBEIRÃO PRETO

2023

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Tavares Neto, José Edísio da Silva

Propranolol intravítreo associado a bevacizumabe para tratamento da degeneração macular relacionada à idade exsudativa (BEVALOL study): ensaio clínico fase I. / José Edísio da Silva Tavares Neto; Orientador, Rodrigo Jorge. Ribeirão Preto. - 2023.

107p.: 22il.; 30 cm

Tese (Doutorado) - Programa de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço. Área de Concentração: Mecanismos Fisiopatológicos dos Sistemas Visual e Áudio-Vestibular. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

1. Maculopatia. 2. Degeração macular realacionada à idade. 3. VEGF. 4. Propranolol. 5. Bevacizumabe.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluno: Tavares Neto, José Edísio da Silva

Título: Propranolol intravítreo associado a bevacizumabe para tratamento da degeneração macular relacionada à idade exsudativa (BEVALOL study): ensaio clínico fase I.

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

Área de Concentração: Mecanismos Fisiopatológicos dos Sistemas Visual e Áudio-Vestibular.

Aprovado em: ____/____/____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Dedicatória

Ao Deus todo poderoso e à virgem Maria, por me darem oportunidades na vida e ao mesmo tempo, a força de agarrá-las e fazer o melhor que puder.

Ao meu avô Edísio Tavares, que foi um grande homem, médico, cientista e sábio, por me ensinar o valor do caráter, da palavra e do estudo.

À minha Avó Adoralice Celestino Ximenes, pelo seu amor infinito e doação a mim e meus irmãos.

Ao meu pai Régis Borges Tavares, homem simples e amante da natureza, pelo seu amor, trabalho e dedicação à família, que me permitiu trilhar meus estudos da melhor forma.

À minha mãe Conceição Tavares, mulher forte e destemida, pelo seu apoio e torcida desde que era um pequeno estudante sedento pelo saber.

À minha esposa Raiza Tavares, minha fortaleza e calma, pelo total apoio durante o tempo que estive em Ribeirão Preto, pelo cuidado diário, pelo amor que me traz paz para trilhar meus caminhos profissionais e por carregar em seu ventre nosso maior presente, Celina.

Aos meus queridos irmãos André e Marina, que torcem pela minha felicidade e compartilham esta caminhada da vida comigo.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Rodrigo Jorge, meu orientador, por me aceitar como seu pupilo na arte de fazer pesquisa e escrever artigos científicos. Por me dar oportunidades de crescimento e ensinamentos. Por se fazer sempre disponível para sanar dúvidas acerca da pesquisa e estar presente durante a construção da Tese.

Ao Prof. Dr. André Marcio Vieira Messias, por sempre estar disposto a ajudar em ideias e na parte estatística, desde o início da minha caminhada em pesquisa.

Ao Prof. Dr. João Marcello Fórtes Furtado, por todas as dicas de pontos de melhoria durante as aulas do Doutorado e pelos bons conselhos.

À equipe de médicos do Serviço de Retina e Vítreo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), durante meu *fellowship*, em que destaco Dr. Marcelo Esperandio, Dra. Francyne Veiga, Dra. Leticia Pacolla, Dr. Jose Afonso Ramos e Dr. Marco Folgosa.

Aos colegas de *fellow*, pelo apoio e por tantas histórias e momentos compartilhados, em especial Dr. Igor Coelho, Dra. Annelise Nicotti, Dra. Talitha Borges, bem como o também companheiro de Doutorado Dr. Leandro Jerez Chaves.

À Dra Renata Moreto, pela paciência e dedicação no ensino para realizar o exame de eletrorretinografia, necessário à pesquisa, e por sempre elucidar dúvidas de forma paciente e solidária.

A todos os funcionários que fazem parte da Divisão de Oftalmologia do HCFMRP-USP, por sua recepção calorosa desde o primeiro dia. Destaco, em especial, as tecnólogas Lucélia Albieri, Alessandra Moraes e Andrea Baptista, pela excelência na realização dos exames necessários à pesquisa.

A todos os residentes e *fellows* do Serviço pela parceria, destacando o Dr. Moisés Lucena, que contribuiu com a obtenção de dados do estudo,

À Maria Cecília Onofre, secretária do programa de Pós-Graduação em Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, por toda a disponibilidade em ajudar nas diversas etapas.

Aos pacientes do HCFMRP-USP, pela ímpar contribuição para a ciência brasileira e pela confiança na seriedade do nosso trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram na construção desta Tese de Doutorado.

Apoio Financeiro

Agradeço à **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio para a realização deste estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa, e Assistência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FAEPA-HCFMRP-USP)

Resumo

Tavares Neto JES. **Propranolol intravítreo associado a bevacizumabe para tratamento da degeneração macular relacionada à idade exsudativa (BEVALOL study): ensaio clínico fase I.** Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2023.

Objetivos: Investigar a segurança de uma injeção intravítrea de 0,1 ml de uma combinação de bevacizumabe (1,25mg/0,05 ml) e propranolol (50µg/0,05 ml) para tratar a degeneração macular neovascular relacionada à idade (DMRI). **Casuística e Métodos:** Ensaio clínico prospectivo de fase I que incluiu pacientes com DMRI exsudativa. A avaliação oftalmológica foi realizada no baseline e incluiu melhor acuidade visual corrigida (MAVC), biomicroscopia dos segmentos anterior e posterior, oftalmoscopia binocular indireta, retinografia colorida, tomografia de coerência óptica de domínio espectral (SD-OCT), angiografia por tomografia de coerência óptica (OCT-A), angiografia fluoresceínica (Spectralis, Heidelberg) e eletrorretinografia de campo total (ffERG). Todos os olhos foram tratados com uma injeção intravítrea de 0,1 ml de uma combinação de bevacizumabe (1,25 mg/0,05 ml) e propranolol (50 µg/0,05 ml) dentro de uma semana da avaliação inicial. Os pacientes foram reexaminados nas semanas 4, 8 e 12, e avaliação clínica e SD-OCT foram realizados em todas as visitas de acompanhamento. Injeções adicionais de combinação de bevacizumabe e propranolol foram administradas nas semanas 4 e 8. Na avaliação final do estudo (semana 12), retinografia colorida, OCT-A, angiografia fluoresceínica, SD-OCT e ffERG foram repetidos. **Resultados:** Onze pacientes (11 olhos) completaram todas as visitas do estudo de 12 semanas. As ondas b do ffERG não mostraram alterações significativas ($p < 0,05$) na semana 12, em comparação com a linha de base. Durante o período de acompanhamento de 12 semanas, nenhum dos olhos desenvolveu inflamação intraocular, endoftalmite ou elevação da pressão intraocular superior a 4 mmHg acima da linha de base. A média \pm erro padrão da MAVC (logMAR) foi de $0,79 \pm 0,09$ no baseline e melhorou significativamente ($p < 0,05$) para $0,61 \pm 0,10$ na semana 4; $0,53 \pm 0,10$ na semana 8; e $0,51 \pm 0,09$ na semana 12. A média \pm SE da espessura central (CST) (μm) foi de 462 ± 45 na linha de base e foi significativamente menor ($p < 0,05$) em quatro, oito e doze semanas (385 ± 37 ; 356 ± 29 e 341 ± 24 , respectivamente). **Conclusões:** Neste acompanhamento de 12 semanas, não foram observados eventos adversos ou sinais de toxicidade ocular com o uso da combinação de bevacizumabe e propranolol intravítreo para o tratamento da DMRI exsudativa. Mais estudos utilizando esta terapia de combinação serão importantes.

Palavras-chave: Maculopatia. Degeneração macular relacionada à idade. VEGF. Propranolol. Bevacizumabe.

Abstract

Tavares Neto JES. **Intravitreal bevacizumab plus propranolol for neovascular age-related macular degeneration (the Bevalol study): a phase I clinical trial.** Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2023.

Purposes: To investigate the safety of a 0.1ml intravitreal injection of a combination of bevacizumab (1.25 mg/0.05ml) and propranolol (50µg/0.05ml) to treat neovascular age-related macular degeneration (nARMD). **Casuistic and Methods:** Prospective phase I clinical trial that included patients with nARMD. Comprehensive ophthalmic evaluation was performed at baseline and included Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) best-corrected visual acuity (BCVA), biomicroscopy of the anterior and posterior segments, binocular indirect ophthalmoscopy, color fundus photography, spectral-domain optical coherence tomography (OCT), OCT angiography (OCT-A), fluorescein angiography (Spectralis, Heidelberg), and full field electroretinography (ERG). All eyes were treated with a 0.1ml intravitreal injection of a combination of bevacizumab (1.25 mg/0.05ml) and propranolol (50µg/0.05ml) within 1 week of baseline evaluation. The patients were reexamined at weeks 4, 8 and 12, and clinical evaluation and SD-OCT were performed at all follow-up visits. Additional injections of combination bevacizumab (1.25 mg/0.05ml) and propranolol (50µg/0.05ml) were administered at weeks 4 and 8. At the final study evaluation (week 12), color fundus photography, OCT-A, fluorescein angiography, and full field ERG were repeated. **Results:** Eleven patients (11 eyes) completed all study visits of the 12-week study. Full field ERG b-waves did not show significant ($p < 0.05$) changes at week 12 compared to baseline. During the 12-week follow-up period, none of the study eyes developed intraocular inflammation, endophthalmitis or intraocular pressure elevation more than 4mmHg over baseline. Mean \pm standard error BCVA (logMAR) was 0.79 ± 0.09 at baseline and was significantly ($p < 0.05$) improved to 0.61 ± 0.10 at week 4; 0.53 ± 0.10 at week 8; and 0.51 ± 0.09 at week 12. Mean \pm SD central subfield thickness (CST) (μm) was 462 ± 45 at baseline and was significantly ($p < 0.05$) lower at 4, 8 and 12 weeks (385 ± 37 ; 356 ± 29 and 341 ± 24 , respectively). **Conclusions:** In this 12-week trial of a combination of intravitreal bevacizumab and propranolol for treatment of nARMD, no adverse events or signals of ocular toxicity were observed. Further studies using this combination therapy are warranted.

Keywords: Maculopathy. Age-related macular degeneration. VEGF. Propranolol. Bevacizumab.

Lista de Figuras

Figura 1 -	Imagem da mácula anatômica ou polo posterior. A fóvea anatômica e a foveola estão contidas no centro da mácula anatômica.....	26
Figura 2 -	(A) Esquema da retina macular mostrando suas interrelações entre componentes na formação das camadas. (B) Corte histológico da retina macular evidenciando as camadas correspondentes na parte A. Corpo vítreo (CV); Membrana Limitante Interna (MLI); Camada de Fibras Nervosas (CFN); camada de células ganglionares (CCG); camada plexiforme interna (CPI); camada nuclear interna (CNI); camada plexiforme externa (CPE); camada nuclear externa (CNE); membrana limitante externa (MLE); camada de fotorreceptores (CF); segmentos internos de fotorreceptores (Si); segmentos externos de fotorreceptores (Se) Epitélio Pigmentar da Retina (EPR); Membrana de Bruch (MB); Coroide (CO); Esclera (ES). Inclusão em Metacrilato - Hematoxilina Eosina, Aumento médio	27
Figura 3 -	Camadas retinianas e coroide em corte de Tomografia de Coerência Óptica (OCT).....	29
Figura 4 -	Série de cortes <i>en face</i> progressivamente mais profundos (A-D) de uma NVC tipo 2, localizada acima do EPR na zona avascular da retina. (A) mostra o plexo capilar superficial com grandes vasos retinianos. (B) nível do plexo capilar profundo com aumento da ZAF causada pela elevação da NVC subjacente. (C) zona avascular da retina com NVC. (D) nível coriocapilar com NVC estendendo-se para cima na retina. (E) OCT de varredura mostra distúrbio no fluido sub-retiniano do EPR e fibrose.....	31
Figura 5 -	Os cones e os bastonetes apresentam a mesma estrutura básica, sendo compostos por um segmento externo, onde se localizam os discos e os pigmentos fotossensíveis e cuja extremidade está em contato com o epitélio pigmentado da retina, um segmento interno, onde se encontram as principais organelas da célula	33
Figura 6 -	Ilustração esquemática de depósitos laminares basais e lineares basais que resultam em espessamento da camada interna de colágeno da membrana de Bruch. EPR= epitélio pigmentar da retina	37
Figura 7 -	Drusas e DEP drusenoides, em imagem de (a) retinografia colorida, (b) fase tardia da angiofluoresceinografia, (c) OCT B-scan.....	38
Figura 8 -	Pseudodrusas reticulares. (A) imagem SD-OCT revela a localização das pseudodrusas acima do EPR. (B) imagem de	

	autofluorescência correspondente mostra a rede reticular dessas pseudodrusas	39
Figura 9 -	Imagens representando a atrofia geográfica do epitélio pigmentado da retina. (A) fotografia <i>redfree</i> mostrando área de atrofia e drusas perilesionais; (B) fase arteriovenosa de angiofluoresceinografia mostrando defeito em janela na área correspondente à atrofia; (C) OCT demonstrando atrofia das camadas externas de retina e aumento da refletividade abaixo da coroide, na região da atrofia, por menor absorção da luz pelo EPR e retina atroficos.....	40
Figura 10 -	Ilustração esquemática da neovascularização coroidal tipo 1 (NVC), originária da coriocapilar, rompendo a membrana de Bruch e proliferando no espaço sub-EPR	43
Figura 11 -	OCT mostra um descolamento do epitélio pigmentado subfoveal com fluido sub-retiniano e intrarretiniano associado. Há também uma área de material hiper-refletivo na parte inferior do EPR, representando o complexo neovascular. Notam-se irregularidades do EPR que se assemelham a pequenos descolamentos epiteliais (drusas)	44
Figura 12 -	Células que contêm receptores beta-adrenérgicos. Imagem representa vasos coroideos, células de Müller, bipolares e amácrinas e endotélio dos vasos retinianos. O padrão de cores representa amarelo para β_1 -AR, verde para β_2 -AR e vermelho para β_3 -AR. Os três β -AR são expressos em células endoteliais da coroide, β_1 -AR e β_2 -AR em células gliais de Müller, β_2 -AR em células bipolares e amácrinas, e β_1 -AR e β_2 -AR em vasos retinianos	49
Figura 13 -	Efeitos do bloqueio de β_1 ou β_2 -ARs com atenolol ou propranolol (esquerda), ou da ativação de β_1 ou β_2 -ARs com isoproterenol (direita) no tecido neovascular da retina. O bloqueio do β_2 -AR diminui a angiogenese, já β_1 -AR não influencia essa resposta. β-arr : beta-arrestins; GRK2 : receptor de proteína G quinase 2; HIF-1α : fator induzível por hipóxia-1 α ; IGF-1 : fator de crescimento semelhante à insulina 1; STAT3 : transdutor de sinal e ativador da transcrição 3, BHR : barreira hemato-retiniana. As linhas contínuas indicam efeitos de estimulação; as linhas tracejadas indicam inibição.....	50
Figura 14 -	Estimulador de LED do tipo Ganzfeld (cúpula de campo total)	60
Figura 15 -	Fotografia demonstrando colocação do eletrodo DTL na córnea ao longo da pálpebra inferior	60

Figura 16 -	Medidas do ERG de campo total na visita inicial e após 12 semanas de acompanhamento não mostraram diferença significativa entre antes e depois do tratamento. DA - 0,01. Adaptado ao escuro 0,01 cd.s/m ² ERG. DA - 3,0. Adaptado ao escuro 3 cd.s/m ² ERG DA - 10,0. Adaptado ao escuro 10 cd.s/m ² ERG. LA - 3,0. Adaptado à luz 3 cd.s/m ² ERG. LA - 30 Hz. Adaptado à luz 30 Hz <i>flicker</i> ERG.....	69
Figura 17 -	Alterações da PIO (mmHg) desde o início (0) e nas semanas 4, 8 e 12. Não houve alteração significativa na PIO média durante o período de estudo.....	70
Figura 18 -	Mudanças LogMAR MAVC nas semanas 4, 8 e 12. A média (\pm SE) logMAR melhorou em $0,173 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), $0,254 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$) e $0,272 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), em comparação com a linha de base em quatro, oito e doze semanas, respectivamente	71
Figura 19 -	Alterações da CST (μ m) nas semanas 4, 8 e 12. A média (\pm SE) diminuiu desde a linha de base em $77,64 \pm 20,65$ ($p = 0,0039$), $106,54 \pm 20,65$ ($p < 0,0001$) e $121,73 \pm 20,65$ ($p < 0,0001$), em quatro, oito e doze semanas, respectivamente	72
Figura 20 -	Paciente 1 - Imagens de domínio espectral OCT B-scan e angiografia C-scan do paciente número 1. (a) B-scan OCT na linha de base mostrando drusas isoladas e coalescentes, material hiper-reflexivo sub-retiniano juncional e fluido intrarretiniano. (b) Imagem OCT-A mostrando dois pontos hiper-refletivos (setas amarelas) no corte do complexo avascular, sugestivos de locais ou focos de neovascularização coroidal. (c) B-scan OCT na visita de acompanhamento de 12 semanas mostrando regressão do fluido intrarretiniano e algum material hiper-reflexivo juncional sub-retiniano. (d) Imagem OCT-A mostrando discreta redução da hiper-refletividade na NVC temporal inferior, enquanto houve manutenção do fluxo no foco inferior da NVC	73
Figura 21 -	Paciente 2 - Imagens de angiografia fluoresceínica e OCT domínio spectral B-scan de paciente com DMRI exsudativa. (a) Imagem de angiofluoresceinografia inicial mostrando pontos de hiperfluorescência, principalmente justafoveal temporal. (b) B-scan OCT da linha de base mostrando fluido subretiniano, indicado em seta branca. (c) Imagem de angiofluoresceinografia em visita final de 12 semanas, com diminuição dos pontos hiperfluorescentes, principalmente justafoveal temporal. (d) B-scan OCT na visita final de acompanhamento de 12 semanas mostrando regressão do fluido sub-retiniano.....	74

Figura 22 - Paciente 6 - Imagens de angiografia C-scan e de OCT B-scan. **(a)** Imagem OCT-A da região do complexo avascular mostrando hiper-refletividade na forma de rede capilar (região de fluxo vascular; seta amarela), sugestiva de neovascularização coroidal. **(b)** B-scan OCT mostrando fluido intrarretiniano e região sugestiva de membrana neovascular (setas brancas). **(c)** Imagem OCT-A mostrando atenuação da hiper-refletividade na região de fluxo vascular localizada no complexo avascular (seta amarela). **(d)** B-scan OCT na visita final de acompanhamento de 12 semanas mostrando regressão do fluido sub-retiniano e algum material hiper-refletivo juncional sub-retiniano.....75

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Dados demográficos dos pacientes 66

Tabela 2 - Estímulos ERG. DA - 0,01. Adaptado ao escuro 0,01 ERG (avaliação das células bipolares ON dependentes dos bastonetes, sendo previamente chamado de resposta de bastonetes ou *rod b-wave*). DA - 3,0. Adaptado ao escuro 3 ERG (respostas combinadas de fotorreceptores e células bipolares de sistemas de bastonetes e cones; bastonetes predominam). Potenciais oscilatórios adaptados ao escuro - área sob curva (principalmente advindos de células amácrinas). DA - 10,0. Adaptado ao escuro 10 ERG (resposta combinada com ondas a aumentadas, refletindo função de fotorreceptor). LA - 30 Hz. Adaptado à luz 30 Hz *flicker* ERG (resposta orientada por caminho de cone). LA - 3,0. Adaptado à luz 3 ERG (ondas a advindas de cone e células bipolares OFF; as ondas b têm origem nas células bipolares ON e OFF do sistema de cones)..... 68

Lista de Símbolos e Abreviaturas

µg-	Micrograma
µm-	Micrômetro
µV-	Microvolt
AFB-	Aflibercept
AG-	Atrofia geográfica
AREDS-	<i>Age Related Eye Disease Study</i>
BVZ-	Bevacizumabe
CATT-	<i>Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatment Trials</i>
CCG-	Camada de células ganglionares
CFN-	Camada de fibras nervosas
CNE-	Camada nuclear externa
CNI-	Camada nuclear interna
CPE-	Camada plexiforme externa
CPI-	Camada plexiforme interna
CST-	Espessura do subcampo central (do inglês de Central subfield thickness)
DEP-	Descolamento do Epitélio Pigmentar
DMRI-	Degeneração Macular Relacionada à Idade
EPR-	Epitélio pigmentar da retina
ERG-	Eletrorretinograma
ETDRS-	<i>Early Treatment Diabetes Retinopathy Study</i>
FDA-	<i>Food and Drug Administration</i>
FGF-	Fator de crescimento de fibroblastos

HCFMRP-USP-	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HIF-	Fator induzível por hipóxia
HUVECs-	Células endoteliais da veia umbilical humana
ISCEV-	<i>International Society for Clinical Electrophysiology of Vision</i>
IS-	Segmentos internos de fotorreceptores
IVT-	Injeção intravítrea
kDA-	Kilodáton
MAVC-	Melhor acuidade visual corrigida
MLE-	Membrana limitante externa
MLI-	Membrana limitante interna
ms-	Milisegundo
NVC-	Neovascularização de coroide
OCT-A-	Angiografia por Tomografia de Coerência Óptica
OCT-	Tomografia de coerência óptica (do inglês de Optical Coherence Tomography)
OS-	Segmentos externos de fotorreceptores
PDT-	Terapia fotodinâmica
PEDF-	Fator derivado do epitélio pigmentar
PIO-	Pressão Intraocular
PVPI-	Iodopolvidona
RAP-	Proliferação angiomasiosa da retina (do inglês RAP - retinal angiomasious proliferation)
RBZ-	Ranibizumabe
SE-	Erro padrão (sigla em inglês de standard error)
SHRM-	Material hiperrefletivo sub-retiniano

SUS-	Sistema Único de Saúde
TGF-	Fator transformador de crescimento
VEGF-	Fator de Crescimento Vascular Endotelial
ZAF-	Zona avascular foveal
β-AR-	Receptor beta-adrenérgico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
1.1. Anatomia da retina e coroide.....	25
1.1.1. Anatomia da retina.....	25
1.1.2. anatomia da coroide	34
1.2. Degeneração macular relacionada à idade	35
1.2.1. Fatores de risco e patogênese	35
1.2.2. DMRI não-neovascular ou seca.....	37
1.2.3. DMRI neovascular ou exsudativa	41
1.3. Tomografia de coerência óptica na DMRI exsudativa.....	41
1.4. Tratamento da DMRI neovascular.....	44
1.4.1. Betabloqueadores	46
1.4.1.1. Betabloqueadores na oftalmologia	48
1.5. Justificativa do estudo	51
2. OBJETIVOS.....	53
2.1. Objetivo geral.....	54
2.2. Objetivos específicos	54
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	55
3.1. Desenho do estudo e considerações éticas	56
3.2. Pacientes.....	56
3.2.1. Critérios de inclusão	56
3.2.2. Critérios de exclusão	57
3.3. Métodos de avaliação	57
3.4. Injeção intravítrea de associação de bevacizumabe e propranolol.....	61
3.5. Parâmetros de segurança avaliados	63
3.6. Avaliação basal e nas visitas de seguimento	63
3.7. Métodos estatísticos	64
4. RESULTADOS.....	65
4.1. Eletroretinografia de Campo Total (ffERG).....	67
4.2. Pressão intraocular (PIO).....	69
4.3. Melhor acuidade visual corrigida (MAVC)	70
4.4. Espessura do subcampo central (CST).....	71
4.5. Outros eventos adversos	75
5. DISCUSSÃO	76
6. CONCLUSÕES	84
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
8. ANEXO.....	93
9. APÊNDICE.....	103

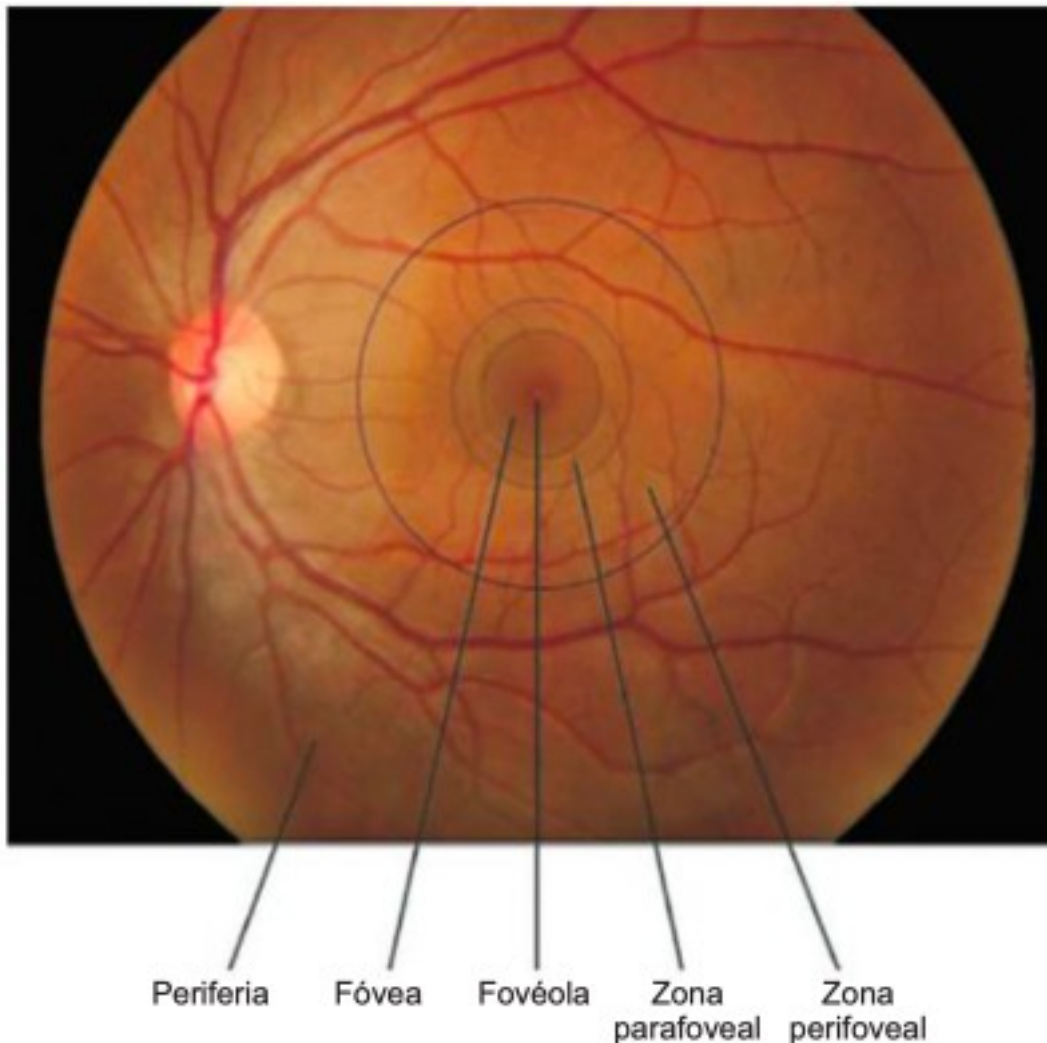
1- Introdução

1.1 Anatomia da retina e coróide

1.1.1 Anatomia da retina

O olho humano possui três túnicas de tecidos especializados: esclera, coróide e retina, que é responsável pela transformação do estímulo luminoso em impulso elétrico, encaminhado ao córtex cerebral por meio do nervo óptico. Sua área central, também conhecida como mácula, mede aproximadamente 5,5 mm de diâmetro e é localizada entre a cabeça do nervo óptico e as arcadas vasculares temporais. Nessa região há o acúmulo de substâncias carotenoides, em particular luteína e zeaxantina, que lhe confere cor amarelada. A fóvea é a área central da mácula (1,5 mm), especializada em alta acuidade espacial e visão de cores; possui uma região menor, dita foveola, de 0,35 mm de diâmetro, onde os cones são estreitos, alongados e densamente compactados. No centro da foveola há uma pequena depressão, 150-200 μm de diâmetro, conhecida como umbo.¹ Ao redor da fóvea está a parafóvea, um anel de 0,5 mm de largura onde as camadas de células ganglionares, nuclear interna e plexiforme externa são mais espessas. Mais externamente à parafóvea, tem-se a perifóvea, um anel de aproximadamente 1,5 mm de largura. Assim, o umbo forma o centro da mácula e a periferia da perifóvea forma sua margem (Figura 1).

Figura 1 - Imagem da mácula anatômica ou polo posterior. A fóvea anatômica e a fovéola estão contidas no centro da mácula anatômica

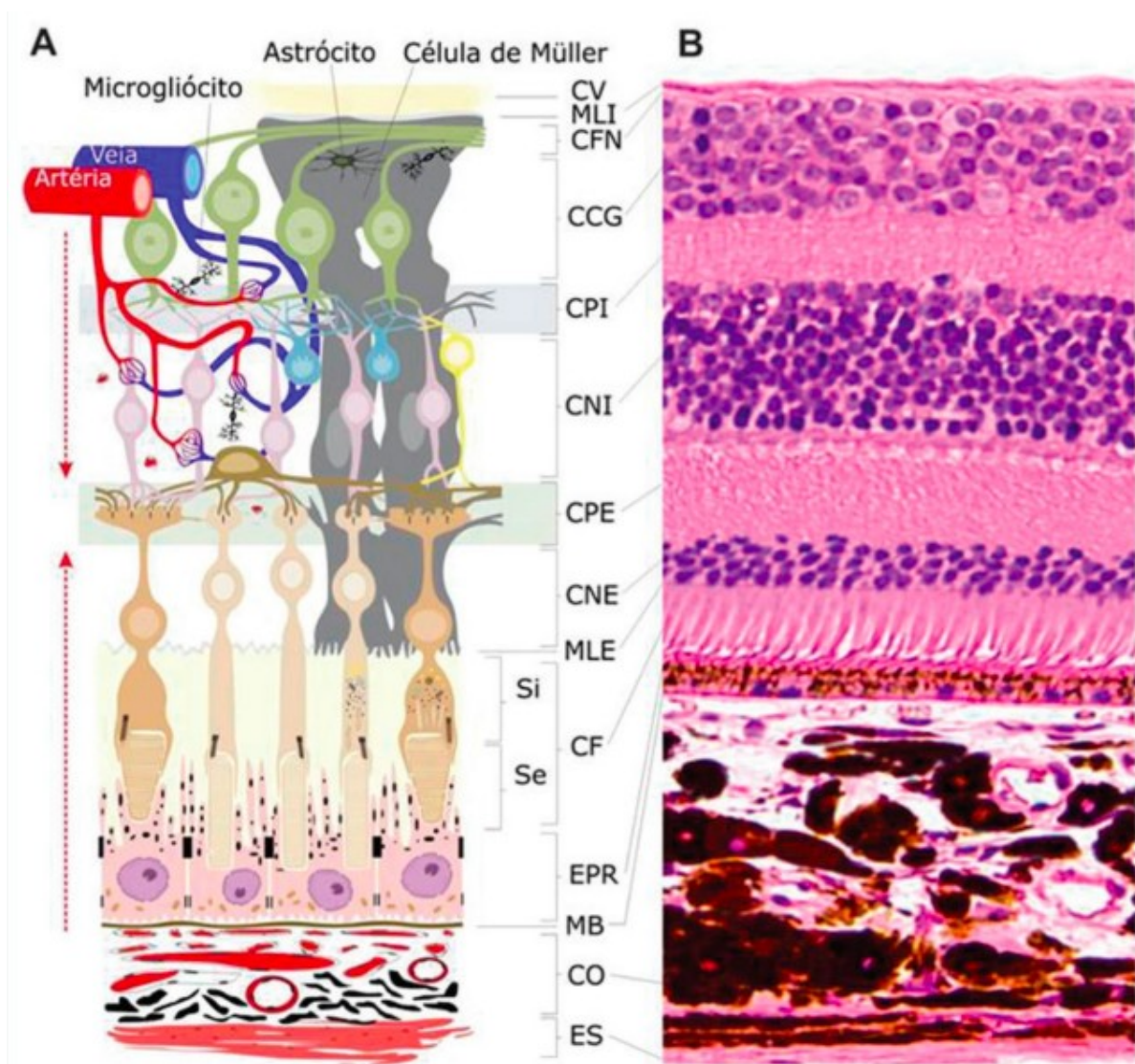


Fonte: Adaptado de Ávila, Lavinsky e Moreira Júnior (2016).²

A retina tem como limite externo a *ora serrata*, área de transição com a *pars plana* do corpo ciliar. Essa região chamada de periferia retiniana, tem menor espessura, se comparada à mácula². As camadas da retina podem ser vistas em preparações histológicas transversais e apresentam diferenças celulares entre si. A retina neurosensorial se divide em retina externa (camadas dos fotorreceptores, membrana limitante externa, camada nuclear externa e o 1/3 externo da camada plexiforme externa) e retina interna (camada plexiforme externa, 1/3 médio e interno, camada nuclear interna, plexiforme interna, células ganglionares, fibras nervosas e

membrana limitante interna) (Figura 2), e mais modernamente em exames de tomografia de coerência óptica (OCT).

Figura 2 - (A) Esquema da retina macular mostrando suas interrelações entre componentes na formação das camadas. **(B)** Corte histológico da retina macular evidenciando as camadas correspondentes na parte A. Corpo vítreo (CV); Membrana Limitante Interna (MLI); Camada de Fibras Nervosas (CFN); camada de células ganglionares (CCG); camada plexiforme interna (CPI); camada nuclear interna (CNI); camada plexiforme externa (CPE); camada nuclear externa (CNE); membrana limitante externa (MLE); camada de fotorreceptores (CF); segmentos internos de fotorreceptores (Si); segmentos externos de fotorreceptores (Se); Epitélio Pigmentar da Retina (EPR); Membrana de Bruch (MB); Coroide (CO); Esclera (ES). Inclusão em Metacrilato - Hematoxilina Eosina, Aumento médio



Fonte: Adaptado de Ferreira (2020).³

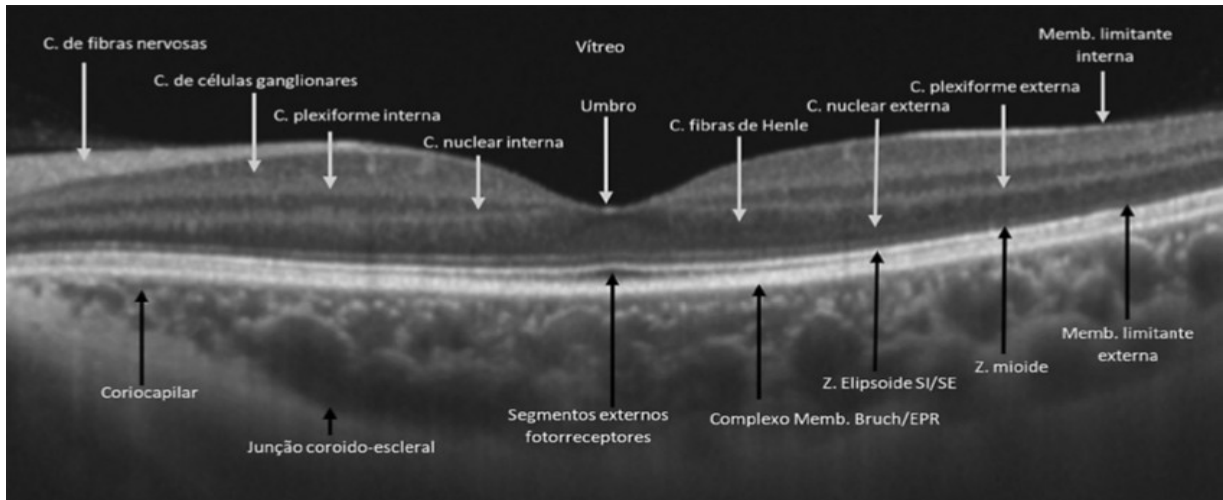
A camada de fotorreceptores é composta pelos fotorreceptores, divididos em segmentos internos (mioide), segmentos externos (elipsoide), corpos celulares e terminações sinápticas. A membrana limitante externa (MLE) é um conjunto de células de Muller e segmentos internos dos fotorreceptores. A camada nuclear externa (CNE) é composta pelos corpos celulares dos fotorreceptores. A camada plexiforme externa (CPE) é constituída pelos axônios dos fotorreceptores, células bipolares e horizontais, que fazem a conexão da CNE com a camada nuclear interna (CNI). Esta, por sua vez, contém os núcleos das células horizontais, bipolares, de Muller e amácrinas. A camada plexiforme interna (CPI) é composta por axônios das células bipolares e amácrinas. A camada de células ganglionares (CCG) contém as células ganglionares. A camada de fibras nervosas (CFN) possui os axônios das células ganglionares, e suas fibras convergem em direção ao nervo óptico. A membrana limitante interna (MLI) é formada por processos internos das células de Muller.³

Externamente à camada de fotorreceptores, há o epitélio pigmentar da retina (EPR) e a membrana de Bruch. O EPR é uma monocamada de células que funciona como um epitélio secretor metabolicamente ativo. Tem como limite de sua porção mais apical os segmentos externos dos fotorreceptores, em contato por meio de microvilosidades, e de sua porção basal, a coroide. Tem como funções: transporte ativo de substâncias entre a retina externa e a coroide; formar a barreira hematorretiniana externa; manter o espaço sub-retiniano sem líquidos; absorver o excesso de luz e produzir os fatores de crescimento.

A membrana de Bruch é uma camada composta por proteínas de adesão e colágeno, que serve como barreira e ligação entre o EPR e a coroide, exercendo papel de filtro seletivo entre essas camadas e, conseqüentemente, aos fotorreceptores.

Um exame muito importante da propedêutica retiniana é a Tomografia de Coerência Óptica (OCT), que tem íntima relação com a organização histológica da retina, em que também é possível visualizar sua estratificação em camadas.⁴ As camadas nucleares aparecerem hiporrefletivas, com coloração mais escura ao exame, e as camadas plexiformes e de fibras nervosas, mais hiper-refletivas, com coloração mais clara, ao exame (Figura 3).

Figura 3 - Camadas retinianas e coroide em corte de Tomografia de Coerência Óptica (OCT)



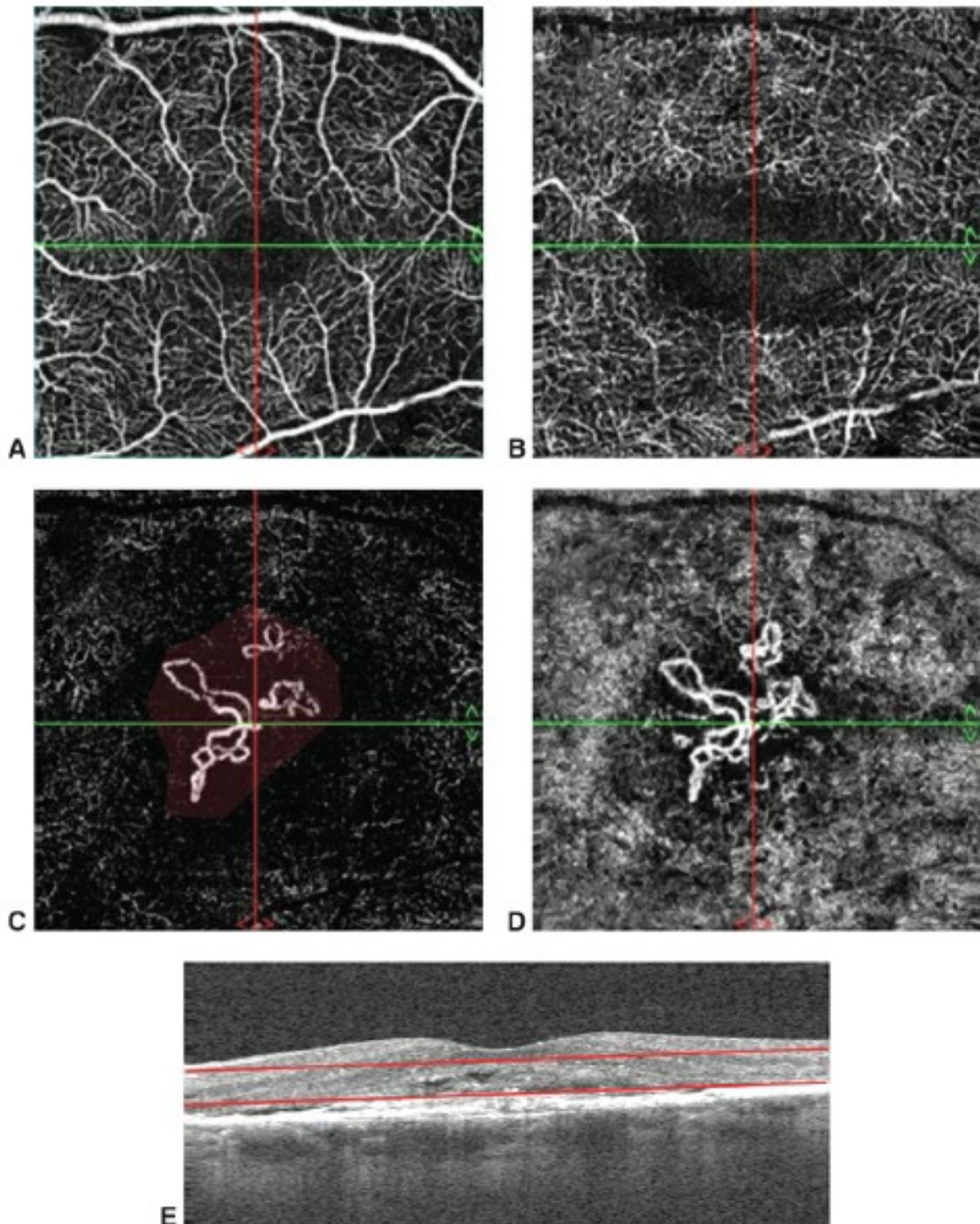
Fonte: Adaptado de Quintão et al. (2020).⁴

O suprimento vascular da retina vem da circulação retiniana para a retina interna e indiretamente da circulação coroidal para a retina externa avascular. A artéria central da retina (um ramo da artéria oftálmica) entra no olho e se divide em quatro ramos, cada um fornecendo sangue para um quadrante da retina. Esses ramos estão localizados na retina interna. Ocasionalmente, em 15-20%, a artéria ciliarretiniana, derivada da circulação ciliar, irriga a retina na região do feixe papilomacular. Em nível tecidual, a retina é suprida por até quatro camadas de vasos: rede capilar radial peripapilar, localizada na CFN e ao redor da cabeça do nervo óptico, o plexo vascular superficial na CCG da retina e o plexo capilar profundo com duas camadas de leitos capilares, um de cada lado da CNI. Os capilares são contínuos e suas células endoteliais possuem junções oclusivas. O sangue dos capilares é coletado pelas veias da retina e deixa o olho através da veia central da retina.

Com o advento da angiografia por OCT (OCT-A), capaz de visualizar essas distintas camadas capilares, o interesse por essa anatomia tem crescido. A OCT-A usa a tecnologia de interferometria óptica e se baseia nas diferenças de movimento capturadas entre a retina neurosensorial (estática) e os vasos retinianos (dinâmicos). Com a OCT-A, é possível avaliar as camadas da retina e da coróide e

estabelecer um mapa de densidade vascular estratificado. Este exame não invasivo permite a avaliação da vascularização da retina sem o uso de qualquer corante/contraste. Além disso, a OCT-A é normalmente realizada em uma plataforma multimodal que renderiza uma fotografia de fundo de olho colorida e uma imagem de OCT na mesma captura. Assim, pode ser uma ferramenta útil para auxiliar no diagnóstico de doenças como a membrana neovascular associada à degeneração macular relacionada à idade (DMRI) exsudativa⁵ (Figura 4).

Figura 4 - Série de cortes *en face* progressivamente mais profundos (A-D) de uma NVC tipo 2, localizada acima do EPR na zona avascular da retina. **(A)** mostra o plexo capilar superficial com grandes vasos retinianos. **(B)** nível do plexo capilar profundo com aumento da ZAF causada pela elevação da NVC subjacente. **(C)** zona avascular da retina com NVC. **(D)** nível coriocapilar com NVC estendendo-se para cima na retina. **(E)** OCT de varredura mostra distúrbio no fluido sub-retiniano do EPR e fibrose

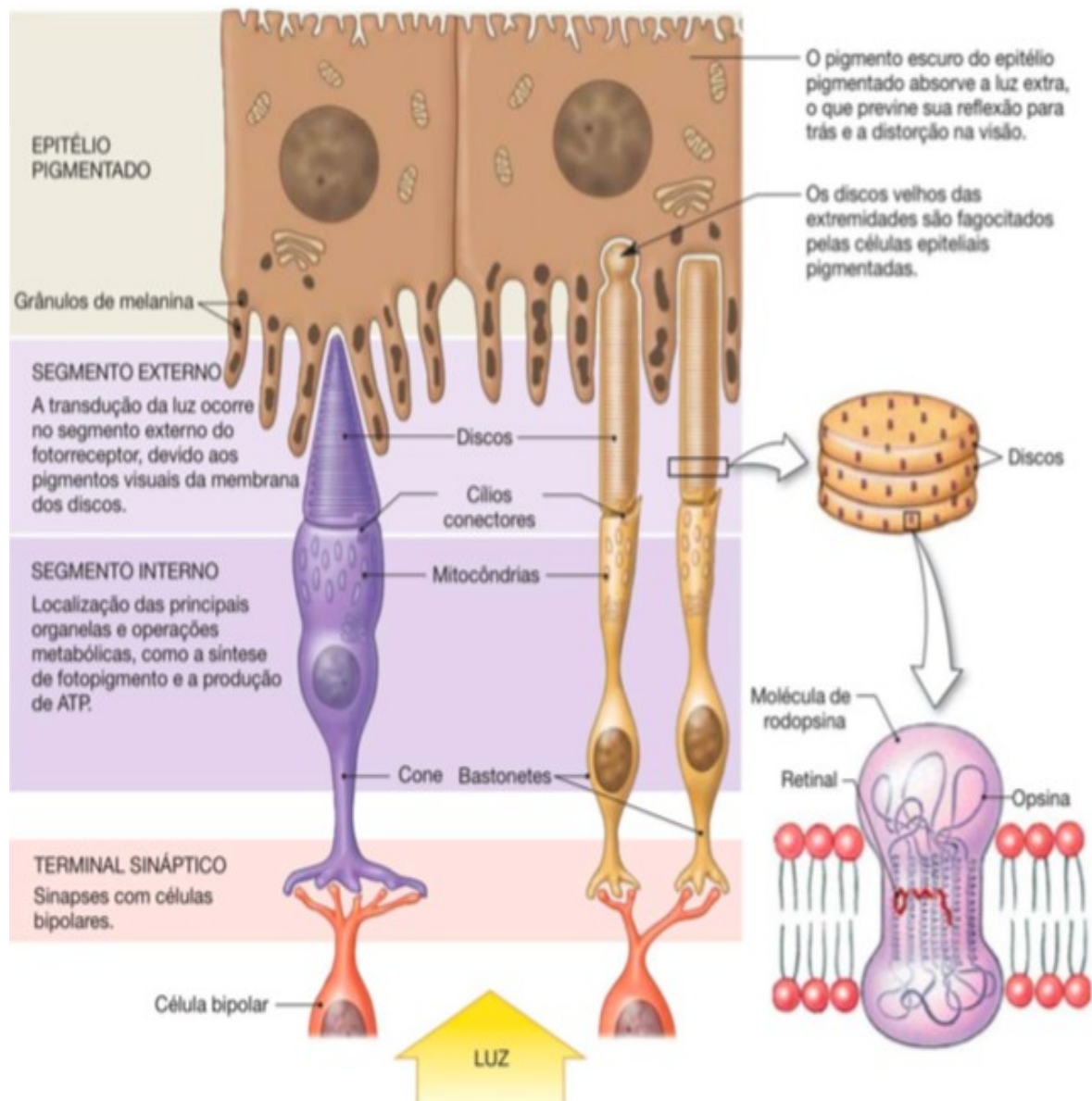


Fonte: Adaptado de American Academy of Ophthalmology (2017).¹

A densidade e distribuição de fotorreceptores variam de acordo com sua localização topográfica. A fóvea contém apenas fotorreceptores e processos de células de Müller. O número de cones e bastonetes vai diminuindo em direção à periferia da retina. O pico de densidade de cones é na foveola, onde se encontram $>150.000/\text{mm}^2$. Os bastonetes têm sua maior densidade em uma zona situada a aproximadamente 4 mm do centro da fóvea, ou a 12° da fixação.

A vitamina A é de suma importância para o funcionamento retiniano. Dela deriva as moléculas sensíveis à luz, contidas nas membranas do disco dos segmentos externos dos fotorreceptores. Os discos são presos a um cílio, que é enraizado através de neurotúbulos na elipsoide e mioide do segmento interno. A elipsoide, que é adjacente ao cílio, contém mitocôndrias, e a mioide, que está mais próxima do núcleo fotorreceptor, contém retículo endoplasmático. Os segmentos externos podem conter até mil discos empilhados como moedas (Figura 5). Esses discos são renovados e eliminados da retina externa, sendo fagocitados pelo EPR para processamento e reciclagem de componentes.⁶

Figura 5 - Os cones e os bastonetes apresentam a mesma estrutura básica, sendo compostos por um segmento externo, onde se localizam os discos e os pigmentos fotossensíveis e cuja extremidade está em contato com o epitélio pigmentado da retina, um segmento interno, onde se encontram as principais organelas da célula



Fonte: Adaptado de Silverthorn (2016).

O caminho que o estímulo visual percorre é extenso, passando por diversas sinapses. Os fotorreceptores fazem sinapses com a célula bipolar, que são os primeiros neurônios da via visual. Os cones possuem uma sinapse de 1 para 1 com célula bipolar, já vários bastonetes convergem em uma célula bipolar, que por

sequência fazem sinapse com as células ganglionares, os segundos neurônios da via visual. As células ganglionares somam as respostas das células amácrinas e bipolares gerando estímulo que vai através da CFN pelo nervo óptico até o corpo geniculado dorsolateral e o terceiro neurônio no cérebro, e depois ao córtex cerebral no lobo occipital.¹

1.1.2 Anatomia da coroide

A coroide é uma estrutura com extensa vascularização e situa-se entre a esclera e a retina, sendo capaz de nutrir a parte externa da retina e o segmento anterior do globo ocular. A divisão histológica desta estrutura se faz em quatro camadas: supracoroide (ou lâmina fusca); estroma; coriocapilar e membrana de Bruch. Esta última tem aproximadamente 2-4 μm e pode ser dividida em cinco: membrana basal do EPR; camada de fibras colágenas internas; camada de fibras elásticas; camada de fibras colágenas externas e a membrana basal do endotélio da coriocapilar.

As artérias ciliares posteriores curtas e alguns ramos recorrentes do grande círculo arterial da íris são os grandes responsáveis pela irrigação coroideana, sendo as artérias ciliares posteriores ramos da artéria oftálmica e bifurcam em um ramo lateral e um medial. As artérias ciliares posteriores curtas, aproximadamente em número de 15 a 20, e as artérias ciliares posteriores longas, em número de duas, surgem das ciliares posteriores como ramos delas, emitidos antes de perfurarem a esclera.

As veias vorticosas, em número de quatro, distribuídas setorialmente ao nível do equador em cada quadrante, são as responsáveis pela drenagem venosa da coroide. A inervação da túnica vascular tem origem no gânglio ciliar, através dos nervos ciliares curtos, do nervo nasociliar e por intermédio dos nervos ciliares longos.²

1.2 Degeneração macular relacionada à idade

A DMRI é a principal causa de cegueira nos países desenvolvidos em pessoas com mais de 50 anos e terceira maior causa de cegueira no mundo (7% do total). Em países desenvolvidos, 10% das pessoas com idade superior a 65 anos e 25% com idade acima de 75 anos têm DMRI. Estima-se que entre os norte-americanos, 10 milhões (90% de todos os pacientes com DMRI), atualmente, têm DMRI “seca” (não neovascular ou não exsudativa) e 1,5 milhões de pessoas (10% de todos os pacientes com DMRI) têm DMRI “úmida” (exsudativa ou neovascular).⁷ Embora a DMRI exsudativa responda por apenas 10% dos casos, ela causa diminuição de acuidade visual mais severa, correspondendo a 85-90% dos casos de DMRI com visão pior ou igual a 20/200.

No Brasil, Cypel et al. (2006)⁸ mostraram que na população de pacientes com idade superior a 99 anos de idade, a DMRI estava presente em todos, sendo em proporção de 70% na forma clássica, 25% na forma moderada e severa e em 5% na forma oculta, já cicatrizada. Já Santos et al. (2005)⁹ descrevem a frequência de olhos com DMRI e sua variação nas faixas etárias dos 55 a 64 anos, variando entre 13 e 19 %, dos 65 a 74 anos, variando entre 31 e 35%, no grupo com idade igual e superior a 75 anos, entre 27 e 60%.

1.2.1 Fatores de risco e patogênese

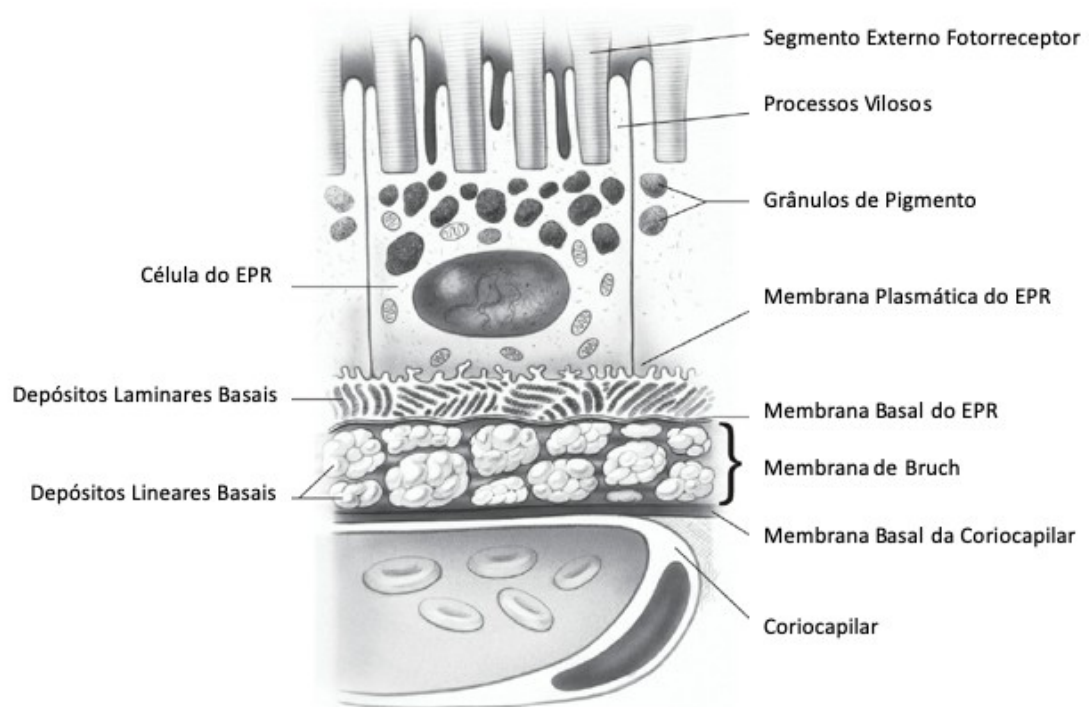
Estudos populacionais mostram que idade, sexo feminino, hipertensão, hipercolesterolemia, doença cardiovascular, maior relação cintura-quadril em homens, história familiar positiva, tabagismo, níveis elevados de proteína C reativa e outros marcadores inflamatórios, hipermetropia e cor clara da íris são fatores de risco para DMRI. O principal destes é a idade. Dos fatores de risco modificáveis, o tabagismo é o mais significativo, aumentando o risco de DMRI em duas a três vezes. A origem racial é outro fator de risco importante, como apontam os resultados do estudo multiétnico longitudinal de aterosclerose (MESA)¹⁰, em que a prevalência de DMRI foi maior em brancos (5,4%) e menor em afro-americanos (2,4%). Houve prevalência de formas precoces de DMRI maior em europeus em relação os demais.

A DMRI é uma doença poligênica e o risco de ser afetado é aumentado em três vezes se há parente de primeiro grau com a doença. Uma recente associação genômica identificou 52 variantes genéticas associadas à DMRI. A variante Y402H do gene do fator do complemento H (CFH) foi a primeira a ser identificada. Os dois principais genes de suscetibilidade para DMRI são CFH (1q31) e ARMS2 (10q26), sendo esta última e a MMP20 genes associados ao tamanho da lesão de neovascularização coroidal (NVC). Em resumo, as mutações nos genes afetam diversas vias, como a depuração de all-trans-retinoldeído de fotorreceptores (ABCA4), a cascata do complemento (CFH, CFI, C2, C3 e C7, transporte e metabolismo lipídico (por exemplo, APOE) e a modulação da matriz de colágeno extracelular (por exemplo, COL8A1, COL10A1, TIMP3). A via alternativa do complemento inclui o maior número de alelos de risco de DMRI conhecidos, incluindo CFH, CFI, C2/CFB, C3 e C7.¹² Embora a genotipagem ofereça dados valiosos para predição de risco, estudos prospectivos em farmacogenética ainda são necessários e por isso a testagem genética para DMRI ainda não possui suporte na literatura e não se recomenda sua realização de rotina.

Durante o envelhecimento normal, tem-se uma miríade de alterações maculares, muitas não detectadas clinicamente. Dentre as estruturas afetadas citam-se: retina externa, EPR, membrana de Bruch e coriocapilar. Pode-se enumerar como mudanças:

- Fotorreceptores são reduzidos em densidade e distribuição.
- EPR evolui com perda de grânulos de melanina, formação de grânulos de lipofuscina e acúmulo de corpos residuais.
- Formação de depósitos laminares/lineares basais, que são partículas granulares ricas em lipídios e fibras de colágeno, amplamente espaçadas, que se acumulam entre a membrana plasmática do EPR e a camada interna de colágeno da membrana de Bruch, em ambos os lados da membrana basal do EPR (Figura 6).
- Alterações involucionais progressivas na coriocapilar.

Figura 6 - Ilustração esquemática de depósitos laminares basais e lineares basais que resultam em espessamento da camada interna de colágeno da membrana de Bruch. **EPR**= epitélio pigmentar da retina

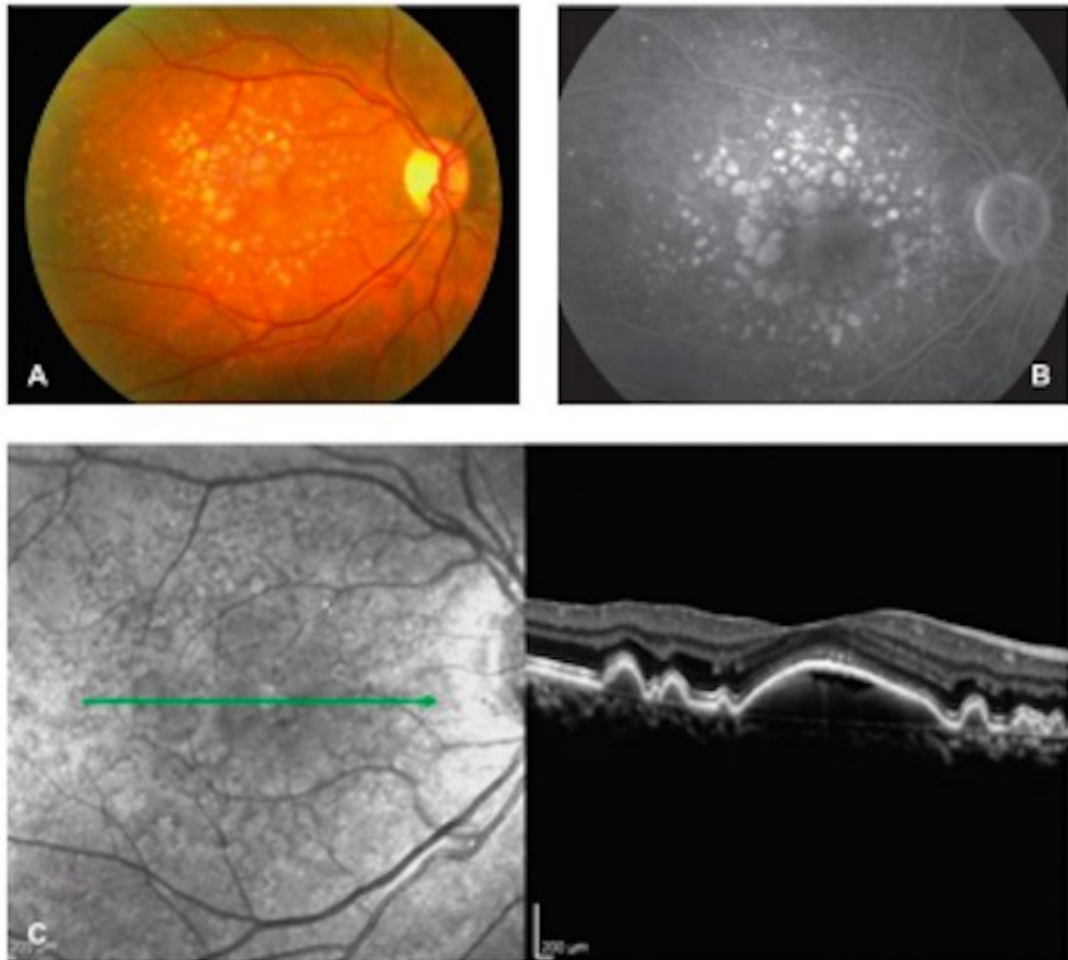


Fonte: Adaptado American Academy of Ophthalmology (2017).¹

1.2.2 DMRI não-neovascular ou seca

A lesão mais característica da DMRI seca é a drusa, que são lesões pequenas, redondas e amarelas localizadas ao longo da superfície basal do EPR (Figura 7) e ocorre devido ao espessamento anormal do aspecto interno da membrana de Bruch e podem ser vistos depósitos extracelulares hialinos e ricos em lipídios. Ultraestruturalmente, depósitos laminares e lineares basais estão presentes² (Figura 6). O espessamento interno da membrana de Bruch, juntamente com o EPR, pode gerar afastamento da membrana de Bruch, resultando em descolamento do epitélio pigmentar (DEP), que quando maior, é chamado DEP drusenoide.

Figura 7 - Drusas e DEP drusenoides, em imagem de **(a)** retinografia colorida, **(b)** fase tardia da angiofluoresceinografia, **(c)** OCT B-scan



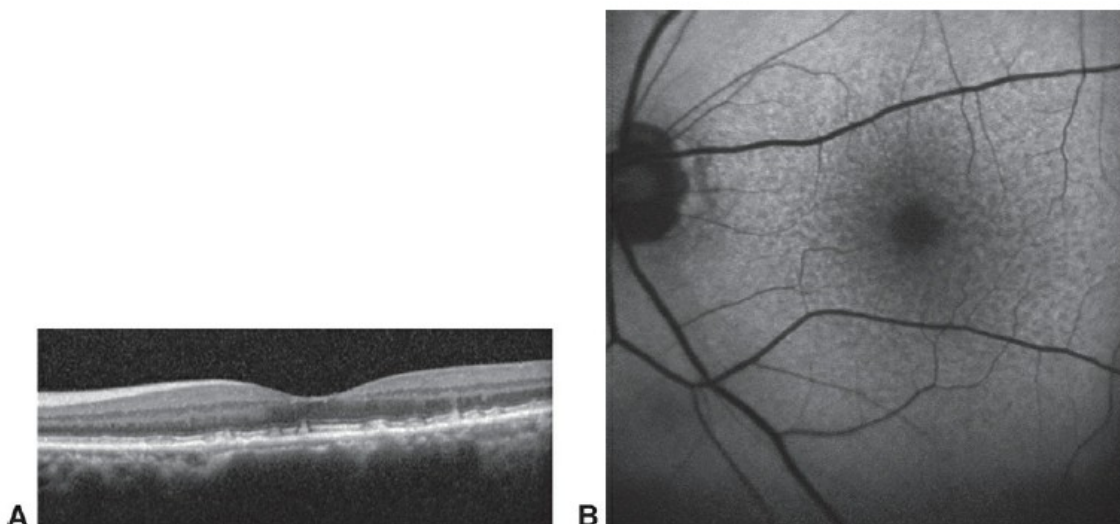
Fonte: Adaptado de Ávila, Lavinsky e Moreira Júnior (2016).²

As drusas podem ser classificadas em duras (limites discretos e bem demarcados), moles (limites amorfos e mal demarcados) ou confluentes (drusas contíguas sem limites claros), e esta classificação se faz importante, pois o aumento do número, do tamanho e da confluência oferecem risco de progressão para DMRI exsudativa. O tamanho também é uma classificação importante: pequenas ($\leq 64 \mu\text{m}$), médias (entre 63 e 125 μm) e grandes ($\geq 125 \mu\text{m}$). O estudo *Age-Related Eye Disease Study* (AREDS)¹³ foi um dos principais estudos para entender e classificar esta doença e associando a chance de evoluir para estágio 4, que é atrofia geográfica (AG) ou NVC. Segundo o estudo, pacientes em estágio 2 apresentaram

pequenas drusas ou poucas drusas intermediárias, com evolução em cinco anos para estágio 4 de 1,3%. Em contrapartida, o número de pacientes em estágio 3, com muitas drusas intermediárias ou mesmo uma única drusa grande, foi bem maior (18%). Ao final dos estudos AREDS 2 foi proposta suplementação composta de luteína 10 mg, zeaxantina 2 mg, vitamina C 500 mg, vitamina E 400 UI, zinco 80 mg e cobre 2 mg. Atualmente, considera-se que esta suplementação oferece maior benefício aos pacientes em estágios 3 e 4.

É importante diferenciar pseudodrusas reticulares ou depósitos drusenoides sub-retinianos das drusas, pois as pseudodrusas reticulares cursam mais com atrofia progressiva da camada fotorreceptora, AG e maior risco de NVC. São menores e situadas na superfície apical do EPR (sua localização é identificável à OCT) (Figura 8).

Figura 8 - Pseudodrusas reticulares. **(A)** imagem SD-OCT revela a localização das pseudodrusas acima do EPR. **(B)** imagem de autofluorescência correspondente mostra a rede reticular dessas pseudodrusas

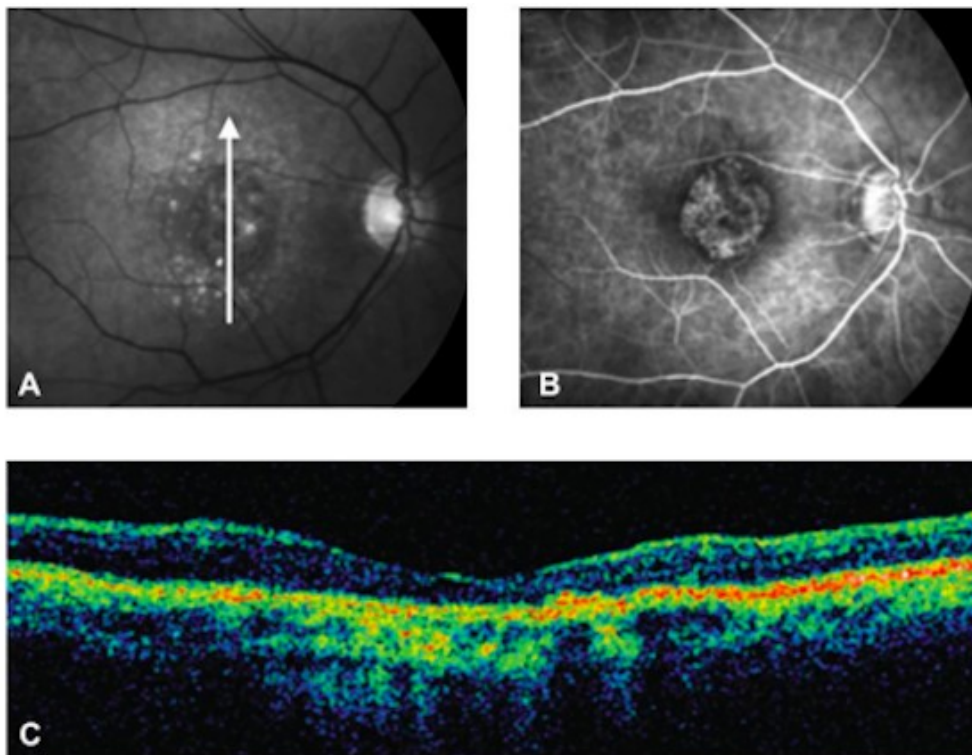


Fonte: Adaptado de American Academy of Ophthalmology (2017).¹

A DMRI seca tem como achados: hiperpigmentação, atrofia focal e AG. Hiperpigmentação focal do EPR aparece como pigmentação aumentada ao nível da retina externa. A incidência de hiperpigmentações focais aumenta com a idade e gera maior risco de progressão para as formas mais avançadas de DMRI.³ O

acúmulo de drusas pode levar à degeneração do EPR, com consequente substituição destas lesões por áreas de atrofia. A atrofia focal aparece como áreas não contíguas de manchas de pigmento ou despigmentação franca. Se tais lesões são contíguas e têm diâmetro maior que 175 μm , são descritas como AG do EPR. A AG representa o estágio mais avançado da DMRI seca, onde estão afetados fotorreceptores, EPR e coriocapilar. Em áreas de AG, ausência ou despigmentação do EPR desmascara os vasos coroides, tornando-os visíveis (Figura 9). Geralmente, a fóvea é poupada até o final do curso da doença. Quando a fóvea é envolvida, a acuidade visual diminui, causando cegueira central, forçando o paciente a usar fixação excêntrica na retina não central para ler e realizar outras tarefas visuais.

Figura 9 - Imagens representando a atrofia geográfica do epitélio pigmentado da retina. **(A)** fotografia *redfree* mostrando área de atrofia e drusas perilesionais; **(B)** fase arteriovenosa de angiofluoresceinografia mostrando defeito em janela na área correspondente à atrofia; **(C)** OCT demonstrando atrofia das camadas externas de retina e aumento da refletividade abaixo da coroide, na região da atrofia, por menor absorção da luz pelo EPR e retina atrofícos



Fonte: Adaptado de Ávila, Lavinsky e Moreira Júnior (2016).²

1.2.3 DMRI neovascular ou exsudativa

A presença de membrana neovascular ou NVC, é característica da DMRI neovascular. Alterações degenerativas na membrana de Bruch produzem efeito pró-angiogênico que pode estimular neovasos, que podem vaziar e sangrar, interrompendo a arquitetura normal do complexo EPR-fotorreceptor. Se não tratadas, o estágio final desta evolução é a cicatriz hipertrófica fibrótica disciforme.¹⁴ Pacientes com DMRI neovascular descrevem início súbito de diminuição da visão, metamorfopsia, e/ou escotomas paracentrais, e em caso de evolução para fibrose/cicatriz disciforme, apresentam baixa visual severa e permanente. É importante ressaltar que a DMRI neovascular é o tipo mais responsável por perda visual importante.

1.3 Tomografia de coerência óptica na DMRI exsudativa

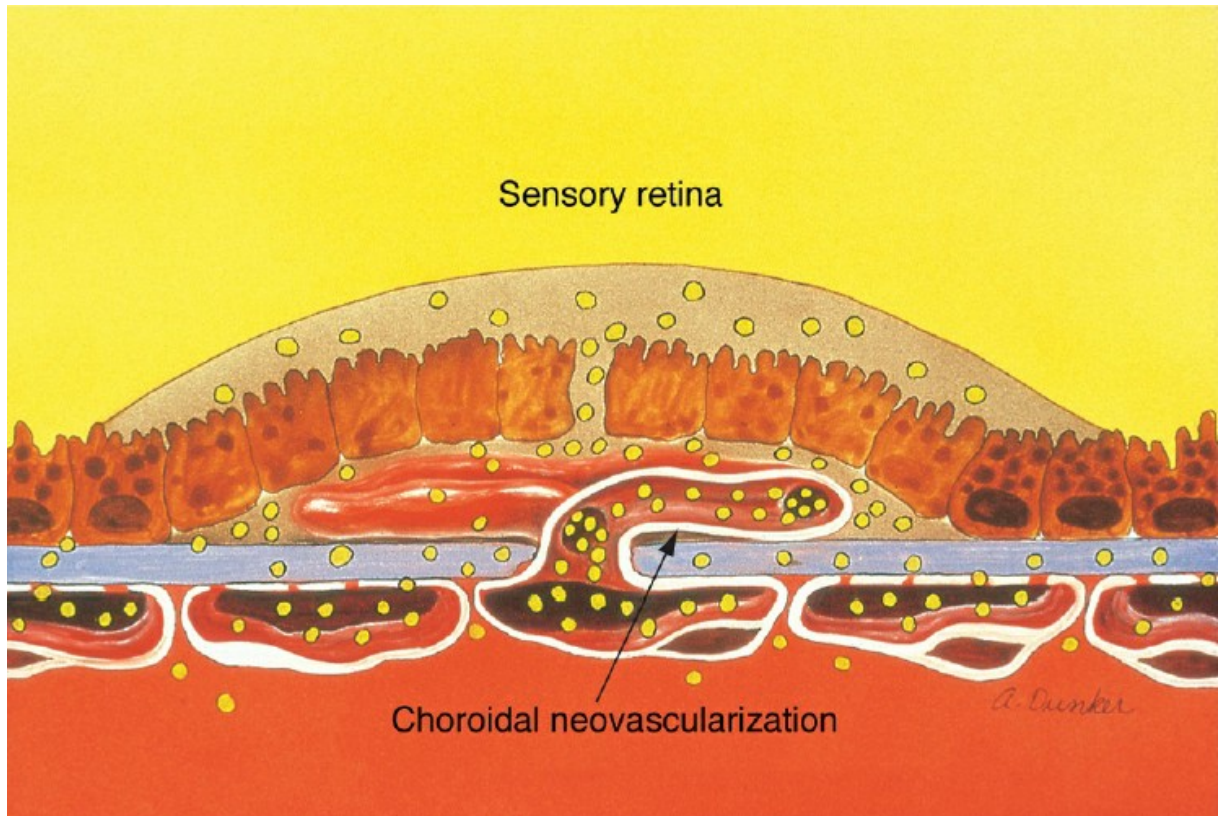
A OCT é um exame não invasivo e a técnica de visualização mais prática, por não utilizar contraste e muitas vezes, conseguir ser realizada mesmo sem midríase, para diagnóstico e classificação da NVC, bem como para monitoramento da resposta ao tratamento. A OCT também auxilia na diferenciação entre membranas tipos 1, 2 e 3, baseada na sua origem e em achados característicos do exame. O reconhecimento desses padrões pode ser útil para o diagnóstico diferencial e prever os resultados do tratamento. Seguem os tipos:

- Membrana neovascular tipo 1: vasos originados dos coriocapilares crescem por meio de um defeito na membrana de Bruch para o espaço sub-EPR¹⁴ (Figura 10). Sua característica localização, vinda da coroide, mostra à OCT elevação do EPR e DEPs serosos elevados, cupuliforme, com nenhuma refletividade interna e tipicamente sem líquido sub-retiniano ou intrarretiniano associado. Caso os DEPs tenham refletividade interna heterogênea, rendilhada, podem ser chamados de fibrovasculares. DEPs fibrovasculares crônicos têm aparência de múltiplas camadas devido à precipitação de cristais de

colesterol sub-EPR, sendo denominado de sinal da “cebola” (*onion sign*) (Figura 11).¹⁵

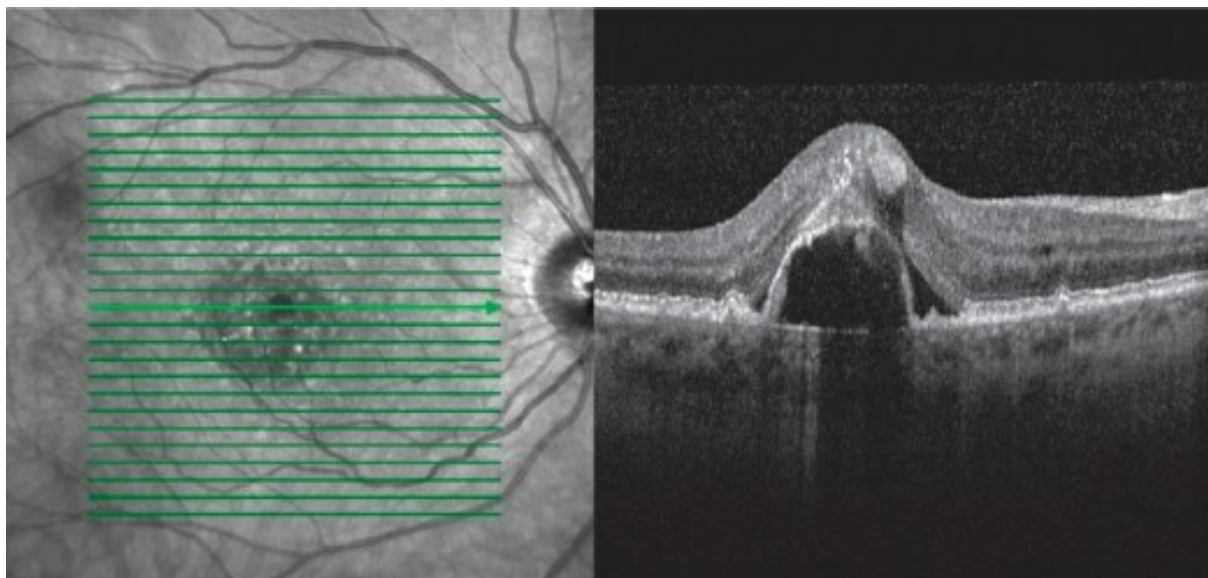
- Membrana neovascular tipo 2: originada entre o EPR e a retina neurosensorial, aparece como uma faixa ou placa hiper-refletiva no espaço subneurosensorial, com fluido sub-retiniano e/ou intrarretiniano associado.
- Membrana neovascular tipo 3: desenvolve-se a partir do plexo capilar profundo da retina e cresce para baixo em direção ao EPR. Devido à sua origem intrarretiniana, essas lesões foram originalmente denominadas proliferações angiomasos da retina (do inglês RAP - retinal angiomatous proliferation). Apresenta-se na OCT como focos hiper-refletivos emanados do plexo capilar profundo da retina, com ou sem fluido, e DEPs associados.¹⁶

Figura 10 - Ilustração esquemática da neovascularização coroidal tipo 1 (NVC), originária da coriocapilar, rompendo a membrana de Bruch e proliferando no espaço sub-EPR



Fonte: Adaptado de Bressler, NM, Bressler SB e Fine (1988).¹⁴

Figura 11 - OCT mostra um descolamento do epitélio pigmentado subfoveal com fluido sub-retiniano e intrarretiniano associado. Há também uma área de material hiper-refletivo na parte inferior do EPR, representando o complexo neovascular. Notam-se irregularidades do EPR que se assemelham a pequenos descolamentos epiteliais (drusas)



Fonte: Adaptado de American Academy of Ophthalmology (2017).¹

O material hiper-refletivo sub-retiniano (SHRM) é um acúmulo hiper-refletivo entre a retina e o EPR e cursa com maior perda em acuidade visual. Sua resistência pode evoluir com fibrose, gerando perda visual permanente.¹⁷ A OCT-A revela os detalhes estruturais da NVC⁴. Os detalhes finos da arquitetura vascular de cada tipo de NVC podem ser facilmente visualizados, livres do borramento causado pelo vazamento de fluoresceína na angiografia (Figura 4).

1.4 Tratamento da DMRI neovascular

O tratamento a laser térmico (fotocoagulação) agora é pouco usado devido a maus resultados e altas taxas de recorrência, conforme revelado em estudo como o *Macular Photocoagulation Study Trial*.¹⁸ A terapia fotodinâmica (PDT) ("laser frio") foi introduzida como um método menos destrutivo que a fototerapia para tratamento de NVC, mas hoje seu uso é raro como tratamento, tanto pela baixa disponibilidade como pelo advento da terapia angiogênica, menos danosa.

Para o processo angiogênico há uma sequência de eventos até a formação de neovasos, que se inicia com vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, seguido pela degradação da matriz extracelular circundante, migração e proliferação de células endoteliais, formando novos capilares. Esta cascata requer uma interação equilibrada de fatores promotores e inibidores de angiogênese para prosseguir. Como fatores estimuladores da angiogênese estão: fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), principal alvo das drogas antiangiogênicas, fator transformador de crescimento α e β (TGF- α e TGF- β), angiopoietinas 1 e 2 e fator de crescimento de fibroblastos (FGF). Como inibidores da angiogênese: fator derivado do epitélio pigmentar (PEDF), trombospondina e angiostatina, entre outros.¹⁹

O VEGF é uma glicoproteína homodimérica que possui quatro isoformas e induz vascularização, permeabilidade, angiogênese e linfangiogênese. Altas concentrações de VEGF em amostras vítreas de pacientes com DMRI exsudativa sugeriram papel causal no início da neovascularização. Em 2004, o órgão norte-americano FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou o bevacizumab, um anticorpo monoclonal contra VEGF, para o tratamento de câncer colorretal metastático. Também tem sido usado “off-label” para o tratamento da DMRI via administração intravítrea, com bons resultados.²⁰

Ao longo dos anos, mais drogas foram produzidas que atuam como anti-VEGF, com uso *on-label* para tratamento via intravítrea. As duas mais utilizadas são o ranibizumabe (RBZ) e aflibercept (AFB). Embora os alvos farmacológicos dessas três drogas sejam os mesmos, as estruturas são diferentes; portanto o mecanismo de ação e o perfil farmacocinético podem diferir, com impacto em termos da relação risco/benefício. Além disso, outra diferença notável é o custo desses produtos. Aproximadamente, o bevacizumabe (BVZ) é cerca de 40 vezes mais barato que o RBZ e AFB²¹. No que diz respeito à eficácia, existem vários estudos randomizados controlados e metanálises coletando os resultados desses três agentes mostrando benefícios sobre injeções *sham*.²² Nenhuma diferença significativa é revelada em termos de impacto na acuidade visual em pacientes com DMRI exsudativa, embora o número de injeções necessárias para atingir esses efeitos clínicos foi relatado menor para AFB.²³

O BVZ é maior, com dois domínios de ligação ao antígeno, peso de 149 kDA, em contraste com o RBZ, menor (48 kDA) e com único domínio. Ambos agem em todas as isoformas de VEGF-A. Já o AFB é uma partícula de 115 kDA que tem maior afinidade com todas as isoformas de VEGF-A, além de agir em VEGF-B e fator de crescimento placentário.

Resultados do CATT (Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatment Trials) mostraram que o BVZ foi não inferior à terapia com RBZ em cronogramas de injeções mensais, ou conforme a necessidade (*pro re nata* ou PRN) ao longo de dois anos, sendo este o primeiro e maior ensaio clínico multicêntrico e randomizado para comparar ambas as drogas em pacientes com DMRI neovascular.²⁴

Considerando o custo econômico das drogas RBZ e AFB, e tendo em vista o escopo do presente estudo em buscar alternativas com melhor custo benefício (menor custo e resultados equivalentes) para esta doença, responsável por considerável parte da cegueira em idosos no mundo, optou-se pelo uso do BVZ.

1.4.1 Betabloqueadores

O desenvolvimento do composto propranolol data desde 1964, com Black et al.²⁵ mostrando sua atividade bloqueadora dos receptores beta-adrenérgicos, inibindo a ação das catecolaminas, como a epinefrina, também denominada adrenalina, norepinefrina ou noradrenalina, com favorável perfil de efeitos adversos. Sendo utilizado em casos de angina, arritmias cardíacas, hipertensão arterial, entre outros, o propranolol, com o passar dos anos, tornou-se o protótipo da classe de betabloqueadores.²⁶ A distribuição dos subtipos de receptores β ocorre de maneira não uniforme nos órgãos e tecidos:

- Tipo β_1 : musculatura cardíaca. Sua ativação aumenta a frequência cardíaca e a contratilidade atrioventricular.
- Tipo β_2 : musculatura cardíaca, nos brônquios e na vasculatura periférica. Sua ativação leva à vasodilatação e broncodilatação.
- Tipo β_3 : foi identificado em tecido adiposo, gastrointestinal, musculatura lisa brônquica e vascular e no coração. Sua ativação pode mediar a

termogênese induzida por catecolaminas, alterar a sensibilidade à insulina e reduzir a contratilidade muscular.²⁸

Os fármacos betabloqueadores têm perfis farmacológicos distintos e são agrupados segundo os perfis de seletividade: não seletivos - bloqueiam os receptores β_1 e β_2 , como exemplos: o propranolol, nadolol e timolol; e cardioseletivos - bloqueiam “apenas” os receptores β_1 , como exemplos: o betaxolol, metoprolol, atenolol e nobivolol.²⁹ Na farmacodinâmica desses fármacos vale ressaltar suas vias de eliminação, que podem ser via renal - atenolol e nadolol, ou hepática - propranolol, metoprolol, labetalol e carvedilol. O uso dos betabloqueadores está mais comumente associado ao tratamento das seguintes patologias^{29,30}:

- Hipertensão arterial sistêmica, agindo no sistema renina-angiotensina-aldosterona e também diminuindo a ação do simpático nos vasos periféricos e coração.
- Angina instável;
- Insuficiência cardíaca diastólica e sistólica;
- Enxaqueca;
- Aneurisma de aorta abdominal sob tratamento clínico conservador;
- Arritmias supraventriculares;
- Profilaxia de hemorragia de varizes esofageanas, secundária à hipertensão portal;
- Hipertensão pulmonar;
- Toxicidade por hormônio tireoidiano;
- Feocromocitoma;
- Tremor essencial;
- Glaucoma;

Os efeitos colaterais comumente associados ao uso sistêmico de betabloqueadores, reportados em ensaios clínicos randomizados, foram: bradicardia, hipotensão, tontura, disfunção sexual, sintomas gastrointestinais e dermatológicos.

Em caso de intoxicação por betabloqueadores, o glucagon deve ser utilizado como antídoto.³¹

Embora os fármacos β_1 seletivos (cardiosseletivos) possam ser utilizados em paciente portadores de asma brônquica, com cautela, vale ressaltar que os betabloqueadores, em geral, devem ser contraindicados para pacientes com essa patologia.³²

1.4.1.1 Betabloqueadores na oftalmologia

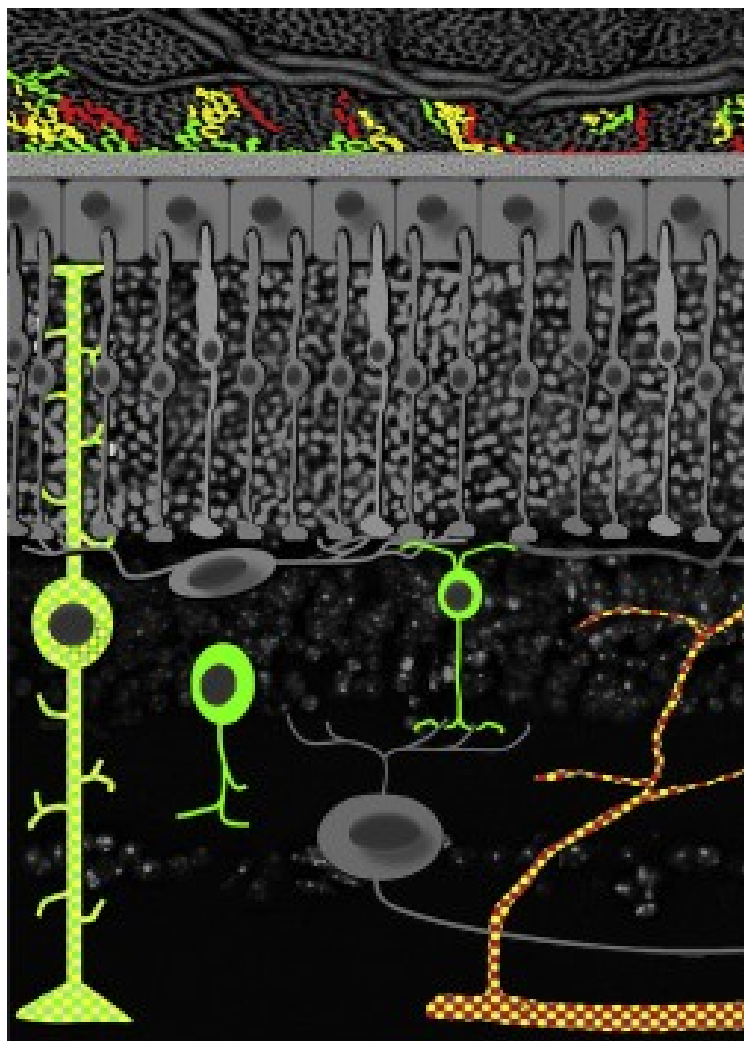
O propranolol, antagonista inespecífico do receptor beta-adrenérgico (β -AR), tornou-se o padrão-ouro para o tratamento de hemangioma infantil grave.³³ Também um estudo mostrou o uso de injeção intravítrea (IVT) de propranolol em hemangioma capilar retiniano em um caso de Von Hippel Lindau.³⁴ As propriedades regressivas tumorais do tratamento com propranolol decorrem de sua capacidade em inibir a expressão de VEGF³⁵ e, portanto, o antagonismo do β -AR do propranolol pode ser útil no tratamento de doenças neovasculares oculares.³⁶

A angiogênese desempenha papel fundamental, tanto durante a fase embrionária do desenvolvimento como na vida adulta.³⁷ É regulamentada, sob condições fisiológicas e patológicas, por numerosos fatores pró-angiogênicos e antiangiogênicos “clássicos”. O FGF 1 e 2³⁸, o fator induzível por hipóxia 1 (HIF-1³⁹⁻⁴⁰ e o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1)⁴¹, por fim, induzem a expressão e secreção de VEGF, sendo considerados pró-angiogênicos, enquanto o PEDF é um fator antiangiogênico que tem sido usado em ensaios clínicos para o tratamento da DMRI⁴².

Na DMRI, o HIF-1 pode desempenhar papel fundamental, uma vez que a doença causa aumento do estresse oxidativo no EPR e nos fotorreceptores.⁴³ O aumento dos níveis de HIF-1, por sua vez, estimularia o aumento da expressão de VEGF. Juntos, esses dados fornecem evidências de que uma estratégia eficiente para limitar os danos na retina causados pelo crescimento anormal de novos vasos poderia incluir o uso de moléculas que têm o VEGF como alvo, para reduzir a expressão de VEGF e/ou a disponibilidade deste fator em receptores de VEGF.

Em geral, é provável que a hipóxia cause superestimulação catecolaminérgica que, por sua vez, altera as vias de sinalização associadas com β -AR.⁴⁴ Fontes de ligantes β -AR na retina podem derivar de terminais simpáticos na coroide, de fotorreceptores, células amácrinas ou células ganglionares, bem como células endoteliais vasculares da retina (Figura 12).

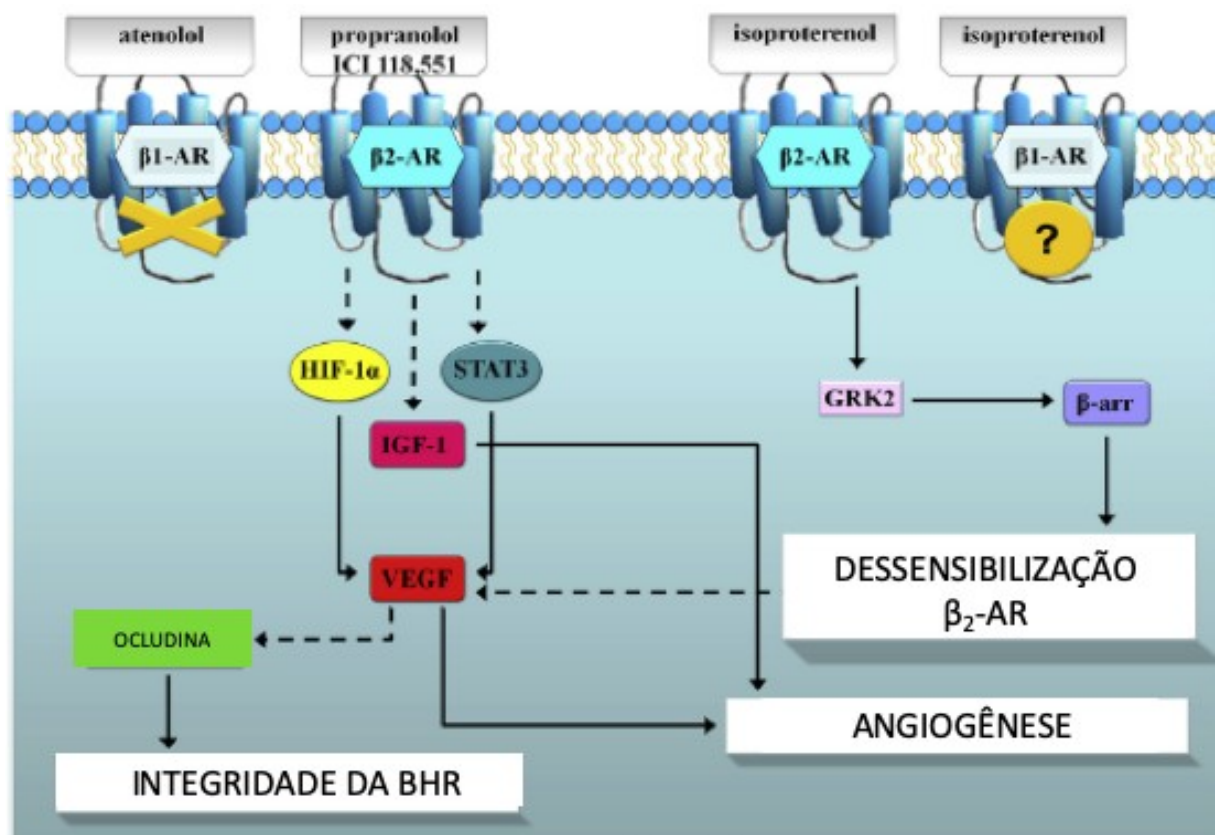
Figura 12 - Células que contêm receptores beta-adrenérgicos. A imagem representa vasos coroídeos, células de Müller, bipolares e amácrinas e endotélio dos vasos retinianos. O padrão de cores representa amarelo para β_1 -AR, verde para β_2 -AR e vermelho para β_3 -AR. Os três β -AR são expressos em células endoteliais da coroide, β_1 -AR e β_2 -AR em células gliais de Müller, β_2 -AR em células bipolares e amácrinas, e β_1 -AR e β_2 -AR em vasos retinianos



Fonte: Adaptado de Casini et al. (2014).³⁶

Para melhor definir o papel do sistema β -AR na resposta neovascular da retina em camundongos C57BL/6J, o envolvimento de β -AR de subtipos específicos foi testado, empregando bloqueadores somente para β_1 e outros exclusivos para β_2 . Administrações subcutâneas em camundongos OIR C57BL/6J do bloqueador específico de β_2 -AR diminuiu os níveis retinianos de fatores pró-angiogênicos⁴⁵, sugerindo que a ativação de β_2 -AR constitui uma parte importante da resposta da retina à hipóxia (Figura 13).

Figura 13 - Efeitos do bloqueio de β_1 ou β_2 -ARs com atenolol ou propranolol (esquerda), ou da ativação de β_1 ou β_2 -ARs com isoproterenol (direita) no tecido neovascular da retina. O bloqueio do β_2 -AR diminui a angiogênese, já β_1 -AR não influencia essa resposta. **β -arr**: beta-arrestins; **GRK2**: receptor de proteína G quinase 2; **HIF-1 α** : fator induzível por hipóxia-1 α ; **IGF-1**: fator de crescimento semelhante à insulina 1; **STAT3**: transdutor de sinal e ativador da transcrição 3, **BHR**: barreira hemato-retiniana. As linhas contínuas indicam efeitos de estimulação; as linhas tracejadas indicam inibição



Fonte: Adaptado de Casini et al. (2014).³⁶

Lavine et al.⁴⁶ demonstraram que o tratamento com propranolol intravítreo foi associado à redução na área de NVC em 50%, e que o bloqueio específico de β 2-AR diminuiu a expressão de VEGF em células endoteliais da coróide de camundongos e células EPR. Outro estudo adicional deste grupo⁴⁷ estendeu esses achados para células EPR fetais humanas em cultura.

Investigações retrospectivas em humanos mostraram que o tratamento com betabloqueadores orais está correlacionado com número reduzido de injeções de anti-VEGF em pacientes com DMRI exsudativa⁴⁸. Também estudo prospectivo de braço único em pacientes com fluido retiniano persistente, apesar da terapia anti-VEGF máxima, mostrou que o tratamento tópico com timolol-dorzolamida somado à terapia anti-VEGF foi associado à maior redução do fluido retiniano em comparação com quando esses pacientes recebiam apenas terapia anti-VEGF⁴⁹.

1.5 Justificativa do Estudo

A DMRI neovascular e a retinopatia diabética são as principais causas de deficiência visual. Na neovascularização sub-retiniana, novos vasos podem se originar do leito capilar profundo da retina e crescer através da camada de fotorreceptores no espaço sub-retiniano (proliferação angiomasiosa da retina), ou podem se originar de vasos coróides e se estender através da membrana de Bruch e do EPR (NVC). A neovascularização sub-retiniana, em qualquer uma das formas, é a marca registrada da DMRI neovascular e tem sérias consequências em relação à perda de visão⁵⁰.

A base do tratamento para DMRI exsudativa é a administração intravítrea de terapia com fator de crescimento endotelial antivascular (anti-VEGF).^{51,52} No entanto, existem vários desafios associados a esse tratamento. Primeiro, as IVTs em alguns pacientes precisam ser frequentes e por longos períodos. Em segundo lugar, o tratamento anti-VEGF pode estar associado a eventos tromboembólicos sistêmicos^{53,54} e eventos adversos locais, incluindo rompimentos do EPR⁵⁵ e da retina⁵⁵, descolamento da retina⁵⁶, elevação da pressão intraocular (PIO)⁵⁷ e endoftalmite⁵⁸. Em terceiro lugar, alguns pacientes demonstram resistência ou taquifilaxia à monoterapia anti-VEGF^{59,60}. Quarto, há uma preocupação considerável

com relação ao alto custo dos medicamentos anti-VEGF.⁶¹ Diante desses desafios associados à monoterapia anti-VEGF intravítrea, investigou-se o uso do propranolol como adjuvante ao BVZ, tanto como forma de aumentar a eficácia do tratamento contra a doença quanto para aumentar o espaçamento entre as doses dos agentes antiangiogênicos.

Em resumo, existem limitações e efeitos colaterais adversos inerentes às terapias que consistem em injeções intraoculares repetidas de drogas anti-VEGF. Portanto, terapias adicionais são necessárias para reduzir visitas e injeções, melhorar os resultados, prolongando a durabilidade do tratamento.

Observou-se que a hipóxia quase dobra os níveis de norepinefrina na retina⁶², o que corrobora os achados no cérebro de ratos.⁶³ Sugere que o aumento da transmissão simpática estimulando betareceptores da retina ativa as vias de sinalização que levam ao crescimento de novos vasos. Esta via seria inibida pelo bloqueio de β 2-receptores, conforme indicado na literatura.^{64,45}

Dado o impacto persistentemente grande da DMRI na saúde pública, apesar de muitos anos de terapia anti-VEGF como tratamento de primeira linha e os efeitos demonstrados pelos betabloqueadores, é importante investigar o efeito sinérgico entre um agente anti-VEGF e um betabloqueador intravítreo, na busca de alternativas terapêuticas que maximizem a eficácia e/ou reduzam os custos. Para esse fim, realizou-se um ensaio clínico de fase I para avaliar a segurança de uma IVT de 0,1 ml da combinação de BVZ (1,25 mg/0,05 ml) e propranolol (50 μ g/0,05 ml) para tratar pacientes com DMRI exsudativa.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Investigar a segurança ocular da IVT de cloridrato de propranolol em pacientes com DMRI exsudativa.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar, comparativamente, variações nas amplitudes das ondas a e b eletrorretinográficas, gravadas por meio de eletrodos DTL, seguindo os parâmetros recomendados pela *International Society for Clinical Electrophysiology of Vision* (ISCEV) da consulta inicial e 12 semanas após administração da combinação de BVZ e propranolol de forma mensal (três aplicações).
- Investigar, de forma comparativa, alterações da PIO na consulta inicial e subsequentes à administração IVT da combinação de BVZ e propranolol.
- Verificar, comparativamente, alterações da melhor acuidade visual corrigida (MAVC) no *baseline*, quatro, oito e doze semanas após administração IVT da combinação de BVZ e propranolol, de forma mensal.
- Observar, comparativamente, sinais inflamatórios do segmento anterior (escore de células e *flare*) e posterior (células na cavidade vítrea) na consulta inicial e subsequentes à administração IVT da combinação de BVZ e propranolol.
- Verificar, comparativamente, variações da espessura do subcampo central da retina, acessado por meio da OCT na consulta inicial e quatro semanas após administração IVT da combinação de BVZ e propranolol.

3. Casuística e Métodos

3.1 Desenho do estudo e considerações éticas

Foi realizado estudo prospectivo não randomizado e aberto, seguindo os princípios da Declaração de Helsinque. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) - Parecer número 3.999.989 (Anexo).

Todos os pacientes, que concordaram em participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice) após serem informados a respeito da pesquisa, de seus objetivos e das condições de sua realização.

3.2 Pacientes

Foram incluídos no estudo 13 olhos de 13 pacientes atendidos no serviço de Retina e Vítreo do HCFMRP-USP, entre maio de 2020 e fevereiro de 2021, com diagnóstico de DMRI, tipo exsudativa, com membrana neovascular, tendo 11 pacientes concluído o estudo. Todos participaram de forma livre, consentida, esclarecida e voluntária e preencheram os critérios de inclusão, respeitando os critérios de exclusão.

3.2.1 Critérios de inclusão

- a. Idade superior a 18 anos;
- b. Diagnóstico de de membrana neovascular sub-retiniana associada à DMRI neovascular
- c. Assinatura do TCLE
- d. Ausência de opacidade de meios, como por exemplo, catarata.
- e. Dilatação pupilar adequada
- f. Cooperação suficiente para realização dos exames complementares.

3.2.2 Critérios de exclusão

- a. Fibrose subfoveal extensa
- b. Qualquer condição clínica que prejudicasse a documentação do fundo de olho, ou o seguimento do paciente;
- c. Condições médicas e/ou psicológicas que impedissem o consentimento plenamente informado;
- d. Histórico de alergia ao cloridrato de propranolol ou BVZ;
- e. Histórico de alergia às medicações utilizadas para a IVT (colírio anestésico, e PVPI colírio);
- f. Histórico de alergia ao uso de corante fluoresceína endovenoso;
- g. Gestação, amamentação ou planos de gestação nos próximos 12 meses.

3.3 Métodos de avaliação

Todos os procedimentos realizados ocorreram após explicação detalhada, com linguagem acessível. Utilizou-se a menor iluminância e duração necessária para adequada avaliação nos procedimentos que envolviam a exposição a fontes luminosas não padronizadas. Os seguintes procedimentos estavam inclusos nesta situação: biomicroscopia de segmento anterior e de fundo, oftalmoscopia binocular indireta, retinografia e OCT. O estudo eletrofisiológico da retina foi realizado com diferentes níveis de iluminância, conforme recomendação da ISCEV.

MAVC: Melhor acuidade visual corrigida aferida por meio da tabela logMAR, segundo padronização recomendada pelo Early Treatment Diabetic Research Study (ETDRS). O mesmo examinador realizou a medida em todas as consultas, anteriormente à realização de qualquer procedimento do protocolo.

Biomicroscopia de segmento anterior e de fundo: foi realizada por meio de lâmpada de fenda (Topcon, Tóquio, Japão), analisando sistematicamente todo o segmento anterior incluindo: avaliação da transparência da córnea, presença/ausência de precipitado ceráticos, atrofia ou irregularidade iriana, opacidade do cristalino ou saco capsular, presença de *flare*, classificação do escore de células em câmara anterior e celularidade em vítreo anterior. Com o auxílio de

lente de 78 dioptrias (Volk Mentor, Ohio, USA) foi avaliada a presença/ausência de hemorragias, isquemia ou sinais de vasculite (embainhamento vascular) na retina.

O escore de células em câmara anterior foi avaliado utilizando-se iluminação em pincel (Campo de 1mm X 1mm) e graduando de 0 a 4+, no qual 0 correspondeu à ausência de células, 1+ a 1-5 células, 2+ a 6-15 células, 3+ a 16-30 células e 4+ a 30 ou mais células.

A presença de *flare* foi classificada de 0 a 4+, em que 0 correspondeu à ausência de efeito Tyndall, 1+ a efeito Tyndall pouco evidente, 2+ a moderado efeito Tyndall (possibilita adequada visualização da íris e cristalino), 3+ intenso efeito Tyndall (dificulta visualização de detalhes da íris e cristalino) e 4+ muito severo efeito Tyndall (impossibilita a identificação de estruturas intraoculares do segmento anterior).

PIO: medida por meio de tonômetro de aplanção de Goldman. Para realização do procedimento utilizou-se anestesia tópica com cloridrato de proximetacaína 0,5% (Anestalcon®, Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.) e colírio de fluoresceína sódica 1% (Fluoresceína®; Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.).

Oftalmoscopia binocular indireta: realizou-se exame com a lente de 20 dioptrias (Volk Mentor, Ohio, USA) e oftalmoscópio binocular indireto Eyetec (OBI-Eyetec - Eyetec Equipamentos Oftálmicos, Indústria, Comércio, Importação e Exportação Ltda., São Carlos, SP, Brasil) com o paciente em decúbito dorsal em ambiente na penumbra.

Retinografia: realizada com a câmera de fundo TRC-50DX (Topcon, Tóquio, Japão), com midríase farmacológica obtida após 30 minutos da instilação em fundo de saco conjuntival de uma gota de tropicamida colírio 10 mg/ml (Mydriacyl® Solução; Novartis Biociências S.A) e uma gota de cloridrato de fenilefrina 10% (Fenilefrina®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.). As imagens digitais foram avaliadas com o *software* Topcon IMAGEnet.

Angiofluoresceinografia: utilizado o oftalmoscópio de varredura a laser confocal Spectralis® HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha), com midríase farmacológica obtida após 30 minutos da instilação em fundo de saco conjuntival de uma gota de tropicamida colírio 10 mg/ml (Mydriacyl® Solução; Novartis Biociências S.A) e uma gota de cloridrato de fenilefrina 10% (Fenilefrina®,

Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.). Utilizou-se fluoresceína 20% diluída em infusão em cateter venoso puncionado em veia cubital. Após injeção do contraste, foram obtidas imagens até cinco minutos do exame, de polo posterior e nove campos.

OCT: Foram obtidas OCTs de domínio espectral por meio do Spectralis® HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha), com midríase farmacológica obtida após 30 minutos da instilação em fundo de saco conjuntival de uma gota de tropicamida colírio 10 mg/ml (Mydracyl® Solução; Novartis Biociências S.A) e uma gota de cloridrato de fenilefrina 10% (Fenilefrina®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.). As imagens foram capturadas pelo mesmo examinador treinado com auxílio da função *TruTrack™ Active Eye Tracking*, que permitiu que os exames de seguimento fossem realizados na mesma região daqueles da visita inicial.

Procedeu-se a captura das imagens com o objetivo de avaliar a espessura retiniana no subcampo central (1 mm central da grade padrão definida pelo ETDRS), utilizando-se um protocolo de rastreamento macular padrão, centrado na fóvea, que abrangeu uma área de 20° x 15° do campo visual, constituído por 19 seções horizontais distando 240 µm entre cada uma. A centralização foveal foi confirmada pelo examinador durante a realização do exame, e quando necessário, procedeu-se ajuste manual da área examinada.

Eletrorretinografia: Os protocolos utilizados para estimulação luminosa, aquisição e tratamento do sinal elétrico e reporte dos resultados seguiu a padronização sugerida pela ISCEV⁶⁵. O aparelho utilizado foi o Espion-E3 (Dyagnosis LLC, Massachussetts, EUA) acoplado no gerador de estímulo luminoso ColorDome (Dyagnosis LLC, Massachussetts, EUA) com um estimulador de LED do tipo Ganzfeld (Figura 14). No exame foram usados eletrodos Dawson, Trick, and Litzkow (DTL) (Figura 15). Seguindo o protocolo da ISCEV, foram feitos os registros: Dark adaptaded (DA) 0,01 ERG, DA 3.0 ERG (acrescido de potenciais oscilatórios), DA 10.0 ERG; Light Adaptaded (LA) 30 Hz ERG e LA 3.0 ERG.

Figura 14 - Estimulador de LED do tipo Ganzfeld (cúpula de campo total)



Fonte: Adaptado de Creel (2015)⁶⁶

Figura 15 - Fotografia demonstrando colocação do eletrodo DTL na córnea ao longo da pálpebra inferior



Fonte: Adaptado de Ferreira (2020).³

O registro foi realizado sob midríase farmacológica obtida após 30 minutos da instilação em fundo de saco conjuntival de uma gota de tropicamida colírio 10 mg/ml (Mydriacyl® Solução; Novartis Biociências S.A) e uma gota de cloridrato de fenilefrina 10% (Fenilefrina®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.). Os pacientes foram mantidos em uma sala escura por, no mínimo, 30 minutos. Na sequência, com auxílio de luz vermelha, realizou-se limpeza e remoção do excesso de gordura da superfície cutânea e fixação dos eletrodos em contato com o globo ocular e do eletrodo de referência (terra) em região de frente.

O estudo eletrofisiológico da retina consistiu na gravação das repostas em duas condições distintas da função visual. A primeira condição foi adaptada ao escuro ou fase escotópica. Nesta condição foram gravadas as repostas com *flash* de intensidade crescente (de 0,001 até 0,1 cd.s/m²) do protocolo estendido incluindo a reposta dos bastonetes (*ROD-response*) (0,01 cd.s/m²), reposta máxima escotópica (3 cd.s/m²) e de alta intensidade (10 cd.s/m²). Os potenciais oscilatórios foram analisados a partir da resposta máxima escotópica, após filtro de frequência *off-line* (próprio do aparelho Espion) com ponto de corte inferior de 75 e superior de 100 Hz. A segunda condição foi adaptada ao claro ou fase fotópica. A adaptação a luz foi realizada durante 10 minutos com exposição da retina à luminância de 30 cd/m² na mesma cúpula de campo total (ColorDome, do tipo Ganzfield), acesa com luz branca (6500K). As respostas de cone simples (3 cd.s/m²; com fundo de 30 cd.s/m²) e a de 30 Hz (3 cd.s/m² a 30 Hz; com fundo de 30 cd.s/m²) foram registradas.

3.4 Injeção intravítrea de associação de bevacizumabe e propranolol

As IVT deste protocolo foram realizadas por JESTN, em condições estéreis e ambiente cirúrgico. Após a avaliação inicial, confirmação da lateralidade e da assinatura do TCLE institucional específico para IVT, explicação sobre o procedimento e anuência verbal, foi realizada a dilatação pupilar farmacológica com instilação em fundo de saco conjuntival de uma gota de tropicamida colírio 10 mg/ml (Mydriacyl® Solução; Novartis Biociências S.A) e uma gota de cloridrato de fenilefrina 10% (Fenilefrina®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.). Dois minutos após, foi instilado em fundo de saco conjuntival, uma gota de colírio de iodopovidona

(PVPI) a 5%. Após o posicionamento do paciente (decúbito dorsal) e segunda confirmação da lateralidade do procedimento, era realizada a anestesia tópica com instilação de cloridrato de proximetacaína 0,5% (Anestalcon®, Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.). Antes da injeção, a antisepsia das pálpebras era realizada com solução tópica de PVPI a 10%. Posicionou-se o campo fenestrado e blefarostato estéreis e foi instilada gota de colírio de PVPI a 5% diretamente sobre a conjuntiva, no local destinado para essa IVT. O BVZ (1,25mg/0,05ml) (Avastin®; Genentech, South San Francisco, Califórnia, EUA, osmolaridade 342mOsm/kg) e propranolol (50µg/0,05ml) (Propranolol 1 mg/ml; farmácia de manipulação Citopharma, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, osmolalidade 12 mOsm/kg) foram administrados em combinação através da *pars plana*. O BVZ (0,05 ml) foi aspirado de seu frasco comercial de 100 mg e o propranolol (0,05 ml) de um frasco de 1 ml de farmácia de manipulação. Ambas as drogas foram adicionadas a uma seringa descartável BD Ultra-Fine™ 29G ½ polegada (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, EUA) e administradas em combinação pela mesma seringa descartável através da *pars plana*, sob anestesia tópica, 3 mm posterior ao limbo em pacientes pseudofácicos e 3,5 mm posterior ao limbo em pacientes fácicos. A menos que houvesse contraindicação médica, os pacientes foram tratados com uma dose oral de 250 mg de acetazolamida 30 minutos antes da injeção. Após a injeção, a perfusão do nervo óptico foi confirmada por oftalmoscopia indireta. A paracentese da câmara anterior foi realizada se a oftalmoscopia indicasse comprometimento do disco óptico ou perfusão retiniana. Os pacientes foram orientados a usar moxifloxacino tópico 0,5% (Vigamox®; Alcon, Inc., Irvine, Califórnia, EUA), uma gota a cada 6 horas, no olho do estudo, começando três dias antes da injeção e continuando por uma semana após.

3.5 Parâmetros de segurança avaliados

Os principais parâmetros de segurança avaliados ao longo das quatro semanas de seguimento foram:

- Mudanças no estudo eletrofisiológico da retina - ERG de campo total (ffERG).
- Mudança da PIO.
- Mudança da MAVC.
- Sinais clínicos de inflamação intraocular.
 - Score de células em câmara anterior.
 - Presença de *flare*.
 - Celularidade em cavidade vítrea.
 - Opacidade ou edema corneano.
 - Presença de precipitados ceráticos.
 - Atrofia e irregularidades da íris.
 - Opacidade do cristalino ou saco capsular.
 - Hemorragias na retina.
 - Isquemia na retina.
 - Vasculite retiniana.
- Mudanças na CST (espessura do subcampo central), medida à OCT.

3.6 Avaliação basal e visitas de seguimento

Na avaliação basal, os pacientes elegíveis foram convidados para participarem do protocolo de pesquisa. Após serem informados a respeito da pesquisa, seus objetivos, das condições de sua realização e terem eventuais dúvidas esclarecidas, assinaram o TLCE de forma livre, consentida, esclarecida e voluntária.

A avaliação inicial consistiu dos seguintes procedimentos, realizados nesta sequência: medida a MAVC; dilatação pupilar farmacológica com instilação em fundo de saco conjuntival de uma gota de tropicamida colírio 10 mg/ml (Mydracyl® Solução; Novartis Biociências S.A) e uma gota de cloridrato de fenilefrina 10% (Fenilefrina®, Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.); estudo eletrofisiológico da

retina; anestesia tópica com cloridrato de proximetacaína 0,5% (Anestalcon®, Alcon Laboratórios do Brasil Ltda.) e colírio de fluoresceína sódica 1% (Fluoresceína®; Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda.), seguida da medida da PIO com tonômetro de Goldmann; biomicroscopia de segmento anterior e de fundo de olho com lente de 78 dioptrias; exame de fundo de olho indireto com lente de 20 dioptrias; retinografia colorida; autofluorescência e OCT.

As visitas de seguimento foram semanais, por quatro semanas. Cada avaliação consistiu dos mesmos procedimentos, na mesma sequência da avaliação inicial, exceto pelo estudo eletrofisiológico da retina. O estudo eletrofisiológico da retina foi repetido na quarta semana de seguimento após a intervenção. Após o término do estudo foi oferecido a todos os pacientes continuarem o seguimento no Ambulatório de Retina e Vítreo do HCFMRP-USP, seguindo o protocolo padrão de assistência do ambulatório.

3.7 Métodos estatísticos

Os dados foram descritos como média \pm erro padrão (SE). Dados contínuos (CST, MAVC, PIO), medidos em cada visita de acompanhamento, foram comparados usando a Análise Múltipla de Variância (MANOVA) para medições repetidas. As amplitudes do ERG e os tempos implícitos medidos na visita inicial e na visita final de 12 semanas foram comparados aplicando o teste T pareado. Foi adotado nível de significância quando $p < 0,05$. O *software* utilizado foi JMP - 16.2 (SAS Institute Inc.)

4. Resultados

Treze olhos de 13 pacientes foram incluídos no estudo e o acompanhamento de dois pacientes foi perdido por não comparecerem em duas consultas consecutivas devido a preocupações pessoais durante a pandemia de COVID-19. Sete (63,6%) eram homens com idade média de $73,54 \pm 7,57$ anos. As características demográficas da amostra estão resumidas na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados demográficos dos pacientes

Paciente	Informação	Medida Inicial	Medida Final	Sexo / Idade / Olho
1	CST (μm)	485	293	M / 65 / D
	MAVC (logMAR)	20/80	20/20	
	PIO (mmHg)	14	14	
2	CST	358	346	M / 64 / E
	MAVC	20/60	20/30	
	PIO	16	12	
3	CST	463	321	F / 80 / D
	MAVC	20/60	20/40	
	PIO	12	12	
4	CST	406	334	M / 72 / D
	MAVC	20/400	20/160	
	PIO	12	12	
5	CST	342	291	M / 82 / E
	MAVC	20/70	20/50	
	PIO	14	12	
6	CST	613	409	F / 74 / E
	MAVC	20/400	20/160	
	PIO	12	16	
7	CST	389	257	M / 75 / D
	MAVC	20/100	20/60	
	PIO	16	16	

continua

conclusão

Paciente	Informação	Medida Inicial	Medida Final	Sexo / Idade / Olho
8	CST	337	286	F / 86 / E
	MAVC	20/100	20/80	
	PIO	16	16	
9	CST	528	407	M / 76 / E
	MAVC	20/320	20/250	
	PIO	18	16	
10	CST	364	324	F / 61 / E
	MAVC	20/100	20/70	
	PIO	16	16	
11	CST	783	543	M / 72 / E
	MAVC	20/70	20/30	
	PIO	14	16	

CST= espessura do subcampo central medida pela tomografia de coerência óptica. **MAVC**= melhor acuidade visual corrigida. **PIO**= pressão intraocular. **F**= feminino. **M**= masculino. **OD**: olho direito e **OE**: olho esquerdo.

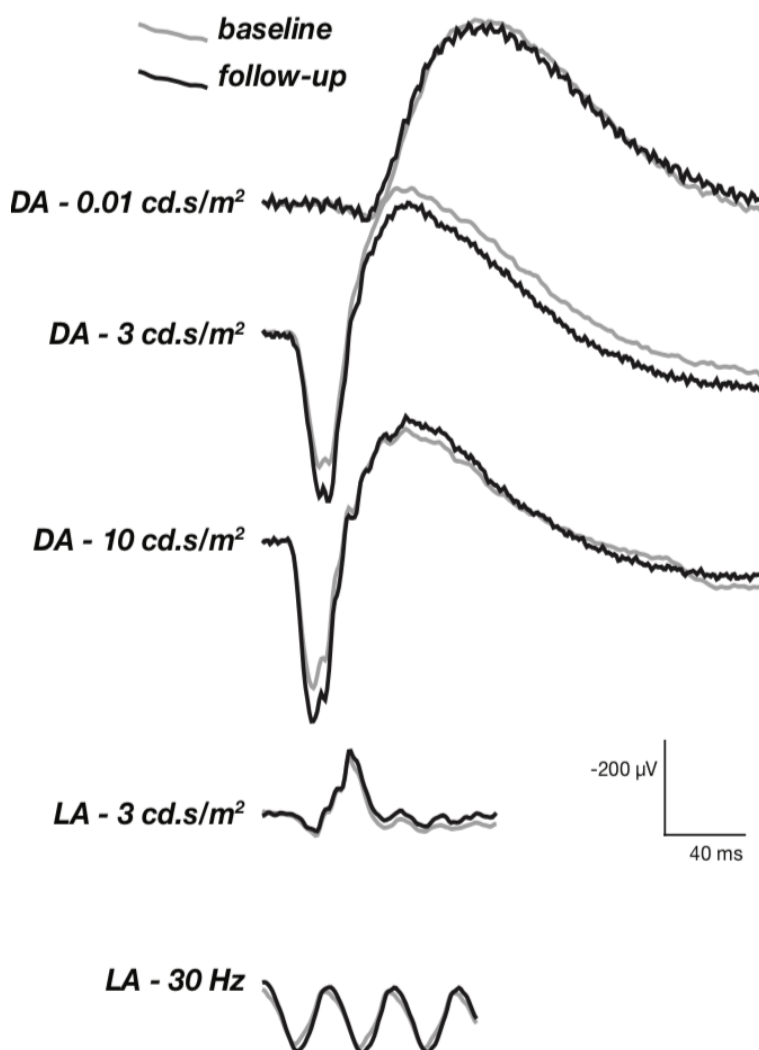
4.1 Eletroretinografia de Campo Total (ffERG)

Não houve diferença significativa nas amplitudes das ondas a e b e nos tempos implícitos para as respostas de bastonetes, respostas combinadas e potenciais oscilatórios adaptados ao escuro; e para as respostas de cone e *flicker* 30 Hz adaptadas à luz, medidas na visita inicial em comparação com a visita final (após 12 semanas) ($p < 0,05$) (Tabela 2 e Figura 16).

Tabela 2 - Estímulos ERG. DA - 0,01. Adaptado ao escuro 0,01 ERG (avaliação das células bipolares ON dependentes dos bastonetes, sendo previamente chamado de resposta de bastonetes ou *rod b-wave*). DA - 3,0. Adaptado ao escuro 3 ERG (respostas combinadas de fotorreceptores e células bipolares de sistemas de bastonetes e cones; bastonetes predominam). Potenciais oscilatórios adaptados ao escuro - área sob curva (principalmente advindos de células amácrinas). DA - 10,0. Adaptado ao escuro 10 ERG (resposta combinada com ondas a aumentadas, refletindo função de fotorreceptor). LA - 30 Hz. Adaptado à luz 30 Hz *flicker* ERG (resposta orientada por caminho de cone). LA - 3,0. Adaptado à luz 3 ERG (ondas a advindas de cone e células bipolares OFF; as ondas b têm origem nas células bipolares ON e OFF do sistema de cones)

Estímulo ERG	Informação	Medida Inicial	Medida Final	P (Teste T Pareado)
DA - 0.01	Amplitude de onda B (μV)	195,6 \pm 37,0	214,6 \pm 28,9	0,5313
	Tempo implícito de onda B (ms)	101,1 \pm 3,7	102,1 \pm 3,6	0,8158
DA - 3.0	Tempo implícito de onda A (ms)	23,2 \pm 0,8	23,1 \pm 0,8	0,9052
	Amplitude de onda A (μV)	148,3 \pm 23,2	193,2 \pm 23,7	0,1840
	Tempo implícito de onda B (ms)	65,3 \pm 7,0	56,5 \pm 1,4	0,2549
	Amplitude de onda B (μV)	371,6 \pm 44,2	425,9 \pm 36,5	0,1840
	Area sob curva - Potenciais Oscilatórios ($\mu\text{V}\cdot\text{ms}$)	483,9 \pm 49,7	523,2 \pm 117,5	0,5243
	Tempo implícito de onda A (ms)	17,7 \pm 1,0	18,0 \pm 0,9	0,7324
DA - 10.0	Amplitude de onda A (μV)	199,8 \pm 27,8	233,9 \pm 24,0	0,1511
	Tempo implícito de onda B (ms)	57,1 \pm 1,8	60,5 \pm 2,3	0,2353
	Amplitude de onda B (μV)	377,9 \pm 47,4	457,3 \pm 34,2	0,0667
	Latência (ms)	39,6 \pm 6,9	47,3 \pm 6,9	0,2107
LA - 30 Hz	Amplitude (μV)	89,2 \pm 11,5	91,6 \pm 9,1	0,7740
	Tempo implícito de onda A (ms)	17,4 \pm 0,3	18,0 \pm 0,4	0,1107
LA - 3.0	Amplitude de onda A (μV)	27,1 \pm 3,7	28,8 \pm 1,5	0,6047
	Tempo implícito de onda B (ms)	34,0 \pm 0,5	34,4 \pm 0,6	0,3966
	Amplitude de onda B (μV)	107,6 \pm 15,6	111,5 \pm 9,1	0,6936

Figura 16 - Medidas do ERG de campo total na visita inicial e após 12 semanas de acompanhamento não mostraram diferença significativa entre antes e depois do tratamento. DA - 0,01. Adaptado ao escuro 0,01 cd.s/m² ERG. DA - 3,0. Adaptado ao escuro 3 cd.s/m² ERG DA - 10,0. Adaptado ao escuro 10 cd.s/m² ERG. LA - 3,0. Adaptado à luz 3 cd.s/m² ERG. LA - 30 Hz. Adaptado à luz 30 Hz flicker ERG

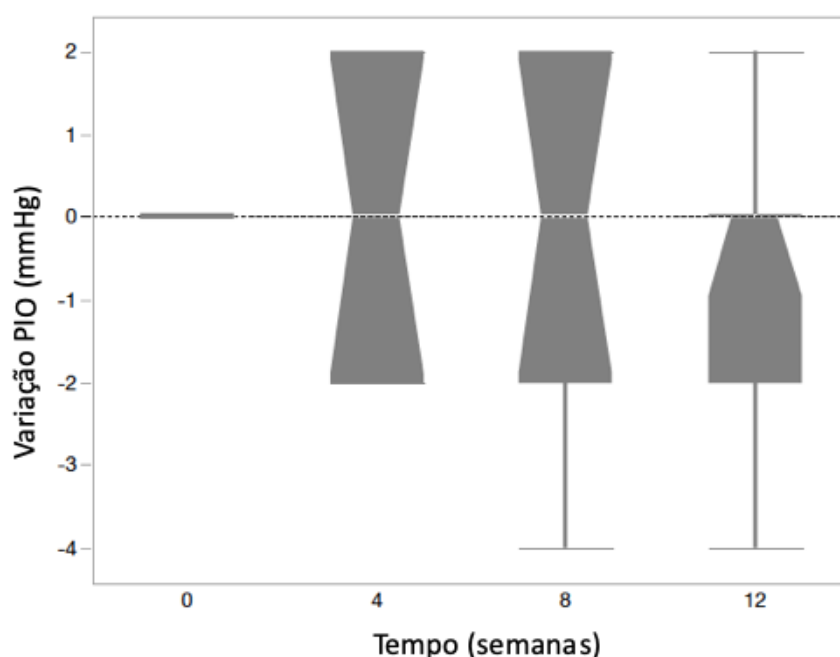


4.2 Pressão Intraocular (PIO)

A PIO média \pm SE (mmHg) foi de $14,5 \pm 0,6$ no início do estudo; $14,3 \text{ mmHg} \pm 0,7$ na semana 4 ($p=0,99$); $13,8 \text{ mmHg} \pm 0,5$ na semana 8 ($p=0,64$); e $14,3 \text{ mmHg} \pm 0,5$ na semana 12 ($p=0,64$). Não houve mudança significativa na PIO média ao longo do período de estudo e nenhum dos pacientes necessitou de colírio ou qualquer procedimento cirúrgico antiglaucomatoso para redução da PIO (Figura 17). A

paracentese da câmara anterior foi realizada em dois dos 11 pacientes em que a pulsação da artéria central da retina foi identificada sob oftalmoscopia indireta feita imediatamente após a IVT.

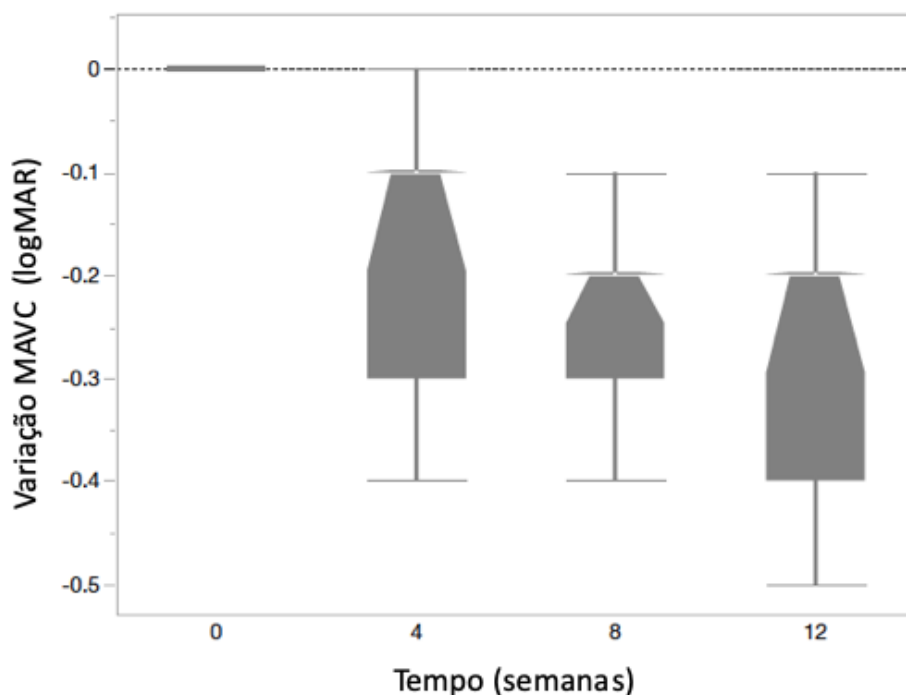
Figura 17 - Alterações da PIO (mmHg) desde o início (0) e nas semanas 4, 8 e 12. Não houve alteração significativa na PIO média durante o período de estudo



4.3 Melhor acuidade visual corrigida (MAVC)

Na visita basal, a média \pm SE logMAR da MAVC foi de $0,79 \pm 0,09$, com melhora significativa, em comparação com a linha de base em todas as visitas de acompanhamento: média \pm SE logMAR da MAVC foi de $0,61 \pm 0,10$ na semana 4; $0,53 \pm 0,10$ na semana 8; e $0,51 \pm 0,09$ na semana 12. A média (\pm SE) logMAR da MAVC melhorou em $0,173 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), $0,254 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$) e $0,272 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), em comparação com a linha de base em quatro, oito e doze semanas, respectivamente (Figura 18).

Figura 18 - Mudanças LogMAR MAVC nas semanas 4, 8 e 12. A média (\pm SE) logMAR melhorou em $0,173 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), $0,254 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$) e $0,272 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), em comparação com a linha de base em quatro, oito e doze semanas, respectivamente



4.4 Espessura do subcampo central (CST)

Na visita basal, a média \pm SE da CST (μm) foi de 462 ± 45 , com redução significativa em comparação com a linha de base em todas as visitas de acompanhamento: média \pm SE CST foi de 385 ± 37 na semana 4; 356 ± 29 na semana 8 e 341 ± 24 na semana 12. A média (\pm SE) da CST diminuiu em relação à linha de base em $77,64 \pm 20,65$ ($p = 0,0039$), $106,54 \pm 20,65$ ($p < 0,0001$) e $121,73 \pm 20,65$ ($p < 0,0001$) em quatro, oito e doze semanas, respectivamente (Figuras 19 a 22).

Figura 19 - Alterações da CST (μm) nas semanas 4, 8 e 12. A média (\pm SE) diminuiu desde a linha de base em $77,64 \pm 20,65$ ($p=0,0039$), $106,54 \pm 20,65$ ($p<0,0001$) e $121,73 \pm 20,65$ ($p<0,0001$), em quatro, oito e doze semanas, respectivamente

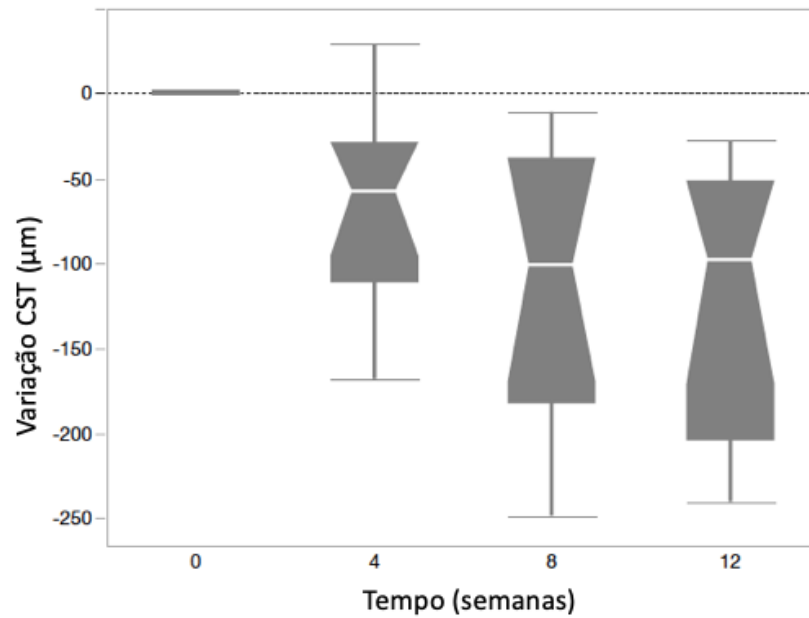
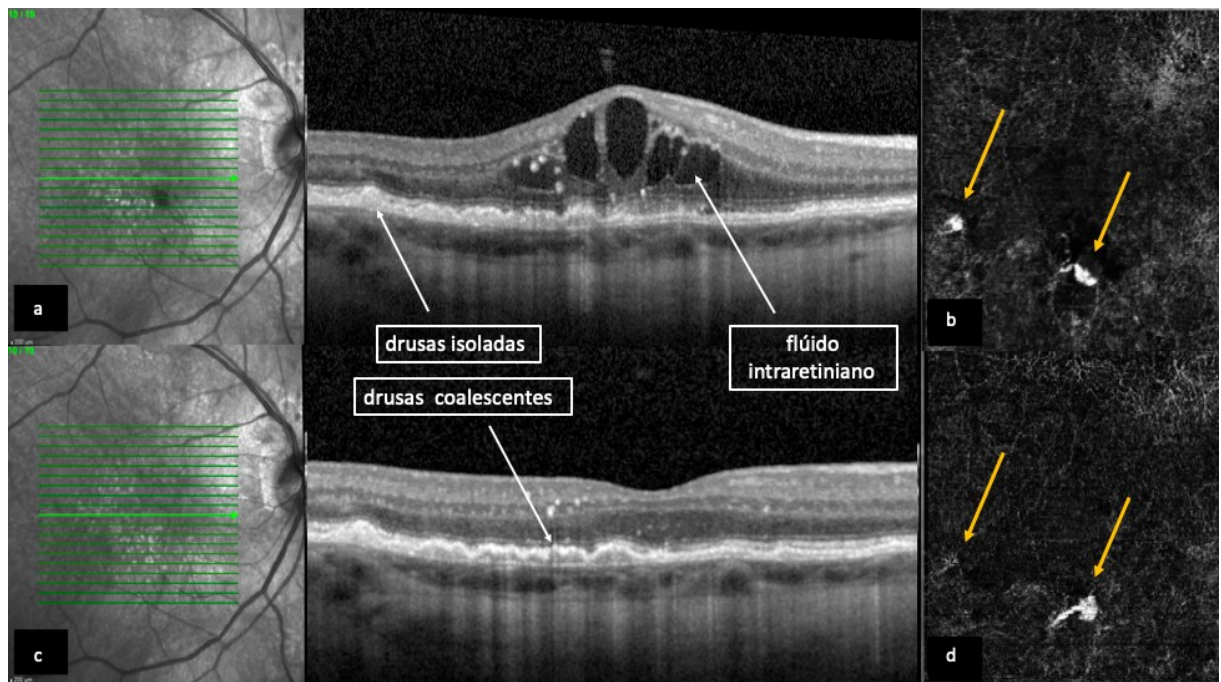
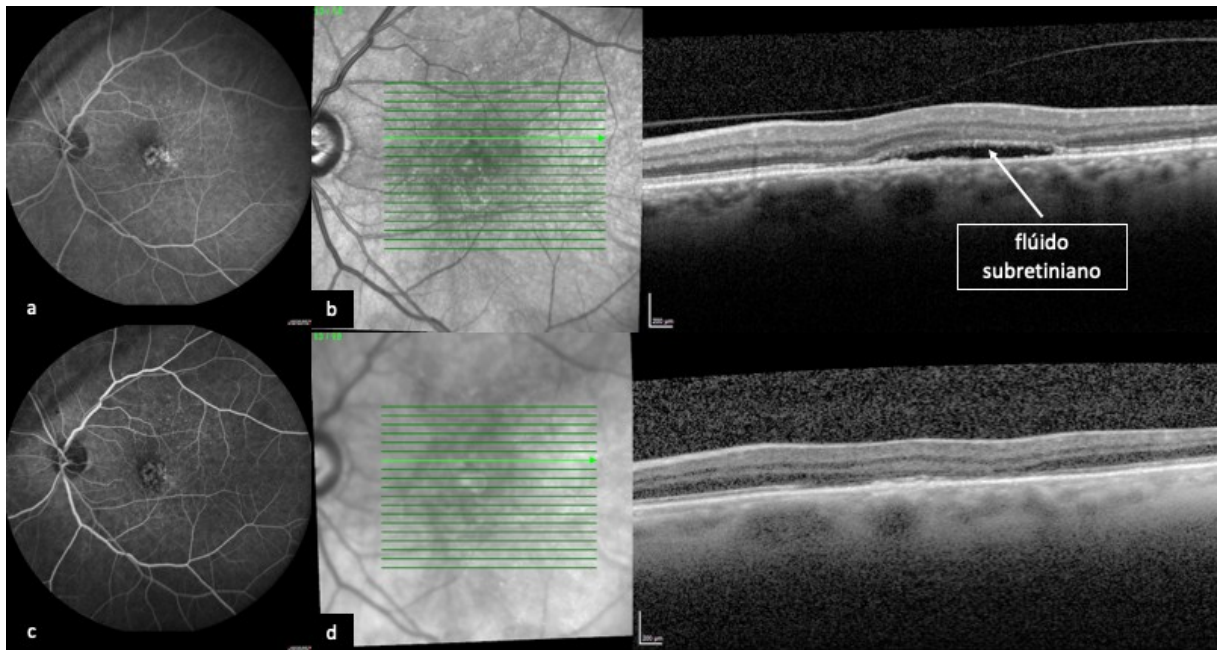


Figura 20 - Paciente 1 - Imagens de domínio espectral OCT B-scan e angiografia C-scan do paciente número 1. **(a)** B-scan OCT na linha de base mostrando drusas isoladas e coalescentes, material hiper-reflexivo sub-retiniano juncional e fluido intrarretiniano. **(b)** Imagem OCT-A mostrando dois pontos hiper-refletivos (setas amarelas) no corte do complexo avascular, sugestivos de locais ou focos de neovascularização coroidal. **(c)** B-scan OCT na visita de acompanhamento de 12 semanas mostrando regressão do fluido intrarretiniano e algum material hiper-reflexivo juncional sub-retiniano. **(d)** Imagem OCT-A mostrando discreta redução da hiper-refletividade na NVC temporal inferior, enquanto houve manutenção do fluxo no foco inferior da NVC



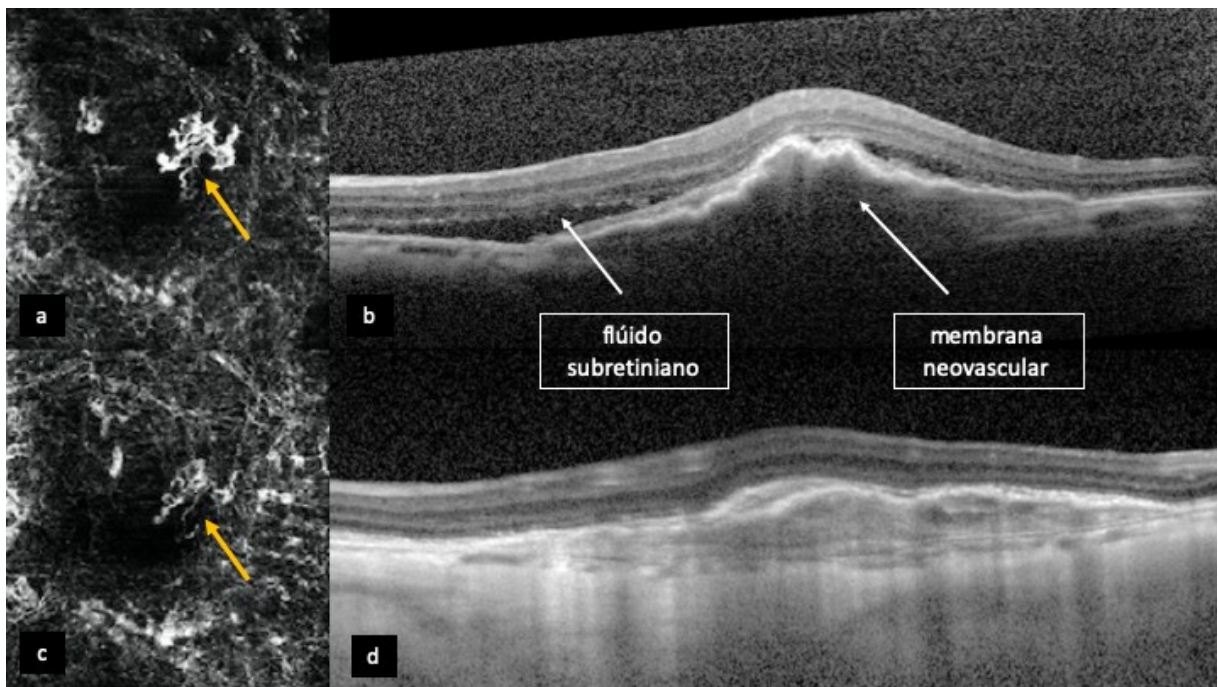
Fonte: Imagens obtidas do arquivo pessoal do autor.

Figura 21 - Paciente 2 - Imagens de angiografia fluoresceínica e OCT domínio spectral B-scan de paciente com DMRI exsudativa. **(a)** Imagem de angiofluoresceinografia inicial mostrando pontos de hiperfluorescência, principalmente justafoveal temporal. **(b)** B-scan OCT da linha de base mostrando fluido subretiniano, indicado em seta branca. **(c)** Imagem de angiofluoresceinografia em visita final de 12 semanas, com diminuição dos pontos hiperfluorescentes, principalmente justafoveal temporal. **(d)** B-scan OCT na visita final de acompanhamento de 12 semanas mostrando regressão do fluido sub-retiniano



Fonte: Imagens obtidas do arquivo pessoal do autor.

Figura 22 - Paciente 6 - Imagens de angiografia C-scan e de OCT B-scan. **(a)** Imagem OCT-A da região do complexo avascular mostrando hiper-refletividade na forma de rede capilar (região de fluxo vascular; seta amarela), sugestiva de neovascularização coroidal. **(b)** B-scan OCT mostrando fluido intrarretiniano e região sugestiva de membrana neovascular (setas brancas). **(c)** Imagem OCT-A mostrando atenuação da hiper-refletividade na região de fluxo vascular localizada no complexo avascular (seta amarela). **(d)** B-scan OCT na visita final de acompanhamento de 12 semanas mostrando regressão do fluido subretiniano e algum material hiper-reflexivo juncional sub-retiniano.



Fonte: Imagens obtidas do arquivo pessoal do autor.

4.5 Outros eventos adversos

Durante o período de acompanhamento de 12 semanas, nenhum dos olhos apresentou inflamação intraocular, endoftalmite ou aumento da opacidade do cristalino.

5. Discussão

Até onde se sabe, e com base em uma pesquisa computadorizada do banco de dados *Medline*, o presente estudo é o primeiro a avaliar a segurança *in vivo* da combinação intravítrea de BVZ e propranolol para tratar doença neovascular ocular. A doença selecionada para estudo foi a DMRI exsudativa devido a sua prevalência e seu impacto na saúde pública mundial. Devido à fisiopatologia neovascular desta doença, levantou-se a hipótese de que o uso combinado de duas drogas com propriedades anti-VEGF conhecidas poderiam ter efeitos sinérgicos e, se seguro, a adição do medicamento propranolol, de baixo custo, poderia reduzir a necessidade de retratamentos frequentes com dispendiosos tratamentos intravítreos de agentes anti-VEGF. Este estudo de fase I avaliou a segurança da terapia combinada.

A dosagem de propranolol de 50 µg foi selecionada com base no estudo de Karimi et al.³⁴, que trataram um paciente com hemangioma capilar da retina com IVTs de propranolol usando esta dose. Em seu estudo, como no presente, não houve mudanças significativas nas amplitudes das ondas ERG após o tratamento. Um estudo anterior também utilizou injeções de propranolol em modelo animal (coelhos).⁶⁷ Além disso, alguns autores utilizaram outro betabloqueador, o metoprolol, por via intravítrea e não evidenciaram toxicidade retiniana em coelhos⁶⁹ e humanos⁶⁹⁻⁷¹ para manejo de hemangioma de coroide e coriorretinopatia serosa central crônica.

O BVZ e o propranolol já foram utilizados separadamente em forma de soluções na mesma dosagem empregada neste estudo^{34,72}. Em relação a possível interação negativa entre drogas, há um relato prévio de efeitos sinérgicos de propranolol e BVZ, *in vitro*, para inibir o crescimento de células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) e fibroblastos humanos normais (BJs)⁷³.

Além da ausência de alterações no ERG identificadas no presente estudo, não foram observadas células da câmara anterior, aumento da PIO ou *flare* após o uso da combinação de BVZ e propranolol. Estes achados são consistentes com os de outros estudos nos quais os betabloqueadores intravítreos foram avaliados^{34,69-71}.

Embora tenha sido feita extensa busca na literatura, não foi encontrado nenhum estudo que tenha usado combinação de antiangiogênico e betabloqueador para quaisquer doenças; que por um lado mostra o pioneirismo deste estudo, e por outro não foi possível fazer comparações entre estudos, mesmo que tivessem

utilizado diferentes combinações entre os antiangiogênicos mais difundidos (BVZ, RBZ e AFB) e os betabloqueadores já utilizados de forma intravítrea (propranolol e metoprolol).

Eletrorretinografia de campo total (ffERG) e eletrorretinografia multifocal (mfERG) são exames eletrofisiológicos que refletem objetivamente a função retiniana. Ao estimular a retina com *flashes* de diferentes intensidades produzidas por um estimulador de Ganzfeld sob condições padrão, as respostas do ffERG refletem a função global dos fotorreceptores de toda a retina. O uso de ffERG na detecção de alterações na função retiniana em pacientes com DMRI é controverso porque a mácula responde apenas pela menor parte da resposta geral do ffERG, todavia este se faz um excelente indicador para excluir toxicidade retiniana em estudos clínicos fase I⁷⁴, sendo, portanto, o exame utilizado no presente estudo.

Pedersen et al.⁷⁵ realizaram mfERG e ffERG, medida de CST e MAVC em estudo prospectivo de 26 olhos com DMRI exsudativa, virgens de tratamento (assim como a totalidade dos pacientes deste estudo). O acompanhamento foi realizado em uma, seis, doze e vinte e quatro semanas, diferente do presente estudo, em que foram obtidas medidas em quatro, oito e doze semanas. A avaliação de zero e doze semanas, por constarem em ambos os estudos, servirá como comparação. O tratamento intravítreo utilizado foram injeções com 1,25 mg de BVZ.

Como dito acima, para o mfER não se faz possível tecer comparações. Já no ffERG, os resultados mostraram diminuição na função do fotorreceptor do cone em três meses, que foi normalizado em seis meses em comparação com a linha de base. Além disso, duas de três das respostas combinadas de bastonetes e cones mostraram sinais de diminuição da função retiniana aos seis meses. Tais achados são diferentes dos da presente amostra, em que se analisaram até 12 semanas (três meses), sem mudanças significativas entre os ERGs iniciais e finais.

Skaat et al.⁷⁶ também utilizaram ffERG em pacientes com DMRI exsudativa submetidos a uma IVT de BVZ, sendo avaliados no *baseline* e após quatro semanas da IVT. Diferenças médias pré e pós-injeção nas amplitudes da onda a nos olhos injetados foram significativamente maiores do que em controles (15,92 μ V versus 1,33 μ V para respostas escotópicas e 4,97 μ V versus 1,06 μ V para respostas fotópicas; p=0,057 e p=0,01, respectivamente). As amplitudes médias da onda b nos

olhos injetados foram significativamente maiores do que nos controles para respostas fotópicas ($p=0,048$), mas para respostas escotópicas, a diferença entre olhos tratados e não tratados não foi significativa ($p=0,23$). Nos olhos tratados, na resposta fotópica, as amplitudes médias de resposta medidas um mês após o tratamento (63 ± 8 , $95 \pm 11 \mu\text{V}$) foram ligeiramente maiores do que seus valores médios de pré-tratamento (59 ± 7 , $89 \pm 11 \mu\text{V}$), respectivamente. Já na resposta escotópica, as amplitudes médias de onda b medidas um mês após o tratamento (135 ± 11 , 309 ± 25 , 391 ± 28 , $417 \pm 30 \mu\text{V}$) foram semelhantes aos seus valores médios de pré-tratamento correspondentes (125 ± 17 , 298 ± 27 , $370 \pm 27 \mu\text{V}$). Os autores apontaram como conclusão que o BVZ intravítreo melhora a função, tanto do bastonete quanto do cone em pacientes com DMRI neovascular, como demonstrado pelo aumento nas respostas da onda a do ERG desses pacientes.

Tais achados divergem dos do presente estudo, em que se analisaram até 12 semanas (três meses), sem mudanças significativas entre os ERGs iniciais e finais. Skaat et al.⁷⁶ realizaram as medidas finais com quatro semanas, enquanto que neste estudo, o ERG final foi realizado com 12 semanas, o que limita a comparação. Os autores concluíram que a injeção utilizada não produziu nenhuma toxicidade fotorreceptora significativa, assim como foi constatado neste estudo.

Outro estudo que utilizou o ffERG em pacientes com DMRI exsudativa que fizeram uso de BVZ foi o de Narisepour et al.⁷⁷, comparando *baseline*, quatro e doze semanas após a injeção. Os pacientes foram divididos em dois grupos, um grupo utilizando 1,25 mg e outro 2,5 mg da medicação. No ffERG foram feitos ERG escotópico adaptado ao escuro, após tempo mínimo de 30 minutos, incluindo bastonete isoladamente, resposta de *flash* padrão (máxima), potenciais oscilatórios e respostas adaptadas à luz, com único *flash* branco e *flicker* de 30 Hz. *Flash* ERGs (1-300 Hz) e *flicker* de 30 Hz (1-300 Hz) foram obtidos em resposta a *flashes* de luminância fotópica de 3,5 cd/m² contra uma luz de fundo de 25 cd/m². Os autores observaram os mesmos resultados encontrados no presente estudo, em que não houve diferença estatisticamente significativa entre o *baseline* e a medição pós-injeção em termos de ERG de campo total, tanto fotópicas como escotópicas.

Iwata et al.⁷⁸ e Park et al.⁷⁹ realizaram estudos semelhantes a este estudo, todavia utilizando monoterapia com BVZ em pacientes com DMRI exsudativa. Neles

também foram MAVC, CST e medidas as variações eletrorretinográficas, utilizando o mfERG. Dessa forma, não foram possíveis comparações em termos eletrofisiológicos, pois neste estudo foi utilizado método distinto (ffERG).

Não houve aumento significativo na PIO média durante o estudo. Como as IVTs de 0,1 ml podem causar pico agudo da PIO, tentou-se evitá-lo usando uma dose oral de 250 mg de acetazolamida 30 minutos antes da injeção, a menos que fosse contraindicado clinicamente, e realizando oftalmoscopia indireta imediatamente após a injeção para verificar a perfusão do nervo óptico. Apesar desses procedimentos, dois pacientes ainda necessitaram de paracentese de câmara anterior devido à pulsação da artéria central da retina verificada à oftalmoscopia indireta. É importante considerar o diagnóstico prévio de glaucoma em pacientes submetidos a injeções de 0,1 ml. Felizmente, nenhum dos pacientes avaliados tinha diagnóstico prévio de glaucoma, PIO superior a 21mmHg no exame inicial, ou relação escavação/disco vertical e horizontal do disco óptico superior a 0,5.

Os resultados de MAVC também apoiam a segurança da combinação intravítrea de BVZ e propranolol, uma vez que houve melhora significativa da acuidade visual em comparação com a linha de base em todas as visitas de acompanhamento do estudo. A melhora da MAVC na semana 12 foi de $0,272 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), o que corresponde ao ganho de 13,6 letras ETDRS.

Outra pesquisa similar ao presente estudo, realizada por Rich et al.⁸⁰ utilizou a monoterapia com BVZ para pacientes com DMRI exsudativa, com seguimento semelhante de três meses; sendo que as injeções também foram realizadas em intervalos de quatro semanas, conforme necessário, com base na persistência do líquido no tecido retiniano. Os autores relataram melhora de 7,9 letras (aproximadamente 0,15 log MAR) da MAVC em três meses em comparação com a linha de base, enquanto que no presente estudo verificou-se melhora de 13,6 letras, como mencionado acima. Além disso, os pacientes da presente amostra obtiveram redução média da CST de 121,73 μm quando comparados ao valor basal, enquanto que no estudo de Rich et al.⁸⁰, a redução média total da CST aos três meses em relação ao valor basal foi de 99,6 μm . Os melhores resultados deste estudo, tanto no quesito melhora da acuidade visual quanto redução na CST em comparação aos de

Rich et al.⁸⁰ podem ser devidos à combinação das drogas, ou pode estar relacionado à diferença no regime de tratamento anti-VEGF. Rich et al.⁸⁰ utilizaram intervalo de quatro semanas, conforme necessário (43% precisaram de três a quatro injeções, 36% duas injeções - total de 79% dos olhos recebendo retratamento) e o presente estudo usou o regime de intervalo fixo de quatro semanas (total de três injeções).

Pedersen et al.⁷⁶ também realizaram medidas da MAVC e CST no *baseline* e nas visitas de uma, seis, doze e vinte e quatro semanas. A acuidade visual média no início do estudo era de 55 letras do ETDRS (equivalente aproximado de Snellen, 0,25; 20/80). O BVZ (1,25 mg, 0,05 mL) foi injetado por via intravítrea na linha de base sob condições estéreis através da *pars plana*. Durante o acompanhamento, os pacientes foram reinjetados, conforme a necessidade, após avaliação a cada seis semanas pelo especialista responsável. As indicações para o retratamento foram persistência ou recorrência de fluido sub ou intrarretiniano avaliado por OCT, aumento de hemorragia sub-retiniana ou diminuição da acuidade visual.

No tocante à espessura macular média central, no estudo de Pedersen et al.⁷⁶ houve diminuição significativa em todos os exames de acompanhamento quando comparado com a linha de base ($p < 0,01$): de 475,9 μm na linha de base para 287,3 μm em 12 semanas. Neste estudo, na visita basal, a média \pm SE CST (μm) foi de 462 ± 45 , semelhante ao estudo de Pedersen et al.⁷⁶, e também houve redução significativa da CST em comparação com a linha de base em todas as visitas de acompanhamento. No tempo de 12 semanas, obteve-se $341 \pm 24 \mu\text{m}$, que comparando com Pedersen et al.⁷⁶, foi uma espessura final maior. Deve-se ressaltar que os exames do estudo de Pedersen et al.⁷⁶ foram realizados com tecnologia *time domain*, mais antiga, utilizando *Zeiss Stratus OCT Software Version 4.0* (Carl Zeiss Meditec Inc., Dublin, CA), diferente deste estudo, que utilizou OCT *spectral domain* com Spectralis® HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemanha). As imagens da presente amostra foram capturadas com auxílio da função *TruTrack™ Active Eye Tracking*, o que permitiu que os exames de seguimento fossem realizados na mesma região daqueles da visita inicial, comprovando a boa confiabilidade das medidas. Outro ponto a ser ressaltado é que a CST não é um bom indicador de melhora em DMRI, pois depende de hemorragia, presença de

DEP, fibrose subfoveal e diversos fatores que ocorrem concomitantemente ao fluido intra e sub-retiniano nesta patologia.

A acuidade visual média (\pm SD), em Pedersen et al.⁷⁶, no baseline obteve medida de 55 (\pm 16), ganho de quatro (\pm 16) letras do ETDRS em 12 semanas ($p < 0,01$). Já neste estudo houve melhora substancial na MAVC em relação a Pedersen et al.⁷⁶, pois a medida desta variável na semana 12 foi de $0,272 \pm 0,033$ ($p < 0,0001$), o que corresponde a 13,6 letras ETDRS. Assim, embora tenha havido maior redução da espessura macular no estudo de Pedersen et al.⁷⁶, não se configurou em maior ganho visual, pois a melhora da MAVC no presente estudo foi maior. Tal observação poderia ser explicada tanto pela diferença nos regimes de aplicação (mensal x PRN) como pelo possível efeito sinérgico do uso da combinação BVZ + propranolol.

Naseripour et al.⁷⁷ mediram a MAVC antes e depois de IVT de BVZ em pacientes com NVC, em que um grupo recebeu 2,5 mg, e outro 1,25 mg, observando melhora da acuidade visual de $1,34 \pm 0,59$ no *baseline* para $1,07 \pm 0,47$ ($p = 0,01$) após quatro semanas da aplicação, e de $1,03 \pm 0,46$ ($p = 0,001$) após 12 semanas, resultando em melhora de 0,27 em quatro semanas e 0,31 em 12 semanas. Comparando os achados de quatro semanas, a melhora da MAVC no estudo de Naseripour et al.⁷⁷ foi bem superior (0,27) à do presente estudo (0,18). Todavia, essa melhora da MAVC com 12 semanas foi semelhante em ambos os estudos (0,31 e 0,28). As diferenças entre os estudos, que podem justificar essa melhora superior em quatro semanas nos achados de Naseripour et al.⁷⁷, seriam que esses autores utilizaram dose maior de BVZ (2,5 mg) em alguns pacientes, bem como no *baseline* a média de MAVC era pior ($1,34 \pm 0,59$), comparada à deste estudo ($0,79 \pm 0,09$).

Em relação aos achados de Iwata et al.⁷⁸, foi possível comparar MAVC e CST mais efetivamente, devido à semelhança nos desfechos avaliados e na periodicidade das injeções (total de três aplicações, uma a cada quatro semanas). Em Iwata et al.⁷⁸, o número de olhos cuja MAVC havia melhorado 0,3 após a terceira injeção foi de 5/18 (28%), em comparação com os 5/11 casos (45%) do presente estudo. A CST foi reduzida em mais de 10% da sua espessura em 10/18 (56%) dos casos em Iwata, comparada com 9/11 (82%) da presente amostra. Tais achados

podem sugerir possível efeito benéfico da combinação propranolol e BVZ em comparação com a monoterapia antangiogênica com BVZ.

No estudo de Park et al.⁷⁹, foi utilizada uma única aplicação de BVZ e a MAVC e CST foram medidas após quatro semanas. Antes da injeção, a média da MAVC era de $0,66 \pm 0,29$ (logMAR \pm SD) e após o tratamento, $0,52 \pm 0,32$ ($p=0,03$), com melhora de cerca de 0,14 logMAR. Já no presente estudo, a MAVC no *baseline* era de $0,79 \pm 0,09$, indo para $0,61 \pm 0,10$ na semana 4 (melhora de de 0,18 logMAR). No estudo de Park et al.⁷⁹, a CST média reduziu de $319,43 \pm 128,09$ μ m para $268,29 \pm 72,09$ μ m na semana 4, diferença de cerca de 51,14 μ m. O presente estudo obteve redução bem mais significativa, de $77,64 \pm 20,65$ ($p=0,0039$), indo de 462 ± 45 no *baseline* para 385 ± 37 na semana 4. Ambos os estudos utilizaram BVZ como antiangiogênico de escolha. A melhora mais acentuada na presente amostra em comparação com os achados de Park et al.⁷⁹ reforça a sugestão de que o efeito da combinação ocasiona maior redução da CST e melhora da MAVC no mesmo período. Este dado necessitará ser confirmado em estudos com maior número amostral e de forma prospectiva com dois grupos: um grupo recebendo monoterapia e outro, tratamento combinado.

O presente estudo é pioneiro em avaliar a toxicidade retiniana após a administração da combinação de BVZ e propranolol intravítreo, aplicando testes funcionais e estruturais em humanos. As limitações do estudo incluíram curto período de seguimento, ausência de grupo controle e de outros testes funcionais, como microperimetria, mfERG e medidas de sensibilidade ao contraste.

Novos estudos, com maior número amostral, seguimento mais longo e grupo controle (monoterapia com BVZ) serão necessários para avaliar o potencial dessa terapia alternativa combinada. Também pode ser interessante incluir análise por mfERG, a fim de investigar alterações eletrorretinográficas na região da mácula.

6. Conclusões

Após análise dos resultados, concluiu-se que IVTs mensais de 0,10 ml da combinação de BVZ (1,25 mg/0,05 ml) e propranolol (50 µg/0,05 ml), durante 12 semanas, parecem ser seguras e não mostraram sinais de toxicidade aguda.

- Observou-se que não houve variações significativas nas amplitudes das ondas a e b eletrorretinográficas no ffERG, comparando-se os valores da consulta inicial com os de 12 semanas após administração da combinação de BVZ e propranolol de forma mensal (três aplicações).
- Verificou-se que não houve alterações significativas da PIO, comparando a consulta inicial com as visitas de quatro, oito e doze semanas após administração IVT combinada de BVZ e propranolol, de forma mensal.
- Notou-se melhora progressiva da MAVC comparando *baseline*, quatro, oito e doze semanas após administração IVT da combinação de BVZ e propranolol, de forma mensal.
- Constatou-se ausência de sinais inflamatórios do segmento anterior (escore de células e *flare*) e posterior (células na cavidade vítrea) na consulta inicial e em visitas subsequentes (4, 8 e 12 semanas) à administração IVT da combinação de BVZ e propranolol, de forma mensal.
- Evidenciou-se, comparativamente, redução progressiva na CST entre a consulta inicial e as visitas de quatro, oito e doze semanas após administração IVT da combinação de BVZ e propranolol, de forma mensal.

7. Referências Bibliográficas¹

¹Elaboradas de acordo com as Diretrizes para Apresentação de Dissertações e Teses da USP: Documento Eletrônico e Impresso - Parte IV (Vancouver) 3ª ed. São Paulo: SIBi/USP, 2016.

1. American Academy of Ophthalmology. 2017-2018 Basic and Clinical Science Course (BCSC), Section 12: Retina and Vitreous. American Academy of Ophthalmology; 2017. 422p.
2. Ávila M, Lavinsky J, Moreira Júnior CA. Retina e Vítreo, Coleção CBO. 4ª Ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, Guanabara Koogan; 2016. 470p.
3. Ferreira MA. (Org.). Retina e-Book. 1ª Ed. São Paulo-SP: SBRV, 2020, v. 1, 1045p.
4. Quintão T et al. 25 Perguntas e respostas: Descolamento de Retina. Lisboa: Grupo de Estudos da Retina, Portugal. 2020.
5. Ma J et al. Optical coherence tomographic angiography imaging in age-related macular degeneration. *Ophthalmol Eye Dis.* 2017;9:1179172116686075.
6. Silverthorn, DU. Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada, 7ª Ed. Porto Alegre: Artmed; 2016. 963p.
7. Joachim N et al. The incidence and progression of age-related macular degeneration over 15 years: The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology.* 2015;122(12):2482-9.
8. Cypel MC et al. Achados oculares em pacientes com mais de 99 anos. *Arq Bras Oftalmol.* 2006;69(5):665-9.
9. Santos LP et al. Degeneração macular relacionada à idade: prevalência e fatores de risco em dois centros oftalmológicos de referência em Pernambuco. *Arq Bras Oftalmol.* 2005;68(2):229-33.
10. Bild DE et al. Multi-ethnic study of atherosclerosis: objectives and design. *Am J Epidemiol.* 2002;156(9):871-81.
11. Klein R et al. Prevalence of age-related macular degeneration in 4 racial/ethnic groups in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ophthalmology.* 2006;113(3):373-80.
12. Akagi-Kurashige Y et al. MMP20 and ARMS2/HTRA1 Are Associated with Neovascular Lesion Size in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology.* 2015;122(11):2295-2302.e2.
13. Chew EY et al. The results of the 10 year follow-on study of the age-related eye disease study 2 (AREDS2). In: ARVO Annual Meeting 2021, Seattle, EUA. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2021;62(8):1215.
14. Bressler NM, Bressler SB, Fine SL. Age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 1988;32(6):375-413.

15. Pang CE et al. The onion sign in neovascular age-related macular degeneration represents cholesterol crystals. *Ophthalmology*. 2015;122(11):2316-26.
16. Mrejen S et al. Multimodal imaging of pigment epithelial detachment: a guide to evaluation. *Retina*. 2013;33(9):1735-62.
17. Kumar JB et al. Correlation of subretinal hyperreflective material morphology and visual acuity in neovascular age-related macular degeneration. *Retina*. 2020;40(5):845-56.
18. Fine SL. Macular photocoagulation study. *Arch Ophthalmol*. 1980;98(5):832.
19. Tong JP, Yao YF. Contribution of VEGF and PEDF to choroidal angiogenesis: a need for balanced expressions. *Clin Biochem*. 2006;39(3):267-76.
20. Grisanti S, Ziemssen F. Bevacizumab: off-label use in ophthalmology. *Indian J Ophthalmol*. 2007;55(6):417-20.
21. Ross EL et al. Cost-effectiveness of Aflibercept, Bevacizumab, and ranibizumab for diabetic macular edema treatment: analysis from the diabetic retinopathy clinical research network comparative effectiveness trial. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(8):888-96.
22. Abraham P, Yue H, Wilson L. Randomized, double-masked, sham-controlled trial of ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: PIER study year 2. *Am J Ophthalmol*. 2010;150(3):315-324.e1.
23. Anguita R et al. A Review of aflibercept treatment for macular disease. *Ophthalmol Ther*. 2021;10(3):413-28.
24. Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatments Trials (CATT) Research Group et al. Ranibizumab and bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: two-year results. *Ophthalmology*. 2012;119(7):1388-98.
25. Black JW et al. A new adrenergic beta receptor antagonist. *Lancet*. 1964;1(7342):1080-1.
26. Frishman WH. beta-Adrenergic blockers: a 50-year historical perspective. *Am J Ther*. 2008;15(6):565-76.
27. Bailey B. Glucagon in beta-blocker and calcium channel blocker overdoses: a systematic review. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2003;41(5):595-602.
28. Neto MA, Rascado RR, Bendhack LM. Receptores β -adrenérgicos no sistema cardiovascular. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2006;39(1):3-12.

29. Bortolotto LA, Consolim-Colombo FM. Betabloqueadores adrenérgicos. *Rev Bras Hipertens* 2009;16(4):215-20.
30. Oliver E, Mayor F Jr, D'Ocon P. Beta-blockers: Historical Perspective and Mechanisms of Action. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2019 72(10):853-62.
31. Helfand M et al. Drug Class Review: beta adrenergic blockers: final report update 4 [Internet]. Portland (OR): Oregon Health & Science University; 2009 Jul.
32. Love JN et al. Acute beta blocker overdose: factors associated with the development of cardiovascular morbidity. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2000;38(3):275-81.
33. Léauté-Labrèze C et al. Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *N Engl J Med*. 2008;358(24):2649-51.
34. Karimi S et al. Intravitreal injection of propranolol for the treatment of retinal capillary hemangioma in a case of Von Hippel-Lindau. *Retin Cases Brief Rep*. 2020;14(4):305-9.
35. Chim H et al. Propranolol induces regression of hemangioma cells through HIF-1 α -mediated inhibition of VEGF-A. *Ann Surg*. 2012;256(1):146-56.
36. Casini G et al. The β -adrenergic system as a possible new target for pharmacologic treatment of neovascular retinal diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2014;42:103-29.
37. Folkman J. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med*. 1995;333(26):1757-63.
38. Baird A et al. Retina- and eye-derived endothelial cell growth factors: partial molecular characterization and identity with acidic and basic fibroblast growth factors. *Biochemistry*. 1985;24(27):7855-60.
39. Arjamaa O, Nikinmaa M. Oxygen-dependent diseases in the retina: role of hypoxia-inducible factors. *Exp Eye Res*. 2006;83(3):473-83.
40. Wang GL, Semenza GL. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(9):4304-8.
41. Slomiany MG, Rosenzweig SA. Hypoxia-inducible factor-1-dependent and -independent regulation of insulin-like growth factor-1-stimulated vascular endothelial growth factor secretion. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;318(2):666-75.
42. Mori K et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits retinal and choroidal neovascularization. *J Cell Physiol*. 2001;188(2):253-63.

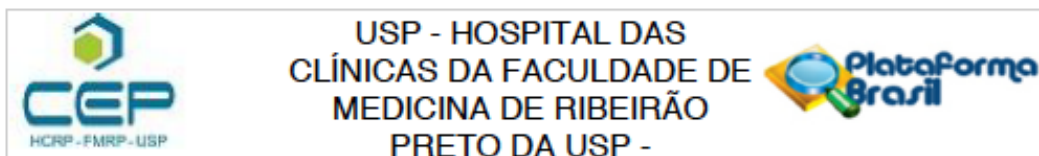
43. Chandel NS et al. Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-induced transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(20):11715-20.
44. Lindgren I, Altimiras J. Chronic prenatal hypoxia sensitizes beta-adrenoceptors in the embryonic heart but causes postnatal desensitization. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009;297(2):R258-64.
45. Martini D et al. Antiangiogenic effects of β_2 -adrenergic receptor blockade in a mouse model of oxygen-induced retinopathy. *J Neurochem*. 2011;119(6):1317-29.
46. Lavine JA et al. Attenuation of choroidal neovascularization by $\beta(2)$ -adrenoreceptor antagonism. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(3):376-82.
47. Lavine JA et al. β_2 -Adrenergic Receptor Antagonism Attenuates CNV Through Inhibition of VEGF and IL-6 Expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58(1):299-308.
48. Montero JA et al. Systemic beta-blockers may reduce the need for repeated intravitreal injections in patients with wet age-related macular degeneration treated by bevacizumab. *Retina*. 2013;33(3):508-12.
49. Sridhar J et al. Topical Dorzolamide-Timolol With Intravitreal Anti-Vascular Endothelial Growth Factor for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(4):437-43.
50. Brown DM et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006;355(14):1432-44.
51. Rosenfeld PJ et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006;355(14):1419-31.
52. Campochiaro PA et al. The pathogenesis of choroidal neovascularization in patients with age-related macular degeneration. *Mol Vis*. 1999;5:34.
53. Virgili G et al. Anti-vascular endothelial growth factor for diabetic macular oedema: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;6(6):CD007419.
54. Solomon SD et al. Anti-vascular endothelial growth factor for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;8(8):CD005139.
55. Weinberger AW et al. Retinal pigment epithelium tears after intravitreal bevacizumab in pigment epithelium detachment. *Am J Ophthalmol*. 2007;144(2):294-6.

-
56. Karabag RY et al. Retinal tears and rhegmatogenous retinal detachment after intravitreal injections: its prevalence and case reports. *Digit J Ophthalmol*. 2015;21(1):8-10.
 57. Meyer CH et al. Incidence of rhegmatogenous retinal detachments after intravitreal antivascular endothelial factor injections. *Acta Ophthalmol*. 2011;89(1):70-5.
 58. Baek SU, Park IW, Suh W. Long-term intraocular pressure changes after intravitreal injection of bevacizumab. *Cutan Ocul Toxicol*. 2016;35(4):310-4.
 59. Yang S, Zhao J, Sun X. Resistance to anti-VEGF therapy in neovascular age-related macular degeneration: a comprehensive review. *Drug Des Devel Ther*. 2016;10:1857-67.
 60. Tranos P et al. Resistance to antivascular endothelial growth factor treatment in age-related macular degeneration. *Drug Des Devel Ther*. 2013;7:485-90.
 61. Hollingworth W et al. A longitudinal study to assess the frequency and cost of antivascular endothelial therapy, and inequalities in access, in England between 2005 and 2015. *BMJ Open*. 2017;7(10):e018289.
 62. Dal Monte M et al. Beta-adrenoreceptor agonism influences retinal responses to hypoxia in a model of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(4):2181-92.
 63. Chen XQ, Du JZ, Wang YS. Regulation of hypoxia-induced release of corticotropin-releasing factor in the rat hypothalamus by norepinephrine. *Regul Pept*. 2004;119(3):221-8.
 64. Ristori C et al. Role of the adrenergic system in a mouse model of oxygen-induced retinopathy: antiangiogenic effects of beta-adrenoreceptor blockade. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(1):155-70.
 65. McCulloch DL et al. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Doc Ophthalmol*. 2015;130(1):1-12. Erratum in: *Doc Ophthalmol*. 2015;131(1):81-3.
 66. Creel DJ. The electroretinogram and electro-oculogram: clinical applications by Donnell J. Creel. 2015. Disponível em: <https://webvision.med.utah.edu/book/electrophysiology/the-electroretinogram-clinical-applications/>. Acesso em: 09 mai 2023.
 67. Nourinia R et al. Ocular safety of intravitreal propranolol and its efficacy in attenuation of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(13):8228-35.

68. de Paiva MRB et al. Assessment of the safety of intravitreal injection of metoprolol tartrate in rabbits. *Doc Ophthalmol*. 2021;142(1):75-85.
69. Gonçalves AN, Scott IU, Jorge R. Alternative management of central serous chorioretinopathy using intravitreal metoprolol. *Int J Retina Vitreous*. 2022;8(1):50.
70. Chaves L et al. Intravitreal metoprolol for circumscribed choroidal hemangiomas: a phase I clinical trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2021;259(9):2837-41.
71. Jorge R et al. Alternative management of circumscribed choroidal hemangioma using intravitreal metoprolol. *Retin Cases Brief Rep*. 2022;16(1):106-10.
72. Malik D et al. Safety profiles of anti-VEGF drugs: bevacizumab, ranibizumab, aflibercept and ziv-aflibercept on human retinal pigment epithelium cells in culture. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(Suppl 1):i11-16.
73. Bota M et al. Combined effect of propranolol, vincristine and bevacizumab on HUVECs and BJ cells. *Exp Ther Med*. 2019;17(1):307-15.
74. Chiang TK et al. Use of visual electrophysiology to monitor retinal and optic nerve toxicity. *Biomolecules*. 2022;12(10):1390.
75. Pedersen KB et al. Electrophysiological assessment of retinal function during 6 months of bevacizumab treatment in neovascular age-related macular degeneration. *Retina*. 2010;30(7):1025-33.
76. Skaat A et al. Increased electroretinogram a-wave amplitude after intravitreal bevacizumab injection for neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol*. 2011;89(3):e269-73.
77. Naseripour M et al. Testing Toxicity of Intravitreal Bevacizumab (Avastin) used for the treatment of choroidal neovascularization associated with age-related macular degeneration: A full field ERG study. *Iranian J Ophthalmol*. 2009;21(3):49-55.
78. Iwata E et al. Focal macular electroretinograms after intravitreal injections of bevacizumab for age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(7):4185-90.
79. Park JY et al. Multifocal electroretinogram findings after intravitreal bevacizumab injection in choroidal neovascularization of age-related macular degeneration. *Korean J Ophthalmol*. 2011;25(3):161-5.
80. Rich RM et al. Short-term safety and efficacy of intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Retina*. 2006;26(5):495-511.

8. Anexo

COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Propranolol associado a Bevacizumabe para Tratamento da DMRI Exsudativa (BEVALOL): Estudo Clínico Fase I

Pesquisador: JOSE EDISIO DA SILVA TAVARES NETO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 28108920.0.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.999.989

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo a ser realizado nesta instituição, no Setor de Retina e Vítreo, tendo como investigador principal o médico José Edisio da Silva Tavares Neto, sob a orientação do Professor Doutor Rodrigo Jorge. A degeneração macular relacionada à idade exsudativa (DMRI) é a principal causa de cegueira legal em idosos no mundo ocidental e a terceira principal causa de cegueira em todo o mundo.^{1,2} A DMRI é uma doença progressiva da mácula que, em seu estágio tardio ou avançado, resulta em perda da visão central. Existem dois tipos de DMRI: as formas seca e úmida (ou exsudativa). A DMRI seca é uma doença crônica que afeta 85% dos casos e geralmente causa algum grau de deficiência visual. Por outro lado, a úmida afeta 10 a 15% dos pacientes com DMRI, surge abruptamente e progride rapidamente para a cegueira se não for tratada³. Nos casos com de DMRI úmida observamos neovascularização subretiniana, que são novos vasos podem se originar do leito capilar profundo da retina e crescer através da camada de fotoreceptores para o espaço subretiniano (proliferação angiomasiosa da retina), ou podem se originar de vasos coroidais e se estender através da membrana de Bruch e do epitélio pigmentar da retina. (neovascularização de coróide). A base do tratamento da DMRI exsudativa é a inibição do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Ainda há, todavia, desafios no tratamento. As injeções intravítreas em alguns pacientes necessitam ser frequentes e repetidas. Também pode ser observadas resistência ou taquifilaxia aos medicamentos antiVEGF e, em consequência, alguns dos pacientes não

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -



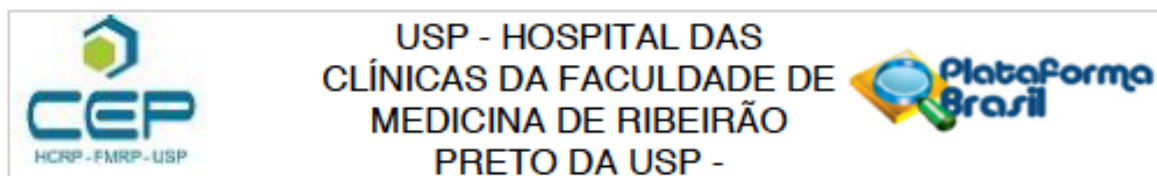
Continuação do Parecer: 3.999.989

apresentam resposta à monoterapia com esses medicamentos. Ainda podemos citar os custos elevados dos antiangiogênicos. Nesse caso, faz-se importante investigar o uso do propranolol como adjuvante do bevacizumabe, tanto aumentando o efeito e benefício contra a doença, como alargando o espaçamento entre as doses de antiangiogênicos. O propranolol, um antagonista inespecífico do receptor b-adrenérgico (b-AR), tornou-se o padrão ouro para o tratamento de hemangioma grave na infância. As propriedades regressivas do tumor do tratamento com propranolol decorrem de sua capacidade de inibir a expressão do VEGF. Esses achados resultaram em pesquisa sobre a utilidade do antagonismo do b-AR nas doenças neovasculares da retina. No camundongo, a retinopatia isquêmica induzida por oxigênio (OIR), tanto o tratamento com propranolol quanto o bloqueio específico de b2-AR inibe a angiogênese via atenuação da proliferação, migração e diferenciação de células endoteliais, além de inibir a super-expressão de VEGF. O uso intravítreo dos beta bloqueadores pode minimizar o risco sistêmico de bradicardia e redução da pressão arterial. Acrescenta-se a estes benefícios a maximização da concentração do beta bloqueador na cavidade vítrea e espaço subretiniano.

A dose escolhida foi semelhante a trabalhos que utilizaram propranolol intravítreo para patologias vasculares da retina, com resultados positivos relatados na literatura. Investigações clínicas retrospectivas também fundamentam nosso estudo, pois pesquisas mostraram que o tratamento com b-bloqueador está correlacionado com um número reduzido de injeções de VEGF na AMD exsudativa e menos procedimentos a laser na retinopatia diabética. Recentemente, em pacientes com fluido retiniano persistente apesar da terapia anti-VEGF máxima para DMRI exsudativa, o tratamento tópico com timolol-dorzolamida, além da terapia anti-VEGF, melhorou o fluido retiniano. Estudos recentes demonstraram que o tratamento com propranolol intravítreo reduz a área de neovascularização coroideana em 50%, e o bloqueio específico de b2-AR diminui a expressão de VEGF nas células endoteliais da coroide do camundongo e nas células do EPR em cultura. Estudo posterior conseguiu -se estender esses achados para células de EPR fetais humanas em cultura. Apesar de sabermos que, os anti-VEGFs são a terapia mais eficaz para o tratamento da DMRI exsudativa, devido a sua capacidade de inibição do VEGF e ação sobre a neovascularização, entendemos que seria importante analisar o efeito sinérgico entre betabloqueador intravítreo e antiVEGF. Pelo impacto gerado por essa patologia no mundo, torna-se necessário que se busquem novas alternativas terapêuticas que maximizem eficácia e/ou sejam menos dispendiosas.

Trata-se de ensaio clínico, não randomizado. Serão incluídos no máximo 10 olhos de 10 pacientes

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.999.989

atendidos no serviço de Retina e Vítreo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, com diagnóstico de membrana neovascular por degeneração macular relacionada à idade (forma exsudativa) que participarão de forma livre, consentida, esclarecida e voluntária e que preencham os critérios de inclusão, respeitando os critérios de exclusão.

Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão do estudo são: idade maior que 18 anos; diagnóstico de membrana neovascular subretiniana em degeneração macular relacionada à idade (forma exsudativa), ausência de opacidade de meios, dilatação pupilar adequada e cooperação suficiente para realização dos exames complementares.

5.2 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão são: Qualquer condição clínica que prejudique a documentação do fundo de olho, ou o seguimento do paciente; condições médicas ou psicológicas que impeçam assinar o termo de consentimento livre e esclarecido; alergia ao cloridrato de propranolol ou ao bevacizumabe, ou a outras drogas utilizadas durante a preparação para as injeções intravítreas; alergia ao uso do corante fluoresceína intravenoso; gestação, amamentação ou planos de gestação no próximo ano.

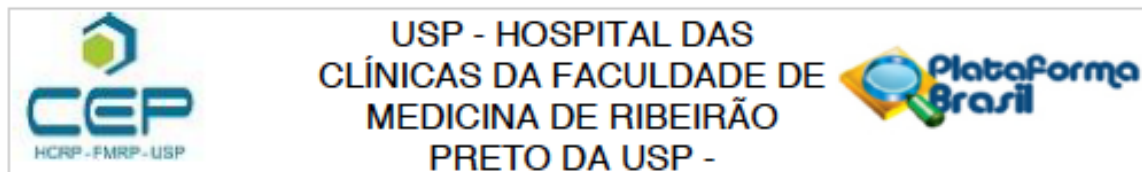
Após o término do estudo, o seguimento dos pacientes será regular no setor de Retina e Vítreo do respectivo serviço, segundo os padrões rotineiramente utilizados.

Os participantes serão submetidos a diversos exames antes e após as injeções intravítreo:

Estudo Eletrofisiológico: será realizado em ambiente calmo e privado. Iniciar-se-ão pela fase escotópica, após 20 minutos de adaptação ao escuro, seguido da fase fotópica. Serão observados os padrões recomendados pela International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) e realizados com os aparelhos Color Dome Diagnosys (Diagnosys LLC, USA) e Espiron Profile System Diagnosys (Diagnosys LLC, USA) na consulta inicial e 90 dias após a intervenção. Acuidade visual: (tabela logMAR ETDRS) com a melhor correção segundo padronização recomendada pelo ETDRS, acessado em todas as consultas, pelo pesquisador principal ou colaborador, em ambiente calmo e privado.

Biomicroscopia de segmento anterior e de fundo: será realizado em lampada de fenda, com auxílio de lente de 78 dioptrias (Volk) e classificados de acordo com o critério determinado pelo ETDRS, em todas as consultas. Tais exames serão realizados, após explicação detalhada do procedimento ao paciente e consequente anuência verbal, em ambiente calmo e privado utilizando-se do menor nível de iluminação possível para identificação das alterações patológicas e com a menor duração possível, garantindo menor desconforto ao paciente, principalmente no quesito fotofobia, inerente

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.999.989

ao exame.

Oftalmoscopia Binocular indireta: O exame será realizado, após explicação detalhada do procedimento e consequente anuência verbal, em ambiente calmo e privado, com auxílio de lente de 20 dioptrias (Volk) e com o paciente em decúbito dorsal, utilizando-se do menor nível de iluminação possível para identificação das alterações patológicas e com a menor duração possível, garantindo menor desconforto ao paciente, principalmente no quesito fotofobia, inerente ao exame, em todas as consultas.

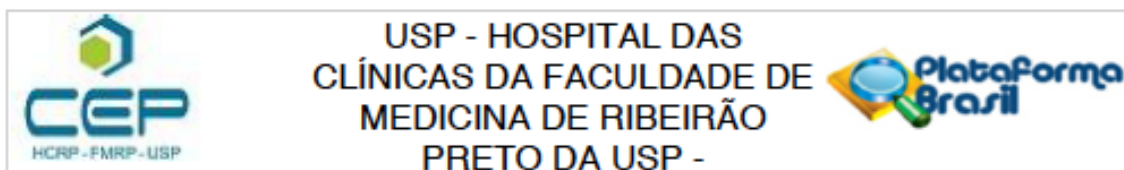
Retinografia: Serão realizadas fotografias coloridas com o retinógrafo Topcon® modelo TRC-50DX visando documentação das alterações fundoscópica e evolução do quadro. O procedimento será realizado após explicação detalhada ao paciente e anuência verbal, em ambiente calmo e privado, utilizando a menor intensidade possível de flash que permita o adequado registro do fundo de olho, garantindo menor desconforto ao paciente. Antes da realização do exame, será instilada uma gota de colírio de proximetacaina no olho a ser examinado, para menor desconforto à manipulação das pálpebras para exposição ocular adequada. O exame ocorrerá com o paciente em posição sentada, de maneira mais ergonômica e confortável possível, respeitando as características individuais dos participantes.

Tomografia de coerência óptica (OCT), Angio-OCT e Angiografia Fluoresceínica: Será realizada pelo Spectralis® HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Germany), utilizando do software automatizado do aparelho para o cálculo do volume macular e da análise da camada de fibras nervosas, na consulta inicial, e em intervalos mensais. Este aparelho também contém software para realização de exame de angiofluoresceinografia, com contraste injetado por acesso venoso periférico, realizado por profissional habilitado. O procedimento será realizado após explicação detalhada e anuência verbal, em ambiente calmo e privado. O exame ocorrerá com o paciente em posição sentada, de maneira mais ergonômica e confortável possível, respeitando as características individuais dos participantes.

Objetivo da Pesquisa:

Apesar de sabermos que, os anti-VEGFs são a terapia mais eficaz para o tratamento da DMRI exsudativa, devido a sua capacidade de inibição do VEGF e ação sobre a neovascularização, entendemos que um efeito sinérgico entre betabloqueador intravítreo e antiVEGF seria importante ser analisado. Pelo impacto gerado por essa patologia no mundo, torna-se necessário que se busquem novas alternativas terapêuticas¹⁷ que maximizem eficácia e/ou sejam menos dispendiosas.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.999.989

Específicos:

Primário: Avaliar as alterações nas amplitudes das ondas eletrorretinográficas após a administração de propranolol e bevacizumabe intravítreos em pacientes com DMRI exsudativa.

Secundários: Avaliar o escore de células ou flare na câmara anterior após a administração de propranolol e bevacizumabe intravítreos. Medir variação da espessura foveal através da tomografia de coerência óptica. Quantificar alteração da acuidade visual, acessada através da tabela ETDRS.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em relação a este item os investigadores fornecem as seguintes informações: A participação no estudo envolve: realização de exame oftalmológico completo e exames complementares do campo da oftalmologia, intervenção com aplicação de propranolol e bevacizumabe intravítreo e o seguimento por pelo menos 12 semanas.

O exame oftalmológico constará de medida da acuidade visual, tonometria de aplanção, biomicroscopia de segmento anterior e de fundo e mapeamento de retina. Cada etapa será verbalmente explicada ao paciente, antes de ser realizada. Todas as etapas realizar-se-ão em ambiente calmo e privado, na posição mais confortável para o paciente, respeitando as características individuais. Os exames que necessitam de exposição a fontes luminosas, como a biomicroscopia e mapeamento de retina, serão realizados com a menor intensidade luminosa que permita a correta identificação das alterações patológicas, com intuito de reduzir a fotofobia. Todos os exames serão importantes para identificar alterações provocadas pela DMRI, bem como os efeitos positivos ou colaterais relacionados à intervenção proposta. O conjunto de exames acima demandará, em média, trinta minutos, e será repetido em todos os retornos. Os exames complementares oftalmológicos do protocolo serão: eletroretinograma de campo total, tomografia de coerência óptica, angio-OCT, retinografia e angiofluoresceinografia. Estes exames serão realizados na posição sentada, em ambiente calmo e privado, após as devidas explicações verbais sobre os procedimentos. Todos os exames necessitam da colaboração do paciente em manter a fixação em alvos pré-determinados, na sua maioria pontos luminosos. A tomografia de coerência óptica é realizada em midríase com feixe de luz infravermelho (sem desconforto ao paciente) com duração aproximada de 5 minutos, a cada mês. O Angio-OCT é realizado em mesma condição, não sendo necessário uso de contraste endovenoso. As retinografias coloridas serão realizadas com o paciente em midríase farmacológica, com a menor intensidade de flash luminoso necessário para o correto registro do fundo de olho. A duração aproximada do exame é de dez minutos e a frequência será mensal. As angiofluoresceinografias serão realizadas com o paciente sentado, em

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -



Continuação do Parecer: 3.999.989

midríase farmacológica, com acesso venoso para injeção de fluoresceína sódica a 10% e subsequente aquisição de fotos com a menor intensidade de flash luminoso necessário para o adequado registro do trânsito da fluoresceína nos vasos do fundo de olho. O estudo eletrofisiológico será realizado em ambiente calmo e privado, com os aparelhos Color Dome Diagnosys (Diagnosys LLC, USA) e Espiron Profile System Diagnosys (Diagnosys LLC, USA) na consulta inicial e 90 dias após a intervenção. A duração aproximada do exame é de uma hora. Os resultados dos diferentes exames complementares serão comparados com aqueles prévios do mesmo paciente, permitindo identificar e comunicar possíveis alterações da patologia ocular. Estes exames fazem parte da avaliação de rotina dos pacientes com DMRI exsudativa, podendo ajudar no diagnóstico e manejo terapêutico adequado. A intervenção do estudo envolve a aplicação de cloridrato de propranolol 50mcg em 0,05ml intravítreo e bevacizumabe 1,25mg em 0,05ml intravítreo. Como este não se encontra disponível no mercado brasileiro, para uso de rotina, sua manipulação foi solicitada e foi realizada pela Farmácia de Manipulação, seguindo a dose já previamente descrita na literatura (50mcg/0,05ml). Os riscos das injeções intraoculares incluem endoftalmite, catarata, hemorragia no gel vítreo, aumento da pressão intra-ocular e descolamento de retina. Todos os pacientes receberão informações verbais sobre o procedimento. Será necessária a anuência verbal e por escrito para a realização da intervenção. Para redução do risco de infecção a intervenção será realizada em sala cirúrgica com técnica asséptica. Será utilizado de rotina iodopovidona tópica (PVPI tópico), instilando-se duas gotas em fundo de saco conjuntival, 15 minutos antes do procedimento e imediatamente à injeção será instilada nova gota de PVPI tópico. A técnica de injeção intravítreo respeitará a distância de 3.5 a 4mm do limbo, para evitar toque cristalino e formação de catarata em paciente fácicos. Será utilizado acetazolamida via oral 250mg (para pacientes sem contraindicação ao uso) 30 minutos antes do procedimento e logo após. Será realizada paracentese de câmara anterior em casos que haja sinais de pressão intraocular muito aumentada no intraoperatório. Após a aplicação será avaliada a perfusão da cabeça do nervo óptico com oftalmoscopia binocular, buscando identificar aumentos de pressão que possam comprometer a perfusão tissular. O tempo total da intervenção será de 30 minutos.

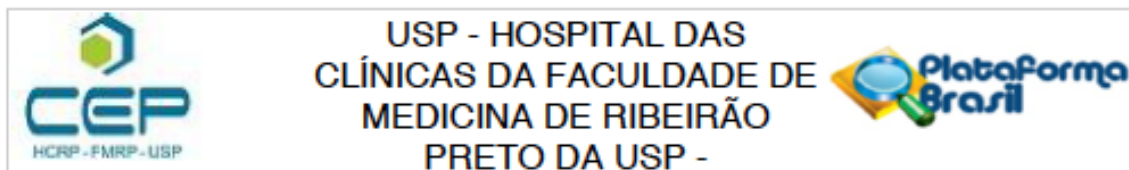
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa relevante. São apresentadas as justificativas para a realização do estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de encaminhamento de resposta ao PARECER CONSUBSTANCIADO No. 3.819.740:

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

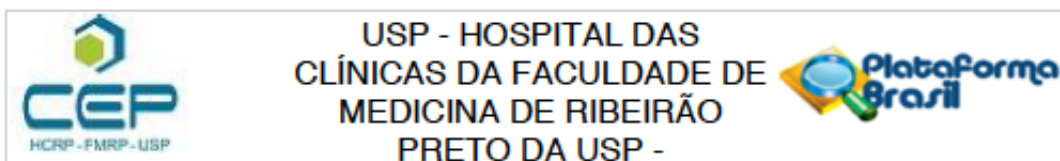


Continuação do Parecer: 3.999.989

À luz das recomendações feitas neste parecer consubstanciado recebido, atualizo no projeto o item 1 "Introdução" constando maiores esclarecimentos em relação ao cloridrato de propranolol em uso intravítreo. Juntamente com o item 1, também houve modificação no item 8. Desfechos Esperados, relatando melhor nossas hipóteses em relação ao estudo. Também modificado o item hipótese do estudo na Plataforma Brasil.

À luz das recomendações feitas neste parecer consubstanciado recebido, conseguimos entender a sugestão deste CEP para colocar este projeto em "Área Temática Especial" por "Novo Procedimento Terapêutico Invasivo". Em resposta, gostaríamos de apresentar cordialmente que o mesmo grupo de pesquisadores teve um trabalho envolvendo aplicação intravítrea de succinato de metoprolol submetido a avaliação do CEP em abril 2019, sendo colocado inicialmente na categoria de área temática especial, igualmente como recomenda o parecer a que respondo nesta carta. Tal submissão de abril de 2019 foi respondida em parecer emitido parecer 3.396.197 e foi enviada ao CONEP, que retornou em pareceres subsequentes, 3.483.612, 3.484.890, 3.500.674. Este trabalho do succinato de metoprolol intravítreo foi feito o projeto em moldes bem semelhantes ao atual sobre a injeção intravítrea de bevacizumabe associada ao cloridrato de propranolol e ambos se enquadram como ensaio clínico, não randomizado e aberto. A resolução do CONEP, conforme extraído integralmente em parte do parecer 3.483.612, foi: "O protocolo de pesquisa foi inserido como pertencente a área temática "Novos procedimentos terapêuticos invasivos" e apresenta as seguintes características: Ensaio clínico, não randomizado e aberto. A participação no estudo envolve a realização de exame oftalmológico completo, exames complementares do campo da oftalmologia, a intervenção com aplicação de metoprolol intravítreo e o seguimento por 30 dias, portanto, não se trata de "Novos procedimentos terapêuticos invasivos". Conforme disposto na Carta Circular no 172/2017/CONEP/CNS/MS esta área deverá ser selecionada apenas para os estudos que envolverem a utilização de um NOVO procedimento terapêutico que consiga penetrar as barreiras naturais do organismo (como por exemplo, a pele), podendo abrir ou não uma porta ou acesso para o meio interno. Nesse sentido, podem-se citar como exemplos o desenvolvimento de uma nova técnica cirúrgica ou de radioterapia. Cabe salientar que não são englobadas nessa área as pesquisas em que o foco é o desenvolvimento de um novo medicamento, mesmo que administrado de forma invasiva (como por exemplo, os medicamentos injetáveis). A fim de evitar que futuras emendas /ou notificações sejam automaticamente encaminhadas para análise dessa Comissão, solicita-se retirar a indicação de que se trata de pesquisa da área temática "Novos procedimentos terapêuticos invasivos" no cadastro do protocolo de pesquisa na Plataforma Brasil,

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
 UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
 Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.999.989

uma vez que esse estudo não se enquadra nas áreas temáticas descritas para apreciação da Conep (Resolução CNS no 466 de 2012, item IX.4) e Carta Circular no 172/2017/CONEP/CNS/MS."

Sendo assim, pedimos ao CEP USP-RP averiguar sobre a necessidade de inclusão deste projeto a área temática especial, baseado no que apresentamos, pois o projeto atual que submetemos se faz semelhante ao projeto relatado anterior, que de acordo com o parecer emitido pelo CONEP não se enquadra em tal área. Mantivemos por hora a área temática atual e seguimos com as outras recomendações feitas do CEP USP-RP, buscando a adequação deste projeto de pesquisa de acordo com as recomendações deste órgão que seguem as outras mudanças propostas em outros itens do projeto.

À luz das recomendações feitas neste parecer consubstanciado recebido, informo que se realizará fracionamento correto do cloridrato de propranolol em 50 microgramas em 0,05ml para aplicação intravítrea, não havendo quaisquer conflitos de interesses ou interesse comercial.

À luz das recomendações feitas em parecer consubstanciado recebido, realizo alteração no termo de consentimento livre e esclarecido, substituindo uma frase equivocada "...Todos estes exames serão importantes para identificar alterações provocadas pelo tumor e outras doenças do olho" pela assertiva correta, que versa sobre a doença em questão DMRI (degeneração macular relacionada a idade). Também incluo na penúltima página do TCLE a informação sobre o acesso aos prontuários pelos pesquisadores e os cuidados com as informações dos pacientes, indicando as medidas necessárias para evitar quaisquer danos com o prontuário ou informações.

Recomendações:

não se aplica

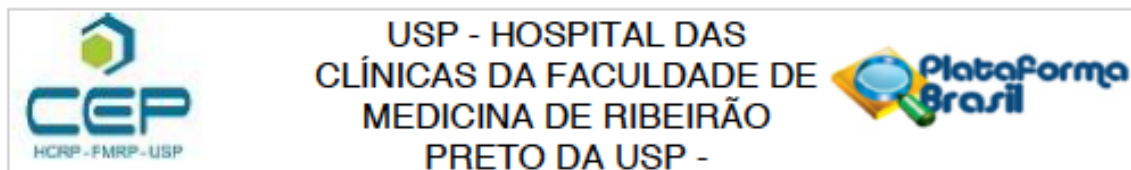
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa, assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 2 – fevereiro 2020, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
 UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
 Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.999.989

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1464603.pdf	22/03/2020 18:18:47		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	bevalolprojetov2.pdf	22/03/2020 18:18:31	JOSE EDISIO DA SILVA TAVARES NETO	Aceito
Outros	cartaresposta.pdf	27/02/2020 23:15:38	JOSE EDISIO DA SILVA TAVARES NETO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclev2.pdf	27/02/2020 23:11:37	JOSE EDISIO DA SILVA TAVARES NETO	Aceito
Declaração de concordância	autorizacao_upc.pdf	20/01/2020 11:32:42	JOSE EDISIO DA SILVA TAVARES NETO	Aceito
Orçamento	orcamento.docx	20/01/2020 11:29:03	JOSE EDISIO DA SILVA TAVARES NETO	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	20/01/2020 11:26:14	JOSE EDISIO DA SILVA TAVARES NETO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 30 de Abril de 2020

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador(a))

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

9. Apêndice

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Estudo: Propranolol associado a Bevacizumabe para tratamento da DMRI exsudativa (BEVALOL): Estudo clínico Fase I

Investigadores: José Edísio da Silva Tavares Neto, Médico Oftalmologista; Rodrigo Jorge, Docente do Departamento de Oftalmologia

Filiação dos autores: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto U.S.P. - Ribeirão Preto; Avenida Bandeirantes 3900 Ribeirão Preto - SP 14049-900 Brasil Tel.: (16) 3602-2523 Fax: (16) 3602-2860
Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP (16) 3602-2228

Convite para participar

Você está convidado a participar de um estudo que tem como objetivo avaliar a segurança da combinação de duas medicações (bevacizumabe e propranolol) para uso intraocular. A primeira medicação, bevacizumabe, é utilizada rotineiramente de forma intraocular para o tratamento de doenças da retina como edema macular diabético e degeneração macular relacionada a idade com sucesso. A segunda medicação, propranolol, é rotineiramente utilizada para o tratamento da hipertensão arterial e o uso dentro do olho não é informado na bula, pelo fabricante. No entanto, trabalhos científicos que utilizaram medicamentos da mesma classe que esta, dentro do olho, demonstraram segurança e resultados positivos para casos de tumores vasculares da retina e também membranas neovasculares como ocorre na degeneração macular relacionada a idade (DMRI), forma úmida, sendo esta doença o motivo de inclusão do paciente na pesquisa e acreditamos haver benefício na sinergia de ação entre essas duas medicações em uso concomitante intraocular.

Como será feito o estudo

Na primeira consulta o paciente receberá explicações faladas sobre o objetivo do estudo, os riscos e benefícios e os procedimentos que serão realizados. Após esta explicação e resposta das possíveis perguntas o paciente receberá o Termo de Consentimento Livre Esclarecido, que é este documento. Nele está escrito as informações que foram discutidas. Após a leitura o paciente poderá escolher em participar ou não da pesquisa.

Os participantes entrarão no estudo de forma voluntária e sem custos (não pagará pelas consultas, exames ou medicamentos). Os participantes não receberão nenhum dinheiro como forma de pagamento pela participação. Os participantes estarão livres para deixar o estudo a qualquer momento, sem necessidade de explicar o porquê e não serão punidos por sair.

Se o paciente escolher participar da pesquisa, serão realizados os seguintes procedimentos. Exame oftalmológico que envolve a medida da acuidade visual (identificar as letras ou as “perninhas do E” numa tabela distante), o exame em lâmpada de fenda (aparelho em que o paciente encostará o queixo e a testa e é

examinado com uma luz), e mapeamento de retina (exame realizado com um “capacete com uma lâmpada” que ilumina dentro do olho do paciente). Cada etapa será explicada ao paciente antes de ser realizada. Todas as etapas serão realizadas em ambiente calmo e privado. Os exames que necessitam de exposição a luzes, como a lâmpada de fenda e mapeamento de retina, serão realizados com a menor intensidade luminosa (brilho) possível, para evitar desconforto. Todos estes exames serão importantes para identificar o acometimento retiniano pela doença macular relacionada a idade e sua repercussão na visão. O tempo para fazer todos os exames será em média de trinta minutos, e serão repetidos a cada semana, por quatro semanas.

Os exames complementares oftalmológicos da pesquisa serão o estudo eletrofisiológico da retina (exame que avalia as respostas elétricas geradas pela retina), a tomografia de coerência óptica e angio-OCT (exames que avaliam as camadas da retina), angiofluoresceinografia (exame com uso de contraste intravenoso para avaliação da circulação sanguínea retiniana), retinografias (fotos de dentro do olho). Estes exames serão realizados com o paciente sentado, em ambientes calmos e privado após as devidas explicações. Todos estes exames necessitam da colaboração do paciente em manter a fixação (olhar parado) em um alvo ou ponto de luz.

Para o estudo eletrofisiológico é necessário que o paciente permaneça cerca de 20 minutos em uma sala com luz vermelha e após este período será colado eletrodos (dispositivos semelhantes aos utilizados para realização de eletrocardiograma) nas pálpebras de cada olho. O paciente deverá manter a fixação em um ponto luminoso apresentado pelo aparelho e perceberá *flashes* de luz branca e coloridas. O exame é monitorizado pelo pesquisador. O teste dos dois olhos tem duração aproximada de uma hora e será repetido após 90 dias da primeira injeção.

Para a angiofluoresceinografia é necessário que o paciente tenha boa função renal e não tenha história de alergia ao contraste. Neste exame é injetado contraste de nome fluoresceína de forma intravenosa, após realizar acesso venoso periférico. É realizada com o olho dilatado, o paciente terá que manter o olhar fixando em um ponto de luz e escutará um pequeno apito do aparelho. Não sentirá dor ou nenhum desconforto. A duração do exame será de no máximo dez minutos. A angiofluoresceinografia será repetida em 90 dias após a primeira injeção.

A tomografia de coerência óptica e a OCT-A é realizada com o olho dilatado, o paciente terá que manter o olhar fixando em um ponto de luz e escutará um pequeno apito do aparelho. Não sentirá dor ou nenhum desconforto. A duração do exame será de aproximadamente cinco minutos. A tomografia de coerência óptica será repetida após 30 dias da injeção e a OCT-A será repetida 90 dias após a injeção.

As fotos do fundo do olho (retinografia colorida) serão tiradas com o olho dilatado e com a menor intensidade de *flash* possível. A duração do exame será de aproximadamente dez minutos e a frequência será mensal.

Ao longo do estudo os resultados dos diferentes exames complementares serão comparados com aqueles prévios do mesmo paciente, permitindo identificar e comunicar possíveis alterações. Além disso, estes exames são úteis na identificação de outras doenças do olho, como o glaucoma, podendo ajudar no diagnóstico precoce.

Participarão deste estudo até dez pacientes e a duração será de três meses. Ao final do estudo os pacientes serão seguindo nos ambulatórios de Retina e Vítreo do Hospital das Clínicas, segundo os atendimentos de rotina.

Após a primeira consulta será agendado um dia para que o paciente compareça a sala cirúrgica para receber a medicação. Neste dia não é necessário comparecer em jejum, e o paciente irá retornar para casa no mesmo dia. Os riscos das injeções intraoculares incluem infecção do olho, catarata, sangramento dentro do olho, aumento da pressão do olho e descolamento de retina. Todos os pacientes receberão informações verbais sobre o procedimento. Para reduzir o risco de infecção a aplicação será realizada em sala cirúrgica com material estéril e/ou descartável. Será aplicada uma gota de colírio quinze minutos antes e uma gota do mesmo colírio um minuto antes da injeção. Este colírio é para matar parte das bactérias que normalmente vivem no nosso olho e que podem causar infecção, caso sejam levadas para dentro do olho, pela agulha. A técnica da aplicação será cuidadosa em escolher um local do olho que tenham menor chance de causar catarata. Após o procedimento será avaliada a pressão do olho. Se a pressão estiver alta, será feita uma aspiração de líquido de dentro do olho. O tempo total da intervenção será de trinta minutos e será realizada três vezes em intervalos de 30 dias.

Durante a participação no estudo, os pacientes terão acesso à assistência médica oftalmológica contínua e imediata em caso de emergências ou dúvidas relacionadas à pesquisa. Se o paciente escolher participar da pesquisa, concordará com o acesso pelo pesquisador a informações registradas em prontuário médico do HCFMRP-USP e em exames complementares realizados, dentre eles a tomografia de coerência óptica. A coleta destas informações será feita exclusivamente pelos pesquisadores cadastrados e em local reservado dentro do hospital, sem riscos de perda de informações ou prontuário.

Todas as informações dos pacientes envolvidos no estudo serão confidenciais e sua participação será sigilosa. Quando os resultados da pesquisa foram publicados, os participantes não serão identificados pelos nomes. Os participantes no projeto de pesquisa possuem o direito de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa e o fato de assinar este termo de consentimento livre esclarecido não anula este direito nem outros.

Em caso de dúvidas sobre o estudo ou qualquer problema relacionado à pesquisa, o participante poderá contatar os pesquisadores do estudo:

Nome: Dr. José Edísio da Silva Tavares Neto
Telefone: (16) 3602 2323 / (85) 99954-2631
E-mail: edisioneto1@hotmail.com

Nome: Dr Rodrigo Jorge
Telefone: (16) 3602 2523 / (16) 3602 2323

Dúvidas éticas

Um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é composto por um grupo de pessoas que são responsáveis por supervisionam pesquisas em seres humanos que realizadas na instituição e tem a função de proteger e garantir os direitos, a segurança e o bem-estar de todos os participantes de pesquisa que se voluntariam a

participar. O Comitê de Ética em Pesquisa pode ser consultado pelos pesquisadores e pelos participantes em caso de dúvidas.

O CEP do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto está localizado no subsolo do hospital e funciona das 8:00 às 17:00, o telefone de contato é (16) 3602-2228. O endereço é Campus Universitário, Bairro Monte Alegre, CEP 14.048-900 em Ribeirão Preto. E-mail: cep@hcrp.usp.br.

Considerações Finais

Este termo apresenta duas vias originais, uma para o pesquisador e outra para o participante na pesquisa.

Caso tenha entendido, esclarecido as dúvidas e concorde em participar, por favor, escreva seu nome, assine e coloque a data nas duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do Paciente _____

Assinatura do Paciente: _____

Ribeirão Preto _____ de _____, 20__

OU

Responsável Legal do Paciente: _____

Assinatura do Responsável: _____

Ribeirão Preto _____ de _____, 20__

Nome do pesquisador: _____

Assinatura do pesquisador _____

Ribeirão Preto _____ de _____, 20__