



UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET
DOKTORSKE STUDIJE KLINIČKE MEDICINE

**ULOGA INHIBITORA
VASKULARNOG ENDOTELNOG
FAKTORA RASTA U TERAPIJI
DIJABETIČNOG MAKULARNOG
EDEMA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Kandidat:
Ass.mr sci.med dr. Sandra Jovanović

Mentori:
Prof.dr Vladimir Čanadanović
Prof.dr Ana Sabo

Novi Sad, 2015. godina

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije:	Monografska dokumentacija
Tip zapisa:	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Sandra Jovanović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	dr Vladimir Čanadanović, vanredni profesor dr Ana Sabo, redovni profesor
Naslov rada: NR	Uloga inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta u terapiji dijabetičnog makularnog edema
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3.

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja / stranica / slika / grafikona / referenci / priloga) 8 poglavlja/141 stranica/2 slike/16 grafikona/26 tabela/ 255 referenci/2 priloga
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Oftalmologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Dijabetesna retinopatija; Makularni edem; Vaskularni endotelijalni faktori rasta; Laserska koagulacija; Vidna oštrina; Monoklonalna antitela; Ishod lečenja
UDK	617.735:616.379-008.64]-08 615.849.19
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	

Izvod IZ: Dijabetesna retinopatija je među vodećim uzročnicima stečenog slepila, kako u razvijenim zemljama, tako i zemljama u razvoju. Dijabetesna retinopatija je jedna od najčešćih komplikacija Dijabetes Mellitus-a. U sklopu dijabetesne retinopatije jedan od najranijih razloga koji dovodi do pada vidne oštine je dijabetični makularni edem (DME). Pad vidne oštine kod pacijenata sa dijabetesom narušava njihov kvalitet života i umanjuje radnu sposobnost. Dosadašnji oblik lečenja laserfotokoaguacijom makule, nije dao zadovoljavajuće rezultate. U novije vreme sve više je zastupljeno farmakološko lečenje edema koje podrazumeva intravitrealnu aplikaciju lekova iz grupe inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF inhibitori), koji dovodi do stabilizacije zidova krvnih sudova.

Cilj ove studije je da se ispita efikasnost lečenja DME uz pomoć intravitrealno aplikovanih lekova iz grupe inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta u odnosu na konvencionalno do sada priznato lečenje laserfotokogulacijom makule.

Efikasnost lečenja je procenjivana na dva načina: anatomski, na osnovu smanjenja centralne makularne debljine izražene u μm , merene metodom optičke koherentne tomografije, i funkcionalno, na osnovu poboljšanja vidne oštine koja je izražavana u log MAR jedinicama. U ovoj prospektivnoj, randomiziranoj kliničkoj studiji sa minimumom praćenja od 6 meseci, u eksperimentalnoj grupi tretiran je 51 pacijent, odnosno 84 oka aplikacijom bevacizumaba (anti VEGF agens) u dozi od 1,25 mg, sa ili bez dodatnog laser tretmana.

Uz prosečno 2,46 inekcije postignuta je prosečna redukcija centralne makularne debljine od 139,15 μm . Dobijene vrednosti su nakon svake aplikovane doze su značajno bolje u odnosu na početnu. Edemi sa većom centralnom makularnom debljinom su zahtevali tretman sa većim brojem inekcija. Kod većih edema je postignuta i veća redukcija centralne makularne debljine. U odnosu na vidnu oštrinu u eksperimentalnoj grupi postignuto je poboljšanje od 0,135 log MAR jedinica. Efekat lasera kao samostalne terapije u kontrolnoj grupi (50 pacijenata, 92 oka) nije bio značajan ni u pogledu smanjenja centralne makularne debljine kao ni na osnovu poboljšanja vidne oštine. Tretman bevacizumabom samostalno ili u kombinaciji sa laserom je efikasniji u tretmanu DME u odnosu na konvencionalni tretman laserfotokoaguacijom koji potvrđeno dovodi do stabilizacije stanja. Značaj ove studije je potvrda efikasnosti i bezbednosti jednog novog oblika lečenja koji samostalno ili u kombinaciji sa laser tretmanom predstavlja novi protokol lečenja dijabetičnog makularnog edema.

Datum prihvatanja teme od strane NN veća.	17.03.2010.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: dr Svetislav Milenković, redovni profesor u penziji, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu član: dr Ana Oros, vanredni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu član: dr Nikola Babić, docent, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu član: dr Desanka Grković, docent, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu član: dr Olga Horvat, docent, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

University of Novi Sad

ACIMSI

Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Sandra Jovanović
Mentor: MN	Dr Vladimir Čanadanović, associate professor Dr Ana Sabo, professor
Title: TI	The role of an inhibitor of vascular endothelial growth factor in the treatment of diabetic macular edema
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015.
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	Number of chapters 8/ pages 141/ pictures 2/ graphs 16/tables 26/ references 255/ appendix 2/
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Ophthalmology
Subject, Key words SKW	Diabetic Retinopathy; Macular Edema; Vascular Endothelial Growth Factors; Laser Coagulation; Visual Acuity; Antibodies, Monoclonal; Treatment Outcome
UC	617.735:616.379-008.64]-08 615.849.19
Holding data: HD	Library of Medical faculty, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad
Note: N	

Abstract:
AB

Diabetic retinopathy is among the leading causes of acquired blindness in developed countries, as well as in developing countries. Diabetic retinopathy is one of the most frequent Diabetes Mellitus complications. Within diabetic retinopathy, diabetic macular edema (DME) is one of the earliest causes of the loss of visual acuity. Impaired vision causes decline in life quality in diabetic patients and it decreases their working ability. Up to this date, laser photocoagulation treatment has not given satisfactory results. Recently, new promising treatment forms have emerged, including the intravitreal application of vascular endothelium growth factor (VEGF inhibitors), which lead to stabilization of the vessel wall.

The aim of this study is to evaluate the efficacy of DME treatment consisting of intravitreal VEGF inhibitor application alone or as a part of combined treatment (intravitreal VEGF inhibitor plus laser photocoagulation) compared with conventional laser treatment alone.

The effect of treatment was evaluated according to morphological parameters by measuring central macular thickness (CMT) in μm with optical coherence tomography, and according to functional parameter by visual acuity in log MAR scale. In this prospective randomized clinical trial, with minimum follow up of 6 months, in experimental group 51 patient, or 84 eyes were treated with bevacizumab (VEGF inhibitor) in 1.25 mg dosage, alone or in combination with laser.

The mean reduction in was 139.15 μm , which was achieved with 2.46 doses on average. The difference between the final and initial CMT values after each dosage was statistically significant. Edemas with high central macular thickness required high number of intravitreal applications and the reduction was higher. In our study, mean visual acuity improved significantly in 0.135 log MAR. In control group (50 patient, 92 eyes) treated with laserphotocolagulation alone, the effect on visual acuity and central macular thickness was not statistically significant. The treatment with bevacizumab alone or in combined treatment is more effective in treating DME than conventional macular laser treatment alone, from both - anatomical and functional perspective. The importance of this study is confirmation of the efficacy and safety of a new form of treatment and the introduction of a new protocol for the treatment of diabetic macular edema.

Accepted on Scientific Board on: AS	17.03.2010.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: dr Svetislav Milenković, full professor in retirement, Faculty of medicine, University of Belgrade member: dr Ana Oros, associate professor, Faculty of medicine, University of Novi Sad member: dr Nikola Babić, assistant professor, Faculty of medicine, University of Novi Sad member: dr Desanka Grković, assistant professor, Faculty of medicine, University of Novi Sad member: dr Olga Horvat, assistant professor, Faculty of medicine, University of Novi Sad

Zahvalnica

Zahvaljujem se mentorima prof. dr Vladimiru Čanadanoviću i prof. dr Ani Sabo na velikoj pomoći u izradi ove disertacije. Članovima komisije za ocenu i odbranu teze, veliko hvala na korisnim sugestijama i pomoći. Veliku zahvalnost dugujem celokupnom osoblju Klinike za očne bolesti, Kliničkog centra Vojvodine. Hvala mojoj porodici na podršci i strpljenju.

SADRŽAJ

1. UVOD	14
1.1. Dijabetični makularni edem	16
1.1.1. Definicija dijabetičnog makularnog edema	17
1.1.2. Patofiziologija dijabetičnog edema makule.....	17
1.1.2.1. Uloga Angiotenzina II.....	17
1.1.2.2. Neenzimska glikozilacija belančevina	18
1.1.2.3. Poliolsko-sorbitolski put	18
1.1.2.4. Aktivacija protein kinaze C.....	19
1.1.2.5. Oksidativni stres	19
1.1.2.6. Faktori rasta	19
1.2. Dijagnostika dijabetičnog makularnog edema	22
1.2.1. Indirektna oftalmoskopija.....	22
1.2.2. Direktna oftalmoskopija	22
1.2.3. Fundus fotografija.....	23
1.2.4. Fluoresceinska angiografija-FA	23
1.2.5. Autofluorescencija - FAF	24
1.2.6. Optička koherentna tomografija - OCT	24
1.3. Klasifikacija dijabetičnog makularnog edema	26
1.3.1. Klasifikacija edema na osnovu patohistoloških karakteristika.....	26
1.3.2. Klinička klasifikacija dijabetičnog makularnog edema (na osnovu oftalmoskopskog nalaza).....	27
1.3.3. Klasifikacija dijabetičnog makularnog edema na osnovu fluoresceinske angiografije-FA	28
1.3.4. Klasifikacija dijabetičnog makularnog edema na osnovu nalaza Optičke koherentne tomografije.....	29
1.4. Lečenje dijabetičnog makularnog edema	30
1.4.1. Regulacija osnovne bolesti i drugih faktora rizika	30
1.4.2. Medikamentozna terapija	32
1.4.2.1. Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL).....	33

1.4.2.2. Kortikosteroidi	33
1.4.2.3. Inhibitori karboanhidraze	35
1.4.2.4. Inhibitori VEGF	35
1.4.2.4.1. O vaskularnom endotelnom faktoru rasta	35
1.4.2.4.2. Inhibitori vaskularnog endotelnog faktora rasta.....	39
1.4.2.4.3. Bevacizumab (Avastin®)	40
1.4.2.4.4. Drugi inhibitori VEGF	42
1.4.3. Hirurška terapija	43
1.4.3.1. Laserfotokoagulacija.....	43
1.4.3.2. Pars plana Vitrektomija.....	46
2. CILJEVI I HIPOTEZE	47
3. MATERIJAL I METODE	49
3.1. Ispitanici	49
3.2. Metod	51
3.3. Statistička obrada	56
4. REZULTATI.....	57
4.1. Opšti podaci pacijenata eksperimentalne grupe	57
4.2. Rezultati efikasnosti anti VEGF tretmana eksperimentalne grupe u odnosu na centralnu debljinu makule merenu OCT-om.....	62
4.3. Rezultati efikasnosti anti VEGF tretmana eksperimentalne grupe u odnosu na vidnu oštrinu.....	74
4.4. Rezultati kod pacijenata kontrolne grupe.....	78
4.5. Poređenja dobijenih rezultata vidne oštine i centralne makularne debljine pre i nakon tretmana po grupama pacijenata podeljenih prema vrsti tretmana.....	87
4.6. Neželjeni efekti lečenja	90
5. DISKUSIJA	91
5.1. Dizajn studije.....	91
5.2. Analiza uticaja laserfotokoagulacije na dijabetični makularni edem.....	92
5.3. Analiza uticaja inhibitora VEGF na dijabetični makularni edem	94
5.4. Poređenje rezultata centralne makularne debljine i vidne oštine kod pacijenata odnosno očiju tretiranih bevacizumabom, kombinovanim tretmanom i laserom	103
5.5. Drugi faktori od važnosti za ishod lečenja	105

5.6. Predlozi za dalja istraživanja.....	108
6. ZAKLJUČCI.....	110
7. PRILOZI	111
8. LITERATURA	114

1. UVOD

Dijabetična retinopatija (DR) je jedna od najčešćih komplikacija Dijabetes Melitusa (DM). DR je danas među vodećim uzročnicima stečenog slepila kako u razvijenim zemaljama (kod pacijenata sa preko 65 godina života), tako i zemljama u razvoju (kod radno aktivnih ljudi, starosti od 45 do 65 godina života) Na taj način DR predstavlja, ne samo medicinski, već i socioekonomski problem (1).

U sklopu dijabetične retinopatije jedan od najranijih razloga koji dovodi do pada vidne oštine je razvoj dijabetičnog makularnog edema a u krajnjoj fazi bolesti i razvoj proliferativne dijabetične retinopatije. Razvoj dijabetičnog makularnog edema je karakteristika starijih pacijenata mahom obolelih od tipa 2 DM-a, dok je razvoj proliferativne dijabetične retinopatije karakteristika mladih, obolelih od tipa 1 DM.

Dijabetični makularni edem se pojavljuje sa oko 14% učestalosti među obolelima od dijabetesa (2). Dijabetični edem makule se može javiti u ma kom stadijumu razvoja dijabetične retinopatije, ali se pojavljuje mnogo češće idući ka težim oblicima DR, zatim sa dužim trajanjem DM, od značaja za pojavljivanje je i tip dijabetesa, odnosno vrsta terapije (insulin, oralni hipoglikemici ili dijeta). Brojne velike studije su istraživale faktore odgovorne za nastanak i progresiju dijabetične retinopatije i dijabetičnog makularnog edema kao što su: Viskonsin epidemiološka studija o dijabetičnoj retinopatiji-Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WEDRS) i Prospektivna studija o dijabetičnoj retinopatiji Velike Britanije-United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS).

Osim dužine trajanja dijabetesa, tipa DM, odnosno vrste terapije, od velike važnosti za razvoj i progresiju kako dijabetične retinopatije tako i makularnog edema je kontrola glikemije, praćena preko nivoa glikoziliranog hemoglobina-HbA1c, arterijska hipertenzija, dislipidemija, mikroalbuminurija odnosno proteinurija (3). Dodatni faktori su: starija životna dob, loš socio-ekonomski status, trudnoća. Od lokalnih okularnih faktora koji su od uticaja na progresiju dijabetičnog makularnog edema, najznačajniji i najčešći je operacija katarakte (3).

Borba protiv dijabetične retinopatije i dijabetičog edema makule mora biti sve snažnija i organizovanija jer broj obolelih od dijabetes melitusa u svetu kao i u našoj zemlji ubrzano raste. Svetska zdravstvena organizacija je 2000-te godine predviđala da će broj obolelih u svetu od dijabetesa sa 171 miliona (2,8% populacije), porasti na 366 miliona (4,4% populacije) do 2030 godine (4). Prema procenama Međunarodne federacije za dijabetes (International Diabetes Federation - IDF) danas je taj broj već dostignut i iznosi 371 miliona obolelih. Broj obolelih u svetu ubrzano raste i očekuje se da će se za 20 godina povećati na više od 552 miliona. Najvažnija demografska promena koja bi uticala na ovaj porast je povećanje broja ljudi starijih od 65 godina prisutnih u ukupnoj populaciji. Ova prognoza nije obuhvatila porast obolelih od DM tipa 2, koja bi usledila porastom broja gojaznih osoba, kako u razvijenim tako i u zemljama u razvoju. Razvijene zemlje pokazuju sve veću incidencu pojavljivanja dijabetesa kod ljudi starijih od 65 godina, dok je za zemlje u razvoju karakteristična najveća učestalost u radno-aktivnoj populaciji ljudi od 45 do 64 god. Sada je 2/3 obolelih u zemljama u razvoju, taj broj stalno raste zahvaljujući brzom rastu populacije u tim zemljama, procesu industrijalizacije i urbanizacije i promenjenom načinu života. U periodu od 1995-2000. godine prevalenca obolelih od DM je porasla u razvijenim zemljama za 8,5%, a u zemljama u razvoju za 18% (5).

Na osnovu podataka IDF-a i "Batuta" - Registar za dijabetes, procenjuje se da u Srbiji 8,5% stanovnika, približno 670.000 ljudi, ima dijabetes, 95 % obolelih pripada tipu 2 DM. U našoj zemlji u proseku se godišnje otkriva 16.000 novoobolelih. Nešto češće se otkriva kod osoba ženskog pola, najčešće posle 40-te godine života, a više nije toliko redak ni kod mlađih osoba, adolescenata i gojazne dece.

1.1. Dijabetični makularni edem

Tkivo mrežnjače a naročito makula je metabolički jedno od najzahtevnijih tkiva, za održavanje fiziološkog obsega zahteva velike količine kiseonika i glukoze. Utilizacija kiseonika u mrežnjači je slična utrošku kiseonika u mozgu 3-5 O₂g/min. Spoljašnja trećina retine – spoljni segmenti fotoreceptora su relativno dobro obkrpljeni cirkulacijom horoidee, dok je unutrašnjih 2/3 retine relativno hipoksična zona. Parcijalni pritisak O₂ u unutašnjoj retini je 4x manji u odnosu na spoljašnju retinu. Razlika u arteriovenskom parcijalnom pritisku p O₂ retine iznosi čak 40%. U uslovima nedostatka kiseonika dobar deo zahteva za izuzetno aktivni metabolizam ostvaruje se produkcijom adenozin trifosfata-ATP-a putem glikolize. Glikoliza je u odnosu na oksidativnu fosforilaciju daleko manje efikasan put, stvara svega 2 molekula ATP-a u odnosu na 36 molekula koji nastaju oksidativnom fosforilacijom. Velika potrošnja kiseonika i glukoze dovodi do velikog metaboličkog prometa i kretanja vode. Dijabetes uzrokuje poremećaj u održavanju homeostaze u neuroetini dovodi do oslobađanja brojnih citokina, inflamacije i sloma hemato-retinalne barijere (6).

Tkivo makule ima naglašenu predispoziciju za nakupljanje tečnosti odnosno nastanak edema, zbog svojih jedinstvenih anatomskih karakteristika: izuzetno visoka koncentracija ćelija, visoka metabolička aktivnost i metabolički zahtev, pozicija Henleovih vlakana koji od centra makule idu lateralno horizontalno, izrazito labava veza između vlakana spoljašnjeg pleksiformnog sloja retine u regiji makule, centralna avaskularna zona predstavlja „watershed“ između retinalne i horoidalne cirkulacije i samim tim ima umanjenu mogućnost za resorbovanje viška ekstracelularne tečnosti kao i preko oksidativnog stresa stvaranjem reaktivnih kiseoničnih radikala (7). Izražena osetljivost na ishemiju/hipoksiju, zatajivanje kalijumskih i natrijumskih kanala dovodi do hiperosmolarnosti i potom pivlačenja i zdržavnja vode unutar potpornih Mullerovih ćelija. Dolazi do disfunkcije akvaporin kanala preko kojih potporne ćelije odvođe višak tečnosti nazad u kapilare i prema vitreusu. Mullerove ćelije se cistoidno defomišu, pucaju i umiru. Na taj način nastaje cistoidni edem makule koji je intracelularni-citotoksični edem po svojoj prirodi (8).

1.1.1. Definicija dijabetičnog makularnog edema

Dijabetični makularni edem predstavlja zadebljanje retine usled nakupljanja tečnosti intraretinalno unutar 2 disk dijametra (DD) od centa makule-fovee. Zadebljanje retine nastaje na račun akumulacije intraretinalne tečnosti u spoljnom pleksiformnom, unutrašnjem nuklearnom sloju kao i unutar potpornih Mullerovih ćelija. Dolazi do širenja ekstracelularnih prostora – ekstracelularni edem, koji se može preneti i na same ćelije kada nastaje intracelularni edem regije makule. Nakupljanje tečnosti dovodi do funkcionalnog međućeljskog poremećaja koji rezultira oštećenjem vida. DME nastaje na račun povećane permeabilnosti - sloma unutrašnje hemoretinalne barijere, koju čine čvrste veze endotelijalnih ćelija perifovealnih retinalnih kapilara. Nakon sloma unutrašnje sledi i slom spoljašnje hemato-retinalne barijere.

1.1.2. Patofiziologija dijabetičnog edema makule

Hiperglikemija je osnovni faktor u patogenezi dijabetične retinopatije i dijabetičnog makularnog edema. Dugotrajna hiperglikemija u sklopu DM dovodi do sloma unutrašnje hemato-retinalne barijere preko brojnih mehanizama: aktivacija poliolsko-sorbitolskog puta, produkcija završnih produkata neenzimske glikozilacije belančevina (advanced glycation end products- AGE), aktivacijom rennin-angiotenzin puta, aktivacijom protein kinaze C, oslobađanjem Vaskularnog endotelnog faktora rasta (Vascular Endothell Growth Factor-VEGF) (9-15). Aktivacijom ovih puteva dolazi do oslobađanja brojnih medijatora-citokina koji dovode do oštećenja zidova krvnih sudova-sloma hemoretinalne barijere što indukuje inflamatorni reparatorni odgovor tkiva stvarajući uslove za dalje oslobađanje citokina i faktora rasta. Oštećenje krvnih sudova retine, odnosno slom unutrašnje hemoretinalne barijere nastaje putem aktivacije oksidativnih i inflamatornih mehanizama (16). Makularni edem je primer jedne od najozbiljnijih posledica inflamacije na tkivima

1.1.2.1. Uloga Angiotezina II

Angiotenzin II je oligopeptid koji se stvara u zidu inflamiranog krvnog suda renin-angiotenzin sistemom. Indukuje vaskularnu hiperpermeabilnost – slom hemoretinalne barijere. Aktivacijom leukocita, njihovom migracijom i adhezijom, dolazi do zapaljenske

reakcije i posledičnog oštećenja endotelih ćelija. Ova reakcija je indukovana medijatorima (P-selektin, E-selektin, vascular cell adhesion molecule 1 i intercellular adhesion molecule 1, integrini). Pored adhezionih molekula sledi disregulacija hemokina i citokina (Interleukina-IL 1 β ,6,8,12) kao i tumor nekrotišućeg faktora α (TNF- α). Interleukin IL 1 β doprinosi apoptozi endotelih ćelija preko aktivacije azot oksid sintetaze-iNOS. Nivo interleukina IL-6 je visoko povezan sa težinom DME (17). Putem vazokonstrikcije i porasta pritiska nastaje direktno mehaničko oštećenje endotela, renin-angiotezin-aldosteron putem. Oslobođanjem leukotriena, prostaglandina kao i VEGF dolazi do povećane propusnosti retinalnih krvnih sudova. Angiotezin učestvuje u remodeliranju ekstracelularnog prostora.

1.1.2.2. Neenzimska glikozilacija belančevina

U uslovima hronične hiperglikemije favorizuje se neenzimska glikozilacija belančevina. Završni produkti glikozilacije su odgovorni su za zadebljanje bazalne membrane kapilara retine u sklopu dijabetesne retinopatije. Receptori za završne produkte glikozilacije su pronađeni na endotelnim ćelijama, pericitima i ćelijama RPE. Vezujući se za pericite završni produkti glikozilacije mogu dovesti do direktnog citotoksičnog efekta i njihove smrti. Vezujući se za endotelne ćelije mogu dovesti do citotoksičnog dejstva s jedne strane, ali i stimulacije njihove migracije i proliferacije. Sam gubitak pericita je dovoljan da pokrene proliferaciju endotela, jer nestaje njihov inhibotorni uticaj na endotelne ćelije. Preko svojih receptora produkti neenzimske glikozilacije belančevina povećavaju nivo oksidativnog stresa i indukuju inflamatorni odgovor putem oslobađanja citokina, adhezionih molekula, faktora rasta i vazoaktivnih medijatora (17).

1.1.2.3. Poliolsko-sorbitolski put

Poliolsko-Sorbitolski put je forsiran u uslovima hiperglikemije, nakupljeni sorbitol hiperosmolarim putem dovodi do pucanja i gubitka ćelija pre svega pericita što direktno uzrokuje slom hemato-retinalne barijere (18, 19). Pri prelasku glukoze u sorbitol dolazi do iscrpljivanja glavnih redoks sistema u ćeliji i nakupljanja citotoksičnih slobodnih radikala. Ovaj proces troši velike količine ATP-a, oduzimajući ga drugim važnim metaboličkim procesima (20-23).

1.1.2.4. Aktivacija protein kinaze C

Povećanu aktivnost protein kinaze C-PKC izaziva povećanje diacil glicerola koji nastaje iz glukoze. PKC je odgovorna za niz procesa: povećanu permeabilnost zidova krvnih sudova, sintezu bazalne membrane, proliferaciju ćelija zida krvnog suda, što je potvrđeno u eksperimentima u in vitro uslovima. Povećana aktivnost PKC doprinosi i povećanom oslobađanju faktora rasta (24).

1.1.2.5. Oksidativni stres

U dijabetes melitusu je potvrđeno posojanje smanjenog nivoa antioksidanasa: redukovano glutationa (GSH), vitamina C i vitamina E, a povišen nivo kiseoničnih slobodnih radikala (25,26). Glikozilisani proteini su skloni oksidaciji sa kiseoničnim slobodnim radikalima, što dovodi do dodatnog oštećenja bazalne membrane kapilara. Slobodni radikali dovode do štetne peroksidacije lipida. Oksidisani lipidi stimulišu enzim ciklooksigenazu i sintezu prostaglandina, a inhibišu stvaranje prostaciklina, koji je vazodilatator (27). I slobodni radikali i oksidisani zavšni produkti neenzimske glikozilacije imaju direktno citotoksično delovanje na endotel.

1.1.2.6. Faktori rasta

Faktori rasta su proteini sa angiogeničnim delovanjem. Najpotentnije dejstvo ima vaskularni endotelni faktor rasta prvi put otkriven u ćelijama retinalnog pigmentnog epitela- (Retinal Pigment Epithellium-RPE), a potom i u pericitima kao i endotelnim ćelijama, Mulerovim ćelijama, mikrogliji kao i u ganglijskim ćelijama. Hipoksija je glavni induktor, preko hypoxia-inducible faktora 1 koji se vezuje za VEGF gen dovodi do povećanog oslobađanja VEGF. Hipoksija povećava nivo adenzina na račun smanjene aktivnosti adenzin kinaze, adenzin vezuje G protein, time dolazi do povećanja intracelularnog cAMP-a, čime se aktivira PKC koja između ostalog povećava nivo VEGF. Hipoksija ne samo da povećava produkciju VEGF nego i povećava ekspresiju receptora za VEGF na endotelnim ćelijama. VEGF je najpotentniji mitogen za ćelije vaskularnog endotela, indukuje proces invazije, migracije, separacije (delovanje na matrix metalopoteaze-MMP), proliferacije endotelnih ćelija kroz bazalnu membranu, inhibiše apoptozu, sve zajedno pokreće angiogenezu i dovodi do formiranja neovaskularizacije kao osnovnog supstrata proliferativne dijabetesne retinopatije.

VEGF ima ulogu i u ranoj fazi dijabetesne retinopatije jer razgradnjom čvrstih veza dovodi do popuštanja unutrašnje hemato-retinalne barijere, što rezultira povećanom propusnošću i nastankom edema makule (28).

Poliolsko-sorbitolski put, aktivacija protein kinaze C, povišen nivo kiseoničnih slobodnih radikala, oksidacija glikoziliranih proteina i povećano oslobađanje VEGF govore u prolog tome da je u patofiziologiji dijabetesne retinopatije i dijabetesnog makularnog edema velika uloga oksidativnog stresa kao i inflamacije. U prilog tome govore brojni patofiziološki poremećaji kao što su: povećani protok krvi i povećana vaskularna propusnost, tkivni-makularni edem, ubrzana ćelijska smrt, mikrogljalna aktivacija, povećana ekspresija citokina i hemokina (VEGF, IGF-1, IL-1 beta, IL 6 i 8, 12, TNF α), povećana aktivacija i adhezija leukocita (P selektin, E-selektin, Vascular cell adhesion molecule 1; Intercellular adhesion molecule 1), oslobađanje prostaglandina i leukotriena. Infiltracija makrofazima, povišeni nivo komponenti komplemента, ekspresija proteina rane akutne faze, neovaskularizacija, tkivna destrukcija kao i gljalna proliferacija (29)

Smrt se dešava kako na nivou endotelnih ćelija tako i na nivou pericita. Receptorima posredovana leukocitna adhezija je preduslov za endotelijalnu apoptozu. Sledi smrt i potpornih elemenata pericita i konačno nastaju acelularni kapilari, "ghost capillaries", kao osnovni pato-anatomski supstrat retinalne ishemije u dijabetesnoj retinopatiji. Pored smrti endotelnih odnosno pericitnih ćelija, dolazi oslobađanja VEGF, koji je takođe faktor koji doprinosi povećanoj permeabilnosti (29,30).

Leukocitna adhezija, smrt endotelnih ćelija a potom i pericita dovode do poremećaja normalnog vaskularnog protoka, do hiperpermeabilnosti krvnih sudova i nasuprot tome obliteracije krvnih sudova odnosno kapilarne neperfuzije.

Poremećaji mehanizama kontrole protoka dovode do hipoksije, koja je ključni faktor za oslobađanje VEGF-a.. VEGF i njegova prekomerna ekspresija su uslovljene i brojnim drugim mehanizmima koji se pokreću u uslovima poremećenog metabolizma glukoze, kao što su: aktivacija protein kinaze C, nakupljanje završnih produkata neenzimeske glikozilacije i dr. (7,9,10,11,14) VEGF ima ključnu ulogu u patogenezi dijabetesne retinopatije i dijabetesnog makularnog edema, s jedne strane on je specifični mitogen za

endotelne ćelije i na taj način utiče na proces angiogeneze, nastanak neovaskularizacije u sklopu proliferativne dijabetesne retinopatije, s druge strane remeti intercelularne čvrste veze između endotelijalnih ćelija zida retinalnih kapilara te utiče na nakupljanje ekstracelularne tečnosti i nastanak edema makule (31,32,33)

Slom unutrašnje hematoretinalne barijere čine:

- 1) Promene u zidu krvnog suda
- 2) Promene u lumenu krvnog suda na krvnim ćelijama
- 3) Promene u krvnom protoku- disbalans regulatora protoka

Promene u zidu krvnog suda:

- gubitak pericita kapilara (najranijih pojava, interakcija između pericita i endotelnih ćelija je ključna u održavanju stabilnosti zida krvnog suda, periciti predstavljaju zaštitu, održavaju tonus kapilara obezbeđuju protok, pružaju stabilnost.).

-oštećenje endotelnih ćelija,

- otvaranje čvrstih veza "tigh junctions" endotelijalnih ćelija

- zadebljanje bazalne membrane kapilara što vodi abnormalnoj autoregulaciji,

Promene u lumenu krvnog suda i na krvnim ćelijama:

- pojačana aktivacija i adhezija leukocita - leukostaza

- pojačana deformacija eritrocita,

- povećana agregabilnosti trombocita.

-glikozilacija Hb povećava afinitet eritrocita za O₂ i time umanjuje njegovo oslobađanje u tkivima

Promene u krvnom protoku- disbalans regulatora protoka:

-vazodilatatora (NO- azotni oksid, PGI₂- prostaciklin, EDHF)

-vazokonstriktora (ET-1- endotelin, produkti ciklooksigenaze: TX- trombaksan, PG-prostaglandin, LPO-lipid peroksid (28).

Sve ove promene uzrokuju poremećaj cirkulacije, hipoksiju, aktivaciju protein kinaze C i oslobađanja ključnog faktora u patofiziologiji dijabetesne retinopatije i dijabetičnog makularnog edema, vaskularnog endotelnog faktora rasta-**VEGF**.

1.2. Dijagnostika dijabetičnog makularnog edema

Dijagnostika edema makule se vrši jednom ili kombinacijom više dijagnostičkih metoda.

1.2.1. Indirektna oftalmoskopija

Predstavlja pregled fundusa u indirektnoj slici na biomkroskopu odnosno špalt lampi, bezkontaktno, korištenjem lupe od 90 ili 68D ili kontaktnom metodom uz pomoć panfundoskopa ili Goldmanovog stakla sa tri ogledala. Procena edema makule ovom metodom zavisi od vešine i iskustva lekara, od saradnje pacijenta, mogućnosti za postizanje midrijaze, stepena zamućenja medija i samog tipa edema makule. Ovom metodom možemo u trodimenzionoj slici videti edem makule njegovu lokalizaciju, rasprostranjenost (fokalni ili difuzni), izraženost. Možemo uočiti postojanje mikroaneurizmi, hemoragija, tvrdih i mekih eksudata, kao i postojanje epiretinalne membrane -ERM. Ova metoda je insuficijentna u otkrivanju početnog edema, smatra se da je moguće uočiti edem tek kada je zadebljanje retine odnosno makule 1,6x u odnosu na normalnu debljinu (34). Teško je proceniti odnos retine i vitreusa odnosno zadnje hialoidee. Sve ove manjkavosti upotpunila je metoda optičke koherentne tomografije.

1.2.2. Direktna oftalmoskopija

Pregled direktnim oftalmoskopom služi za uočavanje detalja kao što su mikroaneurizme, tvrdi lipidni eksudati, ali sam edem se teško uočava jer fundus posmatramo monokularno i na taj način nemamo trodimenzionalnu sliku. Početni edem se može registrovati samo kao alteracija fovealnih refleksa.

1.2.3. Fundus fotografija

Kolor i fotografija u zelenom svetlu ili „red free“ fotografija, kao i parovi-stereofotografije koriste se za postavljanje dijagnoze kod masovnih skrininga. Na taj način se odvajaju nalazi koji su normalnih od onih koji su za češće praćenje kao i oni kod kojih je indicirano lečenje (35). Stereofundusfotografije zahtevaju iskustvo onoga ko očitava, kao skrining metod ove fotografije su insuficijentne u otkrivanju blagog subkliničkog edema makule, gde je centralna debljina makule između 200-300 μ m (34). Osim u svrhe skrininga fundus fotografije služe i za objektivno praćenja pacijenata.

1.2.4. Fluoresceinska angiografija-FA

Zlatni standard u dijagnostici retinalnih vaskularnih oboljenja je fluoresceinska angiografija-FA. Ovo je invazivna dijagnostička procedura, koja zahteva intravensko ubrizgavanje kontrasta Na-fluoresceina 10% i nakon toga uzimanje fotografija putem digitalne fundus kamere sa specijalnim filterima. Relativno bezbedna procedura koja može izazvati blage prolazne tegobe poput mučnine, žućkaste prebojenosti kože, sluzokože i beonjača, može dati alergijske reakcije od blažih tipa svraba po koži i urtrikarije do pojave anafilaktičkog šoka, što se smatra retkom komplikacijom (1 na 200 000) (36). U normalnim uslovima Na-fluorescein ne prolazi očuvanu spoljašnju ni unutrašnju hemoretinalnu barijeru. Ukoliko je barijera narušena imamo pojavu curenja „leakage“ fluoresceina u tkivo retine što je osnovna pojava kod edema (37). „Curenje“ iz nakupina mikroaneurizmi daje fokalni jasno ograničeni edem, difuzni slom barijere- kapilaropatija daje difuzni edem. U sklopu difuznog edema u kasnoj fazi može se pojaviti „pooling“ boje u cistoidne šupljine u regiji fovee, spoljašnjem pleksiformnom sloju- Henleovom sloju dajući tipičnu petaloidnu sliku –sliku latica cveta. Perifovealno taj oblik edema poprma karakteristike saća (38,39). Kod dugotrajnih cistoidnih edema, ciste se tokom vremena slivaju što predstavlja osnovu za ireverzibilna oštećenja. Angiografski nastala je i jedna od podela edema makule na noncistoidne i cistoidne (40). Uloga FA je nezamenljiva jer predstavlja putokaz za različite vrste laser tretman (fokalni ili grid) kao i u otkrivanju ishemične makulopatije ili kombinove forme ishemično-eksudativne. Upravo je to i najvažnija uloga FA, tretman laserom kod ishemične makulopatije bi doprineo bi još većem padu vida uz već postojeću lošu prognozu i samim tim je kontraindovan (41).

Indocijanin green angopatija –ICGA se nekoristi rutinski u dijagnostici DME jer su snimci manje vredni u odnosu na FA, mogu prikazati mikroaneurizme kao i difuznu hiperfluorescenciju koja označava dijabetičnu horoidopatiju (42).

1.2.5. Fundus autofluorescencija-FAF

Kamera prima autofluorescenciju emitovanu od strane fluorofora retine, ekscitacija lipofuscina se vrši uz pomoć talasne dužine između 470 i 550 nm. Unutar tamne zone FAZ-a usled nakupine pigmenta, cistoidni edem se vidi kao rasvetljenje zbog pomeranja pigmenta (43).

1.2.6. Optička koherentna tomografija - OCT

Optička koherentna tomografija (Optical Coherence Tomography-OCT) je neinvazivna, bezkontaktna dijagnostička procedura, jednostavna je za izvođenje uz mogućnosti ponavljanja. Ne zahteva pripremu pacijenata, eventualno je potrebno obezbediti midrijazu, koja nemora biti potpuna. Ova dijagnostička metoda datira još od 1991 godine, na humanoj retini prvi put primenjena 1993 godine (44,45,46). Zasniva se na principu nisko-koherentne svetlosne interferometrije (47,48). Postoji konvencionalni time domain OCT- TDOCT, emitovani svetlosni zrak od strane superluminescentne diode se cepa na dva dela, jedan je incidentni, ulazi i prolazi kroz optičke medije a potom se reflektuje od strane slojeva retine, drugi zrak se odbija od strane referentnog ogledala. Promene pozicije ogledala na putu referentnog svetlosnog snopa omogućava analizu struktura na različitim dubinama u toku svakog svetlosnog ehoa, formirajući A-scan. Vreme neophodno za skeniranje kao i za prikupljanje skenova je esencijalno i određuje kvalitet signala, otuda naziv time-domain u vremenskom domenu. Savremeniji SD-OCT (spectral-domain OCT), eliminisana je potreba za ogledalom koje se kreće na putu referentnog snopa svetlosti, što omogućava mnogo brže dobijanje skena i visoku rezoluciju ($< 10\mu\text{m}$). SD-OCT omogućava sabiranje velikog broja snimaka visoke rezolucije, 50 puta brže od standardnog time-domain OCT-a a 100 puta brže od prvog ultrahigh resolution OCT-a. Slike su dobijene u dve ili tri ravni, predstavljaju in vivo vizualizaciju unutrašnje mikrostrukture retine odnosno makule, zapravo radi se o optičkoj biopsiji makule. OCT omogućava na veoma brz, jednostavan, neinvazivan, ponovljiv, objektivan način, sagledavanje poprečnog preseka retina/makule.

OCT je jedinstvena dijagnostička metoda, jer prikazom sagitalnog preseka omogućava procenu vitreomakularnog odnosa, prisustvo trakcionog dijabetičnog edema makule na račun trakcije zadnje hialoidee (crtasta hiperreflektivna membrana) u sklopu parcijalnog odlubljenja staklastog tela. DME može biti kombinovan i sa čvrsto adherentnom zadnjom hialoidnom membranom (49,50).

Intraretinalno, OCT prikazuje edem kao područje smanjene reflektivnosti mahom u spoljnim delovima retine, uz porast debljine makule, jasno razlikujemo: difuzni kao i cistoidni edem, prisustvo tvrdih lipidnih eksudata-hiperreflektivnih tačkastih formacija koje daju senku prema horoidei, mikroaneurizme. Hroničnim prisustvom cistoidni edem kao posledicu može formirati lamelarnu a potom i potpunu rupturu makule (51).

OCT prikazuje i stanje spoljašnje hemaretinalne barijere, čijim popuštanjem dolazi do nakupljanja subretinalne tečnosti, što se prikazuje kao optički prazan prostor između retine i sloja RPE (52,53). Seroznu ablaciju retine vidamo u 15% očiju sa DME, ova pojava nije u korelaciji sa lošijom prognozom po vidnu oštrinu (54).

Osim dijagnostike i predhodno navedenih prednosti koje OCT ima u odnosu na druge dijagnostičke metode, OCT je jedinstven jer se edem može kvantifikovati, prikazivanjem centralne makularne debljine CMT, ili zapremine-volumena preko prikazivanja mape date u numeričkim vrednostima i u skali boja (55,56). Centralna debljina makule meri se između dve hiperreflektivne linije unutrašnja linija potiče od unutašnje limitantne membrane (membrana limitans interna-ILM) a spoljašnja od sloja fotoreceptora retine.

Zbog svoje neinvazivnosti, jednostavnosti rukovanja OCT osim u dijagnostičke svhe služi i za praćenje pacijenata, nakon primenjene neke od terapijskih procedura (57,58).

1.3. Klasifikacija dijabetičnog makularnog edema

Dijabetični edema makule delimo na različite načine.

1.3.1. Klasifikacija edema na osnovu patohistoloških karakteristika:

Intracelularni edem - nastaje na račun poremećaja jonskih kanala, ekscesivnim nakupljanjem Na^+/K^+ u ćelijama dolazi do vezivanja vode i bubrenja ćelija, tako nastaje intracelularni-citotoksični edem. On može nastati i nakupljanjem mlečne kiseline kao i glutamata. Nakupljanjem tečnosti dolazi do bubrenja, pucanja ćelija i konačne smrti. Citotoksični edem je odgovor na ishemiju jer u uslovima hipoksije dolazi do zatajivanja kako jonskih tako i akvaporinskih kanala odgovornih za transport jona i vode. Cistoidni edem makule, nastaje kao intracelularni edem bubrenjem i umiranjem potpornih Muller-ovih ćelija. To se javlja u uslovima izražene ishemije odnosno hipoksije Intracelularna dekompenzacija preko oslobađanja ekscitoksina i slobodnih radikala može još više produbiti oštećenje hematoretinalne barijere, u tom slučaju intracelularni edem predhodi ekstracelularnom. Tu pojavu imamo kod dijabetesa osoba starije životne dobi. S tim u vezi pronađeno je da glijalne ćelije starijih progresivno gube provodljivost za K^+ jone, umanjeno je njihovo oslobađanje te se javlja nakupljanje u ćelijama a potom i vode. Po drugom mehanizmu je ključna uloga jona Na^+ (59). Išemija se može potvrditi putem FA gde se prikazuje perifovealna kapilarna neperfuzija, a potom u kasnoj fazi dolazi do pojave cistoidnog edema.

Ekstracelularni edem – je češći, nastaje usled sloma unutrašnje hematoretinalne barijere, prelaskom proteina, pretežno albumina u ekstracelularni prostor. Proteini vezuju tečnost u ekstracelularnom prostoru uzrokujući edem. Progresija edema zavisi od razlike u hidrostatskom pritisku plazma/tkivo kao i razlike u osmotskom pritisku (Starling-ov zakon) (1). Proteini mogu napustiti retinu prema staklastom telu preko unutrašnje limitantne membrane, ali ne i preko spoljašnje limitantne membrane koja ih zadržava, onkotskim pritiskom. Aktivni transport od strane retinalnog pigmentnog epitela se suprotstavlja onkotskom pritisku i sprečava nakupljanje subretinalne tečnosti (60). Ekstracelularni edem na račun razlike u pritiscima i kretanju jona postepeno dovodi do intracelularnog edema. Slom hemato-retinalne barijere nastaje usled oslobođenih

medijatora citokina, ali slom barijere kao inflamatorno-reparatorni odgovor stvara uslove za dalje oslobađanje citokina i faktora rasta.

1.3.2. Klinička klasifikacija dijabetičnog makularnog edema (na osnovu oftalmoskopskog nalaza)

U kliničkom radu u upotrebi je Internacionalna klinička klasifikacija DR i DME (International Clinical Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema Disease Severity Scale), izneta od strane Internacionalnog udruženja oftalmologa-International Council of Ophthalmology-ICO, 2002 godine. Ova klasifikacija je modifikacija klasifikacije DME koju je dala studija ranog tretmana dijabetesne retinopatije (The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study-ETDRS) iz 1991. godine (61,62).

- blagi oblik (mild DME) prisustvo zadebljanja retine odnosno edema ili tvrdih eksudata na zadnjem polu udaljeno od centra makule
- umeren oblik (moderate DME) ukoliko je retinalno zadebljanje/ tvrdi eksudati se približavaju centru makule
- teški oblik (severe DME) centar makule je zahvaćen edemom odnosno tvrdim eksudatima

Za ovu klasifikaciju predlaže se pregled fundusa u midrijazi na biomikroskopu, bezkontaktnom indirektnom oftalmoskopijom lupom od +90D ili +78D ili kontaktnim staklom-panfundoskopom ili stereo fundus fotografija.

Klinički signifikantni edem makule - Clinically Significant Macular Edema-CSME, je definisan od strane studije ranog tretmana dijabetesne retinopatije -The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study-ETDRS (1979-1990): na osnovu oftalmoskopske slike i služi u praksi za definisanje težine DME i ukazuje na stepen DME na kom je potrebno primeniti laser tretman.

Klinički signifikantni edem makule predstavlja:

- Svako zadebljanje retine koje je unutar 500 mikrona od centra makule.
- Ukoliko je venac tvrdih eksudata koji okružuje retinalno zadebljanje-edem ulazi u područje od 500 mikrona od centra makule.
- Zona ili zone retinalnog zadebljanja su veličine disk dijametra ili veće a nalaze se u području unutar 1DD (1500 mikrona) od centra makule

Preporuka ETDRS studije da je korist od primene laser tretmana makule pri postojanju CSME u tome što smanjuje za 50% verovatnoću od ozbiljnog gubitka vida u odnosu na netretirane slučajeve (62,63)

1.3.3. Klasifikacija dijabetičnog makularnog edema na osnovu fluoresceinske angiografije-FA

- Fokalni DME, lokalizovano područje edema, zadebljanja retine jasno uočljivo klinički i ograničeno postojanjem venca/poluvenca tvrdih eksudata na granici prema zdravoj retini. FA jasno pokazuje curenje- „leakage“ iz centralno postavljenih mikroaneurizmi koje su osnova edema
- Difuzni DME, difuzno propuštanje iz mikroaneurizmi, kapilara i arteriola uz hemoragije i tvrde eksudate u širokom području makule bez jasne demarkacije. Nastaje naračun sloma hematoretinalne barijere difuzno u vidu kapilaropatije
- Ishemična makulopatija (na osnovu FA uočava se neperfuzija makule, proširenje i iregularnost FAZ-a -čiji dijametar normalno iznosi 350-750 μ m)
- Mešovita forma (kombinovana forma ishemično-hemoragijsko-eksudativna)
- Cistoidni makularni edem-CME (CME može biti kombinovan sa svakom od predhodno navedenih formi.) Edem spoljnog pleksiformnog sloja regije fovee daje specifičnu sliku na FA cistoidnu-petaloidnu poput latica cveta zbog karakterističnog radijalnog i horizontalnog rasporeda nervnih vlakana te regije,

javlja se „pooling“ fluoresceina u cistoidne prostore u kasnoj fazi. Cistoidni edem sam po sebi ne određuje prognozu niti terapiju edema (64).

- U fovei usled hroničnog edema i raslojavanja može nastati lamelarna ili ruptura pune debljine retine.

Ukoliko kliničkim pregledom bezkontaktnom fundus biomikroskopijom utvrdimo da postoje znaci CSME, potrebno je uraditi FA koja jedina može dati odgovor o prisustvu ili odsustvu perfuzije i time odrediti dalju terapiju koja se kod ova dva slučaja jasno razlikuje.

1.3.4. Klasifikacija dijabetičnog makularnog edema na osnovu nalaza Optičke koherentne tomografije

- 1) **Retinovaskularni tip DME** (difuzni edem, cistoidni edem, ishemična forma, mešovita forma).
- 2) **Drugi tipovi DME (neretinovaskularni):**
 - **Pigmentna epiteliopatija**, slabost je na nivou sloja retinalnog pigmentnog epitela, popuštanjem spoljašnje hemato-retinalne barijere dolazi do nakupljanja tečnosti u subretinalnom, potom i u intraretinalnom prostoru (65).
 - **Trakcioni dijabetični makularni edem** nastao usled trakcije od strane epiretinalne membrane-ERM formirane od rezidualnog kortikalnog dela vitreusa iznad makule nakon posterornog odlubljenja staklastog tela.
 - **DME uz postojanje čvrsto adherirane posteriorne hialoidne membrane** (66,67).

Ovi tipovi makulopatije su otkriveni u novije vreme uvođenjem optičke koherentne tomografije- OCT-a u dijagnostiku DME i DR. OCT dopunjuje FA jer dobijamo snimak u vidu preseka gde se do detalja može analizirati odnos staklastog tela odnosno zadnje hialoidne membrane, unutrašnje limitantne membrane, slojeva retine, subretinalni prostor, retinalni pigmentni epitel i horiokapilaris. Ove dve metode su komplemetarne - nadopunjuju se.

1.4. Lečenje dijabetičnog makularnog edema

U lečenju dijabetičnog makularnog edema neophodna je regulacija osnovne bolesti DM kao i drugih sistemskih faktora rizika. Od oftalmoloških tretmana zlatni standard je laserfotokoagulacija makule u vidu ciljanog i grid laser tretmana. Noviji oblici lečenja su medikamentozni tretman i hirurški tretman DME.

1.4.1. Regulacija osnovne bolesti i drugih faktora rizika

Brojne studije su dokazale da loša metabolička regulacija dijabetesa i perzistentna hiperglikemija utiču na progresiju kako dijabetesne retinopatije tako i dijabetesnog makularnog edema. To su: Epidemiološka Wiskonsin studija (Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy –WEDRS), Istraživačka grupa o dijabetesnoj kontroli i komplikacijama (Diabetes Control and Complications Trial Research Group - DCCT), Prospektivna dijabetesna studija Ujedinjenog Kraljevstva (United Kingdom Prospective Diabetes Study Group-UKPDS) (68,69,70,71).

Navedene studije su potvrdile da smanjenjem nivoa HbA_{1c} smanjujemo i mogućnost razvoja i progresije komplikacija DM. UKPDS je 2000.-te objavila da smanjenje HbA_{1c} za 1% umanjuje za 37% rizik od svih mikrovaskularnih komplikacija (retinopatija, neuropatija, nefropatija), a za 21% rizik od terminalnih komplikacija (slepilo, dijaliza, amputacija). Svakih 1% sniženja vrednosti HbA_{1c} umanjuje rizik za pojavu mikrovaskularnih komplikacija: retinopatije, nefropatije, neuropatije kod obolelih od tipa 1DM za čak 30 do 35% po DCCT (Diabetes Control and Complication Trial), odnosno kod tipa 2DM smanjenje rizika je i do 38% (68,69,70,71).

Intenacionalna dijabetesna federacija (The International Diabetes Federation) kao i Američki koledž za Endokrinologiju (American College of Endocrinology) preporučuje da vrednosti za dijabetičare budu obavezno ispod 6,5%, dok Američka dijabetesna asocijacija (American Diabetes Association) propagira da je cilj dugoročne kontrole održavati vrednost HbA_{1c} ispod 7% (što odgovara prosečnoj glikemiji ispod 8 mmol/l) (72).

Internacionalni institut za dijabetes (International Diabetes Institute) daje podjelu: HbA_{1c} ispod 6,5% je vrednost koja je normativ za pacijente kod kojih je tek postavljena dijagnoza DM i koji su na terapiji djetom. Vrednost je drugačije niska za pacijente koji su na peroralnim hipoglikemicima, a naročito na insulinu i može ukazivati na hipoglikemije. Od 6,5 do 7,0% je idealna vrednost, kojoj treba težiti. Od 7 do 8% relativno dobro, zahteva češće kontrole i zahteva poboljšanje. Iznad 8% visoka vrednost, koja označava da dijabetes nije dobro regulisan. Iznad 9% vrednost koja znači sigurnu rapidnu progresiju mikrovaskularnih komplikacija (73).

DCCT i druge studije ukazuju na značajno bolju regulaciju DM putem intenzivnog insulinskog tretmana (4x insulin) prema konvencionalnom insulinskom tretmanom (1 do 2 puta davanje Insulina). Po studiji DCCT pacijenti koji su na intenzivnom tretmanu za 46% imaju smanjeni rizik od razvoja DME (74).

Moguća komplikacija intenzivne metaboličke kontrole jeste hipoglikemija, koja takodje pogoduje razvoju komplikacija, kao i velike oscilacije (75). Savetuje se uravnotežena metabolička kontrola, bez većih oscilacija (76-79).

Svako smanjenje HbA_{1c} doprinosi smanjnjem rizika od nastanka komplikacija, ali se smatra da je jedino bezbedna vrednost od 6% odnosno vrednosti što bliže vrednostima koje važe za normalnu populaciju (80).

Monitoring HbA_{1c} je odličan putokaz za korigovanje terapije, čime se doprinosi boljoj metaboličkoj kontroli i samim tim manjem broju komplikacija. Ta saznanja datiraju još iz 1976-te godine (81,82).

Brojna istraživanja su potvrdila izuzetno važan uticaj sistemske regulacije metabolizma te se pored kontrole glikemije naglašava i neophodnost kontrole hipertenzije i nivoa lipida je kako bi se usporila progresija DR. (83-93) Brojna istraživanja ukazuju na poveznost nefropatije odnosno mikroalbuminurije a naročito proteinurije sa povećanom incidencom nastanka kao i progresije DME (94-98). Pušenje je po brojnim studijama u pozitivnoj korelaciji sa povećanom incidencom i prevalencom za nastanak i progresiju DME, smatra se na osnovu inflamatornog efekta na krvne sudove kao i efekta na koagulaciju (99,100).

Ukoliko su promene na krvnim sudovima već nastupile, spontana rezolucija dijabetesne retinopaije odnosno resorbovanje dijabetičnog makularnog edema na osnovu striktno kontrole glukoze u krvi, krvnog pritiska i holesterola je izuzetno retko i po nekim studijam iznosi svega 3%. Ne tretiran DME za 3 godine dovodi u 29% slučajeva do značajnijeg pada vida. Iz toga zaključujemo da je pored dobre metaboličke kontole ukoliko su promene već nastupile nephodno lečiti edem.

1.4.2. Medikamentozna terapija

Medikamenti koji se koriste u lečenju DME su:

- Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs-NSAID)
- Kortikosteroidi
- Inhibitori karbonhidraze
- Inhibitori VEGF (Vascular Endothelium Growth Factor)
- drugi (Interferon, anti TNF ...)

Potoje tri načina na koji lek može proći kroz hemato-retinalnu barijeru i delovati na zadnji segment oka: ukoliko se lek da sistemski u većim dozama, uz modifikaciju permeabiliteta hemato-retinalne barijere (upotrebom histamina, agonista bradikinina i VEGF) i ono što je najbezbednije dati lek lokalno.

Lokalna aplikacija podrazumeva:

-Administracija leka u vidu kapljica, kojom lek prodire u oko transkornealnim i transkonjunktivalnim putem. Transkornealni put podrazumeva da u kapljicama aplikovan lek ima i hidrofилne i hidrofobne osobine kako bi imao mogućnost transkornealnog prolaska, jer hidrofobni stromu kornee okružuju dva hidrofилna sloja epitel i endotel kornee. Lek dospeva u prednju komoru, potom preko korena irisa u zadnju komoru i zadnji segment oka, kao i direktno preko pars plana Transkonjunktivalno lek može dospeti do sklere i lateralnom difuzijom preko horoidee, Bruhove membrane i sloja ćelija RPE dospeti do retine, delimično lek aplikovan u konjunktivalni saku preko duktusa

nazolakrimlisa može se resobovati i ispoljiti svoj efekat preko prisustva u cirkulaciji (101).

-Periokularna primena lekova, koristi transkleralni put resorbovanja i veoma efikasno dospeva do zadnjeg segmenta oka. Na ovaj način su sistemski neželjeni efekti umanjeni s jedne strane, a izbegavaju se neželjeni efekti intravitrealne aplikacije.

-Intravitrelna primena lekova je daleko najefikasniji put aplikacije leka, sistemski efekti leka svedeni su na minimum, ali se pojavljuje mogućnost komplikacija na okularnim tkivima kao posledica same intravitrealne inekcije (ruptura retine, ablacija, hemoragija staklastog tela, lezija sočiva, endoftalmitis, pseudoendoftalmitis-uveitis), kao i komplikacije vezane za sam lek (kod korikosteroida skok intraokularnog pritiska, ubrzani razvoj katarakte). Potreba za ponavljanjem terapije dovela je do konstruisanja novog sistema intravitrealnih implanata koj sadrže lek sa sporoopuštajućim svojstvima, čime se postiže ciljana koncentracija i produženo delovanje leka.

1.4.2.1. Nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL)

Ovi lekovi deluju kao inhibitori enzima ciklooksigenaze i na taj način inhibišu produkciju prostaglandina. Prostaglandini nastaju kao razgradni produkti arahidonske kiseline nastale iz membranskih ćelijskih lipida putem dejstva ciklooksigenaze (102). Prostaglandini (PGE₂, PGD₂, PGF₂ PGI₂, TXA₂,TXB₂) učestvuju u regulaciji lumena krvnih sudova, permeabiliteta i agregaciji trombocita -prostaciklin/tromboxan. U visokim dozama diklofenak natrijum inhibiše produkciju leukotrijema čime utiče na ćelijsku infiltraciju u toku inflamatornog odgovora (103). Nesteroidni antiinflamatorni lekovi utiču na kretanje jona hlorida Cl⁻, samim tim i tečnosti preko sloja RPE (104). U brojnim studijama potvrđena je klinička efikasnost lokalno primenjenih NSAIL kako u prevenciji tako i u terapiji CME pre svega inflamatorne etiologije, naročito uslovljene operacijom katarakte (105).

1.4.2.2. Kortikosteroidi

Lečenje DME uz pomoć kortikosteroida se vrši uz lokalnu primenu leka: kapljicama, u vidu peribulbarnih/ subtenonskih inekcija kao i intravitrealnih inekcija. Kortikosteroidi-

KS novije generacije imaju i do 25 puta intenzivniju aktivnost u odnosu na kortizol. Novi sintetski kortikosteroidi koji se koriste u oftalmologiji su: triamcinolone, deksamethasone i fluocinolone acetonide, na osnovu fluora na 9 α poziciji imaju povećani afinitet za receptore preko kojih deluju (106)

Kortikosteroidi ostvaruju svoje delovanje preko inhibicije enzima fosfolipaze A2, na taj način blokira se razgradnja i metabolizam arahidonske kiseline i produkcija kako prostaglandina tako i leukotrijena. Time se ostvaruje anti inflamatorni uticaj (inhibicija leukocitne hemotakse), redukcija vaskularnog permeabiliteta i angiostatsko delovanje (107).

Kortikosteroidi učestvuju u modeliranju inflamatornih medijatora i angiogeničnih citokina, što je potvrđeno brojnim in vitro modelima (108,109,110). Smanjenje makularnog edema se može registovati već 1h nakon intravitrealno date injekcije triamcinolon acetona što se može potvrditi OCT-om. Ovako brzom delovanju doprinosi direktno dejstvo KS na restauraciju hemato-retrinalne barijere i modulaciju membranskih kanala (111,112).

Kortikosteroidi utiču na edem makule brojnim mehanizmima. Kortikosteoidi inhibiraju adheziju lekocita na endotelne ćelije i njihovu interakciju, samom tim umanjuju oštećenje hemoretinalne barijere preko inflamatornih medijatora (113). Triamcinolon acetamid dokazano redukuje ekspresivnost matrix metaloproteaza i ima uticaj na intercelularni adhezioni molekul 1 na horoidalnim endotelnim ćelijama (113). Kortikosteroidi doprinose jačanju barijere smanjnjem fosfrilacije okludina. (114). Kortikosteroidi deluju na edem i preko supresije dejstva VEGF preo inhibicije ekspresije VEGF gena, kao i preko inhibicije VEGF produkcije od strane trombocitnog faktora rasta (platelet-activating factor i platelet-derived growth factor) time doprinose stabilizaciji hemoretinalne barijere (115,116). Steroidi utiču na edem preko stabilizacije barijere ali i direktnom resorpcijom tečnosti preko ćelija RPE.

Brojne studije pokazale su značajno poboljšanje DME kod primene triamcinolona intravitrealno kako strukturno tako i funkcionalno (117-121) Brojne studije predlažu da se intravitrealna aplikacija triamcinolona koristi kao dodatna terapija kod refrakternih

DME nakon laserfotokoagulacije makule kao i tokom panretinalne laserfotokoagulacije da bi se minimizovala pojava i progresija DME (122-129).

Pored pozitivnih efekata upotrebom intravitrealno kortikosteroida u lečenju DME ta korist se mora staviti u odnos sa brojnim neželjenim efektima: crvenilo oka, diskomfor, pojava mušica kao i skok intraokularnog pritiska i ubrzani razvoj katarakte (130).

Iako je potvrđena veća efikasnost intravitrealne primene triamcinolona u odnosu na peribulbarnu ili subtenonsku, ovim transsklernalnim transportom leka značajno umanjujemo rizike intravitrealne aplikacije kako komplikacije vezane za lek tako i vezane za samu intravitrealnu aplikaciju (ruptura retine, ablacija retine, vitrealno krvarenje, endoftalmitis) (131).

Zbog potrebe za ponavljanjem intravitrealnih inekcija u tretmanu DME kao jednog hroničnog problema, proizvedeni su novi sistemi - intraokularni implantati za sporo otpuštanje leka.

Iako sporo oslobađajući sistemi imaju tu prednost da zamenjuju ponovljeno davanje inekcija i veću mogućnost komplikacija sa te strane, oni daju brojne neželjene efekte samim svojim prolongiranim dejstvom.

1.4.2.3. Inhibitori karboanhidraze

Inhibitori karboanhidraze se koriste u terapiji edema makule različite etiologije dugi niz godina (132). Enzim karboanhidraza je najviše zastupljena na membranama (u funkciji bikarbonatnih kanala) apikalnih delova ćelija RPE (133). Intravenska inekcija acetazolamida snižava pH subretinalnog prostora, ta acidifikacija uzrokuje promene na novou jona i posledično transport tečnosti preko ćelija RPE, odnosno resorbovanje subretinalne tečnosti (134,135).

1.4.2.4. Inhibitori VEGF

1.4.2.4.1. O vaskularnom endotelnom faktoru rasta

VEGF je glikoprotein koji predstavlja faktor preživljavanja za endotelne ćelije (136). On je najvažniji regulator vaskulogeneze i angiogeneze, kao i veoma potentan induktor

vaskularne permeabilnosti (137,138,139). Dodatne funkcije VEGF su još pod istraživanjem a to su retinalna leukostaza i neuroprotekcija. VEGF ostvaruje svoje delovanje preko receptora na endotelnim ćelijama. Identifikovane su tri vrste receptora-tirozin kinaze : VEGFR1 ima i pozitivan i negativan efekat na angiogenezu; VEGFR2 je primarni medijator mitogenog, angiogenog i efekta na vaskularnu permeabilnost VEGF-A; VEGFR3 je medijator angiogeničnog efekta na limfne krvne sudove (136,140-143).

VEGF genska porodica obuhvata: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D i placentarni faktor rasta (placental growth factor -PIGF), koji imaju različiti vezujući afinitet za tri VEGF receptora (143,144) Najbolje izučen je VEGF-A koji je najviše uključen u okularnu patologiju, učestvuje u angiogenezi i povećava vaskularnu permeabilnost. VEGF -A je meta delovanja najvećeg broja anti VEGF agenasa (145,146).

VEGF A ostvaruje svoje delovanje preko VEGFR1 i VEGFR2 receptora, i on je jedini u okviru ove genske familije koji je indukovano hipoksijom (147). VEGF-B se selektivno vezuje za VEGFR1 i ima ulogu u regulaciji degradacije ekstracelularnog matriksa, ćelijske adhezije i migracije (146). Oba VEGF-C i VEGF-D vezuju VEGFR2 i VEGFR3 i regulišu limfangiogenezu, VEGF-C je uključen u process zarastanja rana.(143,144) PIGF selektivno vezuje VEGFR1 on je slab mitogen, ali on potencira VEGF-A indukovano proliferaciju endotelih ćelija (147).

Devet glavnih izoformi VEGF-A je indentifikovano kod ljudi: VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₄₈, VEGF₁₆₂, VEGF₁₆₅, VEGF_{165b}, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ i VEGF₂₀₆ (148). Studije su objavile da je izoforma VEGF₁₆₅ najzastupljenija i najviše ekspresionirana i da ima vitalnu ulogu u angiogenezi (149,150). Postoji i studija koja je potvrdila da izoforma VEGF₁₂₁, iako je manje zastupljena ima veći mitogeni efekat u odnosu na VEGF₁₆₅ ili VEGF₁₈₉ (151). VEGF₁₁₀ može stimulisati rast endotelih ćelija i indukovati vaskularnu permeabilnost, ali je taj mitogeni potencijal manji u odnosu na VEGF₁₆₅ (152,153).

U fiziološkim uslovima VEGF-A učestvuje u procesu vaskulogeneze to je proces „de novo“ formiranja krvnih sudova tokom embriogeneze, koji započinje diferencijacijom, proliferacijom i migracijom hemangiogeničnih matičnih ćelija uz uticaj VEGF-A i PIGF

(154,155). VEGF-A ima uticaj na preživljavanje endotelnih ćelija i u kapilarnoj regresiji kroz sinhronu apoptozu (156).

Angiogeneza je proces koji se javlja u odraslom dobu predstavlja formiranje neovaskularizacije iz već postojećih krvnih sudova. Angiogeneza se javlja kao odgovor na različite patološke nokse kao što su: ishemija i inflamacija. Angiogeneza kod odraslih se može razvijati u dva pravca, u jednom pravcu patološki: subretinalna neovaskularna membrana, reumatoidni artritis i karcinom ali i koristan efekat kao što je zarastanje rana i proces recirkulacije u miokardu nakon infarkta (146).

VEGF-A ima ključnu ulogu i procesu vaskulogeneze i angiogeneze. U toku razvoja oka, vaskulogeneza se prvo javlja u horoidei i hialoidnom sistemu, gde VEGF-A ima ključnu ulogu. VEGF-A ekspresija je važna i za abnormalnu perzistenciju hialoidnih krvnih sudova (157). Vaskularizacija retine se javlja kasnije u embriogenezi i završava se postnatalno, uz kontrolu VEGF-A i u postnatalnom periodu (158,159). VEGF-A ekspresivnost u neuroretini korelira vremenski i prostorno sa normalnom vaskulogenezom i kod ljudi i na animalnim modelima. VEGF-A biva indukovano fiziološkim stanjem hipoksije kao delom normalnog retinalnog razvoja. VEGF-A supresija bi dovela do inhibicije formiranja krvnih sudova (158,159,160).

Potvrđeno je da VEGF-A ima funkciju u održavanju endotela zrelih krvnih sudova u stanju mirovanja u tkivima odraslih pacova, i to u: srcu, bubregu, mozgu (161). VEGF-A održava normalnu trahealnu mrežu krvnih sudova kod odraslih miševa. Registrovan je gubitak kapilara nakon intenzivne VEGF inhibicije, taj efekat se neviđa nakon selektivne VEGF₁₆₄ inhibicije (162).

VEGF-A se proizvodi od strane humanih diferenciranih ćelija RPE kako in vivo tako i in vitro i može imati ulogu u signalizaciji između RPE i horiokapilarisa (163). Kod normalnih odraslih majmuna kao i miševa VEGF₁₂₁ i VEGF₁₆₅ isoforme su najviše ekspresionirane u horoidei, RPE, retini i dužici. VEGF-A je najvažniji faktor vaskularnog preživljavanja kod očiju odraslih (164). Klinička istraživanja sa VEGF-A inhibitorima pegaptanibom i ranibizumabom na ljudima nisu pokazala neželjena dejstva na normalnim krvnim sudovima retine i horoidee (165-168).

Centralna uloga VEGF-A je dokazana u patogenezi okularnih ishemijskih-neovaskularnih bolesti (169-172). Kod ljudi visok nivo VEGF-A (Izoforme VEGF₁₂₁ i VEGF₁₆₅) ekspresije je pronađen kod horoidalne neovaskularne membrane u sklopu vlažne forme degeneracije makule (169,173). Takođe intraokularni nivo VEGF-A je u korelaciji sa formiranjem novih krvnih sudova kod pacijenata sa dijabetesnom retinopatijom i drugim sličnim retinalnim ishemijskim oboljenjima kao što su venske okluzije i retinopatija prematurusa (170,174).

Osim uloge u procesu vaskulogeneze kao i angiogeneze VEGF je uključen u procese: hemotakse, inflamacije, povećanog vaskularnog permeabiliteta kao i neuroprotekciju.

VEGF preko hemotakse i leukostaze, te preko brojnim inflamatornih medijatora učestvuje u procesu sloma barijere i povećanoj propusnosti. Vaznu ulogu u tom procesu ima intercelularni adhezioni molekul-1. Receptori za VEGF su prisutni na svim inflamatornim ćelijama i trombocitima, ali te ćelije i same proizvode VEGF.

VEGF je 50 000 puta potentniji u indukciji vaskularnog permeabiliteta u odnosu na histamin, u slomu barijere: preko hemotakse, adhezije, leukostaze, sledi slom barijere uslovljen promenama na čvrstim vezama fosforilacijom proteina okludina, aktivacija protein kinaze C, indukcija fenestracije i formiranja vezikovakuolarnih organela.

U patofiziologiji DME, hronična hiperglikemija ima ključnu ulogu uzrokujući oksidativni stress i oštećenje endotelih ćelija retinalnih kapilara kao i inflamatorni odgovor (175). Sledi prekomerna ekspresija brojnih faktora rasta: VEGF, insulin-like growth factor 1, angiopoetin 1 i 2, stromal-derived factor 1, fibroblast growth factor 2 i tumor necrosis factor α , svi zajedno dovode do sloma hemoretinalne barijere u ishemičnoj retini (176). Uloga VEGF je ključna u popuštanju barijere i nastanku edema: snižava nivo proteina okludina odgovornog za čvrstinu intracelularnih veza (177), ubrzava fosforilaciju čvrstih veza protein okludina i zonula okludens 1 uzrokujući slom hemoretinalne barijere (178). VEGF aktivacijom protein kinaze C stimuliše fosforilaciju okludina što doprinosi endotelijalnom permeabilitetu (179). Slom barijere VEGF indukuje i preko azot oksida (180). Brojne radovi govore u prilog inhibitora VEGF kao važnog terapijskog modela u lečenju makularnog edema različite etiologije (181-184). U oftalmologiji u upotrebi su

sledeća antitela: Ranibizumab (Lucentis®) i Bevacizumab (Avastin®), Pegaptanib (Macugen®) selektivni VEGF aptamer usmeren selektivno prema VEGF 165 podjedinici.

1.4.2.4.2. Inhibitori vaskularnog endotelnog faktora rasta

VEGF ima centralnu ulogu u vaskularnom permeabilitetu i angiogenezi kod subretinalne neovaskularne membrne- SRNVM u sklopu senilne degeneracije makule. VEGF je važan angiogenički factor rasta u patogenezi dijabetesne retinopatije produkovan od strane ishemičnih regija retine, odgovoran je za rast patoloških krvnih sudova NVE/NVD u sklopu proliferativne dijabetesne retinopatije, takođe učestvuje u nastanku dijabetičnog edema makule uzrokujući slom hemato-retinalne barijere. Nivo VEGF u vitreusu raste proporcionalno stepenu DR, najviši je kod pacijenata sa proliferativnom retinopatijom kao i sa dijabetičnim edemom makule (170,174). Redukovanje nivoa VEGF se postiže putem uništavanja ishemičnih zona sa panretinalnom laserfokoagulacijom-LFK PRP (170). VEGF učestvuje u slomu hematoretinalne barijere, nivo VEGF je u korelaciji sa težinom DME odnosno stepenom propuštanja na FA kao i sa centralnom makularnom debljinom registrovanom putem OCT-a (185).

Decenije istraživanja o VEGF dovele su do konačnog ishoda, terapije putem inhibitora VEGF. Ovaj faktor rasta je krucijalan u procesu angiogeneze i vaskularnoj permeabilnosti u fiziološkim i patološkim uslovima. U oftalmologiji upotreba anti-VEGF u vidu intravitrealnih aplikacija započela je kod subretinalne neovaskularne membrane-SRNVM u sklopu senilne degeneracije makule, potom slede istraživanja kod makularnog edema u sklopu dijabetesne retinopatije kao i venskih okluzija centralne ili granske.

Upotrebom anti VEGF agenasa postignut je veliki napredak u lečenju vaskularnih-ishemijskih oboljenja oka. Prvi u nizu koji je dobio odobrenje od FDA- US Food and Drug Administration bio je pegaptanib natrijum (Macugen®) i to za oftalmološku upotrebu u tretmanu SRNVM. On je aptamer usmeren protiv VEGF-A₁₆₅ isoforme. Studija Cunningham-a jedna je od prvih koja ispituje uticaj Macugen-a na dijabetični makularni edem (186). Sledeći odobren lek za oftalmološku upotrbu u lečenju eksudativne forme degeneracije makule je bio ranibizumab (Lucentis®). Lek predstavlja rekombinovana humanizovana antitela-At u vidu fragmenata aktivna

protiv svih izoformi VEGF. RESOLVE studija, RESTORE studija i The Diabetic Retinopathy Clinical Research Network su ispitivale efikasnost ranibizumaba u terapiji DME.

Zabeležena je i sve veća upotreba off-label preparata u oftalmologiji bevacizumaba (Avastin®). Bevacizumab je FDA odobren ali za sistemsku upotrebu kod pacijenata sa metastazama kolorektalnog carcinoma, ali ne i za upotrebu u oftalmologiji. Navedeni inhibitori VEGF; pegaptanib natrijum, ranibizumab i bevacizumab, ostvaruju svoje dejstvo direktnim vezivanjem i inhibicijom molekula VEGF.

1.4.2.4.3 Bevacizumab (Avastin®)

Bevacizumab predstavlja rekombinovana humanizovana monoklonalna Ig G1 antitela u celini, usmerena protiv svih VEGF-A izoformi. Proizvedena DNA tehnologijom na ovarijalnim ćelijama Kineskog hrčka. Bevacizumab sadrži antitela u celini, molekulske težine 149D, dok ranibizumad sadrži samo Fb komponentu antitela i težine je 48D. Odobren od strane FDA 2004 g za primenu u vidu intravenskih infuzija kao hemoterapija u tretmanu metastatskih karcinoma kolona i rektuma. Primena bevacizumaba u oftalmologiji u vidu intravitrealnih inekcija je off-label, započeta je u tretmanu vlažne forme senilne degeneracije. Područje primene je potom prošireno na dijabetični makularni edem nakon pozitivnih rezultata studija Diabetic retinopathy Clinical research Network (187). Smatra se da manja molekulska težina ranibizumaba omogućava leku da ima bolju penetrantnost kroz retinu, dok veća molekulska težina bevacizumaba omogućava prolongirano delovanje. Veća molekulska težina je moguć razlog za duže vreme eliminacije bevacizumaba iz krvi te sa razmatraju neželjeni sistemski efekti. Bevacizumab se registruje u krvi sledećeg dana nakon aplikacije i održava se do 7 dana. Preko sloja RPE i horoidee transportuje se aktivnim transportom u cirkulaciju. Osobama sa srčanom insuficijencijom i anginom pectoris sa velikom mogućnosti za nastanak infarkta miokarda preporučuje se Macugen koji je najselektivijeg delovanja na VEGF-A izoformu 165.

Regresija neovaskularizacije-NV dužice, retine i optičkog diska, klinički i angiografski nakon intravitrealne upotrebe bevacizumaba je pokazana u velikim retrospektivnim

studijama i na velikim serijama, iako je u krajnjem ishodu pokazana ponovna reperfuzija NV na par slučajeva (188). U nekim studijama efekat na regresiju NV nakon intravitrealne primene inhibitora VEGF je dokazan kod proliferativne dijabetesne retinopatije već nakon 24h od tretmana. S toga se primena ovih lekova preporučuje preoperativno kod operacija na prednjem i zadnjem segmentu oka pacijenata sa proliferativnom retinopatijom, aktivnom neovaskularizacijom i vitrealnim krvarenjem (189,190).

Kako klinička upotreba intravitrealnih anti VEGF agenasa raste, monitoring sistemskih neželjenih efekata mora biti intenzivniji. Do danas na hiljade pacijenata je primilo serijski intravitrealne inekcije registrovanih inhibitora VEGF u kontrolisanim kliničkim studijama, bez povećanog rizika u sistemskim neželjenim efektima bez obzira na agense. Sistemski bezbednost nakon intravitrealnog davanja bevacizumaba još nije ustanovljena, ali je zasada bez poznatih ozbiljnih neželjenih efekata tokom izvedenih studija (191,192). Poznati su neželjeni efekti leka kada se primenjuje u visokoj dozi u vidu infuzija i to kombinovan sa 5-fluorouracilom svake 2 nedelje kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom, uočena je veći rizik za hipertenziju i tromboembolijski rizik koji uključuje infarkt miokarda kao i cerebrovaskularni incident. Meta-analiza je utvrdila da kod pacijenata sa karcinomom koji su primili hemoterapiju i bevcizumab postoji povećan rizik u odnosu na one koji su primili samo hemoterapiju (za cerebrovaskularne incidente 1,9% vs 0,5% za kardiovaskularne 2,1% vs 1,0%) (193). U jednoj maloj seriji pacijenata tretiranih intravitrealno bevacizumabom zbog postojanja SRNVM, blaga hipertenzija je bila jedini neželjeni sistemski efekat (194). Brojne studije analizirale su i nisu utvrdile postojanje okularne toksičnosti nakon upotrebe bevacizumaba upotrebljenog u standardnoj terapijskoj dozi (195-199). Istraživanja su prvobitno bila in-vitro na okularnim ćelijskim kulturama, potom in-vivo na zečevima vršena su elektrofiziološka testiranja u cilju provere toksičnog uticaja, potom na ljudima nakon intravitrealne upotrebe bevacizumaba u toku kliničkog rada beleženi su neželjeni efekti.

International Intravitreal Bevacizumab Safety Survey, studija koja je ispitivala neželjene efekte pri primeni off-label preparata bevacizumaba prilikom intravitrealnog davanja, utvrđeno je da nema većeg sistemskog rizika pri upotrebi ovog leka u odnosu na rizik

koji postoji od navedenih stanja koji postoji inače u populaciji starijih ljudi i obolelih od dijabetesa. Neželjeni efekti koji su registrovani većinom su bili poznati, očekivani i uglavnom vezani za samo davanje intravitrealnih inekcija (sufuzija, erozija, lezija sočiva...) (130).

Čak je i broj prijavljenih neželjenih efekata vezano za samo davanje inekcije znatno niži u odnosu na jednogodišnju studiju na pacijentima sa degeneracijom makule tretiranih Pegaptanibom (168). Takođe, broj slučajeva sa intraokularnom inflamacijom je bio niži u odnosu na one tretirane ranibizumabom u fazi I/II studije (200). Ovi rezultati ukazuju da je intravitrealna primena bevacizumaba bezbedna u nekom kraćem trajanju praćenja.

1.4.2.4.4 Drugi inhibitori VEGF i njima srodni lekovi

VEGF Trap-Eye, aflibercept (Eylea®) solubilni VEGF receptor, 115 KD, to je rekombinovani fuzioni protein koji sadrži deo 1 i 2 VEGF receptora i Fc fragment humanog IgG, vezuje sve VEGF-A izoforme sa većim afinitetom u odnosu na druge anti VEGF lekove (201). Osim svih VEGF, VEGF-Trap vezuje i placentarni growth factor 1 i 2 koji je takodje doprinosi vaskularnom permeabilitetu. Zbog dužeg poluvremena života u oku, kao i zbog snažnijeg afiniteta vezivanja može aplikovati u veoma malim dozama i sa većim razmacima (202,203). VEGF Trap-Eye je pokazao dobre rezultate u tretmanu DME nakon samo jedne intravitrealne inekcije od 4mg (204).

Bevsirinab predstavlja molekule koji inaktiviraju mRNA VEGF tako da je suprimirana produkcija VEGF (205,206,207). U toku je faza II ispitivanja njegove efikasnosti na DME (208).

Infliximab antitelo usmereno protiv tumor necrosis factora α . koristi se intravenski u sistemskim inflamatornim oboljenjima, analizirana je njegova efikasnost kod uveitisa u kliničkim studijama (209,210) Na animalnim modelima ispitana je njegova bezbednost prilikom intravitrealnog davanja (211). Trenutno se analizira efikasnost ovog leka na pacijentima sa dijabetičnim edemom makule i vlažnom formom degeneracije makule.

Farmakološka vitreoliza, predstavlja intravitrealnu aplikaciju lekova-enzima koji će hemijskim putem dovesti do razlaganja čvrste veze posteriorne hialoidee sa unutrašnjom

limitantnom membranom (farmakološki podstaknuto zadnje odlubljenje vitreusa), time makula biva oslobođena patološke vitremakularne trakcije i trakcioni edem makule se smanjuje (212,213).

Iako su inhibitori VEGF ušli u upotrebu u oftalmologiju pre 10 godina i postigli izvanredne rezultate, oftalmolozima ostaje još uvek puto nejasnih pitanja, dužina davanja, režim davanja, kombinovani tretmani, neželjeni efekti kod prolongirane upotrebe lokalni i sistemski. Svakako će dovoljno duga upotreba dati brojne odgovore. Ali pored kliničkih iskustava potrebno je poznavati biologiju VEGF, gensku osnovu, izoforme, fiziološku ulogu VEGF u razvoju i u odraslom dobu, ulogu VEGF kod oftalmoloških bolesti, različite terapijske mehanizme postojećih i novih VEGF agenasa i bezbednost kod njihove primene (214).

1.4.3. Hirurška terapija

1.4.3.1. Laserfotokoagulacija

ETDRS naglašava da je aplikacija lasera indikovana ukoliko je edem makule klinički signifikantan (215). Pored pregleda biomikroskopom-špalt procepnom lampom, uz pomoć lupe od 90 ili 68 dioptrija, preporučuje se upotreba fluoresceinske angiografije koja je neophodna za procenu vrste edema i samim tim predstavlja putokaz za laser tretman. Iako je u dijagnostici DME i određivanju njegovog tipa FA neprevaziđjena, upotreba OCT-a je sve veća, ne samo u praćenju već i u dijagnostici jer može otkriti edem u njegovoj ranijoj fazi (216,217). Ove dve metode su komplementarne i preporučuju se obe u dijagnostici, a u praćenju terapijskog efekta primenjenih metoda na edem preporučuje se OCT kao neinvazivna metoda.

Laserska svetlost zavisno od talasne dužine se absorbuje u raznim pigmentima retine: ksantofil (nalazi se u spoljnim i unutrašnjim slojevima retine), melanin (u ćelijama RPE i melanocitima horoidee) i hemoglobin (nalazi se u retinalnim i horoidalnim krvnim sudovima). Dva različita mehanizma dejstva lasera se opisuju - direktni i indirektni. Direktni tretman mikroaneurizmi koje su u centru fokalnog edema dovodi do tromboze, njihovog zatvaranja i prestanka curenja "leakage" što je uslovljeno absorpcijom laserske energije od strane hemoglobina. Indirektni tretman u vidu grida makule ostvaruje se na

taj način što laserskom destrukcijom spoljnih retinalnih slojeva, RPE i horiokpilarisa, dolazi do značajnog poboljšanja oksigenacije, direktnom difuzijom iz horiokpilarisa preko formiranih laser oziljaka do unutrašnje retine (218). Redukovno tkivo retine ima i manje zahteve za kiseonikom (219). Grupa autora naglašava da pored bolje retinalne oksigenacije, laserski tretman indukuje autoregulatornu vazokonstrikciju makularnih arteriola i venula što redukuje vaskularni protok i utiče na resorbovanje makularnog edema (220). Laserfotokoagulacija utiče na spoljnu hematoretinalnu barijeru delujući na RPE, dolazi do remodeliranja i indukcije citokina koji neutrališu efekat VEGF (221-225). Uprkos brojnim razmatranjima o talasnoj dužini lasera i efikasnosti, nije uočena signifikantna razlika u odnosu na lasere koji se primenjuju (žuti, zeleni i infracrveni).

Fokalni tretman mikroaneurizmi u centralnom delu fokalnog edema se preporučuje kod edema koji se nalazi u zoni od 500 μm od centra fovee, to znači da se radi o klinički signifikantnom edemu. Aplikacija lasera se vrši upotrebom spota malih dimenzija 50-100 μm , dužine trajanja 0,1 ms, sa minimalnom snagom dok se ne vidi reakcija mikroaneurizmi (zatamnjenje ili rasvetljenje). Primenjena snaga svakako zavisi od prisustva katarakte, zamućenja staklastog tela i pigmentacije retine. Tretman mikroaneurizmi se vrši do 750 μm od centra fovee. Ponovni tretman se vrši nakon 3 do 4 meseca ukoliko predhodni nije doprineo poboljšanju prema FA u sklopu tretmana paziti da se ne uništi perifereovealna kapilarna mreža.

Ukoliko je broj mikroaneurizmi veliki i edem više difuznog karaktera tada se savetuje grid laserfotokoagulacija. Grid se vrši sa spotom malih dimenzija 50,100,200 μm , trajanja 0,1-0,2 ms, sa minimalnom energijom obično oko 100 mW da se postigne minimalno beličasto-sivkasto rasvetljenje, u vidu rešetke sa razmakom veličine jednog spota između dva spota. Svakako tokom tretmana se energija menja u zavisnosti od zadebljanja, više edematozni delovi zahtevaju veću energiju da bi se ostvario isti učinak na retinu. Ovakav vid laser tretmana u vidu rešetke do fovealne avaskularne zone može se vršiti i u predelu papilo-makularne regije do 500 μm od PNO i obuhvata celokupni predeo unutar arkada. Treba izbegavati direktnu aplikaciju lasera preko većih intraretinalnih hemoragija, naročito ukoliko se aplikuje žuti ili zeleni laser, jer prevelikom absorpcijom od strane hemoglobina može doći do oštećenja unutrašnje limitantne membrane i sloja

nervnih vlakana. Plavi i plavo zeleni laser se ne preporučuju u tretmanu DME jer je njihova absorpcija najveće od strane ksantofila koga ima najviše u makuli, te se mora koristiti sa malom energijom i malim trajanjem. Crveni i infracrveni laser se preporučuju kod osoba sa kataraktom, kripton crveni i infracrveni diodni se mogu koristiti ali uz minimalnu energiju. Ponovni tretman se preporučuje tak nakon 3 do 4 meseca na osnovu FA. Grupa autora (226,227,228) preporučuje modifikovani laser grid fotokoagulaciju koja podrazumeva grid tretman difuznog edema uz dodatni fokalni tretman mikroaneurizmi naročito perifovealne regije.

Postoje brojne komplikacije standardnog laser tretmana makule, veoma često je prisustvo paracentralnog skotoma koje nastaje slivanjem parafovealnih laser pečata, naročito ukoliko je došlo do prevelike absorpcije usled korištenja plavo-zelenog argon lasera. Nenamerni laser pečat u samoj fovei usled nesaradnje pacijenta ili neraspoznavanja same fovee koja je izmenjena prisustvom edema, u lokaciji fovee može pomoći kobaltni plavi filter zbog selektivne absorpcije plave svetlosti od strane makularnog ksantofila. Ruptura Bruhove membrane sa posledičnim krvarenjem i mogućim razvojem horoidalne neovaskularizacije, može nastati usled fokalnog tretmana mikroaneurizmi, obično spotom malih dimenzij, kratkog trajanja a velike snage. Epiretinalna fibroza retko nastaje i to najčešće intenzivnim tretmanom aplikacijom lasera preko preretinalnih i intraretinalnih hemoragija. Česta komplikacija je subretinalna fibroza koja je nepredvidiva i po vid veoma opasna komplikacija koja takođe proizilazi iz ekscesivnog tretmana, nastaje usled fibrozne metaplazije RPE-a usled rupturirane membrane Bruch, takođe se povezuje sa prisustvom plakova tvrdih eksudata (229). Širenje ožiljka, odnosno progresivna subretinalna fibroza se danas viđa sve ređe uvođenjem modifikovanih tretmana koji podrazumevaju manju snagu, kraće trajanje laser spota itd (230,231)

„Light“, subthreshold, minimalno invazivni laser tretman u terapiji DME, predstavlja aplikaciju jedva vidljivih, beličastih laser pečata, što je postignuto upotrebom minimalne snage. Bandelo je u svojoj studiji na 29 očiju ustanovio da je light laser tretman u odnosu na konvencionalni jednako efikasn u redukciji makularne debljine i poboljšanju vidne oštine (219). Nakon toga novinu predstavlja mikropulsni „subthreshold nonvisible“ mikropulsni laser-laserska iradijacija, u vidu serije-mikropulseva koji ne ostavlja vidljiv

trag na retini, minimalna invazivnost je povezana sa minimalnim neželjenim efektima na okolnu retinu (232). Pattern Scan Laser (Pascal) je Nd:YAG diodni solidni laser talasne dužine od 532 nm, on u istom aktu oslobađa multiple laser spotove u zadanom rasporedu (pojedinačni spot, lučni raspored, trostuki luk, kvadrant, macular grid..). Osim izabranog rasporeda, oftalmolog-retinolog bira broj spotova, razmak, dužinu trajanja, energiju, ovaj tretman je minimalno invazivan, predstavlja manju neprijatnost za pacijente, i uštedu vremena za lekara.

U novije vreme napredak u laser tretmanu ostvaruje se sve većom redukcijom enegije odnosno dužine trajanja pulsa, a samim tim i destruktivnog dejstva lasera na tkivo retine.

1.4.3.2. Pars plana Vitrektomija

Još od 1992 godine objavljuvani su radovi koji govore u prilog tome da je pp Vitrektomija sa odvajanjem zadnje hialoidne membrane korisna u rešavanju trakcionog dijabetičnog makularnog edema (233, 234, 235). Pendergast je u studiji od 55 očiju prikazao rezultate pp Vitrektomije u lečenju trakcionog DME u praćenju od 23 meseca 49% su poboljšali vidnu oštrinu za dva reda, 42% su imali stabilnu vidnu oštrinu i 9% pad vidne oštrine. Rezultati su uvek bolji ukoliko je hiruška intervencija u ranoj fazi. Spominje se koristan uticaj pp Vitrektomije u lečenju DME koji nije traktione prirode pri čemu se naglašava važan uticaj pilinga unutrašnje limitantne membrane, kako bi se obezbedila bolja oksigencija tkiva kao i smanjena koncentracija VEGF u vitreusu njegovim odstranjnjem. Randomizirane studije koje su obrađivale ovaj problem nisu potvrdile signifikantnost u porastu vidne oštrine i redukciji makularne debljine navedene hiruške procedure u odnosu na konvencionalni laser tretman (236-240).

2. CILJEVI I HIPOTEZE

Ciljevi istraživanja:

1. Praćenje terapijskog efekta intravitrealno aplikovanih inhibitora VEGF samostalno ili uz kombinaciju sa laserom na smanjenje dijabetičnog makulanog edema preko praćenja centralne debljine makule merene optičkom koherentnom tomografijom u μm .
2. Praćenje terapijskog efekta intravitrealno aplikovanih inhibitora VEGF samostalno ili uz kombinaciju sa laserom u funkcionalnom ishodu, na osnovu promene u vidnoj oštini
3. Ispitati uticaj laserfotokoagulacije u vidu samostalnog tretmana na dijabetični makularni edem u odnosu na centralnu makularnu debljinu kao i u odnosu na vidnu oštrinu
4. Upoređivanje efikasnosti farmakološkog tretmana dijabetičnog edema makule primenom inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta samostalno, kombinovanog tretmana primenom inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta i lasera i konvencionalnog tretmana primenom laserfotokoagulacije samostalno

Radne hipoteze:

1. Inhibitori vaskularnog endotelnog faktora rasta aplikovani intravitrealno samostalno ili u kombinaciji sa laserom značajno dopinose smanjenju dijabetičnog edema makule, odnosno redukciji centralne makularne debljine u μm .
2. Inhibitori vaskularnog endotelnog faktora rasta aplikovani intravitrealno samostalno ili u kombinaciji sa laserom dovode do značajnog porasta u vidnoj oštini izraženo u log MAR jedinicama
3. Konvencionalni tretman u vidu laserfotokoagulacije makule samostalno izveden, dovodi do stabilizacije stanja makule, ali bez značajnije redukcije debljine makule i poboljšanja vidne oštine

4. Tretman dijabetičnog edema makule u vidu intravitrealne aplikacije inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta samostalno ili uz laser u sklopu kombinovanog tretmana je značajno efikasniji od konvencionalnog tretmana samo laserom

3. MATERIJAL I METODE

Ovo istraživanje je sprovedeno kao prospektivna, nasumična, klinička studija. Istraživanje je sprovedeno na Klinici za očne bolesti, Kliničkog Centra Vojvodine u Novom Sadu od marta 2012 do decembra 2013. godine. Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Kliničkog centra Vojvodine i od strane Etičke komisije Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu. Od ukupno 121 pacijenta, 101 je uključeno u studiju, 20 isključeno zbog nepotpune dokumentacije. Pacijenti uključeni u studiju su praćeni minimalno 6 meseci. Praćen je efekat inhibitora VEGF (bevacizumaba, Avastin®) aplikovanog intravitrealno u cilju redukcije dijabetičnog makularnog edema, rezultati su poređeni sa efektom konvencionalnog tretmana laserfotokoagulacijom na edem makule.

3.1. Ispitanici

U eksperimentalnoj grupi praćeni su pacijenti (51 pacijent, 84 tretirana oka) sa različitim stepenom DME i DR, tretirani intravitrealnom aplikacijom inhibitora VEGF sa ili bez aplikovanog lasera. Efekat lečenja je praćen na kontrolnim pregledima nakon 1, 3 i 6 meseci.

U kontrolnoj grupi praćeni su pacijenti (50 pacijenata, 92 tretirana oka) koji su tretirani na konvencionalni način laserfotokoagulacijom makule po tipu grida uz ciljani laser tretman perifovealnih mikroaneurizmi (fokal/grid). Praćenje je bilo nakon 1, 3 i 6 meseci.

Faktori uključanja u studiju:

- Pacijenti koji su imali simptome: pad vidne oštine i/ili metamorfoze
- Pacijenti sa različitim stepenom DR i DME koji zahvata foveu odnosno klinički signifikantnim edemom – CSME
- Fluoresceinskom angiografijom potvrđen difuzni edem makule sa ili bez cistoidnog edema sa zahvatanjem fovee
- OCT-om potvrđen difuzni i/ili cistoidni edem sa minimalno 300 mikrona CMT
- Odsustvo tvrdih lipidnih eksudata u vidu plaka u subfovealnom predelu

- Bez prethodnog tretmana inhibitorima VEGF i kortikosteroida intravitrealno i parabolbarno
- Bez predhodnih laser tretmana
- Bez drugih očnih oboljenja
- Bez predhodnih oftalmoloških operacija

Faktori isključenja iz studije:

- Vidna oštrina 1,0
- Pacijenti bez subjektivih smetnji
- Prisustvo fokalnog edema koji nije klinički signifikantni
- OCT prikaz edema sa centralnom makularnom debljinom manjom od 300 mikrona
- Plak tvrdih lipidnih eksudata u samoj fovei
- Proliferativna dijabetična retinopatija- PDR, visokog rizika- “high risc” ili uznapredovala “advance” koja nakon tretmana makule, zahteva hitnu panretinalnu laser fotokoagulaciju, kao i svi slučajevi praćeni krvarenjem u postor staklastog tela
- Prisustvo drugih oboljenja oka koji mogu uticati na vidnu oštrinu: od oboljenja zadnjeg segmenta oka: oboljenja makule (distrofije, degeneracije), venske/arterijske okluzije, horioretinitisi, visoka miopija; oboljenja prednjeg segmenta: centralni leukomi rožnjače, značajna katarakta.
- Prethodni tretman kortikosteroidima intravitrealno i parabolbarno
- Predhodni laser tretman makule

- Faktor isključenja za pacijente koji bi potencijalno trebali da prime bevacizumab jeste i skorašnji infarkt miokarda-IM kao i inzult-ICV kao i neregulisana arterijska hipertenzija, te bi u tom slučaju pacijenti bili tretirani samo laserom.
- Trudnoća i laktacija

*Kontrolnu grupu čine pacijenti tretirani samo laserom, oni nisu bili tretirani inhibitorima VEGF iz sledećih razloga: nisu želeli da prime lek, lek u pojedinim periodima istraživanja lek nije bio dostupan na klinici, pacijenti su zbog prisustva sistemskih faktora rizika bili rizični za primanje VEGF (IM ili IVC u poslednjih 6 meseci).

3.2. Metod

Pacijenti sa dijabetičnom retinopatijom i dijabetičnim makularnim edemom su redovno zakazivani na konsultativni pregled specijalisti za zadnji segment oka na polikliniku Klinike za očne bolesti, Kliničkog centra Vojvodine. Upućivani su od strane nadležnih oftalmologa iz primarnih i sekundarnih zdravstvenih centara radi dijagnostike i terapije.

Pregled pacijenata je započinjao uzimanjem anamneze. Oftalmološka anamneza odnosila se na glavne tegobe, najčešće pad vida - nagli ili postepeni, od kada tegobe datiraju, da li su prisutne na jednom ili oba oka, prisustvo krivljenja slike - metamoropsija. Ranije oftalmološke bolesti: prisustvo slabovidosti, nošenje korekcije, upale, povrede, operacije oka kao i predhodni laser tretmani. Anamneza osnovne bolesti: koliko dugo pacijent boluje od dijabetesa, da li je na djeli, peroralnim antidijabeticima i/ili insulinu. Dužina trajanja insulinske terapije. Stepem metaboličke kontrole, registrovane su vrednosti ŠUK-a i vrednost HbA1c. Registrovano je i prisustvo drugih faktora rizika: arterijske hipertenzije, hiperlipoproteinemije, nefropatije i proteinurije, anemije, gojaznosti.

Oftalmološki pregled je podrazumevao uzimanje vidne oštine uz pomoć Snellen-ovih tablica, naturalno, najbolje korigovane, kao i vidne oštine na blizinu. Vidna oština po Snellenu je prevedena u logaritamski izraz minimalnog ugla rezolucije, log MAR jedinice (**L**ogarithm of the **M**inimum **A**ngle of **R**esolution). Ova konverzija je vršena prema tablici prikazanoj u Prilogu 1. Vršena je radi mogućnosti analize i komparacije rezultata sa rezultatima drugih autora, je način prikazivanja vidne oštine na ovaj način

prihvaćen na internacionalnom nivou. Određvan je intraokularni pritisak-IOP, aplanacionom tonometrijom po Goldmanu. Pregled prednjeg segmenta oka vršen je biomikroskopom firme Haag-Streit, Švajcarska. Notirane su promene na prednjem segmentu oka od značaja, kao što je rubeoza dužice, prisustvo sinehija, mogućnost širenja zenice, prisustvo katarakte i njena uznapredovalost. U slučaju povišenog IOP-a i/ili videne rubeoze rađena je gonioskopija da bi se analizirao iridokornealni ugao kao i prisustvo neovaskularizacije ugla. Medicinska midrijaza je postignuta kombinovanim ukapavanjem kapljica tropikamid 0,5% i fenilefrin 10%. Nakon postignute midrijaze očno dno je analizirano na biomikroskopu bezkontaktnom indirektnom oftalmoskopijom uz pomoć lupe od 90 D firme Volk Optical, SAD, kao i kontaktnom indirektnom oftalmoskopijom panfundoskopskom firmi Haag-Streit, Švajcarska. Registrovan je stepen dijabetesne retinopatije prema internacionalnoj klasifikaciji kao i prisustvo klinički značajnog edema makule. Nakon osnovnog pregleda pacijent je upućivan na kontrastno snimanje, fluoresceinsku angiografiju.

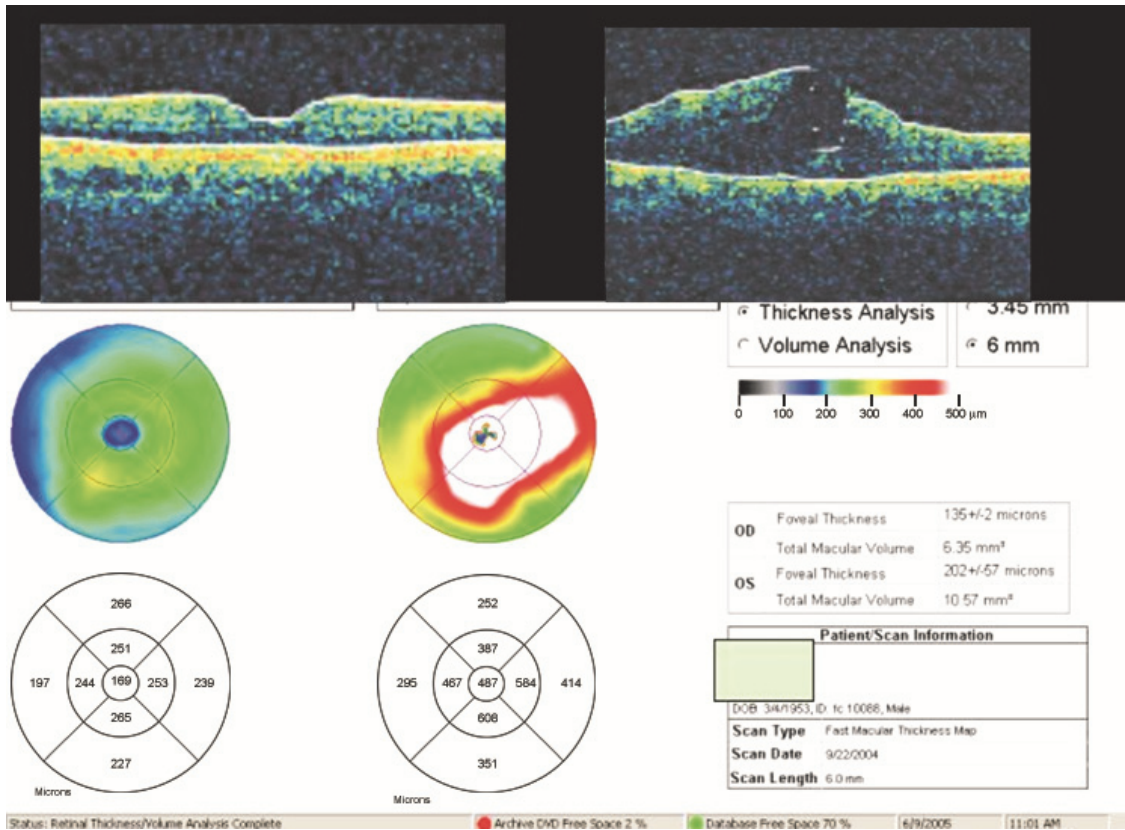
Fluoresceinska angiografija je rađena na poliklinici, snimanje je vršeno digitalnom fundus kamerom Visucam, firme Carl Zeiss, Meditec, Nemačka. Snimanje je vršeno pre lečenja u cilju postavljanje dijagnoze i određivanja terapijskog modela, kao i na kraju lečenja. Nakon postignute medicinske midrijaze uzimaju se prvo kolor fotografije oba fundusa, potom fotografije u zelenom svetlu „red free“, nakon toga se preko plasirane braunile aplikuje 5ml 10% fluoresceina. Uzimaju se kontrastne fotografije frekventno u prvih 5 minuta a potom posle 20 minuta vrši se snimanje kasne faze. Pacijent se nakon snimanja još neko vreme zadržava i nakon utvrđenog dobrog opšteg stanja odnosno odsustva alergijske reakcije, otpušta kući uz obaveštenje o daljim dijagnostičkim i terapijskim procedurama.

U cilju objektivizacije i praćenja edema, vršena je optička koherentna tomografija – optical coherence tomography - OCT. OCT je imao važnu ulogu prilikom procene uključenja pacijenata u studiju kao i praćenju efekta terapije na svakom kontrolnom pregledu. Korišćen je aparat proizvođača Carl Zeiss Meditec, SAD model “Stratus” sa mogućnošću memorije i analize promene u odnosu na vreme odnosno primarnog i kontrolnih snimaka (Slika 1).



Slika 1. Aparat za optičku koherentnu tomografiju

Korišćen je program „fast macula“ ili „fast macula thicknes map“, što podrazumava 6 radijalnih skenova snimljenih preko proširene zenice od strane jednog retinologa. Registrovana je centralna makularna debljina (central macular thicknes- CMT) u okviru 1mm centralne retine, izražavana je u mikronima uz varijaciju odnosno odstupanje koju pokazuju okolna standardna polja (Slika 2).



Slika 2. Prikaz snimka makule putem optičke koherentne tomografije

Pacijenti eksperimentalne grupe su radi intravitrealne aplikacije bevacizumaba bili primani na jednodnevno bolničko lečenje u zakazanom terminu. Aplikacija leka je vršena u operacionoj sali u strogo sterilnim uslovima. Priprema pacijenata je tekla na sledeći način: medicinska midrijaza je postignuta ukapavanjem tropikamida i fenilefrina, dezinfekcija konjunktivalne vreće je vršena ukapavanjem sterilnog povidon jod 1% rastvora, dezinfekcija okoline oka vršena je prebrisavanjem kože 10% rastvorom povidon joda, lokalna anestezija postignuta je ukapavanjem kapljica tetrakain 1%. Hirurg je pripremljen oblačenjem kape, maske i kaljača i nakon hiruškog pranja ruku 2x po 3 minuta penom 7,5% povidon jodom, oblačen je sterilni mantil kao i sterilne hiruške rukavice. Bevacizumab je predhodno pripremljen navlačenjem u sterilne insulinske špricave u količini od 0,5ml pri čemu je to sadržaj od 1,25 mg aktivne supstance. Aplikacija vršena je pod kontrolom operativnog mikroskopa na 4mm od limbusa u

predelu pars plana cilijarnog tela sa iglom promera 27G. Nakon datog leka intravitrealno, pacijentu su dobijali subkonjunktivalnu injekciju kombinaciju gentamicina od 10mg i deksametazona od 4mg. Radi prevencije infekcije i inflamacije pacijentima je savetovano ukapavanje kapljica kombinacije tobramicina i deksametazona (TobraDex[®]) 7 dana od aplikacije kao i diklofenak Na (Uniklofen[®]), nesteroidni antiinflamatorni lek, mesec dana, do naredne kontrole.

Prva kontrola je vršena sledećeg dana radi uočavanja ranih komplikacija koje su notirane u poseban obrazac, sledeća kontrola je usledila nakon mesec dana od aplikacije leka. Određivana je vidna oštrina najbolja korigovana, pregledan fundus u midrijazi i urađeno je snimanje makule OCT-om. Ukoliko je bilo potrebno usledila je druga aplikacija leka nakon 4 do 6 nedelja od predhodne, kao i treća i četvrta. Nakon farmakološkog dela lečenja aplikovan je laser po principu fokal/grid. Cilj je bio smanjenje edema, odnosno redukcija centralne makularne debljine ispod 300 mikrona, što približnije normlnim vrednostima.

Pacijenti kontrolne grupe, nakon detaljnog oftalmološkog pregleda i dopunskih dijagnostičkih metoda pre svega fluoresceinske angiografije, su tretirani laserski. Laserfotokoagulacija se izvodi ambulantno u laser kabinetu polikliničkog dela Klinike za očne bolesti, KCV. Nakon pripreme pacijenta koja obuhvata postizanje medicinske midrijaze i ukapavanjem lokalnog anestetika, laserfotokoagulacija je vršena preko kontaktnog stakla – panfundoskopom i kontaktnog gela – metilceluloza. Tretman fokal/grid makule se vrši laserskim spotom od 50-100 mikrona intervalom 100 ms i snagom od $100 \pm \text{mW}$. Fokalni tretman podrazumeva direktan tretman mikroaneurizmi, grid tretman podrazumeva aplikaciju lasera po tipu rešetke sa razmakom od 1 laser spota. Nakon aplikovanog lasera pacijenti su ukapavali kapljice diklofenak Na, mesec dana. Kontrolni pregledi vršeni su nakon 1, 3 i 6 meseci. Praćena je najbolja korigovana vidna oštrina i centralna makularna debljina.

3.3. Statistička obrada

Podaci su sakupljeni lično od strane pacijenata, beleženi u specijalne formulare (Prilog 2), a potom unošeni u bazu podataka Microsoft Office Excel 2007 na personalnom računaru. Statistička analiza rađena je pomoću statističkog paketa Statistika 12. Srednje vrednosti podataka su poređene uparenim *t*-testom sa rizikom od 5%. Ovaj test je prirodan odabir za dato istraživanje, jer se porede vrednosti za svakog pacijenta pojedinačno u raznim fazama lečenja. Dodatno, srednje vrednosti podataka datih u više grupa su poređene metodom analize varijansi (ANOVA). U okviru ANOVE korišćeni su Tukey-ev i Duncan-ov test na nivou značajnosti $p < 0,05$.

4. REZULTATI

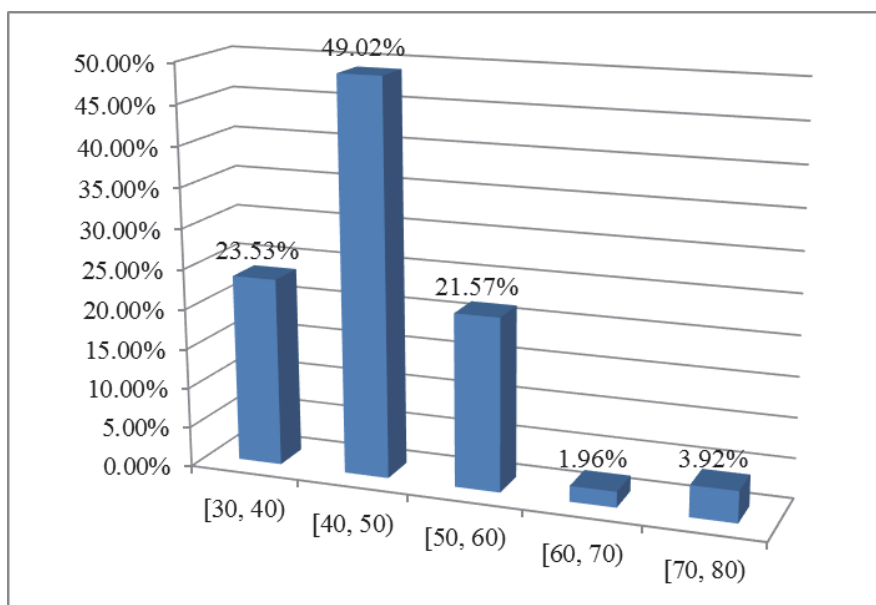
U studiju je bio uključen ukupno 121 pacijent, isključeno je 20, a obrađeni su podaci za 101 pacijenta. Pacijenti su podeljeni na dve grupe, grupu a) čine 51 pacijent sa 84 tretirana oka, oni su tretirani intravitrealno aplikovanim bevacizumabom sa ili bez leser tretmana makule; grupu b) čine 50 pacijenata, 92 oka tretirana konvencionalno leserfotokoagulacijom.

4.1. Opšti podaci pacijenata eksperimentalne grupe

Eksperimentalnu grupu čini ukupno 51 pacijent, sa 84 tretirana oka, sa kompletnim podacima i praćenjem od minimalno 6 meseci. Prosečna starost pacijenata sa dijabetičnom retinopatijom i dijabetičnim makularnim edemom u prvoj grupi iznosi 62 godine, a kretala se od 33 do 77 godina (Tabela 1). Po starosnim kategorijama najviše pacijenata (49%) je bilo u starosnoj kategoriji od 40 do 50 godina života (Grafikon 2).

Tabela 1. Prosečna starost pacijenta eksperimentalne grupe

starost pacijenta (godine)	
sr.vred. ±st.odst.	62,03±8,81
min	33
max	77



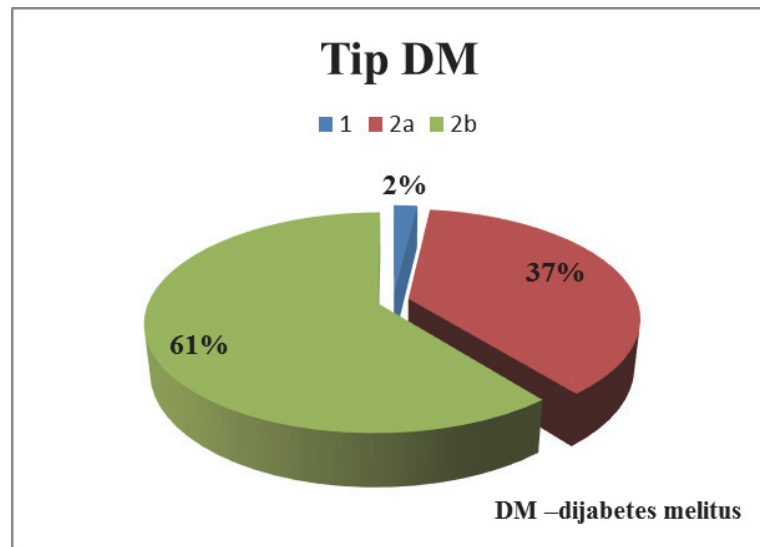
Grafikon 1. Učestalost pacijenta eksperimentalne grupe po starosnim kategorijama

Pacijenti u eksperimentalnoj grupi su prosečno bolovali od DM 14,5 godina, a prosečno je terapija insulinom trajala 6,2 godine (Tabela 2). Od 51 pacijenata, 32 je bilo na Insulinu (61%), to su sekundarno insulin zavisni pacijenti njih 31, primarno insulin zavistan 1 pacijent, na per os terapiji bilo je 19 pacijenata (37%) (Grafikon 2).

Tabela 2. Prosečno trajanje dijabetes melitusa i prosečno trajanje insulinske terapije ispitanika eksperimentalne grupe

	dužina DM (godine)	dužina terapije insulinom (godine)
sr.vred. ±st.odst.	14,48±8,06	6,26±5,82
ukupno broj pacijenta	51	32

DM-dijabetes melitus



Grafikon 2. Učestalost pojedinih tipova DM: tip 1 juvenilni DM, tip 2a na peroralnim hipoglikemicima, tip 2b sekundarno insulin zavisni DM

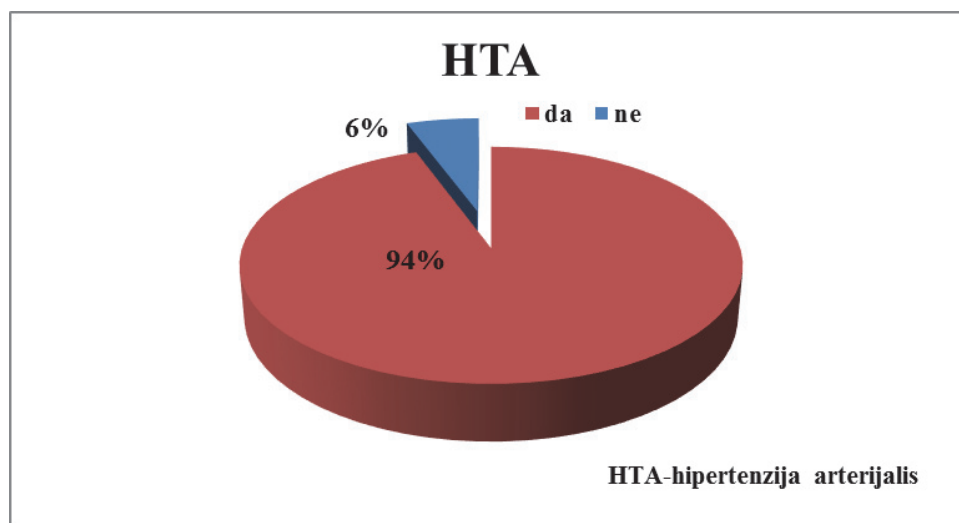
Najveći postotak pacijenata, njih 61% su bili pacijenti sa tipom 2 DM i to sekundarno insulin zavisni, a prosečno trajanje insulinske terapije bilo je više od 6 godina.

Pri dolasku pacijenata beležili smo njihove zadnje vrednosti jutarnje glikemije kao i glikozilirani hemoglobin HbA1c koji je merilo prosečne regulacije u zadnja dva do tri meseca. Prosečna glikemija iznosila je 8,99 mmol/l dok je HbA1c iznosio 7,9% što odgovara prosečnoj glikemiji od 10,0mmol/l (Tabela 3). Pokazano je da je vrednost glikoziliranog hemoglobina realnija u proceni kvaliteta metaboličke regulacije u odnosu na vrednost jutarnje glikemije i da se dobija značajno viša vrednost prilikom konverzije. Zato se kao parametar metaboličke regulacije uzima isključivo vrednost HbA1c. U eksperimentalnoj grupi pacijenata ona je znatno viša od normalnih vrednosti.

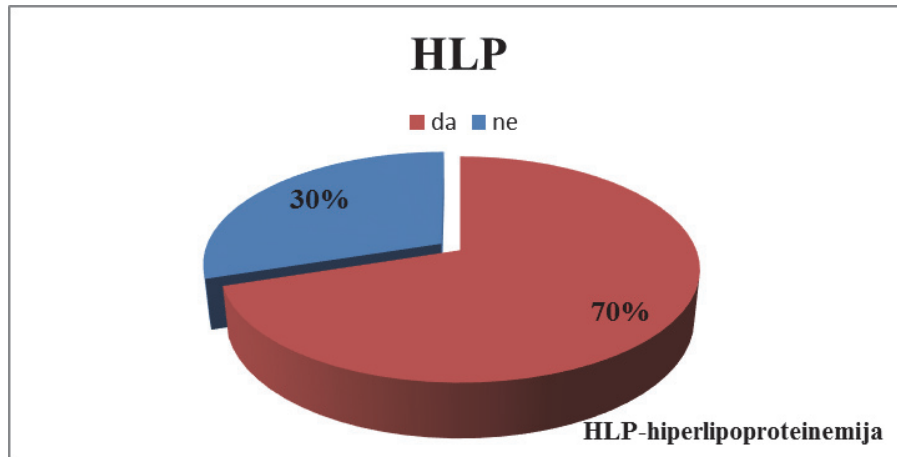
Tabela 3. Stepen metaboličke kontrole ispitanika eksperimentalne grupe procenjen na osnovu prosečne vrednosti glikemije i vrednosti HbA1c

	ŠUK (mmol/l)	HbA1c (%)
sr.vred. ±st.odst.	8,99±1,99	7,89±1,30
Ukupan broj pacijenata	51	51

Šuk-šećer u krvi, HbA1c-glikozilirani hemoglobin



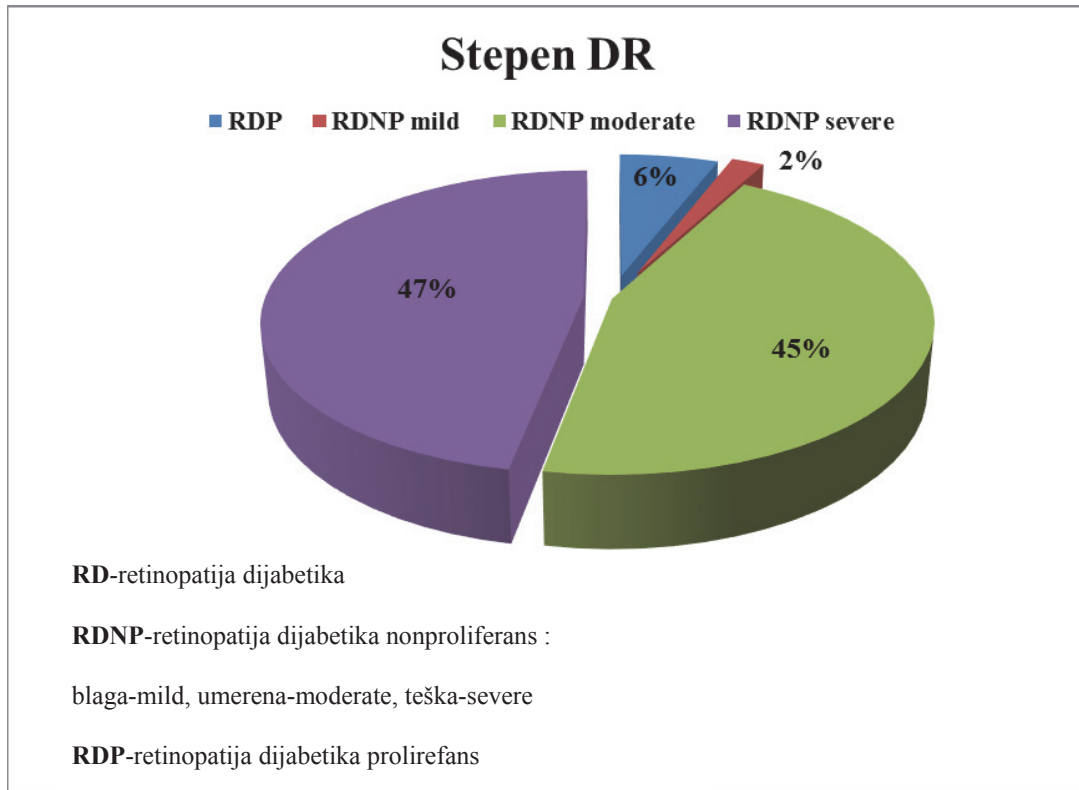
Grafikon 3. Učestalost hipertenzije arterijalis kao faktora rizika u eksperimentalnoj grupi



Grfikon 4. Učestalost hiperlipoproteinemije kao faktora rizika u eksperimentalnoj grupi

Grafikoni 3 i 4 pokazuju visoku učestalost dodatnih faktora rizika: arterijske hipertenzije i hiperlipoproteinemije u našem uzorku pacijenata koji na lošu metaboličku kontrolu dodatno doprinose progresiji dijabetične retinopatije i dijabetičnog makularnog edema naročito kod pacijenata s dijabetesom tip 2b –sekundarno insulin zavisni, kojih smo imali najviše kako u eksperimentalnoj tako i u kontrolnoj grupi.

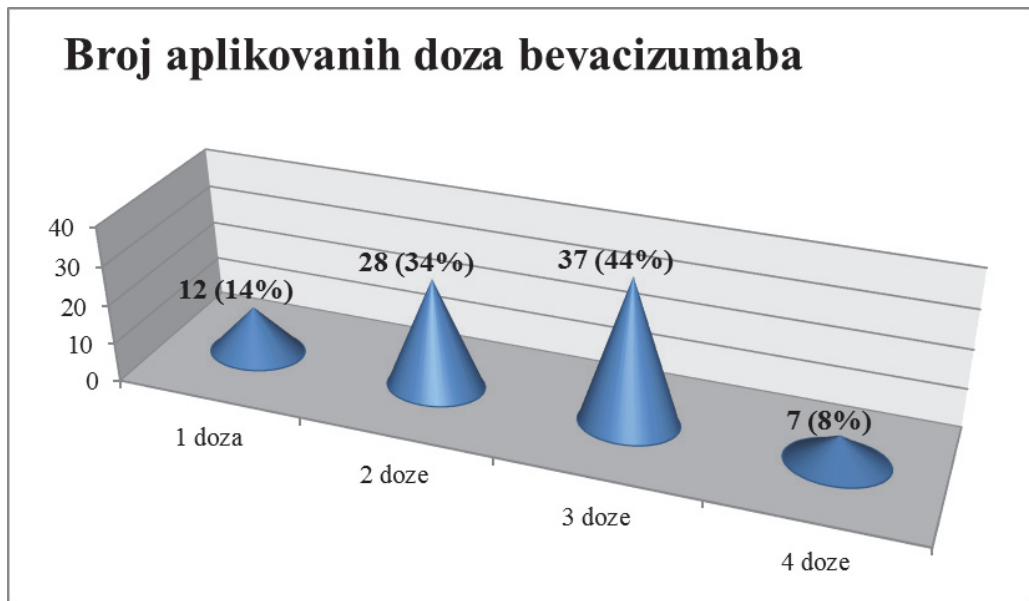
U eksperimentalnoj grupi je bio 1 pacijent (2%) sa blagim (mild) oblikom neproliferativne DR, 23 (45%) pacijenta sa umerenim (moderate) oblikom NPDR, i 24 pacijenta (47%) sa teškim (severe) oblikom NPDR. Svega 3 pacijenta (6%) je bilo sa ranim oblikom PDR (Grafikon 5). Pacijenti za PDR visokog rizika i uznapređovalog stadijuma nisu ulazili u studiju jer njihovo praćenje od 6 meseci nije bilo moguće izvesti zbog neopodne laserske intervencije-panretinalne laserfotokoagulacije-lfk prp, koja ima veliki uticaj na edem makule. Razumljivo je da je učestalost edema povezana sa sve težim oblicima DR te da je najveća kod teškog oblika NPDR ranije preproliferativne forme kod koje je i najveći stepen ishemije pa i koncentracije VEGF u vitreusu, koji je osnovni faktor nastanka, održavanja i progresije DME.



Grafikon 5. Učestalost pojedinih stepena dijabetesne retinopatije kod pacijenata sa dijabetičnim makularnim edemom u eksperimentalnoj grupi

4.2. Rezultati efikasnosti anti VEGF tretmana eksperimentalne grupe u odnosu na centralnu debljinu makule merenu OCT-om

Ukupno je tretirano 84 oči kod 51 pacijenata: kod 12 oči (14%) je primenjena samo jedna aplikacija bevacizumaba nakon koje su vrednosti centralne debljine makule bile zadovoljavajuće, kod 28 oči (34%) date su dve doze, kod najvećeg broja oči aplikovane su tri doze 37 oči (44%). Kod 7 oči (8%) su bile potrebne 4 doze bevacizumaba kako bi se dobile zadovoljavajuće vrednosti i stvorili bolji uslovi za laser tretman (Grafikon 6). Bevacizumab je aplikovan u razmacima 4 do 6 nedelja.



Grafikon 6. Broj aplikovanih doza bevacizumaba kod 84 tretirana oka

Tabela 4. Početne i krajnje vrednosti CMT po grupama pacijenata formiranih na osnovu broja primljenih doza

CMT-central macular thicknes-centralna makularna debljina

broj doza	CMT		poboljšanje		Br. tretiranih očiju	Krajnja CMT ≤250µm	Krajnja CMT ≤300µm
	početna	krajnja	apsolutno	relativno			
1 doza	347,92	220,58	127,33	36,60%	12	9	11
2 doze	411,68	255,64	156,03	37,90%	28	17	23
3 doze	508,38	381,57	126,81	24,94%	37	7	8
4 doze	525,57	379,14	146,43	27,86%	7	1	2

Tabela 4 nam pokazuje da su grupe pacijenata napravljene po broju primljenih doza. Broj primenjenih doza je upravo proporcionalan rastućim vrednostima CMT što ukazuje da su u pitanju sve teži slučajevi koji su zahtevali duže lečenje i veći broj doza. U prvoj grupi očiju kod kojih je data samo jedna doza, edem je bio najmanje izražen, početna vrednost CMT iznosila je 348 a krajnja 220,5 mikrona, redukcija je bila za 127,5 mikrona odnosno 36,6%, od 12 očiju kod 11 je postignua redukcija CMT ispod 300 mikrona. U grupi očiju kod kojih su date 2 doze Avastina, početna vrednost CMT iznosila je 411,6, krajnja 255,6 mikrona, ukupna redukcija 156 mikrona odnosno 37,9%, od 28 očiju kod 23 je postignuto smanjenje CMT ispod 300 mikrona. U grupi očiju kod kojih su date 3 doze leka, početna prosečna CMT je bila viša od predhodnih iznosila je 508,4 na kraju lečenja 381,6 mikrona, smanjenje CMT je bilo 126,8 mikrona odnosno 29,4%. Od 37 očiju kod 8 je postignto smanjenje CMT ispod 300 mikrona. U četvrtoj grupi očiju kod

kojih su date 4 doze leka, CMT je bila najveća iznosila je 525,5 mikrona, na kraju lečenja 379,1, redukcija CMT u apsolutnim brojevima je iznosila 146,4, 27,8%, od 7 očiju samo kod 2 je postignuta redukcija CMT ispod 300 mikrona. Prva i druga grupa su pacijenti sa manjim edemom po kvantitetu te je za njihovo lečenje bilo potrebno manji broj doza Avastina, a lečenje je bilo efikasnije. Treća a naročito četvta grupa pacijenata/očiju imaju edem značajnijih razmera, što zahteva lečenje sa više inekcija, a kako vidimo lečenje je manje efikasno u odnosu na prvu i drugu grupu. Prosečna vrednost redukcije centralne makularne debljine za sve tretirane oči u eksperimentalnoj grupi iznosi 139,15 μm .

Tabela 5. a) i b) Stepenn redukciije CMT po grupama pacijenata/tretiranih očiju formiranih na osnovu broja primljenih doza

Br.primljenih doza	CMT	CMT 1	CMT 2	CMT 3	CMT 4	nakon lfk
1 doza	347,92	242,08				220.58
2 doze	411,68	334,43	292.89			255.64
3 doze	508,38	460.19	427.13	418.13		381.57
4 doze	525,57	428,00	535.57	441.14	327.71	379.14

a)

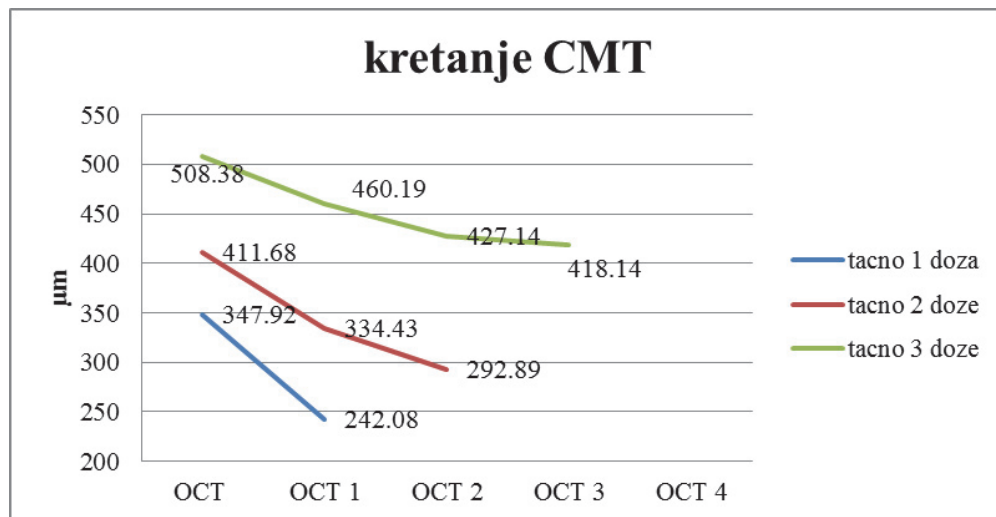
CMT-central macular thickness-centralna makularna debljina

Br. Primljenih doza	CMT 1	CMT 2	CMT 3	CMT 4	ukupno
1 doza	-105.83				-127.33 (36,60%)
2 doze	-77.25	-41.53			-156.04 (37,90%)
3 doze	-48.19	-33.05	-9		-126.81(24,94%)
4 doze	-97.57	107.57	-94.43	-113.43	-146.43 (27,86%)
prosečno	-82,21	-60,71	-51,71	-113,43	-139,15 (31,82%)

b)

Tabela 5 pokazuje kako se kretala redukciija centralne debljine makule nakon svake aplikacije u svakoj grupi pacijenata ponaosob formiranih na osnovu broja primljenih doza. Uočavamo da nakon prve doze dolazi do najvećeg smanjenja centralne debljine makule, u svim grupama, posečno 82,21 μm , nešto je manja redukciija debljine makule nakon druge doze prosečno 60,71 μm , dok je najmanja nakon treće doze posečno

51,71 μm . Izuzetak predstavlja četvrta grupa kod koje smo lečili edem najvećih razmera prosečno 525,75 μm početne vrednosti, kod koje imamo dobar i ujednačen odgovor nakon svake aplikovane doze od 94,43 μm do 113,43 μm



CMT-central macular thicknes, centralna debljina makule

Grafikon 7. Grafički prikaz kretanja vrednosti CMT po grupama pacijenata načinjenih na osnovu broja primljenih doza

Tabela 6. Upareni T-test, odnos početnih i krajnjih vrednosti CMT prema grupama pacijenata načinjenih na osnovu broja primljenih doza

t-test	OCT	OCT krajnji	t	df	kr. vred.
CMT vs. CMT 1	347,92±90,86	220,58±52,81	5,74	11	2,23
CMT vs. CMT 2	411,68±89,52	255,64±76,98	7,28	27	2,06
CMT vs. CMT 3	508,38±159,24	381,57±122,77	4,76	36	2,03
CMT vs. CMT 4	525,57±77,01	379,14±138,96	2,39	6	2,57

CMT-central macular thickness-centralna debljina makule

Tabela 6 prikazuje da su sve dobijene krajnje vrednosti centralne debljine makule značajno redukovane u odnosu na početne u svakoj grupi pacijenata formiranih na osnovu broja primljenih doza

Tabela 7. Efikasnost anti VEGF tretmana kod DME u zavisnosti od početne CMT po kategorijama formiranim na osnovu debljine makule CMT

CMT(μm)	broj očiju	CMT početna	CMT krajnja	apsolutno	relativno
<400	33	327,61	275	52,61	16,06%
400-500	22	450,09	296,5	153,59	34,12%
>500	29	602,69	378,58	224,10	37,18%

CMT-central macular thickness-centralna debljina makule

Tabela 7 prikazuje grupe pacijenata, tretiranih očiju formiranih na osnovu centralne makularne debljine. Grupu blagih edema su oni čija je CMT $<400\mu\text{m}$, srednje izraženih CMT od $400\text{-}500\mu\text{m}$ i teških edema $\text{CMT}>500\mu\text{m}$. Uočavamo najintenzivnije smanjenje edema u grupi sa najvećim početnim vrednostima, redukcija u ovoj grupi iznosi čak $224,10\mu\text{m}$ odnosno $37,18\%$.

Tabela 8. Uporedni T test početnih i krajnjih vrednosti CMT tretiranih očiju podeljenih po kategorijama CMT

CMT(μm)	CMT po kategorijama	CMT krajni	p	df
CMT < 400 vs. CMT krajnji	$327,61\pm 42,46$	$275,00\pm 98,61$	0,002622	32
CMT $400\text{-}500$ vs. CMT krajnji	$450,09\pm 29,25$	$275,00\pm 98,61$	$<0,000001$	21
CMT > 500 vs. CMT krajnji	$602,69\pm 110,48$	$275,00\pm 98,61$	$<0,000001$	28

CMT-central macular thickness-centralna debljina makule

Tabela 8 ukazuje da su u svakoj grupi tretiranih očiju načinjenih po kategorijama na osnovu CMT, dobijene krajnje vrednosti značajno manje u odnosu na početne.

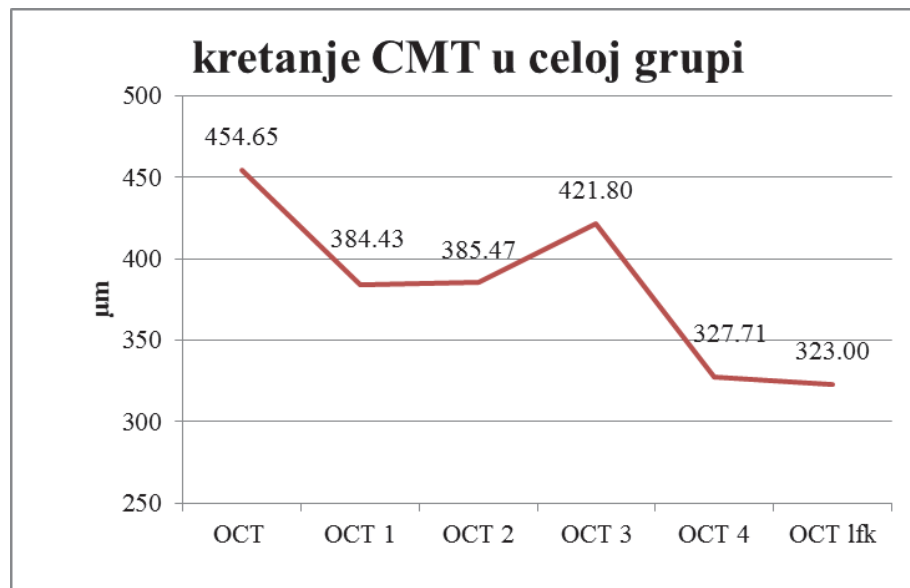
Tabela 9. a i b Prikaz redukcije CMT u apsolutnim vrednostima nakon prve, druge, treće i četvrte doze Avastina

a)

broj primljenih doza/br. očiju	CMT	CMT 1	CMT 2	CMT 3	CMT 4
posle 1.doze (84 očiju)	454.65	384.43			
posle 2.doze (72 očiju)	472.44	408.15	385.47		
posle 3.doze (44 očiju)	511.11	455.07	444.39	421.79	
posle 4.doze (8 očiju)	525.57	428	535.57	441.14	327.71

b)

Broj primljenih doza/br. očiju	CMT 1	CMT 2	CMT 3	CMT 4	ukupno
posle 1.doze (84 očiju)	-70.22				-70,22(15,45%)
posle 2.doze (72 očiju)	-64.29	-22.68			-86,97(19,17%)
posle 3. doze (44 očiju)	-56.04	-10.68	-22.59		- 89,32(18,4%)
posle 4.doze (8 očiju)	-97.57	107.57	-94.43	-113.43	-197,86(35,61%)
Prosečna vrednost	-72.03	-46.97	-58.51	-113.43	- 111.09 (22.16%)



Grafikon 8. Kretanje centralne makularne debljine merene OCT-om tokom terapije intravitrealno bevacizumabom sa ili bez laserfotokoagulacije u grupi u celini

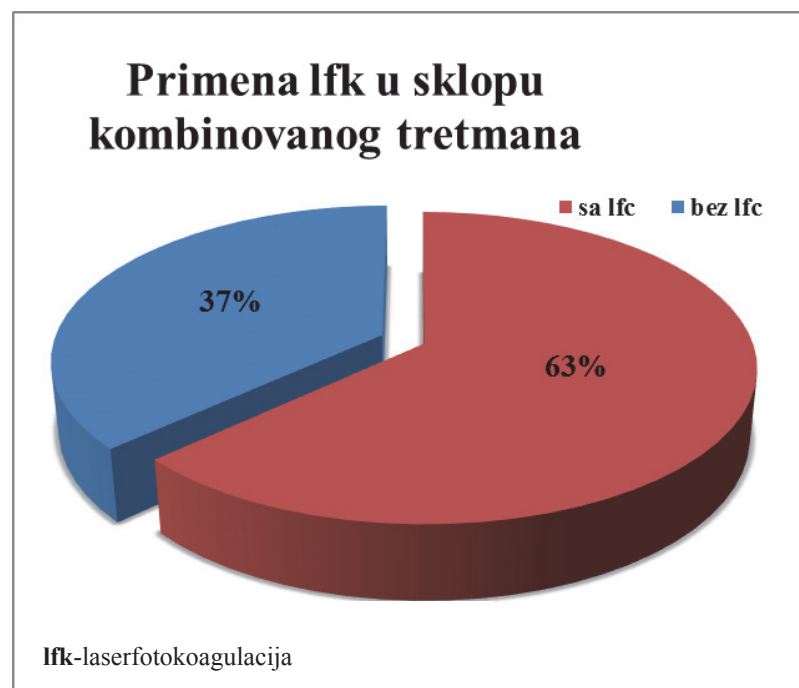
Kod 51 pacijenta, odnosno 84 očiju je primilo minimalno jednu injekciju, nakon koje je centralna makularna debljina sa 454,65 redukovana na 384,42 mikrona (-70,23), ova razlika je statistički signifikantna ($p < 0,05$) (Tabela 9).

Kod 72 oka primenjene su minimalno dve doze gde je došlo do redukovanja CMT sa 472,44 na 385,47 nakon druge doze (-86,97), razlika je statistički značajna u redukciji debljine makule početne vrednosti i nakon prve doze, kao i početne vrednosti i nakon druge doze. ($p < 0,05$). Takođe statistički značajna razlika utvrđena je i između vrednosti CMT posle prve i druge doze (Tabela 9).

Kod 44 oka bile su primenjene tri doze leka gde je CMT sa 511,11 mikrona redukovana posle treće doze na 421,79 (-89,32). Razlika u stepenu redukcije CMT je statistički značajna između početne vrednosti u poređenju sa vrednostima nakon prve, nakon druge i nakon treće doze, kao i između prve i treće doze ($p < 0,05$) (Tabela 9).

Kod 8 očiju, nakon 4 doze, došlo je do redukcije CMT sa 525,57 na 327,71 (-197,86). Razlika je statistički značajna kada se radi o poređenju početne CMT i nakon prve doze, odnosno početne CMT i posle četvrte doze ($p < 0,05$). Između drugih doza razlika nije statistički značajna (Tabela 9)

Nakon farmakološkog dela lečenja i smanjenja centralne makularne debljine učinjena je laserfotokoagulacija po principu fokal/grid makule kod većine očiju (53 oka, tj 63%).



Grafikon 9. Procenat pacijenata kod kojih je primenjena laserfotokoagulacija makule nakon tretmana bevacizumabom

Tabela 10. Centralna makularna debljina pre i posle učinjene laserfotokoagulacije po tipu focal/grid makule, upareni T-test

Broj očiju N		srednja vrednost CMT	st. odstupanje		t	df
53	pre lfc	366,28	117,19	pre vs. posle lfc	2,84	52
53	posle lfc	323,00	134,11			

CMT-central macular thicknes-centralna makularna debljina,

lfc-laserfotokoagulacija

Tabela br 11. Centralna debljina makule nakon primene fokal/grid laser tretmana makule (ANOVA – Duncanov test)

CMT početna	454,65 ^a
CMT krajnji ukupno	316,39 ^b
CMT krajnji sa lfc	323,00 ^b
CMT krajnji bez lfc	305,10 ^b

Iako je redukcija CMT nakon učinjene laserfotokoagulacije makule statistički značajna, na osnovu uporednog t-testa (363,3 prema 323,0), ANOVA Duncan-ov test nije pokazao statistički značajnu razliku $p < 0,05$.

4.3. Rezultati efikasnosti anti VEGF tretmana eksperimentalne grupe u odnosu na vidnu oštrinu

Sve rezultate vidne oštrine dobijene u decimalnim brojevima koristeći Snellen-ove tablice radi lakše statističke obrade i poređenja preveli smo u logaritamsku skalu, log MAR-Logarithm of the Minimum Angle of Resolution. To je najpreciznija i najpouzdanija skala, preporučena je kao internacionalna i koristi se u svim naučnim radovima i prezentacijama. Svako slovo nosi vrednost od 0,02 log jedinica, u svakom redu je po pet slova te je vrednost jedne linije 0,1 log jedinica. Osim jednakog broja slova po 5 u svakom redu, prednost log MAR skale je u tome što postoje jednaki prostori između slova kao i između redova, prisutna je uniformna progresija veličine slova. Finalni skor predstavlja broj pročitanih slova u odnosu na ukupni broj.

Tabela 12. Porast vidne oštrine u log Mar vrednostima, u odnosu na početnu vrednost po grupama na osnovu broja primljenih doza

broj doza	Vidna oštrina (LogMar)			
	Početna	krajnja	apsolutna razlika	relativna razlika
1 doza (12 očiju)	0,32	0,19	0,13	41,83%
2 doze (28 očiju)	0,49	0,31	0,17	35,67%
3 doze (37 očiju)	0,63	0,57	0,06	9,96%
4 doze (7 očiju)	0,34	0,16	0,18	53,72%

Vo-vidna oštrina

Prosečni porast vidne oštrine pacijenata eksperimentalne grupe (tretiranih očiju) iznosio je 0,135 po log MAR-u.

Tabela 13. Uporedni t-test poređenja početnih i krajnjih vrednosti vidne oštine po log Mar-u po grupama pacijenata na osnovu broja primljenih doza

t-test	srednja vrednostVo	krajnja vrednost Vo	t	df	p
Vo vs. Vo 1	0,32±0,26	0,19±0,21	1,837237	11	0,093317
Vo vs. Vo 2	0,49±0,39	0,31±0,34	5,892671	27	0,000003
Vo vs. Vo 3	0,63±0,37	0,57±0,43	1,927753	36	0,061804
Vo vs. Vo 4	0,34±0,13	0,16±0,12	5,132283	6	0,002152

Vo-vidna oština

Krajnja vidna oština u odnosu na početnu je statistički značajno različita u svim grupama pacijenata po Snellenu, dok u log MaR jedinicama značajna razlika je posle druge i posle četvrte inekcije krajnje u odnosu na početnu vrednost (Tabela 13).

Posmatrajući eksperimentalnu grupu u celini (84 oka), utvrđeno je da je nakon prve doze vidna oština iskazana u log MAR jedinicama poboljšana sa 0,51 na 0,43, i ta razlika u vrednostima je statistički signifikantna, $p < 0,05$ (Tabela 14).

Nakon druge doze leka kod 72 oka, vidna oština je promenjena sa početne 0,55 na krajnju 0,45, ta razlika je takođe statistički značajna, $p < 0,05$ (Tabela 14.)

Nakon treće doze leka vidna oština je promenjena sa 0,58 na krajnju 0,50, ta razlika je statistički značajna, $p < 0,05$ (Tabela 14).

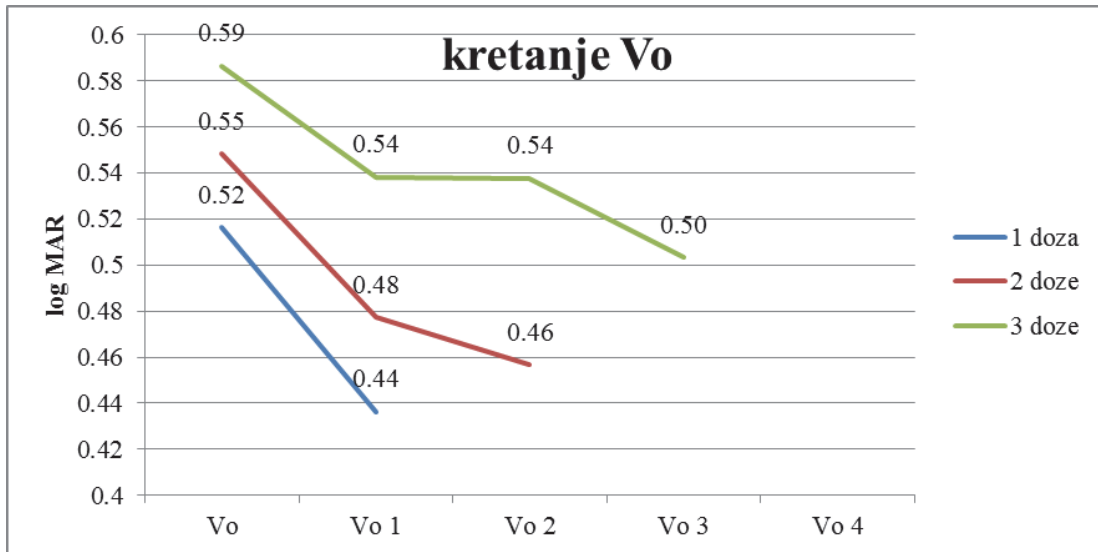
Nakon četvrte doze vidna oština kod 8 očiju se poboljšana u log MAR jedinicama sa 0,34 na 0,16. Ta razlika je statistički značajna, $p < 0,05$ (Tabela 14).

Možemo uočiti da sa padom centralne makularne debljine dolazi do poboljšanja vidne oštine.

Tabela 14. Prikaz porasta vidne oštine u log Mar jedinicama nakon svake doze bevacizumaba u apsolutnim i relativnim vrednostima

Br. primljenih doza	V ₀	V _{0 1}	V _{0 2}	V _{0 3}	V _{0 4}	apsolutni porast V ₀	relativni porast V ₀
1 doza -84očiju	0,51	0,43				-0,08	15,50%
2 doze -72 očiju	0,55	0,47	0,45			-0,09	16,68%
3 doze -44 očiju	0,58	0,54	0,54	0,50		-0,08	14,20%
4 doze-8 očiju	0,34	0,19	0,25	0,31	0,16	-0,18	53,21%

V₀-vidna oština



Vo-vidna oština

Grafikon 10. Grafički prikaz porasta vidne oštine iskazane u log MAR jedinicama nakon svake primljene doze bevacizumaba

Nakon farmakološkog lečenja kod većine pacijenata odnosno očiju 53 oka (63%) je učinjen laser tretman po tipu fokal/grid laserfotokoagulacije makule. Tabela 15 ukazuje da razlika u vidnoj oštini pre i posle laserfotokoagulacije nije statistički značajna, $p > 0,05$ (Tabela 15).

Tabela 15. Vidna oština nakon primene fokal/grid laser tretmana makule (paired t-test)

br. očiju N		srednja vrednost Vo logMAR	standardno odstupanje		t	df
53	pre lfk	0,38	0,35	pre lfk vs. posle lfk	-0,48	52
53	posle lfk	0,39	0,39			

Vo-vidna oština, lfc-laserfotokoagulacija

Tabela 16. Vidna oštrina nakon primene fokal/grid laser tretmana makule (ANOVA – Duncanov test)

Vo početni –log MAR	0,52 ^a
Vo krajnji ukupno	0,40 ^a
Vo krajnji sa lfc	0,39 ^a
Vo krajnji bez lfc	0,41 ^a

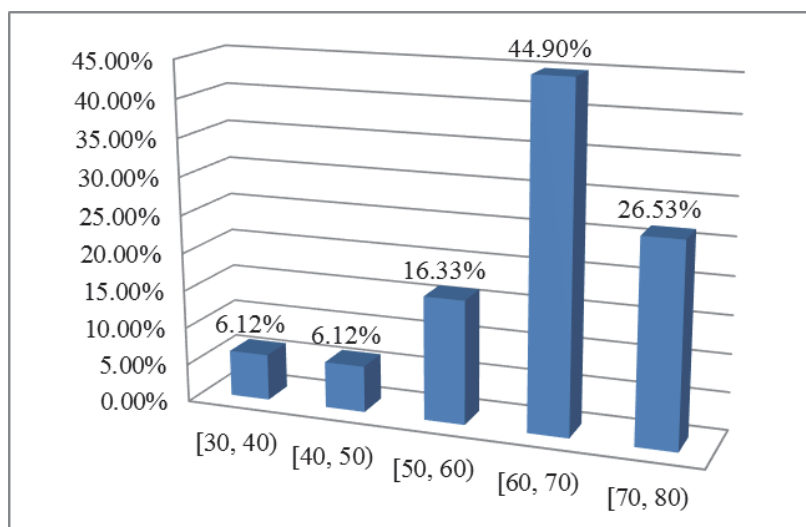
Vo-vidna oštrina

Vidna oštrina po Snellen-u se nije statistički značajno razlikovala pre i posle laserfotokoagulacije makule na osnovu uparenog t-testa i na osnovu ANOVA analize.

4.4. Rezultati kod pacijenata kontrolne grupe

Tabela 17. Prosečna starost pacijenata kontrolne grupe sa DME tretiranih laserom

Starost pacijenata (godine)	
prosek ± st.odstupanje	62,7±11,63
min	25
max	84



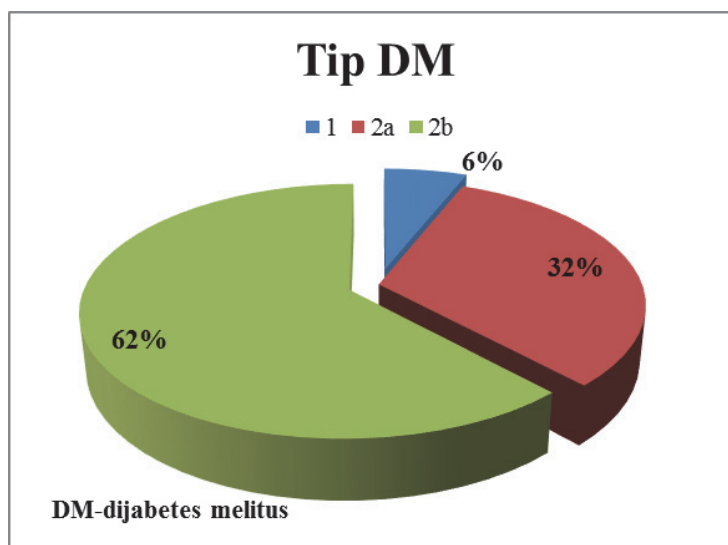
Grafikon 11. Učestalost ispitanika po starosnim kategorijama u kontrolnoj grupi

Prosečna starost pacijenata kontrolne grupe je iznosila 62,7 godina . Pacijenti ove grupe su u najvećem procentu (44,9%) pripadali starosnoj kategoriji od 60-70 godina.

Tabela 18. Prosečno trajanje DM i prosečno trajanje Insulinske terapije ispitanika kontrolne grupe

	dužina DM(godine)	dužina terapije insulinom (godine)
prosek±st.odstupanje	16,16 ± 8,67	8,34 ± 6,88
ukupan br.pacijenata	50	

Prosečna dužina trajanja dijabetesa u kontrolnoj grupi je bila 16 godina, a dužina trajanja insulinske terapije 8 godina (Tabela 18), što je nešto duže u odnosu na pacijente eksperimentalne grupe (14,5 odnosno 6,3 godine).



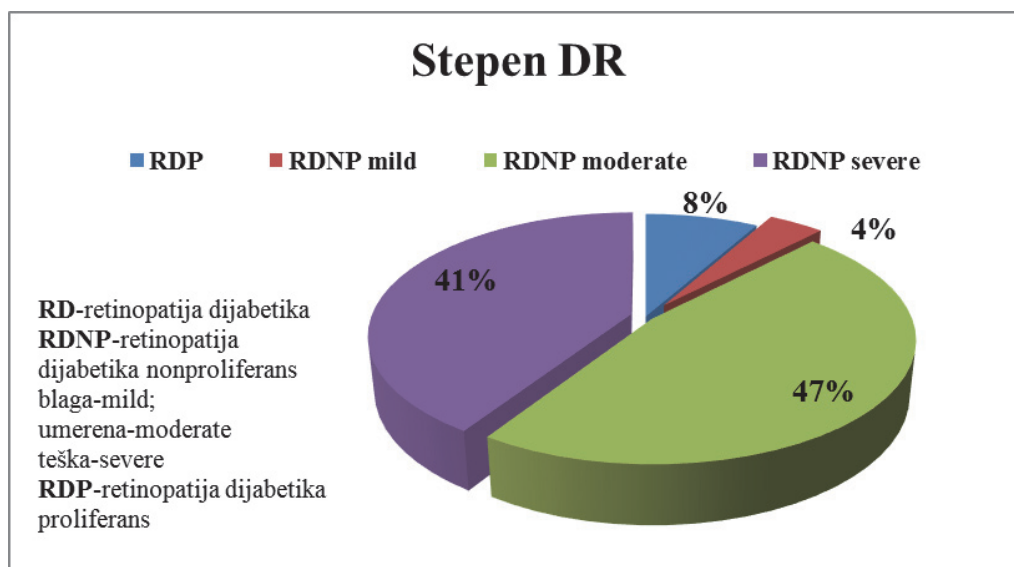
Grafikon 12. Učestalost pojedinih tipova DM : tip 1 juvenilni DM, tip 2a na pororalnoj terapiji, 2b sekundarno insulin zavisni pacijenti, kod pacijenata kontrolne grupe

Kao i u eksperimentalnoj grupi, pacijenti kontrolne grupe su pretežno bolovali od tipa 2 DM sekundarno insulin zavisni (62%) (Grafikon 12).

Tabela 19. Stepenn metaboličke kontrole ispitanika kontrolne grupe procenjen na osnovu prosečne vrednosti glikemije i vrednosti HbA1c

	ŠUK (mmol/l)	HbA1c (%)
prosek±st.odstupanje	9,35±2,15	7,79 ± 1,25
ukupan br. pacijenata	50	50

Metabolička kontrola je bila veoma loša, prosečna glikemija je iznosila 9,35 mmol/l a prosečna vrednost Hb1c 7,8% (Tabela 19).



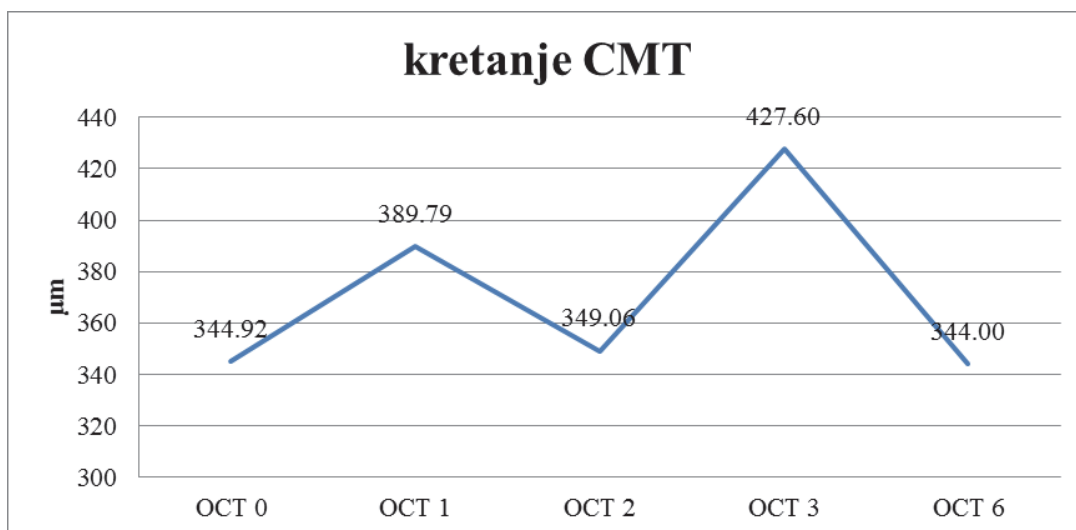
Grafikon 13. Stepen DR kod pacijenata sa DME u kontrolnoj grupi

Na Grafikonu 13 je prikazana učestalost pacijenata kontrolne grupe po stepenu težine retinopatije: 4% pacijenata je imalo najlakši oblik neproliferativne retinopatije –mild 4%, umereni oblik 47%, težak oblik neproliferativne retinopatije 41% dok su pacijenti sa proliferativnom retinopatijom bili zastupljeni sa 8%.

Tabela 20. Vrednosti centralne makularne debljine kod pacijenata/očiju kontrolne grupe tretiranih laserom nakon 1,2,3 6 meseci

CMT (μm)				
CMT početna	CMT 1	CMT 2	CMT 3	CMT 6
344,9	389,8	349,1	427,6	344

CMT-central macular thickness, centralna makularna debljina



CMT-central macular thickness, centralna makularna debljina

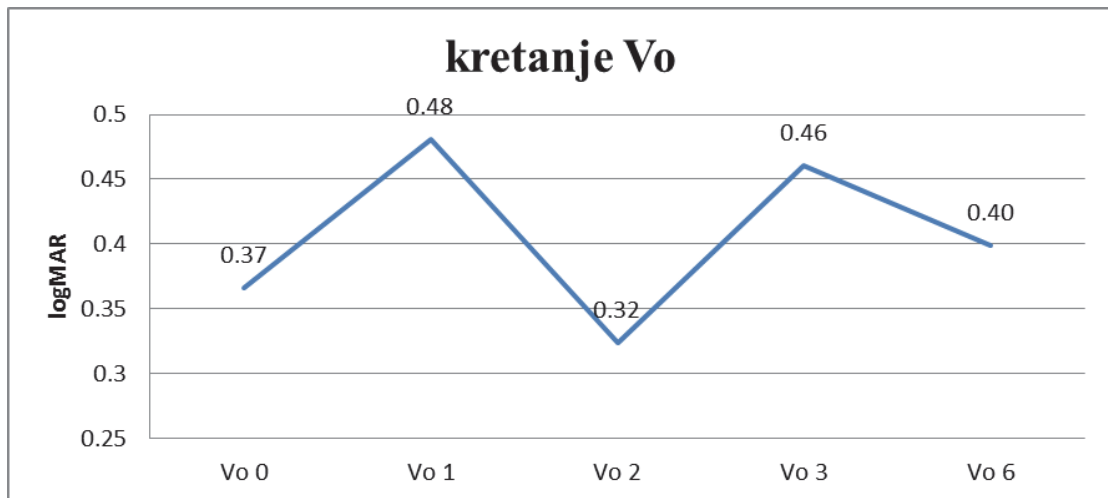
Grafikon 14. Kretanje CMT kod pacijenata tretiranih laserom nakon 1,2,3 i 6 meseci

Kretanje CMT kod očiju tretiranih laserom u kontrolnoj grupi je veoma nepravilno, iako generalno stagnira posmatrajući početnu i krajnju vrednost (tabela 20, grafikon 14), što je u skladu sa brojnim kliničkim studijama.

Tabela 21. Vrednosti vidne oštine u log MAR jedinicama početne kao i kontrolnih vrednosti, nakon 1,2,3 i 6 meseci

Vo (logMAR) – kretanje po mesecima				
Vo početna	Vo 1	Vo2	Vo 3	Vo 6
0,36	0,48	0,32	0,46	0,39

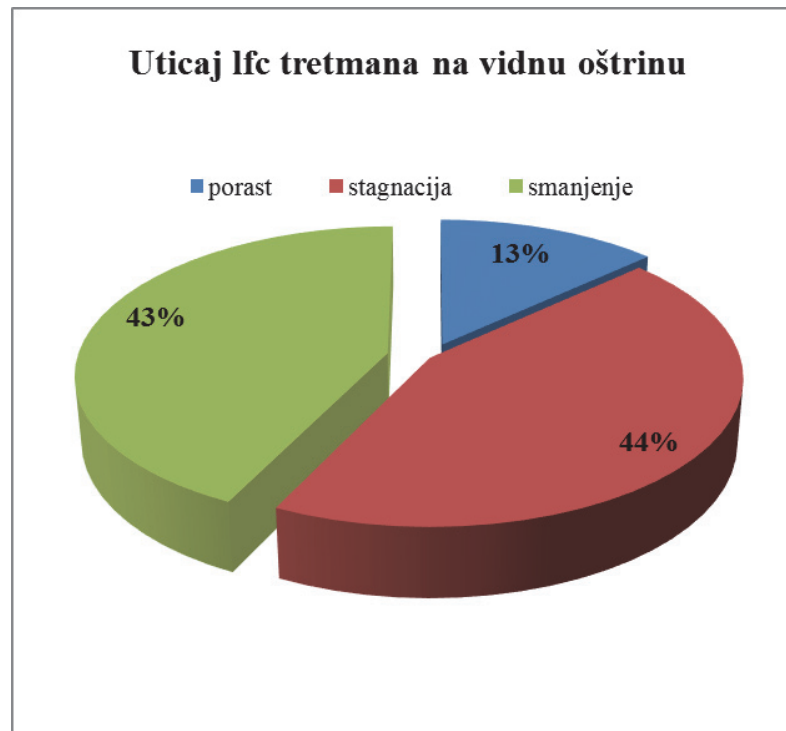
Vo-vidna oština



Vo-vidna oštrina

Grafikon 15. Kretanje vidne oštrine izražene po Snellenuu log MAR jedinicama kod pacijenata tretiranih laserom po kontrolama nakon 1,2,3 i 6 meseci

Kretanje vidne oštrine poput kretanja CMT-a, u kontrolnoj grupi očiju tretiranih laserom, nema uočljive pravilnosti, praćeno je stagnacijom u najvećem postotku (Tabela 21, Grafikon 15).



Grafikon 16. Uticaj laser tretmana u odnosu na postignutu vidnu oštrinu kod pacijenata/očiju kontrolne grupe

Grafikon 16 prikazuje da je svega 13% tretiranih očiju imalo poboljšanje vidne oštrine nakon tretmana laserom, 44% stagnaciju, dok je čak 43% imalo manje ili više izražen pad vidne oštrine.

Tabela 22. Uporedni T test postignutih vrednosti CMT na mesečnim kontrolama pacijenata tretiranih laserom

	srednja vrednost	st. odstupanje		t	df	p
CMT 0	402,43	126,12	CMT vs. CMT 1	0,88	13	0,39
CMT 1	389,78	113,18	CMT vs. CMT 2	-1,40	15	0,18
CMT 2	349,06	124,74	CMT vs. CMT 3	0,11	4	0,91
CMT 3	427,60	104,44	CMT vs. CMT 6	0,79	32	0,43
CMT 6	344,00	101,61	CMT vs. CMT 9	0,03	1	0,98
CMT 9	400,00	103,23	CMT vs. CMT 12	0,11	1	0,93
CMT 12	298,50	70,00	CMT vs.CMT krajnja	0,55	36	0,58
CMT krajnja	339,19	91,25	CMTvs.CMT najbolja	1,45	36	0,15
CMT najbolja	329,43	87,43				

CMT-central macular thickness-centralna makularna debljina

Iz Tabele 22 možemo zaključiti da se centralna makularna debljina ne menja značajno tokom kontrola nakon 1,2,3,6,9 i 12 meseci nakon učinjene laserfotokoagulacije makule.

Tabela 23. Uporedni T- test postignutih vrednosti Vo na mesečnim kontrolama pacijenata tretiranih laserom

logMAR	srednja vrednost	st. odstupanje		t	df	p
Vo 0	0,41	0,32	Vo vs. Vo 1	-3,63	32	0,000986
Vo 1	0,48	0,35				
Vo 0	0,33	0,31	Vo vs. Vo 2	0,32	62	0,751402
Vo 2	0,32	0,28				
Vo 0	0,43	0,33	Vo vs. Vo 3	-0,99	24	0,333132
Vo 3	0,46	0,34				
Vo 0	0,36	0,33	Vo vs. Vo 6	-2,17	84	0,032658
Vo 6	0,40	0,34				
Vo 0	0,69	0,55	Vo vs. Vo 9	-2,99	3	0,057706
Vo 9	0,82	0,52				
Vo 0	0,42	0,24	Vo vs. Vo 12	-1,72	11	0,113079
Vo 12	0,48	0,27				
Vo 0	0,33	0,21	Vo vs. Vo	-2,35	5	0,065325
Vo	0,58	0,44				
Vo 0	0,36	0,32	Vo vs. Vo krajnja	-2,84	90	0,005541
Vo krajnja	0,41	0,35				
Vo 0	0,36	0,32	Vo vs. Vo najbolja	-0,31	90	0,758798
Vo najbolja	0,37	0,32				

Iz Tabele 23. možemo zaključiti da se vidna oštrina ne menja značajno nakon učinjene laserfotokoagulacije, prateći kontrolne preglede nakon 1,2,3,6,9 i 12 meseci. Možemo uočiti čak i blagi pad vidne oštine nakon mesec dana od terapije laserom, nakon šest

meseci kao i ukupno na kraju tretmana vidna oštrina je pogoršana u odnosu na početnu vednost za 0.047 log MAR jedinica, što iznosi 2 slova ili polovinu reda.

4.5. Poređenja dobijenih rezultata vidne oštine i centralne makularne debljine pre i nakon tretmana po grupama pacijenata podeljenih prema vrsti tretmana

-apliciran bevacizumab (b),

-bevacizumab+laserfotokoagulacija u sklopu kombinovanog tretmana (b+lfk)

-laser terapija samostalno (lfk).

Tabela br 24. Upareni T-test početnih i krajnjih vrednosti vidne oštine i centralne makularne debljine pre i nakon tretmana bevacizumaba-b samostalno, kombinovano

t-test	N- br.očiju	Vo mean (Logmar) ± SD	p	CMTmean (µm) ± SD	p
b 0	31	0.572 ± 0.432	< 0.0001	467.323 ± 164.934	< 0.0001
b 1		0.409 ± 0.398		305.097 ± 100.963	
b+lfk 0	53	0.484 ± 0.322	0.0019	447.245 ± 121.059	< 0.0001
b+lfk 1		0.388 ± 0.393		323.000 ± 134.114	
lfk 0	36	0.429 ± 0.349	0.0114	347.177 ± 101.428	0.4604
lfk 1		0.474 ± 0.360		340.294 ± 101.966	

b+lfk i samostalnog lasera –lfk.

b-bevacizumab, **b+lfk**-bevacizumab+laserfotokoagulacija, **lfk**- laserfotokoagulacija,

Vo-vidna oštrina, **CMT**-centralna makularna debljina

Tabela 25. Upareni T-test početnih i krajnjih vrednosti vidne oštine i centralne makularne debljine pre i nakon lfk tretmana u sklopu kombinovanog tretmana b+lfk

t-test	N	Vo mean (Logmar) ± SD	p	CMT mean (µm) ± SD	p
b+lfk 0	53	0.52 ± 0.27	0.631200	366.283 ± 117.195	0.006300
b+lfk 1		0.53 ± 0.28		323.000 ± 134.114	

b+lfk – kombinovani tretman bevacizumabom i laserom pre-0 I nakon 1-dodatok lasera

Vo-vidna oština, **CMT**-centralna makularna debljina

Iz Tabele 25 uočavamo da je u grupi pacijenata kod kojih su oči tretirane prvo bevacizumabom a potom i laserom, učinjena laserfotokoagulacija značajno doprinela redukciji centralne makularne debljine, ali ne i poboljšanju vidne oštine.

Tabela 26. Upareni T-test poređenja vidne oštine i centralne makularne debljine –CMT pre i nakon tretmana pacijenata u grupi mild to moderate NPDR (pacijenata/očiju sa blažom retinopatijom) i u grupi pacijenata severe NPDR-low risc PDR (pacijenata/očiju sa težom retinopatijom). Tretiranih bevacizumabom samostalno ili u sklopu kombinovanog tretmana kao i lasera samostalno.

t-test	N= br.očiju	Vo mean (Logmar) ± SD	p	CMT mean (µm) ± SD	p
b/b+lfk 0 mod	34	0.486 ± 0.292	< 0.0001	443.323 ± 49.500	< 0.0001
b /b+lfk 1 mod		0.318 ± 0.290		326.059 ± 50.618	
b/b+lfk 0 sev	50	0.537 ± 0.411	0.0033	462.360 ± 36.020	< 0.0001
b/b+lfk 1 sev		0.448 ± 0.444		309.820 ± 37.420	
lfk 0 mod	18	0.396 ± 0.360	0.1213	362.250 ± 107.086	0.1604
lfk 1 mod		0.447 ± 0.396		340.250 ± 111.550	
lfk 0 sev	18	0.462 ± 0.345	0.0033	333.778 ± 97.201	0.5486
lfk 1 sev		0.501 ± 0.330		340.333 ± 95.933	

b-bevacizumab, **b+lfk**-bevacizumab+laserfotokoagulacija,**lfk**-laserfotokoagulacija

Vo-vidna oština, **CMT**-centralna makularna debljina

Iz Tabele 26 zaključujemo da se pacijenti/oči tretirane bevacizumabom samostalno ili u kombinaciji sa laser tretmanom značano redukovala centralna debljina makule kako u grupi očiju sa blagom retinopatijom tako i onoj sa teškom retinopatijom($p < 0,0001$). U odnosu na vidnu oštinu u grupi očiju sa blagom retinopatijom poboljšanje je značajno sa nivoom od ($p < 0,0001$) dok je nešto manji porast vidne oštine bio u grupi teškom

retinopatijom ($p < 0,05$). Pacijenti tretirani samo laserom nisu imali značajan pomak u smanjenju edema niti poboljšanju vidne oštine niti u grupi sa blagom niti sa teškom retinopatijom.

4.6. Neželjeni efekti lečenja

Tokom našeg istraživanja ukupno smo aplikovali 207 intravitrealnih inekcija, kod svega 9 (4,35%) na kontroli sledećeg dana uočena je subkonjunktivalna hemoragija. Aplikacija je vršena na 4 mm od limbusa na 12h, te je sufuzija bila ispod gornjeg kapka i samim tim nije predstavljala problem pacijentu niti subjektivno niti estetski. Registrovan je 1 (0,48%) slučaj crtaste erozije kornee, kao i 1 (0,48%) paracentralna lezija zadnje capsule sočiva. Sve ove komplikacije su bile vezane za samo davanje leka odnosno nastale su od uboda igle. Drugih ozbiljnijih za vid opasnih komplikacija kao što su: ruptura mrežnjače i posledična ablacija mrežnjače, vitealno i retinalno krvarenje kao i endoftalmitis, nije bilo tokom našeg istraživanja. Takođe nisu zabeležene potencijalne komplikacije od strane samog leka, kao što su: uveitis, progresija katarakte, okluzija arterije centralis retine, akutni gubitak vida. Nismo imali saznanje o sistemskim neželjenim tromboembolijskim komplikacijama niti o skoku krvnog pritiska.

5. DISKUSIJA

U sklopu dijabetesa zbog nemogućnosti održavanja tkivne homeostaze u retini dolazi do pojave ishemije odnosno hipoksije, a kao odgovor javlja se slom unutrašnje hemato-retinalne barijere. Povećana permeabilnost kapilara dovodi do pojave edema pre svega u makuli. Molekul VEGF je ključni molekul u patogenezi DR i DME on povezuje procese proliferacije i permeabilnosti, odnosno ishemije i inflamacije. Multifaktorijski, kaskadni proces nastanka edema upravo i sam daje odgovor da jedan oblik terapije nemože biti dovoljan u rešavanju ovog velikog problema. Decenije traganja i konačno kreirana biološka terapija u vidu antitela usmerenih na VEGF predstavlja napredan korak. Stari oblik terapije edema makule laserfotokoagulacijom koji indirektno ima za cilj da poboljša oksigenaciju retine, danas želimo da upotpunimo novim oblikom lečenja koji direktno deluje na suštinu problema u etipatogenezi DR i DME, a to je molekul VEGF. Lokalna aplikacija leka u vidu intravitrealne injekcije dovela je do još jednog koraka napred, lek aplikovan u maloj koncentraciji ima veliku efektivnost jer deluje na mestu problema, bez značajnih sistemskih neželjenih efekata. Hroničnost edema svakako upućuje na to da problem ne možemo rešiti jednom aplikacijom već sa ponavljanim dozama. Uz sagledavanje korisnih efekata moramo pratiti i neželjene efekte na lokalnom i na sistemskom nivou. Širenje fovealne avaskularne zone tokom godina u sklopu samog procesa starenja, prevagom ishemijske komponente retinopatije i tokom terapije anti VEGF označava ograničenje.

5.1. Dizajn studije

Naša prospektivno-retrospektivna nasumična klinička studija dizajnirana je tako da se u prvom delu rezultata poredi efikasnost starijeg konvencionalnog načina lečenja dijabetičnog edema makule laserfotokoagulacijom sa novim oblikom- farmakološkim lečenjem samostalno ili u kombinaciji sa fokal/grid laser tretmanom makule. Posebno su izneti rezultati koji se odnose na morfometrijske karakteristike edema, pre svega redukcija edema makule merenog tokom terapije putem OCT –a i prikazane vrednosti u mikronima. Efikasnost terapije osim morfometrijski, iskazivana je i funkcionalno putem promene u vidnoj oštini. Vidna oštrina prikazana je u log Mar jedinicama. U drugom delu poredili smo efikasnost farmakološkog lečenja samostalno sa bevacizumabom

aplikovanog intravitrealno prema kombinovanom tretmanu kao i prema konvencionalnom tretmanu samo laserom.

Ukupno je 101 pacijent uključen u studiju, a 176 oka su tretirana. U eksperimentalnoj grupi bilo je 50 pacijenata, sa 84 oka, a 51 pacijent, odnosno 92 oka tretirana laserom u kontrolnoj grupi. Minimalno praćenje od 6 meseci bilo je sprovedeno kod 72 pacijenta odnosno 120 očiju.

5.2. Analiza uticaja laserfotokoagulacije na dijabetični makularni edem

Istraživačka grupa ranog tretmana dijabetične retinopatije-Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group-ETDRS je još 1985. godine potvrdila da je laserfotokoagulacija makule kod dijabetičnog makularnog edema sa zahvatanjem fovee ili kod edema koji se približava fovei, redukuje za 50% rizik od gubitka vida. Laserfotokoagulacija makule umanjuje rizik sa 24% kod kontrolne grupe na 12% kod grupe kod koje je primenjen laser od gubitka vida i to više ili jednako od 15 slova (3 reda) u trogodišnjem praćenju (62,63). Odnosno kod pacijenta sa klinički signifikantnim edemom ukoliko su netretirani u 25-30% slučajeva u trogodišnjem praćenju postoji rizik od pada vida. Fokalni tretman podrazumeva ciljanu i direktnu laserfotokoagulaciju mikroaneurizmatičkih proširenja koja su u centru fokalnog edema. Grid laser tretman u vidu rešetke makule u celini, preporučan je kod difuznih oblika edema. Grid laser tretman ima za cilj da uništavanjem neurogljalnih elemenata umanjimo zahteve za kiseonikom s jedne strane, a formiranjem horioretinalnih kanala dovedemo do bolje oksigenacije unutrašnje relativno hipoksične retine od strane horoidalne cirkulacije relativno bogate kiseonikom. Upravo grid laser tretman koji je preporučan kod teških difuznih oblika edema nije doveo do željenih i očekivanih rezultata. Sa rezultatima laser terapije nisu bili zadovoljni niti oftalmolozi niti pacijenti. Iako u dugoročnom praćenju postoji efekat na debljinu makule, poboljšanja u vidnoj oštrocini najčešće nema.

Tokom vremena uočeni su nedostaci klasične laserfotokoagulacije te je nastao nešto manje invazivan modifikovani fokal/grid laser tretman, a potom i subthreshold mikropulsni diodni laser tretman nevidljivim laser pečatima- light grid. I pored težnje da laser tretman bude što manje invazivan, on je zapravo veoma destruktivan jer njime

trajno uništavamo vredne neuralne i glijalne elemente izuzetno važne i osetljive regije makule. Pored destruktivnosti laserski tretman rešava problem na indirektan način, a ne suštinski. To su osnovni nedostaci laserskog tretmana makule.

Kontrolna grupa je obuhvatila 50 pacijenata (92 tretirana oka). Kod njih je laserfotokoagulacija po tipu fokal/grid učinjena samo u jednom aktu i to isključivo ciljano prema fluoresceinskoj angiografiji. Nakon toga pratili smo stanje pacijenta subjektivno i objektivno po mesecima na 1,2,3, 6 i 12 meseci. Praćenje je bilo na osnovu morfoloških parametara centralne makularne debljine-CMT, a funkcionalno, praćena je najbolja korigovana vidna oštrina. Praćenje pacijenata kontrolne grupe je trajalo 2 godine, minimalno 6 meseci. U analizi drugih studija javlja se ideja o mogućem unapređenju laser tretmana makule na račun ponavljanja lasera na razmacima od 3-4 meseca. Upravo o tome govori prospektivna, randomizirana, kontrolisana studija praćenja efekta intravitrealno aplikovanog bevacizumaba prema laser tretmanu u lečenju dijabetičnog edema makula BOLT (**b**evacizumab **o**r laser therapy) studija. BOLT studija je trajala dve godine i u toku tog perioda kod pacijenata, odnosno očiju tretiranih samo laserom vršena je dopuna lasera makule sa razmakom od 3-4 meseca. Tokom dve godine praćenja, laserfotokoagulacija je rađena ukupno četiri puta, tri puta u toku prve i još jednom u toku druge godine lečenja. Na taj način moguće je da su dobijeni rezultati bolji od naših u anatomskom smislu, edem je umanjen prosečno za 118 μm u odnosu na naše rezultate od svega 0,9 μm smanjenja centralne makularne debljine. Po pitanju vidne oštine u ovoj studiji rezultati su veoma skromni došlo je do pada vidne oštine od 0,5 slova (0.01 log MAR) u periodu praćenja, u našoj studiji registrovano je pogoršanje od 0,03 log MAR jedinica (241). I u drugim studijama navodi se potencijal grid laser tretmana na resorbovanje edema ali ne i na poboljšanje vidne funkcije

U našoj studiji praćenjem centralne debljine makule možemo uočiti blagi porast edema mesec dana nakon laserfotokoagulacije, potom vraćanje na prvobitno, potom u trećem mesecu porasta edema i do šestog meseca vraćanje na prvobitnu vrednost (tabela 20 i grafikon 15). Sa vidnom oštrinom izraženom u log MAR jedinicama pogoršanje je uočljivo nakon 1 mesec od laserfotokoagulacije, potom vraćanje na prvobitno u drugom mesecu, pogoršanje u trećem mesecu i vraćanje na prvobitno u šestom mesecu. (tabela 21

i grafikon 16). Uporednim t-testom nismo ustanovili statistički značajnu razliku merenih vrednosti na kontrolama u 1, 2, 3, 6 i 12 meseci u odnosu na početnu vrednost OCT-a, odnosno centralnu makularnu debljinu, a isto važi i za promene u vidnoj oštini, koje su bile bez statistički značajne razlike. Zapravo laserfotokoagulacija obezbeđuje stanje stagnacije što odgovara brojnim literaturnim navodima.

Brojne ranije studije navodile su potvrde efikasnost lasera i on je do danas ostao zlatni standard u terapiji DME. Laser makule dovodi do poboljšanja vida kod malog broja pacijenata, ali je njegova primena važna jer sprečava dalju progresiju promena odnosno stabilizuje vidnu oštrinu. Studije potvrđuju da 3 godine nakon inicijalnog laser tretmana makule po tipu „grid“, je vidna oštrina poboljšana kod 14,5% pacijenata, nepromenjena kod 60,9% i smanjena kod 24,6% pacijenata. U našoj studiji u kontrolnoj grupi pacijenata kod očiju sa makularnim edemom tretiranih laserfotokoagulacijom poboljšanje u vidnoj oštini registrujemo kod 13% očiju, kod 44% je uočena stagnacija i kod čak 43% tretiranih očiju registrovan je blagi pad vidne oštine (Grafikon 17). Po literaturnim navodima autori Lee i Olk (1991) naglašavaju da difuzni dijabetični makularni edem nastao kao rezultat difuznog sloma unutrašnje hemoretinalne barijere ima lošu prognozu čak i nakon učinjenog laser tretmana makule po tipu grida (242). Dakle učinak laserfotokoagulacije koji se definiše u najvećem broju slučajeva kao stagnacija i stabilizacija u današnje vreme ne zadovoljava ni pacijente ni oftalmologe. Na osnovu toga započeto je traganje za novim terapijskim modelima. Upravo nadu predstavljaju novi vidovi lečenja: medikamentozni i hirurški tretman dijabetičnog edema makule.

5.3. Analiza uticaja inhibitora VEGF na dijabetični makularni edem

Do pre par godina laserterapija je bila zlatni standard u tretmanu dijabetičnog makularnog edema makule, danas u cilju izbegavanja trajne destrukcije tkiva makule pribegava se novim metodama lečenja edema. Farmakološko lečenje je bilo započeto upotrebom kortikosteroida a potom su glavnu ulogu preuzeli inhibitori VEGF pre svega zbog veće bezbednosti. Upotreba novih bioloških lekova, antitela usmerenih na molekul koji je presudan u nastanku DME predstavlja jedan veliki korak, a veliki napredak je ostvaren i

novim lokalnim načinom davanja leka intravitrealno. Rano lečenje je od velikog značaja za uspeh jer perzistirajući edem vremenom dovodi do trajnih ultrastrukturnih promena u građi makule. Treba imati na umu da inhibitori VEGF potencijalno forsiraju ishemiju, te fluoescenska angiografija mora imati svoje mesto u dijagnostici i praćenju-proširenja fovealne avaskularne zone

Postoji veliki broj studija koje proučavaju efikasnost tretmana inhibitorima VEGF-a na DME. Njihova efikasnost se proučava i poredi sa drugim farmakološkim agensima aplikovanim intravitrealno pretežno iz grupe kortikosteroida (triamcinolon – depo preparat) (202,203,204). Često se poredi i efikasnost različitih anti VEGF agenasa (bevacizuma prema ranibizumabu). Takođe, svi farmakološki tretmani se porede sa efikasnošću konvencionalnog tretmana – laserfotokoagulacijom makule (243,244). Brojne studije ispituju odnos efikasnosti i bezbednosti doze od 1,25mg bevacizumaba prema dozi od 2,5mg (245,246). Efikasnost terapije anti VEGF se proučava i kod rezistentnih edema tretiranih predhodno drugim oblicima lečenja (laserfotokoagulacija makule, triamcinolon aplikovan intravitrealno ili subtenonski, pars plana vitrektomija) (247,248).

Studija koja je po svom dizajnu nalik našoj je studija kliničkih istraživanja iz oblasti dijabetesne retinopatije - Diabetic Retinopathy Clinical Research Network – DRRCR. To je kratka prospektivna, nasumična, multicentrična, klinička studija koja je pokazala efikasnost bevacizumaba u tretmanu DME (187). Uključeno je 109 pacijenata sa DME, poređenje je bilo po gupama; u prvoj grupi bevacizumab je aplikovan u dve doze date sa razmakom od šest nedelja i to u dozi od 1,25 mg, potom u drugoj grupi u jednakom režimu u dozi od 2,5 mg, u trećoj grupi jedna aplikacija bevacizumaba i placebo za šest nedelja, u četvrtoj grupi je data jedna doza bevacizumaba nakon koje je za šest nedelja urađen laserski tretman makule i poslednja grupa pacijenata, odnosno očiju gde je tretman izvršen samo laserfotokoagulacijom. Nakon tri nedelje kod očiju gde je dijabetični edem makule tretiran samo bevacizumabom bez obzira na dozu u odnosu na grupu koja je tretirana samo fokalnim laserom poboljšanje je bilo značajnije, u odnosu na početnu debljinu makule od 411µm, redukcija CMT >11% (granica pouzdanosti) je postignuta kod 43% očiju tretiranih bevacizumabom nezavisno od doze, dok je navedena

redukcija CMT kod očiju tretiranih samo laserom postignuta kod 28% očiju. Vidna oštrina je poboljšana za jedan red. Nije bilo značajne razlike između različitih doza (1,25:2,5mg) u poboljšanju, niti je grupa sa kombinovanim tretmanom pokazala značajnije poboljšanje u odnosu na grupu koja je primila samo bevacizumab. Postoje i druge studije koje su pokazale da primljena doza 1,25:2,5 nije značajna u postizanju bolje vidne oštrine i smanjenju centralne debljine makule (245,246)

Kumar i saradnici (2007) (249) u svom istraživanju analizirali su 20 očiju kod 19 pacijenata, metabolički stabilnih, sa dijagnozom difuznog makularnog edema. Tretirani su sa 1,25 mg bevacizumaba u 0,05ml sa 2 intravitrealne aplikacije date sa razmakom od 6 nedelja. Pacijenti su imali predhodni fokalni ili grid laser tretman makule, ili panretinalnu laserfotokoagulaciju, ali minimalno 6 meseci pre tretmana bevacizumabom i bez funkcionalnog poboljšanja. Srednja početna vrednost za vidnu oštrinu iznosila je 20/494 (log Mar=1.338+/-0.455), a nakon 6 nedelja nakon druge injekcije (3 meseca) 20/295 (log Mar=1.094+/-0.254), razlika je bila visoko statistički značajna $p < 0.001$. Prosečna početna centralna makularna debljina je bila 492 μ m, nakon 3 meseca 377,3+/-113,57, a nakon 6 meseci 369 μ m, $p = 0.001$ Efikasnost tretmana bevacizumabom u ovoj studiji iznosi prosečno 120 μ m sa dve doze leka što je približno vrednostima dobijenim u našoj studiji od 139 μ m.

Faghihi i saradnici (2010) (243) pratili su 40 pacijenata, odnosno 80 tretiranih očiju tokom minimalno 6 meseci. Svaki pacijent je dobio bevacizumab u jedno oko, dok je drugo oko bilo tretirano sa laserom i u istom danu je aplikovan bevacizumab intravitrealno. Autori navode da je na taj način izbegnut uticaj različitih sistemskih faktora na lečenje dijabetičnog makularnog edem, što je veoma preporučljivo ali ne i uvek moguće za praktično izvođenje.

BOLT studija u odnosu na našu studiju ima mnogo duže praćenje 2 godine, prati 80 pacijenata, sa klinički signifikantnim edemom makule. Tokom studije bevacizumab je aplikovan na šest nedelja, ukoliko su vrednosti centralne debljine makule stabilne unutar 20 μ m oscilacije u poslednje 3 posete tretman je završen (241). U našoj studiji medikamentozni tretman smo smatrali završenim ukoliko nismo imali značajniju promenu u OCT-u u zadnje dve posete pacijenta. Ukoliko smo bili zadovoljni sa

centralnom debljinom makule, pacijent je upućivan samo na dalje kontrolne preglede. U slučaju stagnacije debljine makule koja nije zadovoljavajuća, prelazili smo na drugi korak u vidu dodatnog tretmana laserfotokoagulacijom.

Grupa autora (244,247,248) je u svojim istraživanjima ispitala uticaj bevacizumaba na tretman edema rezistentnih na već prethodne tretmane: fokal/grid laserfotokoagulaciju, panretinalnu laserfotokoagulaciju, pars plana vitrektomiju sa pilingom unutrašnje limitantne membrane ili nakon intravitrealno aplikovanih kortikosteroida-triamcinolona. Pomenute studije su pokazale da čak i u uslovima tretiranog edema rezistentnog na prethodne oblike lečenja, bevacizumab dovodi do značajnog poboljšanja. U naše ispitivanje uključivali smo pacijente koji nisu bili prethodno lečeni, sa dijabetičnim makularnim edemom koji je klinički značajan sa zahvatanjem fovee. Stoga predpostavljamo da su i naši rezultati pokazali nešto veće smanjenje centralne makularne debljine i poboljšanje vidne oštrine u odnosu na prethodno navedene studije.

U našoj studiji odlučili smo se za aplikaciju bevacizumaba na 4 do 6 nedelja razmaka, dok se ne dobiju zadovoljavajući rezultati. Potvrdu da u dužem vremenskom intervalu dolazi do povratka edema dao je Roh Mi (250). Ova studija obuhvata 24 pacijenta, 31 oko, posmatrana je promena vidne oštrine u ETDRS slovima i CMT u mikronima nakon date intravitrealne injekcije bevacizumaba. Praćenje je bilo nakon 1, 6, 12 nedelja. Nakon 6 nedelja od date injekcije vidna oštrina je poboljšana za 0.0744 LogMar jedinica ($p=0,019$), CMT je smanjena za $93,30\pm 210,33\mu\text{m}$ ($p=0,022$), ali su se vrednosti vratile na početne ukoliko nije nastavljeno sa terapijom već u 12-toj nedelji. U grupi pacijenata koji su primili drugu inekciju nakon 6 nedelja od prve, nakon 6 nedelja od druge doze porast vidne oštrine je bio značajan iznosio je 0.0794 LogMar ($p=0,006$) i CMT je smanjena za $118\pm 178,58\mu\text{m}$ ($p=0,001$). U 12 nedelji posle druge inekcije zabeležena je ponovna pojava makularnog edema. Ova studija naglašava da je intravitrealno dat bevacizumab efikasan u smanjenju DME i poboljšanju vidne oštrine, ali da se aplikacija mora ponavljati na 6 nedelja odnosno da bi duži intervali bez leka doveli do povratka edema i umanjenog efekta naredne doze (250). U našoj studiji 20 pacijenata je isključeno iz eksperimentalne grupe jer intravitrealnu terapiju bevacizumabom nisu primili u propisanom režimu nakon 4 do 6 nedelje, dakle došlo je do prekida lečenja ili

nepravilnog režima zbog čega su dobijene velike oscilacije u vrednostima centralne makularne debljine koje se ne mogu analizirati i samim tim prikazati.

U Pan-Američkoj studiji kod 16 očiju (20,5%) druga inekcija je data i to sa razmakom prosečno od 13,8 nedelje (4-28), 6 očiju je primilo treću inekciju (7,7%) sa intervalom od 11,5 nedelja (5-20) što upućuje da su inekcije davane kada je došlo do rekurencije edema što je neprihvatljivo jer se efekat naredne doze umanjuje. Ukoliko bi naredna doza bila data navreme pre rekurencije edema svakako bi povećala efekat predhodne doze (245). Većina autora velikih studija - Scot, Hartouglou, Kook, Mehta i Kumar poštuju interval od 6 nedelja za davanje bevacizumaba (187,244,247,248,249).

U eksperimentalnoj grupi, 84 oka su tretirana, 12 sa jednom dozom bevacizumaba, 28 sa dve, 37 sa tri i samo 7 očiju sa četiri doze. Prva i druga grupa su pacijenti sa manjim edemom po kvantitetu te možemo zaključiti da je za njihovo lečenje bilo potrebno manji broj doza bevacizumaba. Treća, a naročito četvrta grupa pacijenata/očiju imaju edem značajnijih razmera, što zahteva lečenje sa više aplikacija. Efikasnost se kretala od 27,8% do 37,9% redukcije centralne makularne debljine, prosečno absolutno izraženo 139,15 μm (31.81%). Sve dobijene krajnje vrednosti se statistički značajno razlikuju u odnosu na one sa početka lečenja.

Prosečna vrednost redukcije centralne makularne debljine za sve tretirane oči u eksperimentalnoj grupi iznosi 139.15 μm (31.81%), što je postignuto sa prosečno 2,46 intravitrealne aplikacije. Kod 34 od 84 oka (40,47%) je postignuta redukcija edema odnosno centralne makularne debljine ispod 250 μm , što odgovara vrednostima u zdravoj populaciji. Jasno je da su broj aplikovanih doza i dužina lečenja u direktnoj srazmeri sa težinom edema. BOLT studija koja je pratila lečenje dijabetičnog edema makule bevacizumabom u odnosu na laserfokoagulaciju, u toku dve godine prikazuje maksimalno dobijenu redukciju centralne makularne debljine od 146 μm u bevacizumab grupi u odnosu na 118 μm u grupi tretiranoj laserom. Ovi rezultati su postignuti sa čak 13 inekcija, 9 u prvoj i 4 u drugoj godini praćenja i lečenja. U grupi tretiranoj konvencionalno, postojala su čak 4 laser tretmana, 3 u prvoj, 1 u drugoj godini lečenja rađeni u razmacima od 3-44 meseca. Iako je ova studija duže pratila pacijente uz dat

veliki broj doza, dobijeni rezultati za stepen smanjenja centralne makularne debljine su slični onim u našoj studiji. Moguće je da su ove vrednosti i maksimalne koje se mogu postići bevacizumabom. U studiji Kumara redukcija debljine makule od 120 μm je postignuta sa dve doze date sa 6 nedelja razmaka uz analizu nakon 6 meseci (249). Hartouglou, Kook i Mehte u svojim studijama iznose da su postigli prosečno smanjenje edema u opsegu od 106-124 μm , a Arvelo u Pan-Američkoj studiji 111 μm , što je takođe slično dobijenim vrednostima u našoj studiji (244,245,247,248).

Osim podele tretiranih pacijenata/očiju po broju primljenih doza, formirali smo grupe na osnovu vrednosti centralne makularne debljine i analizirali terapijski odgovor na bevacizumab u odnosu na početnu centralnu makularnu debljinu. Prva grupa manjih edema <400 μm , pokazuje najmanji stepen redukcije 52,61 μm (16,06%), kod srednje teških oblika edema od 400-500 μm , stepen redukcije je iznosio 153,59 μm (34,12%), dok je najznačajnija redukcija centralne debljine makule bila kod teških edema >500 μm , 224,10 μm (37,18%). Dakle možemo uočiti da sa povećanjem centralne makularne debljine raste terapijski učinak. Krajnje vrednosti se i statistički značajno razlikuju u odnosu na početne.

U studiji iranskih autora, Faghihi i saradnika (2010), redukcija centralne makularne debljine u grupi očiju lečenih samo aplikacijom bevacizumaba iznosi 40 \pm 38 μm dok u kontrolnoj grupi očiju bevacizumab plus laserfotokoagulacija iznosi 43 \pm 13 μm , što je postignuto sa 2,23 odnosno 2,49 inekcije. Ali u ovoj studiji primećujemo da su početne vrednosti edema znatno niže od vrednosti u našoj studiji, u bevacizumab grupi 261 \pm 115 odnosno bevacizumab plus laserfotokoagulacija 270 \pm 93 (243). U našoj studiji početna vrednost edema iznosi 467,32 μm u grupi očiju tretiranih bevacizumabom odnosno 447,24 μm u grupi sa kombinovanim tretmanom. Sa većim početnim vrednostima svakako dobijamo i veći stepen redukcije edema.

Od 84 oka u eksperimentalnoj grupi, laser tretman u sklopu kombinovanog tretmana aplikacijom bevacizumaba i laserfotokoagulacijom makule je primenjen kod 53 oka odnosno kod 63% slučajeva. Laser tretman je usledio 4-6 nedelja nakon poslednje aplikacije bevacizumaba, pri čemu se promena u centralnoj makularnoj debljini se više nije registrovala. Laser je doprineo redukciji CMT sa 366,28 μm na 323,00 μm . Razlika

ove dve vrednosti prema uparenom t-testu je statistički značajna, međutim ANOVA test nije potvrdio ovu značajnost (tabela 11). Na našem uzorku tretiranih pacijenata odnosno očiju, uticaj lasera u sklopu kombinovanog tretmana je značajan.

Studije iz ove oblasti imaju različite rezultate. Studija kliničkih istraživanja iz oblasti dijabetesne retinopatije- Diabetic Retinopathy Clinical Research Network – DRCR, o uticaju bevacizumaba u tretmanu DME navodi da nema razlike u efikasnosti lečenja kada je primenjen samo bevacizumab i ukoliko je intravitrealna aplikacija praćena laser tretmanom (187). Studija iranskih autora kod svakog pacijenta jedno oko tretira bevacizumabom, a drugo bevacizumabom i laserom aplikovanih u jednom danu. Rezultat nije značajno bolji u grupi sa kombinovanim tretmanom (243). Autori navode da je mogući razlog to što nije pravljen razmak između aplikacije bevacizumabom i lasera, kao i da bi u sledećem istraživanju laser odložili za 3 do 4 nedelje od aplikacije inhibitora VEGF kako bi se na terenu redukovano edema makule obezbedili bolji uslovi kako za izvođenje laserfotokoagulacije tako i za njegovo delovanje. Grupa autora iz Koreje takođe navodi da je najbolje vreme za aplikaciju lasera četiri nedelje nakon zadnje intravitrealne inekcije (251).

U pregledu literatue o terapiji dijabetičnog makularnog edema, noviji literaturni podaci govore u prilog kombinovnog tretmana upotrebom intravitrealnih inhibitora VEGF kojom se redukuje debljina makule da bi se stvorili bolji uslovi za manje destruktivan modifikovani fokal/grid laser koji se potom aplikuje.

Pored praćenja uspeha terapije inhibitorima vaskularnog endotelno faktora rasta u odnosu na laser tretman na osnovu stepena redukovanja edema, pratili smo i funkcionalni uspeh, poboljšanju vidne funkcije pre svega vidne oštrine. Vidnu oštrinu naših ispitanika izrazili smo u log Mar jedinicama kako bi dobili rezultate koji bi se mogli porediti sa rezultatima drugih autora.

Promena vidne oštrine nakon 1,2, 3 i 4 doze bevacizumba u log MAR jedinicama se kretala od 0,06 do 1,8, sa prosekom od 0,135, odnosno 35,29% poboljšanja prosečno. Po Snellenu u decimalnom izražavanju razlike svake krajnje dobijene vrednosti vidne oštrine

u odnosu na početnu je statistički značajna, u log MAR jedinicama dobijamo značajnu razliku nakon druge kao i nakon četvte doze aplikovanog bevacizumaba (Tabela 13).

Posmatrajući grupu u celini od 84 tretirana oka, nakon prve doze imali smo poboljšanje vidne oštine od 0,51 do 0,43 log MAR jedinica (-0,08) što je statistički značajno $p < 0,05$. Pacijenti koji su primili i drugu dozu (72 oka) su sa početnih 0,55 imali su poboljšanje na 0,45 log MAR jedinica (-0,09), a razlika je statistički značajna, $p < 0,05$. Pacijenti (44 tretirana oka) koji su primili treću inekciju imali su poboljšanje sa 0,58 na 0,50 log MAR jedinica (-0,08), razlika je statistički značajna, $p < 0,05$. Pacijenti koji su primili četiri doze (svega 9 očiju) imali su poboljšanje vidne oštine sa 0,34 na 0,16 (-0,18), $p < 0,05$. Iz tabele 14 vidimo da je stepen poboljšanja vidne oštine jednak nakon prve, druge kao i treće doze, u relativnim brojevima 15,46%, nakon četvrte doze leka imamo značajnije poboljšanje 53,21%. Ovako dobijena vrednost, iako je izuzetno dobra, ne možemo zaključiti da tek nakon četiri doze sledi značajnije poboljšanje vidne oštine, jer se radi o veoma malom broju očiju u toj grupi. Zbog pomenutog razloga, grupa pacijenata odnosno očiju koja je primila sve četiri doze zbog velikih oscilacija vidne oštine i izrazito nepravilne krive na Grafikonu 11 je izostavljena.

U našoj studiji kod 53 očiju kod kojih je primenjen kombinovani tretman bevacizumab intravitrealno uz laserfotokoagulaciju i pored značajnog udela lasera u smanjenju centralne makularne debljine, razlika u vidnoj oštini nije značajno poboljšana što je potvrđeno uporednim t-testom i ANOVA- Duncanov testom. Hartougrou, Kook i Mehte u svojim studijama gde su ispitali uticaj bevacizumaba na dijabetični edem makule u pogledu vidne oštine dobili su rezultate od 0,05 do 0,11 log MAR jedinica (244,247,248). U našoj studiji najbolja vrednost u postignutoj vidnoj oštini je nešto veća 0.14 log MAR jedinica, pri čemu svakako moramo naglasiti da se predhodne studije odnose na tretman edema već tretirane na drugi način koji su hronični i perzistentni. Studija Hartougrou-a takođe prati dejstvo bevacizumaba na dijabetični edem makule koji je rezistentan na druge primenjene vidove terapije (laserfotokoagulacija makule, panretinalna laserfotokoagulacija, pp vitrektomija i piling membrane limitans interne). Nakon prosečno 2 doze bevacizumaba, centralna makularna debljina se postepeno smanjivala od $501 \pm 163 \mu\text{m}$ do $377 \pm 117 \mu\text{m}$ ($p = 0,001$) u dvanaestoj nedelji, međutim prosečna vidna oština se povećavala sa

0,86±0,38log MAR jedinica na 0,75±0,37 nakon šest nedelja da bi se pogoršala u dvanaestoj nedelji na 0,84±0,41 log MAR jedinica. Promena u vidnoj oštrini nije bila statistički signifikantna, promena u CMT i vidnoj oštrini su bile veoma minimalno u korelaciji ($r = -0.480$ i $P = 0.03$ na 6 nedelje; $r = -0.462$ i $P = 0.07$ na 12 nedelja). U našoj studiji i pored prosečno dobijene vrednosti od 0,135 log MAR jedinice, dobijene vrednosti vidnih oštrina na kraju lečenja u odnosu na početne vrednosti su statistički značajne nakon druge kao i nakon četvte doze bevacizumaba. Odnosno, vidna oštrina ne prati po uspehu anatomske rezultate odnosno smanjenje centralne makularne debljine. Kada posmatramo grupu očiju tretiranih kombinovano (53 oka), iako smo dobili značajno smanjenje centralne makularne debljine uz dodati laser, vidna oštrina je bez statistički značajne promene.

BOLT studija poredi efekat intravitrealno aplikovanog bevacizumaba prema laserfotokoagulaciji makule. Postignuta maksimalna redukcija centralne makularne debljine iznosila je 146 μm , dok je poboljšanje vidne oštrine bilo 8,6 slova- 0.172log MAR jedinica. Moramo imati na umu da je tokom dve godine trajanja ove studije, grupa pacijenata, odnosno očiju lečenih bevacizumabom tretirana sa čak 13 doza danih na 6 nedelja, 9 tokom prve, 4 tokom druge godine lečenja, a stanje je smatrano stabilno tek kada se prihvatljiva vrednost nije menjala u zadnje tri kontrole $\pm 20\mu\text{m}$ (241). U Pan-Američkoj studiji autori zapažaju značajniji pad vidne oštrine u šestom mesecu kod očiju tretiranih sa jednom ili dve doze bevacizumaba, dok oči tretirane sa ti doze imaju stabilnije rezultate. Autori preporučuju da pacijent mora biti tretiran sa barem tri doze po oku (245).

Veoma dobre rezultate po pitanju redukcije centralne makularne debljine i vidne oštrine prikazuju studije u kojima se koristi ranibizumab. Ranibizumab (Lucentis®), je lek registrovan za oftalmološku primenu čija molekulska težina iznosi 1/3 molekulske težine bevacizumaba, te se na taj način objašnjava njegova bolja prodornost kroz retinu i veća efikasnost na hemoretinalnu barijeru kako spoljašnju tako i unutrašnju, s jedne strane, s druge strane, kraće zadržavanje u sistemske cirkulaciji, sa bržom eliminacijom umanjuju verovatnoću za neželjena sistemska dejstva. RESOLVE studija grupe autora (252) pokazuje da je u toku 12 mesečnog praćenja terapije DME ranibizumabom ova terapija

pokazala veliku efikasnost i bezbednost. Tri mesečne injekcije (0,3 ili 0,5 ranibizumaba) su poredene sa placebo. Vidna oštrina maksimalna korigovana je u grupi pacijenata koji su primili ranibizumab je poboljšana na 10,3 \pm 9,1 ETDRS slova (0.206 \pm 0.182 log MAR) u odnosu na pad vida u kontrolnoj grupi od 14,2 slova \pm 1,4 ($p \leq 0.0001$). CMT je redukovana za 194 \pm 135,1 μ m, dok je u kontrolnoj grupi redukcija iznosila 48,4 \pm 153,4 μ m ($p \leq 0.0001$). 60,8% pacijenta tretiranih ranibizumabom je dobilo poboljšanje od 10 ETDRS slova. Iako velike efikasnosti i potvrđene bezbednosti lek se na našim prostorima nekoristi zbog visoke cene, a bevacizumab molekularski veoma sličan iz iste grupe lekova, ostvaruje skoro podjednak terapijski učinak (252).

Veliki efekat na smanjenje edema makule imaju intravitrealno aplikovani kortikosteroidi pre svega triamcinolon. Studija japanskih autora prati pacijente sa jednom aplikovanom dozom intravitrealno 4mg triamcinolona u jedno oko, a u drugo intravitrealno 1,25mg bevacizumaba, iznosi rezultate efikasnosti triamcinolona nakon 4 nedelje 34,4% u redukciji edema, a bevacizumaba 24,2%. Efekat triamcinolona je trajao i do 12 nedelja, znatno duže u odnosu na bevacizumab. U navedenoj studiji autori objašnjavaju da je efikasnost triamcinolona povezana sa njegovim mehanizmom delovanja. Kortikosteroidi na mnogo višem nivou inhibišu kaskadne procese inflamacije i povećane propusnosti time deluju na mnoge citokine i smanjuju edem značajnije u odnosu na inhibiore VEGF. Ali primena triamcinolona koji predstavlja depo preparat dovodi do brojnih neželjenih efekata od kojih najteži skok intraokularnog pritiska. Ubravo zbog veće bezbednosti u primeni zasada prednost u upotrebi imaju inhibitori VEGF (253,254).

5.4. Poređenje rezultata centralne makularne debljine i vidne oštrine kod pacijenata odnosno očiju tretiranih bevacizumabom, kombinovanim tretmanom i laserom

U poslednjoj grupi rezultata pacijente odnosno tretirane oči smo podelili na tri grupe koje smo ponaosob analizirali i međusobom poredili. Grupe su bile sledeće: grupa očiju tretirana samo bevacizumabom, kombinovanim tretmanom bevacizumab uz laser tretman i samo laserom. Analizirani su samo oni pacijenti odnosno oči za koje smo imali sve podatke u svim etapama praćenja. Srednja vrednost redukovanja centralne makularne debljine (CMT) u grupi očiju tretiranih samo bevacizumabom (N=31) iznosi 162,23 μ m,

dok kod očiju tretiranih kombinovano (N=53), redukcija iznosi 124,24 μm , taj rezultat je postignut sa 2,4 doze u bevacizumab grupi, odnosno 2,5 doza u kombinovanoj grupi. Razlika između krajnjih vrednosti u odnosu na početne je statistički značajna u obe navedene podgrupe ($p < 0.001$). U kontrolnoj grupi u kojoj su oči tretirane samo laserom (N=36) smanjenje centralne debljine makule je svega 6,88 μm , što je bez statističke značajnosti. U odnosu na vidnu oštrinu prikazanu u log MAR jedinicama postignut poboljšanje u grupi očiju tretiranih bevacizumabom iznosi 0,161 log MAR jedinica, u grupi očiju tretiranih bevacizumabom i laserom 0,093 log MAR-a. Kod očiju kontrolne grupe tretiranih samo laserom vidna oštrina se pogoršala za 0,046 log MAR jedinica. U grupi tretiranih očiju bevacizumabom krajnja u odnosu na počenu vrednost je statistički značajno različita ($p < 0,0001$), u grupi sa kombinovanim tretmanom razlika je statistički značajna ($p < 0,05$), dok u kontrolnoj grupi razlika je značajna ($p < 0,05$) ali u smislu pogoršanja.

Aplikacija bevacizumaba samostalno bi bila uspešna uvek u početnoj fazi kada je edem najvećim delom retinovaskularne prirode i nastao na račun sloma unutrašnje hemato-retinalne kao što je u našoj grupi očiju, ali najveći broj očiju 53 je zahtevao kombinovani tretman. To znači da su već bojni procesi posledica ishemije, hipoksije i inflamacije već nastupili u vidu sloma barijere, ekstra i intracelularnog nakupljanja tečnosti, smrti ćelija glije pa i neuralnih elemenata, te nakon anti VEGF terapije zbog neadekvatnog odgovora spas smo tražili u laser tretmanu. Na taj način laserom bi uništili sve degenerisane ćelijske elemente i na taj način umanjili zahtev za kiseonikom, glukozom i krvnim protokom.

U studiji iranskih autora redukcija makularnog edema u obe podgrupe je otprilike podjednaka 40,0 μm , ali u pogledu vidne oštine u grupi očiju tretiranih bevaciumabom dobijeno poboljšanje je kao i u našoj studiji 0,138 log Mar dok je u grupi tretiranoj kombinovano poboljšanje veće i iznosi 0,179 log Mar. Iako razlika postoji, ona nije statistički značajna (243). U našoj studiji u grupi tretiranoj samo bevacizumabom dobijamo nešto bolje rezultate i u pogledu centralne makularne debljine kao i vidne oštine. Kako u navedenoj studiji tako i u našoj, cilj kombinovanog tretmana je redukcija makularne debljine inhibitorima VEGF i stvaranje boljih uslova za laser tretman makule,

radi upotrebe što manje snage i što manje destruktivnog dejstva na makulu. S druge strane, učinjeni laser poduzava efekat inhibitora VEGF i umanjuje potrebu za većim brojem inekcija. Autori navode da između dve grupe nije uočena statistički značajna razlika te je predlog prvo davati bevacizumab, a potom uraditi lfc po tipu focal/grid prema FA nakon smanjenja debljine makule, sa razmakom od 2-3 nedelje od poslednje doze. Upravo je to učinjeno u našoj studiji gde je nakon poslednje doze bevacizumaba sa 4-6 nedelja razmakom učinjen laser makule koji je doprineo dodatnom smanjnjju edema sa 363.3 na 323.0 μm (Tabela 25) ($p < 0.05$).

U cilju analize uticaja težine dijabetesne retinopatije na terapijski odgovor edema, formirali smo dve grupe: prva sa blagom retinopatijom (DRNP mild-početna i moderate-umerena), druga sa težim oblicima retinopaije (DRNP severe i PDR "low risc"). U obe grupe (blaža i teža forma DR) tretiranih očiju bevacizumabom, u pogledu centralne makularne debljine krajnje vrednosti su statistički značajne u odnosu na početne $p < 0,0001$, što se tiče vidne oštine statistički se značajno razlikuje krajnja vrednost u odnosu na početnu kod blagog oblika retinopatije $p < 0,0001$, dok je težih oblika značajnost razlike $p < 0,05$. U obe forme DR, kod pacijenata odnosno očiju tretiranih laserom u pogledu CMT i V_0 značajne razlike krajnjih u odnosu na početne vrednosti nije bilo. Zapravo, u pogledu vidne oštine je došlo do pogoršanja. U Pan-Američkoj studiji koja je pratila efekat intravitrealno aplikovanog bevacizumaba ANOVA analizom nije utvrđena statistička značajnost u redukciji edema kod očiju sa NPDR u odnosu na one sa PDR (panretinalni laser je rađen minimalno 6 meseci pre ulaska u studiju) (245).

5.5. Drugi faktori od važnosti za ishod lečenja

U slučaju kada nismo uspeli da dobijemo adekvatan terapijski odgovor upotrebom navedenih oblika lečenja, moguće objašnjenje pokušali smo da pronađemo u različitim faktorima - samim uzorkom, ispitanicima, dužinom trajanja bolesti, tipom dijabetesa, stepenom regulacije, kao i prisustvom dodatnih faktora rizika.

Rezultati dobijeni u ovoj studiji, u grupi ispitanika kod kojih je dijabetični makularni edem tretiran inhibitorima VEGF sa ili bez laser tretmana, pokazuju da čak 70,5%

pacijenta pripada starosnim kategorijama od 40-50 i 50-60 godina života. Pacijenti kontrolne grupe su nešto stariji i u toj grupi 61,2% pacijenata pripada starosnim kategorijama od 50-60 i od 60-70 godina. Ovi podaci su u skladu sa literaturnim koji govore o tome da su DR i DME vodeći uzročnici slepila među radno aktivnom populacijom od 45 do 65 godine (1,4,5).

Pacijenti u našoj studiji su prosečno bolovali od dijabetesa u eksperimentalnoj grupi 14,5 godina, u kontrolnoj 16,2 godine, što govori u prilog tome da se prve komplikacije dijabetesa u smislu retinopatije i edema makule obično javljaju tek posle 10 godina trajanja bolesti, a naročito postaju učestale posle 13 godine trajanja osnovne bolesti, na šta ukazuju i literaturni podaci (2,255). Viskonsin epidemiološka studija o dijabetesnoj retinopatiji - Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy je utvrdila da tokom 10 godina trajanja bolesti, oboleli od DM tipa 1 razvijaju DME u 20,1% slučajeva, pacijenti sa DM tipom 2 na oralnim hipoglikemicima u 13,9% slučajeva dok pacijenti sa DM tipom 2 na insulinu u najvećem postotku kod 25,4% slučajeva (68-71).

Pacijenti tretirani bevacizumabom imali su prosečnu vrednost HbA1c 7,9%, a tretirani laserom 7,8%. Ove vrednosti su značajno veće od prihvatljivih. Internacionalna federacija za dijabetes (The International Diabetes Federation) kao i američki endokrinološki centar (American College of Endocrinology) preporučuje da vrednosti HbA1c za dijabetičare budu obavezno ispod 6,5%, dok American Diabetes Association propagira da je cilj dugoročne kontrole održavati vrednost HbA1c ispod 7% (što odgovara prosečnoj glikemiji ispod 8 mmol/l) (72, 97). Klein i saradnici (2009) navode da je svako povećanje nivoa HbA1c za 1% povezano sa 22% većim rizikom od nastanka DME (71). U našoj studiji faktor isključenja je vrednost HbA1c 11% i više, zbog toga što ovaj faktor ima veliki metabolički uticaj na propusnost krvnih sudova, te se ne može proceniti uticaj lokalnih oblika lečenja. Brojne studije takođe navode visoku vrednost HbA1c kao jedan od faktora isključenja.

Osim regulacije dijabetesa procenjujane na osnovu HbA1c, kao i dužine trajanja DM, od značaja za pojavljivanje DME je i tip DM odnosno vrsta terapije (insulin, oralni hipoglikemici ili dijeta). Najveći procenat pacijenata u studiji (u eksperimentalnoj grupi

61% u kontrolnoj grupi 62%) su pacijenti sa tipom 2 DM sekundarno insulin zavisni. Ovo su ujedno i najteži pacijenti koji su godinama bili lečeni peroralnom terapijom, veoma kasno su prešli na insulinsku terapiju, te su dugo vremena imali hiperglikemiju. Takođe, uz starost, kao i brojne druge faktore rizika kao što su hipertenzija i hiperlipoproteinemija, ovi pacijenti često razvijaju brojne komplikacije DM, između ostalog i teške oblike edema makule. Viskonsin epidemiološka studija o dijabetesnoj retinopatiji je iznela podatke da prevalenca DME za obolele od tipa tipa 1 DM je 0,0% ukoliko je trajanje DM 5 godina, ali se učestalost povećava na 29% ukoliko je prošlo 20 godina od postavljanja dijagnoze. Kod pacijenata sa tipom 2 DM, 2-8,2% ima DME ukoliko je trajanje osnovne bolesti do 5 godina, ali taj procenat raste na 28% ukoliko je trajanje dijabetesa preko 20 godina (68-71).

Učestalost dijabetičnog makularnog edema se povećava sa težinom stepena dijabetične retinopatije. U našoj studiji kod obe grupe ispitanika imamo polovinu pacijenata sa blagim i umerenim oblikom neproliferativne forme, i drugu polovinu sa težom ishemičnom formom neproliferativne odnosno preproliferativne retinopatije kao i početnom proliferativnom formom. Proliferativnu retinopatiju visokog rizika kao i uznapredovalu nismo uključivali u studiju zbog neophodnog i hitnog panretinalnog laser tretmana koji ima veliki uticaj na makulu tako što pogoršava edem. Na taj način nebi bili u mogućnosti da analiziramo uticaj inhibitora VEGF na edem makule kombinovane ili laser teapije isključivo, ponaosob. Viskonsin epidemiološka studija o dijabetesnoj retinopatiji ukazuje da je prevalenca DME kod blagog oblika neproliferativne dijabetične retinopatije (mild nonproliferative diabetic reinopathy - NPDR) kod 3% očiju, potom kod umerenog do teškog oblika (moderate to severe NPDR) u 38% očiju i čak 71% očiju razvija DME kod pacijenata sa proliferativnom dijabetičnom retinopatijom-PDR (68-71)

Neki od takođe značajnih faktora za nastanak i progresiju DME su i: arterijska hipertenzija, dislipidemija, mikroalbuminurija odnosno proteinurija (71). Na našem uzorku hipertenzija je u eksperimentalnoj grupi bila prisutna u čak 94% ispitanika, hiperlipoproteinemija kod 70% što je izuzetno visoka učestalost. Brojne studije povrdile su povezanost arterijske hipertenzije i incidence DME (83-87). Istraživanja ukazuju na

važnost antihipertenzivne terapije, a posebno se naglašava pozitivan uticaj lekova inhibitora angiotenzin II konvertujućeg enzima (88).

Hiperlipidemija, kao jedan od značajnih faktora, je dokazano povezana sa pojavom dijabetesne makulopatije, te kontrola serumskog nivoa lipida u krvi svakako može usporiti progresiju makularnog edema i smanjiti količinu tvrdih lipidnih depozita (89-93).

5.6. Predlozi za dalja istraživanja

Pored efikasnosti tretmana, svakako bi trebalo proučavati i dužinu dejstva pojedinih oblika lečenja, efikasnost pojedinih oblika lečenja kao i kombinovanih tretmana, nastaviti praćenje neželjenih dejstava lekova lokalnih i sistemskih. Većina studija koje se odnose na ispitivanje novih oblika lečenja su na malim serijama. Potrebne su velike prospektivne nasumične studije na velikom broju slučajeva. Mnoge studije prikazuju pozitivne rezultate po pitanju smanjenja edema ali samo morfološki, funkcionalno poboljšanje nije uvek proporcionalan morfološkom. Šta učiniti da se da se unapredi funkcionalni oporavak makule. Još veći zahtevi su pred nama, postoje predlozi za kvalitetnu procenu vidne funkcije makule gde se pored vidne oštine, pratiti kvalitet vida na blizinu kroz sposobnost i brzinu čitanja. Da li je odgovor u pravovremenom delovanju i pravilno odabranom tretmanu. Da li bi primena inhibitora VEGF kao samostalni vid terapije bila dovoljna ukoliko bi se primenila u ranoj fazi. Savladavanjem sloma unutrašnje hemoretinalne bi bilo jednostavno i brzo od strane anti VEGF agenasa. Šta je sa cistoidnim edemom koji je intracelulanog porekla i uzrokovan je ishemijom? Da li u tim okolnostima upotrebom anti VEGF lečimo ili produbljujemo ishemiju i hipoksiju? Kako da tretiramo primarno ishemičnu formu makulopatije?

Za dalja istraživanja dobar uvod nam je dala studija Koreanskih autora koja ispituje korelaciju terapijske efikasnosti inhibitora VEGF – bevacizumaba na smanjenje edema i tip edema (difuzni, cistoidni, mešoviti, sa seroznim odlubljenjem neuroretine). Upravo povezujući morfologiji edema sa etiologijom odnosno difuzni edem-slom unutrašnje hemoretinalne barijere, serozno odlubljenje neuroretine-popuštanje spoljašnje hemoretinalne barijere, cistoidni-intracelularni citotoksični edem (251).

DME je veliki problem jer predstavlja vodeći uzročnik slepila među radno aktivnom populacijom, zemalja u razvoju i razvijenih zemalja. Laserska fotokoagulacija do danas predstavlja zlatni standard u lečenju DME. Napori se ulažu u novije vreme da lečenje bude što manje invazivno i da redukcijom energije imamo i manje neželjenih efekata (light i subthreshold laser). Ove modifikacije laser tretmana u studijama nisu pokazale efikasnost veću u odnosu na konvencionalni laser u pogledu poboljšanja vidne oštine i makularne debljine u lečenju DME. Veliku inovaciju u lečenju svih oboljenja zadnjeg segmenta pa i DME predstavlja novi oblik aplikacije lekova-intravitrealna aplikacija. Inhibitori VEGF su dali jednu novu dimenziju lečenju DME, jedan veliki iskorak. Upravo zato što je molekul VEGF ključni faktor u patofiziološkom mehanizmu nastanka dijabetičnog makularnog edema. Optička koherentna tomografija, moćno dijagnostičko sredstvo je u velikoj meri unapredila saznanja o tipovima DME. OCT je neophodan u detekciji ranog subkliničkog edema, kao i u proceni efekta terapije uz kvantifikaciju. Zapravo saznanja koja je donela fluoresceinska angiografija prikazom barijera u horizontalnoj ravni upotpunila je optička koherentna angiografija sagledavajući barijere po vertikali. Kompleksnost u etiopatogenezi dijabetičnog edema makule uslovljava različite i kombinovane terapijske procedure radi što celovitijeg pristupa i većeg terapijskog uspeha, a to je i preporuka ove studije.

6. ZAKLJUČCI

1. Tretman lekovima iz grupe inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta aplikovanih u vidu intravitrealnih injekcija samostalno ili u vidu kombinovanog tretmana sa laserfotokoagulacijom u cilju lečenja dijabetičnog edema makule dovodi do značajnog redukovanja centralne makulane debljine u odnosu na laser terapiju samostalno
2. Pored redukcije centralne debljine makule lekovi iz grupe inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta aplikovani samostalno ili u sklopu kombinovanog tretmana su doveli do značajanog porasta vidne oštine za razliku od lasera primenjenog kao monoterapija.
3. Edemi sa većom početnom centralnom debljinom makule su zahtevali veći broj intravitrealnih aplikacija lekova iz grupe inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta
4. Kod edema sa većom početnom centralnom debljinom makule je dobijena značajnija redukcija debljine makule nakon tretmana
5. Prosečna redukcija centralne debljine makule kod eksperimentalne grupe tretirane intravitrealnim aplikacijama bevacizumaba samostalno ili u kombinaciji se laserfotokoagulacijom u našoj studiji iznosi **139,15** μm
6. Prosečni porast vidne oštine tretiranih očiju pacijenata eksperimentalne grupe iznosio je **0.156** po Snellen-u, odnosno **0,135** log MAR jedinica.
7. Kontrolna grupa tretirana samo laserom pokazuje stagnaciju tokom praćenja kako u vrednostima centralne debljine makule tako i u odnosu na vidnu oštrinu
8. Tretman inhibitorima vaskularnog endotelnog faktora rasta je efikasan i bezbedan u terapiji dijabetičnog makularnog edema
9. Na osnovu potvrđene efikasnosti i bezbednosti tretman inhibitorima vaskularnog endotelnog faktora rasta sa ili bez laserfotokoagulacije, se preporučuje kao novi protokol lečenja dijabetičnog makularnog edema

7. PRILOZI

Prilog 1. Tabela na osnovu koje je vršena konverzija decimalnog izraza vidne oštine po Snellenu u log MAR jedinice radi lakše statističke obrade, analize i poređenja sa rezultatima drugih autora

Vidna oština			
Stope	Metri	Decimale	LogMAR
20/200	6/60	0.10	1.00
20/160	6/48	0.125	0.90
20/125	6/38	0.16	0.80
20/100	6/30	0.20	0.70
20/80	6/24	0.25	0.60
20/63	6/19	0.32	0.50
20/50	6/15	0.40	0.40
20/40	6/12	0.50	0.30
20/32	6/9.5	0.63	0.20
20/25	6/7.5	0.80	0.10
20/20	6/6	1.00	0.00
20/16	6/4.8	1.25	-0.10
20/12.5	6/3.8	1.60	-0.20
20/10	6/3	2.00	-0.30

Prilog 2. Formular za prikupljanje podataka o pacijentima

Ime i Prezime _____

Godina rođenja, starost _____

Tip DM _____ Dužina trajanja DM _____ Dužina Insulinske Th _____

Šuk _____ HbA1c _____

Dodatne internističke bolesti: HTA da/ne ; hyperlipoproteinemia da/ne ; gojaznost da/ne
anemija da/ne ; pušenja da/ne, ostalo _____

Prvi pregled, datum _____

Klinička dijagnoza, stepen DR _____

Klinički DME _____

Vod _____ Vos _____

Tod _____ Tos _____

FA, opis,
datum _____

OCT o.dex/o.sin _____ ; _____

Avastin aplikacija I doza

o.dex. _____ ; o.sin _____ (datum)

Prva kontrola (datum) _____ Vod _____ Vos _____

OCT I o.dex. _____ o.sin _____

Klinički izgled: o.dex. _____ o.sin _____

Avastin aplikacija II doza

o.dex. _____ o.sin _____ (datum)

Kontrola
(datum) _____ Vod _____ Vos _____

OCT II
o.dex. _____ o.sin _____

Klinički izgled
o.dex. _____ o.sin _____

Avastin aplikcija III doza
o.dex. _____ o.sin _____ (datum)

Kontrola(datum) _____ Vod _____ Vos _____

OCT III o.dex. _____ o.sin _____

Klinički izgled: o.dex. _____ o.sin _____

LFC maculae grid/focal,o.dex. _____ o.sin _____ (datum)

Kontrola 1
Vod _____ Vos _____

OCT _____ OCT _____

Kontrola 3
Vod _____ Vos _____

OCT _____ OCT _____

Kontrola 6
Vod _____ Vos _____

OCT _____ OCT _____

FA
opis,datum _____

Napomena/neželjeni efekti _____

8. LITERATURA

1. Klein R. Retinopathy in a population-based study. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1992;90:561-94.
2. Girach A, Lund-Andersen H. Diabetic macular edema: a clinical overview. *Int J Clin Pract* 2007;61:88-97.
3. Williams R, Airey M, Baxter H, Forrester J, Kennedy-Martin T, Girach A. Epidemiology of diabetic retinopathy and macular edema: a systemic review. *Eye* 2004;18:963-83.
4. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27:1047-53
5. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998;21:1414-31.
6. Schmetterer L, Kiel JW, editors. Ocular blood flow. Heidelberg: Springer; 2012.
7. Kunisaki M, Bursell SE, Clermont AC, Ishii H, Ballas LM, Jirousek MR, et al. Vitamin E prevents diabetes-induced abnormal retinal blood flow via the diacylglycerol-protein kinase C pathway. *Am J Physiol* 1995; 269(2 Pt 1):E239-46.
8. Coscas G, Chuna-Vaz J, Loewenstein A, Soubrane G, editors. Macular edema - A practical approach. Basel: Karger; 2010.
9. Robinson WGJ, Kador PF, Kinoshita JH. Retinal capillaries: basement membrane thickening by galactosemia prevented with aldose reductase inhibitor. *Science* 1983;221:1177-9.
10. Gabbay KH. The sorbytol pathway and the complications of diabetes. *N Engl J Med* 1973;288:831-6.
11. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 1988;318:1315-21.

12. Lu M, Kuroki M, Amano S, Tolentino M, Keough K, Kim I, et al. Advanced glycosylated end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest* 1998;101:1219-24.
13. Deinum J, Derkx FH, Danser AH, Schalekamp MA. Identification and quantification of renin and prorenin in the bovine eye. *Endocrinology* 1990;126:1673–82.
14. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. The trigger for neovascularization in the eye. *Lab Invest* 1995;72:615–8.
15. Caldwell RB, Bartoli M, Behzadian MA, El-Remessy AE, Al-Shabrawey M, Platt DH, Caldwell RW. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Diabetes Metab Res Rev* 2003;19:442-5.
16. Gardner TW, Antonetti DA, Barber AJ, LaNoue KF, Levison SW. Diabetic retinopathy: more than meets the eye. *Surv Ophthalmol* 2002;47(Suppl 2):S253-62.
17. Tilton RG, Chang K, Hasan KS, Smith SR, Petrash JM, Misko TP, Moore WM, et al. Prevention of diabetic vascular dysfunction by guanidines: inhibition of nitric oxide synthase versus advanced glycation end-product formation. *Diabetes* 1993;42(2):221-32.
18. Engerman RL, Kern TS. Experimental galactosemia produces diabetic-like retinopathy. *Diabetes* 1984;33:97-100.
19. Cheung AK, Fung MK, Lo AC, Lam TT, So KF, Chung SS, Chung SK. Aldose reductase deficiency prevents diabetes-induced blood-retinal barrier breakdown, apoptosis, and glial reactivation in the retina of db/db mice. *Diabetes* 2005;54:3119–25.
20. Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, Freeman WM, Gardner TW, Jefferson LS, et al. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes* 2006;55(9):2401-11.
21. Sulochana KN, Ramakrishnan S, Rajesh M, Coral K, Badrinath SS. Diabetic retinopathy: Molecular mechanism, present regime of treatment and future perspectives. *Curr Sci* 2001;80(2):133-42.

22. Krentz AJ, Baily CJ. Microvascular complications In: Krentz AJ, Baily CJ, editors. Type 2 Diabetes in Practise. *The Royal Society of Medicine Press*; 2001. chap 6, p 65-87.
23. Chew EY. Pathophysiology of diabetic retinopathy. In: Le Roith D, Taylor SI, Olefski JM, editors. *Diabetes Mellitus, a fundamental and clinical text*. Lippincott Williams and Wilkins; 2nd ed. 2000. chap 90, p. 890-8.
24. Browniee M, Vlassara H, Kooney A. Aminoguanidine prevents diabetes induced arterial wall protein cross-linking. *Science* 1986;232:1629.
25. Chari SW, Nath N, Rathi AB. Glutathione and its redox system in diabetic polymorphonuclear leucocytes. *Am J Med Sci* 1984;287:14-5.
26. Jennings PE, Chirico S, Jones AF, Lunec J, Barnett AH. Vitamin C metabolites and microangiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1987;6:151-4.
27. Warso MA, Lands WEM. Lipid peroxidation in relation to prostacyclin and thromboxane physiology and pathophysiology. *Br Med Bull* 1983;39:277-80.
28. Cai J, Boulton M. The pathogenesis of diabetic retinopathy: old concepts and new questions. *Eye* 2002;16(3):242-60.
29. Kowluru RA, Odenbach S. Role of Interleukin-1 beta in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1343-7.
30. Joussem AM, Poulaki V, Ly Le M, Koizumi K, Esser C, Janicki H, et al. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *The FASEB Journal* 2004;18:1450-2.
31. Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, Takagi H, Iwamoto MA. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1538-44.
32. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *The FASEB Journal* 1999;13(1):9-22.

33. Grant MB, Afzal A, Spoerri P, Pan H, Shaw LC, Mames RN. The role of growth factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Expert Opin Investig Drugs* 2004;13:1275-93.
34. Brown JC, Solomon SD, Bressler SB, Schachat AP, Di Bernardo C, Bressler NM. Detection of diabetic foveal edema: contact lens biomicroscopy compared with optical coherent tomography. *Arch Ophthalmol* 2004;122:330-5.
35. Gonzalez ME, Gonzalez C, Stern MP, Arredondo B, Martinez S. Mexico City diabetes study retinopathy group: Concordance in diagnosis of diabetic retinopathy by fundus photography between retina specialis and a standardized reading center. *Arch Med Res* 1995;26:127-31.
36. Yannuzzi LA, Rohrer KJ, Tinder LJ, Sobel RS, Constanza MA, Shields W, Zang E. Fluorescein angiography complications survey. *Ophthalmology* 1986;93:611-7.
37. Cunha-Vaz JG, Travassos A. Breakdown of the blood retinal barriers and cystoid macular edema. *Surv Ophthalmol* 1984;28:485-92.
38. Guyer D, Yannuzzi LA, Chang S, Shields JA, Green WR. *Retina-Vitreous-Macula*, 1st ed. Philadelphia: Saunders; 1999.
39. Bhagat N, Grigorian RA, Tutela A, Zarbin MA. Diabetic macular edema: pathogenesis and treatment. *Surv Ophthalmol* 2009;54:1-32.
40. Richard G, Soubrane G, Yannuzzi L. *Fluorescein and ICG Angiography: Textbook and Atlas*. 2nd ed. New York: Thieme;1998.
41. Antonetti DA, Lieth E, Barber AJ, Gardner TW. Molecular mechanisms of vascular permeability in diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol* 1999;14:240-8.
42. Weinberger D, Kramer M, Priel E, Gatton DD, Axer-Siegel R, Yassur Y. Indocyanin green angiographic findings in nonproliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1998;126:238-47.

43. Delori FC, Dorey CK, Staurengi G, Arend O, Goger DG, Weiter JJ. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:718-29.
44. Huang D, Swanson E, Lin C, Schuman JS, Stinson WG, Scang W, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991;254:1178-81.
45. Fercher AF, Hitzenberger CK, Drexler W, Kamp G, Sattmann H. In vivo optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 1993;116(1):113-4.
46. Swanson EA, Izatt JA, Hee MR, Huang D, Lin CP, Schuman JS, et al. In vivo retinal imaging by optical coherence tomography. *Opt Lett* 1993;18(21):1864-6.
47. Puliafito CA, Hee MR, Lin CP, Reichel E, Schuman JS, Duker JS, et al. Imaging of macular disease with optical coherence tomography. *Ophthalmology* 1995;102:217-29.
48. Schuman JS, Puliafito CA, Fujimoto JG. Optical coherence tomography of ocular disease. 2nd ed. Thorofare: Slack Incorporated;2004.
49. Gaucher D, Tadayoni R, Erginay A, Haouchine B, Gaudric A, Massin P. Optical coherence tomography assessment of the vitreoretinal relationship in diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2005;139:807-13.
50. Uchino E, Uemura A, Ohba N. Initial stages of posterior vitreous detachment in healthy eyes of older persons evaluated by optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1475-9.
51. Otani T, Kishi S, Maruyama Y. Patterns of diabetic macular with optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 1999;127:688-93.
52. Ozdemir H, Karacorlu M, Karacorlu S. Serous macular detachment in diabetic cystoid macular oedema. *Acta Ophthalmol Scand* 2005;83:63-6.
53. Catier A, Tadayoni R, Paques M, Erginay A, Haouchine B, Gaudric A, et al. Characterization of macular edema from various etiology by optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2005;140(2):200e1-9.

54. Gaucher D, Sebah C, Erginay A, Hauochine B, Tadayoni R, Gaudric A, Massin P. Optical coherence tomography features during the evolution of serous retinal detachment in patients with diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2008;145(2):289-96.
55. Hee MR, Puliafito CA, Wong C, Duker JS, Reichel E, Rutledge B, et al. Quantitative assessment of macular edema with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1019-29.
56. Hee MR, Puliafito CA, Duker JS, Reichel E, Coker JG, Wilkins JR, et al. Topography of diabetic macular edema with optical coherence tomography. *Ophthalmology* 1998;105:360-70.
57. Otani T, Kishi S, Maruyama Y. Patterns of diabetic macular edema with optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 1999;127:688-93.
58. Bolz M, Schmidt-Efurth U, Deak G, Mylonas G, Kriechbaum K, Scholda C. Optical coherence tomographic hyperreflective foci: a morphologic sign of lipid extravasation in diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2009;116:914-20.
59. Pannicke T, Iandiev I, Uckermann O, Biedermann B, Kutzera F, Wiedemann P, et al. A potassium channel linked mechanism of glial cell swelling in the postischemic retina. *Mol Cell Neurosci* 2004;26:493-502.
60. Jousseaume AM, Smyth N, Nyessen C. Pathophysiology of diabetic macular edema. *Dev Ophthalmol* 2007;39:1-12.
61. Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Global diabetic retinopathy project group: proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003;110:1677-82.
62. 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* 1991;98(5):786-806.

63. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Photocoagulation for diabetic macular edema. ETDRS Report No 1. *Arch Ophthalmol* 1985;103:1796-1806.
64. Bhagat N, Grigorian RA, Tutela A, Zarbin MA. Diabetic macular edema: pathogenesis and treatment. *Surv Ophthalmol* 2009;54:1-32.
65. Weinberger D, Fink-Cohen S, Gatton D, Priel E, Yassur Y. Non-retinovascular leakage in diabetic maculopathy. *Br J Ophthalmol* 1995;79:728-31.
66. Lewis H, Abrams GW, Blumenkranz MS, Campo RV. Vitrectomy for diabetic macular traction and edema associated with posterior hyaloid traction. *Ophthalmology* 1992;99:753-9.
67. Harbour JW, Smiddy WE, Flynn HWJ, Rubsamen PE. Vitrectomy for diabetic macular edema associated with a thickened and taut posterior hyaloid membrane. *Am J Ophthalmol* 1996;121:405-13.
68. Klein R, Moss SE, Klein BE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy 11. The incidence of macular edema. *Ophthalmology* 1989;96(10):1501-10.
69. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruick-Shanks KJ. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy 15. The long-term incidence of macular edema. *Ophthalmology* 1995;102:7-16.
70. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruick-Shanks KJ. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy 17. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *Ophthalmology* 1998;105(10):1801-15.
71. Klein R, Knudtson MD, Lee KF, Gangnon R, Klein BEK. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy 23. The twenty five year incidence of macular edema in persons with type 1 diabetes. *Ophthalmology* 2009;116(3):497-503.
72. American Diabetes Association. Implications of the United Kingdom prospective diabetes study (Position Statement). *Diabetes Care* 1999;(S1):27-31.

73. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes (Position Statement). *Diabetes Care* 2004;27(Suppl1):S15–S35.
74. Diabetic Control and Complication Trial/Epidmiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group: Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trail of intensive therapy. *N Engl J Med* 2000;342:381-9.
75. Diabetic Control and Complication Trial Research Group: Hypoglycemia in the Diabetic Control and Complication Trial. *Diabetes* 1997;46:271-86.
76. Diabetic Control and Complication 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;329:977-86.
77. Diabetic Control and Complication Trial Research Group. Progression of retinopathy with intensive versus conventional treatment in the Diabetes Control and Complication Trial. *Ophthalmology* 1995;102:647-61.
78. Diabetic Control and Complication Trial Research Group. The absence of a glycemic threshold for the development of long-term complications: The perspective of the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 1996;45:1289–98.
79. White NH, Sun W, Cleary PA, Danis RP, Davis MD, Hainsworth DP, et al. Prolonged effect of intensive therapy on the risk of retinopathy complications in patient with type 1 diabetes mellitus: 10 years after the Diabetic Control and Complication Trial. *Arch Ophthalmol* 2008;126:1707-15.
80. UK Posperspective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood-glucose controle with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatmant and risc of complications in patient with type 2 diabetes UKPDS 33. *Lancet* 1998;352:837-53.
81. Koenig RJ, Peterson CM, Kilo C, Cerami A, Williamson JR. Hemoglobin A1c as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 1976;25(3):230-2.

- 82.** Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek C, Lehrman M, Cerami A. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1976;295(8):417-20.
- 83.** Vitale S, Maguire MG, Murphy RP, Hiner CJ, Rourke L, Sackett C, Patz A. Clinically significant macular edema in type 1 diabetes: incidence and risk factors. *Ophthalmology* 1995;102(8):1170-6.
- 84.** Aroca PR, Salvat M, Fernandez J, Mendez I. Risk factors for diffuse and focal macular edema. *J Diabetes Complicat* 2004;18:211-5.
- 85.** Roy MS, Affouf M. Six-year progression of retinopathy and associated risk factors in African American patients with type 1 diabetes mellitus: the New Jersey 725. *Arch Ophthalmol* 2006;124:1297-306.
- 86.** Matthews DR, Stratton IM, Aldington SJ, Holman RR, Kohner EM, UK Prospective Diabetes Study Group. Risk of progression of retinopathy and visual loss related to tight control of blood pressure in type 2 diabetes mellitus: UKPDS 69. *Arch Ophthalmol* 2004;122(11):1631-40.
- 87.** Estacio RO, Jeffers BW, Gifford N, Schrier RW. Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23(Suppl 2):B54-64.
- 88.** Sjolie AK. Prospect for angiotenzin receptors blockers in diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;67:S31-S39.
- 89.** Chew EY, Klein ML, Ferris FL 3rd, Remaley NA, Murphy RP, Chantri K, et al. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy. Early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) Report 22. *Arch Ophthalmol* 1996;114(9):1079-84.
- 90.** Sen K, Misra A, Kumar A, Pandey RM. Simvastatin retards progression of retinopathy in diabetic patients with hypercholesterolemia. *Diabetes Res Clin Pract* 2002;56:1-11.

91. Rechtman E, Harris A, Garzosi Hj, Ciulla TA. Pharmacologic therapies for diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Clin Ophthalmol* 2007;1:383-91.
92. Klein R, Sharrett AR, Klein BEK, Moss SE, Folsom AR, Wong TY, et al. The association of atherosclerosis, vascular risk factors, and retinopathy in adults with diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Ophthalmology* 2002;109(7):1225-34.
93. Cusick M, Chew EY, Chan CC, Kruth HS, Murphy RP, Ferris FL 3rd. Histopathology and regression of retinal hard exudates in diabetic retinopathy after reduction of elevated serum lipid levels. *Ophthalmology* 2003;110(11):2126-33.
94. West KM, Erdich LJ, Stober JA. A detailed study of risk factors for retinopathy and nephropathy in diabetes. *Diabetes* 1980;29:501-8.
95. Knuiman MW, Welborn TA, McCann VJ, Stanton KG, Konstale IJ. Prevalence of diabetic complications in relation to risk factors. *Diabetes* 1986;35(12):1332-9.
96. Cruickshanks KJ, Ritter LL, Klein R, Moss SE. The association of microalbuminuria with diabetic retinopathy: The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology* 1993;100:862-7.
97. Klein R, Moss SE, Klein BE. Is gross proteinuria a risk factor for the incidence of proliferative diabetic retinopathy? *Ophthalmology* 1993;100:1140-6.
98. Romero P, Baget M, Mendez I, Fernandez J, Salvat M, Martinez I. Diabetic macular edema and its relationship to renal microangiopathy: a sample of type I diabetes mellitus patient in a 15-year follow-up study. *J Diabetes Complicat* 2007;21(3):172-80.
99. Klein R, Klein BE, Davis MD. Is cigarette smoking associated with diabetic retinopathy? *Am J Epidemiol* 1983;118:228-38.
100. Moss SE, Klein R, Klein BE. Cigarette smoking and ten-year progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1996;103:1438-42.

- 101.** Hughes PM, Olejnik O, Chang-Lin JE, Wilson CG. Topical and systemic drug delivery to the posterior segments. *Adv Drug Deliv Rev* 2005;57(14):2010-32.
- 102.** Collin J. The role of NSAIDs in the management of postoperative ocular inflammation. *Drugs* 2007;67:1291-308.
- 103.** Ku EC, Lee W, Kothari HV, Scholer DW. Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. *Am J Med* 1986;80:18-23.
- 104.** Bialek S, Quong JN, Yu K, Miller SS. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs alter chloride and fluid transport in bovine retinal pigment epithelium. *Am J Physiol* 1996;270(4):C1175-89.
- 105.** Wolfensberger TJ, Herbort CP. Treatment of cystoid macular edema with nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids. *Doc Ophthalmol* 1999;97:381-6.
- 106.** Haynes RC Jr, Murad F. Adrenocorticotrophic hormone: adrenocortical steroids and their synthetic analogs: inhibitors of adrenocortical steroid biosynthesis. In: Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F, editors. *The pharmacological basis of therapeutics*. New York: Macmillan;1985, p.1459-89.
- 107.** Nehme A, Edelman J. Dexamethason inhibits high glucose, TNF- α and IL-1 β induced secretion of inflammatory and angiogenic mediators from retinal microvascular pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:2030-8.
- 108.** Antonetti DA, Barber AJ, Khin S, Lieth E, Tarbell JM, Gardner TW. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occluding content: vascular endothelial growth factor decreases occluding in retinal endothelial cells. Penn State Retina Research Group. *Diabetes* 1998;47(12):1953-9.
- 109.** Antonetti DA, Wolpert EB, DeMaio L, Harhaj NS, Scaduto RC Jr. Hydrocortisone decreases retinal endothelial cell water and solute flux coincident with increased content and decreased phosphorylation of occludin. *J Neurochem* 2002;80(4):667-77.

- 110.** Nauck M, Karakiulakis G, Perruchoud AP, Papakonstantinou E, Roth M. Corticosteroids inhibit the expression of the vascular endothelial growth factor gene in human vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 1998;341(2-3):309-15.
- 111.** Felinski EA, Antonetti DA. Glucocorticoid regulation of endothelial cell tight junction gene expression: novel treatments for diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2005;30:949-57.
- 112.** Miyamoto N, Iossifov D, Metge F, Behar-Cohen F. Early effects of intravitreal triamcinolone on macular edema: mechanistic implication. *Ophthalmology* 2006;113(11):2048-53.
- 113.** Mizuno S, Nishiwaki A, Morita H, Miyake T, Ogura Y. Effects of periocular administration of triamcinolone acetonide on leukocyte-endothelium interactions in the ischaemic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2831-6.
- 114.** Antonetti DA, Wolpert EB, DeMaio L, Harhaj NS, Scaduto RC Jr. Hydrocortisone decreases retinal endothelial cell water and solute flux coincident with increased content and decreased phosphorylation of occluding. *J Neurochem* 2002;80:667-77.
- 115.** Edelman JL, Lutz D, Castro MR. Corticosteroids inhibit VEGF-induced vascular leakage in a rabbit model of blood- retinal and blood-aqueous barrier breakdown. *Exp Eye Res* 2005;80:249-58.
- 116.** Nauck M, Roth M, Tamm M, Eickelbeg O, Wieland H, Stulz P, Perruchoud AP. Induction of vascular endothelial growth factor by platelet-activating factor and platelet-derived growth factor is downregulated by corticosteroids. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:398-406.
- 117.** Audren F, Ergimay A, Haochine B, Benosman R, Conrath J, Bergmann JF, et al. Intravitreal triamcinolone acetonide for diffuse macular oedema: 6 month results of a prospective controlled trial. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84(5):624-30.
- 118.** Jonas JB, Kamppetes BA, Harder B, Vossmerbaeumer U, Sauder G, Spandau UH. Intravitreal triamcinolone acetonide for diabetic macular edema: a prospective randomized study. *J Ocul Pharmacol Ther* 2006;22:200-7.

- 119.** Gilles MC, Sutter FK, Simpson JM, Larson J, Ali H, Zhu M. Intravitreal triamcinolone for refractory diabetic macular edema: two-year results of a double-masked, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Ophthalmology* 2006;113:1533-8.
- 120.** Avitabile T, Longo A, Reibaldi A. Intravitreal triamcinolone compared with macular laser grid photocoagulation for the treatment of cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol* 2005;140:695–702.
- 121.** Diabetic Retinopathy Clinical Research Network: A randomized trial comparing intravitreal triamcinolone acetonide and focal/grid photocoagulation for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2008;115:1447-9.
- 122.** Kaderli B, Avci R, Gelisken O, Yucel AA. Intravitreal triamcinolone as an adjunct in the treatment of concomitant proliferative diabetic retinopathy and diffuse diabetic macular oedema. Combined IVTA and laser treatment for PDR with CSMO. *Int Ophthalmol* 2005;26(6):207–14.
- 123.** Bandello F, Polito A, Pognuz DR, Monaco P, Dimastrogiovanni A, Paissios J. Triamcinolone as adjunctive treatment to laser panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 2006;124(5):643–50.
- 124.** Zein WM, Nouredin BN, Jurdi FA, Schakal A, Bashshur ZF. Panretinal photocoagulation and intravitreal triamcinolone acetonide for the management of proliferative diabetic retinopathy with macular edema. *Retina* 2006;26(2):137–42.
- 125.** Choi KS, Chung JK, Lim SH. Laser photocoagulation combined with intravitreal triamcinolone acetonide injection in proliferative diabetic retinopathy with macular edema. *Korean J Ophthalmol* 2007;21:11–7.
- 126.** Iida T. Combined triamcinolone acetonide injection and grid laser photocoagulation: a promising treatment for diffuse diabetic macular oedema? *Br J Ophthalmol* 2007;91:407–8.
- 127.** Lam DS, Chan CK, Mohamed S, Lai TY, Lee VY, Liu DT, et al. Intravitreal triamcinolone plus sequential grid laser versus triamcinolone or laser alone for treating diabetic macular edema six-month outcomes. *Ophthalmology* 2007;114(12):2162-7.

- 128.** Beer PM, Bakri SJ, Singh RJ, Liu W, Peters GB 3rd, Miller M. Intraocular concentration and pharmacokinetics of triamcinolone acetonide after a single intravitreal injection. *Ophthalmology* 2003;110:681-6.
- 129.** Jonas JB, Kampeter BA, Harder B, Vossmerbaeumer U, Sauder G, Spandau UH. Intravitreal triamcinolone acetonide for diabetic macular edema: a prospective, randomized study. *J Ocul Pharmacol Ther* 2006;22(3):200–7.
- 130.** Jager RD, Aiello LP, Patel SC, Cunningham ET Jr. Risks of intravitreal injections: a comprehensive review. *Retina* 2004;24(5):676-98.
- 131.** Bonini-Filho MA, Jorge R, Barbosa JC, Calucci D, Cardillo JA, Costa RA. Intravitreal injections versus sub-Tenon's infusion of triamcinolone acetonide for refractory diabetic macular edema: a randomized clinical trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3845-9.
- 132.** Cox SN, Hay E, Bird AC. Treatment of chronic macular edema with acetazolamide. *Arch Ophthalmol* 1988;106:1190-5.
- 133.** Wolfensberger TJ, Dmitriev AV, Govardovskii VI. Inhibition of membrane-bound carbonic anhydrase decreases subretinal pH and volume. *Doc Ophthalmol* 1999;97:261-71.
- 134.** Yamamoto F, Steinberg RH. Effects of intravenous acetazolamide on retinal pH in the cat. *Exp Eye Res* 1992;54:711-8.
- 135.** Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669–76.
- 136.** Miyamoto K, Khosrof S, Bursell SE, Moromizato Y, Aiello LP, Ogura Y, Adamis AP. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced retinal vascular permeability is mediated by intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). *Am J Pathol* 2000;156(5):1733–9.

137. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983;219(4587):983–5.
138. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989;246(4935):1306–9.
139. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:851–8.
140. Azzouz M, Ralph GS, Storkebaum E, Walmsley LE, Mitrophanous KA, Kingsman SM, et al. VEGF delivery with retrogradely transported lentivector prolongs survival in a mouse ALS model. *Nature* 2004;429(6990):413–17.
141. Ding XM, Mao BY, Jiang S, Li S, Deng Y. Neuroprotective effect of exogenous vascular endothelial growth factor on rat spinal cord neurons *in vitro* hypoxia. *Chin Med J* 2005;118(19):1644–50.
142. Karkkainen MJ, Makinen T, Alitalo K. Lymphatic endothelium: a new frontier of metastasis research. *Nat Cell Biol* 2002;4:E2–5.
143. Olofsson B, Korpelainen E, Pepper MS, Mandriota SJ, Aase K, Kumar V, et al. Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) binds to VEGF receptor-1 and regulates plasminogen activator activity in endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(20):11709–14.
144. Bauer SM, Bauer RJ, Liu ZJ, Chen H, Goldstein L, Velazquez OC. Vascular endothelial growth factor-C promotes vasculogenesis, angiogenesis, and collagen constriction in three-dimensional collagen gels. *J Vasc Surg* 2005;41(4):699–707.
145. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380(6573):435–9.

146. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol* 2002;29:10–4.
147. Yonekura H, Sakurai S, Liu X, Migita H, Wang H, Yamagishi S, et al. Placenta growth factor and vascular endothelial growth factor B and C expression in microvascular endothelial cells and pericytes. Implication in autocrine and paracrine regulation of angiogenesis. *J Biol Chem* 1999;274(49):35172–8.
148. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci* 2005;109:227–41.
149. Keyt BA, Berleau LT, Nguyen HV, Chen H, Heinsohn H, Vandlen R, Ferrara N. The carboxyl-terminal domain (111-165) of vascular endothelial growth factor is critical for its mitogenic potency. *J Biol Chem* 1996;271(13):7788–95.
150. Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G, Klagsbrun M. Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 1998;92(6):735–45.
151. Zhang HT, Scott PA, Morbidelli L, Peak S, Moore J, Turley H, et al. The 121 amino acid isoform of vascular endothelial growth factor is more strongly tumorigenic than other splice variants in vivo. *Br J Cancer* 2000;83(1):63–8.
152. Fairbrother WJ, Champe MA, Christinger HW, Keyt BA, Starovasnik M. Solution structure of the heparin-binding domain of vascular endothelial growth factor. *Structure* 1998;6(5):637–48
153. Houck KA, Leung DW, Rowland AM, Winer J, Ferrara N. Dual regulation of vascular endothelial growth factor bioavailability by genetic and proteolytic mechanisms. *J Biol Chem* 1992;267:26031–7.

- 154.** Gogat K, Le Gat L, Van Den Berghe L, Marchant D, Kobetz A, Gadin S, et al. VEGF and KDR gene expression during human embryonic and fetal eye development. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(1):7–14.
- 155.** Demir R, Kayisli UA, Cayli S, Huppertz B. Sequential steps during vasculogenesis and angiogenesis in the very early human placenta. *Placenta* 2006;27(6-7):535–9.
- 156.** Meeson AP, Argilla M, Ko K, Witte L, Lang RA. VEGF deprivation-induced apoptosis is a component of programmed capillary regression. *Development* 1999;126:1407–15.
- 157.** Martin AC, Thornton JD, Liu J, Wang HF, Zuo J, Jablonski MM, et al. Pathogenesis of persistent hyperplastic primary vitreous in mice lacking the arf tumor suppressor gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(10):3387–96.
- 158.** Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T, Keshet E. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 1995;15(7):4738–47.
- 159.** Gerhardt H, Golding M, Fruttiger M, Ruhrberg C, Lundkvist A, Abramsson A, et al. VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *J Cell Biol* 2003;161(6):1163–77.
- 160.** Murata T, Nakagawa K, Khalil A, Ishibashi T, Inomata H, Sueishi K. The temporal and spatial vascular endothelial growth factor expression in retinal vasculogenesis of rat neonates. *Lab Invest* 1996;74(1):68–77.
- 161.** Jakeman LB, Winer J, Bennett GL, Altar CA, Ferrara N. Binding sites for vascular endothelial growth factor are localized on endothelial cells in adult rat tissues. *J Clin Invest* 1992;89(1):244–53.
- 162.** Baffert F, Le T, Sennino B, Thurston G, Kuo CJ, Hu-Lowe D, McDonald DM. Cellular changes in normal blood capillaries undergoing regression after inhibition of VEGF signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290(2):H547–59.

- 163.** Blaauwgeers HG, Holtkamp GM, Rutten H, Witmer AN, Koolwijk P, Partanen TA, et al. Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris. Evidence for a trophic paracrine relation. *Am J Pathol* 1999;155(2):421–8.
- 164.** Kim I, Ryan AM, Rohan R, Amano S, Agular S, Miller JW, Adamis AP. Constitutive expression of VEGF, VEGFR-1, and VEGFR-2 in normal eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(9):2115–21.
- 165.** Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, Yamada H, Yamada E, Okamoto N, et al. Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization. *Am J Pathol* 2000;156(2):697–707.
- 166.** Rosenfeld P, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, Kim RY. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1419–31.
- 167.** Brown DM, Kaiser PK, Michels M, Soubrane G, Heier JS, Kim RY, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1432–44.
- 168.** Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, Feinsod M, Guyer DR. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004;351:2805–16.
- 169.** Rakic JM, Lambert V, Devy L, Lutun A, Karmeliet P, Claes C, et al. Placental growth factor, a member of the VEGF family, contributes to the development of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(7):3186–93.
- 170.** Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994;331(22):1480–7.

171. Boyd SR, Zachary I, Chakravarthy U, Allen GJ, Wisdom GB, Cree IA, et al. Correlation of increased vascular endothelial growth factor with neovascularization and permeability in ischemic central vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 2002;120(12):1644–50.
172. Noma H, Minamoto A, Funatsu H, Tsukmamoto H, Nakano K, Yamashita H, Mishima HK. Intravitreal levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 are correlated with macular edema in branch retinal vein occlusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244(3):309–15.
173. Kvanta A, Algvare PV, Berglin L, Seregard S. Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37(9):1929–34.
174. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, D’Amico DJ, Folkman J, Yeo TK, Yeo KT. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1994;118(4):445–50.
175. Gardner TW, Antonetti DA, Barber AJ, LaNoue KF, Levison SW. Diabetic retinopathy: more than meets the eye. *Surv Ophthalmol* 2002;47(Suppl 2):S253-62.
176. Grant MB, Afzal A, Spoerri P, Pan H, Shaw LC, Mames RN. The role of growth factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Expert Opin Investig Drugs* 2004;13:1275-93.
177. Antonetti DA, Barber AJ, Khin S, Lieth E, Tarbell JM, Gardner TW. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occludin content: vascular endothelial growth factor decreases occludin in retinal endothelial cells. Penn State Retina Research Group. *Diabetes* 1998;47:1953-9.
178. Antonetti DA, Barber AJ, Hollinger LA, Wolpert EB, Gardner TW. Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occluding and zonula occluden 1. *J Biol Chem* 1999;274:23463-7.

- 179.** Harhaj NS, Felinski EA, Wolpert EB, Sundstrom JM, Gardner TW, Antonetti DA. VEGF activation of protein kinase C stimulates occluding phosphorylation and contributes to endothelial permeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:5106-15.
- 180.** Lakshminarayanan S, Antonetti DA, Gardner TW, Tarbell JM. Effect of VEGF on retinal microvascular endothelial hydraulic conductivity: the role of NO. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:4256-61.
- 181.** Cordero Coma M, Sobrin L, Onl S, Christen W, Foster CS: Intravitreal Bevacizumab for treatment of uveitic macular edema. *Ophthalmology* 2007; 114:1574-1579
- 182.** Mason JO 3rd, Albert MA Jr, Vail R. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for refractory pseudophakic cystoid macular edema. *Retina* 2006;26:356-7.
- 183.** Rodriguez-Fontal M, Alfaro V, Kerrison JB, Jablon EP. Ranibizumab for diabetic retinopathy. *Curr Diabetes Rev* 2009;5:47-51.
- 184.** Spide RF, Chang LK, Klancnik JM, Yannuzzi LA, Sorenson J, Slakter JS, Freund KB, Klein R. Prospective study of intravitreal ranibizumab as a treatment for decreased visual acuity secondary to central retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol* 2009;147:298-306.
- 185.** Funatsu H, Yamashita H, Nakamura S, Mimura T, Eguchi S, Noma H, Hori S.. Vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2006;113(2):294–301.
- 186.** Cunningham ET Jr, Adamis AP, Altaweel M, Aiello LP, Bressier NM, D'Amico DJ, et al. A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an anti-vascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2005;112(10):1747-57.
- 187.** Scott IU, Edwards AR, Beck RW, Bressler NM, Chan CK, Elman MJ, et al. A phase II randomized clinical trial of intravitreal bevacizumab for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2007;114(10):1860-7.

- 188.** Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 2006;113(10):1695-705.e6
- 189.** Chen E, Park CH. Use of intravitreal bevacizumab as a preoperative adjunct for tractional retinal detachment repair in severe proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 2006;26:699–700.
- 190.** Krzystolik MG, Filippopoulos T, Ducharme JF, Loewenstein JI. Pegaptanib as an adjunctive treatment for complicated neovascular diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 2006;124(6):920–1.
- 191.** Fung AE, Rosenfeld PJ, Reichel E. The international intravitreal bevacizumab safety survey: using the internet to assess drug safe. *Br J Ophthalmol* 2006;90(11):1344-9.
- 192.** Rich RM, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, Dubovy SR, Davis JL, Flynn HW, et al. Short-term safety and efficacy of intravitreal bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Retina* 2006;26(5):495–511.
- 193.** US Food and Drug Administration. MedWatch. Barron H, Genentech. Important Drug Warning [Online]. [cited on 2006 May 20]; Available from: URL:http://www.fda.gov/medwatch/SAFETY/2005/Avastin_dearhcp.pdf
- 194.** Michels S, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, Markus EN, Venkatraman AS. Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration twelve-week results of an uncontrolled open-label clinical study. *Ophthalmology* 2005;112(6):1035–47.
- 195.** Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M. Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006;26(3):257–61.
- 196.** Shahar J, Avery RL, Heilweil G, Barak A, Zemel E, Lewis G, et al. Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006;26(3):262–9.

- 197.** Maturi RK, Bleau LA, Wilson DL. Electrophysiologic findings after intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment. *Retina* 2006;26:270–4.
- 198.** Spitzer MS, Wallenfels-Thilo B, Sierra A, Yoeruek E, Peters S, Henke-Fahle S, et al. Antiproliferative and cytotoxic properties of bevacizumab on different ocular cells. *Br J Ophthalmol* 2006;90:1316-21.
- 199.** Luthra S, Narayanan R, Marques LE, Chwa M, Kim DW, Dong J, et al. Evaluation of in vitro effects of bevacizumab (Avastin) on retinal pigment epithelial, neurosensory retinal, and microvascular endothelial cells. *Retina* 2006;26(5):512–8.
- 200.** Heier JS, Antoszyk AN, Pavan PR, Leff SR, Rosenfeld PJ, Ciulla TA, et al. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. *Ophthalmology* 2006;113(4):633.e1-4.
- 201.** Economides AN, Carpenter LR, Rudge JS, Wong V, Koehler-Stec EM, Hartnett C, et al. Cytokine traps: multi-component, high-affinity blockers of cytokine action. *Nat Med* 2003;9(1):47-52.
- 202.** Holash J, Davis S, Papadopoloulus N, Croll SD, Ho L, Russell M, et al. VEGF - Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(17):11393-8.
- 203.** Stewart MW, Rosenfeld PJ. Predicted biological activity of intravitreal VEGF Trap. *Br J Ophthalmol* 2008;92:667-8.
- 204.** Do DV, Nguyen QD, Shah SM, Browning DJ, Haller JA, Chu K, et al. An exploratory study of the safety, tolerability and bioactivity of a single intravitreal injection of vascular endothelial growth factor Trap-eye in patient with diabetic macular edema. *Br J Ophthalmol* 2009; 93(2):144-9.
- 205.** Reich SJ, Fosnot J, Kuroki A, Tang W, Yang X, Maguire AM, et al. Small interfering RNA targeting VEGF effectively inhibits ocular neovascularization in a mouse model. *Mol Vis* 2003; 9:210-6.
- 206.** Singerman LJ. Combination therapy using the small interfering RNA bevasiranib. *Retina* 2009;29(Suppl):49-50.

- 207.** Singerman LJ. Intravitreal Bevasiranib in exudative age-related macular degeneration or diabetic macular edema. 25th Annual Meeting of the American Society of the Retina Specialists: Indian Wells;2007.
- 208.** New and in-development treatments for diabetic maculaar edema. [Online]. [cited on 2009 Apr 4]; Available from:
URL:<http://www.retinalphysician.com/article.aspx?article=101898>
- 209.** Lindstedt EW, Baarsma GS, Kuijpers RW, van Hagen PM. Anti-TNF-alpha therapy for sight threatening uveitis. *Br J Ophthalmol* 2005;89:533-6.
- 210.** Theodossiadis PG, Markomichelakis NN, Sfikakis PP. Tumor necrosis factor antagonists:prelimary evidence for an emerging approach in the treatment of ocular inflammation. *Retina* 2007;27:399-413.
- 211.** Giasanti F, Ramazzotti M, Vannozzi L, Rapizzi E, Fiore T, Iaccheri B, et al. A pilot study on ocular safety of intravitreal infliximab in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(3):1151-6.
- 212.** Stefansson E, Loftsson T. The Stokes-Einstein equation and the physiological effects of vitreous surgery. *Acta Ophthamol Scand* 2006;84:718-9.
- 213.** Quiram PA, Leverenz VR, Baker RM, Dang L, Giblin FJ, Trese MT. Microplazmin-induced posterior vitreous detachment affects vitreous oxygen levels. *Retina* 2007;27:1090-6.
- 214.** Bhisitkul RB. Vascular endothelial growth factor biology: clinical implications for ocular treatments. *Br J Ophthalmol* 2006;**90**:1542-7.
- 215.** Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. *Arch Ophthalmol* 1985;103:1796-806.
- 216.** Kang SW, Park SY, Ham DI. The correlation between fluorescein angiographic and optical coherence tomographic features in clinically significant diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2004; 137:313-22.

217. Jittpoonkunson T, Garcia P, Rosen RB. Correlation between fluorescein angiography and spectral domain optical coherence tomography in the diagnosis of cystoid macular edema. *Br J Ophthalmol* 2010;94:1197-200.
218. Stefansson E. The therapeutic effect of retinal laser treatment and vitrectomy. A theory based on oxygen and vascular physiology. *Acta Ophthalmol Scand* 2001;79:435-40.
219. Bandello F, Polito A, Del Borrillo M, Zemella N, Isola M. "Light versus "classical" laser treatment for clinically significant diabetic macular edema. *Br J Ophthalmol* 2005;89:864-70.
220. Wilson DJ, Finkelstein D, Quigley HA, Green RW. Macular grid photocoagulation. An experimental study on the primate retina. *Arch Ophthalmol* 1988;106:100-5.
221. Guyer DR, D'Amico DJ, Smith CW. Subretinal fibrosis after laser photocoagulation for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 1992;113:652-6.
222. Han DP, Mieler WF, Burton TC: Submacular fibrosis after photocoagulation for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 1992;113:513-521
223. Gottfredsdottir MS, Stefansson E, Jonnason F, Gislason I. Retinal vasoconstriction after laser treatment for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 1993;115:64-7.
224. Xiao M, McLeod D, Cranley J, Williams G. Growth factors staining patterns in the pig retina following retina laser photocoagulation. *Br J Ophthalmol* 1999;83:728-36.
225. Ogata N, Ando A, Uyama M, Matsumura M. Expression of cytokines and transcription factors in photocoagulated human retinal pigment epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239:87-95.
226. Lee C, Olk RJ. Modified grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema. Long-term visual results. *Ophthalmology* 1991;98:1594-602.

- 227.** Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group: Treatment techniques and clinical guidelines for photocoagulation of diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 2. *Ophthalmology* 1987;94:761-74.
- 228.** Ferris FL 3rd, Davis MD. Treating 20/20 eyes with diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol* 1999;117:675-6.
- 229.** Writing Committee for the Diabetic Retinopathy Clinical Research Network: Comparison of modified early treatment diabetic retinopathy study and mild macular grid laser photocoagulation strategies for diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol* 2007;125:469-80.
- 230.** Schatz H, Madeira D, Mc Donald R. Progressive enlargement of laser scars following grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1549-51.
- 231.** Fong DS, Segal PP, Myers F, Ferris FL, Hubbard LD, Davis MD. Subretinal fibrosis in diabetic macular edema. ETDRS report number 23. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Arch Ophthalmol* 1997;115(7):873-7.
- 232.** Dorin G. Subthreshold and micropulse diode laser photocoagulation. *Semin Ophthalmol* 2003;18:147-53.
- 233.** Lewis H, Abrams GW, Blumenkranz MS, Campo RV. Vitrectomy for diabetic macular traction and edema associated with posterior hyaloid traction. *Ophthalmology* 1992;99:753-9.
- 234.** Van Effenterre G, Guyot-Argenton C, Guiberteau B, Hany I, Lacotte JL. Macular edema caused by contraction of the posterior hyaloids in diabetic retinopathy. Surgical treatment of a series of 22 cases. *J Fr Ophthalmol* 1993;16(11):602-10.
- 235.** Pendergast SD, Hassan TS, Williams GA, Cox MS, Margherio RR, Ferrone PJ, et al. Vitrectomy for diffuse diabetic macular macular edema associated with a taut premacular posterior hyaloid. *Am J Ophthalmol* 2000;130(2):178-86.

- 236.** Kumar A, Sinha S, Azad R, Sharma YR, Vohra R. Comparative evaluation of vitrectomy and dye-enhanced ILM peel with grid laser in diffuse diabetic macular edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:360-8.
- 237.** Patel JJ, Hykin PG, Schadt M, Luong V, Bunce C, Fitzke F, Gregor ZJ. Diabetic macular oedema: pilot randomized trial of pars plana vitrectomy vs macular argon photocoagulation. *Eye (Lond)* 2006;20(8):873-81.
- 238.** Stolba U, Binder S, Gruber D, Krebs I, Aggermann T, Neumaier B. Vitrectomy for persistent diffuse diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2005;140:295-301.
- 239.** Thomas D, Bunc C, Moorman C, Laidlaw DA. A randomized controlled feasibility trial of vitrectomy versus laser for diabetic macular edema. *Br J Ophthalmol* 2005;89:81-6.
- 240.** Yanyli A, Nohutcu AF, Horozoglu F, Celik E. Modified grid laser photocoagulation versus pars plana vitrectomy with internal limiting membrane removal in diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2005;139:795-801.
- 241.** Rajendram R, Fraser-Bell S, Kaines A. A 2-year prospective randomized controlled trial of intravitreal bevacizumab or laser therapy (BOLT) in the management of diabetic macular edema: 24-month data: report 3. *Arch Ophthalmol* 2012;130(8):972-9.
- 242.** Lee CM, Olk RJ. Modified grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema. Long term visual results. *Ophthalmology* 1991;98:1594-602.
- 243.** Faghihi H, Esfahani MR, Harandi ZA, Madani S. Intravitreal bevacizumab vs. combination of intravitreal bevacizumab plus macular photocoagulation in clinically significant diabetic macular edema: 6 months results of a randomized clinical trial. *Iranian J Ophthalmol* 2010;22(1):21-6.
- 244.** Haritoglou C, Kook D, Neubauer A, Wolf A, Priglinger S, Strauss R, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) therapy for persistent diffuse diabetic macular edema. *Retina* 2006;26(9):999-1005.

- 245.** Arevalo JF, Sanchez JG, Wu L, Maia M, Alezzandrini AA, Brito M, et al. Primary intravitreal bevacizumab for diffuse diabetic macular edema: the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 24 months. *Ophthalmology* 2009;116(8):1488-97.
- 246.** Lam DS, Lai TY, Lee VY, Chan CK, Liu DT, Mohamed S, Li CL. Efficacy of 1,25 vs. 2,5 mg intravitreal bevacizumab for diabetic macular edema: six –month results of randomized controlled trial. *Retina* 2009;29(3):292-9.
- 247.** Kook D, Wolf A, Kreutzer T, Neubauer A, Strauss R, Ulbig M, et al. Long-term effect of intravitreal bevacizumab (Avastin) in patients with chronic diffuse diabetic macular edema. *Retina* 2008;28(8):1053-60.
- 248.** Mehta S, Blinder KJ, Shah GK, Kymes SM, Schlief SL, Grand MG. Intravitreal bevacizumab for the treatment of refractory diabetic macular edema. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2010;41:323-9.
- 249.** Kumar A, Sinha S. Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment of diffuse diabetic macular edema in an Indian population. *Indian J Ophthalmol* 2007;55(6):451-5.
- 250.** Roh MI, Byeon SH, Kwon OW. Repeated intravitreal injection of bevacizumab for clinically significant diabetic macular edema. *Retina* 2008;28:1314-8.
- 251.** Lee SJ, Kim ET, Moon SY. Intravitreal bevacizumab alone versus combined with macular photocoagulation in diabetic macular edema. *Korean J Ophthalmol* 2011;25(5):299-304.
- 252.** Massin P, Bandello F, Garweg J, Hansen L, Harding SP, Larsen M, et al. Safety and efficacy of ranibizumab in diabetic macular edema (RESOLVE Study). *Diabetes Care* 2010;33:2399–405.
- 253.** Shimuraa M, Nakazawab T, Yasudaa K, Shionoc T, Iidad T, Sakamotoe T, Nishidab K. Comparative therapy evaluation of intravitreal bevacizumab and triamcinolone acetate on persistent diffuse diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* Volume 2008;145(5):854-61.

254. O'Doherty M, Dooley I, Hickey-Dwyer M. Interventions for diabetic macular oedema: a systematic review of the literature. *Br J Ophthalmol* 2008;92:1581-90.

255. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Drash AL, Ellis D, et al. Prevalence of complications in IDDM by sex and duration. Pittsburg epidemiology of diabetes complications study II. *Diabetes* 1990;39:1116-24.