

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

LUIZA TOSCANO DIAS RODRIGUES

**Fotocoagulação direcionada a áreas isquêmicas *versus*
panfotocoagulação padrão ETDRS associadas a
Ranibizumabe intravítreo para o tratamento da
retinopatia diabética proliferativa**

RIBEIRÃO PRETO

2021

LUIZA TOSCANO DIAS RODRIGUES

**Fotocoagulação direcionada a áreas isquêmicas *versus*
panfotocoagulação padrão ETDRS associadas a
Ranibizumabe intravítreo para o tratamento da
retinopatia diabética proliferativa**

Versão corrigida

Versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa de Pós-
graduação

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

2021

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

Rodrigues, Luiza Toscano Dias Rodrigues

Fotocoagulação direcionada a áreas isquêmicas *versus* panfotocoagulação padrão ETDRS associadas a Ranibizumabe intravítreo para o tratamento da retinopatia diabética proliferativa. / Luiza Toscano Dias Rodrigues; Orientador, Rodrigo Jorge. Ribeirão Preto. - 2021.

109p.: 6il.; 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, 2021.

1. Edema macular. 2. Fotocoagulação. 3. Retinopatia diabética proliferativa. 4. Ranibizumabe.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluno: Luiza Toscano Dias Rodrigues

Título: **Fotocoagulação direcionada a áreas isquêmicas versus panfotocoagulação padrão ETDRS associadas a Ranibizumabe intravítreo para o tratamento da retinopatia diabética proliferativa**

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

À Graça, minha mãe e guia, grande mulher; meu exemplo de vida e principal incentivadora na realização deste estudo;

Ao Mauro, marido amado e amigo presente;

À Jana, Maria Carmen e Yara, minhas irmãs, que são meu porto-seguro para todas as horas.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Rodrigo Jorge, exemplo de brilhantismo, dedicação e competência, cujos ensinamentos levarei para a vida toda e foram indispensáveis à realização deste sonho;

Ao Professor Dr. André M. Vieira Messias, por compartilhar sua sabedoria e solicitude essenciais para a conclusão deste estudo;

À Dra. Rafaella Cenço, pela inestimável ajuda em todas as fases da pesquisa;

Aos meus irmãos de coração, Ignácio Tavares e Walter Mendes, por serem tão prestativos e presentes em minha vida;

Aos meus sogros, Natalino e Elza, e minhas cunhadas, Mariana e Renata, pela torcida para o meu sucesso;

Aos meus tios e primos, pelo apoio e encorajamento em tudo que faço;

Às Dra. Katharina Messias, pela solicitude e ajuda indispensável na coleta e interpretação de dados;

À estimada Lucélia Albieri, pela disponibilidade e competência;

À Maria Cecília Onofre, pelo suporte durante as etapas da pós-graduação;

À Andreia Baptista e a todos os funcionários que foram tão importantes na coleta de dados e no acolhimento de todos os envolvidos nesta pesquisa;

Aos meus colegas pós-graduandos, *fellows* e residentes, que me apoiaram e acompanharam na trajetória acadêmica;

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação, pelos seus ensinamentos e disponibilidade;

A todos que, de alguma forma, acrescentaram para a realização deste estudo.

Apoio Financeiro

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**).

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

Rodrigues LTD. **Fotocoagulação direcionada a áreas isquêmicas versus panfotocoagulação padrão ETDRS associadas a Ranibizumabe intravítreo para o tratamento da retinopatia diabética proliferativa.** 2021. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2021.

Introdução: A fotocoagulação direcionada a áreas de isquemia (ISQ-RP) é uma opção promissora para reduzir os efeitos colaterais da fotocoagulação panretiniana (PRP). **Objetivos:** Comparar os efeitos da PRP, como proposta pelo ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research), *versus* a ISQ-RP no tratamento da retinopatia diabética proliferativa (RDP). **Casística e Métodos:** Pacientes com RDP foram randomizados para os grupos de tratamento de PRP padrão ETDRS associada a injeções intravítreas ou ISQ-RP associada a injeções intravítreas. A acuidade visual melhor corrigida (AVMC) e espessura de subcampo central (CSFT) medida na tomografia de coerência óptica (OCT) foram registradas no *baseline* e a cada quatro semanas durante um ano. A área de vazamento de fluoresceína (FLA) a partir de neovasos ativos foi medida a cada 12 semanas. O eletrorretinograma (ERG) de campo total foi medido seguindo as recomendações do padrão ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision) no *baseline* e após três meses de seguimento. **Resultados:** Vinte e oito olhos completaram o período do estudo. No *baseline*, a média±DP na AVMC (logMAR) foi de 0.44±0.07 e 0.37±0.08 (p=0.5030); A CSFT (µm) foi 324.0±20.4 e 330.1±22.1 (p=0.8417) e a área de vazamento de FLA (mm²) foi 16.10±4.42 e 9.97±1.83 (p=0.2114), para os grupos PRP+IVR (ranibizumabe intravítreo) e ISQ-RP, respectivamente. Não houve alterações relevantes na AVMC ou CSFT, mas redução significativa na FLA foi observada em todas as visitas comparadas ao *baseline* em ambos os grupos, sem diferenças significativas entre eles. O ERG demonstrou amplitudes reduzidas de adaptação ao escuro, e essas alterações também foram significativamente ampliadas após o tratamento com laser. A amplitude de onda b dos bastonetes foi mais reduzida em 62 ± 6% para o grupo PRP e 59 ± 4% para o grupo ISQ-RP, mas sem diferenças significativas entre os grupos (p=0.9082). **Conclusões:** A ISQ-RP ou PRP são estratégias comparáveis em relação ao controle do vazamento de FLA por neovasos ativos no tratamento da RDP e levam à disfunção semelhante na função retiniana, baseado em alterações no ERG em um ano de seguimento.

Palavras-chave: Edema macular. Fotocoagulação. Retinopatia diabética proliferativa. Ranibizumabe.

Abstract

Rodrigues LTD. **Targeted photocoagulation versus standard ETDRS panretinal photocoagulation plus intravitreal Ranibizumab for the treatment of proliferative diabetic retinopathy.** 2021. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2021.

Background: targeted retinal photocoagulation to retinal ischemic areas (PIR) is a promising option to reduce side effects of panretinal photocoagulations (PRP). **Objectives:** Compare the effects retinal photocoagulation, as proposed by the ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research), versus PIR in proliferative diabetic retinopathy (PDR). **Casuistic and Methods:** PDR patients were randomly assigned to treatment with either PRP+IVR (intravitreal ranibizumab) or PIR+IVR. ETDRS Best-corrected visual acuity (BCVA) and central subfield thickness (CSFT) measured on optic-coherence tomography images (OCT) were recorded at baseline and every 4 weeks for one year. Fluorescein leakage area (FLA) from active new vessels was measured every 12 weeks. Full-field ERG (electroretinogram) was recorded following ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision) standard recommendations, at baseline and after 3 months. **Results:** Twenty-eight eyes completed the study period. At baseline, mean \pm SE BCVA (logMAR) was 0.44 ± 0.07 and 0.37 ± 0.08 ($P=0.5030$); CSFT (μm) was 324.0 ± 20.4 and 330.1 ± 22.1 ($P=0.8417$) and FLA (mm^2) was 16.10 ± 4.42 and 9.97 ± 1.83 ($P=0.2114$) for PRP+IVR and PIR+IVR groups, respectively. There were no relevant changes on BCVA or CSFT, but a significant reduction for FLA was observed at all visits compared to baseline for both groups, with no differences between groups. ERG showed at baseline reduced dark-adapted amplitudes, and these changes were also significantly amplified after laser treatment. ROD b-wave amplitude was further reduced in $62 \pm 6\%$ for PRP+IVR and $59 \pm 4\%$ for group PIR+IVR, but with no between-groups significant difference ($P=0.9082$). **Conclusions:** PIR+IVR or PRP+IVR are comparable strategies regarding FLA control in PDR and led to similar retinal function impairment, based on ERG changes up to one-year follow up.

Key words: Macular edema. Photocoagulation. Proliferative diabetic retinopathy. Ranibizumab.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estágios da retinopatia diabética. (A) sem retinopatia aparente; (B) retinopatia diabética não proliferativa; (C) retinopatia diabética proliferativa	29
Figura 2 - Fase tardia da angiofluoresceinografia na retinopatia diabética proliferativa com vazamento de fluoresceína por neovasos ativos em setor temporal inferior	30
Figura 3 - Mecanismos de dano microvascular causado pela hiperglicemia	38
Figura 4 - Exemplos de formas de ondas das respostas elétricas registradas no protocolo padrão internacional de eletrofisiologia da visão (ISCEV)	73
Figura 5 - Diferença em relação ao <i>baseline</i> na área de vazamento de fluoresceína (FLA) pela angiografia, acuidade visual melhor corrigida (AVMC) e espessura do subcampo central (CSFT) durante 48 semanas	80
Figura 6 - Correlação entre a área de vazamento de fluoresceína em mm ² na visita inicial e o número de injeções intravítreas de ranibizumabe necessárias para o controle de neovasos ativos em ambos os grupos	89

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características demográficas dos pacientes incluídos no estudo	78
Tabela 2 - Média \pm SE AVMC, FLA e CMT (espessura foveal central) em todas as visitas.....	81
Tabela 3 - Média \pm SE da amplitude do ERG no <i>baseline</i> e depois de 12 semanas de tratamento para ambos os grupos	82

Lista de Símbolos e Abreviaturas

ACE-	Enzima conversora da angiotensina
ADA-	<i>American Diabetes Association</i>
ADP-	poli-5'-fosfato
AGEs-	Produtos finais de glicação avançada
ANVISA-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AR-	Aldose redutase
ATP-	Adenosina trifosfato
ATPase- Na⁺-K⁺-	Adenosina trifosfatada
AV-	Acuidade visual
AVMC-	Acuidade visual melhor corrigida
BK-	Caliceína-bradicinina
BK1R-	Receptor BK1
BK2R-	Receptor BK2
CMT-	Espessura macular central (do inglês <i>central macular thickness</i>)
CSFT-	Espessura de subcampo central
DAG-	Diacilglicerol
DER-	Descolamento exsudativo de retina
DHAP-	Fosfato de dihidroxiacetona (do inglês, <i>dihydroxyacetone phosphate</i>)
DM-	Diabetes <i>mellitus</i>
DMIDT1-	Diabetes <i>mellitus</i> insulínodépendente tipo 1
DMNIDT2-	diabetes <i>mellitus</i> não insulínodépendente tipo 2
DMT1-	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1
DMT2-	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DRSS-	<i>Diabetic Retinopathy Severity Scale</i>

EDI-OCT-EMD-	<i>Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography</i> Edema macular diabético
eNOS-	Sintase do óxido nítrico endotelial
EPR-	Epitélio pigmentado da retina
ERE-	Estresse do retículo endoplasmático
ERG-	Eletrorretinograma
ET-1-	Endotelina 1
ETDRS-	<i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research</i>
FA-	Angiofluoresceinografia
FAB-	Fragmento de ligação ao antígeno
FADH2-	Dinucleotídeo de flavina e adenina (do inglês <i>Flavin adenine dinucleotide</i>)
FLA-	Área de vazamento de fluoresceína
GFAT-	Glutamina-frutose-6-fosfato amidotransferase
GAP-	Gliceraldeído-3-fosfato
GAPDH-	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GR-	Glutathione redutase
GSH-	Glutathione
GSH-Px-	Glutathione peroxidase
H₂O₂-	Peróxido de hidrogênio
HbA1c-	Hemoglobina glicosilada
HCFMRP-USP-	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.
HIF-1α-	Hipóxia 1-alfa
IRMAS-	Anormalidades microvasculares intrarretinianas

ISCEV-	<i>International Society for Clinical Electrophysiology of Vision</i>
ISQ-RP-	Fotocoagulação direcionada a áreas de isquemia
IVR-	Ranibizumabe intravítreo
KKS-	Sistema caliceína-cinina
LDL-	Lipoproteína de baixa densidade
MAPK-	Proteína quinase ativada do mitogênio
MG-	Metilglioxal
NAD⁺-	Nicotinamida adenina dinucleotídeo (oxidado)
NADH-	Dinucleótido de nicotinamida e adenina (reduzido)
NADPH-	Fosfato da nicotinamida adenina dinucleotídeo
NF-κB-	Fator nuclear κB
NOS-	Sintase do óxido nítrico
NV-	Neovascularização
NVC-	Neovascularização de coroide
NVD-	Neovasos do disco
NVE-	Neovasos extradiscais
O₂⁻-	Anion superóxido
OCT-	Tomografia de coerência óptica
O-GlcNAc-	Oglicosil-N-acetilação
OH-	Radical hidroxidil
OMS-	Organização Mundial de Saúde
PDGF-	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PEDF-	Fator derivado do epitélio pigmentado
PIGF-	Fator de crescimento placentário

PKC-	Proteína-quinase C
PRP-	Fotocoagulação panretiniana
RAGEs-	Receptor dos produtos finais de glicação avançada
RAS-	Sistema renina-angiotensina
RAAS-	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
RD-	Retinopatia diabética
RDNP-	Retinopatia diabética não proliferativa
RDNPL-	Retinopatia diabética não proliferativa leve
RDNPS-	Retinopatia diabética não proliferativa severa
RDP-	Retinopatia diabética proliferativa
RE-	Retículo endoplasmático
ROS-	Espécies reativas do oxigênio
RP-	Retinopatia proliferativa
SOD-	Superóxido dismutase
SDH-	Sorbitol desidrogenase
SDHA-	Subunidade A da flavoproteína do complexo desidrogenase succinato
SHP-1-	Fosfatase-1
STZ-	Estreptozotocina
TCLE-	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TRP-	Fotocoagulação retiniana direcionada
TXNIP-	proteína tioredoxina interatina
UBM-	Biomicroscopia ultrassônica
UDP-GlcNAc-	UDP-N-acetil glucosamina
UWF-	<i>Ultra wide field</i>
VEGF-	Fator de crescimento do endotélio vascular
WESDR-	<i>Wiscosin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1. Diabetes e retinopatia diabética	23
1.2. Classificação da retinopatia	28
1.3. Epidemiologia	30
1.4. Fatores de risco	32
1.4.1. Glicemia.....	32
1.4.2. Hipertensão	32
1.4.3. Lipídios séricos	33
1.4.4. Outros fatores de risco.....	34
1.4.5. Fatores genéticos	34
1.5. Fisiopatologia.....	35
1.5.1. Mecanismos de injúria molecular.....	36
1.5.2. Hiperglicemia na retinopatia diabética	37
1.5.3. Espécies reativas de oxigênio (ROS) na retinopatia diabética	39
1.5.4. Ativação de PKC em tecidos vasculares.....	41
1.5.5. A ativação da PKC e o desenvolvimento de retinopatia diabética.....	41
1.5.6. A ativação da via do diacilglicerol (DAG) e o diabetes	42
1.5.7. A via do polioliol e a patogênese das complicações microvasculares do diabetes.....	43
1.5.8. O sistema renina angiotensina (RAS) e a patogênese das complicações microvasculares do diabetes	43
1.5.9. Estresse do retículo endoplasmático (ERE) e complicações microvasculares diabéticas.....	44
1.5.10. Glicação proteica e complicações microvasculares do diabetes.....	44
1.5.11. O sistema calicreína-bradicinina e o desenvolvimento de complicações microvasculares diabéticas.....	45
1.5.12. Polimorfismos relacionados à retinopatia diabética	46
1.6. PDGF e VEGF	48
1.7. Edema macular diabético.....	51
1.8. Tratamento.....	52
1.8.1. Fotocoagulação a LASER.....	52
1.8.1.1. Complicações da fotocoagulação a LASER.....	54
1.8.1.2. Efusão/descolamento ciliocoroidal.....	54
1.8.1.3. Descolamento exsudativo da retina	55
1.8.1.4. Neovascularização de coróide.....	56
1.8.1.5. Edema macular secundário à panfotocoagulação	56
1.8.1.6. Alterações visuais.....	57
1.8.2. Fotocoagulação direcionada a áreas de isquemia	58
1.8.3. Ranibizumabe (Lucentis®).....	60
1.8.4. Associação terapêutica: Anti-VEGF + panfotocoagulação	62
1.8.5. Angiofluoresceinografia de grande angular.....	63
2. OBJETIVOS.....	65
2.1. Objetivo geral	66
2.2. Objetivos específicos.....	66
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	67
3.1. Considerações éticas	68
3.2. Pacientes e grupos.....	68

3.2.1. Critérios de inclusão	68
3.2.2. Critérios de exclusão	68
3.3. Métodos de avaliação.....	70
3.4. Fotocoagulação a LASER	74
3.4.1. Panfotocoagulação a LASER (ETDRS)	74
3.4.2. Fotocoagulação a LASER direcionada a áreas de má perfusão capilar	74
3.4.3. Injeção intravítrea de ranibizumabe	75
3.4.4. Avaliação basal e visitas de seguimento.....	75
3.5. Critérios de retratamento	75
3.6. Critérios de resgate	76
3.7. Características da amostra.....	76
3.8. Métodos estatísticos.....	76
4. RESULTADOS.....	77
4.1. Áreas de vazamento por neovasos ativos (FLA)	78
4.2. Acuidade visual melhor corrigida (AVMC).....	79
4.3. Espessura de subcampo central (CSFT)	79
4.4. Eletrorretinografia.....	81
4.5. Eventos adversos.....	82
5. DISCUSSÃO	83
6. CONCLUSÕES	91
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
8. ANEXO.....	103
9. APÊNDICE.....	105

1- Introdução

1.1 Diabetes e retinopatia diabética

A glicose sanguínea é uma fonte primária de energia para o metabolismo celular e é regulada por secreção de hormônios pancreáticos, insulina ou glucagon. Em condições de baixas concentrações de glicose no sangue (hipoglicemia), ocorre a liberação do glucagon pelas células alfa pancreáticas e estimula o fígado a liberar a glicose armazenada na corrente sanguínea. Quando existe alta concentração de glicose sanguínea (hiperglicemia) ocorre aumento na liberação de insulina pelas células beta pancreáticas (Petersmann et al., 2019).

O diabetes é uma doença metabólica crônica caracterizada por elevados níveis de glicose no sangue, que leva a danos sérios ao coração, vasos sanguíneos, olhos, rins e nervos (Banday et al., 2020). Aproximadamente 463 milhões de adultos (20-79 anos) vivem com diabetes. Em 2045, esta população aumentará para cerca de 700 milhões (International Diabetes Federation - IDF, 2019). É a doença endócrina que mais frequentemente cursa com alterações oculares, sendo a retinopatia diabética (RD) a principal causa de cegueira e deficiência visual em adultos economicamente ativos, associada a baixa qualidade de vida, níveis menores de bem-estar psicossocial e maior risco de outras complicações e mortalidade (Fenwick et al., 2012; Rees et al., 2016). No Brasil, em estudo multicêntrico, estimou-se que a prevalência de RD em pacientes diabéticos seja de aproximadamente 36% (Melo et al., 2018).

O diabetes pode ser dividido em duas categorias: Idiopático e secundário. O diabetes idiopático possui dois tipos principais: (1) diabetes *mellitus* insulino dependente tipo 1 (DMIDT1), em que as células beta produtoras de insulina são destruídas por uma reação antígeno-anticorpo; (2) diabetes *mellitus* não insulino dependente tipo 2 (DMNIDT2), que se caracteriza pela resistência à insulina, evidenciada pela inabilidade das células em utilizarem a insulina circulante. O diabetes secundário está relacionado a um número diverso de patologias do pâncreas e outros órgãos endócrinos, algumas doenças genéticas específicas, gravidez e drogas como glicocorticoides, diuréticos, dentre outras (Petersmann et al., 2019).

O diabetes pode causar diversas complicações, como doença cardiovascular, doença renal, neuropatia, cegueira e amputação de extremidade, que são causas significativas do aumento da morbidade e mortalidade e resultam em impacto econômico importante. Com os avanços no tratamento dessa doença e de suas consequências, seus portadores vivem mais, o que contribui para o aumento da morbidade associada à patologia (Harding et al., 2019). O diabetes está ainda relacionado a uma série de complicações oculares que variam desde a RD de fundo até retinopatia diabética proliferativa (RDP), catarata, oftalmoplegia, disfunção corneana, glaucoma, neuropatia isquêmica, entre outras. A RD é, sem dúvida, a mais frequente e importante complicação relacionada à referida patologia. A gravidade do seu acometimento varia de acordo com uma série de fatores que incluem tempo de doença, níveis de glicose sérica e hemoglobina glicosilada (HbA1c), níveis tensionais, consumo de álcool e tabagismo, entre outros (Vieira-Potter; Karamichos; Lee, 2016).

Sabe-se que algumas alterações subclínicas na fisiologia dos vasos retinianos (microaneurismas e pontos de hemorragias que podem ser detectados pela oftalmoscopia) ocorrem em pessoas com diabetes antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos. Essas alterações incluem quebra na barreira hematorretiniana e aumento do fluxo sanguíneo retiniano, provavelmente devido a distúrbios na autorregulação. Outro achado precoce é o alargamento das veias retinianas, sendo sugerido que a medida do diâmetro venular pode fornecer para RD um estágio ainda mais precoce que os microaneurismas e as hemorragias em ponto-borrão (Wang; Lo, 2018).

Os microaneurismas são dilatações capilares decorrentes do enfraquecimento da parede capilar devido à diminuição do número de pericitos. Inicialmente, a maior parte dos microaneurismas situa-se no lado venoso e mais tardiamente surgem no lado arterial dos capilares. Devido à sua permeabilidade, ocorre acúmulo de água e lipídios na retina. Quando há ruptura dos microaneurismas surgem hemorragias intrarretinianas. Se essa hemorragia é profunda (camada nuclear interna ou plexiforme externa), apresenta forma oval ou redonda. As hemorragias mais superficiais (camada de fibras nervosas) assumem o padrão de chama de vela, indistinguíveis das ocorridas na retinopatia hipertensiva (Wang; Lo, 2018).

Após o aparecimento de microneurismas retinianos e/ou hemorragias em ponto-borrão, a retinopatia pode progredir com o aparecimento de outras anormalidades retinianas não proliferativas, como os exsudatos duros (depósitos lipídicos na retina derivados do vazamento lipoprotéico da microvasculatura retiniana), manchas algodinosas (infartos localizados na camada de fibras nervosas da retina), anormalidades microvasculares intrarretinianas (IRMAS) (canais capilares dilatados em áreas de retina isquêmica) e ensalsichamento venoso (dilatação irregular das veias retinianas associada à isquemia importante).

Na retinopatia diabética não proliferativa (RDNP) grave aparecem sinais de hipóxia retiniana incluindo: hemorragias múltiplas, manchas algodinosas, IRMAs e aumento da tortuosidade venosa. As manchas algodinosas são causadas por oclusão das arteríolas pré-capilares levando a infartos nas camadas de fibras nervosas. As IRMAs, hemorragias retinianas múltiplas, alterações venosas, áreas de não perfusão capilar e o extravasamento difuso, à angiografia, são fatores de risco para o desenvolvimento da retinopatia proliferativa (RP) (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study - ETDRS, 1991c). Aproximadamente 50% dos pacientes com RDNP progridem para RP grave em um ano (ETDRS, 1991a).

A retinopatia pode, então, progredir para o estágio proliferativo, caracterizado pelo desenvolvimento de novos vasos retinianos e tecido fibroso no disco óptico ou próximo a vasos em qualquer parte da retina (Figura 1C). Esses novos vasos, geralmente se originam das vênulas e podem sangrar, resultando em hemorragia pré-retiniana e vítrea, e o tecido fibrovascular pode causar tração na mácula, resultando em perda de visão. Quando estão a menos de 1 mm do disco óptico ou se originam do mesmo, são denominados neovasos do disco (NVD). Quando estão situados a mais de 1 mm do disco óptico recebem outra denominação (neovasos extradisciais - NVE). Os NVE quase sempre crescem em direção, ou estão situados em áreas retinianas de não perfusão capilar. No entanto, a não perfusão capilar é mais abundante em olhos com NVD do que naqueles com NVE (Shimizu, Kobayashi, Muraoka, 1981). Curiosamente, os NVE são menos frequentes em pacientes maiores de quarenta anos do que naqueles menores de quarenta anos de idade. Apesar do curso usual da RD ser a progressão para doença proliferativa, a

regressão espontânea dos novos vasos retinianos pode acontecer em qualquer estágio.

De maneira geral, os neovasos tendem a crescer ao longo das áreas de menor resistência, o que explica sua presença no disco óptico devido à ausência de uma membrana limitante interna verdadeira. Pelo mesmo princípio, a face vítrea posterior não descolada é um local frequente de crescimento de neovasos. Associada aos neovasos, ocorre a formação de tecido conectivo levando ao aparecimento de tecido fibrótico, que pode ser vascular ou avascular. A variedade fibrovascular está, geralmente, relacionada com vasos que se estendem dentro da cavidade vítrea ou com neovasos na superfície da retina ou do disco. A variedade avascular, geralmente, resulta do espessamento da face hialoide posterior.

As alterações da RP levam a hemorragias vítreas severas ou descolamento de retina, podendo ocorrer a total perda da percepção luminosa. Há muito se estabeleceu que contrações vítreas súbitas podem levar à ruptura dos neovasos causando hemorragia vítrea. Outra complicação que pode estar presente é o descolamento de retina, que pode ser causado pela tração somente (tracional), ou além da tração, também ser causado por rotura da retina (regmatogênico). A tração vítrea também pode causar áreas de retinosquise de difícil diferenciação com áreas de descolamento tracional.

Baseada nas alterações da retina acima descritas, a RDP foi dividida em:

- 1. RD com características de baixo risco de perda visual grave:**
caracteriza-se pela presença de NVE, neovasos de disco menores que $\frac{1}{4}$ de diâmetro de disco; hemorragia vítrea ou pré-retiniana, com NVE menor que meio diâmetro de disco óptico, sem NVD;
- 2. RD com características de alto risco de perda visual grave (perda visual grave = acuidade visual [AV] menor que 5/200):** NVD maiores que $\frac{1}{4}$ de diâmetro de disco; NVD associados à hemorragia vítrea ou pré-retiniana; NVE maiores que meio diâmetro de disco associado à hemorragia vítrea ou pré-retiniana;

3. RDP Avançada: presença de descolamento de retina tracional, ou hemorragia vítrea que impeça a classificação de NVD e NVE.

Edema macular (espessamento da retina na área macular) também pode se desenvolver e regredir sem tratamento. Perda de AV pode ser resultado de edema macular ou RDP.

A hiperglicemia é um fator importante da patogênese da RD, induzindo alterações bioquímicas, fisiológicas, reológicas, hormonais, entre outras. Essas anormalidades estão associadas ao desenvolvimento de transformações anatômicas na retina diabética, como a perda de pericitos, anormalidades nas células endoteliais, capilares acelulares e do EPR.

Apesar de se acreditar que a retinopatia resulte dos efeitos da hiperglicemia, hipertensão e níveis séricos elevados de lipídios na microvasculatura da retina, também há evidência de que ocorram, simultaneamente, alterações neurodegenerativas nas células neuronais retinianas. Essas alterações são associadas a controle prejudicado do metabolismo do neurotransmissor glutamato, apoptose nas células ganglionares e camadas nucleares internas e ativação das células microgliais, resultando em inflamação localizada, que ocasiona a perda da atividade sináptica e de dendritos. Níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro também estão diminuídos. Pesquisadores postularam que essas alterações neuronais podem contribuir para o desenvolvimento da retinopatia pelo prejuízo da autorregulação e integridade vascular em pessoas com DMT2 (Altmann; Schmidt, 2018; Rübsam; Parikh; Fort, 2018).

As respostas de *flicker* retinianos são prejudicadas antes do aparecimento da retinopatia em pessoas com diabetes *mellitus* tipo 1 (DMT1). A neuropatia pode envolver nervos da córnea e pupila, além dos neurônios retinianos. As alterações neurodegenerativas retinianas podem se manifestar clinicamente como uma habilidade diminuída de diferenciar o azul do amarelo, diminuição na adaptação ao escuro, assim como nas amplitudes das ondas a e b, alterações nos potenciais oscilatórios gerados pelos neurônios retinianos internos e na sensibilidade ao contraste (Kim et al., 2020).

1.2 Classificação da retinopatia diabética

Como o adequado manejo da RD pode prevenir 90% dos casos de perda visual, é extremamente importante classificar o estágio da doença para estabelecer a terapia adequada. Principalmente em casos como o DM, em que a intervenção multidisciplinar (retinólogos, oftalmologistas generalistas, endocrinologistas, nutricionistas e outros profissionais afins) é necessária, a clareza na comunicação entre colegas de diferentes especialidades é essencial para proporcionar aos pacientes o melhor cuidado possível (Wu et al., 2013). Uma das classificações mais usadas é a do *International Clinical Disease Severity Scale for DR*". Esta foi uma tentativa de simplificar uma classificação anterior da RD e é baseada no *Wiscosin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy* (WESDR) e no ETDRS. É uma classificação simples de usar e lembrar, baseada em evidência científica. Segundo ela, existem cinco estágios da RD. No primeiro deles, "sem retinopatia aparente", não existem alterações fundoscópicas do diabetes (Figura 1A). O segundo estágio é o "retinopatia diabética não proliferativa leve" (RDNPL), caracterizado pela presença de microaneurismas. O terceiro é "retinopatia diabética não proliferativa moderada" (RDNPM) (Figura 1B), em que se observam microaneurismas, hemorragias intrarretinianas ou ingurgitamento venoso que não atinjam os critérios para classificá-la como severa (retinopatia diabética não proliferativa severa - RDNPS), o quarto estágio é baseado na regra 4:2:1 do ETDRS, em que não existe neovascularização (NV), porém um dos três critérios abaixo precisa ocorrer para classificação neste estágio:

- a) hemorragias abundantes nos quatro quadrantes e/ou;
- b) ingurgitamento venoso em dois quadrantes e/ou;
- c) IRMAS em pelo menos um quadrante.

Finalmente, o último estágio, o da RDP (Figura 1C), caracterizado por NV do disco, da retina, íris e do ângulo, hemorragia vítrea ou descolamento de retina tracional.

Figura 1 - Estágios da retinopatia diabética. **(A)** sem retinopatia aparente; **(B)** retinopatia diabética não proliferativa; **(C)** retinopatia diabética proliferativa

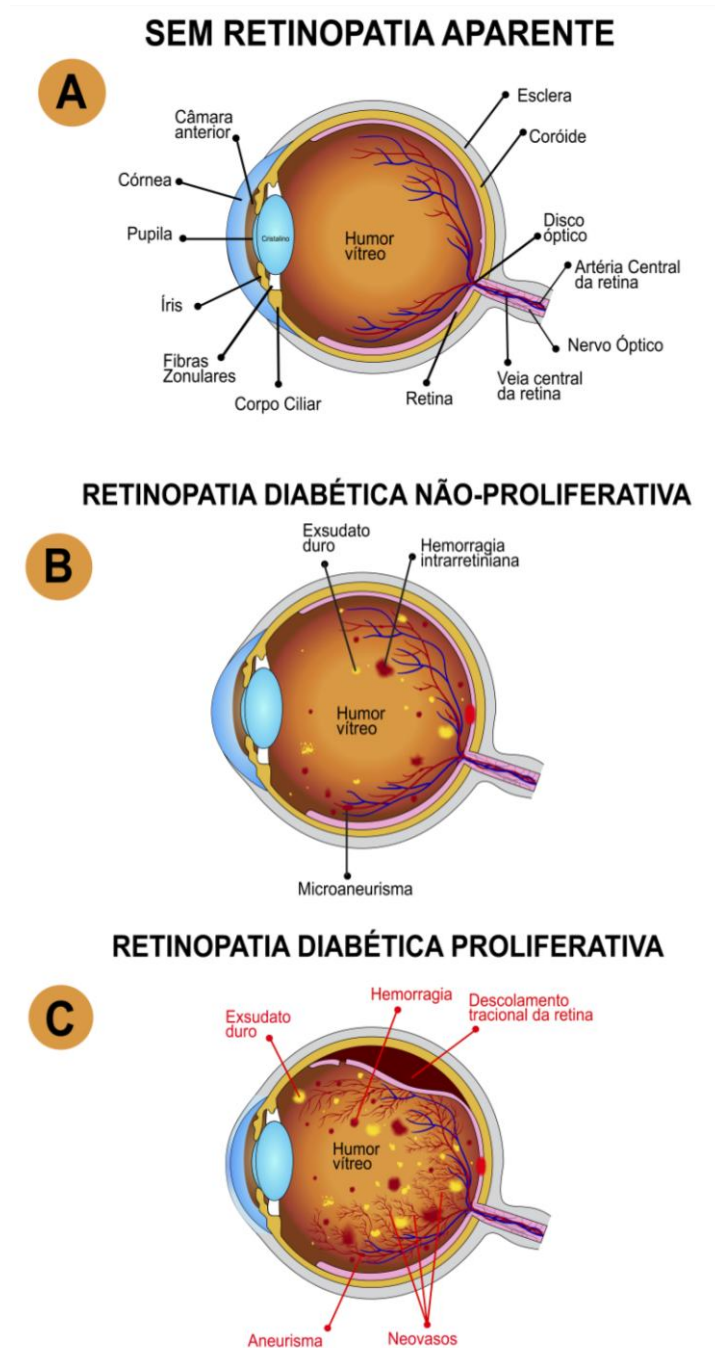
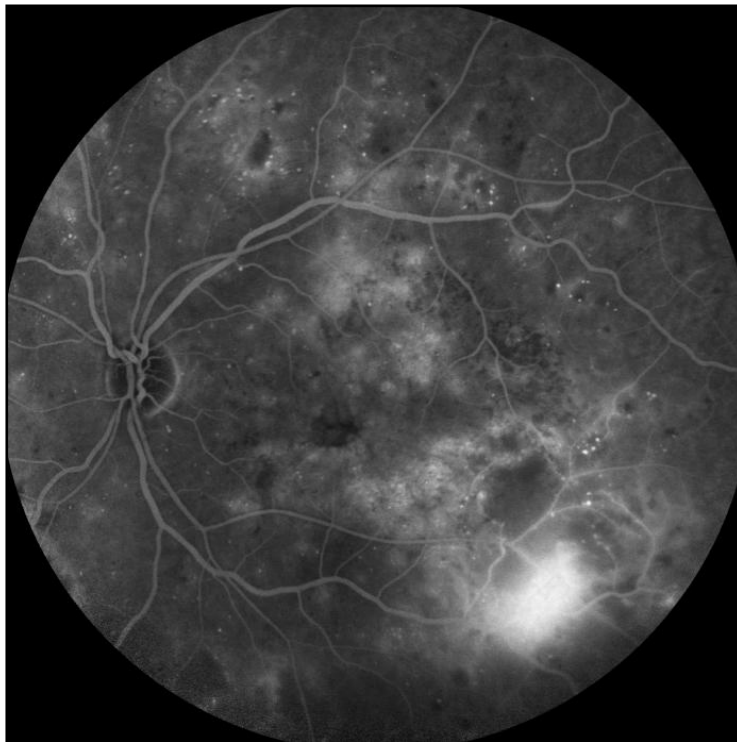


Figura 2 - Fase tardia da angiofluoresceinografia na retinopatia diabética proliferativa com vazamento de fluoresceína por neovasos ativos em setor temporal inferior



Na presença de edema macular, este pode ser classificado adicionalmente em leve, moderado ou severo, dependendo da distância dos exsudatos e do espessamento do centro da fóvea. Outras classificações já foram propostas para a RD, como a “Modified Airlie House Classification”, a classificação pela angiografia fluoresceínica (FA), ou pela tomografia de coerência óptica (OCT); porém por serem mais complexas e demoradas, não são tão utilizadas na prática clínica (ETDRS, 1991b; Wu et al., 2013).

1.3 Epidemiologia

No mundo, em 2019, cerca de 463 milhões de pessoas eram diabéticas. A estimativa é que em 2045 este número chegue a 700 milhões de pessoas, aumento de 51% ao longo deste período. Na América do Sul e Central, em 2019, havia cerca de 32 milhões de diabéticos, sendo que dois em cada cinco não eram diagnosticados. Estima-se que em 2045 a população de diabéticos nessa região

será de 49 milhões. Dos países da América do Sul e Central, o Brasil é o que tem maior número de portadores dessa doença (16,8 milhões em 2019) (IDF, 2019).

O número de pessoas com diabetes aumentou de 108 milhões em 1980 para 422 milhões em 2014, e sua prevalência global de 4,7% em 1980 para 8,5% em 2014, sendo este aumento maior em países de média e baixa renda. Em 2016, estimou-se que cerca de 1,6 milhões de mortes foram causadas diretamente pelo diabetes e outros 2,2 milhões foram atribuídas a níveis elevados de glicemia em 2012. Cerca de metade das mortes atribuíveis à hiperglicemia ocorrem em menores de 70 anos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que o diabetes foi a sétima causa de morte em 2016 (WHO, 2018). Ainda, de acordo com a OMS, estima-se que a RD contabiliza 4,8% dos casos de cegueira no mundo (37 milhões). Uma análise de 22896 pessoas diabéticas de 35 estudos populacionais nos Estados Unidos, na Austrália, Europa e Ásia (entre 1980 e 2008) mostrou que a prevalência geral da RD era de 34,6% (95% CI 34,5-34,8) com 7% (6,9-7,0) em que a doença ameaçava a visão (Ting; Cheung; Wong, 2016).

No estudo WESDR (Klein et al., 1984), a prevalência de RD em pacientes com DMT1 foi de 17% naqueles com menos de cinco anos de diabetes e de 98% nos com 15 ou mais anos. Nesse mesmo estudo, a RP estava ausente naqueles com duração menor do diabetes, mas presente em 48% dos pacientes com 15 ou mais anos de doença. Para pessoas com aparecimento mais tardio do DMT2 com menos de cinco anos de doença a prevalência de retinopatia de qualquer tipo foi de 28% (sendo 2% da forma proliferativa), ao passo que no grupo com 15 ou mais anos de diabetes a prevalência foi de 78% (sendo 16% de proliferativa). No Brasil, em um estudo multicêntrico realizado entre 2010 e 2014, a prevalência de RD entre pacientes diabéticos foi de 35,7%, dos quais 12% apresentaram quadro ameaçador à visão. Os fatores de risco encontrados nesse estudo foram: duração mais longa do diabetes, níveis maiores de HbA1c e de ácido úrico sérico (Melo et al., 2018).

A RD é um problema de saúde global. A detecção e o tratamento precoces permitem a prevenção da deficiência visual associada. Os pacientes requerem seguimento regular com clínicos para otimizar sua glicemia, pressão arterial e o controle de lipídios para prevenir ou retardar o aparecimento e a progressão da RD e outras complicações relacionadas à doença. Com o aumento progressivo na sua

incidência e prevalência no mundo, é essencial o melhor entendimento do impacto econômico e psicossocial da RD para o planejamento de políticas públicas visando o diagnóstico e tratamento precoce, assim como a reabilitação dos pacientes acometidos.

1.4 Fatores de risco

1.4.1 Glicemia

Vários estudos confirmaram o papel do mau controle glicêmico como fator de risco importante para o desenvolvimento de RD em pacientes com DMT1 (DCCT, 1993; Hainsworth et al., 2019) e DMT2 (UKPDS, 1998; ACCORD, 2007; ACCORDION, 2016).

Para terapia intensiva, o protocolo da Associação Americana de Diabetes (ADA) sugere um alvo de nível de A1c de 7.0% para reduzir o risco de perda visual pela RD em pessoas com diabetes. Dados dos ensaios ACCORD e ADVANCE apontam para a necessidade de individualizar o tratamento intensivo, especialmente em pacientes com DMT2 de longa duração, que têm ou estão em risco de desenvolvimento de doença cardiovascular. Os achados desses estudos podem levar à redução do nível de pessoas com DMT2, alcançando a meta do protocolo da ADA com A1c de <7% (ADVANCE, 2001; ACCORD, 2007; ADA, 2016).

1.4.2 Hipertensão

Hipertensão não controlada em pessoas com DMT1 e DMT2 é associada com RD. Os dados sugerem que o seu efeito no fluxo sanguíneo pode danificar as células endoteliais dos capilares, resultando no desenvolvimento e na progressão da doença. O estudo UKPDS (1998) foi desenvolvido para testar se a redução da pressão arterial seria benéfica para diminuir as complicações microvasculares e macrovasculares do DMT2, revelando que o maior controle da pressão arterial resultou em 35% menos fotocoagulação quando comparado com o grupo controle, no qual a pressão arterial foi controlada de maneira menos rígida. Depois de 7,5

anos de seguimento, observou-se redução de 34% na taxa de progressão da retinopatia e de 47% na taxa de deterioração da AV. Tanto o atenolol quanto o captopril foram igualmente efetivos em reduzir as complicações microvasculares, sugerindo que o controle da pressão arterial era mais importante que o tipo de medicação utilizada com esse objetivo. Os efeitos desse controle foram independentes do controle glicêmico. Esses achados sugerem que a diminuição da pressão arterial em pacientes com hipertensão mal controlada confere grande benefício na prevenção da progressão da retinopatia. O controle agressivo da hipertensão <120 mmHg não está indicado em pacientes DMT2 com moderada ou pouca hipertensão. A ADA recomenda que hipertensos devam ser tratados objetivando pressão sistólica menor que 140 mmHg, e que pacientes com pressão arterial maior que 120/80 mmHg devam ser aconselhados para mudanças de estilo de vida para diminuir essa pressão arterial (UKPDS, 1998; ADA, 2016).

1.4.3 Lipídios séricos

Estudos epidemiológicos associaram colesterol sérico total e colesterol do tipo lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos com severidade da RD e edema macular. No estudo ETDRS (1996), pessoas com maiores níveis de triglicerídeos e colesterol LDL na primeira visita (*baseline*) tiveram aumento no risco de 50% de desenvolverem exsudatos duros na mácula e diminuição da AV e aumento de 23% no risco de desenvolverem RD. No estudo DCCT/EDIC (Hainsworth et al., 2019), aqueles com maior colesterol sérico, colesterol LDL e triglicerídeos apresentaram probabilidade de desenvolvimento de edema macular aumentada de duas a três vezes. Evidências sugerem que a diminuição dos lipídios pode exercer papel na redução do desenvolvimento e da progressão de RD e edema macular, mas as vias de seu efeito protetor ainda não foram esclarecidas (Barret et al., 2017).

1.4.4 Outros fatores de risco

Existem evidências de que os produtos finais de glicação avançada (AGEs) e o estresse oxidativo estão associados com complicações do diabetes. Os AGEs resultam da exposição prolongada de proteínas e lipídios à hiperglicemia (por meio da glicação não enzimática dessas moléculas). Acredita-se que o acúmulo de AGEs em diabéticos ocasione retinopatia, nefropatia, neuropatia e disfunção cognitiva por meio da lesão direta aos tecidos. Os AGEs também levam ao aumento do estresse oxidativo, à disfunção endotelial, trombose, inflamação e fibrinólise e afetam adversamente o sistema renina angiotensina. Alguns estudos clínicos associam níveis séricos elevados de AGEs com complicações diabéticas, independente dos níveis de A1c (Barrett et al., 2017).

O corpo, normalmente, gera componentes oxidantes como fator importante da inflamação e do reparo tecidual. Isso representa parte da defesa normal do organismo contra microorganismos invasores e células malignas, e ocorre durante o reparo e remodelamento tecidual. A retina se situa em ambiente altamente oxidante e acredita-se que seja especialmente vulnerável ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo em pacientes diabéticos tem sido atribuído à hiperglicemia com aumento nas espécies reativas do oxigênio (ROS) por meio da auto-oxidação da glicose, glicação proteica não enzimática, *status* antioxidante diminuído e remoção diminuída das ROS (Calderon et al., 2017).

1.4.5 Fatores genéticos

Estudos reportaram agrupamentos familiares da RD, fortalecendo a noção de que fatores genéticos podem contribuir para o desenvolvimento da doença. É possível que similaridades na severidade da retinopatia entre famílias estejam relacionadas à interferência de genes na glicemia e pressão arterial. O controle desses fatores pode influenciar o efeito aparente da genética na retinopatia. Adicionalmente, como microaneurismas retinianos e pontos hemorrágicos não são específicos do diabetes, sua presença (na ausência de sinais de retinopatia mais severa) pode levar à classificação equivocada, resultando em associações

inconsistentes de possíveis genes com estágios iniciais de RD quando comparados com estágios mais severos dessa doença. A RD tem sido associada a genes mitocondriais, como um gene autossômico recessivo, sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS), paraoxonase (uma enzima que previne a oxidação do colesterol LDL), fator de necrose tumoral β *Nco1*, gene alelo $\epsilon 4$ da apolipoproteína E, molécula intercelular de adesão 1, gene da integrina $\alpha_2\beta_1$ (envolvido na função plaquetária) e genes das citocinas do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), mas estudos subsequentes não replicaram essas associações (Wu et al., 2018).

1.5 Fisiopatologia

Tanto o DMT1 quanto o DMT2 afetam a microvasculatura em múltiplos órgãos, incluindo os três tecidos alvos clássicos do diabetes: os olhos, rins e o sistema nervoso periférico. O entendimento da gênese desse dano e das potenciais intervenções para prevenir, limitar ou revertê-lo está evoluindo continuamente.

Os componentes celulares da microvasculatura parecem ser particularmente sensíveis ao dano causado pela hiperglicemia sustentada. Essa injúria (e as respostas do corpo para seu reparo) causa disfunção em tecidos e órgãos que afetam a qualidade e duração da vida dos pacientes diabéticos. A microvasculatura é um alvo difuso, cujas propriedades diferem consideravelmente entre diferentes tecidos e órgãos. Em um mesmo indivíduo todos os órgãos podem ser acometidos em maior ou menor grau (Maric-Bilkan, 2017).

Complicações vasculares são a principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes diabéticos. Isso é consequência da interação entre anormalidades metabólicas, como dislipidemia, hiperglicemia e moduladores epigenéticos, e resposta tecidual a metabólitos tóxicos. Complicações macrovasculares envolvem obstruções ateroscleróticas/trombóticas, como aquelas que ocorrem na doença coronariana, cerebral e arterial periférica. Patologias microvasculares clássicas incluem retinopatia, nefropatia, neuropatia, porém cérebro, pele, miocárdio e outros tecidos também são acometidos (Maric-Bilkan, 2017). A hiperglicemia é o maior fator de risco para complicações microvasculares; no entanto, isoladamente, não é suficiente para desencadear as patologias microvasculares diabéticas generalizadas,

sugerindo que fatores genéticos ou outros fatores endógenos de proteção, ainda não identificados, desempenham importante papel.

Sugere-se que múltiplas vias bioquímicas ligam os efeitos adversos da hiperglicemia com complicações microvasculares. Mecanismos celulares incluem: glicação não enzimática de formação de AGEs; produção e ação aumentada de ROS, estresse do retículo endoplasmático (ERE), ativação da via do poli-ol, do diacilglicerol (DAG) e da proteína-quinase C (PKC), homologia 2 Src domínio contendo fosfatase-1 (SHP-1), sistema renina-angiotensina (RAS) e sistemas caliceína-bradicinina (BK). É provável que as alterações intracelulares e extracelulares induzidas pela hiperglicemia alterem as vias de transdução de sinal; afetando, assim, a expressão gênica e função das proteínas, causando disfunção e dano celular (Barrett et al., 2017).

A retina é um tecido com alta demanda de energia, o que a torna susceptível aos radicais livres ou às ROS. Juntamente com a hiperglicemia, que causa alterações nas estruturas vasculares e neuronais por meio do dano isquêmico ou hiperosmótico, também ocorre o estresse oxidativo que produz inflamação, disfunção mitocondrial e morte celular, via piroptose, apoptose ou autofagia, e neurodegeneração, que em conjunto levam a dano vascular, neural e ao tecido retiniano. Recentemente, estudos mostraram que em cada camada da retina diferentes biomecanismos (como inflamação, piroptose e neurodegeneração) podem aparecer simultaneamente, havendo relação intrincada com altos níveis de ROS e estresse oxidativo (Olvera-Montano et al., 2019).

1.5.1 Mecanismos de injúria molecular

São descritas múltiplas anormalidades na sinalização celular, expressão gênica e regulação da biologia e fisiologia no diabetes, sendo possível que muitas dessas anormalidades atuem simultaneamente para causar várias complicações microvasculares. Esses mecanismos podem estar ativos em um ou alguns tecidos ou órgãos vasculares, mas geralmente estão associados ao desenvolvimento de complicações em vários órgãos.

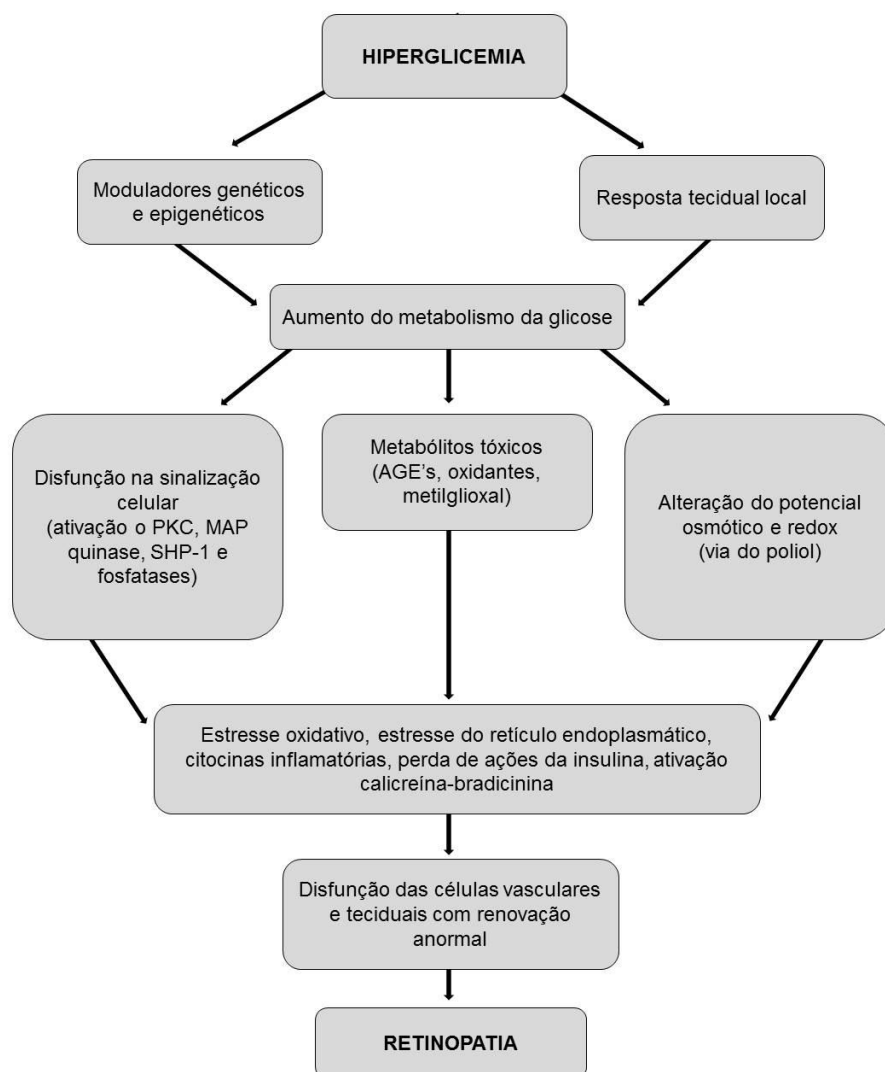
1.5.2 Hiperglicemia na retinopatia diabética

Por meio da via glicolítica, a glicose sofre várias biotransformações até o piruvato que entra no ciclo de *Krebs* na mitocôndria para seguir a cadeia respiratória para produzir adenosina trifosfato (ATP). Sabe-se que altas concentrações de glicose séricas podem causar danos à estrutura e função celular. Na retina, pericitos são essenciais para a função retiniana normal e sofrem com o edema devido ao acúmulo intracelular de sorbitol, que é formado pela aldose redutase (AR) na presença de altos níveis de açúcar sanguíneo por meio da via do polioliol, levando à disfunção na barreira hematorretiniana. O edema causa inchaço nos vasos impedindo a perfusão adequada, principalmente na retina interna, onde o suprimento sanguíneo é menor comparado com a retina externa. A isquemia induz a expressão de VEGF, que participa na angiogênese, o aumento da permeabilidade e a ativação de proteínas pró-inflamatórias. Todos eles são importantes mecanismos no desenvolvimento da RD (Olvera-Montaña, 2019).

Por outro lado, a presença de glicose forma gliceraldeído-3-fosfato (GAP) pela via da glicólise. Esses dois fosfatos são bem reativos à formação não enzimática do metilglioxal (MG). O dicarbonil (metilglioxal) tem sido implicado na ativação da via da hexosamina, perda dos pericitos e diminuição da função das células bipolares na retina, mesmo na ausência de hiperglicemia. A via da hexosamina transforma a frutose-6-fosfato em UDP-N-acetil glucosamina (UDP-GlcNAc). Quando esta última molécula ultrapassa sua concentração normal, promove modificações das proteínas por meio da oglicosil-N-acetilação (O-GlcNAc) induzindo atividade exacerbada. Uma dessas proteínas é o fator nuclear κ B (NF- κ B), um fator implicado na piora da RD. O MG ativa a via avançada de glicação, formação de AGE, e o receptor dos AGEs (RAGE). Os AGEs podem promover a ativação do VEGF, que altera as *tight junctions* das células do epitélio pigmentado da retina (EPR) (Olvera-Montaña, 2019). Tais alterações levam ao aumento da permeabilidade vascular e vazamento de componentes do sangue na retina. O VEGF também medeia a angiogênese. Assim, com a persistência da hiperglicemia este fator leva à formação de novos vasos patológicos, como acontece na RDP, associado a outras citocinas e fatores pró-inflamatórios, pró-angiogênicos e pró-oxidativos. A hiperglicemia aumenta os

níveis da proteína tioredoxina interatina (TXNIP), um mediador inflamatório nas células de Müller. O aumento da TXNIP ativa mecanismos de defesa celular incluindo autofagia, indução do tipo inflamatório HIF-1 α (hipóxia 1-alfa) e formação de inflamassoma. De acordo com Olvera-Montaña (2019), a principal causa de RD é o controle glicêmico ausente ou pobre, mas o manejo da hipertensão e dislipidemia também é benéfico na redução dessa complicação (Figura 3).

Figura 3 - Mecanismos de dano microvascular causado pela hiperglicemia



Fonte: Adaptado de Barret et al. (2017)

1.5.3 Espécies reativas de oxigênio (ROS) na retinopatia diabética

As ROS são radicais livres que contêm um elétron extra, conferindo imensa instabilidade e reatividade. Para tentar obter a estabilidade, elas adquirem elétrons de outras moléculas vizinhas, criando assim uma cadeia oxidativa. As ROS são formadas fisiologicamente através da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, derivados do oxigênio. Algumas das ROS mais comuns são: o anion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxidil (OH^{\cdot}). Por defesas antioxidantes enzimáticas, como a glutatona peroxidase (GSH-Px), catalase, superóxido dismutase (SOD), hemoxigenase 1, peroxiredoxinas e glutaredoxinas e antioxidantes não enzimáticos, o corpo é capaz de manter o equilíbrio redox. Quando a produção de ROS é maior que as defesas antioxidantes, ocorre o estresse oxidativo e as funções mitocondrial e celular são afetadas. O estresse oxidativo é considerado um dos fatores mais importantes no desenvolvimento da RD e hiperglicemia crônica, e também atua na formação de ROS por meio da ativação de vias secundárias, como a do poliol e da PKC, e hiperatividade das vias das hexosaminas (Olvera-Montaña, 2019).

O metabolismo da glicose está envolvido em reações redox como principal objetivo da produção de energia por extração, armazenamento e transporte de elétrons. Quando as condições glicêmicas são normais, a glicose se submete à transformação através da via glicolítica para produzir ATP por meio do ciclo de *Krebs* na mitocôndria, onde os elétrons são armazenados em NADH (dinucleótido de nicotinamida e adenina) e FADH₂ (dinucleótido de flavina e adenina). Assim, na cadeia respiratória, eles doam elétrons ao complexo I, ou complexo II. No complexo IV, o oxigênio é usado para receber elétrons do citocromo c. Não obstante, a via do poliol está aumentada no diabetes, consumindo 30% da glicose sistêmica. Ela consiste na produção de sorbitol por duas reações principais dependentes da AR e do sorbitol desidrogenase (SDH), pelo consumo de NADPH (fosfato dinucleótido de nicotinamida e adenina). O sorbitol leva ao estresse osmótico e dano nos capilares; além disso, a reação que converte o sorbitol em frutose pelo SDHA (subunidade A da flavoproteína do complexo desidrogenase succinato) produz NADH reduzido. O NADH serve, agora, como substrato para as enzimas da família Nox para produção

de superóxido, contribuindo para o desequilíbrio redox e estresse oxidativo. O NADH, por meio do estresse redutivo, pode também criar pseudohipóxia e excesso de função do complexo I da mitocôndria, contribuindo ainda mais para o desequilíbrio redox. O complexo I não é capaz de oxidar todo o NADH disponível e bombeia mais elétrons para reduzir parcialmente o oxigênio levando à formação de superóxido ao invés do uso adequado do oxigênio e dos elétrons. Nesse caso, as concentrações de NADH seriam ainda maiores que do NAD⁺, necessário para transportar elétrons ao oxigênio. Essa alteração no consumo apropriado de oxigênio é conhecida como pseudohipóxia (Olvera-Montaña, 2019).

A frutose aumenta a produção de AGE. A frutose endógena da via do poliol sofre rearranjo no carbono 2 por uma reação conhecida como reação de Heyns. Depois disso, os produtos passam por processos de rearranjos, desidratação e condensação para formarem os AGEs. Pela reação de Maillard e rearranjo de Amadori, a glicose termina formando AGEs. Quando a via do poliol é ativada no diabetes, o estresse oxidativo aumenta, e o aumento na atividade da via do poliol é associado à depleção do NADPH pela competição com a glutatona redutase (GR); e a disponibilidade do NADPH pode ser reduzida e menos disponível para regenerar os antioxidantes intracelulares. Foi comprovado que o NADPH e a ATP estão reduzidos em cristalinos de ratos diabéticos com maiores concentrações de sorbitol e frutose em relação a ratos saudáveis, fortalecendo os achados de que a ativação da via do poliol está sustentada em estados hiperglicêmicos (Olvera-Montaña, 2019).

Por meio da via da hexosamina, a glutamina-frutose-6-fosfato amidotransferase (GFAT) oxida a glutatona (GSH) como um cofator para gerar a glicosamina-6-fosfato. A atividade da GFAT está aumentada em diabéticos induzindo ao estoque menor de GSH (antioxidante endógeno). O DAG se origina do 6-fosfato diidroxiacetona, o segundo metabólito da frutose 6-fosfato (da glicólise ou via do poliol) e, por sua vez, ativa a via PKC. As PKCs são quinases dependentes de cálcio de DAG, e a ativação dessas moléculas está associada ao aumento da permeabilidade vascular e angiogênese anormal em condições hipóxicas e hiperglicêmicas. A PKC β e PKC ζ estão envolvidas nas alterações da barreira retiniana dependentes de VEGF. A PKC β também aumenta a atividade da oxidase NADPH que produz superóxido. Por outro lado, a ativação e translocação da PKC δ

promove a proliferação de tecido retiniano, mesmo na ausência de hipóxia. Em culturas celulares, a ativação da PKC δ pela fosforilação é capaz de inativar o complexo IV da mitocôndria, aumentando a produção de ROS. Com altos níveis de glicose, o GAP se transforma em MG, um precursor da formação da AGE, implicada na elevação do VEGF e na apoptose dos pericitos. A ativação dos RAGEs leva ao aumento do Nox e da produção de ROS, e diminuição das atividades antioxidantes do SOD, catalase, GSH e vitamina C (Olvera-Montano, 2019).

1.5.4 Ativação de PKC em tecidos vasculares

A PKC é uma família de proteína quinases relacionadas à serina/treonina que inclui múltiplas isoformas e afetam muitas funções celulares e vias de transdução de sinais. O Cálcio, fosfatidil serina, DAG e ésteres de forbol ativam as isoformas convencionais de PKC α , β 1, β 2 e γ . A fosfatidilserina e o DAG (mas não o cálcio) também ativam as novas isoformas PKC δ , ϵ , ϕ , η . Nem o cálcio e nem o DAG ativam as isoformas atípicas de PKC ζ , ι/λ . A hiperglicemia, em si, modula a ativação da PKC. Além disso, oxidantes podem ativar a PKC de maneira não relacionada com segundos mensageiros lipídicos.

Muitos processos vasculares e celulares anormais, incluindo disfunção endotelial, permeabilidade vascular, angiogênese, crescimento celular e apoptose, dilatação vascular, espessamento da membrana basal, expansão da matriz extracelular e atividade enzimática alterada da proteína quinase ativada do mitogênio (MAPK), fosfolipase a2 citosólica, Na⁺-K⁺ adenosina trifosfatada (ATPase) e diversos fatores de transcrição são atribuídos à ativação de diversas isoformas de PKC no músculo esquelético e glomérulos renais, miocárdio, retina e fígado. Dentre as isoformas de PKC, as α , β e δ são as mais consistentemente implicadas nas complicações vasculares do diabetes (Barrett et al., 2017).

1.5.5 A ativação da PKC e o desenvolvimento de retinopatia diabética

Os estágios iniciais da RD são caracterizados por perda de pericitos nos capilares da retina, seguida por aumento da fragilidade da parede capilar, formação

de microaneurismas e vazamento de fluido e aumento da adesão de leucócitos e monócitos ao endotélio. A hiperglicemia ativa as PKC α , β , δ e ϵ nos tecidos retinianos e altera a endoteína 1 (ET-1), a atividade do VEGF e os níveis de óxido nítrico nas células endoteliais, assim como os níveis de fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), ROS, e NF- κ B nos pericitos. Em vasos isolados de animais diabéticos, o relaxamento vascular induzido pelo mecanismo dependente de óxido nítrico e pela acetilcolina é retardado e o agonista da PKC forbol-12-miristato-13-acetato diminui o relaxamento vascular em artérias antes normais. O mecanismo de redução do fluxo sanguíneo retiniano mediado pelo PKC β envolve o aumento da síntese de ET-1 em ratos diabéticos. O VEGF (por meio de um mecanismo de sinalização envolvendo o PKC β) ajuda a mediar o edema macular diabético (EMD) a aumentar a fosforilação da ocludina (um componente das *tight junctions*), levando ao aumento da permeabilidade vascular e à ativação da calicreína (Barrett et al., 2017; Kamata et al., 1995; Matsumoto et al., 2008).

1.5.6 A ativação da via do diacilglicerol (DAG) e o diabetes

Os níveis de DAG se apresentam cronicamente elevados no estado hiperglicêmico diabético devido aos níveis aumentados de fosfato de dihidroxiacetona (DHAP), um derivado glicolítico. Esse intermediário é reduzido a glicerol-3-fosfato que, subsequentemente, aumenta a síntese de novo de DAG. Estudos em diabéticos relatam que os níveis de DAG estão aumentados na retina e nos glomérulos renais, porém não se observam alterações consistentes em seus níveis no sistema nervoso central e nervos periféricos. Elevada síntese de DAG pode ser ocasionada a partir do DHAP que acumula quando a ribosilação do poli-5'-fosfato (ADP) inibe o gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) na presença de altas concentrações de glicose. Níveis elevados de glicose citosólicos promovem o acúmulo de GAP, o que pode aumentar o DAG e ativar a PKC. Num modelo experimental de diabetes, grandes doses de tiamina e monofosfato derivado de tiamina (benfotiamina) parecem diminuir a formação de DAG e também a ativação de PKC (Barrett et al., 2017).

1.5.7 A via do poliol e a patogênese das complicações microvasculares do diabetes

A captação aumentada de glicose eleva seu fluxo por múltiplas vias, incluindo a via do poliol (também conhecida como via do sorbitol). A AR, a primeira enzima dessa via, tem atividade apenas quando a glicose intracelular está aumentada. Essa via consome NADPH na reação da AR e reduz a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD)⁺ na reação do sorbitol redutase. Uma via hiperativa do poliol pode depletar o NADPH citosólico, necessário para a manutenção do antioxidante intracelular primário GSH no seu estado reduzido. Em camundongos, deletando a AR^{-/-} reduziu-se a NV retiniana e a permeabilidade vascular. Além disso, a expressão de VEGF, *p*-Erk, *p*-Akt e *p*-I κ B estava significativamente reduzida na retina AR^{-/-}. Camundongos diabéticos com isquemia retiniana induzida por oclusão transitória da artéria cerebral média e camundongos diabéticos AR^{-/-} com deficiência do receptor da leptina (db/db) apresentaram significativamente menos edema de retina do que os camundongos controles db/db; isso correlacionado com expressão reduzida do canal de água aquaporina 4. Polimorfismos na região promotora do gene da AR estão associados com susceptibilidade à neuropatia, nefropatia e retinopatia (Barrett et al., 2017).

1.5.8 O sistema renina angiotensina (RAS) e a patogênese das complicações microvasculares do diabetes

A ativação da via neuro-hormonal do sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) predomina no diabetes em resposta à hiperglicemia e retenção de sódio. O RAS desempenha papel importante na regulação da pressão arterial por meio da vasoconstrição e homeostase de fluidos e eletrólitos. Em nível tecidual, a angiotensina II, principal mediador do RAS, é implicada na fibrose, no estresse oxidativo, dano endotelial, na trombose, inflamação e no remodelamento vascular. A sobreativação do RAS em resposta à hiperglicemia também está implicada na patogênese de complicações do diabetes na retina (Lovshin et al., 2019).

O bloqueio do RAS pode melhorar ou atrasar o desenvolvimento da RD e edema macular em pacientes diabéticos e RD em pacientes diabéticos tipo 1 normoalbuminúricos e normotensos, sugerindo que seus efeitos benéficos podem

ser mais do que apenas a redução da pressão arterial. Em modelos animais de diabetes, o inibidor da renina alisquireno causou proteção semelhante ou melhor do que a inibição da enzima conversora da angiotensina (ACE), isoladamente, para diminuir a RDNP e a neoangiogênese na retinopatia induzida pelo oxigênio (Barrett et al., 2017).

1.5.9 Estresse do retículo endoplasmático (ERE) e complicações microvasculares diabéticas

O retículo endoplasmático (RE) desempenha papel importante na homeostase, biossíntese de lipídios e enovelamento de proteínas. Aumentos na síntese de proteínas, desenovelamento de proteínas, ou desequilíbrios no Ca^{+2} e balanço redox podem alterar a função do RE, causando ERE. Isso desencadeia um programa coordenado (em resposta a proteínas mal enoveladas) que reduz a transdução e aumenta a capacidade de enovelamento para recuperar a homeostase do RE (Barrett et al., 2017). Com ERE crônico e não resolvido, essa resposta pode iniciar uma sinalização que pode promover a apoptose. Os genes dessa resposta estão aumentados no rim de pacientes diabéticos e esse tipo de estresse pode ser um mediador da nefropatia diabética. Na retina de ratos com diabetes induzido pela estreptozotocina, o ERE também está envolvido na permeabilidade vascular aumentada e no aumento de genes inflamatórios e de VEGF (Barrett et al., 2017).

1.5.10 Glicação proteica e complicações microvasculares do diabetes

Açúcares, como a pentosidina, carboximetilisina piralina e MG, podem causar formação de AGE, que pode ocorrer por via não enzimática entre glicose e proteína pelo produto de Amadori AGE 1-amino-1-desoxifrutose adicionada à lisina. Contudo, reações mais rápidas são realizadas entre proteínas de dicarbonils formados intracelularmente, incluindo o 3-deoxiglicosone, glioxal e MG, que resultam *no cross-linking* das proteínas. Devido à taxa longa de *turnover*, proteínas extracelulares estruturais (como o colágeno) acumulam mais modificação AGE. Os AGEs estão provavelmente presentes em todos os tecidos de pacientes diabéticos ou em processo de envelhecimento. A modificação de AGE das proteínas da matriz

extracelular e as moléculas de sinalização podem alterar suas funções. Adicionalmente, proteínas extracelulares modificadas pelo AGE podem se ligar a receptores, sendo o melhor caracterizado o RAGE. A maioria das células expressa o RAGE, incluindo as endoteliais, os fagócitos mononucleares, as células do músculo liso, os pericitos, as células mesangiais e os neurônios, em que o RAGE pode desempenhar papel na regulação dessas células na homeostase e/ou sua disfunção no aparecimento das complicações diabéticas (Barrett et al., 2017).

O acoplamento ao RAGE na superfície das células endoteliais pode estimular o NOX e aumentar a ROS, p21 RAS e MAPK. A interação AGE-RAGE pode também estimular a sinalização via p38 MAPK e Rac/Cdc. Contudo, esse mecanismo ainda não está claro porque o RAGE não é uma enzima. Um alvo importante para a sinalização do RAGE no endotélio é o NF- κ B, que é translocado para o núcleo, onde aumenta a transcrição de várias e diferentes proteínas, incluindo ET-1, molécula 1 de adesão intracelular, E-selectina e fator tecidual. Nem todos os AGEs afetam as células vasculares de forma adversa (Barrett et al., 2017).

1.5.11 O sistema calicreína-bradicinina e o desenvolvimento de complicações microvasculares diabéticas

Estudos experimentais demonstram que o sistema calicreína-cinina (KKS) pode resultar em efeitos biológicos que também ocorrem na RD (por exemplo, aumento da permeabilidade vascular e edema), promovendo alterações no diâmetro vascular e na hemodinâmica, afetando inflamação, angiogênese e funções neuronais (Barrett et al., 2017).

A calicreína plasmática é uma protease serina com efeitos bem caracterizados na inflamação inata e na cascata de coagulação intrínseca. A maioria das ações fisiológicas da calicreína plasmática é atribuída ao fator de clivagem XII e ao cininogênio de alto peso molecular. A conversão do fator XII para fator XIIa leva à ativação do fator XI e cascata de coagulação intrínseca, resultando em produção de fibrina e estabilização do trombo. A clivagem do cininogênio libera o nonapeptídeo BK, que é o ligante para a proteína G-acoplada ao receptor BK2 (BK2R). A clivagem subsequente do BK pelas carboxipeptidases produz des-Arg9-BK, que se liga e ativa o receptor BK1 (BK1R). A ativação do BK2R pelo BK e do BK1R pela des-Arg9-BK

está associada com quase todos os efeitos que o KKS tem na inflamação, função vascular, regulação da pressão arterial e respostas nociceptivas. O KKS também está associado com várias anormalidades na coagulação, vasculares e metabólicas do diabetes (Barrett et al., 2017).

1.5.12 Polimorfismos relacionados à retinopatia diabética

A RD é uma doença genética complexa, comumente associada a múltiplos fatores genéticos e ambientais. Esses fatores são habitualmente chamados de polimorfismos, ao invés de mutações. Portanto, um polimorfismo pode aumentar ou diminuir o risco de acometimento pela doença. Alguns dos avanços sobre a genética da RD envolvem os seguintes genes como parte de sua patogênese:

- (1) **AR:** é a primeira enzima limitante na via do poliols, responsável por induzir alterações patogênicas vasculares e hemodinâmicas que contribuem para a RD, assim como para acúmulo de sorbitol, dano oxidativo e ativação da PKC. A AR é encontrada em altas concentrações nas células de Schwann e nos pericitos retinianos, onde a glicose é convertida em sorbitol; polimorfismos da AR têm sido associados em algumas populações. Alterações vasculares retinianas, como a degeneração dos pericitos retinianos e desenvolvimento de microaneurismas, podem ser induzidas em ratos e cachorros que se tornaram hiperglicêmicos com uma dieta rica em galactose, mas a galactose é reduzida pela AR (AKR1B1) para formar o galactiol. Portanto, está ocorrendo a procura por inibidores farmacológicos dessa enzima para o tratamento da RD.

- (2) **RAGE:** O estado de hiperglicemia crônica pode promover a glicação de proteínas e lipídios e, conseqüentemente, produzir AGE, o que promove a alteração da estrutura e função de outras proteínas. O AGE tem afinidade por receptores conhecidos como RAGE. Os RAGEs são imunoglobulinas que promovem secreção de citocinas quando ativados, que estimulam as complicações do diabetes pelo aumento da

permeabilidade vascular e dos processos inflamatórios. Esses efeitos promovem, ainda, um estado hipóxico nos microcapilares da retina levando ao início do processo angiogênico na RDP. AGEs e RAGE estão mais expressados na RD, o que leva a pensar que os polimorfismos genéticos no RAGE estão, provavelmente, relacionados a essa fisiopatologia dessa doença.

- (3) **VEGF:** Níveis elevados de VEGF podem ser encontrados nos olhos de pacientes com RDP submetidos à vitrectomia. Este é um importante fator de crescimento responsável pela permeabilidade vascular. Em altos níveis, promove maior aumento da permeabilidade vascular e NV; portanto, a inibição desse fator tem mostrado melhora desses eventos na retina. Serão necessários novos estudos com amostras maiores e conhecimento sobre o tratamento farmacológico para melhores conclusões.

- (4) **Genes da NOS:** O óxido nítrico tem sido detectado nas camadas internas dos fotorreceptores, em algumas células amácrinas, em células ganglionares, e na camada plexiforme interna de ratos adultos. Sua formação é catalisada pela eNOS a partir da L-arginina, que também exerce função na angiogênese. Portanto, eNOS é uma enzima relevante que contribui para a homeostase vascular, cujo excesso de produção pode causar dano à retina, por excesso de morte celular, permeabilidade vascular e, principalmente, neurodegeneração. Os polimorfismos da eNOS estão associados a risco maior de progresso da RD. A redução da produção da eNOS pode levar à diminuição do óxido nítrico e da dilatação vascular. Algumas análises foram feitas sobre o polimorfismo a/b no gene eNOS, mas sua relação com o risco de desenvolvimento de RD tem sido discutida. Associação significativa foi encontrada entre o intron do alelo 4a do polimorfismo 4b/a e o risco reduzido de RD. Porém, uma metanálise indica que o polimorfismo 4b/a da eNOS não está associado a risco aumentado de RD em

indivíduos com DMT2. Muitas vias e biomecanismos estão envolvidos na RD. Portanto, é importante pesquisar os polimorfismos em enzimas e fatores que atuam no equilíbrio redox, na função vascular ou inflamação (Olvera-Montaña, 2019).

1.6 PDGF e VEGF

O PDGF expresso por células endoteliais retinianas desempenha papel importante na sobrevivência da célula vascular e na RP. Durante a angiogênese, células endoteliais produzem PDGF, que atua por meio do receptor β de PDGF expresso nos pericitos. Esse sinal recruta pericitos a desenvolverem vasos sanguíneos. Os pericitos, então, suportam a sobrevivência de células endoteliais e inibem sua proliferação. A hiperglicemia pode inibir os efeitos de sobrevivência do PDGF pela maior produção de SHP-1, que causa desfosforilação no receptor PDGF dos pericitos e, possivelmente, também nos podócitos.

O VEGF é uma glicoproteína dimérica com peso molecular de 36-46 kDa, que consiste em sete famílias: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E e VEGF-F e o fator de crescimento placentário (PlGF). As isoformas de VEGF-A são apontadas como os promotores mais importantes na NV intraocular e hiperpermeabilidade. A isoforma VEGF 165, em particular, é a mais abundante e importante envolvida na NV. Ao nível celular, o VEGF diluído se liga e dimeriza três receptores transmembrana (VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3). Apesar de o VEGFR-1 se ligar ao VEGF 165 com maior afinidade, o VEGFR-2 regula a barreira hematorretiniana e controla a mitogênese das células endoteliais (Dervenis et al., 2017).

O VEGF é produzido por diferentes células na retina (células do endotélio capilar, pericitos, células do EPR, neurônios e astrócitos). Apesar de todos os tipos celulares da retina responderem ao VEGF, as células dos capilares endoteliais representam seu alvo primário. O aumento do VEGF induzido pela hipóxia prejudica a barreira hematorretiniana e aumenta a permeabilidade capilar. Os níveis de VEGF se apresentam significativamente mais altos em olhos com RDP do que naqueles sem RDP. Além disso, a inibição molecular do VEGF foi proposta (e com efetividade demonstrada) no tratamento do EMD. O bloqueio da via de sinalização do VEGF se

mostrou capaz de restaurar a anatomia macular e melhorar a AV em pacientes com EMD. Esse achado resultou numa mudança importante no algoritmo do tratamento para pacientes com EMD, melhorando seu prognóstico geral (Dervenis et al., 2017).

O VEGF é produzido pelas células retinianas em processo de isquemia e se difunde pelas células endoteliais vasculares da retina. As células endoteliais retinianas expressam vários receptores de tirosina quinase na sua superfície. O receptor 2 do VEGF (VEGFR-2) é o maior mediador dos efeitos angiogênicos e de permeabilidade vascular do VEGF (Ferrara, 2004). O papel potencial do VEGF como mediador de NV retiniana tem sido demonstrado em vários estudos. Níveis aumentados de VEGF foram encontrados na retina e no vítreo de pacientes (Adamis et al., 1994; Aiello et al., 1994) e em modelos animais com retinopatias isquêmicas (Miller et al., 1994; Pierce et al., 1995), sugerindo que o VEGF exerça importante papel na NV retiniana. Aiello et al. (1995) e Adamis et al. (1996) relataram que antagonistas de VEGF inibiam parcialmente a NV retiniana e de íris em modelos animais. Aiello et al. (1994) encontraram níveis reduzidos de VEGF após fotocoagulação, provavelmente por redução da produção desse fator após destruição da retina isquêmica, levando à regressão da doença.

O estudo de Miller et al. (1994) provocou oclusão venosa por meio da fotocoagulação a LASER em macacos *Cynomolgus* e demonstrou claramente a relação espacial e temporal entre o fator angiogênico secretado (VEGF) e o desenvolvimento de aumento da permeabilidade vascular e NV ocular *in vivo*. No estudo de Tolentino et al. (1996), injeções repetidas intravítreas de VEGF em primatas resultaram em NV de íris e retiniana. Luty et al. (1996) e Amin et al. (1997) verificaram imunopositividade do VEGF em retinas de pacientes diabéticos sem RP, sugerindo que a expressão do VEGF precede a NV retiniana em indivíduos com diabetes (Amin et al., 1997). Pe'er et al. (1995) demonstraram que a proliferação vascular na RDP e oclusão de veia central da retina no descolamento de retina e nos tumores intraoculares são acompanhadas da indução da expressão do VEGF.

Diversos estudos têm apontado para o uso da terapia antiangiogênica para o tratamento da RDP. Avery et al. (2006) sugerem que a terapia intravítrea com antiangiogênico (bevacizumabe) é bem tolerada e associada à rápida regressão dos neovasos irianos e retinianos na RDP. Arevalo et al. (2017) concluíram que o uso de

anti-VEGF (bevacizumabe) em pacientes com RDP e fotocoagulação panretiniana (PRP) prévia resultou na regressão da NV. Em olhos virgens de tratamento, nesse mesmo estudo, as injeções intravítreas de antiangiogênico resultaram em controle ou regressão de 42,1% dos olhos sem necessidade de laser complementar ou cirurgia vítreoretiniana nos 24 meses de seguimento.

Além de seu importante papel na NV intraocular, o VEGF também está associado à formação do EMD; implicando, tanto por achados clínicos quanto pré-clínicos, na fisiopatologia dessa complicação do diabetes (Starita et al., 2007). Os níveis de VEGF se mostraram elevados em olhos de pacientes com EMD, e em modelos animais de diabetes, essa elevação coincidiu com a quebra da barreira hematorretiniana (Starita et al., 2007). Funatsu et al. (2006) encontraram níveis mais elevados de VEGF no vítreo de pacientes com EMD do que naqueles não diabéticos, ou diabéticos sem retinopatia; e, inversamente, verificaram níveis de fator derivado do epitélio pigmentado (PEDF) menores no vítreo de pacientes com EMD do que nos não diabéticos, ou diabéticos sem retinopatia, sugerindo que o VEGF e o PEDF têm efeitos antagônicos em relação à permeabilidade vascular no EMD.

A habilidade do VEGF para promover a permeabilidade vascular e a angiogênese o aponta como provável fator contribuinte para as disfunções vasculares observadas na RD severa. O balanço fluídico no tecido retiniano é controlado pelo equilíbrio de transporte, pela barreira hematorretiniana interna e reabsorção de fluido através do EPR. A barreira hematorretiniana é composta por “*tight junctions*” entre células endoteliais que controlam o fluxo de moléculas entre o plasma e o tecido neural. A quebra dessa barreira parece ser o maior fator na patogênese do EMD; apesar de que o comprometimento da remoção normal de água via proteínas aquaporinas também possa contribuir para o acúmulo intrarretiniano de fluido.

O VEGF causa a desmontagem das junções das células endoteliais e age como um mitógeno potente de células endoteliais, portanto o acúmulo inapropriado de VEGF em retinas diabéticas é considerado como causador de edema e angiogênese. Baseando-se nos efeitos do VEGF sobre a vasoproliferação e o aumento da permeabilidade vascular, acima mencionados, drogas para se bloquear

esse fator têm sido empregadas para o tratamento da RD (Dervenis et al., 2017) (Chatziralli; Loewenstein, 2021).

Uma vez que o VEGF-A está ligado aos seus receptores, ele promove a proliferação de células endoteliais e NV e leva ao vazamento vascular por afetar as proteínas das *tight junctions*. O vazamento vascular é o principal mecanismo que contribui para o desenvolvimento do EMD (Dervenis et al., 2017).

1.7 Edema macular diabético

O edema macular é uma importante manifestação da RD, pois é a maior causa de perda visual e cegueira legal entre os diabéticos. O fluido intercelular é oriundo dos microaneurismas e do extravasamento capilar difuso. O surgimento de edema macular caracteriza uma fase mais avançada da RDNP, geralmente associado a numerosas hemorragias e exsudatos duros. Além de anormalidades vasculares retinianas, a coriocapilar também pode estar envolvida. O EMD apresenta prevalência crescente devido à epidemia global de DM2. A diminuição da tensão de oxigênio da retina gera hiperpermeabilidade capilar retiniana e aumento da pressão intravascular mediada pelo aumento do VEGF e autorregulação vascular retiniana (Browning; Stewart; Lee, 2018).

A teoria do oxigênio postula que períodos prolongados de hiperglicemia tendem a diminuir a perfusão da retina interna e a tensão retiniana de oxigênio. A subsequente resposta de autorregulação das arteríolas retinianas causa dilatação, que aumenta a pressão hidrostática nos capilares intrarretinianos e vênulas especificadas pela lei de Poiseuille. A pressão intravascular aumentada nos capilares pode danificá-los. Paralelamente, a diminuição na tensão de oxigênio aumenta a síntese de VEGF e outros fatores de permeabilidade, o que aumenta o vazamento da microvasculatura. Segundo a lei de Starling, o aumento da pressão e permeabilidade vascular resulta no fluxo em rede de água, íons e macromoléculas, do espaço intravascular para o espaço extravascular. O fluido extracelular é reabsorvido através do retorno aos vasos retinianos ou da coroide pela ação de bomba do EPR (Stefánsson, 2006).

O estudo ETDRS (1985) documentou dados referentes à história natural do EMD. Em três anos de seguimento, a taxa de perda visual moderada (15 letras na tabela ETDRS) foi de 8% ao ano. As taxas de perda visual foram maiores em pacientes com pior AV inicial e em RP severas. EMD crônico, não tratado e/ou refratário pode ocasionar fibrose subretiniana, principalmente na presença de exsudatos duros e/ou alterações pigmentares do EPR (Fong et al., 1997).

Os tratamentos disponíveis, atualmente, para o tratamento do EMD incluem controle metabólico e dos fatores de risco (glicose sanguínea, pressão arterial e lipídios séricos), fotocoagulação focal/laser em grid, laser de diodo em micropulso, injeções intravítreas de corticosteroides, injeções intravítreas de drogas anti-VEGF, combinação de injeções intravítreas de corticosteroides e anti-VGF e vitrectomia. (Browning et al., 2018).

1.8 Tratamento

1.8.1 Fotocoagulação a LASER

A fotocoagulação a laser envolve a aplicação da energia de luz na retina, que é absorvida pelos pigmentos retinianos que aquecem e causam dano térmico aos tecidos retinianos (Royal College of Ophthalmologists - RCO, 2012; Duchâteau; Rakic, 2020), e é o tratamento padrão para RDP (Amoaku et al, 2020). A PRP é, geralmente, aplicada na periferia da retina, com o objetivo de causar regressão da NV e perda visual por hemorragia vítrea, do descolamento tracional da retina ou do glaucoma neovascular, que são as principais causas de perda visual em pacientes com RDP avançada. Pensa-se que as alterações anatômicas e funcionais resultantes da PRP podem melhorar o suprimento de oxigênio para a retina; reduzindo, assim, o estímulo para NV. As cicatrizes de laser funcionam como janelas em que o consumo de oxigênio é baixo e este pode difundir da coroide, através da camada de fotorreceptores (substituída por glia com menor consumo de oxigênio), para a retina interna, causando aumento na tensão de oxigênio na retina interna (Stefánsson, 2001).

A destruição da área isquêmica na PRP pode reduzir os níveis de VEGF. Além disso, a PRP pode efetivamente destruir células doentes ou danificadas do EPR, melhorando a barreira hematorretiniana externa. A destruição de fotorreceptores pode melhorar a oxigenação das camadas internas da retina e a vasoconstrição compensatória com menor fluxo sanguíneo e menor vazamento vascular. Assim, há aumento na tensão de oxigênio no restante do olho associado à diminuição do consumo na área tratada e difusão melhorada a partir da coroide pela cicatriz da PRP. Finalmente, a PRP pode estimular o crescimento vascular endotelial resultando em recuperação da barreira hematorretiniana interna (Kansora; Goldhardt, 2019).

O laser térmico (fotocoagulação) foi a primeira modalidade descrita para o tratamento da RDP. Diversos tipos de LASER, comocriptônio, xenônio, argônio, diodo verde e diodo vermelho podem ser empregados para esse tratamento. O estudo ETDRS (1985) mostrou o benefício do tratamento precoce do edema de mácula e da RDP por meio de fotocoagulação a LASER (Crema et al., 2019). Contudo, vários estudos relatam perda de campo visual pós fotocoagulação a laser do tipo “full-scatter” bilateral devido à expansão da lesão térmica, podendo até mesmo comprometer a capacidade de guiar veículos automotores segundo os padrões de determinadas autarquias de trânsito de alguns países. Portanto, isso implica no maior impacto à qualidade de vida do paciente, principalmente se este for um diabético jovem (Pearson; Keightley; Casswell, 1998). Estudo recente apontou para a redução na camada de fibras nervosas da retina até três anos de seguimento após a PRP (Wadhmani et al., 2019).

As novas tecnologias de fotocoagulação a laser objetivam realizar um tratamento que permita o desenvolvimento de resposta regeneradora de fotorreceptores e do EPR por meio da mínima perda de fotorreceptores e da mínima expansão cicatricial da lesão térmica sobre o EPR alvejado (Paulus et al., 2008).

Em um estudo do DRCR.net (2009), os autores constataram que a PRP realizada em única sessão não estava associada a mais efeitos adversos sobre a visão ou o espessamento macular em relação a PRP completada em quatro sessões. Contudo, o estudo não foi randomizado e as múltiplas sessões de PRP

foram realizadas no período de 12 semanas, e não em duas ou três quinzenas, com 600 a 800 disparos, como habitualmente é realizado no Reino Unido.

1.8.1.1 Complicações da fotocoagulação a LASER

As complicações relacionadas à PRP eram vistas frequentemente nos anos iniciais deste procedimento. As mais comumente reportadas eram descolamento de coroide, descolamento exsudativo de retina (DER), glaucoma transiente, diminuição da câmara anterior e edema macular. Alterações visuais reportadas imediatamente após a PRP incluem: fotofobia passageira, acomodação deficiente e miopia. Diminuição de campo visual e déficits de visão noturna podem ser queixas frequentes dos pacientes (Reddy; Husain, 2018).

1.8.1.2 Efusão/descolamento ciliocoroidal

A fotocoagulação a laser causa quebra dos coriocapilares, levando à transudação importante de fluido, que é propenso ao acúmulo em espaços potenciais na região supraciliar devido às fracas adesões cilioesclerais. Yuki et al. (1997) relataram que descolamentos ciliocoroidais foram observados por biomicroscopia ultrassônica (UBM) em cerca de 90% dos olhos após três dias de uma sessão completa de PRP, com resolução em sete dias em todos os casos. As efusões eram mais proeminentes na *pars plana*, e em nove dos 19 pacientes se estendia para a *pars plicata*. A diminuição da câmara anterior também foi notada, secundária às efusões de corpo ciliar em 12 a 25% dos casos, também se resolvendo espontaneamente em uma a duas semanas após a sessão de PRP. Os autores afirmaram que, interpretando os achados da UBM, os descolamentos ciliocoroidais não pareceram ser descolamentos verdadeiros e sim edema e divisão das camadas externas do corpo ciliar e coroide com acúmulo de fluido no espaço interlamelar.

O risco de desenvolver efusão ciliocoroidal parece ser dependente de múltiplos fatores. O tipo de laser, assim como o tamanho e a intensidade de suas marcas parecem estar diretamente correlacionados à prevalência e ao tamanho da

efusão. A intensidade da queimadura, uma função relacionada tanto a parâmetros do laser como à absorção retino-coroidal, é um fator especialmente importante. Os descolamentos ciliocoroidais são transientes, com tempo de resolução entre sete e 21 dias (Yuki et al., 1997), e essa complicação pode ser diminuída completamente pela aplicação de PRP em múltiplas sessões, em vez de única sessão. Portanto, a PRP em múltiplas sessões é o padrão clínico atualmente mais justificado. Descolamentos de coroide também raramente ocorrem com laser de múltiplas marcas (“multispot”). Apesar do laser “multispot” estar relacionado com menos complicações devido a queimaduras mais leves ou de menor duração, causando menos dano tecidual colateral e inflamação, os descolamentos coroidais podem ainda ocorrer e causar perda precoce de visão após o procedimento (Natesh et al., 2011).

1.8.1.3 Descolamento exsudativo da retina

O mecanismo do DER está diretamente relacionado ao do descolamento de coroide. O tratamento intenso leva à inflamação da coroide e ruptura da barreira do EPR, com consequente exsudação de líquido. Em uma série comparativa entre protocolos com laser de argônio, 50 olhos foram randomizados entre sessão única vs múltiplas sessões, sendo o DER mais frequente nos pacientes do grupo submetido à sessão única de laser (36% dos olhos) do que no grupo do laser em múltiplas sessões (16% dos olhos). DERs foram notados no terceiro dia de seguimento e todos se resolveram no prazo de duas semanas em ambos os grupos. Perdas visuais transientes em ambos os grupos se resolveram em torno do sexto mês de seguimento sem nenhuma perda de visão, em longo prazo, em nenhum dos grupos (Doft; Blankenship, 1982). Doenças sistêmicas como hiperlipidemia, nefropatia diabética, doença oclusiva da carótida, anemia e fatores locais como pós-operatório de catarata e uveíte coexistente foram reportadas como causadoras de resposta exsudativa maior. Assim como o descolamento de coroide, as taxas de DER também foram menores com laser de múltiplas marcas. Nos casos de embaçamento visual após sessão de laser com PRP extensiva, deve-se sempre incluir DER no diagnóstico diferencial. Nos raros casos em que não se resolve

espontaneamente, um curso rápido de corticosteroides orais ou anti-inflamatórios não esteroidais pode ser efetivo (Reddy; Husain, 2018).

1.8.1.4 Neovascularização de coroide

Estudos demonstraram associação entre fotocoagulação a laser de xenônio, argônio e criptônio e NV subretiniana e de coroide (NVC), tanto na retina periférica, como na região perimacular. A ocorrência de NVC após ruptura da membrana de Bruch após fotocoagulação tem sido demonstrada tanto em modelos experimentais animais quanto clinicamente (Reddy; Husain, 2018). Os fatores de risco para formação de NVC estão fortemente relacionados com o ajuste do laser, particularmente na aplicação repetida de queimaduras de pequeno tamanho, curta duração e alta intensidade. Para diminuir a chance de formação de NVC, tem sido recomendado o tratamento partindo de áreas menos grossas da retina em direção às áreas mais grossas, com o objetivo de diminuir o excesso de dispersão de laser, uso de tamanho maior de mira e menor intensidade do laser e evitar aplicações repetidas. O uso de protocolos de laser limiar e sublimiar que minimizam o dano coriorretiniano também tem ganhado popularidade em contextos clínicos. A NVC ocorre mais raramente em sistemas de laser *multispot* (Reddy; Husain, 2018).

1.8.1.5 Edema macular secundário à panfotocoagulação

Edema macular, devido à PRP, pode causar queda temporária na visão em período precoce após o tratamento. O evento foi observado em torno de uma semana após o procedimento e a maioria se resolveu em até cerca de três meses. O mecanismo pelo qual o edema macular se desenvolve ainda permanece incerto, com etiologia possivelmente associada à quebra da barreira hematorretiniana pela inflamação induzida pela queimadura térmica. Modelos animais demonstraram que a hiperpermeabilidade capilar após o laser ocorre secundariamente às interações leucócito-endoteliais e ao aumento na liberação de citocinas, levando ao acúmulo de fluido na mácula. A relação entre edema macular e efusão de coroide ainda permanece incerta (Reddy; Husain, 2018).

O efeito da PRP no fluxo sanguíneo da coroide foi recentemente estudado. Usando a EDI-OCT (Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography), notou-se aumento da espessura da coroide subfoveal devido ao aumento no fluxo sanguíneo da coroide uma semana após a PRP. Cho GE, Cho HY e Kim (2013) postularam que esse aumento de fluxo foi secundário ao redirecionamento do sangue de áreas recentemente tratadas da retina periférica. Em estudo comparativo e prospectivo, incluindo 24 olhos com RDNPS sem edema macular, observou-se significativa redução da espessura e do fluxo sanguíneo subfoveal depois de um e três meses da PRP. A queda nas concentrações de VEGF após o procedimento levou à conseqüente diminuição da dilatação vascular da coroide e permeabilidade vascular, verificada um mês após a PRP. Contudo, nenhuma correlação direta foi encontrada entre a espessura da retina central e a espessura da coroide central no período imediato após a PRP (Okamoto; Matsuura; Ogata, 2016).

Edema macular ou aumento da espessura macular após a PRP é um reflexo de potência e duração maior das marcas de laser durante o tratamento. Os *lasers* de argônio, verde, azul, criptônio, vermelho e, em menor grau, *lasers* de diodo mais recentes, têm sido associados com essa complicação. Edema macular, como complicação do laser multispot/PASCAL também foi descrito (Reddy; Husain, 2018).

1.8.1.6 Alterações visuais

A diminuição da AV após a PRP já foi reportada em vários estudos (de Laey, 1993; Reddy; Husain, 2018). O estudo DRS (Diabetic Retinopathy Study Research Group, 1976) revelou piora inicial da AV no período de quatro meses após tratamento em olhos tratados com laser de argônio, provavelmente devido ao desenvolvimento de edema macular.

O afinamento da camada de fibras nervosas da retina na RD já foi relatado em vários estudos após PRP com laser de argônio, porém esse achado ainda não tem sido demonstrado com o laser PASCAL (Mehboob; Amin; Islam, 2019; Chatziralli et al., 2020). Olhos com RD avançada evidenciaram redução significativa na espessura da coroide subfoveal após dois meses de PRP, independentemente do tipo de laser utilizado (single-spot ou multi-spot), porém a redução foi mais

precoce após o laser convencional (Park; Lee; Kim, 2020).

Diminuição da visão noturna após o tratamento com PRP é confundida com a história natural na fisiopatologia da não perfusão periférica crônica, que pode levar à função diminuída dos bastonetes e subseqüentes alterações na adaptação ao escuro. Bavinger et al. (2016) verificaram diminuição nas taxas de resposta dos bastonetes e sensibilidade de cones em pacientes portadores de RDP não tratados e também naqueles tratados com PRP. Após a PRP, não foi observada deterioração adicional nas funções dos cones. Os autores sugerem que, enquanto houver disfunção na adaptação ao escuro após a PRP, ocorrerá preservação relativa das funções dos bastonetes, comparada com a RDP severa não tratada. Outros efeitos colaterais visuais, incluindo visão de cores diminuída e decréscimo na sensibilidade ao contraste, também foram reportados após PRP (Reddy; Husain, 2018).

1.8.2 Fotocoagulação direcionada a áreas de isquemia

Por muitos anos, a PRP tem sido a terapia de escolha para o tratamento da RDP com o objetivo de regredir neovasos. Apesar dos seus benefícios na redução da perda visual, a PRP está associada a vários efeitos oculares adversos, anteriormente citados, além da dor durante a realização do procedimento. Demonstrou-se que parte desses efeitos colaterais e das complicações é devida à distribuição ampla do padrão do laser usado na fotocoagulação tradicional (DRS, 1976; ETDRS, 1991a).

Sugere-se que a redução na extensão do tratamento da PRP possa ser vantajosa. Isso levou ao interesse em intervenções localizadas ou direcionadas de tratamento a laser que tem se mostrado favorável na RDP (Blankenship, 1987). Com o objetivo de poupar tecido melhor perfundido das queimaduras da PRP, foi criada a fotocoagulação retiniana direcionada (TRP) para tratar especificamente as áreas de não perfusão capilar e isquemia retiniana.

O desenvolvimento de tecnologias de imagem mais avançadas como a FA de amplo campo tornou este método mais factível. Estudo revela ausência de perda visual ou espessamento da retina central pós-TRP (Muqit et al., 2013). Contudo, a necessidade de fotocoagulação adicional após a TRP ainda é frequente e pode ser

considerada uma desvantagem da técnica. Em ensaio clínico randomizado, com 270 de olhos de 234 pacientes com RDP, conclui-se que a TRP estendida, com menor número de tiros de laser, pode ser uma alternativa apropriada para a PRP convencional na regressão da RDP até pelo menos o terceiro mês após o tratamento (Nikkhah et al., 2018).

Existe uma hipótese de que tratando áreas de não perfusão retiniana com TRP ocorreria um decréscimo na produção das citocinas vasoativas e, conseqüentemente, redução na necessidade de injeção de anti-VEGF para o tratamento do EMD. No estudo clínico prospectivo e randomizado de Brow et al. (2018) foram incluídos 40 olhos de pacientes com edema macular secundário ao diabetes divididos em dois grupos: Grupo 1, recebeu injeções intravítreas de ranibizumabe 0,3 mg e Grupo 2, submetido à terapia combinada com TRP guiada por FA de grande angular e 0,3 mg de ranibizumabe. Os autores observaram que, nos três anos de seguimento, não houve evidência de que a terapia combinada do ranibizumabe com a TRP melhorasse os resultados visuais ou reduzisse o dano do tratamento comparado com o ranibizumabe isolado. Apesar desses resultados, os autores acreditam ser possível que a TRP tenha diminuído o desenvolvimento e a morbidade de complicações neovasculares (no estudo, cinco olhos no grupo da monoterapia demonstraram nova RDP associada à NV, com dois olhos apresentando glaucoma neovascular, enquanto que no grupo do tratamento combinado, nenhum olho mostrou nova RDP associada à NV).

A PRP provou ser uma opção viável, em longo prazo, para o tratamento da doença retiniana isquêmica periférica, com bom controle da mesma. Mesmo na era das injeções intravítreas de anti-VEGF, a maior conveniência para os pacientes, em termos de acessibilidade, viabilidade financeira e necessidade de menor frequência de visitas fixas ao oftalmologista, reforça o papel da PRP como importante opção para o tratamento da doença proliferativa. Devido aos efeitos adversos, anteriormente mencionados, serão necessários estudos sobre novas técnicas e/ou refinamento das já existentes na tentativa de se diminuir o dano ao tecido retiniano e, conseqüentemente, reduzirem os tais efeitos adversos.

1.8.3 Ranibizumabe (Lucentis®)

O ranibizumabe é o fragmento humanizado do sítio de ligação ao antígeno do anticorpo monoclonal contra o VEGF, desenvolvido pela empresa farmacêutica Genentech, e tem por principal finalidade se ligar e inibir a atividade do VEGF. Não obstante, o ranibizumabe inibe, em teoria, todas as isoformas do VEGF-A (incluindo a isoforma 165), sendo aprovado pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para uso intravítreo para tratamento de EMD, em 2012.

A estrutura do ranibizumabe é de um anticorpo monoclonal FAB (fragmento de ligação ao antígeno), derivado do bevacizumabe, um anticorpo monoclonal de tamanho completo contra o VEGF humano. Atualmente, o ranibizumabe é produzido pelas células de *Escherichia coli* utilizando tecnologia de DNA recombinante. O ranibizumabe se liga com alta afinidade às isoformas de VEGF-A (ex.: VEGF110, VEGF121 e VEGF165) prevenindo, assim, a ligação do VEGF-A com seus receptores VEGFR-1 e VEGFR-2 (Dervenis et al., 2017).

O ranibizumabe tem mostrado efeitos positivos na regressão de neovasos (Jorge et al., 2011) e no tratamento do edema macular (Nguyen et al., 2012). O estudo RISE/RIDE foi realizado em dois ensaios controle Fase III, paralelos e randomizados, que avaliaram os resultados visuais em logo prazo em pacientes com EMD tratado apenas com ranibizumabe. Os participantes receberam ranibizumabe a 0,3 ou 0,5 mg, ou placebo. O laser para resgate macular foi aplicado a critério médico no terceiro mês. O desfecho primário foi a proporção de pacientes com ganho de 15 ou mais letras do ETDRS aos 24 meses. Demonstrou-se que uma proporção significativamente maior de pacientes que receberam ranibizumabe (44,8% dos pacientes que estavam recebendo ranibizumabe 0,3 mg e 39,2% daqueles que receberam ranibizumabe 0,5 mg) obteve ganho de 15 ou mais letras, comparados com 18,1% dos pacientes tratados com placebo. A análise do DRSS (Diabetic Retinopathy Severity Scale) mostrou que 35,7-38,5% dos olhos injetados com ranibizumabe obtiveram melhora nas suas retinopatias quando comparados com 4-7% do grupo placebo. Dos olhos com maior severidade da RDNP na visita inicial, mais de 75% apresentaram melhora dos níveis de severidade no mês 12. A progressão da retinopatia foi observada apenas em 0-4,7% dos olhos tratados com

ranibizumabe, comparados com 8,7-10,5% dos olhos injetados com placebo. Os olhos tratados com ranibizumabe também mostraram menor probabilidade de desenvolver RDP (1,6-5,6%), comparados com o placebo (11,5-15%) e menor necessidade de PRP (Nguyen et al., 2012). Redução total do vazamento de corante à FA foi observada em 21 de 22 pacientes diabéticos com neovasos de retina persistentes uma semana após tratamento com ranibizumabe intravítreo (IVR) (Jorge et al., 2011).

O protocolo S do DRCR foi um ensaio clínico randomizado desenhado para determinar se o ranibizumabe, 0,5 mg seria não inferior à PRP no tratamento da RDP. Trezentos e noventa e quatro olhos com RDP e virgens de tratamento foram randomizados 1:1 para receberem ranibizumabe ou PRP. O desfecho primário foi a média de melhora de AV aos dois anos. O ranibizumabe foi injetado a cada quatro semanas até a semana 12. Após, as injeções eram administradas seguindo um algoritmo pré-determinado. Injeções nas semanas 16 e 20 foram realizadas a não ser que toda a NV tivesse regredido. O grupo PRP recebeu tratamento a laser completo em 1-3 sessões e podia receber injeções de anti-VEGF, caso o EMD estivesse presente. A média de alteração na AV aos dois anos foi +2,8 letras no grupo do ranibizumabe, comparada a +0,2 letras no grupo da PRP ($p < 0,001$ para não inferioridade). Não houve diferença na percentagem de olhos com RDP quiescente (ranibizumabe 35%, PRP 30%). Apenas 6% dos olhos do grupo do ranibizumabe necessitaram de tratamento resgate com PRP (Writing Committee for the Diabetic Retinopathy Clinical Research Network et al., 2015).

A maioria dos efeitos adversos oculares das injeções intravítreas de anti-VEGF, como por exemplo, o aumento da pressão intraocular, é transiente, mas pode ter impacto importante em pacientes com glaucoma. Efeitos adversos sérios como endoftalmite são raros, mas cumulativos com as injeções continuadas. Na doença proliferativa, existe também o risco de descolamento tracional da retina após o uso de anti-VEGF em olhos com membranas vitreoretinianas pré-existentes, o que pode ocasionar perda de visão.

1.8.4 Associação terapêutica: Anti-VEGF + panfotocoagulação

Com relação à associação terapêutica, a combinação de IVR com PRP mostrou-se mais promissora do que a PRP isolada em relação à melhora da AV, estabilidade da espessura macular e maior taxa de regressão das áreas de neovasos em pacientes com RDP de alto risco (Ribeiro Filho et al., 2011). Arevalo et al. (2017) também concluíram que o uso de anti-VEGF (bevacizumabe) em pacientes com RDP e PRP prévia resultou na regressão dos neovasos secundários à doença.

Em olhos com RDP virgens de tratamento, os que receberam a combinação de PRP com anti-VEGF obtiveram redução maior e mais rápida na área de neovasos ativos dos que os olhos tratados apenas com PRP (Tonello et al., 2008). Figueira et al. (2018) avaliaram 87 pacientes com RDP de alto risco e encontraram resultados semelhantes, ou seja, o tratamento combinado (PRP+ranibizumabe) foi mais efetivo do que a monoterapia com PRP na regressão de neovasos ativos.

O estudo PRIDE (Lang et al., 2020) comparou a eficácia e segurança do ranibizumabe, com ou sem PRP e da PRP isolada em pacientes com RDP, em que olhos com PRP sem EMD foram randomizados. No mês 12 do estudo, observou-se diferença estatisticamente significativa de $-2,83 \text{ mm}^2$ na média de alteração nos mínimos quadrados da área de neovasos entre os grupos ranibizumabe e PRP, favorecendo o ranibizumabe (95% CI [-5.45; -0.21], $p=0.0344$). No mês 3, 67%/0%/67% dos pacientes nos grupos ranibizumab/PRP/terapia combinada, respectivamente, mostraram completa regressão do vazamento dos neovasos, enquanto que no mês 12, 28%/8%/18% apresentaram completa regressão do vazamento dos NVs. A alteração na AVMC foi maior no grupo ranibizumabe, comparado ao grupo PRP no mês 12 (+1.6 letras; 95% CI [-2.3; 5.5] *versus* -3.9 letras; 95% CI [-7.8; -0.1], $p=0.0495$).

Apesar de ensaios clínicos comprovarem que injeções intravítreas de anti-VEGF em pacientes portadores de RDP não submetidos previamente à PRP são adequadas para a manutenção da AV (Gross et al., 2018), alguns autores relataram que existe grande perda de seguimento para pacientes com RD, mesmo em casos de tratamento com cobertura universal de saúde (Chen, 2018; Angermann, 2019).

Considerando o risco de progressão e complicações da doença, é possível que a indicação de terapia antiangiogênica isolada nesses pacientes tenha consequências desastrosas em alguns casos.

1.8.5 Angiofluoresceinografia de grande angular

Apesar de mais de meio século, desde a sua introdução, a FA ainda é útil em muitas doenças retinianas, incluindo a RD. Angiogramas tradicionais exploram 30°-50° da retina por vez, porém a visualização da retina periférica é fundamental para a observação de áreas de não perfusão/isquemia, vazamento vascular, anormalidades microvasculares e NVs. A avaliação da periferia da retina é crucial para rastreamento, monitoramento, tratamento e avaliação de prognóstico da RD (Rabiolo et al., 2017).

A angiografia de grande angular permite que a retina possa ser estudada até a ora serrata com ângulo de imagem de até 200°, favorecendo a visibilização do polo posterior e da periferia com única captura de imagem. O método de grande angular demonstrou ser tão eficaz quanto a retinografia convencional, com sete campos padrão ETDRS para avaliarem a RD e o edema macular, além de, por cobrir maior área de retina do que o método tradicional, permitir identificação e manejo de condições que afetam a periferia (Silva et al., 2015; Yu et al., 2020).

A imagem fundoscópica em grande angular (*ultra wide field* - UWF) permite a documentação simultânea de uma área larga da retina e tem se mostrado mais sensível na detecção da RDP, comparada à imagem de sete campos, com 30°, preconizada no ETDRS. Essa habilidade adicional também fornece informação prognóstica valiosa. Alguns autores observaram que a presença de lesões predominantemente periféricas, definidas como qualquer lesão da RD localizada predominantemente fora dos campos do padrão ETDRS, aumentaram o risco de progressão da RD e desenvolvimento de RDP em quatro anos em 3,2 e 4,7 vezes, respectivamente. A extensão maior das lesões predominantemente periféricas na visita inicial também aumentou o risco da progressão da RD e RDP de maneira estatisticamente significativa (Silva et al., 2015; Yu et al., 2020).

O advento das imagens UWF também levou à prática da fotocoagulação a laser guiada pela UWF, na qual o tratamento é aplicado seletivamente em áreas de não perfusão mostradas na UWF-FA, em contraste com a técnica de PRP, que foi primeiro demonstrada no DRS (1987).

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar, comparativamente, os efeitos da panfotocoagulação “full scatter” (ETDRS-PRP) *versus* fotocoagulação direcionada a áreas de não perfusão capilar (ISQ-RP) associadas a IVR na morfofisiologia da retina no período de 12 meses.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar, de forma comparativa, os efeitos do procedimento de estudo sobre a área total de vazamento de fluoresceína (FLA) decorrente de neovasos de retina ativos determinada pela FA de grande angular em ambos os grupos (ETDRS-PRP *versus* ISQ-RP).
- Verificar, comparativamente, a alteração na AV média em ambos os grupos (ETDRS-PRP *versus* ISQ-RP).
- Observar, comparativamente, a necessidade de IVR para controle de neovasos em atividade.
- Verificar, de forma comparativa, os efeitos com relação à resposta eletrofisiológica retiniana (ETDRS-PRP *versus* ISQ-RP).

3. Casuística e Métodos

3.1 Considerações éticas

Foi realizado estudo prospectivo, randomizado, simples-cego (mascarado para o paciente), com grupos paralelos. O projeto 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) (Anexo), assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice), Processo nº 4160/2014.

Todos os pacientes, que concordaram em participar do estudo, assinaram o TCLE após serem informados a respeito da pesquisa, seus objetivos e das condições de sua realização.

3.2 Pacientes e grupos

Foram incluídos no estudo pacientes atendidos pelo serviço de Retina e Vítreo do HCFMRP-USP com diagnóstico de RDP sem tratamento prévio, de acordo com os critérios abaixo elencados.

3.2.1 Critérios de inclusão

- a. Paciente diabético acima de 18 anos de idade;
- b. Presença de RDP com NV de retina, definida como neovasos ativos, vasos finos de retina, com dilatações saculares ou extremidades cobertas com sangue, ou associados à hemorragia vítrea recorrente), com AV melhor que 20/800, sem tratamento a LASER prévio;
- c. TCLE devidamente assinado.

3.2.2 Critérios de exclusão

- a. Presença de RDP avançada, ou seja, hemorragia vítrea que impedisse a documentação do fundo de olho, ou a realização de fotocoagulação adequada da retina; ou, ainda, presença de descolamento de retina tracional envolvendo a mácula;

- b. Presença de NV de retina em formato de anel, estendendo-se ao longo de ambas as arcadas temporais e do disco óptico;
- c. Qualquer anormalidade da interface vitreoretiniana na região macular que o pesquisador julgasse necessária vitrectomia via *pars plana*;
- d. Injeção intravítrea de corticoesteroides ou outras drogas antiangiogênicas em período igual ou inferior a seis meses da primeira avaliação;
- e. Incapacidade de fixação e conclusão do exame de perimetria estática automatizada;
- f. Cirurgia de catarata nos últimos três meses;
- g. Vitrectomia posterior ou retinopexia com introflexão escleral, em qualquer época;
- h. Infecção ocular aguda;
- i. Alergia à FLA;
- j. Condições médicas ou psicológicas que impedissem o paciente de concluir o estudo ou assinar o TCLE;
- k. Doença significativa e não controlada que, na opinião do investigador, pudesse excluir o paciente do estudo;
- l. Impedimento ou capacidade legal limitada;
- m. Participação em outro estudo clínico nos últimos 30 dias.

NOTA 1: Pacientes que participaram de algum estudo clínico nos últimos 12 meses, ainda que tivessem finalizado sua participação anteriormente aos últimos 30 dias, não foram incluídos neste estudo.

NOTA 2: Foram excluídos, ao longo do estudo, pacientes com perda de duas visitas consecutivas.

Os pacientes incluídos no estudo foram divididos em dois grupos, seguindo randomização sequencial:

Grupo ETDRS-PRP: Neste grupo, os pacientes foram submetidos à panfotocoagulação a LASER (Full-Scatter) (ETDRS), associada à IVR (ranibizumabe - Lucentis®) de 0,05 ml (0,5 mg);

Grupo ISQ-RP: Os pacientes foram submetidos à ISQ-RP, associada à IVR (ranibizumabe - Lucentis®) de 0,05 ml (0,5 mg).

3.3 Métodos de avaliação

- **AV**: Foi aferida por meio da tabela logMAR com a melhor correção, segundo padronização recomendada pelo ETDRS (1985).
- **Biomicroscopia estereoscópica**: foi realizada com lente de 78 Dioptrias (Volk) e classificada de acordo com o critério determinado pelo ETDRS (1985).
- **Pressão intraocular**: foi aferida por meio de tonômetro de aplanção de Goldmann.
- **Retinografia**: foram obtidas fotografias coloridas visando documentação de 200° do fundo ocular com retinógrafo digital (Optomap 200TX; Optos PLC, Dunfermline, Scotland, United Kingdom).
- **FA**: O exame foi realizado com o aparelho de grande angular Spectralis Eyetracker Tomographer, HRA-OCT, Heidelberg, Germany. A FA documenta o processo dinâmico no qual a FLA penetra no olho através da circulação arterial, interage com as estruturas anatômicas (normais e anormais) e deixa o olho via circulação venosa. É fundamental reconhecer o padrão da FA normal e suas fases antes de iniciar o estudo de suas anormalidades. Antes da injeção de contraste, foi realizado o teste de autofluorescência. Após a injeção de 2 ml de contraste de FLA a 20%, foram identificadas as seguintes fases do angiograma, descritas a seguir:
 - Fase coróideia: A coróide é o primeiro tecido a fluorescer no olho e tem o início logo após a injeção de contraste e antes do enchimento arterial. Qualquer senso de estrutura da coróide é imediatamente perdido, pois os capilares da coriocapilar são fenestrados e difundem o contraste para todo o tecido extravascular. Nesta fase, em alguns pacientes pode ser observada a artéria ciliarretiniana, que nasce da circulação coróideia e enche juntamente com a coróide (diferente da artéria central da retina que vai encher na fase seguinte).

- Fase arterial: Esta fase se inicia com a entrada do contraste nas artérias da retina. É uma fase muito rápida, durando aproximadamente de um a dois segundos.
- Fase arteriovenosa: Imediatamente após o enchimento arterial, começa o enchimento da veia, que se faz inicialmente na margem do vaso (fluxo laminar), dando o padrão característico desta fase. **Obs: o fluxo sanguíneo pode ser do tipo laminar, ou turbulento. Quando o fluxo é laminar, todas as moléculas se movem em direção única (paralela à outra); no caso do fluxo turbulento, as moléculas se movem em todas as direções. No fluxo venoso, o contraste caminha no sentido de um ramo venoso menor para um ramo maior, facilitando o desenvolvimento de fluxo do tipo laminar.
- Fase venosa: Esta fase se caracteriza pelo enchimento total das veias. Geralmente, ficam mais brilhantes que a artéria.
- Fase de recirculação: Artérias e veias ficam com fluorescência semelhante e começa o processo de esvaziamento com o decréscimo do contraste.
- Fase tardia: Nesta fase observa-se a fluorescência residual (*staining*) de algumas estruturas normais como, por exemplo, o disco óptico; e há o decréscimo total da fluorescência.

Foi realizada medida, em mm^2 , da área de vazamento de FLA decorrente de neovasos ativos em angiografia no período de 1,5 a 2,5 minutos após a injeção endovenosa de 2 ml de corante a 20% e identificação das áreas de isquemia sob angiografia.

- **OCT:** O exame foi realizado com aparelho *spectral domain* (Spectralis Eyetracker Tomographer, HRA-OCT, Heidelberg, Germany). A medida da espessura macular foi obtida utilizando-se protocolo de rastreamento padrão $20^\circ \times 15^\circ$, consistindo em 19 seções horizontais (cada uma a partir de 25 quadros), com distância de $240 \mu\text{m}$ entre cada *scan*, cobrindo um quadrilátero de $20^\circ \times 15^\circ$ na retina, centrado

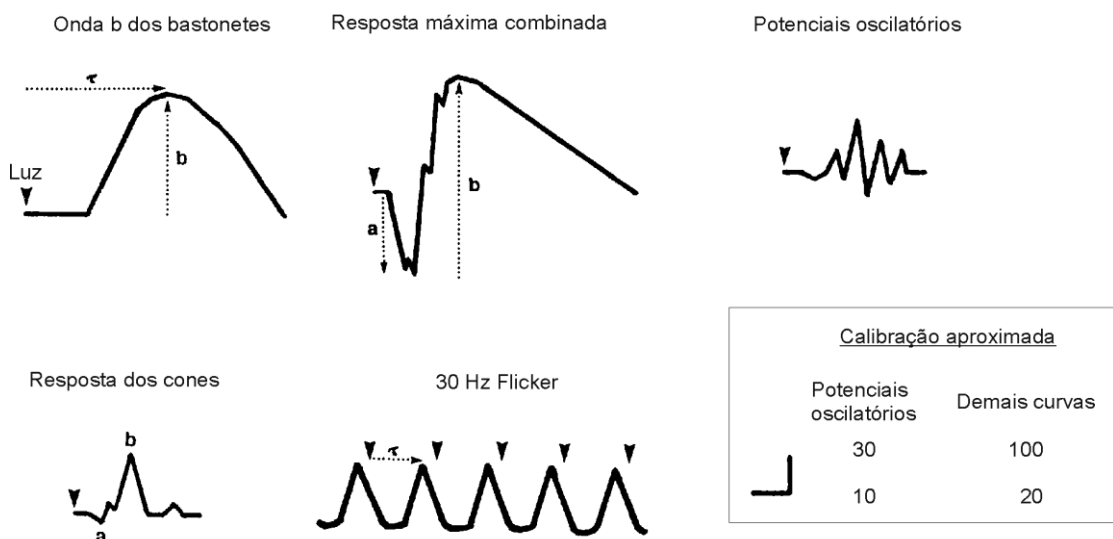
na fóvea. O modo de *follow-up* foi utilizado a fim de minimizar a variabilidade nos reexames. Para melhorar a acurácia dos dados da OCT, a delimitação automática dos limites interno e externo da retina neurossensorial, gerados pelo *software* do equipamento, foi verificada para cada um dos *scans*. A espessura de sbcampo central (CSFT) foi calculada automaticamente pela média da espessura da região macular central em diâmetro de 1000 µm centrado na foveola pelo *software* do *Spectralis* utilizando análise de mapas da retina (*retinal map analysis*).

- **ERG:** Foi realizado por meio de eletrodos oculares DTL e cutâneos. Após limpeza e remoção de excesso de gordura da superfície, três eletrodos cutâneos foram usados para o registro do ERG; dois deles, os dos polos negativos dos olhos esquerdo e direito, foram posicionados na pele da respectiva têmpora lateral e o terceiro na frente, para servir como referencial elétrico (terra). Os eletrodos DTL consistem em uma fibra de *nylon* prata, que é colocada em contato com a córnea e conjuntiva para servir como eletrodo do polo positivo. Esse tipo de eletrodo tem sido largamente utilizado em eletrofisiologia e apresenta como suas principais vantagens: conforto para o paciente, menor risco de ansiedade em pacientes que não se adaptam a lentes de contato, baixo risco de lesões corneanas, baixa impedância e boa reprodutibilidade dos resultados. O aparelho de ERG é o da fabricante Diagnosys LLD - Espion E2, em conjunto com o estimulador ColorDome. A avaliação eletrorretinográfica foi realizada em dois passos: (1) avaliação do estado de total adaptação ao escuro; (2) avaliação da função dos cones após adaptação à luz.

Após aplicação tópica de uma combinação de tropicamida e fenilefrina para dilatação das pupilas, os indivíduos foram adaptados ao escuro durante 30 minutos para avaliação da função retiniana escotópica. Eletrodos foram fixados com auxílio de luz vermelha que não influencia o estado de adaptação ao escuro.

A ISCEV preconiza a utilização de pelo menos dois *flashes* luminosos curtos (4 ms), de luz branca (6500 K), repetidos entre quatro e 15 vezes, dependendo da relação sinal/ruído, para se calcular a média. O primeiro, de luminância de $-2 \log^{10} \text{cd.s/m}^2$ serve para avaliação da onda b dos bastonetes e o segundo, também chamado de *flash* padrão, com luminância de aproximadamente $0.5 \log^{10} \text{cd.s/m}^2$, é usado para avaliação da resposta máxima combinada entre cones e bastonetes (Figura 4). No presente estudo, além de contar com esses dois estímulos, foram incluídos no protocolo outros três *flashes* com luminâncias intermediárias para proporcionar a determinação da relação entre a amplitude da onda b e a luminância do *flash*.

Figura 4 - Exemplos de formas de ondas das respostas elétricas registradas no protocolo padrão internacional de eletrofisiologia da visão (ISCEV)



Fonte: Adaptado de Marmor, Zrenner (1998-1999).

A avaliação da função dos cones seguiu exatamente o protocolo recomendado no padrão internacional (ISCEV). A adaptação à luz é realizada durante 10 minutos com a exposição da retina à luminância de 30cd/m^2 . Isso praticamente garante a extinção de resposta elétrica proveniente dos bastonetes. Dois estímulos são preconizados, o primeiro consta de um *flash* único, e o segundo,

periódico, de frequência igual a 30 Hz. Também foram solicitados exames clínicos: HbA1c e glicemia de jejum no pré-tratamento (Método Certificado pelo NGSP - "National Glycohemoglobin Standardization Program", Valor de Referência = 4,1 a 6,5%).

3.4 Fotocoagulação a LASER

3.4.1 Panfotocoagulação a LASER (ETDRS)

Foi realizada nas semanas 0 (hemirretina inferior) e 2 (hemirretina superior) no grupo PRP-ETDRS. O procedimento foi realizado com LASER diodo verde, de acordo com o ETDRS (1991a) em duas sessões de 700 - 800 marcas cada uma, totalizando 1400 - 1600 marcas, com duração do disparo de 100 ms. Foi utilizada a lente ocular Mainster PRP 165, com campo de visão dinâmico de 180°, mira de 200 micra (392 na retina) e potência modulada para gerar marcas moderadamente brancas na retina.

3.4.2 Fotocoagulação a LASER direcionada a áreas de má perfusão capilar

Foi realizada nas semanas 0 (hemirretina inferior) e 2 (hemirretina superior) do estudo no grupo ISQ-RP. O procedimento foi realizado com LASER diodo verde nas áreas de má perfusão capilar, identificadas por meio da FA de grande angular, com duração dos disparos de 100 ms. Foi utilizada a lente ocular Mainster PRP 165, com campo de visão dinâmico de 180°, mira de 200 micra (392 na retina), espaçamento entre as marcas de 0,5 mira, e potência modulada para gerar marcas moderadamente brancas na retina.

3.4.3 Injeção intravítrea de ranibizumabe

As IVR foram aplicadas em ambiente cirúrgico, 30 minutos após a PRP, com agulha e seringa descartáveis BD Ultra-Fine™ 29G ½”, via *pars plana*, com anestesia tópica, a 3,5 mm do limbo. Após o procedimento, foi avaliada a perfusão do nervo óptico por oftalmoscopia binocular indireta, considerando-se paracentese de câmara anterior em casos de má perfusão. Os pacientes foram instruídos a usar colírio antibiótico (moxifloxacino 0,5%), uma gota de 3 em 3 horas no olho que seria submetido ao procedimento, iniciando 24 horas antes da injeção, para fins de profilaxia, permanecendo por uma semana após a injeção. A dose administrada do ranibizumabe (Lucentis®) foi de 0,5 mg em 0,05 ml de veículo.

3.4.4 Avaliação basal e visitas de seguimento

Foram realizadas 13 visitas durante doze meses. Na semana 0 foi realizado o procedimento, de acordo com o grupo, e de forma randomizada. Na semana 2, os pacientes foram submetidos à segunda sessão de fotocoagulação a LASER. A partir da 4ª semana, no seguimento dos grupos, foram realizadas: aferição da AV, OCT mensalmente, a fim de se detectar EMD, e FA trimestralmente, para se identificarem neovasos ativos. Em caso de neovasos ativos ou EMD foi aplicada IVR. A avaliação funcional da retina foi feita na visita de triagem, e na semana 12.

3.5 Critérios de retratamento

Todos os pacientes receberam IVR na semana 0 do estudo. A partir de então, foram reavaliados por meio da FA a cada três meses. Quando constatada a presença de neovasos ativos, receberam nova IVR de 0.5 mg. A cada reavaliação mensal, o paciente também recebeu nova IVR quando a espessura do subcampo central se apresentou superior a 300 µm ao OCT.

3.6 Critérios de resgate

Caso o paciente apresentasse evolução para formas avançadas de RD, o mesmo poderia ser submetido à vitrectomia após hemorragia vítrea densa por mais de três meses, ou descolamento de retina tracional envolvendo a mácula. Em caso de glaucoma neovascular, o paciente era encaminhado para cirurgia fistulizante hipotensora. Todos os casos resgatados foram mantidos no estudo, a menos que o paciente não desejasse continuar.

3.7 Características da amostra

O tamanho da amostra foi baseado no desvio padrão da área de vazamento de FLA de um estudo anterior em que PRP associada a ranibizumabe foi usada para o tratamento da RDP (Ribeiro Filho et al., 2011). Considerando esse estudo anterior, a amostra de 15 pacientes por grupo gerou poder de 80% de detecção de diferença de 2 mm² entre os dois grupos.

3.8 Métodos estatísticos

A comparação pré e pós-tratamento foi realizada por análise de variância, dependendo da distribuição apresentada pelas variáveis analisadas. O nível de significância estatística foi 0.05. A comparação longitudinal nos resultados de AV, OCT e tamanho da área de vazamento por neovasos entre os dois grupos se deu por meio do teste de Mann-Whitney.

4. Resultados

Quarenta olhos de 28 pacientes foram incluídos, mas apenas 27 completaram o período de 48 semanas do estudo (14 olhos no grupo ETDRS-PRP e 13 olhos no grupo ISQ-RP) (Tabela 1). Dos pacientes incluídos originalmente, um paciente do grupo ISQ-RP desenvolveu catarata impeditiva à continuidade no estudo e dois pacientes (um do grupo ISQ-RP e outro do grupo ETDRS-RP) apresentaram descontrole metabólico importante, resultando em faltas em mais de três visitas; sendo, portanto, excluídos do estudo. Cinco pacientes não compareceram em duas visitas consecutivas por motivos diversos (não relacionados às suas condições clínicas), sendo também excluídos do estudo.

Tabela 1 - Características demográficas dos pacientes incluídos no estudo

	ETDRS-PRP	ISQ-RP
Sexo		
Masculino	6 (42,8%)	10 (71,4%)
Feminino	8 (57,1%)	4 (28,6%)
Idade (anos)	58,7	60,4
CSFT (μm)	323	330
Glicemia de jejum (mg/dL)	145,1	164,8
Hemoglobina glicada (mg/dL)	9,31	7,64

CSFT= espessura de subcampo central; **ETDRS**= Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research; **PRP**= fotocoagulação panretiniana; **ISQ-RP**= fotocoagulação direcionada a áreas de isquemia

4.1 Áreas de vazamento por neovasos ativos (FLA)

Não houve diferença significativa na área de vazamento por neovasos ativos na FA entre os grupos no *baseline* ($p > 0.05$). A média \pm SE da FLA (mm^2) foi 16.1 ± 4.42 e 9.97 ± 1.83 para os grupos ETDRS PRP e ISQ-RP, respectivamente. Redução significativa na FLA foi observada em todas as visitas de seguimento comparadas ao *baseline* para ambos os grupos, mas não houve diferença entre os grupos ($p > 0.05$) (Figura 5 e Tabela 2).

4.2 Acuidade visual melhor corrigida (AVMC)

Não houve diferença significativa da AVMC entre os grupos no *baseline* ($p>0.05$). A média \pm SE da AVMC (logMAR) foi de 0.44 ± 0.07 e 0.37 ± 0.08 para os grupos ETDRS-PRP e ISQ-RP, respectivamente. Não houve alteração relevante na AVMC durante o seguimento. Não foi observada diferença significativa na AVMC do *baseline* entre os grupos ETDRS-PRP e ISQ-RP (Figura 5 e Tabela 2).

4.3 Espessura de subcampo central (CSFT)

Não houve diferença significativa na CSFT entre os grupos no *baseline* ($p>0.05$). A média \pm E para CSFT (μm) foi de 324.00 ± 20.44 e 330.07 ± 22.08 para os grupos ETDRS-PRP e ISQ-RP, respectivamente. Não houve alteração significativa no CSFT durante o seguimento (Figura 5 e Tabela 2). Não se observou diferença significativa entre a média do número de injeções entre os grupos ETDRS-PRP e ISQ-RP (7.21 e 8.53 injeções, respectivamente, incluindo a injeção da visita inicial). No grupo ETDRS-PRP, o número de injeções por neovasos e controle do edema macular foi de 1,71 e 3.57, respectivamente; enquanto que no grupo ISQ-RP, o número médio de injeções por neovasos e controle do edema macular foi de 1.69 e 4.78, respectivamente. Não houve diferença entre os grupos em relação ao número de injeções necessárias para o controle de neovasos.

Figura 5 - Diferença em relação ao *baseline* na área de vazamento de fluoresceína (FLA) pela angiografia, acuidade visual melhor corrigida (AVMC) e espessura do subcampo central (CSFT) durante 48 semanas

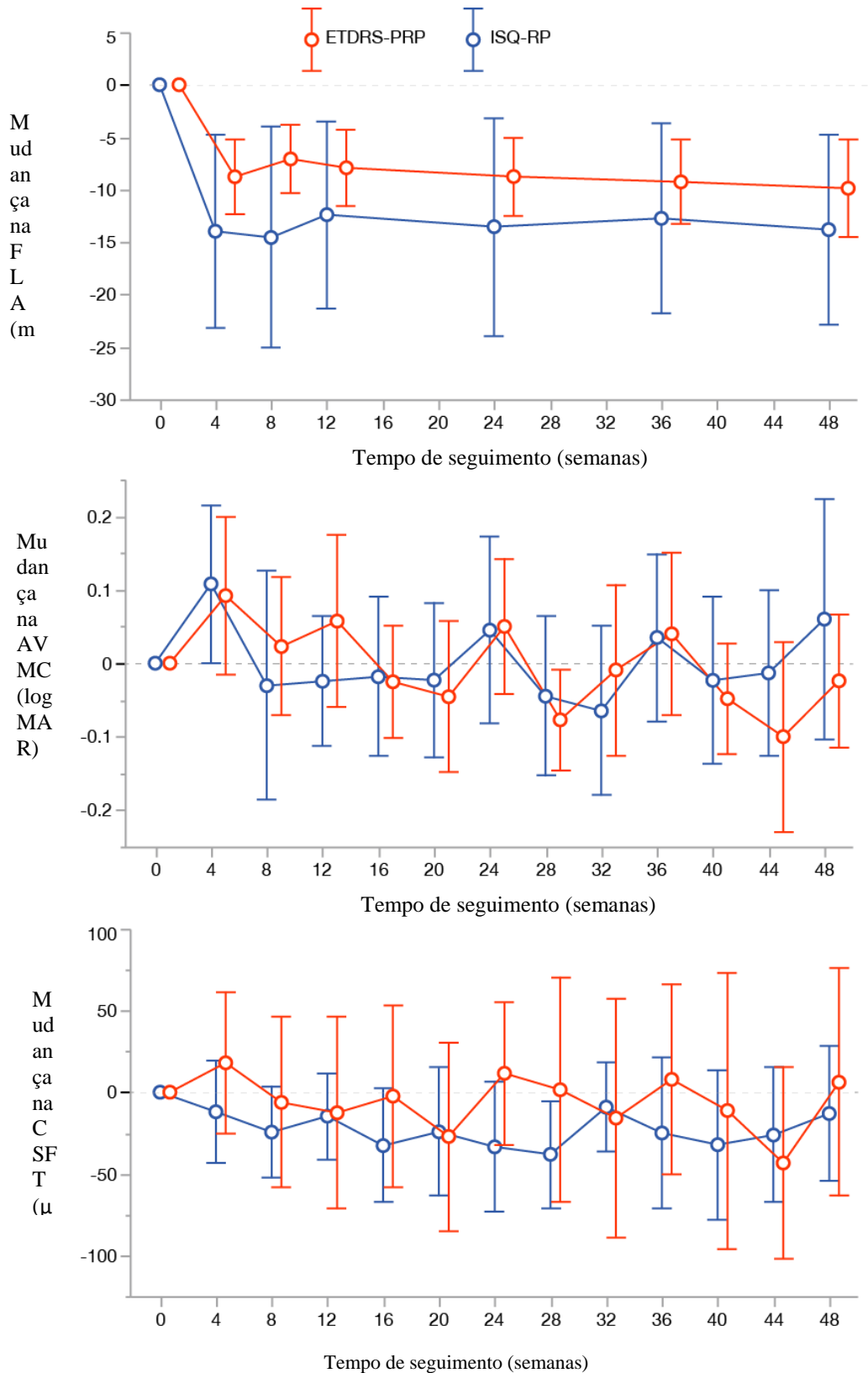


Tabela 2 - Média±SE AVMC, FLA e CSFT em todas as visitas

week	ETDRS-PRP			ISQ-RP		
	AVMC (logMAR)	FLA (mm ²)	CSFT (μm)	AVMC (logMAR)	FLA (mm ²)	CSFT (μm)
0	0.44 ± 0.07	16.1 ± 4.42	324.00 ± 20.44	0.37 ± 0.08	9.97 ± 1.83	330.07 ± 22.08
4	0.55 ± 0.06	2.13 ± 0.98	312.00 ± 18.07	0.46 ± 0.07	1.20 ± 0.46	348.07 ± 29.99
8	0.41 ± 0.06	2.86 ± 1.48	299.53 ± 12.89	0.39 ± 0.08	2.45 ± 0.79	323.80 ± 22.34
12	0.37 ± 0.07	6.28 ± 2.04	309.33 ± 13.60	0.42 ± 0.08	2.73 ± 0.80	317.47 ± 22.33
16	0.38 ± 0.05		291.27 ± 12.72	0.34 ± 0.08		327.67 ± 24.81
20	0.37 ± 0.06		308.57 ± 10.24	0.34 ± 0.08		308.07 ± 16.02
24	0.40 ± 0.05	3.89 ± 1.7	299.36 ± 08.79	0.44 ± 0.07	1.04 ± 0.45	346.79 ± 30.31
28	0.31 ± 0.04		294.79 ± 11.48	0.31 ± 0.08		336.71 ± 32.44
32	0.29 ± 0.05		310.00 ± 19.55	0.35 ± 0.07		319.36 ± 26.73
36	0.39 ± 0.06	3.96 ± 1.24	294.17 ± 12.06	0.36 ± 0.09	0.53 ± 0.34	343.07 ± 31.08
40	0.33 ± 0.06		287.00 ± 13.87	0.27 ± 0.07		326.62 ± 33.79
44	0.34 ± 0.04		292.92 ± 13.32	0.22 ± 0.06		294.46 ± 10.68
48	0.42 ± 0.07	2.89 ± 1.08	306.08 ± 15.71	0.25 ± 0.08	0.67 ± 0.28	326.33 ± 33.13

AVMC= Acuidade visual melhor corrigida; **FLA**= Área de vazamento de fluoresceína; **CSFT**= espessura de subcampo central.

4.4 Eletrorretinografia

Respostas do ERG no *baseline* demonstraram as alterações funcionais típicas da RD, usualmente encontradas neste estágio avançado da doença. Foram observadas reduções massivas da amplitude de onda b, dos potenciais oscilatórios adaptados ao escuro e da latência de onda b. Essas alterações foram ainda mais amplificadas depois do tratamento com o laser, com redução de 71% da amplitude de onda b dos bastonetes para o grupo ETDRS PRP e 78% para o grupo ISQ-RP, mas não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($p > 0.05$). O mesmo foi observado para todos os parâmetros mensurados do ERG, tanto na fase de adaptação ao claro quanto ao escuro (Tabela 3).

Tabela 3 - Média \pm SE da amplitude do ERG no *baseline* e depois de 12 semanas de tratamento para ambos os grupos

	ISQ-PR		ETDRS-PRP	
	<i>Baseline</i>	12 semanas	<i>Baseline</i>	12 semanas
ERG Adaptado ao escuro				
0.01 cd.s/m ² [bastonete]	172.21 \pm 20.11	54.52 \pm 5.53	182.19 \pm 23.57	70.39 \pm 7.82
3.0 cd.s/m ² 0.5 [SF] onda b	303.47 \pm 33.48	124.45 \pm 24.79	325.97 \pm 38.62	162.54 \pm 27.79
3.0 cd.s/m ² 0.5 [SF] onda a	148.8 \pm 16.24	62.96 \pm 12.54	177.8 \pm 23.28	82.15 \pm 10.41
[SF] -75 - 300 Hz [OP]	32.83 \pm 3.97	14.53 \pm 2.53	31.71 \pm 5.19	15.49 \pm 2.16
ERG Adaptado ao claro				
3.0 cd.s/m ² 30 Hz. Flicker	51.33 \pm 9.71	24.78 \pm 2.97	55.95 \pm 9.69	29.05 \pm 6.59
3.0 cd.s/m ² Cone [SF]	74.09 \pm 13.38	33.75 \pm 3.85	79.99 \pm 13.79	53.24 \pm 17.6
3.0 cd.s/m ² ON OFF [200 ms]	51.51 \pm 8.99	36.74 \pm 6.4	51.46 \pm 8.61	33.71 \pm 8.63

ISQ-PR= Fotocoagulação direcionada a áreas de isquemia; **ERG**= Eletroretinograma.

4.5 Eventos adversos

Eventos menores relacionados à IVR, como hemorragia subconjuntival, foram reportados em 5% dos pacientes, durante as 48 semanas do estudo, com o procedimento sendo bem tolerado e sem evidências clínicas de uveíte, endoftalmite ou toxicidade ocular.

5. Discussão

Pelo desvio padrão da área de vazamento de FLA do estudo de Ribeiro Filho et al. (2011), foi estimada a chance de 80% de detecção de diferença de 2 mm² entre grupos, caso 15 olhos por grupo tivessem finalizado o tempo de seguimento de 48 semanas. Porém, dos 40 olhos incluídos no presente estudo, inicialmente, apenas 27 completaram o período de 48 semanas de seguimento (14 olhos no grupo ETDRS-PRP e 13 olhos no grupo ISQ-RP) (Tabela 1), devido às dificuldades inerentes a pacientes com doenças crônicas graves em aderirem a um seguimento longo e regular; o que gerou a perda de seguimento de 32,5% dos olhos incluídos. Considerando a presente amostra, o poder do estudo foi reduzido de 80% para 71,4%, o que pode ser uma limitação, mas também pode ser considerado razoável para tal ensaio.

Abdelmotaal et al. (2020) relataram perda de seguimento de 25,4% em cinco anos, mas é possível que essa discrepância na taxa de perda de seguimento entre os dois estudos se deva aos critérios menos estritos para essa variável no estudo de Abdelmotaal et al. (2020). No presente estudo, a perda de dois meses de consulta já enquadrrou como perda de seguimento, enquanto que no de Abdelmotaal et al. (2020), o critério para definição de perda de seguimento foi perda de seis meses consecutivos de consultas. Subahsh et al. (2016), por sua vez, encontraram taxa de perda de seguimento de 12% em seis meses. Vale ressaltar que esses números representam pacientes que seguem um protocolo clínico; sendo, normalmente, acompanhados mais de perto pelos respectivos coordenadores e com visitas em tempo otimizado. É possível que essa taxa seja ainda maior em pacientes da vida real. Essa alta taxa de perda de seguimento, possivelmente, interfere nos desfechos visuais em pacientes de vida real (não incluídos em protocolos de pesquisas clínicas) e tem que ser levada em consideração na escolha da melhor terapia para cada paciente. Aproximadamente 60% dos pacientes com RDP respondem à PRP (com regressão dos neovasos retinianos) em três meses da finalização do tratamento (Vander et al., 1991). No entanto, novos vasos retinianos podem continuar a crescer após a primeira sessão de PRP em um terço dos pacientes (Doft; Blankenship, 1982). Além disso, hemorragias vítreas podem causar perda de visão e impedir sessões de PRP complementares nesses pacientes. Em contraste, injeções intravítreas de anti-VEGF podem resultar em regressão rápida da NV após

única injeção (Spaide; Fisher, 2006); mas a eficácia das injeções intravítreas tem duração relativamente curta e os neovasos recorrem em 93% dos olhos depois de 12 semanas (Jorge et al., 2006; Yang et al., 2013). Apesar dos efeitos mais prolongados da PRP (Yang et al., 2013), muitos pacientes, eventualmente, requerem terapia suplementar (Zhou et al., 2016; Dehghani et al., 2017).

Obeid et al. (2019) encontraram disparidades significativas nos desfechos anatômicos e funcionais entre olhos com RDP, que perderam o seguimento por mais de seis meses após o tratamento com anti-VEGF *versus* o com PRP. Os autores observaram significativa diminuição da visão no grupo do anti-VEGF exclusivo, o que não é surpreendente, visto que as taxas de perdas de seguimento em pacientes que participam de estudos clínicos randomizados geralmente não refletem aquelas da população geral, e as taxas de má adesão em pacientes com RD podem ser relativamente altas. Esse desfecho negativo no grupo anti-VEGF exclusiva se deve, provavelmente, à piora do edema macular, ao aumento da incidência de glaucoma neovascular e descolamento tracional da retina após a perda de seguimento. Isso sugere que, apesar dos dois tratamentos serem efetivos para a RDP, talvez o ideal seja o tratamento combinado, como o realizado no presente estudo, em ambos os grupos. A PRP garante efeito mais duradouro da supressão do VEGF, enquanto que a injeção de anti-VEGF garante rápida redução da NV, além do controle do EMD, quando este estiver presente.

Os achados deste estudo sugerem que o tratamento da RDP, tanto com associação de IVR e PRP, como preconizado pelo ETDRS, quanto com ISQ-RP está associado a reduções similares na área de vazamento de FLA, até 48 semanas de seguimento. Jorge et al. (2011) observaram redução significativa na área de neovasos persistentes nas semanas 1, 6, 12, 24, 36 e 48 após IVR administrado a cada quatro semanas se detectado vazamento de FLA por neovasos ativos na angiografia. Ribeiro Filho et al. (2011), comparando ETDRS/PRP a ETDRS/PRP/IVR para RDP de alto risco, observaram, pela FA, redução da área de neovasos ativos nos dois grupos de tratamento; essa redução, contudo, foi maior no grupo que recebeu terapia combinada ($-2.9 \text{ mm}^2 \pm 1.3$ no grupo PRP e $-5.8 \text{ mm}^2 \pm 0.7$ no grupo PRP-IVR; $p=0.0291$).

No presente estudo, após 48 semanas de seguimento, não foi observada

melhora significativa na AV e na espessura do subcampo central na visita final, apesar de se verificar menor dano induzido pela fotocoagulação com laser direcionado no grupo ISQ-RP. De fato, no estudo de Ribeiro Filho et al. (2011), pacientes tratados com PRP e IVR apresentaram AVMC e CSFT estáveis, enquanto que aqueles submetidos à PRP isoladamente evidenciaram piora dessas variáveis. Em outras palavras, a estabilidade da espessura macular (ausência de piora) pode ser um bom resultado após 48 semanas de tratamento combinado (laser e anti-VEGF). Muqit et al. (2013) sugerem que a terapia direcionada para áreas retinianas isquêmicas pode minimizar os efeitos colaterais do tratamento a laser em relação à perda de campo visual e edema macular. Os autores trataram zonas de não perfusão capilar retiniana e isquemia retiniana intermediária guiada por FA de grande angular na RDP, obtendo regressão da RDP em 76% dos pacientes nas 12 semanas, e o desvio médio do campo visual melhorou nas semanas 12 e 24, sugerindo que o ISQ-RP com laser Optosguided Pascal para pacientes com RDP, virgens de tratamento, mostrou perfil de segurança favorável. Eles argumentam que, apesar de as áreas de não perfusão aparecerem “pretas”, hipofluorescentes e não vascularizadas na autofluorescência de fundo, existem células neurais internas viáveis, células de Muller e gliais que continuam a produzir VEGF. Nas áreas de laser direcionado, pareceu ter havido revascularização da retina, talvez por causa das interações entre a dose de laser na retina externa, aumentando a oxigenação da retina interna e modulando as respostas gliais e de VEGF. O desaparecimento dos neovasos em pacientes submetidos a laser direcionado sugere também infrarregulação dos níveis intraoculares de VEGF induzidos pelo laser.

Blankenship (1988) comparou a PRP com laser de argônio com distribuição mais central *versus* a de distribuição mais periférica no tratamento de cinquenta olhos com RDP extensiva. O ensaio resultou em perda de duas ou mais linhas de AV em mais de 24% dos olhos submetidos à PRP de padrão mais central, e apenas em 8% do grupo da PRP mais periférica. Nesse mesmo estudo, a constrição média do campo visual foi maior no grupo da PRP de padrão central, assim como a espessura macular aumentou em 19% neste grupo, ao passo que diminuiu 19% no grupo da PRP periférica ($p < 0.05$); havendo maior regressão completa de NVD no grupo PRP periférica. Apesar de os dois padrões de laser apresentarem bons

resultados visuais e anatômicos seis meses após o tratamento, o autor sugere que a redução na quantidade de tratamento próximo ao polo posterior durante a PRP pode ser vantajosa. Reddy, Hu e Schwartz (2009) utilizaram FA de grande angular para direcionar a fotocoagulação retiniana para áreas de não perfusão capilar no tratamento da NV diabética, observando regressão bem sucedida, evitando possíveis complicações, tais como edema macular e perda de campo visual devido à preservação da retina funcional.

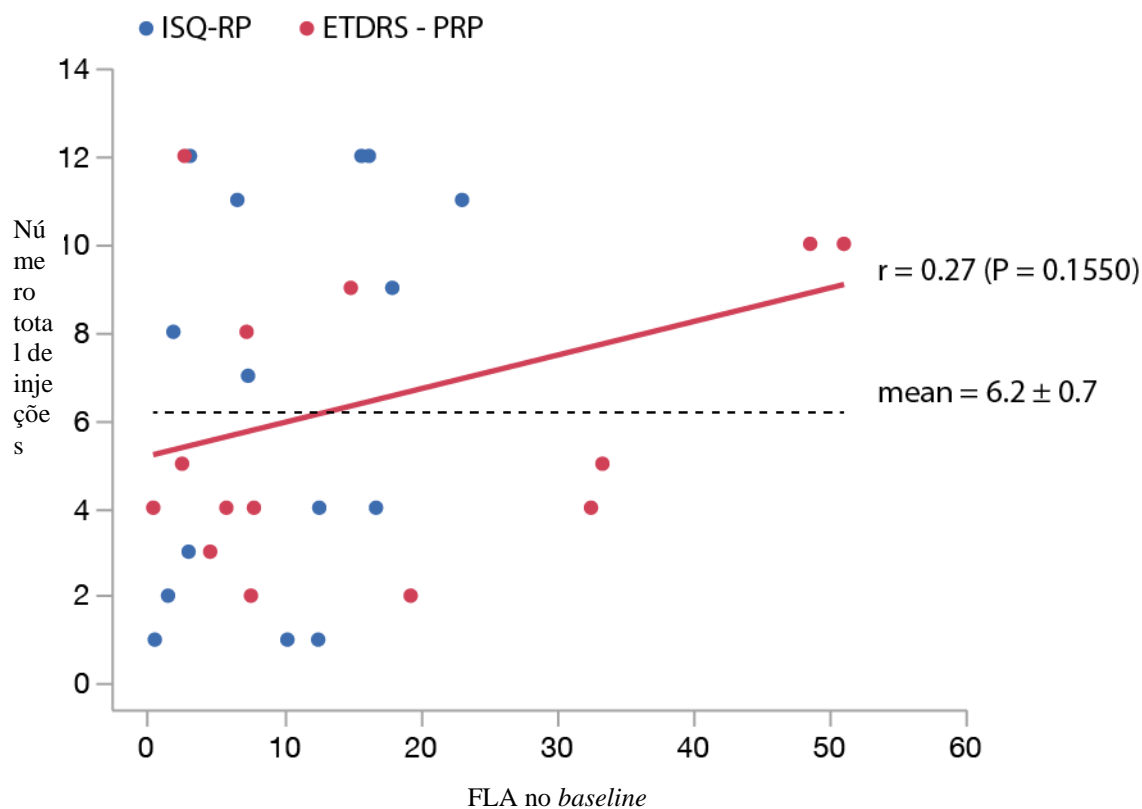
Contudo, os achados do ERG, apresentados neste estudo, contradizem a hipótese de que o ISQ-RP poderia salvar a função retiniana. Em outras palavras, alguém poderia razoavelmente considerar a menor perda de função retiniana quando apenas a retina isquêmica fosse adicionalmente destruída pelos tiros de laser. Mas isso não foi observado. Na verdade, a redução na amplitude de onda-b adaptada ao escuro foi semelhante entre os grupos, indicando que a “soma” de dano funcional causado por essas duas estratégias de laser não foi diferente. A principal explicação para este achado estaria relacionada à área tratada e ao número de tiros de laser similares aplicados em ambos os grupos, mas também, como previamente discutido por Ribeiro Filho et al. (2011), alguém poderia lembrar que a perda de função retiniana causada pela fotocoagulação vai além da queimadura do tiro na retina externa, afetando também a retina interna, e ocasiona consequências para a função retiniana em áreas próximas adjacentes. A retina não perfundida pela angiografia pode, em casos de RDP de alto risco, conter apenas células mortas e ser semelhante em extensão nos casos tratados com ambas as técnicas e, neste caso, o LASER dirigido a áreas isquêmicas não levaria a diferenças significativas. Por fim, a própria evolução da RD, com o tempo, leva à perda progressiva e gradual do campo visual periférico, independentemente da fotocoagulação a laser, como observado nos resultados de longo prazo do Protocolo S (Writing Committee for the Diabetic Retinopathy Clinical Research Network et al., 2015).

Gross et al. (2018) compararam PRP *versus* IVR no tratamento da RDP, e observaram que a média de perda de campo visual periférico foi maior no grupo PRP até o segundo ano de seguimento. No entanto, essa média de perda de campo visual progrediu nos dois grupos nos anos dois a cinco, com a diferença entre os grupos diminuindo ao longo do tempo. Houve queda adicional, não prevista, no

grupo IVR, que precisa ser melhor estudada em ensaios futuros. Maguire et al. (2020) também sugeriram que devem existir fatores além da PRP associados com perda de campo visual em olhos tratados para RDP.

No presente estudo, não houve diferença significativa no número médio de injeções para pacientes no grupo ETDRS-PRP e ISQ-RP (7.21 e 8.53 injeções, respectivamente). Adicionalmente, mesmo com a maior FLA no *baseline*, a média no número de IVR para o controle de neovasos no grupo ETDRS/PRP (1.71) foi similar ao grupo ISQ-RP (1.69). De fato, houve fraco coeficiente de correlação de 0,17 entre a área de neovasos ativos no *baseline* e o número de IVR. Dessa forma, se plotar a correlação em gráfico de regressão linear (Figura 6), o número necessário de IVR para um paciente com FLA de 2 mm² seria de 2.9 injeções, enquanto que o número de injeções para um paciente com FLA 10 vezes maior seria de 3.1 (Figura 6).

Figura 6 - Correlação entre a área de vazamento de fluoresceína em mm² na visita inicial e o número de injeções intravítreas de ranibizumabe necessárias para o controle de neovasos ativos em ambos os grupos



Independente da técnica de laser utilizada (ETDRS ou ISQ-RP), a destruição da retina externa não reduziu o número de IVR necessário para o controle da NV, conclusão semelhante à de Brown et al. (2018). De fato, em outros estudos (Jorge et al, 2006; Ribeiro Filho et al., 2011; Barroso et al., 2020), usando anti-VEGF isolado para o tratamento de neovasos persistentes, ou a combinação das terapias de PRP+anti-VEGF para pacientes com RDP de alto risco, a regressão completa da NV de retina não foi alcançada após um ano de seguimento em, pelo menos, 50% dos pacientes incluídos, provavelmente devido ao pobre controle glicêmico, comprovado pelos altos valores sanguíneos de HbA1c. É possível que o período de seguimento de um ano seja muito curto para detectar número reduzido necesssário de injeções de anti-VEGF para o controle da NV. Estudos com maior duração podem detectar a vantagem potencial de, teoricamente, reduzir a produção de VEGF (Schlingemann;

van Hinsbergh, 1997) induzida pela PRP extensiva em pacientes tratados com a combinação de PRP+anti-VEGF.

A principal limitação deste estudo foi o número pequeno de olhos em cada grupo e o período de tempo de seguimento curto para observação de desfechos clínicos, como a necessidade de novas injeções.

6. Conclusões

No presente estudo, a ISQ-RP provou ser semelhante à PRP padrão ETDRS, ambas associadas com IVR, no que se refere aos parâmetros da morfofisiologia da retina, avaliados no período de 12 meses, apresentando:

- Redução semelhante entre os grupos na área de vazamento de FLA, decorrente de neovasos de retina ativos, determinada pela FA;
- Desfechos semelhantes na AV média em ambos os grupos;
- Número semelhante de IVR necessárias para o controle de neovasos;
- Alterações semelhantes na resposta eletrofisiológica retiniana.

O estudo reforça que, após um ano de seguimento, a ISQ-RP não foi inferior à PRP padrão ETDRS, sendo ambas as técnicas associadas a IVR, nos parâmetros avaliados. Isso suscita a necessidade de estudos com seguimento maior, a fim de analisar a ocorrência de diferenças nesses parâmetros em prazos mais longos.

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.

Abdelmotaal A et al. Causes and clinical impact of loss to follow-up in patients with proliferative diabetic retinopathy. *J Ophthalmol.* 2020;2020:7691724. eCollection 2020.

Accord Study Group et al. Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial: design and methods. *Am J Cardiol.* 2007;99(12A):21i-33i.

ACCORDION (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Follow-On) Eye Study Group and the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Follow-On (ACCORDION) Study Group. Persistent effects of intensive glycemic control on retinopathy in type 2 diabetes in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) Follow-On Study. *Diabetes Care.* 2016;39(7):1089-100.

ADA (American Diabetes Association). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care.* 2016;39(Suppl 1):S1-2.

Adamis AP et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 1994;118(4):445-50.

Adamis AP et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor prevents retinal ischemia-associated iris neovascularization in a nonhuman primate. *Arch Ophthalmol.* 1996;114(1):66-71.

ADVANCE Management Committee. Study rationale and design of ADVANCE: action in diabetes and vascular disease--preterax and diamicon MR controlled evaluation. *Diabetologia.* 2001;44(9):1118-20.

Aiello LP et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med.* 1994;331(22):1480-7.

Aiello LP et al. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol.* 1995;113(12):1538-44.

Altmann C, Schmidt MHH. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation, microvasculature defects and neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1):110.

Amin RH et al. Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38(1):36-47.

Amoaku WM et al. Diabetic retinopathy and diabetic macular oedema pathways and management: UK Consensus Working Group. *Eye (Lond).* 2020;34(Suppl 1):1-51.

Angermann R et al. Treatment compliance and adherence among patients with diabetic retinopathy and age-related macular degeneration treated by anti-vascular endothelial growth factor under universal health coverage. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2019;257(10):2119-25.

Arevalo JF et al. Intravitreal bevacizumab for proliferative diabetic retinopathy: Results from the Pan-American collaborative retina study group (PACORES) at 24 months of follow-up. *Retina*. 2017;37(2):334-43.

Avery RL et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2006;113(10):1695.e1-15.

Banday MZ, Sameer AS, Nissar S. Pathophysiology of diabetes: Uma visão geral *Avicenna J Med*. 2020;10(4):174-88.

Barrett EJ et al. Diabetic Microvascular Disease: An Endocrine Society Scientific Statement. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(12):4343-410.

Barroso RMP et al. ETRRS panretinal photocoagulation combined with intravitreal ranibizumab versus PASCAL panretinal photocoagulation with intravitreal ranibizumab versus intravitreal ranibizumab alone for the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Arq Bras Oftalmol*. 2020;83(6):526-34.

Bavinger JC et al. The effects of diabetic retinopathy and pan-retinal photocoagulation on photoreceptor cell function as assessed by dark adaptometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(1):208-17.

Blankenship GW. A clinical comparison of central and peripheral argon laser panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1987;85:176-94.

Blankenship GW. A clinical comparison of central and peripheral argon laser panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1988;95(2):170-7.

Brown DM et al. Targeted retinal photocoagulation for diabetic macular edema with peripheral retinal nonperfusion: Three-year randomized DAVE Trial. *Ophthalmology*. 2018;125(5):683-90.

Browning DJ, Stewart MW, Lee C. Diabetic macular edema: Evidence-based management. *Indian J Ophthalmol*. 2018;66(12):1736-50.

Calderon GD et al. Oxidative stress and diabetic retinopathy: development and treatment. *Eye (Lond)*. 2017;31(8):1122-30.

Chatziralli I et al. Peripapillary retinal nerve fiber layer changes in patients with diabetes mellitus: A case-control study. *Semin Ophthalmol*. 2020;35(4):257-60.

Chatziralli I, Loewenstein A. Intravitreal anti-vascular endothelial growth factor agents for the treatment of diabetic retinopathy: A review of the literature. *Pharmaceutics*. 2021;13(8):1137.

Chen AJ et al. Factors Associated with non-compliance for diabetic retinopathy follow-up in an urban safety-net hospital. *Ophthalmic Epidemiol.* 2018;25(5-6):443-50.

Cho GE, Cho HY, Kim YT. Change in subfoveal choroidal thickness after argon laser panretinal photocoagulation. *Int J Ophthalmol.* 2013;6(4):505-9.

Crema A et al. (rels.) *Lasers em oftalmologia.* Conselho Brasileiro de Oftalmologia. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2019. 480pg.

DCCT (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329(14):977-86.

de Laey JJ. Complications de la photocoagulation de la rétinopathie diabétique. *Diabete Metab.* 1993;19(5):430-5.

Dehghani A et al. Single-dose intravitreal bevacizumab after complete panretinal photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy: an effective adjunctive treatment. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol.* 2017;6(3):76-81.

Dervenis N et al. Ranibizumab in the treatment of diabetic macular edema: A review of the current status, unmet needs, and emerging challenges. *Adv Ther.* 2017;34(6):1270-82.

Doft BH, Blankenship GW. Single versus multiple treatmentsessions of argon laser panretinal photocoagulation for proliferativediabetic retinopathy. *Ophthalmology.* 1982;89(7):772-9.

DRCR.net (Diabetic Retinopathy Clinical Research Network) et al. Observational study of the development of diabetic macular edema following panretinal (scatter) photocoagulationgiven in 1 or 4 sittings. *Arch Ophthalmol.* 2009;127(2):132-40.

DRS (Diabetic Retinopathy Study Research Group). Preliminary report on effects of photocoagulation therapy. *Am J Ophthalmol.* 1976;81(4):383-96.

DRS (Diabetic Retinopathy Study Research Group). Indications for photocoagulation treatment of diabetic retinopathy: Diabetic Retinopathy Study report number 14. *Int Ophthalmol Clin.* 1987;27(4):239-53.

ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group). Photocoagulation for diabetic macular edema. ETDRS Report Number 1. *Arch Ophthalmol.* 1985;103(12):1796-806.

ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group). Early photocoagulation for diabetic retinopathy: ETDRS report number 9. *Ophthalmology.* 1991a;98(5 Suppl):766-85.

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

ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group). Fundus photographic risk factors for progression of diabetic retinopathy. ETDRS report number 12. *Ophthalmology*. 1991c;98(5 Suppl):823-33.

ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group). Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy: ETDRS report number 22. *Arch Ophthalmol*. 1996;114 (9):1079-84.

Fenwick EK et al. The impact of diabetic retinopathy and diabetic macular edema on health-related quality of life in type 1 and type 2 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(2):677-84.

Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. *Endocr Rev*. 2004;25(4):581-611.

Figueira J et al. Ranibizumab plus panretinal photocoagulation versus panretinal photocoagulation alone for high-risk proliferative diabetic retinopathy (PROTEUS Study). *Ophthalmology*. 2018;25(5):691-700.

Fong DS et al. Subretinal fibrosis in diabetic macular edema. ETDRS report 23. Early treatment diabetic retinopathy study research group. *Arch Ophthalmol*. 1997;115(7):873-7.

Funatsu H et al. Vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2006;113(2):294-301.

Gross JG et al. Five-year outcomes of panretinal photocoagulation vs intravitreal ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy: A randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(10):1138-48.

Hainsworth DP et al. Risk factors for retinopathy in type 1 diabetes: The DCCT/EDIC Study. *Diabetes Care*. 2019;42(5):875-82.

Harding JL et al. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence. *Diabetologia*. 2019;62(1):3-16.

International Diabetes Federation. Diabetes facts & figures. In: *IDF Diabetes Atlas Ninth edition 2019*. Disponível em: <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html>. Acessado em 25 fev. 2020.

Jorge R et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for persistent new vessels in diabetic retinopathy (IBEPE study). *Retina*. 2006;26(9):1006-13.

Jorge R et al. Ranibizumab for retinal neovascularization. *Ophthalmology*. 2011;118(5):1004-1004.e1.

Kamata K, Sugiura M, Kasuya Y. Decreased Ca²⁺ influx into the endothelium contributes to the decrease in endothelium-dependent relaxation in the aorta of streptozotocin-induced diabetic mice. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1995;90(1):69–74.

Kansora MB, Goldhardt R. Decision making in proliferative diabetic retinopathy treatment. *Curr Ophthalmol Rep*. 2019;7(1): 45-50.

Kim M et al. Electroretinography and retinal microvascular changes in type 2 diabetes. *Acta Ophthalmol*. 2020;98(7):e807-e813.

Klein R et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy, III: Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol*. 1984;102(4):527-32.

Lang GE et al. Efficacy and safety of ranibizumab with or without panretinal laser photocoagulation versus laser photocoagulation alone in proliferative diabetic retinopathy - the PRIDE study. *Acta Ophthalmol*. 2020;98(5):e530-39.

Lovshin AJ et al. Retinopathy and RAAS activation: Results from the Canadian Study of Longevity in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2019;42(2):273-80.

Lutty GA et al. Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroid. *Arch Ophthalmol*. 1996;114(8):971-7.

Maguire MG et al. Visual field changes over 5 years in patients treated with panretinal photocoagulation or ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2020;138(3):285-93.

Maric-Bilkan C. Sex differences in micro- and macro-vascular complications of diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)*. 2017;131(9):833-46.

Marmor MF, Zrenner E. Standard for clinical electroretinography (1999 update). International Society for Clinical Electrophysiology of Vision. *Doc Ophthalmol*. 1998-1999;97(2):143-56.

Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K. Relationships among ET1, PPAR γ , oxidative stress and endothelial dysfunction in diabetic animals. *J Smooth Muscle Res*. 2008;44(2):41–55.

Mehboob MA, Amin ZA, Islam QU. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness between normal population and patients with diabetes mellitus using optical coherence tomography. *Pak J Med Sci*. 2019;35(1):29-33.

Melo LGN et al. Current epidemiology of diabetic retinopathy in patients with type 1

diabetes: a national multicenter study in Brazil. *BMC Public Health*. 2018;18(1):989.

Miller JW et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is temporally and spatially correlated with ocular angiogenesis in a primate model. *Am J Pathol*. 1994;145(3):574-84.

Muqit MM et al. Optos-guided pattern scan laser (Pascal)-targeted retinal photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2013;91:251-8.

Natesh S et al. Choroidal detachment after PASCAL photocoagulation. *Can J Ophthalmol*. 2011;46(1):91-2.

Nguyen QD et al. RISE and RIDE Research Group. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology*. 2012;119(4):789-801.

Nikkhah H et al. Extended targeted retinal photocoagulation versus conventional pan-retinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy in a randomized clinical trial. *Int Ophthalmol*. 2018;38(1):313-321.

Obeid A et al. Outcomes of eyes lost to follow-up with proliferative diabetic retinopathy that received panretinal photocoagulation versus intravitreal anti-vascular endothelial growth factor. *Ophthalmology*. 2019;126(3):407-413.

Okamoto M, Matsuura T, Ogata N. Effects of panretinal photocoagulation on choroidal thickness and choroidal blood flow in patients with severe nonproliferative diabetic retinopathy. *Retina*. 2016;36(4):805-11.

Olvera-Montaña C et al. Oxidative stress as the main target in diabetic retinopathy pathophysiology. *J Diabetes Res*. 2019;2019:8562408.

Park N, Lee IG, Kim JT. Changes in choroidal thickness in advanced diabetic retinopathy treated with pan-retinal photocoagulation using a pattern scanning laser versus a conventional laser. *BMC Ophthalmol*. 2020;20(1):226.

Paulus YM et al. Healing of retinal photocoagulation lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(12):5540-5.

Pearson AR, Keightley SJ, Casswell AG. How good are we at assessing driving visual fields in diabetics? *Eye (Lond)*. 1998;12(Pt 6):938-42.

Pe'er J et al. Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal cells is a common factor in neovascularizing ocular diseases. *Lab Invest*. 1995;72(6):638-45.

Petersmann A et al. Definition, Classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019;127(S 01):S1-S7.

Pierce EA et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in a mouse model of retinal neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(3):905-9.

Rabiolo A et al. Ultra-wide-field fluorescein angiography in diabetic retinopathy: a narrative review. *Clin Ophthalmol*. 2017;11:803-7.

RCO (Royal College of Ophthalmologists). Diabetic Retinopathy Guidelines 2012. Disponível em: <https://www.rcophth.ac.uk/wp-content/uploads/2014/12/2013-SCI-301-FINAL-DR-GUIDELINES-DEC-2012-updated-July-2013.pdf>. Acessado 14 mar. 2021.

Reddy S, Hu A, Schwartz SD. Ultra Wide Field Fluorescein Angiography Guided Targeted Retinal Photocoagulation (TRP). *Semin Ophthalmol*. 2009;24(1):9-14.

Reddy SV, Husain D. Panretinal photocoagulation: A review of complications. *Semin Ophthalmol*. 2018;33(1):83-88.

Rees G et al. Association between diabetes-related eye complications and symptoms of anxiety and depression. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(9):1007-14.

Ribeiro Filho JA et al. Panretinal photocoagulation (PRP) versus PRP plus intravitreal ranibizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 2011;89(7):e567-72.

Rigo S, Duchâteau E, Rakic JM. What's new in diabetic retinopathy? *Rev Med Liege*. 2020;75(5-6):432-9.

Rübsam A, Parikh S, Fort PE. Role of inflammation in diabetic retinopathy. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4):942.

Schlingemann RO, van Hinsbergh VW. Role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in eye disease. *Br J Ophthalmol*. 1997;81(6):501-12.

Shimizu K, Kobayashi Y, Muraoka K. Midperipheral fundus involvement in diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1981;88(7):601-12.

Silva PS et al. Peripheral lesions identified on ultrawide field imaging predict increased risk of diabetic retinopathy progression over 4 years. *Ophthalmology*. 2015;122(5):949-56.

Sjølie AK, Geene A. Blindness in insulin-treated diabetic patients with age at onset less than 30 years. *J Chronic Dis*. 1987;40(3):215-20.

Spaide RF, Fisher YL. Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment of proliferative diabetic retinopathy complicated by vitreous hemorrhage. *Retina*. 2006;26(3):275-8.

Starita C et al. Vascular endothelial growth factor and the potential therapeutic use of pegaptanib (macugen) in diabetic retinopathy. *Dev Ophthalmol*. 2007;39:122-48.

Stefánsson E. The therapeutic effects of retinal laser treatment and vitrectomy. A theory based on oxygen and vascular physiology. *Acta Ophthalmol Scand*. 2001;79(5):435-40.

Stefánsson E. Ocular oxygenation and the treatment of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol*. 2006;51(4):364-80.

Subash M et al. The effect of multispot laser panretinal photocoagulation on retinal sensitivity and driving eligibility in patients with diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(6):666-72.

Ting DSW, Cheung GCM, Wong TY. Diabetic retinopathy: global prevalence, major risk factors, screening practices and public health challenges: a review. *Clin Exp Ophthalmol*. 2016;44(4):260-77.

Tolentino MJ et al. Intravitreal injections of vascular endothelial growth factor produce retinal ischemia and microangiopathy in an adult primate. *Ophthalmology*. 1996;103(11):1820-8.

Tonello M et al. Panretinal photocoagulation versus PRP plus intravitreal bevacizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy (IBeHi study). *Acta Ophthalmol*. 2008;86(4):385-9.

UKPDS (UK Prospective Diabetes Study) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*. 1998;352(9131):837-53.

Vander JF et al. Long-term stability and visual outcome after favorable initial response of proliferative diabetic retinopathy to panretinal photocoagulation. *Ophthalmology*. 1991;98(10):1575-9.

Vieira-Potter VJ, Karamichos D, Lee DJ. Ocular complications of diabetes and therapeutic approaches. *Biomed Res Int*. 2016;2016:3801570.

Wadhvani M et al. Long term effect of panretinal photocoagulation on retinal nerve fiber layer parameters in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Oman J Ophthalmol*. 2019;12(3):181-5.

Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: Pathophysiology and treatments. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6):1816.

WHO (World Health Organization). Diabetes. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>. Acesso em 20 de março de 2020.

Writing Committee for the Diabetic Retinopathy Clinical Research Network et al. Panretinal photocoagulation vs intravitreal ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2015;314(20):2137-46.

Wu L et al. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *World J Diabetes*. 2013;4(6):290-4.

Wu M-Y et al. The oxidative stress and mitochondrial dysfunction during the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:3420187.

Yang CS et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) and panretinal photocoagulation in the treatment of high-risk proliferative diabetic retinopathy. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2013;29(6):550-5.

Yu G et al. Quantification of retinal nonperfusion and neovascularization with ultrawidefield fluorescein angiography in patients with diabetes and associated characteristics of advanced disease. *JAMA Ophthalmol*. 2020;138(6):680-8.

Yuki T et al. Ciliary body and choroidal detachment after laser photocoagulation for diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 1997;104(8):1259-64.

Zhou A-Y et al. Panretinal photocoagulation versus panretinal photocoagulation plus intravitreal bevacizumab for high-risk proliferative diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol*. 2016;9(12):1772-8.

8. Anexo

COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Ribeirão Preto, 10 de julho de 2014

Ofício nº 2364/2014
CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“FOTOCOAGULAÇÃO DIRECIONADA A ÁREAS ISQUÊMICAS VERSUS PANFOTOCOAGULAÇÃO PADRÃO ETDRS ASSOCIADAS À RANIBIZUMABE INTRAVÍTREO PARA O TRATAMENTO DA RETINOPATIA DIABÉTICA PROLIFERATIVA” – versão 12, de 20/05/2014** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 389ª Reunião Ordinária realizada em 07/07/2014 e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – versão 2, de 20/05/2014**, de acordo com o Processo HCRP nº 4160/2014.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/12 CNS/MS.

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

Atenciosamente.

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

Ilustríssimos Senhores

RAFAELLA DE CENÇO LOPES

PROF.DR. RODRIGO JORGE(Orientador)

Depto. de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

9. Apêndice

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA FOTOCOAGULAÇÃO DIRECIONADA A ÁREAS ISQUÊMICAS VERSUS PANFOTOCOAGULAÇÃO PADRÃO ETDRS ASSOCIADOS À RANIBIZUMABE INTRAVÍTREO PARA O TRATAMENTO DA RETINOPATIA DIABÉTICA PROLIFERATIVA

Pesquisador responsável: Rafaella de Cenço Lopes

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

O sr. (a) tem um tipo de doença denominada retinopatia diabética proliferativa de alto risco para perda visual grave e está sendo convidado(a) a participar de um estudo intitulado **Panfotocoagulação com mira única (ETDRS) versus laser somente em áreas isquêmicas guiado pelo Angiofluoresceinografia associados à Ranibizumabe Intravítreo para Retinopatia Diabética Proliferativa.**

A retinopatia proliferativa (RP) caracteriza-se pela formação de vasos anormais, ruins, que sangram com facilidade. Estes sangramentos podem acontecer na RETINA, tecido que forra o fundo de olho, ou na gelatina que fica dentro do olho, chamada de gel vítreo. Para que estas complicações não aconteçam, é preciso "secar" os vasos ruins da retina. Para tal, pode-se utilizar o tratamento a LASER, chamado de fotocoagulação retiniana, ou utilizar-se tratamento farmacológico, com drogas que também são capazes de "secar" os vasos anormais decorrentes da retinopatia diabética.

No presente momento, o tratamento para retinopatia diabética proliferativa é baseado em um grande estudo, que demonstra a importância do laser para tratamento desta doença. Este estudo indica o uso da fotocoagulação a LASER, ou seja realizar minúsculas queimaduras (marcas) na retina e de maneira controlada, como principal alternativa terapêutica para o tratamento da Retinopatia Diabética Proliferativa. O tratamento é realizado sob anestesia tópica (colírio anestésico) no ambulatório e leva a regressão de neovasos de retina em cerca de 4 meses, podendo ser necessárias novas aplicações a cada 4 meses.

Alternativamente, há medicamentos capazes de secar os vasos ruins da retina, os agentes antiangiogênicos. São capazes de regredir os vasos ruins e são injetados dentro do olho (injeção intravítrea). Durante o procedimento da injeção intra-vítrea de Ranibizumabe, o sr. (a) poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados à agulhada (dor no local da injeção, queda temporária da pálpebra e olho vermelho), sendo utilizada anestesia local (colírio). Por outro lado, a droga precisa ser injetada dentro do olho e há o risco adicional de infecção de 0,01%, ou seja, de cada 10.000 pacientes que fazem a injeção intravítrea, um pode ter infecção no olho.

O objetivo desta pesquisa é comparar a regressão da neovascularização retiniana, utilizando 2 grupos de pacientes: A- que serão submetidos a tratamento convencional com laser, que provoca 1 (uma) marca por disparo, realizado em toda a retina, associado com



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA FOTOCOAGULAÇÃO DIRECIONADA A ÁREAS ISQUÊMICAS VERSUS PANFOTOCOAGULAÇÃO PADRÃO ETDRS ASSOCIADOS À RANIBIZUMABE INTRAVÍTREO PARA O TRATAMENTO DA RETINOPATIA DIABÉTICA PROLIFERATIVA

Pesquisador responsável: Rafaella de Cenço Lopes

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

O sr. (a) tem um tipo de doença denominada retinopatia diabética proliferativa de alto risco para perda visual grave e está sendo convidado(a) a participar de um estudo intitulado Panfotocoagulação com mira única (ETDRS) versus laser somente em áreas isquêmicas guiado pelo Angiofluoresceinografia associados à Ranibizumabe Intravítreo para Retinopatia Diabética Proliferativa.

A retinopatia proliferativa (RP) caracteriza-se pela formação de vasos anormais, ruins, que sangram com facilidade. Estes sangramentos podem acontecer na RETINA, tecido que forra o fundo de olho, ou na gelatina que fica dentro do olho, chamada de gel vítreo. Para que estas complicações não aconteçam, é preciso "secar" os vasos ruins da retina. Para tal, pode-se utilizar o tratamento a LASER, chamado de fotocoagulação retiniana, ou utilizar-se tratamento farmacológico, com drogas que também são capazes de "secar" os vasos anormais decorrentes da retinopatia diabética.

No presente momento, o tratamento para retinopatia diabética proliferativa é baseado em um grande estudo, que demonstra a importância do laser para tratamento desta doença. Este estudo indica o uso da fotocoagulação a LASER, ou seja realizar minúsculas queimaduras (marcas) na retina e de maneira controlada, como principal alternativa terapêutica para o tratamento da Retinopatia Diabética Proliferativa. O tratamento é realizado sob anestesia tópica (colírio anestésico) no ambulatório e leva a regressão de neovasos de retina em cerca de 4 meses, podendo ser necessárias novas aplicações a cada 4 meses.

Alternativamente, há medicamentos capazes de secar os vasos ruins da retina, os agentes antiangiogênicos. São capazes de regredir os vasos ruins e são injetados dentro do olho (injeção intravítrea). Durante o procedimento da injeção intra-vítrea de Ranibizumabe, o sr. (a) poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados à agulhada (dor no local da injeção, queda temporária da pálpebra e olho vermelho), sendo utilizada anestesia local (colírio). Por outro lado, a droga precisa ser injetada dentro do olho e há o risco adicional de infecção de 0,01%, ou seja, de cada 10.000 pacientes que fazem a injeção intravítrea, um pode ter infecção no olho.

O objetivo desta pesquisa é comparar a regressão da neovascularização retiniana, utilizando 2 grupos de pacientes: A- que serão submetidos a tratamento convencional com laser, que provoca 1 (uma) marca por disparo, realizado em toda a retina, associado com

uma medicação dentro do olho chamada Ranibizumabe, B- que farão o tratamento com laser convencional, porém aplicado somente em áreas que falte suprimento de sangue, associado à medicação dentro do olho Ranibizumabe. Todos os tratamentos citados aqui já foram aprovados pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Estaremos avaliando se o laser aplicado somente em áreas que falte suprimento de sangue, associado à Ranibizumabe intravítreo é capaz de auxiliar a redução de neovasos retinianos com menos efeitos colaterais, como menor desconforto para o paciente, menos sessões de laser e menor prejuízo na visão, que o tratamento convencional com laser associado à medicação dentro do olho chamada Ranibizumabe.

Caso aceite participar da pesquisa, o sr(a) será sorteado para ser incluído em um dos dois grupos da pesquisa. Após os 12 meses da pesquisa, retomará o tratamento convencional a laser.

Não há previsão para ressarcimento dos pacientes participantes da pesquisa para cobrir despesas como transporte ou refeição.

Caso o sr. (a) não deseje participar do estudo ou não deseje ser sorteado para um dos grupos do estudo, receberá o tratamento convencional dado aos pacientes com problemas semelhantes ao seu, ou seja, tratamento a laser.

Antes do procedimento, será necessária a realização de consultas oftalmológicas direcionadas de aproximadamente 30 minutos de duração, com os seguintes exames:

- medida da acuidade visual, é o exame das "letrinhas" para quantificar a visão;
 - medida da pressão intraocular, para ver a pressão do olho, mas com um aparelho usado fora do olho;
 - biomicroscopia, para ver a porção externa e interna do olho com um aparelho chamado lâmpada de fenda;
 - mapeamento de retina, para ver a parte interna do olho com mais detalhes;
 - angiofluoresceinografia, exame em que se injeta na veia um contraste para pintar os vasinhos do olho e detectar os vasos ruins, chamados neovasos, pelo vazamento deste contraste.
 - tomografia de coerência óptica (OCT), exame de alta tecnologia que tira uma foto das camadas da retina;
 - medida da glicemia de jejum e hemoglobina glicosilada.
- o prontuário médico também será consultado.

Os riscos que envolvem o seu tratamento são: aumento da pressão intraocular (pressão interna do olho), inflamação ocular, infecção ocular, hemorragia dentro do gel vítreo, catarata - lente natural do olho opacificada (suja), descolamento de retina. Para resolver as complicações podem ser necessárias medicações específicas e/ou cirurgias adicionais que serão abordadas pelo setor de Oftalmologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP).

Os benefícios esperados do tratamento com laser e Ranibizumabe são: diminuir a neovascularização retiniana, secar os vasos ruins, proveniente da retinopatia diabética, reduzindo as complicações decorrentes desta, como sangramento dentro do olho e descolamento de retina, e assim, diminuir o risco de perda visual, ou seja, de ficar com a vista fraca ou até de ficar cego.

Para que o estudo tenha sucesso, o sr. (a) deverá comparecer HCFMRP para consultas oftalmológicas, a cada mês por 12 meses, idênticas à consulta descrita acima, no ambulatório de retina do HCFMRP, como ocorre de rotina com os pacientes tratados com problemas semelhantes ao seu pelo setor de retina e vítreo do HCFMRP.

Os médicos Rafaella de Cenço Lopes (CRM-SP 134652), Cel.: (14) 8114-3160, e Rodrigo Jorge (CRM-SP 81886), que podem ser contatados todos os dias da semana através dos seguintes telefones (16) 3602-2523 ou (16) 3602-2323 e no endereço Divisão de Oftalmologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Avenida Bandeirantes, 3900,

Ribeirão Preto - São Paulo - Brasil, são os responsáveis pelo seu tratamento e farão o seu acompanhamento conforme consta no padrão Ético e Vigente no Brasil. O Comitê de ética em Pesquisa do HC e da FMRP-USP, fone (16) 36026736, também está disponível para atendê-lo(a).

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

A sua participação neste estudo é voluntária, tendo a liberdade de recusar participar. Caso o sr. (a) aceite participar, poderá retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado.

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

O sr. (a) terá a garantia de que qualquer problema decorrente do estudo será tratado no próprio Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina Ribeirão Preto.

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

Eu, _____,

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

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Nome do paciente

____/____/____

Assinatura do paciente

Pesquisador

Cel (14) 98114-3160

____/____/____

Assinatura do pesquisador