



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE**  
**FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**

---

*Scuola di Dottorato di Ricerca in “Medicina e Chirurgia”  
Corso di Dottorato di Ricerca in “Salute dell’Uomo” XXIX ciclo (XV ciclo n.s.)  
Coordinatore: Prof. Armando Gabrielli*

*Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica  
Scuola di Specializzazione in Oftalmologia  
Direttore: Prof. Alfonso Giovannini*

**Laser Giallo Micropulsato come coadiuvante  
nella terapia intravitreale nel trattamento degli  
edemi maculari**

RELATORE: CHIAR.MO

***PROF. ALFONSO GIOVANNINI***

TESI DI DOTTORATO DI:

***EDOARDO DEFRANCO***

Anno Accademico 2015-2016

*Alla mia piccola Margherita,  
alla mia amata moglie Caterina,  
alla mia cara dolce mamma Susanna,  
al mio caro maestro papà Nicola,  
al mio geniale fratello Alessandro,  
al mio caro consigliere zio Carlo,  
ai miei cari mentori Luca e Marco Borgioli,  
al prode Binelli  
e a tutti quelli che mi vogliono bene.*

# INDICE

INTRODUZIONE.....	4
CAPITOLO I .....	9
I.1. CENNI DI ANATOMIA DELLA MACULA .....	9
I.2. FISIOPATOLOGIA DELL'EDEMA MACULARE.....	11
I.3. APPROCCIO GENERALE AL PAZIENTE CON EDEMA MACULARE .....	12
I.4. DIAGNOSI STRUMENTALE.....	12
I.4.1. FLUORANGIOGRAFIA (FAG) .....	13
I.4.2. ANGIOGRAFIA AL VERDE INDOCIANINA (ICG) .....	14
I.4.3. TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA (OCT) .....	17
I.4.4. ANGIO – OCT .....	20
CAPITOLO II.....	23
II.1. FISIOPATOLOGIA DELL'AMD E DELLE MEMBRANE NEOVASCOLARI SOTTORETINICHE.....	23
II.1.1. L'ANGIOGENESI .....	34
II.1.2. ANGIOGENESI PATOLOGICA IN OFTALMOLOGIA.....	35
II.2. ASPETTI CLINICI .....	39
CAPITOLO III .....	41
III.1. FISIOPATOLOGIA DELL'OVCR .....	41
III.2. ASPETTI CLINICI .....	42
CAPITOLO IV.....	44
IV.1. FISIOPATOLOGIA DELL'EMD.....	44
IV.2. ASPETTI CLINICI.....	44
CAPITOLO V .....	47
V.1. FISIOPATOLOGIA DELLA CSC.....	47
V.2. ASPETTI CLINICI .....	48
CAPITOLO VI.....	49
VI.1. TERAPIE LASER CONVENZIONALI .....	49
V.1.1. LASER FOTOCOAGULAZIONE .....	49
VI.2. TERAPIA STEROIDEA .....	58
VI.2.1. OZURDEX® .....	62
VI.3. TERAPIE ANTI VEGF .....	66
VI.3.1. PEGAPTANIB SODICO (MACUGEN®).....	66
VI.3.2. RANIBIZUMAB (LUCENTIS®).....	69
VI.3.3. BEVACIZUMAB (AVASTIN®).....	71
VI.3.4. AFLIBERCEPT (EYLEA®).....	75
CAPITOLO VII.....	86
VII.1. PRINCIPI DEL LASER GIALLO MICROPULSATO .....	86
CAPITOLO VIII .....	91
VIII.1. MATERIALI E METODI .....	91
VIII.2. RISULTATI .....	94
VIII.3. DISCUSSIONE .....	99
ALLEGATI .....	114

<b>TAVOLA 1</b> .....	114
<b>TAVOLA 2</b> .....	115
<b>TAVOLA 3</b> .....	116
<b>TAVOLA 4</b> .....	117
<b>TAVOLA 5</b> .....	118
<b>TAVOLA 6</b> .....	119
<b>TAVOLA 7</b> .....	120
<b>TAVOLA 8</b> .....	121
<b>TAVOLA 9</b> .....	122
<b>TAVOLA 10</b> .....	123

## INTRODUZIONE

L'edema maculare (EM) rappresenta una via comune finale come risposta della retina a una varietà di possibili insulti.

Rappresenta un comune problema clinico che, per la maggior parte, è auto-limitante ed è stato riportato in associazione con problemi vascolari (come diabete e ostruzioni delle vene retiniche), condizioni infiammatorie (come *pars planiti*), malattie ereditarie (come retinite pigmentosa o EM cistoide dominante), problemi trazionali (come sindrome da trazione vitreo - maculare), uso di medicinali come l'epinefrina (adrenalina) e in seguito a interventi di rimozione di cataratta.

L'EM cistoide post cataratta fu inizialmente descritto da Irvine nel 1953<sup>[1]</sup>.

Il problema terapeutico inizia nei casi di EM persistente o cronico, per cui un approccio terapeutico graduale è la soluzione ottimale.

Gli specialisti devono sempre essere attenti ai possibili effetti collaterali di molti farmaci efficaci, ma potenzialmente tossici, usati per trattare questa patologia; in aggiunta ai farmaci, per i casi persistenti, si dovrebbe intervenire con il trattamento chirurgico.

L'edema maculare è una comune condizione associata a infiammazioni intraoculari, trazioni vitreo retiniche, permeabilità vascolare.

L'EM cistoide dopo intervento di cataratta è conosciuto come sindrome di Irvine – Gass<sup>[2]</sup>. L'estrazione extracapsulare di cataratta è associata con EM cistoide, angiograficamente evidente nel 20% dei casi non complicati. L'edema maculare cistoide clinicamente significativo con diminuzione dell'acutezza visiva dopo il moderno intervento di cataratta è osservabile solo nell'1% degli occhi. Gli interventi complicati da rottura della capsula posteriore e/o persistente trazione vitreale sulle strutture del segmento anteriore sono al più alto rischio. È interessante osservare che la capsulotomia ottenuta con neodimio:ittrio-alluminio:granato (Nd:YAG), se eseguita ad almeno 3 mesi di distanza

dall'intervento di cataratta, non sembra aumentare l'incidenza dell'EM cistoide. I diabetici con qualsiasi grado di retinopatia hanno un'augmentata incidenza di EM cistoide dopo la cataratta.

L'EM cistoide può svilupparsi anche dopo altri tipi di chirurgia intraoculare: è comune dopo cheratoplastica perforante, dopo interventi di distacco di retina, così come dopo interventi filtranti per il glaucoma<sup>[3]</sup>.

È stato ipotizzato che l'EM può svilupparsi attraverso vari meccanismi che includono la trazione vitreo maculare, la compromissione vascolare, la secrezione di prostaglandine (PG) e l'infiammazione, sebbene l'esatta causa sia ancora sconosciuta.

Malgrado l'iniziale insulto, l'accumulo di liquido nell'EM è la diretta conseguenza di danni dell'endotelio vascolare retinico. Quando il liquido extracellulare si accumula nella macula centrale, nello strato plessiforme esterno, possono svilupparsi gli spazi cistici dovuti all'allentamento orizzontale dell'adesione intracellulare.

Molti meccanismi possono essere attivi nella genesi dell'EM e il più importante è l'infiammazione intraoculare.

Oltre che nei pazienti dopo l'intervento di cataratta, l'EM si manifesta più comunemente nel quadro della retinopatia diabetica, in cui sono evidenti associazioni con i microaneurismi ed essudati duri. In molti diabetici, l'EM è presente con l'edema maculare diffuso e raramente è un problema isolato.

Mentre il "Early Treatment Diabetic Retinopathy Study"<sup>[4]</sup> dimostrò il miglioramento visivo dopo fotocoagulazione focale per l'edema maculare clinicamente significativo, l'EM cistoide non risponde così bene al trattamento laser. La fotocoagulazione panretinica nei diabetici può provocare un EM normalmente auto limitante<sup>[5]</sup>.

Le ostruzioni venose retiniche rappresentano un'altra comune causa di EM. Sia le occlusioni venose di branca sia quelle centrali, possono dare origine a un severo edema maculare. In queste condizioni la causa scatenante è un danno

ipossico dell'endotelio dei capillari secondario a una aumentata pressione idrostatica intravascolare<sup>[6]</sup>.

Le occlusioni di branca sono associate, nella fase acuta, a vasi sanguigni dilatati e tortuosi, emorragie puntiformi e a fiamma ed essudati cotonosi, con una disposizione a settore. Nella fase cronica sono presenti EM persistente, manicotti perivasali, microaneurismi, vasi collaterali, shunts, essudati duri.

Il "Branch Vein Occlusion Study"<sup>[7]</sup> dimostrò un beneficio visivo dopo l'applicazione di un trattamento laser a griglia sull'area dell'EM. Nella fase acuta dell'ostruzione della vena centrale della retina sono evidenti emorragie retiniche e vene retiniche dilatate. Nella fase cronica si possono sviluppare manicotti perivasali, assorbimento delle emorragie retiniche e vasi collaterali opto ciliari. La macula può presentare un EM, una membrana epiretinica e la formazione di un foro lamellare.

Il "Central Retinal Vein Occlusion Study"<sup>[8]</sup> dimostrò che non c'è alcun beneficio nell'uso della fotocoagulazione a griglia per il trattamento dell'edema associato; tuttavia, un possibile miglioramento può essere osservato in pazienti più giovani trattati.

Non è inusuale per l'EM sovrapporsi ad una membrana neovascolare coroideale o a un distacco sieroso retinico. Spesso passa inosservato rispetto alle severe anomalie sottoretiniche e/o intraretiniche.

Altre più rare forme di patologie retiniche producono l'EM. Le telangectasie retiniche (anche chiamate aneurismi miliari di Leber o malattia di Coats) sono una condizione unilaterale che avviene più comunemente nei ragazzi. La vascolarizzazione retinica è anomala e produce un'aumentata permeabilità con un diffuso edema maculare cistoide. La crioterapia o il trattamento laser è consigliato se queste lesioni minacciano la funzione maculare.

I pazienti che ricevono il trattamento radiante coinvolgente la testa e il collo possono sviluppare segni di retinopatia da radiazione da 6 mesi a 3 anni dopo il trattamento.

Macroaneurismi retinici arteriosi acquisiti, tumori coroideali come i nevi, i melanomi maligni, gli emangiomi cavernosi, una moltitudine di infiammazioni oculari e di infezioni possono provocare EM.

Il maggiore sintomo dell'EM è la diminuzione dell'acuità visiva centrale.

I sintomi di accompagnamento possono includere metamorfopsie, micropsia, scotoma, irritazione oculare, fotofobia e iniezione congiuntivale.

Clinicamente, l'EM è meglio visibile usando la lampada a fessura con una lente a contatto; l'edema, infatti, dà origine a una dispersione della luce causata dalle numerose interfacce create dalle cellule retiniche separate. La dispersione della luce diminuisce la traslucenza della retina neurosensoriale, così che il normale epitelio pigmentato retinico e lo sfondo coroideale risultino confusi. Sono visti accumuli delimitati di fluido nello strato plessiforme esterno, con la parte più larga centralmente e progressivamente più piccola perifericamente. La retroilluminazione può aiutare a delineare gli spazi delle pseudo cisti. Una macchia gialla, che si crede sia dovuta alla diffusione del pigmento luteale, può essere evidente nella macula centrale.

Le cause alla base dell'EM invece non alterano il suo aspetto, ma i segni associati variano ampiamente a seconda dell'eziologia.

Come risultato dell'EM, una rottura delle cisti della retina interna può provocare un foro maculare lamellare. Un prolungato EM può indurre atrofia dei fotorecettori maculari, con bassa acuità visiva conseguente.

La fluorangiografia retinica evidenzia meglio, rispetto all'esame clinico, l'EM. È stato dimostrato che vi è una stretta correlazione tra lo spessore medio retinico e l'acuità visiva<sup>[9]</sup>.

Tuttavia, la fluorangiografia retinica fornisce solo informazioni qualitative. I dati quantitativi sullo spessore retinico possono essere studiati solo attraverso l'esame OCT<sup>[10]</sup>.

Dalla letteratura emerge, purtroppo, la scarsa risposta dell'EM alla terapia laser, motivo per cui nell'ultimo decennio si è aperta la frontiera all'utilizzo di sostanze anti angiogeniche e steroidee a livello intraoculare, basandosi proprio sulla natura

alle volte per alterata permeabilità vasale, alle volte spiccatamente flogistica, dell'EM.

Prima il Bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>), poi il Pegaptanib sodico (Macugen<sup>®</sup>), poi il Ranibizumab (Lucentis<sup>®</sup>), Triamcinolone (Triesence<sup>®</sup>), poi il Desametasone (Ozurdex<sup>®</sup>), hanno dato nuove speranze e discreti risultati nella battaglia contro questa entità nosografica estremamente invalidante e che inevitabilmente si ripercuote sulla qualità della vita dello stesso.

La necessità di offrire un approccio terapeutico maggiormente efficace ha spinto alla ricerca di una nuova molecola che possa offrire migliori risultati sia in termini qualitativi che in termini quantitativi.

Il seguente studio si propone di determinare primariamente l'efficacia dell'utilizzo di Aflibercept intravitreale sulla miglior acuità visiva corretta e sul suo profilo di tollerabilità, monitorandone secondariamente gli effetti avversi sia locali che sistemici nell'EM secondario ad AMD neovascolare, secondario ad OVCR e secondario a retinopatia diabetica anche in associazione all'utilizzo del laser giallo micropulsato sottosoglia.

# CAPITOLO I

## *EDEMA MACULARE*

### **I.1. CENNI DI ANATOMIA DELLA MACULA**

La fovea costituisce una escavazione nel centro della retina ed è costituita da un margine, un declivio ed un fondo. Il fondo corrisponde alla foveola, il cui centro è chiamato umbo. L'umbo rappresenta il centro preciso della macula, l'area della retina responsabile dell'acuità visiva massima. Di solito è riportata come centro della fovea o macula. Entrambi i termini, anche se usati comunemente in clinica, non sono termini anatomici precisi.

Il fotorecettore predominante della foveola e dell'umbo è il cono. I coni foveali derivano dalla migrazione centripeta del primo e dal dislocamento laterale centrifugo del secondo e terzo neurone durante la maturazione foveale, che si verifica tre mesi prima e tre mesi dopo la nascita<sup>[11]</sup>.

Anche se il loro diametro individuale è ridotto per l'estremo affollamento, i coni centrali mantengono il loro volume per mezzo dell'allungamento, dato che sono lunghi fino a 70  $\mu\text{m}$ <sup>[12]</sup>.

La migrazione centrale si manifesta in un'area centrale di 1500  $\mu\text{m}$  di diametro<sup>k</sup>. La maggiore concentrazione di coni è presente nell'umbo, un'area di 150-200 micron di diametro, chiamata "il bouquet centrale" dei coni<sup>l</sup>. Una stima della densità centrale dei coni è di, rispettivamente, 113000 e 230000 coni/ $\text{mm}^2$  nella scimmia e nel babbuino. Nel "bouquet centrale" la densità dei coni può essere così alta come 385000 coni  $\text{mm}^2$ <sup>[13]</sup>.

I segmenti interni dei cono sono connessi lateralmente da un sistema giunzionale, la membrana limitante esterna. Le loro fibre interne (assoni) si dirigono radialmente e perifericamente come fibre di Henle nello strato plessiforme esterno. Come conseguenza della loro alta concentrazione ed affollamento, i coni centrali hanno i loro nuclei disposti in strati multipli ed in disposizione circolare.

I coni, inclusi i segmenti interni ed esterni, sono circondati ed involuppati dai processi delle cellule di Muller, cellule gliali che si concentrano nella porzione vitreale, proprio sotto la membrana limitante interna<sup>[14]</sup>.

Alcuni nuclei della cellule gliali si trovano in questo strato interno, ma la maggior parte forma parte dello strato nucleare interno dislocato lateralmente. Lo sviluppo fetale, così, coinvolge la migrazione, l'elongazione, la concentrazione ed il dislocamento di entrambe le cellule neurali e, probabilmente, della cellule gliali, l'elemento strutturale principale della retina. Le strie radiali, che sono presenti nella membrana interna foveale, sono correlabili alle fibre di Henle.

Proprio questa disposizione a rosetta dei nuclei dei fotorecettori a livello della fovea e la relativa emergenza delle fibre di Henle che si dispongono radialmente a 360°, unendo i fotorecettori alle cellule bipolari, costituisce la struttura a raggiera, la cui infrastruttura determinerà forma e disposizione delle pseudo - cisti nell'edema maculare cistoide (aspetto "a fiore" o "a nido di api").

Il "bouquet centrale" dei coni è circondato dalla foveola, che misura 350 µm di diametro e 150 µm in spessore. Questa area avascolare è formata da coni densamente stipati che sono allungati e connessi tramite la membrana limitante esterna. Come conseguenza dell'allungamento dei segmenti esterni la membrana limitante esterna è arcuata verso il vitreo, un aspetto che è stato chiamato "fovea esterna". Sia l'umbo sia la foveola costituiscono la porzione più visibile della retina esterna.

In condizioni patologiche, la perdita del normale riflesso foveale può indicare una sofferenza primariamente gliale e secondariamente dei coni.

La fovea è costituita da un fondo sottile, da una parte declive di 22° e da un margine spesso. La foveola avascolare è circondata dalle arcate vascolari, un sistema circolare di capillari, i cui vasi sono localizzati a livello dello strato nucleare interno.

La parafovea è una zona che misura 0.5 mm in larghezza e circonda il margine foveale. La perifovea circonda la parafovea come una zona ad anello che misura 1.5 mm in larghezza.

L'umbo, la foveola, la fovea, la perifovea e la parafovea insieme costituiscono la macula, o area centrale.

Il margine della macula corrisponde al decorso della arcate vascolare temporali principali ed ha un diametro approssimativo di 5,5 mm che comprende il diametro della fovea (1.5 mm), due volte la larghezza della parafovea (1 mm) e due volte la larghezza della perifovea (3 mm)<sup>[15]</sup>.

## **I.2. FISIOPATOLOGIA DELL'EDEMA MACULARE**

L'esame istopatologico degli occhi con EM evidenzia spazi cistoidi prevalentemente nello strato plessiforme esterno della fovea (strato delle fibre di Henle)<sup>[16]</sup>. Questi spazi cistoidi possono essere presenti anche negli strati nucleare interno, gangliare e delle fibre nervose. C'è però qualche disaccordo circa il meccanismo istopatologico di sviluppo degli spazi cistoidi. Alcuni autori hanno stabilito che questi spazi rappresentano una raccolta extracellulare di fluido, altri hanno preso in considerazione la possibilità che le cellule di Muller si ingrandiscano e che la necrosi unita allo scompenso vascolare porti alla formazione degli spazi cistoidi. I segmenti interno ed esterno dei fotorecettori potrebbero sembrare accorciati con l'edema e la perdita delle cellule di Muller. Può essere presente fluido sottoretinico. Si possono avere anche atrofia, vacuolizzazione e proliferazione dell'EPR.

Spazi cistoidi tendono a formarsi nella regione perifoveale, rispetto alla macula fuori da quest'area. Ciò può essere correlato alla particolare anatomia retinica ed al peculiare arrangiamento dei capillari nell'area foveale e perifoveale. Si verifica un trasporto di fluido dalla retina all'EPR e ai vasi retinici<sup>[17]</sup>. Il fluido si spande dai capillari retinici ed è poi riassorbito dai vasi retinici e dall'EPR. L'infiammazione può accrescere il flusso attraverso la retina. Inoltre, la regione maculare ha un insolito arrangiamento vascolare: un'area avascolare è circondata da una zona molto vascolarizzata. Il fluido prodotto nella regione perifoveale può spandersi nelle porzioni avascolari della fovea, dove il riassorbimento è limitato.

Gli occhi con EM sembrano avere una rottura globale della barriera emato – oculare.

L'origine dell'EM, ancora non del tutto chiara, è multifattoriale: svolgono un ruolo chiave le citochine infiammatorie derivati dell'acido arachidonico come le Prostaglandine e Leucotrieni, fattori di crescita dell'endotelio vascolare come le isoforme VEGF-A e VEGF-B, fattori di crescita placentare PIGF e la riduzione delle occludine nelle “tight junction” endoteliali.

Prostaglandine, Leucotrieni, VEGF e PIGF vedono aumentata la propria concentrazione a livello retinico e a livello vitreale in tutte quelle affezioni caratterizzate da EM.

### **I.3. APPROCCIO GENERALE AL PAZIENTE CON EDEMA MACULARE**

Lo scopo della terapia dell'EM è quello di migliorare l'acuità visiva mediante la riduzione dell'edema maculare una volta che questo si sia formato. Ciò teoricamente potrebbe ridurre il rischio di successivi eventi patologici come le cisti foveali ed i fori lamellari interni. Una terapia efficace e razionale si fonda sulla comprensione della fisiopatologia del processo morboso. Molte strategie di trattamento per l'EM si sono concentrate sulla trazione, sull'infiammazione o sulla proliferazione di nevasi come eziologia primaria.

### **I.4. DIAGNOSI STRUMENTALE**

Si avvale fondamentalmente di tre metodiche:

- fluorangiografia;
- angiografia al verde indocianina;
- tomografia a coerenza ottica.

### **I.4.1. FLUORANGIOGRAFIA (FAG)**

Prima della fluorangiografia devono essere eseguite fotografie a luce aneritra e luce rossa del fondo oculare. Dopo l'iniezione del bolo di fluorescina nella vena del gomito, la fluorescina penetra nei vasi retinici dopo circa 10-12 secondi nella persona normale. Questo tempo può però variare in relazione alle condizioni cardiocircolatorie del paziente, alla viscosità del sangue ed al calibro dei vasi sanguigni. È importante paragonare i tempi braccio-retina dei due lati, in modo da mettere in evidenza le eventuali alterazioni della circolazione carotidea. In una prima fase la fluorescina, penetrando attraverso i vasi ciliari brevi, impregna in modo piuttosto irregolare, a carta geografica, i vasi della coriocalpillare. Anche nei pazienti normali questa fase varia da soggetto a soggetto. Durante il tempo coroideale si riempiono anche le arterie cilioretiniche che sono allora molto evidenti, stagliandosi su un fondo grigio, giacché la circolazione retinica non è ancora perfusa. Ad ogni modo è sempre molto difficile studiare la circolazione coroideale perché lo schermo dell'EPR ne impedisce una facile evidenziazione e soprattutto la rapida diffusione del colorante dei vasi della coriocalpillare nei tempi susseguenti, rende la coroide quasi uniformemente fluorescente con delle lievi variazioni. Successivamente si riempiono rapidamente l'arteria centrale della retina e le sue diramazioni. Il riempimento interessa in modo omogeneo il vaso arterioso nel suo sistema. Il tempo capillare è molto breve ma si riesce, soprattutto nei soggetti giovani, ad avere delle bellissime fotografie che mettono bene in evidenza la rete perifoveale, nettamente visibile sul fondo iperpigmentato della regione maculare. La macula è normalmente sempre più scura per tre ragioni: presenza di pigmento xantofilo, maggior pigmentazione delle cellule dell'EPR che nascondono la normale fluorescenza della coroide e assenza di capillari nella zona avascolare foveale. Quando la rete maculare è troppo evidente, si tratta, molto probabilmente, di una rete capillare patologica. La peculiarità del tempo successivo, quello venoso, consiste nel riempimento laminare delle vene; ciò è dovuto al fatto che il mezzo fluorescente penetra prima nelle vene lungo le pareti: si tratta di un riempimento cilindrico nel quale il

sangue periferico penetra più tardivamente dentro le vene. Questo tempo venoso precoce inizia normalmente 5 o 6 secondi dopo il riempimento coroideale. Da ogni vena afferente si può notare il flusso laminare che conserva la sua indipendenza anche nelle vene più grandi. Il tempo venoso dura circa 2-3 secondi, durante i quali le vene completano il loro riempimento fino alla massima fluorescenza. Questa comincia poi a diminuire costituendo così il tempo venoso tardivo. Dopo circa 5-10 minuti dall'iniezione non vi è quasi mai fluorescenza normale nei tessuti. Le fluorescenze che si possono osservare sono dovute a fatti patologici. Alcune strutture patologiche del *fundus* (drusen della papilla, amartoma astrocitico) hanno la proprietà di emettere spontaneamente luce fluorescente, una volta stimulate dalla luce blu. La ricerca dell'autofluorescenza con riprese fotografiche precedenti l'iniezione di fluorescina, può essere utile nella diagnosi differenziale<sup>[18]</sup>.

La FAG in un occhio affetto da CNV evidenzia un'area di iperfluorescenza dai limiti ben marcati nelle fasi precoci ma che progressivamente viene oscurata dal leakage del mezzo di contrasto. Nelle fasi tardive invece si osserva il fenomeno di leakage completo, eventualmente accompagnato da lesioni dell'EPR o della membrana di Bruch. Qualora i contorni dell'area di iperfluorescenza si presentino disomogenei, questo pattern è da attribuire ad una CNV di tipo multifocale.

#### **I.4.2. ANGIOGRAFIA AL VERDE INDOCIANINA (ICG)**

Chi vede per la prima volta l'angiografia al verde indocianina rimane colpito dalle immagini poco nitide e precise, ed apparentemente meno delucidanti rispetto alla FAG. Ma con un po' di pazienza ed attenzione si rimarrà colpiti dalla ricchezza delle informazioni che si potranno estrapolare dall'angiogramma al verde indocianina, ormai diventato un mezzo di indagine indispensabile a compendio della fluorangiografia. Questo aspetto poco nitido e chiaro è dovuto al basso contrasto, alla cui genesi partecipano diversi fattori. Il verde indocianina

è legato per il 90% alle globuline e queste grosse proteine plasmatiche non fuoriescono dalle fenestrature dei vasi coroideali, determinando in tal modo il suo accumulo a livello delle membrane dei neovasi. I raggi infrarossi attraversano l'EPR e il pigmento xantofillico e, superato questo strato che normalmente scherma la coroide, evidenziano gli strati sottoretinici. Vi è poco contrasto a livello della coriocapillare perché i capillari sono molto densi ed il diametro del vaso (20 micron) è superiore allo spazio fra i capillari (5 micron). Mentre la fluorangiografia visualizza solo la retina, la videoangiografia al verde indiciana visualizza anche la coriocapillare, i vasi principali della coroide, cioè i tre strati spessi le cui immagini si sovrappongono l'una all'altra. Contrariamente all'angiografia alla fluorescina, i tempi pratici di esecuzione dell'ICG sono nettamente più lunghi. Infatti all'ICG è necessario studiare di routine tutti i tempi, dal momento dell'iniezione in vena fino a 45 minuti dopo questa. L'ICG può essere suddivisa in otto fasi: il tempo braccio-coroide è costituito dai 10-12 secondi che intercorrono fra l'iniezione del colorante nella vena del braccio e la prima comparsa del *blush* coroideale. Questo tempo varia in relazione all'assetto cardiovascolare del soggetto in esame; il *blush* coroideale consiste in una lievissima fluorescenza molto precoce, la cui localizzazione è importante per lo studio della vascolarizzazione coroideale, e dura una frazione di secondo. La fase coroideale arteriosa precoce permette, nei casi migliori, di visualizzare le arterie ciliari brevi e le diramazioni maculari. Nei casi più tipici si possono osservare una o più arterie che formano un gomito o un uncino a livello dell'area maculare, per dirigersi poi verso la periferia, con decorso quasi rettilineo, mentre tutte le altre arterie hanno un decorso a ventaglio dal centro verso la periferia. La fase arteriosa tardiva vede il riempimento dei vari territori della coroide; durante questa fase si riempiono le arterie della retina che si dirigono verso la periferia temporale con decorso a ventaglio e si delineano le varie aree di vascolarizzazione della membrana vascolare dell'occhio. Queste due fasi arteriose coroideali non superano 1-2 secondi di durata; nella fase coriocapillare questa è visibile per un brevissimo tempo come diffuso grigiore prima del tempo

venoso. Questi primi cinque tempi si susseguono molto velocemente in 2-3 secondi e pertanto è generalmente impossibile registrarli tutti. Lo studio di questi tempi precocissimi è possibile solo con la scansione laser.

In seguito, nella fase venosa, si delineano gli spartiacque tra le aree di vascolarizzazione: le vene hanno un decorso rettilineo diagonale, senza ramificazioni, verso la periferia dove si uniscono formando dei tronchi più importanti che confluiscono nelle vorticose. I territori vascolari coroideali centrali sono molto densi mentre in periferia sono meno densi, con le vene vorticose e le loro diramazioni ben evidenti. Le vene vorticose sono in genere quattro, una per ogni quadrante. Dal 1° al 20° minuto si ha la fase del ricircolo, in cui la fluorescenza di fondo, normalmente, è molto lieve e diffusa. Durante questa fase sono evidenti i vasi coroideali, soprattutto venosi. La tenue fluorescenza è dovuta ad una minima diffusione. Si possono, però, individuare ancora i vasi coroideali più importanti come anche i vasi retinici. Nella fase del ricircolo si osservano generalmente le diffusioni maggiori dei casi coroideali alterati in caso di patologia coroideale. Le fasi tardive, da 20 minuti ad un'ora, sono caratterizzate dalla presenza di una macchia nera ipofluorescente rotondeggiante in corrispondenza della papilla, sempre presente al centro di una iperfluorescenza uniforme, dovuta ad una diffusione lieve del colorante negli spazi coroideali; normalmente non si riescono più a distinguere le vascolarizzazioni coroideali e retiniche ma si possono osservare in negativo le vene principali coroideali. Queste fasi tardive permettono di individuare persino le membrane neovascolari occulte, altrimenti misconosciute al normale esame FAG<sup>[19]</sup>.

I quadri angiografici più tipici delle alterazioni della permeabilità coroideale sono:

- spot ipofluorescenti, analoghi per la comparsa ai tempi tardivi a quelli osservabili in corso di coroidopatia multifocale;
- spot iperfluorescenti evidenti nelle fasi tardive, simili a quanto si osserva nella coroidopatia multifocale.

Nelle neovascolarizzazioni idiopatiche l'esame all'ICG può evidenziare, nelle fasi tardive, un alone nero (dark rim) che circonda la membrana neovascolare<sup>[20]</sup>. Da un lato tale reperto pone il dubbio sulla idiopaticità dell'evento, e dall'altro è un fattore prognostico migliore.

Perché si forma il dark rim? Semplicemente è dovuto al fatto che ci sono strati ipertrofici-iperplastici di cellule dell'EPR che si sviluppano attorno alla neovascolarizzazione, determinando in tal modo una minore leakage del colorante e un maggior assorbimento sottoretinico. Questo esame permette di studiare il paziente non solo trasversalmente, ma anche longitudinalmente.

### **I.4.3. TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA (OCT)**

L'OCT, acronimo di Optical Coherence Tomography, è una metodica di imaging retinico non invasiva, non a contatto, che permette lo studio di sezioni ottiche della retina con una risoluzione superiore a quella ottenibile con gli ultrasuoni. Tale metodica è stata sviluppata da un team di ricercatori della Tufts University e del MIT di Boston alla fine degli anni '80 e presentata nel 1991 quale metodica in grado di produrre un'immagine bi-dimensionale di scattering ottico della microstruttura dei tessuti interni in modo simile a quanto si ottiene con gli ultrasuoni, ma con una più elevata risoluzione. Faranno poi seguito i primi studi sperimentali (1993-1994), i primi studi clinici (1995) ed infine, nel 1996, la pubblicazione della monografia<sup>[21]</sup>.

Fondamentalmente è una metodica tomografica perché fornisce *in vivo* immagini in sezione dei tessuti in esame e ottica perché basata su un principio classico dell'ottica, quello, cioè, della interferometria a bassa coerenza, che con i laser e l'avvento delle fibre ottiche ha raggiunto un elevatissimo livello tecnologico.

L'OCT esamina la diversa riflettività ottica delle singole strutture componenti il tessuto in esame, studiando l'eco ottico del tessuto e si differenzia nettamente per l'elevatissima risoluzione longitudinale in sezione (10 micron) dalle altre metodiche per imaging *in vivo* quali SLO, ecografia B scan e UBM, che

utilizzano sorgenti ad ultrasuoni, studiando l'eco acustico e che presentano risoluzione nettamente inferiore. L'OCT utilizza il principio dell'interferometria a bassa coerenza o a luce bianca per effettuare misurazioni ed imaging ad alta risoluzione, misurando il tempo di ritardo della luce riflessa da differenti tessuti oculari. La sorgente della luce a bassa coerenza è costituita da un diodo superluminescente, accoppiata ad un interferometro di Michelson. Le caratteristiche della luce incidente sul *fundus* (200 micronwatt;  $\lambda$  830) sono entro il limite raccomandato dall'American National Standard Institute per l'utilizzo sicuro delle apparecchiature laser. Per ottenere misurazioni ad alta risoluzione di strutture con risoluzione nell'ordine di 10 micrometri è necessario utilizzare uno strumento ottico, l'interferometro, che compari o correli una sorgente luminosa o lunghezza d'onda con un'altra. L'interferometro divide il raggio emesso dalla sorgente di luce in un raggio "sonda" o esplorante, ed in uno di riferimento. Il raggio esplorante è direzionato all'interno dell'occhio e focalizzato sulla retina per mezzo di una lente da +78 diottrie. I raggi riflessi seguono poi il cammino inverso. Il raggio riflesso dai tessuti oculari del paziente è formato da eco multipli che forniscono informazioni sulla distanza e sullo spessore di differenti strutture oculari. Il secondo raggio, riflesso dallo specchio di riferimento, posizionato ad una distanza nota, riattraversa lo specchio semitrasparente o interferometro, ove si unisce con il primo (raggio esplorante riflesso). Solamente nel caso in cui i due raggi siano in fase possono coincidere e produrre un fenomeno detto interferenza, misurabile da un rilevatore sensibile alla luce. Per poter misurare il tempo di ritardo relativo delle diverse eco a partenza da differenti strutture intraoculari, la posizione dello specchio di riferimento deve essere modificata in modo da consentire l'interferenza del raggio di riferimento con le diverse eco dei vari tessuti analizzati. Tutte le interferenze ottenute possono essere inviate al computer che le processa.

L'immagine è la risultante delle riflettività dei singoli tessuti e delle proprietà di assorbimento e riflettività dei tessuti soprastanti ed è rappresentata in scala di colori (falsi colori): i colori scuri rappresentano aree di riflettività ottica

relativamente minima, mentre i colori brillanti rappresentano aree ad alta riflettività. Le riflessioni a partenza dalle diverse interfacce fra diversi strati del tessuto in esame forniscono informazioni sulla distanza e sullo spessore delle strutture retiniche. Per ottenere una scansione ottimale, occorrono una buona midriasi, un film lacrimale ottimale, una buona apertura delle palpebre al momento della scansione con occhio fermo e l'utilizzo della sorgente di illuminazione del *fundus* da 830 nm, piuttosto che della luce bianca per osservare il corretto posizionamento della scansione. È da sottolineare che il ruolo dell'operatore riveste una notevole importanza: se è vero che la curva di apprendimento è breve, se semplice è effettuare una scansione ed utilizzare il software, è altrettanto vero che solo l'esperienza e l'osservazione preventiva del paziente in biomicroscopia sono indispensabili per ottenere immagini di elevata qualità utili ai fini diagnostici. Il limite dell'OCT è rappresentato dalla presenza di opacità dei diottri. Il ruolo dell'OCT in corso di neovascolarizzazione coroideale è quello di permettere di evidenziare costantemente la NCV (se manifesta) ed il suo sviluppo in rapporto all'EPR e al centro della fovea; costantemente vengono evidenziate, altresì, le alterazioni della neuroretina secondarie al suo sviluppo (aumento di spessore retinico, alterazioni strutturali intraretiniche, alterazioni del profilo foveale), la valutazione del risultato anatomico della chirurgia, la valutazione del risultato anatomico del trattamento fotodinamico e l'indicazione ad eventuale ritrattamento; ultima caratteristica dell'OCT è quella di evidenziare una possibile recidiva.

Nel 2000 grazie ad uno studio<sup>[22]</sup> OCT giapponese, fu dimostrato che la NVC idiopatica seguiva quella che era l'ipotesi di Gass, ovvero che la NCV si localizza in posizione sottoretinica neurosensoriale, ma anteriormente all'EPR. Dobbiamo, però, a Fukuchi<sup>[23]</sup> nel 2001 lo studio più accreditato: una serie di 32 pazienti affetti da NCV idiopatica (seguiti dal 1995 al 1999) venne studiata con foto color del fondo, FAG, ICG ed OCT. Vennero divisi in tre categorie: quelli con neovascolarizzazione attiva; quelli con neovascolarizzazione allo stadio

intermedio; quelli con neovascolarizzazione in fase cicatriziale. L'OCT mostrava:

- nella fase attiva un'alta riflettanza, con aspetto multistrato, protrudente all'interno dello spazio sottoretinico;
- nella fase intermedia la riflettività era maggiormente intensa, con i margini che si attenuavano nella loro delimitazione. Se le NCV mostrava segni di regressione, all'interno della lesione si potevano identificare due differenti aree: una zona di maggiore riflettività che rappresentava i cambiamenti fibrotici della NCV, che nella scala colorimetrica dell'OCT tendeva fortemente al bianco ed una zona di alta riflettività, tendente al rosso, che corrispondeva ad una zona di attività residua;
- nella fase cicatriziale si aveva un effetto moderatamente riflettente sovrastato da uno strato cupuliforme ad altissima riflettività che identificava l'epitelio pigmentato retinico.

Le conclusioni dei vari studi sono che l'OCT può offrire vantaggi nella diagnosi e gestione terapeutica dei pazienti affetti da uveite.

#### **I.4.4. ANGIO – OCT**

L'Angio OCT è un nuovo metodo di analisi basato su tecniche di imaging ad alta risoluzione che consente di visualizzare la circolazione retinica e coroideale senza l'iniezione endovenosa di mezzo di contrasto. La nuova tecnologia non è invasiva a differenza della fluorangiografia attualmente ancora considerata il gold standard dell'imaging vascolare retinico. L'Angio OCT con metodica SSADA è in grado di rilevare il flusso endoluminale in qualsiasi momento, risultando indipendente dal tempo della somministrazione del mezzo di contrasto come invece accadeva per la fluorangiografia.

L'Angio OCT riporta esattamente il flusso intravasale senza la dinamica del colorante. Questo fatto, sebbene porti ad una buona visualizzazione dei vasi,

comporta una nuova necessità di interpretare le immagini fornite, individuando quali possano essere attualmente i parametri diagnostici di difetto vascolare. Questa nuova metodica è stata ideata e sviluppata da David Huang e Yali Jia del Casey Eye Institute di Portland in Oregon.

Grazie all'Angio OCT siamo in grado di effettuare una analisi dei vasi nella pratica clinica quotidiana senza iniezione di colorante. Le possibilità future delle informazioni attualmente disponibili vanno attentamente valutate, studiate e confrontate con la fluorangiografia.

L'Angio OCT è tridimensionale e le scansioni vengono estratte da un cubo e sono parallele alla membrana di Bruch o all'epitelio pigmentato, oppure alla membrana limitante interna. Costituisce una delle applicazioni più importanti della metodica "en face".

Al contrario la fluorangiografia fornisce immagini bidimensionali su un solo piano così da far comparire tutti i vasi retinici sovrapposti su un unico piano.

La fluorangiografia ha una durata nel tempo, con tempi iniziali, intermedi e tardivi. Ha dunque un inizio ed una fine. L'angiografia con fluorescina è dinamica, mentre invece l'angiografia OCT è statica.

L'Angio OCT si basa sul movimento del sangue nei vasi, mentre la struttura retinica, cioè lo scenario di base, è statico.

Una importante differenza fra fluorangiografia e angiografia OCT è la frequenza con cui possono essere ripetute: limitata per la FAG, infinita per l'Angio OCT.

Le tecnologie di angiografia OCT sono attualmente divise in due grandi gruppi: phase – based e amplitude – based.

Il sistema phase . based OCT (PV-OCT) può evidenziare la microvascolarizzazione retinica poiché esso individua le aree in movimento sulle b scan rispetto alle aree limitrofe che sono statiche.

La metodica più promettente sembra proprio la amplitude – based SAADA (split spectrum amplitude decorrelation angiography) per la possibilità di misurare la velocità del flusso in OCT.

L'esame angiografico SSADA dura attualmente 6 secondi. Le immagini sono altamente riproducibili, ma la curva di apprendimento non è breve.

Ancora molti sono i limiti della nuova metodica come le scansioni eseguibili solo a livello del polo posteriore, non essendovi diffusione, maggiore difficoltà nello studio delle malattie infiammatorie.

Le prime due generazioni di OCT, il time domain e lo spectral domain sono strumenti di tipo "strutturale". La terza generazione di OCT, gli Angio, sono invece oct "funzionali" in quanto generano immagini angiografiche.

Si pone la necessità, per descrivere i nuovi reperi, dell'utilizzo di una terminologia ad hoc.

## **CAPITOLO II**

### ***DEGENERAZIONE MACULARE ESSUDATIVA***

#### **II.1. FISIOPATOLOGIA DELL'AMD E DELLE MEMBRANE NEOVASCOLARI SOTTORETINICHE**

La degenerazione maculare senile è la più frequente causa di severa perdita della visione centrale tra la popolazione al di sopra dei 50 anni negli Stati Uniti, Regno Unito, Canada e negli altri paesi sviluppati. Sebbene sia ampiamente accettato che la malattia interessa primariamente la corio capillare, la membrana di Bruch e l'epitelio pigmentato retinico, la degenerazione maculare è causata dalla disfunzione e dalla morte dei fotorecettori sovrastanti. La maggior parte dei pazienti con AMD presenta una grave diminuzione della vista a causa dei danni provocati dalla neovascolarizzazione coroideale.

La neovascolarizzazione coroideale, la formazione di neovasi della corio capillare, normalmente evolvono in distacco sieroso o emorragico dell'epitelio pigmentato retinico o della retina neurosensoriale, accompagnata alla fine da tessuto fibroso con proliferazione dell'EPR e atrofia. La fase finale è la formazione di una cicatrice disciforme.

Diverse malattie, a patogenesi diversa, quali la degenerazione maculare legata all'età, l'istoplasmosi oculare presunta, la miopia, le strie angioidi, hanno in comune la capacità di provocare, nel loro decorso, la formazione di membrane neovascolari sostanzialmente uguali. Si tratta, in realtà, di un processo aspecifico di riparazione cicatriziale con caratteristiche simili a quelle del tessuto di granulazione. La storia naturale prevede, all'esordio, la migrazione di cellule endoteliali coroideali nello spazio sottostante l'epitelio pigmentato retinico (EPR), più spesso attraverso una preesistente rottura della membrana di Bruch. Ma l'interruzione di questa membrana può non essere necessaria, dal momento che le cellule endoteliali sono capaci di favorire una digestione enzimatica della

Bruch. Superata questa barriera, il processo continua con la formazione di nuovi vasi, con il reclutamento di altre cellule e con l'estensione, peraltro non obbligatoria, nello spazio sottoretinico. Dopo un tempo variabile da settimane a mesi, i vasi coroideali appaiono accompagnati, nel loro percorso, da tessuto fibroso. I vasi sono più maturi e si sviluppa un tessuto denso, fibroso o fibrovascolare, conosciuto come cicatrice disciforme. Alla fine queste cicatrici sovvertono la normale architettura della retina esterna e determinano una grave riduzione dell'acuità visiva centrale<sup>[24]</sup>. Gass ha individuato due diverse modalità di neovascolarizzazione: il tipo 1, in cui la crescita di neovasi si arresta al di sotto dell'EPR e la membrana risulta aderente all'epitelio sovrastante ed alla zona collagene interna della membrana di Bruch; il tipo 2, in cui i vasi superano la barriera epiteliale e si dispongono sotto la retina sensoriale e la membrana è lassamente aderente ai fotorecettori sovrastanti ed all'epitelio sottostante. Il tipo 1, che si associa più spesso alla degenerazione maculare, si presenta con la membrana posta tra la Bruch e l'epitelio; risulta quindi impossibile rimuovere il tessuto senza asportare contemporaneamente l'epitelio pigmentato: questo determina uno scarso recupero visivo. Nel tipo 2, che si associa all'istoplasmosi, alle coroiditi focali o alle rotture coroideali traumatiche, la membrana si forma superiormente all'epitelio, con il quale contrae scarsi rapporti e l'escissione chirurgica consente di lasciare *in situ* l'epitelio, sul quale la retina si riaccolla, consentendo una ripresa della funzione retinica<sup>[25]</sup>. In realtà, senza la presenza di punti di *repere*, quali frammenti della membrana di Bruch, depositi laminari basali o frammenti di fotorecettori, è difficile orientare il pezzo anatomico e stabilire quindi se la proliferazione è sottoretinica o sottoepiteliale. Inoltre, così come nella degenerazione maculare è possibile osservare membrane sottoretiniche, nell'istoplasmosi si sono trovate membrane sottoepiteliali. Pertanto, il miglior recupero visivo, nell'istoplasmosi, sarebbe da attribuire alla giovane età dei pazienti e soprattutto alla natura focale della lesione<sup>[26]</sup>. Indipendentemente dalla malattia che ne ha provocato la formazione, le caratteristiche strutturali delle membrane sono sovrapponibili, con la sola

differenza dei depositi laminari basali nelle membrane di pazienti affetti da AMD. La definizione di questi depositi ha generato qualche confusione. Depositi di materiale amorfo tra l'EPR e la sua membrana basale vengono definiti depositi laminari basali, mentre i depositi lineari basali sono localizzati tra la membrana basale dell'EPR e la membrana di Bruch, causando un ispessimento diffuso della zona interna, collagene di quest'ultima. Comunque, in microscopia ottica, è difficile separare le due localizzazioni che, peraltro, si sovrappongono. Attualmente il termine di depositi laminari basali è usato per descrivere il materiale, costituito da collagene ad elevata periodicità, immerso in una matrice granulare e da strutture vescicolari e fibronectina, che si accumula all'interno della membrana basale dell'epitelio, ma che è presente anche sul versante esterno ed all'interno della membrana di Bruch. I depositi laminari basali rappresentano un marker della AMD e precedono ed accompagnano la neovascolarizzazione. È stato ipotizzato che questo materiale sia prodotto dalle cellule dell'EPR danneggiato. È noto che l'EPR interagisce con la coriocapillare non soltanto durante lo sviluppo, ma anche nell'occhio adulto. Le cellule epiteliali sono in grado di produrre fattori autocrini e paracrini capaci di regolare la crescita dell'endotelio della coriocapillare e di mantenere la normale funzione. Questo delicatissimo equilibrio biochimico, che controlla gli eventi dell'interfaccia EPR-coriocapillare, può essere disturbato da uno spesso strato di depositi laminari basali che interferisce con la diffusione di quei fattori responsabili della stabilità dell'interfaccia. Una possibilità è che la produzione di questi depositi sia seguita da una ridotta concentrazione di inibitori della crescita vascolare, con conseguente proliferazione di capillari dalla coriocapillare. Inoltre, la fisiologica inibizione della crescita dei neovasi, mediata dal contatto con l'EPR, viene ad essere compromessa dalla presenza dei depositi, che avrebbero quindi, un duplice ruolo: da un lato, generano una ischemia degli strati retinici esterni per la separazione dell'EPR dalla coroide, con conseguente rilascio di fattori angiogenici, dall'altro creano un piano di clivaggio lungo il quale si disporrebbe il tessuto neovascolare<sup>[27]</sup>. Le membrane neovascolari constano di una

componente cellulare ed una extracellulare. La prima è variegata ed è rappresentata da cellule dell'EPR, cellule dell'endotelio vascolare, macrofagi, miofibroblasti, cellule poligonali stromali, cellule simil-fibroblastiche, cellule infiammatorie e fotorecettori. La seconda è costituita da collagene, depositi basali, fibrina e frammenti della membrana di Bruch. La porzione centrale della membrana è formata da tessuto fibrovascolare. La componente attiva del processo di neovascolarizzazione risulta essere quella cellulare che interviene attraverso il rilascio dei fattori di crescita, la deposizione della matrice extracellulare e l'effetto meccanico che provoca sulla retina adiacente. Le cellule dell'EPR tendono a disporsi in un singolo strato, talvolta aggregandosi in strutture tubulo-acinari, e conservano la polarità mostrando granuli intracitoplasmatici di pigmento. Le cellule stromali fibroblastiche o poligonali sono, unitamente a quelle epiteliali, una probabile fonte di fattori angiogenici; la loro origine è, pertanto, di cruciale importanza. Si sostiene, da più parti, una loro derivazione dalle cellule dell'EPR. In realtà, quest'ultime non possono subire un processo di metaplasia, che definisce la trasformazione di una cellula in un'altra di diversa origine embriologica trasformandosi in macrofagi e fibroblasti, ma possono, attraverso un meccanismo di transdifferenziazione, assumerne quindi semplicemente l'aspetto. L'assunzione di un fenotipo o di un altro sarebbe da imputare al substrato. Un ruolo altrettanto importante è quello sostenuto dalle cellule dell'endotelio vascolare, che derivano dalla coroide e si fanno strada attraverso la membrana di Bruch. I canali vascolari sono costituiti di tubuli delimitati da endotelio e circondati da periciti e da cellule dell'EPR con membrana basale ispessita e multilaminare. I capillari sono i primi a comparire, ma la presenza di venule ed arteriole indica la piena maturazione della membrana. Le cellule infiammatorie intervengono non soltanto nella formazione della membrana, secernendo fattori angiogenici e chemotattici, ma anche nel suo rimodellamento, attraverso la liberazione di enzimi. I miofibroblasti, contraendosi, potrebbero causare rotture dell'EPR o provocare nuove rotture nella membrana di Bruch, soprattutto lungo i margini della stessa. Questa

evenienza potrebbe promuovere la formazione di nuovi complessi vascolari (membrana ricorrente) <sup>[28-29]</sup>. La matrice extracellulare contiene molti degli elementi presenti nel tessuto di granulazione, a ribadire la somiglianza tra i due processi. I collagene tipo I e III sono implicati nei processi di cicatrizzazione. Il tipo III è presente nelle fasi iniziali, mentre il tipo I in quelle terminali. Le membrane contengono inoltre collagene tipo IV e V, normalmente trovati all'interno delle membrane basali. La laminina, prodotta dalle cellule endoteliali, e la fibronectina, prodotta dai fibroblasti, permettono alle cellule di aderire tra loro ed alle strutture circostanti. All'interno dei depositi laminari, oltre al collagene ad elevata periodicità, sono presenti i glicosaminoglicani, come il condroitin solfato, coinvolto anche nella formazione delle membrane epiretينية. Dal momento che i proteoglicani sono idrofilici e pertanto trattengono l'acqua, sarebbero in parte responsabili della ridotta conduttività della membrana di Bruch. La fibrina, che deriva dall'essudazione vasale, fornirebbe l'impalcatura su cui le cellule proliferano. La membrana di Bruch si ritrova, all'interno delle membrane, frammentata e calcificata. Il meccanismo che induce le calcificazioni, localizzate soprattutto nello strato elastico delle membrane, è complesso e parzialmente sconosciuto. Forse potrebbe essere il risultato della produzione di fibre elastiche anormali, della alterazione della matrice extracellulare o della degenerazione delle fibre elastiche. Calcificazioni e frammentazioni sono particolarmente evidenti nell'area maculare. Tutte le membrane neovascolari rappresentano una reazione non specifica e convenzionale a stimoli specifici, capaci di indurre una risposta riparativa.

La neovascolarizzazione coroideale è una delle principali cause di cecità legale nei paesi industrializzati: lo sviluppo di membrana neovascolare sottoretinica in corso di AMD è responsabile del 50% dei casi di invalidità civile indipendentemente dall'età<sup>[30]</sup> e rappresenta la prima causa di cecità dopo i 65 anni<sup>[31]</sup>; al di sotto dei 50 anni il 62% delle membrane neovascolari sottoretiniche si osservano nella miopia degenerativa<sup>[32]</sup>. La velocità di crescita della neovascolarizzazione è stata stimata da Klein tra 0 e 74 micron al giorno, con una

media di 18 micron<sup>[33]</sup>; pertanto la durata dei sintomi risulta inversamente proporzionale alla trattabilità della lesione. Tale malattia oltre ad avere un costo in termini socio sanitari, rappresenta un drammatico risvolto umano per la grave menomazione visiva che comporta.

La neovascolarizzazione coroideale viene definita come formazione di nuovi vasi sanguigni localizzati tra l'epitelio pigmentato retinico e la porzione della membrana di Bruch adiacente ai vasi coroideali<sup>[34]</sup>. Spesso la neovascolarizzazione si estende attraverso l'EPR, causando un incremento di fluidi e sangue nello spazio sottoretinico, con formazione di un distacco sieroso retinico. La NCV maculare è stata osservata per la prima volta da Holloway e Verhoeff<sup>[35]</sup>. In uno degli occhi studiati dal punto di vista istologico, essi riportarono che pochi vasi sanguigni accompagnati da una piccola quantità di tessuto connettivo si estendevano dalla coroide attraverso piccole alterazioni della membrana di Bruch. Nel 1937, Verhoeff e Grossman<sup>[36]</sup> descrissero le caratteristiche istopatologiche di tre casi di neovascolarizzazione coroideale maculare, osservando che i vasi attraverso la membrana di Bruch si presentavano in piccole zone di rottura senza dare però nessun significato patogenetico a questa alterazione. Ashton e Sorby<sup>[37]</sup> diversi anni dopo, suggerirono che gli istiociti e i fibroblasti, migrando dalla coroide producevano collagene nei coaguli di trasudato sotto epiteliale e nuovi vasi dalla coroide crescevano attraverso le deiscenze della membrana per supplire all'organizzazione del tessuto. Solo nel 1967 Gass<sup>[38]</sup> suggerì che la NCV poteva giocare un ruolo primario nella patogenesi della AMD essudativa. Dieci anni più tardi Sarks<sup>[39]</sup> realizzò il primo studio clinico patologico sulla NCV su 80 occhi di cadaveri con un'età media di 78 anni, notando che l'ispessimento della Bruch poteva essere un fattore predisponente alla NCV. Attualmente la NCV è rilevata in diverse condizioni cliniche che hanno in comune la presenza di alterazioni della Bruch. Recentemente i numerosi studi sull'angiogenesi hanno contribuito a chiarire molti aspetti della NCV. La comprensione inoltre che l'angiogenesi gioca un ruolo importante nella patogenesi di molte malattie, ha indotto una vasta ricerca

sui fattori che regolano la crescita dei vasi sanguigni<sup>[40]</sup>. Infatti questi si sviluppano per vasculogenesi, angiogenesi o intussuscezione. Durante la vasculogenesi, le cellule endoteliali si differenziano dalle cellule precursori e dagli angioblasti, che sono già presenti in tutto il tessuto, e successivamente si uniscono per formare i vasi. Durante l'angiogenesi i vasi si formano da preesistenti vasi sanguigni e invadono i tessuti circostanti. La vasculogenesi avviene solo durante l'embriogenesi quando si forma il plesso vascolare primario. In seguito, questi canali endoteliali piuttosto uniformi, sono rimodellati in un sistema costituito da grandi e piccoli vasi, mentre i nuovi capillari si sviluppano successivamente attraverso l'angiogenesi. I vasi retinici superficiali si sviluppano attraverso la vasculogenesi partendo dal nervo ottico e crescendo lungo un gradiente dalla porzione retinica posteriore a quella anteriore. Altri vasi prendono origine dai vasi retinici superficiali per angiogenesi e invadono la retina formando il letto capillare. Nell'adulto, l'angiogenesi è essenziale per il ciclo riproduttivo femminile e per la riparazione, il rimodellamento e la rigenerazione dei tessuti, come avviene durante la cicatrizzazione delle ferite. Un fisiologico turn over dei vasi sanguigni inteso come rimodellamento vascolare in risposta a cambiamenti di ossigeno tissutale, come quello presente durante lo sviluppo, può verificarsi anche nel tessuto oculare adulto. Nella retina dell'adulto un incremento sostanziale dell'ossigeno tissutale comporta una regressione vascolare; un'ischemia cronica lieve, osservata spesso dopo una occlusione di branca venosa retinica, causa invece una formazione di vasi collaterali. Il danno ai vasi retinici per trauma, aterosclerosi, diabete, o diverse altre malattie può causare un'occlusione vascolare, che drasticamente e rapidamente altera il livello di ossigeno nel tessuto circostante. Questo comporta la formazione di nuovi vasi sanguigni attraverso il processo di angiogenesi. Nell'occhio questo tipo di crescita retinica viene definita neovascolarizzazione, per distinguerla dall'angiogenesi che avviene durante lo sviluppo. La crescita vasale è normalmente regolata da un equilibrio tra fattori endogeni, stimolatori ed inibitori dell'angiogenesi: è stato ipotizzato che la neovascolarizzazione risulti

primariamente da una perdita di tale equilibrio. Nello studio dei meccanismi coinvolti nella patogenesi della NCV sono stati chiamati in causa alcuni fattori capaci di alterare l'equilibrio angiogenetico:

- l'infiammazione: la risposta infiammatoria associata con la formazione delle drusen può rappresentare uno stimolo angiogenetico;
- i fattori di crescita: le cellule dell'epitelio pigmentato retinico che contengono "fibroblast growth factor 2" (FGF2) e "vascular endothelial growth factor" (VEGF), danneggiate dall'incrementato accumulo di lipidi e radicali liberi, possono rilasciare questi fattori;
- le rotture della membrana di Bruch: la perdita fisica e chimica dell'integrità della membrana può indurre una risposta di riparazione sufficiente a causare NCV;
- l'aumento della resistenza della circolazione coroideale (modello emodinamico);
- i fattori genetici: la scoperta del gene TIMP-3 causa della malattia di Sorsby dimostra come una proteina importante nel mantenimento della struttura della matrice extracellulare può causare NCV.

L'infiammazione è stata implicata nello sviluppo di NCV nell'istoplasmosi oculare e nella coroidite multifocale, anche se ci sono alcuni tipi di coroidite che raramente si associano a neoscolarizzazione. È stata anche avanzata l'idea che depositi nella membrana di Bruch possono indurre una risposta infiammatoria. Tale ipotesi deriva dal lavoro di Sarks *et al.* <sup>[41]</sup> che hanno evidenziato la presenza di macrofagi nella Bruch durante la senescenza. L'importanza di questo fenomeno è legato alla duplice azione potenziale dei macrofagi sia nel modificare l'accrescimento dei vasi sanguigni che nell'alterare la Bruch. Il rilevamento di macrofagi in aree di assottigliamento della Bruch rappresenta l'evidenza della loro attività nella rimozione del collagene. È stato suggerito che tali modificazioni possono indurre secondariamente accrescimento dei vasi sanguigni, ma i macrofagi attivati possono determinare una vasoproliferazione

anche producendo fattori di crescita. Rimane ancora da chiarire il meccanismo che induce primariamente il richiamo di macrofagi nella Bruch.

È stato dimostrato che le cellule dell'EPR possono indurre fattori di crescita VEGF e FGF2<sup>[42]</sup>; quali sono, però, le evidenze del coinvolgimento di tali fattori nello sviluppo di NCV? Alcune dimostrazioni possono indirettamente suggerire un ruolo patogenetico:

- VEGF e FGF2 sono presenti nei fibroblasti e nelle cellule di epitelio pigmentato retinico di membrane neovascolari coroideali rimosse chirurgicamente;
- in modelli animali di neovascolarizzazione coroideale laser indotta è stato osservato un incremento dei livelli di FGF2 e VEGF mRNA nelle cellule dell'EPR, nelle cellule di endotelio vascolare coroideale e nei fibroblasti;
- è stato dimostrato che un prolungato rilascio di FGF2 nello spazio sottoretinico di coniglio comporta NCV. Altre osservazioni hanno invece fatto avanzare dubbi circa il coinvolgimento di FGF2 e VEGF nella patogenesi di NCV;
- topi transgenici che non esprimono FGF2 hanno la stessa incidenza di NCV rispetto a topi di controllo che esprimono FGF2 in un modello laser indotto, indicando che FGF2 non è necessario per la formazione di neovascolarizzazione coroideale;
- topi knock out che esprimono alti livelli di FGF2 o VEGF nei fotorecettori non sviluppano NCV.

Per tentare di chiarire questo conflitto di dati, in uno studio recente sono stati utilizzati topi transgenici che esprimevano alti livelli di VEGF e il FGF2, inseriti nella rodopsina dei fotorecettori. Questi topi sono stati trattati con argon laser a bassa potenza allo scopo di danneggiare i fotorecettori e le cellule dell'EPR, causandone così il rilascio del contenuto intracellulare. Ciò determinava la comparsa di NCV solo nei topi con rho/FGF2 ma non in quelli con rho/VEGF. Gli stessi topi sono stati trattati anche con krypton laser ad alta intensità per indurre un danno non solo ai fotorecettori e alle cellule dell'EPR, ma anche alla

Bruch, ai capillari coroideali ed alla matrice delle cellule endoteliali coroideali. Tutto ciò provocava una NCV molto estesa che era significativamente più marcata nei topi transgenici rho/FGF2 e rho/VEGF rispetto a quella osservata nei topi controllo<sup>[43]</sup>. Questa osservazione dimostrava il coinvolgimento dei fattori vascolari nello sviluppo della neovascolarizzazione coroideale, ma suggeriva anche che i vasi coroideali erano in grado di rispondere ad essi solo quando venivano a mancare dei meccanismi di controllo regolatori dei loro livelli, come nel caso delle lesioni indotte dal laser. Per l'FGF2, il meccanismo di controllo era verosimilmente dipendente dal sequestro nella matrice extracellulare in cui FGF2 sarebbe legato ai recettori delle proteine. Per il VEGF, il meccanismo di controllo non sembrava essere legato ad un sequestro, perché anche quando era usato un laser a bassa intensità per rilasciare l'eccesso di VEGF dai fotorecettori e veniva distrutta la barriera emato-retinica, non si verificava la NCV. Da studi recenti su topi transgenici che esprimevano livelli differenti di VEGF si può dedurre che dall'integrità dei fotorecettori dipendono i meccanismi di controllo che impediscono alla coriocapillare di rispondere agli eccessi di VEGF con NCV; ciò è interessante perché pazienti con AMD che sviluppano NCV presentano degenerazione dei fotorecettori. È stato osservato che il VEGF inoltre lega la neurofillina 1, che funziona come una sub unità di legame di un recettore trans membrana che media specifici segnali per le semaforine, molecole che guidano l'interruzione della crescita assonale dei coni. La neurofillina è espressa nelle cellule endoteliali e amplifica l'effetto mitotico del recettore del VEGF (VEGFR-2). Questa osservazione si rileva molto interessante perché sembra dimostrare la presenza di identici meccanismi molecolari da cui dipendono lo sviluppo degli assoni e della rete capillare.

Sono stati prodotti alcuni modelli sperimentali per indurre rottura della Bruch attraverso la distruzione enzimatica e meccanica, con l'iniezione intravitreale di collagenasi e con l'impiego del laser. Heriot ha dimostrato che il danno fototossico indotto nel ratto provocava una crescita dei capillari della coroide che, emettendo pseudopodi, erodevano la membrana di Bruch<sup>[44]</sup>. Egli concluse

che la NCV poteva essere la conseguenza di questo processo litico, ma che comunque la degenerazione della membrana basale di una preesistente rottura non era da sola essenziale a indurre NCV. Il ritrovamento patologico più consistente nella AMD avanzata con la NVC è l'accumulo abnorme di matrice extracellulare che causa un diffuso ispessimento della Bruch. Questa alterazione insieme con le aree focali di ispessimento risultanti dalle drusen suggerisce la presenza di un disordine metabolico della matrice extra cellulare. Alterazioni della Bruch e della matrice extracellulare sono anche consistentemente trovate in altre malattie in cui interviene la NCV come lo pseudoxantoma elastico o l'elevata miopia. Insieme con i fattori pro e anti angiogenetici, le molecole della matrice extracellulare partecipano alla regolazione della crescita dei neovasi. Le molecole della matrice extra cellulare possono legare e sequestrare i fattori di crescita solubili, impedendone il legame ai recettori delle cellule endoteliali finchè non ne avviene il rilascio per proteolisi della matrice extra cellulare. Tale modificazione della matrice extra cellulare, che avviene attraverso due sistemi proteolitici coinvolti nell'angiogenesi, l'urochinasi e la matrice delle metalloproteinasi, consente la migrazione delle cellule endoteliali. È stato ipotizzato che le stesse molecole della matrice possono direttamente stimolare o inibire i processi delle cellule endoteliali coinvolti nell'angiogenesi attraverso il legame con le integrine, recettori di superficie cellulare espressi elevatamente dalle cellule endoteliali durante l'angiogenesi<sup>[45]</sup>. A tal proposito è stato esaminato l'effetto delle molecole della matrice (vitronectina, fibronectina, trombospondina) sulla secrezione dei fattori di crescita angiogenici da cellule di EPR, ed è stato osservato che l'impiego di trombospondina in culture di EPR comporta un aumento drammatico di VEGF e FGF2. Tale incremento è bloccato da anticorpi anti integrina dimostrando che la secrezione dei fattori di crescita è mediata dal legame della trombospondina ai recettori dell'integrina. Possiamo pertanto ritenere che il rimodellamento della matrice extracellulare può alterare i segnali mediati in alcuni tipi di cellule endoteliali promuovendo infine l'angiogenesi.

### II.1.1. L'ANGIOGENESI

L'angiogenesi rappresenta un ciclo di processi vitali che porta alla neoformazione di vasi sanguigni anomali a partire da quelli già esistenti. Essa è una tappa di fondamentale importanza in molti processi sia fisiologici, come la normale crescita e differenziazione di un tessuto nell'embriogenesi e nello sviluppo fetale, sia patologici come nella riparazione di un danno tessutale e nel processo di guarigione cicatriziale delle ferite<sup>[46]</sup>. Il core della complessa biologia cellulare dell'angiogenesi è custodito nella cellula endoteliale che prolifera e si differenzia sotto l'azione regolatoria del Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) che è il principale induttore diretto dell'angiogenesi insieme ad altri cofattori di crescita solubili alcuni dei quali hanno effetti biologici ancora poco chiari.

L'angiogenesi porta alla formazione di un neovascolo per gemmazione da un capillare oppure da una venula post-capillare attraverso un programma di induzione angiogenica ben codificato che avviene attraverso 4 fasi<sup>[47]</sup>:

1. destabilizzazione dei vasi preesistenti, perdita delle connessioni tra le cellule endoteliali, aumento della permeabilità vascolare ed edema;
2. migrazione e proliferazione delle cellule endoteliali verso l'area selettiva di tessuto dove è necessaria la creazione di una rete neovascolare anarchica; in questa fase la secrezione di enzimi proteolitici (metallo-proteasi, serin-proteasi) degrada la matrice extracellulare e facilita l'invasione e la migrazione delle cellule endoteliali;
3. differenziazione e stabilizzazione delle cellule endoteliali con arresto della proliferazione cellulare;
4. maturazione di un vaso stabile con formazione del lume, dopo chemiotassi di cellule di sostegno come periciti e di fibrocellule muscolari lisce. Creazione di anastomosi tra capillari, rimaneggiamenti vasali (decorso, calibro, scomparsa di capillari); la maturazione del vaso avviene tramite molecole stabilizzatrici ad effetto anti proliferativo come i TGF  $\beta$ 1 e  $\beta$ 2 che portano alla deposizione di tessuto connettivale con fibrosi disorganizzata.

L'angiogenesi e l'attivazione dell'endotelio possono avvenire in condizioni fisiologiche e patologiche. L'angiogenesi fisiologica, mediata dal VEGF, è un fenomeno naturale che regola proliferazione, rigenerazione e fenestrazione dell'endotelio vascolare; essa avviene durante lo sviluppo embrionale e fetale, nella vita adulta, in particolare nelle donne, è attiva durante l'ovulazione e la formazione del corpo luteo, e nel processo di cicatrizzazione delle ferite in cui è fondamentale il ruolo sia del VEGF che del FGF2.

L'angiogenesi patologica invece comporta la crescita incontrollata di microvasi in differenti tessuti affetti da malattia (tumori, flogosi cronica, psoriasi, arteriosclerosi, cirrosi, vasculopatie retiniche come la microangiopatia diabetica, la retinopatia del pretermine, le occlusioni venose retiniche ischemiche, le degenerazioni maculari essudative).

### **II.1.2. ANGIOGENESI PATOLOGICA IN OFTALMOLOGIA**

La comunità scientifica mondiale ha unanimemente accettato il ruolo fondamentale dell'ipossia nello starting dell'angiogenesi patologica che si verifica nelle malattie retino-vascolari associate a non perfusione capillare ed ischemia.

Nel 1948, grazie alla geniale intuizione di Michelson<sup>[48]</sup>, fu proposta per la prima volta la possibilità che un fattore diffusibile rilasciato da aree retiniche ischemiche potesse essere alla base dello sviluppo di neovascolarizzazioni intraoculari.

Quasi 50 anni dopo, la ricerca clinica di laboratorio ha condotto all'identificazione di numerosi fattori correlati al controllo dell'angiogenesi che è un processo multistep controllato dall'equilibrio dinamico tra fattori endogeni positivi pro-angiogenici e fattori endogeni negativi anti-angiogenici.

La tavola 1 riassume i fattori endogeni che stimolano o inibiscono il processo dell'angiogenesi: nel momento in cui l'innescò di un processo neovascolare è sufficiente a far fronte alla domanda locale di ossigeno e micronutrienti, i fattori

angiogenici si trovano in uno stato di down-regulation e la concentrazione locale di inibitori dell'angiogenesi aumenta.

Il VEGF, conosciuto anche come VEGF-A ha un ruolo fondamentale nel controllo dell'angiogenesi fisiologica e patologica. Inizialmente fu scoperto come fattore di permeabilità vascolare, ma studi successivi condotti soprattutto da Ferrara *et al.* <sup>[49]</sup> nei laboratori di biologia molecolare della Genentech (CA, USA) hanno evidenziato lo stimolo angiogenico come fattore mitogeno specifico per le cellule endoteliali.

Dal punto di vista biochimico, si tratta di una proteina glicosilata dimerica a basso peso molecolare (36-46 KD).

Nell'uomo sono state isolate diverse isoforme di VEGF, rispettivamente di 121, 165, 189, e 206 amminoacidi. La specie molecolare principale che stimola la crescita della neovascolarizzazione oculare patologica retinica e coroideale è la VEGF<sub>165</sub>, che si presenta come una glicoproteina omodimerica basica con elevata affinità per l'eparina.

Il VEGF è espresso in diversi tessuti come quello cerebrale, retinico, epatico e renale, ed è stato ritrovato anche nell'ovaio durante la formazione del corpo luteo, nell'utero durante la crescita dell'endometrio e nella fase proliferativa della cicatrizzazione e riparazione di una ferita.

Nella retina, studi *in vitro* hanno dimostrato che il VEGF può essere secreto da diversi tipi di cellule retiniche, come le cellule dell'EPR, i periciti, gli astrociti, le cellule di Muller e le cellule endoteliali.

Sono stati identificati anche 4 geni strutturalmente correlati al VEGF, i cui prodotti sono conosciuti come PlGF (Placental Growth Factor), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D e VEGF-E.

Il VEGF-A e il VEGF-E sono considerati potenti fattori angiogenici; in particolare il VEGF-A determina un aumento della permeabilità vascolare e angiogenesi. Studi *in vitro* hanno recentemente dimostrato che le cellule dell'EPR secernono il VEGF-A.

Il VEGF-B è coinvolto nella progressione dei tumori non angiogenici; il VEGF-C e il VEGF-D sono oggetto di studio per il loro ruolo nella angiogenesi e nella linfoangiogenesi.

Studi su colture cellulari hanno evidenziato che l'espressione del VEGF è accresciuta essenzialmente dall'ipossia e dall'ischemia. Studi *in vivo* e *in vitro* hanno dimostrato che ampie aree di ischemia retinica producono una proteina di trascrizione nota come fattore di induzione dell'ipossia (HIF-1, Hypoxia Inducible Factor 1, sub-unità  $\alpha$  e  $\beta$ ) che stimola una up-regulation della secrezione del VEGF-A.

Il VEGF stimola le cellule endoteliali a degradare la loro membrana basale e a migrare con concomitante rilascio di MMPs, di integrine  $\alpha$  e  $\beta$ . Il VEGF pertanto agisce come propulsore angiogenico naturale capace di stimolare la proliferazione e la migrazione delle cellule endoteliali, formare tubuli endoteliali, provocare vasodilatazione, inibire l'apoptosi, mantenere uno stato di sopravvivenza neovascolare e dare neuroprotezione.

Il VEGF umano ha una forte affinità di legame con 3 classi di recettori della famiglia delle tirosin-kinasi identificati sulle membrane delle cellule endoteliali, il cui legame condiziona la cascata pro-angiogenica:

- VEGFR-1 (Flt-1 o fms-like tyrosine kinase) è il recettore espresso sui periciti e sulle fibrocellule muscolari lisce endoteliali;
- VEGFR-2 (Flk-1/KDR o fetal liver kinase) è il recettore identificato sulle cellule endoteliali, tumorali e sui monociti;
- VEGFR-3 (fms-like tyrosine kinase 4 o Flt-4) è espresso principalmente sull'endotelio venoso ed è comunque coinvolto, anche se in misura minore, nell'angiogenesi.

I recettori VEGFRs sono simili dal punto di vista strutturale e sono distribuiti, nella vascolarizzazione retinica, negli elementi neuronali e nell'endotelio della coriocapillare a contatto con l'epitelio pigmentato.

L'interazione del VEGF-A con il VEGFR-2 o Flk-2 è fondamentale per mediare l'azione angiogenica ed è seguita da proliferazione delle cellule endoteliali,

mentre nessun effetto mitogeno scaturisce dal linkage del VEGF con Flt-1, che invece sembra determinare una migrazione di periciti e fibrocellule muscolari lisce necessarie per l'assemblaggio e la maturazione di un neovascolo stabile.

Gli studi compiuti nell'ultimo decennio hanno portato ad una migliore comprensione del ruolo fondamentale che ha il VEGF-A nello sviluppo dell'angiogenesi patologica associata con alcune malattie retiniche, caratterizzate da neovascolarizzazione intraoculare e nella patogenesi dell'iperpermeabilità endoteliale associata con l'accumulo di fluido intra e sottoretinico, tipico delle malattie vascolari retiniche caratterizzate da edema ed essudazione che spesso interessano la regione maculare e comportano una riduzione globale delle funzioni visive centrali.

Le retinopatie ischemiche e quelle essudative, generalmente, condividono diversi patterns clinici ed angiografici come essudati, rarefazione della rete capillare retinica tipica delle aree ischemiche di non perfusione, dilatazioni microaneurismatiche, teleangiectasie microvascolari, neovascolarizzazione retinica e/o del disco ottico, emorragie retiniche e/o endovitreali, vasi retinici iperpermeabili con essudazione e precipitati lipidici intraretinici, neovascolarizzazione del segmento anteriore<sup>[50]</sup>.

Tuttavia, è anche vero che ci sono alcuni effetti del VEGF ancora poco conosciuti e correlati all'attività non vascolare di questa molecola, come per esempio le interazioni biologiche cellulari a livello dei neuroni retinici e delle connessioni sinaptiche inter-fotorecettoriali che sono tutt'oggi oggetto di studio nell'ambito di programmi di ricerca clinica applicata alla biologia molecolare di laboratorio.

La risposta pro-infiammatoria indotta dalla crescita neovascolare comporta anche la migrazione chemiotattica di macrofagi che secernono il Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- $\alpha$ ), una citochina che *in vivo* induce l'angiogenesi attraverso un aumento dei recettori del VEGF (VEGFR-2) sulla membrana endoteliale che rende la cellula ancora più sensibile all'azione del VEGF-A; inoltre, è un potente attivatore della produzione di PDGF e di FGF.

I macrofagi hanno un ruolo importante nella modulazione dell'angiogenesi in fase regressiva dove, attraverso l'attivazione di fibroblasti che sintetizzano collagene e la loro differenziazione in miofibroblasti (TGF  $\beta$ , PDGF,) e la secrezione di inibitori delle MMP tessutali, possono bloccare la formazione dei neovasi portandoli allo stadio inattivo con diversa matrice fibrotica. Le citochine sono i direttori d'orchestra del processo di riparazione. Quello che succede nella retina maculare in corso di un stimolo angiogenico che porta alla neovascolarizzazione coroideale o retinica evolve verso una risposta di riparazione tessutale che produce generalmente una cicatrice fibrotica intraretinica che in relazione all'intensità dei fenomeni di rigenerazione fibrosa può compromettere le funzioni visive centrali dell'area maculare.

In definitiva, la conoscenza sulla formazione dei neovasi e le relazioni intercorrenti tra il processo angiogenico e gli altri caratterizzanti la risposta della retina maculare al danno tessutale costituiranno le basi razionali per disegnare i nuovi approcci al trattamento farmacologico anti-angiogenico della neovascolarizzazione intraoculare.

## **II.2. ASPETTI CLINICI**

I pazienti riferiscono tipicamente una visione sfuocata o metamorfopsie in uno od entrambi gli occhi, ma tale patologia può anche essere asintomatica. Altri comuni disturbi sono la diminuzione della capacità nella lettura, specialmente con luce debole, così come l'adattamento al buio. La comparsa è subacuta, eccetto per quei casi di AMD di tipo neovascolare in cui viene notata una brusca diminuzione della vista.

I segni caratteristici della AMD neovascolare sono la crescita della neovascolarizzazione della corio capillare nell'area maculare. Gli effetti clinici al polo posteriore sono variabili, ma possono includere:

- Fluido sottoretinico;
- Edema maculare;

- Sangue retinico, sottoretinico e sotto epiteliale;
- Lipidi retinici e sottoretinici;
- Anello pigmentato sottoretinico o membrana tipo placca;
- Colorazione grigiastra o bianco giallastra sottoretinica;
- Distacco o rottura dell'EPR;
- Cicatrice disciforme;
- Tessuto fibroso sottoretinico;
- Pieghe radiali corio retiniche.

## **CAPITOLO III**

### ***OCCLUSIONE DELLA VENA CENTRALE DELLA RETINA***

#### **III.1. FISIOPATOLOGIA DELL'OVCR**

La patologia venosa ostruttiva della retina è una malattia retinica vascolare abbastanza comune, seconda solo al diabete per incidenza. Si manifesta tipicamente in pazienti che hanno 50 anni o più. Di solito le occlusioni venose retiniche sono facilmente riconosciute ed i possibili trattamenti sono stati indagati con studi clinici multicentrici e randomizzati.

Le occlusioni venose retiniche sono classificate a seconda che sia ostruita la vena centrale della retina o uno dei suoi rami.

Le occlusioni della vena centrale della retina possono essere divise in varietà ischemica e non ischemica. Questa distinzione tra ostruzioni della vena centrale della retina è importante perché fino ai due terzi dei pazienti con la varietà ischemica sono destinati a sviluppare neovascolarizzazione iridea e successivo glaucoma neovascolare.

Le due complicanze più importanti della OVCR sono l'edema maculare persistente ed il glaucoma secondario alla neovascolarizzazione dell'iride.

L'occlusione della vena centrale della retina si rinviene più comunemente nei soggetti anziani con fattori di rischio quali il diabete mellito, l'ipertensione arteriosa, malattie cardiovascolari ischemiche<sup>[51]</sup>.

Il preciso meccanismo patogenetico d'occlusione della vena centrale della retina rimane oscuro. Per quanto sia generalmente condiviso che, sul piano istopatologico, la lesione scatenante sia un trombo della vena centrale della retina a livello della lamina cribrosa, il perché questo si verifichi non è interamente chiaro. Spesso è implicata l'arteriosclerosi dell'arteria centrale della retina vicina che causa un flusso venoso turbolento e quindi un danno endoteliale. Ancora, si è suggerita la proliferazione delle cellule endoteliali. Una teoria alternativa è che la

trombosi della vena centrale della retina rappresenta lo stadio finale di un fenomeno indotto da una varietà di lesioni primitive. Tali lesioni potrebbero includere problemi infiammatori o compressivi del nervo ottico e dell'orbita, anomalie strutturali nella lamina cribrosa o alterazioni emodinamiche. Dal momento che la circolazione venosa retinica rappresenta un sistema relativamente ad alta resistenza, a basso flusso è particolarmente sensibile ai fattori emorragici. Insieme ad una elevata velocità di eritrosedimentazione e livello di antitrombina III, altri studi indicano che un elevato livello di ematocrito, di fibrinogeno, l'aumentata viscosità ematica, la presenza di lupus anticoagulante o un altro anticorpo antifosfolipide e una mancanza della proteina C attivata possono essere associati con la malattia venosa<sup>[52]</sup>. Se questi parametri ematologici possano da soli dare inizio all'occlusione della vena centrale o il loro ruolo sia di funzionare come cofattori rimane sconosciuto.

Un' associazione rara con l'occlusione della vena centrale della retina include il trauma cranico chiuso, le drusen della testa del nervo ottico e le malformazioni artero - venose della retina

### **III.2. ASPETTI CLINICI**

I pazienti di solito giungono all'osservazione con una riduzione del visus improvvisa e indolore, spesso unilaterale, che può variare da episodi transitori di annebbiamento visivo fino a un deficit visivo marcato, frequentemente inferiore a 1/10, che si riduce fino alla conta delle dita o peggio, insieme all'insorgenza di un'evidente pupilla di Marcus Gunn (difetto pupillare relativo afferente).

Meno frequentemente i pazienti giungono all'osservazione con una storia di transitorie amaurosi, che duravano da pochi secondi a minuti, con completo recupero della visione normale.

Questi sintomi possono ricorrere durante diversi giorni o settimane, seguiti da riduzione visiva o dal recupero visivo completo senza sintomi. Invariabilmente all'osservazione del fondo si rilevano emorragie sparse in tutti i quadranti

retinici, con diversi gradi di gravità, di solito associate a dilatazione del sistema venoso. Alcuni pazienti possono giungere all'osservazione con iperemia oculare e fotofobia dell'occhio interessato. All'esame presentano iniezione ciliare e una certa dilatazione dei normali vasi iridei.

Questi fenomeni di solito si hanno entro pochi giorni o settimane dall'insorgenza dei disturbi visivi. È importante riconoscere questi segni come manifestazioni della fase acuta e distinguere la dilatazione dei normali vasi iridei dalla neovascolarizzazione iridea franca.

Purtroppo alcuni pazienti giungono alla prima osservazione con dolore e segni avanzati di malattia. Questi in genere seguono una riduzione visiva avvenuta circa 3-4 mesi prima dell'insorgenza del dolore. Questo tipo di presentazione clinica viene detto "glaucoma del 90 giorno", l'occhio presente tipicamente un edema corneale, pressione intraoculare elevata ed estesa neovascolarizzazione iridea.

L'edema maculare e la conseguente disfunzione maculare permanente si manifestano virtualmente in tutti i pazienti con occlusione della vena centrale della retina e in molti pazienti con occlusione della vena centrale della retina non ischemica. Il Gruppo per lo Studio dell'Occlusione Venosa Centrale ha valutato l'efficacia della fotocoagulazione tipo griglia maculare nei pazienti con occlusione della vena centrale della retina con edema maculare<sup>[53]</sup>. Furono studiati sia pazienti con occlusione della vena centrale della retina ischemica sia non ischemica. Sebbene la griglia maculare in definitiva riduceva l'edema maculare a livello angiografico, lo studio non trovò una differenza nell'acuità visiva tra occhi trattati e non trattati in ogni stadio del periodo di follow – up.

In conclusione, attualmente, non si raccomanda di utilizzare la griglia maculare nella condizione d'occlusione della vena centrale della retina.

## **CAPITOLO IV**

### ***EDEMA MACULARE DIABETICO***

#### **IV.1. FISIOPATOLOGIA DELL'EMD**

La retinopatia diabetica e le altre complicanze oculari del diabete hanno svelato molti loro segreti dallo studio decisivo compiuto da Waite e Beetham nel 1929<sup>[54]</sup>. l'avvento della fotocoagulazione laser pan retinica per la cura della retinopatia diabetica proliferante e i dati derivati da studi quali Diabetic Retinopathy Study<sup>[55]</sup> (DRS), Early Treatment Diabetic Retinopathy Study<sup>[56]</sup> (ETDRS), Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study<sup>[57]</sup> (DRVS), e Diabetes Control and Complication Trial<sup>[58]</sup> (DCCT), oggi sono di notevole aiuto per la comprensione e il trattamento della retinopatia diabetica.

In un soggetto con retinopatia diabetica che stia progredendo o che abbia già raggiunto lo stadio proliferante ad alto rischio, un trattamento corretto, quale la fotocoagulazione laser pan retinica, può ridurre il pericolo di grave perdita di visus entro 5 anni a valori inferiori al 5%. Inoltre, in pazienti con edema maculare diabetico clinicamente significativo (EMDCS) il rischio di andare incontro a una modesta perdita di visus si può abbassare dal 50 % e più a circa il 12 % o meno se si sottopongono a n'adeguata terapia laser focale.

#### **IV.2. ASPETTI CLINICI**

Quando la retinopatia diabetica si avvicina allo stadio al alto rischio di proliferante, o la raggiunge, è d'importanza cruciale prendere in considerazione il trattamento laser con fotocoagulazione pan retinica. Un occhio deve essere considerato ormai prossimo allo stadio ad alto rischio quando vi siano i segni retinici di RDNP grave o molto grave, con o senza RDP iniziale, o neovasi no

completamente corrispondenti alla definizione di RDP ad alto rischio associati ad ogni livello di RDNP.

Il livello base della retinopatia indica il rischio di progressione dallo stadio di RDNP verso lo stadio iniziale di retinopatia diabetica proliferante iniziale e verso la retinopatia diabetica proliferante ad alto rischio<sup>[59]</sup>.

La retinopatia diabetica è grossolanamente classificata in RDNP e RDP. L'edema maculare diabetico può essere presente in entrambe.

Quando esso è presente, si necessitano di controlli più ravvicinati nel tempo e, qualora l'edema sia clinicamente significativo, è consigliabile praticare un trattamento laser focale.

Per edema maculare clinicamente significativo si intende:

- Ispessimento della retina localizzato < 500 µm dal centro della macula, oppure
- Essudati duri con ispessimento della retina adiacente localizzati < 500 µm dal centro della macula, oppure
- Una zona di ispessimento di 1 AD o più larga, localizzata <1 AD dal centro della macula.

L'interessamento della macula in corso di diabete può essere presente qualunque sia il grado di retinopatia e provoca un significativo disturbo delle sue funzioni, alterando la stessa struttura maculare nei seguenti modi:

- Ristagno di liquido intraretinico a livello maculare con presenza o meno di essudati lipidici e di alterazioni cistoidi (edema maculare);
- Mancata perfusione dei capillari parafoveali con o senza liquido intraretinico;
- Trazione a livello maculare per proliferazione di tessuto fibroso, che provoca trascinamento retinico, pieghe della superficie o distacco della macula;
- Emorragia intra o preretinica a livello maculare;
- Formazione di foro retinico lamellare o a tutto spessore;
- Combinazione di più di uno di questi fattori.

Clinicamente l'edema maculare è un ispessimento retinico del centro della macula entro due diametri papillari (non vi è leakage di fluoresceina senza

ispessimento). La presenza di un ispessimento retinico o di essudati duri con adiacente ispessimento retinico che minaccino o coinvolgano il centro maculare deve essere considerata clinicamente importante.

L'EMDCS, come definito nello studio ETDRS, include almeno uno dei tre punti riportati sopra. Nella cura dell'EMDCS vi sono delle particolari lesioni retiniche riscontrate con la fluorangiografia che sono assoggettabili al trattamento. Queste lesioni trattabili associate all'edema maculare includono:

- Diffusioni focali a più di 500  $\mu\text{m}$  dal centro della macula, ritenute responsabili dell'ispessimento retinico e/o degli essudati duri;
- Diffusioni focali tra 300 e 500  $\mu\text{m}$  dal centro della macula, ritenute responsabili dell'ispessimento e/o degli essudati, qualora l'oftalmologo curante non ritenga che il trattamento possa distruggere il rimanente reticolo capillare perifoveale e l'acuità visiva sia di 20/40 o inferiore;
- Aree di diffuso leakage da un gran numero di microaneurismi e da molte AMIR, oppure;
- Zone non perfuse, oltre alla normale zona foveale avascolare, non precedentemente trattate.

Il trattamento laser focale dell'EMDCS consiste in un trattamento laser diretto, in un trattamento laser a griglia o nella combinazione di entrambi.

## **CAPITOLO V**

### ***CORIORETINITE SIEROSA CENTRALE***

#### **V.1. FISIOPATOLOGIA DELLA CSC**

Si definisce corioretinopatia sierosa centrale un distacco sieroso idiopatico della macula dovuto ad accumulo di liquido sieroso al polo posteriore. Fu descritta per la prima volta da Von Graefe nel 1866 con il nome di retinite ricorrente. Neanche un secolo più tardi negli anni '60, Maumenee e Gass diedero un contributo alla conoscenza della CSC descrivendo il singolare quadro fluorangiografico che denunciava una perdita a livello dell'EPR. Successivamente Klein notò come nel 95% dei casi il liquido si accumulava solo ad di sotto della retina neurosensoriale (CSC tipo I), nel 3% si aveva un distacco isolato dell'EPR (CSC tipo II) mentre nel 2% dei casi si aveva un quadro misto (CSC tipo intermedio).

Tipicamente la CSC insorge in adulti giovani e di mezza età tra i 20 e 45 anni, con il sesso maschile che risulta essere colpito dieci volte di più di quello femminile. È più comune nei caucasici, negli asiatici e ispanici. Praticamente assente nella razza nera.

Il meccanismo fisiopatologico sembrerebbe una aumentata permeabilità coriocapillare a cui segue un distacco sieroso dell'EPR con successivo aumento di pressione sull'epitelio stesso. Questo aumento di pressione porta ad una perdita indotta sia meccanicamente che per scompenso dell'EPR con leakage e distacco retinico neurosensoriale.

L'origine sembrerebbe essere multifattoriale, un connubio di fattori genetici, ambientali e comportamentali, in cui un ruolo chiave potrebbero giocarlo le catecolamine.

## **V.2. ASPETTI CLINICI**

Il tipico paziente affetto da CSC lamenta una diminuzione monolaterale della visione centrale oppure uno scotoma centrale che può accompagnarsi a metamorfopsia e micropsia. Spesso sono descritti casi di CSC in pazienti sotto stress e con personalità di tipo A. La maggior parte dei pazienti è emmetrope o lievemente ipermetrope, mentre non si associa mai a miopia elevata.

Nello stadio acuto il visus può variare da 10/10 a 1/10 con la visione che migliora con una piccola correzione sferica positiva. Il test di Amsler spesso evidenzia piccolo scotoma centrale e metamorfopsia.

All'esame del fondo si possono evidenziare:

- Distacco retinico sieroso;
- Distacchi dell'epitelio pigmentato (PED);
- Precipitati sottoretinici;
- Modificazioni atrofiche dell'EPR;
- Distacchi multipli sierosi bollosi del neuroepitelio e dell'EPR;
- Aree extramaculari di atrofia dell'EPR.

## **CAPITOLO VI**

### **APPROCCI TERAPEUTICI**

#### **VI.1. TERAPIE LASER CONVENZIONALI**

##### **V.1.1. LASER FOTOCOAGULAZIONE**

Possiamo dire che fu Luigi Maggiore, nel 1927, ad iniziare lo studio degli effetti della luce solare e della luce artificiale sulle strutture oculari in un paziente affetto da neoformazione retinica. Ma è stato Gerd Meyer Schwickerat che, nel 1949, ha pubblicato i primi risultati clinici di fotocoagulazione retinica. Sono entrati nella leggenda i primi casi trattati, nell'Ospedale Universitario di Heidelberg, utilizzando la luce solare con un sistema di lenti che la facevano convergere sulla retina del paziente. Nel 1950 Meyer Schwickerat utilizzò le radiazioni luminose dell'arco fotovoltaico e nel 1956 la lampada a xenon con il primo strumento prodotto dalla Zeiss, che portò allo sviluppo clinico della fotocoagulazione retinica. Contemporaneamente, in Italia, Emilio Raverdino mise a punto un fotocoagulatore allo xenon che ebbe una discreta diffusione. La fotocoagulazione con la luce bianca prodotta dalla lampada a xenon si diffuse fino alla metà degli anni '60.

La coagulazione retinica interessava massivamente tutte le strutture del fondo oculare, non permetteva il trattamento della zona maculare, era poco maneggevole ed il dolore determinato dall'impatto necessitava l'impiego dell'anestesia retrobulbare. La fotocoagulazione allo xenon aprì nuovi orizzonti alla terapia e, per la prima volta, si ottennero, con questo trattamento, dei risultati positivi soprattutto nella prevenzione del distacco di retina. Gli inconvenienti della coagulazione con fotocoagulatore allo xenon portarono all'immediato successo la fotocoagulazione laser quando questa fu adoperata. Christian Zweng,

nel 1963, fu il primo a studiare gli effetti della coagulazione laser sulla retina, adoperando un laser a rubino. In Italia nel 1965 Focosi, Venturi, Salvi, Alajmo e Brancato iniziarono ad utilizzare sperimentalmente il laser a rubino ma il colore rosso del raggio ed il tipo di radiazione pulsante rendeva l'impiego difficile in clinica, con formazione di bolle di vapore ed emorragie retiniche durante il trattamento. Nel 1968 Francis L'Esperance a New York, seguito nel breve da Hunter Little e Christian Zweng, aprì l'era dell'utilizzazione clinica della fotocoagulazione laser con gli strumenti laser ad argon, prodotti poi industrialmente dal 1971.

Contemporaneamente all'espandersi della fluorangiografia, la fotocoagulazione laser ha conosciuto da quel momento, in Italia e nel mondo, un'espansione continua. È probabile che lo sviluppo di questa tecnica fu collegato all'espansione della fluorangiografia ma anche allo sviluppo della biomicroscopia che permetteva un forte ingrandimento ed anche una elevatissima precisione nella osservazione mentre con lo xenon era stata adoperata l'oftalmoscopia diretta.

Nel 1972 cominciarono ad essere adoperati i primi laser krypton ed i laser monocromatici verdi. I primi laser a coloranti furono ideati e studiati in Italia da Brancato e Pratesi nel 1972 ma sviluppati in modo industriale soltanto nel 1983. Mentre si sviluppavano in oculistica altri laser, adoperati per la sezione dei tessuti (Yag laser) o la coagulazione transclerale (neodimio laser free running), comparivano, nel 1984, i primi coagulatori che utilizzavano un laser a diodi semiconduttori contemporaneamente agli studi in questo campo di Carmen Puliafito per quanto riguarda le endofotocoagulazioni.

I mezzi diottrici lasciano penetrare nell'occhio i raggi di luce visibile ma anche gli infrarossi e gli ultravioletti. L'emoglobina assorbe le radiazioni fino a 600 nm. La melanina presente nell'epitelio pigmentato assorbe le radiazioni dello spettro visibile e soprattutto la luce blu, gialla e verde. Tutti gli esperti sono oggi concordi nell'evitare l'impiego della componente blu del laser ad argon allo scopo di ridurre gli effetti collaterali da questa prodotti sia sul paziente che

sull'operatore. Tra i primi ricordiamo l'elevata dispersione di energia attraverso i mezzi diottrici opachi (cornea, cristallino, vitreo, fibrosi retino-vitreali), l'elevato assorbimento da parte degli strati retinici interni e della xantofilla maculare; tra i secondi la documentata discromatopsia che insorge nell'operatore dopo anni di trattamenti condotti adoperando questa lunghezza d'onda. Le lunghezze d'onda verde o gialla sono poco assorbite dalla xantofilla maculare e sono invece assorbite dall'emoglobina. Sono, dunque, utili per il trattamento dei vasi retinici e dei neovasi retinici o preretinici. Il loro impiego vicino alla macula provoca lesioni minime alla retina, che sono pericolose sui vasi normali. Il laser rosso non è bene assorbito dalle emorragie né dai vasi retinici: attraversa bene i cristallini brunescenti o ingialliti, le emorragie vitreali e penetra in profondità. Il rosso krypton contiene 20% di giallo ed è utile per il trattamento maculare. È la lunghezza d'onda più utile per il trattamento dei neovasi maculari sottoretinici procurando il minore danno alla macula stessa. La luce laser arancione, che teoricamente permetteva di sperare in certi risultati interessanti, dà, in clinica, degli impatti irregolari e pericolosi, con possibili danni di tipo esplosivo ed interessamento maggiore degli strati interni della retina. Il raggio infrarosso dei diodi viene adoperato correntemente; come le lunghezze d'onda rosse attraversa bene il cristallino brunescente e le emorragie vitreali. Le indicazioni relative all'impiego della varie lunghezze d'onda blu, verde, gialla e rossa sono valide soltanto quando vengono adoperati impatti di intensità lieve o media. Se, invece, le intensità vengono aumentate, la coagulazione interesserà sempre gli strati. Con impatti intensi i danni retinici e coroideali di tutte le lunghezze d'onda sono sovrapponibili. Per riassumere, i laser rosso, giallo e verde vengono adoperati per i trattamenti delle lesioni del polo posteriore; per la periferia e la media periferia possono essere adoperati normalmente i raggi blu e verde, ma quando vi è cataratta è preferibile adoperare onde gialle o rosse, mentre quando vi sono emorragie vitreali è necessario l'impiego del raggio rosso del krypton o del laser a coloranti.

Il trattamento laser della retina implica l'uso di una lente a contatto sia per immobilizzare il bulbo che per ottenere la visualizzazione della retina centrale e della periferia. Possono essere adoperati due tipi di lente: la lente di Goldmann, a tre specchi, che permette di visualizzare il polo posteriore con immagine diretta e la lente panfunduscope o la lente di Mainster e Volk che danno un'immagine rovesciata.

L'utilizzo di questa tecnica non è scevra da complicanze. Tra le complicanze precoci possiamo ricordare la retrazione della membrana limitante interna, le rotture dell'epitelio pigmentato e la coagulazione accidentale della macula (quest'ultima evenienza è dovuta ai movimenti imprevedibili del soggetto). Tra le complicanze tardive ricordiamo l'estensione della cicatrice corio-retinica; tale estensione prosegue durante gli anni ma non si estende in modo regolare. Essa infatti è molto più evidente negli occhi miopi: ha tendenza ad estendersi più su di un asse che sull'altro.

Brancato e Giovannini hanno dimostrato che la direzione dell'estensione della cicatrice è in relazione con la forma del crescente miotico.

Ci soffermeremo maggiormente sul trattamento laser dell'edema maculare diabetico poiché la retinopatia diabetica è considerata una delle quattro principali cause di cecità nel mondo e nel nostro paese addirittura al primo posto.

La scelta della strategia di trattamento richiede l'identificazione angiografica e la successiva fotocoagulazione delle lesioni giudicate trattabili secondo quanto stabilito dell'ETDRS<sup>[60]</sup>:

- I fenomeni di diffusione focale (p. es. microanurismi) situati ad oltre 500 micron dal centro della zona avascolare centrale, ritenuti responsabili dell'ispessimento retinico e degli essudati duri;
- Le aree di leakage capillare diffuso
- Le aree di non perfusione capillare (se la fotocoagulazione non danneggia la rete capillare perifoveale).

La fluorangiografia retinica si dimostra infine indispensabile per valutare la correttezza e l'efficacia del trattamento foto coagulativo praticato (regressione dei fenomeni di diffusione) e l'eventuale necessità di nuovi trattamenti<sup>[61]</sup>.

Come tutte le raccomandazioni cliniche, anche quelle per il trattamento laser dell'edema maculare diabetico, porposte dall'ETDRS, vanno rese compatibili con le esigenze e le caratteristiche cliniche di ogni singolo paziente. Il trasferimento delle raccomandazioni deve cioè avvenire al termine di una valutazione clinica completa che tenga in considerazione le specificità di ogni singolo paziente. Le regole che, nella maggior parte dei casi, risultano comunque valide possono essere così schematizzate:

- Trattare tutti i microanurismi con fotocoagulazione focale impiegando la minima energia utile ad ottenere il risultato. Le aree più estese di edema diffuso vengono trattate con uno schema “a griglia non confluyente”.
- Rivalutare il paziente dopo 2 – 4 mesi; in caso di risposte cliniche parziali o assenti, eseguire controllo fluorangiografico.
- Se, dopo 4 – 6 mesi dal trattamento, permane un ispessimento retinico con evidenti fenomeni fluorangiografici di diffusione, va eseguito un ritrattamento sulla base degli stessi criteri impiegati per il trattamento iniziale.
- La necessità dei ritrattamenti è frequente; conviene ritrattare ad intervalli di 3 - 4 mesi fino a quando non vi è la risoluzione dell'edema maculare.

L'entità degli essudati duri può apparentemente aumentare subito dopo il trattamento poiché il riassorbimento del liquido è più rapido, mentre quello degli essudati duri può continuare fino ad un anno dal trattamento. Pertanto, tale aspetto oftalmoscopico non deve indurre ad un'errata diagnosi di persistenza dell'edema maculare in assenza di una fluorangiografia retinica di conferma.

Ricordiamo come la fluorangiografia sia dirimente anche per quei casi in cui non sia indicato il trattamento laser dell'edema maculare diabetico.

La maculopatia ischemica, definita da un'occlusione della rete capillare perifoveale tale da raddoppiare almeno l'estensione della zona avascolare centrale, rappresenta la principale controindicazione al trattamento laser. Il

trattamento laser a griglia delle aree edematose associate ad una maculopatia ischemica si associa infatti ad un'elevata percentuale di calo visivo a due anni di follow - up<sup>[62]</sup>. A tutt'oggi non esiste alcun tipo di terapia efficace per tale tipo di maculopatia. La fluorangiografia è utile anche nell'identificare quei quadri di maculopatia essudativa, relativamente rari, in cui non vi è una patogenesi vascolare, ma trazionale, secondaria alla contrazione della ialoide posteriore. Il rapporto topografico, peculiare della patogenesi vascolare, tra riempimento precoce delle anomalie micro vascolari ed iperfluorescenza delle fasi tardive risulta tipicamente assente in queste forme di edema. Nelle fasi precoci dell'esame angiografico è invece presente un'ipofluorescenza, di forma circolare, che nelle fasi tardive si trasforma in un'area circolare di iperfluorescenza. L'esecuzione di un esame OCT consente spesso di dimostrare, oltre ad un ispessimento diffuso della ialoide posteriore, un lieve distacco retinico in sede foveale. L'esecuzione del trattamento laser può peggiorare l'evoluzione.

#### **VI.1.1.1. TRATTAMENTO FOCALE**

Lo scopo del trattamento è arrestare o ridurre la diffusione di liquidi dalle lesioni micro vascolari, favorendo il riassorbimento sia dell'edema sia degli essudati duri.

I microanurismi, le anomalie capillari e le aree di leakage focale vengono trattate direttamente mediante impatti di 100 – 150 microns con tempi di esposizione relativamente lunghi (compatibilmente con la collaborazione fornita dal paziente e con la vicinanza al centro). Il settaggio iniziale della potenza varierà con la trasparenza dei mezzi diottrici, il grado di pigmentazione del fundus e la lunghezza d'onda del laser impiegato, mentre gli incrementi di potenza devono essere di entità molto ridotta, in genere 10 – 20 mW, fino ad ottenere l'effetto foto coagulativo desiderato. L'obiettivo del trattamento è lo sbiancamento delle anomalie micro vascolari che, nei fotogrammi angiografici tardivi, appaiono responsabili dei fenomeni di leakage del colorante. È importante cercare di

ottenere l'effetto più lieve possibile (sbiancamento dell'epitelio pigmentato o dei microaneurismi) evitando sovradosaggi, cui inevitabilmente seguono abnormi atrofie corioretiniche e fastidiosi scotomi percepiti dal paziente.

Le lesioni giudicate trattabili devono essere situate entro due diametri papillari dal centro della fovea ed in genere non viene eseguito il trattamento iniziale di lesioni poste entro 500 microns dal centro della zona avascolare centale. Al contrario è possibile trattare inizialmente anche i microaneurismi posti oltre due diametri papillari dal centro della macula se associati alla presenza di essudati duri o ispessimento retinico all'interno della zona standard di trattamento. Le lesioni focali poste entro 300 – 500 microns dal centro della zona avascolare centrale possono essere sottoposte a trattamento qualora persista l'edema maculare con visus inferiore a 5/10 e se la fotocoagulazione non danneggia la rete capillare perifoveale<sup>[63]</sup>. In presenza di essudati duri disposti a circinata è indicata una tecnica con spot laser più ampi (200 microns) disposti secondo una griglia modificata, che lambisca il contorno degli essudati duri. Nel caso i microaneurismi siano localizzati in un'area di edema maculare diffuso, il trattamento focale delle lesioni si trasforma di per sé in una griglia con i singoli impatti localizzati sui microaneurismi. Qualora i microaneurismi siano così numerosi che per trattare tutte le lesioni con spot focali vi è il rischio di distruggere estese aree retiniche, che diventeranno in seguito anche confluenti, è preferibile ricorrere ad un trattamento a griglia.

#### **VI.1.1.2. TRATTAMENTO A GRIGLIA**

Il trattamento dell'edema maculare diffuso, con eventuale componente cistoide, viene eseguito mediante l'applicazione di una griglia di impatti laser non confluenti applicati sull'intera area di diffusione o sui segmenti di non perfusione dei capillari perifoveali così come identificati in fluorangiografia<sup>[64]</sup>. Normalmente tale quadro clinico non presenta essudati duri o microaneurismi, l'estensione e l'entità dell'edema sono variabili.

Le dimensioni degli impatti laser è in genere di 100 – 200 microns e vengono distanziati tra loro di circa un diametro di spot. Le potenze impiegate sono basse, inferiori a quelle del trattamento focale, poiché l'obiettivo è ottenere un effetto di sbiancamento dell'epitelio pigmentato retinico e della retina esterna appena percettibile. Poiché nelle aree più edematose sono richieste potenze maggiori, vi è il rischio che spostandosi poi in aree meno edematose vi sia un iperdosaggio; pertanto, è prudente iniziare a trattare prima le aree con scarso edema e poi quelle più edematose.

Gli incrementi di potenza devono essere sempre gradualmente, di circa 10 mW, fino ad ottenere l'effetto visivo di un lieve sbiancamento dell'EPR.

I singoli impatti laser possono essere localizzati sul fascio interpapillomaculare, a non meno di 500 microns dalla papilla e dal centro della zona avascolare centrale, estendendosi su almeno 3 -4 file disposte in cerchi concentrici, centrati sulla fovea, per due diametri papillari circa oppure fino a raggiungere i bordi di un eventuale trattamento foto coagulativo pan retinico<sup>[65]</sup>. Il trattamento delle aree di emorragia intraretinica deve essere evitato, in particolare con le lunghezze d'onda del verde e del giallo, poiché l'assorbimento dell'energia da parte degli strati retinici più interni può provocare un danno importante a carico della limitante interna e dello strato delle fibre nervose.

Nella comune pratica clinica è frequente imbattersi in quadri angiografici di edema maculare clinicamente significativo che combinano fenomeni di leakage focale e diffuso. In tali casi è utile impiegare una tecnica di trattamento a griglia modificata che ha dimostrato di possedere un'efficacia comparabile ai risultati dell'ETDRS<sup>[66]</sup>. La caratteristica di tale strategia di trattamento è quella di associare il trattamento focale dei punti di diffusione ben definiti situati al di fuori della aree di edema diffuso, al trattamento delle stesse con una griglia leggera che può raggiungere il limite della zona avascolare centrale. Idelmente, un tale trattamento dovrebbe prevedere l'impiego delle lunghezze d'onda con alta affinità per i pigmenti ematici (giallo, verde) per le fotocoagulazioni focali e

del rosso o dell'infrarosso (che garantiscono un effetto più profondo) per lo schema a griglia.

### **VI.1.1.3. COMPLICANZE OCULARI DEL TRATTAMENTO LASER**

Lo studio ETDRS ha valutato anche le possibili complicanze oculari connesse al trattamento, ma senza quantificarne l'incidenza. L'insorgenza di scotomi paracentrali dopo il trattamento focale eseguito in vicinanza della fovea è l'esito della confluenza di spot adiacenti, altri tipi di complicanze sono fortunatamente più rare e, nella maggior parte dei casi, evitabili.

La complicanza più grave, fortunatamente rara, è la fotocoagulazione accidentale della fovea. La neovascolarizzazione coroideale, ad insorgenza dalla cicatrice della fotocoagulazione laser, è stata descritta da Lewis con insorgenza variabile tra due settimane e cinque mesi dal trattamento, ma nonostante un'ulteriore applicazione laser l'acuità visiva finale rimane deludente<sup>[67]</sup>. Schatz ha descritto l'allargamento della cicatrice laser dopo trattamento a griglia per edema maculare diffuso a distanza di mesi fino a qualche anno dopo<sup>[68]</sup>. Sia la neovascolarizzazione sia l'allargamento della cicatrice laser possono essere evitate facendo attenzione a non impiegare energie laser eccessivamente intense.

Un'altra possibile complicanza, in grado di determinare un grave calo visivo, è lo sviluppo di una fibrosi sottoretinica in sede maculare. Han e Guyer<sup>[69,70]</sup> hanno riportato svariati casi in cui i tralci di fibrosi sottoretinica originano dalle cicatrici di un pregresso trattamento laser, suggerendo un rapporto tra l'esito della fotocoagulazione e l'applicazione di energie laser eccessivamente intense con distruzione della membrana di Bruch. Tuttavia, più spesso, tale complicanza è associata alla presenza di essudati duri di una certa estensione ed entità, soprattutto dopo il riassorbimento dell'edema maculare, come rilevato da Fong nei pazienti ETDRS<sup>[71,72]</sup>: il 31 % degli occhi con un'intensa essudazione contro lo 0,05 % degli occhi privi di imponenti essudati duri.

In presenza di un edema retinico massivo, che può precludere l'individuazione della zona foveale, una ragionevole strategia di trattamento prevede un iniziale pattern conservativo di spot che dovrebbe determinare una riduzione dell'edema iniziale permettendo successivamente una migliore localizzazione della regione maculare centrale. Una volta stabilita con ragionevole sicurezza la posizione della zona avascolare centrale viene eseguito, in una successiva seduta, un trattamento laser a griglia più preciso e sicuro.

## **VI.2. TERAPIA STEROIDEA**

La storia del cortisone nella pratica clinica nasce nel 1935 quando Edward lo isolò e quando Hench<sup>[73]</sup> ne dimostrò l'utilità nella terapia dell'artrite reumatoide. Risale alla metà del '900, grazie a Gordon e McLean, l'applicazione in campo oftalmologico del cortisone e dei suoi derivati. Già nel 1956 si utilizzava lo steroide per via topica nel trattamento delle affezioni infiammatorie del segmento anteriore, mentre, l'uso sistemico veniva riservato per le patologie flogistiche del segmento posteriore. Risale, invece, alla fine degli anni '90 l'applicazione degli steroidi nel trattamento delle neovascolarizzazioni infiammatorie; nel 1998, infatti, uno studio di Flaxel *et al.* dimostrò come il trattamento delle NCV, secondarie a corioidopatia puntata interna e a corioidite multifocale, con una dose iniziale di steroide pari a 1 mg/kg per 3-5 giorni, successivamente scalata fino alla sospensione, permettesse di ottenere su 12 occhi operati, un *visus* migliorato o stabilizzato in ben 10 occhi, con una riduzione del leakage angiografico in ben 9 occhi. Nel 2004 invece Okada evidenziò l'efficacia dell'utilizzo dello steroide per via trans-tenoniana retrobulbare nel trattamento delle NCV.

Negli ultimi anni abbiamo assistito al ritorno alla ribalta di un farmaco cortisonico, il Triamcinolone Acetonide (TA) che era già in uso in passato nel mondo oftalmologico per iniezione periorbitaria. Gli impieghi, finora riportati in letteratura, sono vari e certo, come spesso accade per le nuove opportunità

diagnostiche e terapeutiche, se da un lato è giusto considerarle, dall'altro è indispensabile avere un approccio serio e motivato, prudente e responsabile.

Il Triamcinolone Acetonide ha dimostrato potenti capacità antiangiogenetiche nei confronti della neovascolarizzazione sottoretinica: inibisce la vitreoretinopatia proliferante nel coniglio e la neovascolarizzazione retinica dopo insulto ischemico nel maiale, la proliferazione fibroblastica nell'occhio umano.

Il meccanismo d'azione implica un'azione diretta sulle cellule endoteliali ed un'azione indiretta di inibizione della migrazione ed attivazione dei macrofagi, dei mastociti e di altre cellule infiammatorie che rilasciano fattori di crescita angiogenici. Quanto all'effetto sull'edema maculare, in realtà al di là delle prove cliniche, il meccanismo d'azione è al momento solo ipotizzato. Conosciamo l'effetto antinfiammatorio degli steroidi perché interferiscono con la cascata dell'acido arachidonico, i cui prodotti (prostaglandine) sono responsabili della rottura della barriera ematoretinica interna. Questa azione può spiegare l'efficacia del farmaco nell'edema maculare cistoide (EMC) postchirurgico e postuveitico.

Le cause più frequenti di edema maculare sono la retinopatia diabetica, l'occlusione venosa retinica e le uveiti croniche.

L'applicazione del Triamcinolone intravitreale più indagata finora è quella dell'edema maculare cistoide o diffuso secondario a retinopatia diabetica.

Massin *et al.* <sup>[74]</sup> hanno pubblicato i risultati preliminari di uno studio prospettico controllato su 12 pazienti, seguiti per almeno 3 mesi e comunque non oltre i 6, valutando l'efficacia di 4 mg di farmaco sulla base dell'acuità visiva e dello spessore maculare misurato con OCT. I pazienti arruolati erano stati sottoposti già a trattamento laser dell'EM senza efficacia. Gli autori hanno dimostrato una significativa riduzione dello spessore maculare a 4 e 12 settimane dal trattamento, con una recidiva dell'edema al controllo a 24 settimane in 5 su 12 soggetti. Quanto all'acuità visiva, non è stata dimostrata un'efficacia del trattamento, almeno a breve termine.

Analoghi risultati erano stati già ottenuti da Martidis *et al.* <sup>[75]</sup> in uno studio non controllato con il 55% e 58% di riduzione dello spessore maculare a 1 e 3 mesi dal trattamento con 4 mg.

Jonas *et al.* <sup>[76]</sup>, seppur con dosi maggiori (25 mg), hanno ottenuto un miglioramento dell'acuità visiva nell'81% dei casi a partire da 1 mese fino a 6 dopo l'iniezione, con riduzione statisticamente significativa del leakage fluoresceinico.

Park *et al.* <sup>[77]</sup> hanno trattato 10 casi di edema maculare secondario all'occlusione della vena centrale della retina, ottenendo una riduzione dello spessore maculare all'OCT e un miglioramento dell'acuità visiva statisticamente significativo nell'ambito di un follow-up medio di circa 5 mesi.

L'edema maculare cistoide postuveitico è stato trattato con TA intravitreale in una piccola serie di casi, 12 in totale negli unici due lavori significativi, con 4 mg in entrambi i lavori e con una risposta terapeutica dimostrata tra le 4 e le 12 settimane dal trattamento, sia in termini di acuità visiva che con riduzione dello spessore maculare all'OCT. Entrambi i lavori però riportano un tasso di recidiva quasi del 100% dopo 12 settimane dal trattamento e nel 50% dei pazienti si è osservato un ipertono secondario che in un caso è stato controllato con la trabeculectomia. Il Triamcinolone Acetonide è stato inoltre valutato in corso di vitrectomia via *pars plana* (VPP) come coadiuvante nella visualizzazione e rimozione della ialoide posteriore e antinfiammatorio locale.

Il Triamcinolone Acetonide ha dimostrato nei topi la capacità di inibire la neovascolarizzazione sottoretinica laser indotta. Ha inoltre capacità antiedemigene.

Gli entusiasmi dei primi lavori sono stati raffreddati dal lavoro di Gillies *et al.* <sup>[78]</sup> che è anche quello con il più lungo follow-up finora pubblicato. Una singola iniezione di 4 mg in 0,1 ml in 73 occhi affetti da NVSR classica non ha dimostrato efficacia sul rischio di perdita visiva in uno studio a doppio cieco, randomizzato contro placebo, con un follow-up di 1 anno; per contro è stata

osservata una riduzione o una stabilizzazione della NVSR a tre mesi, significativamente più importante che nel gruppo controllo.

Più recentemente Jonas *et al.* <sup>[79]</sup> hanno valutato l'efficacia sull'acuità visiva di due consecutive IVTA in 13 pazienti con NVSR occulta o prevalentemente occulta con un follow-up medio dopo la seconda iniezione di circa 5 mesi. Gli autori hanno riportato un miglioramento statisticamente significativo dell'acuità visiva rispetto al gruppo di controllo.

Spaide *et al.* <sup>[80]</sup> hanno riferito di 26 pazienti affetti da NVSR subfoveale di qualunque tipo, trattati con terapia combinata: PDT e successiva IVTA. Del gruppo, 13 pazienti non erano mai stati trattati e 13 erano già stati sottoposti ad un trattamento PDT. I risultati presentati suggeriscono un'azione sinergica delle due terapie con un miglioramento dell'acuità visiva e un minor numero di ritrattamenti nei due gruppi rispetto alla letteratura. Seppure con pochi pazienti e senza un'omogeneità nella selezione dei casi, lo studio propone la possibilità di coadiuvare l'efficacia della terapia fotodinamica con la contemporanea riduzione dell'essudazione e con l'effetto antiangiogenetico del Triamcinolone.

I cristalli di TA si depositano sulla ialoide posteriore consentendone la visualizzazione in corso di vitrectomia ai fini di una completa rimozione, analogamente a quanto accade per il verde di indocianina per la membrana limitante interna, con un potenziale effetto antinfiammatorio locale utile dopo l'intervento. Inoltre, è stato suggerito un suo impiego per via intravitreale prima dell'intervento per cataratta in occhi a rischio o già colpiti da rubeosis iridis per retinopatia proliferante, per prevenire o contrastare il glaucoma neovascolare secondario.

Essendo una pratica invasiva, non vanno trascurati gli effetti indesiderati associati e le possibili complicanze<sup>[81]</sup>:

- endoftalmite settica 0,9% o asettica;
- ipertensione oculare 25%;
- emorragia sottocongiuntivale e/o endovitreale;
- insorgenza/progressione di cataratta (fino al 60%);

- distacco di retina, in percentuale ancora non definita ma che possiamo stimare del 1-5%;
- dolore, arrossamento oculare, sensazione di corpo estraneo;
- transitoria comparsa di corpi mobili (cristalli di farmaco liberi in camera vitrea).

La terapia consta di un'iniezione endoculare del farmaco che viene effettuata in ambiente sterile, preferibilmente una sala operatoria, per minimizzare la possibile insorgenza di complicanze.

La terapia viene effettuata in pochi minuti in anestesia locale con colliri, e non è dolorosa. Subito dopo, al paziente viene chiesto di tenere il capo in posizione eretta per almeno due ore dopo il trattamento, onde evitare la distribuzione dei cristalli di TA al davanti del polo posteriore con disturbo della visione centrale.

I controlli devono essere eseguiti dopo 1, 7, 15, 30 giorni e poi secondo valutazione personale.

### **VI.2.1. OZURDEX®**

Da qualche anno abbiamo un'arma efficace in più per la lotta contro l'edema maculare di origine post trombotica e uveitica. Trattasi di un impianto cortisonico a lento rilascio, più precisamente di Desametasone 700 microgrammi, che viene impiantato nell'occhio e rilascia gradatamente nel tempo il suo principio attivo. L'applicatore, monouso, contiene un impianto di forma cilindrica di diametro 0,46 mm e lunghezza 6mm. Per ora il device è indicato per il trattamento di pazienti adulti con edema maculare secondario ad occlusione della vena centrale della retina, occlusione venosa retinica di branca e per pazienti affetti da uveite posteriore di tipo non infettivo. La via di somministrazione intravitreale è la medesima degli altri anti vegf in commercio, ovvero a 4 mm dal limbus previa instillazione di collirio per anestesia topica. È stato dimostrato che il desametasone, un potente corticosteroide, sopprime l'infiammazione riducendo l'edema, il deposito di fibrina, l'iperpermeabilità

capillare e la migrazione fagocitaria 8 della risposta infiammatoria. Il VEGF (fattore di crescita endoteliale vascolare) è una citochina espressa in concentrazioni crescenti in caso di edema maculare, inoltre è un potente promotore della permeabilità vascolare. È stato dimostrato l'effetto inibente dei corticosteroidi sull'espressione del VEGF. Inoltre i corticosteroidi prevengono il rilascio di prostaglandine, alcune delle quali sono state identificate come mediatori dell'edema maculare cistoide. L'efficacia<sup>[82]</sup> di OZURDEX è stata valutata in due studi multicentrici, con lo stesso disegno, in doppio cieco, randomizzati, in parallelo, controllati verso una procedura di simulazione. In totale sono stati arruolati 1.267 pazienti che sono stati randomizzati a ricevere il trattamento con impianti di desametasone 350 µg o 700 µg o una procedura in simulazione (studi 206207-008 e 206207-009). In totale, 427 pazienti sono stati randomizzati a OZURDEX, 414 a desametasone 350 µg e 426 pazienti con procedura di simulazione. In base ai risultati dell'analisi aggregata, il trattamento con impianti di OZURDEX ha mostrato rispetto al controllo, un'incidenza superiore statisticamente significativa di responder, ( $p < 0,001$ ), definiti come pazienti che raggiungevano un miglioramento in BCVA  $\geq 15$  lettere rispetto al basale 90 giorni dopo l'iniezione di un singolo impianto. L'efficacia del trattamento è stata riscontrata dalla prima visita di controllo, al giorno 30. L'effetto massimo del trattamento è stato osservato al giorno 60 e la differenza di incidenza dei responder è stata statisticamente significativa per OZURDEX rispetto alla simulazione in tutte le visite di controllo fino a 90 giorni dopo l'iniezione. La percentuale dei responder con un miglioramento  $\geq 15$  lettere rispetto al basale BCVA continuava ad essere maggiore nei pazienti trattati con OZURDEX rispetto a quelli con procedura di simulazione anche al controllo del giorno 180. In tutte le visite di controllo, la variazione media in BCVA rispetto al basale è risultata significativamente più elevata con OZURDEX rispetto alla procedura di simulazione. In ciascuno studio di fase III e nell'analisi aggregata, il tempo necessario per ottenere un miglioramento in BCVA  $\geq 15$  lettere (tre linee) nelle curve di risposta cumulativa è stato significativamente diverso con

OZURDEX rispetto alla procedura di simulazione ( $p < 0,001$ ); i pazienti trattati con OZURDEX mostravano un miglioramento di 3 linee in BCVA più rapidamente di quelli sottoposti a procedura di simulazione. OZURDEX si è dimostrato numericamente superiore rispetto alla procedura di simulazione nel prevenire la perdita della vista, come dimostrato dalla minore percentuale di pazienti nel gruppo OZURDEX che hanno riscontrato un peggioramento della vista  $\geq 15$  lettere durante il periodo di valutazione di 6 mesi. In ciascuno degli studi di fase III e nell'analisi aggregata, al giorno 90, lo spessore retinico medio è risultato significativamente inferiore, così come la riduzione media rispetto al basale è stata significativamente maggiore, con OZURDEX (-207,9 micron) rispetto alla procedura di simulazione 9 (-95,0 micron) ( $p < 0,001$ , dati aggregati). L'efficacia del trattamento valutata in termini di miglioramento in BCVA al giorno 90 è stata in tal modo supportata da questa evidenza anatomica.

Al giorno 180, la riduzione media dello spessore retinico (-119,3 micron) non era significativa rispetto alla procedura di simulazione. Nella fase di estensione in aperto dello studio di fase III, erano idonei a ricevere un ulteriore trattamento con OZURDEX i pazienti con valori di BCVA  $< 84$  lettere OPPURE uno spessore retinico  $> 250$  micron valutato all'OCT (tomografia a coerenza ottica) per i quali, secondo l'opinione dello sperimentatore, il trattamento non rappresentava un rischio per il paziente. Dei pazienti trattati nella fase in aperto, il 98% ha ricevuto una seconda iniezione di OZURDEX da 5 a 7 mesi dopo il trattamento iniziale. Come per il trattamento iniziale, il picco di risposta è stato osservato al giorno 60 della fase in aperto. Durante l'intera fase in aperto, i tassi di risposta cumulativi sono stati maggiori nei pazienti che hanno ricevuto due iniezioni consecutive di OZURDEX rispetto a quelli che non avevano ricevuto l'iniezione di OZURDEX nella fase iniziale. Se confrontata con il primo trattamento, la percentuale di responder ad ogni controllo è stata sempre maggiore dopo il secondo trattamento. Di contro, un ritardo di sei mesi nel trattamento comporta una minore percentuale di responder in tutte le visite di controllo durante la fase in aperto rispetto al numero di pazienti che hanno

ricevuto una seconda iniezione di OZURDEX.

In un sottogruppo di 21 pazienti, nei due studi di 6 mesi sull'efficacia, sono state dosate le concentrazioni plasmatiche prima del dosaggio e dopo 7, 30, 60 e 90 giorni dall'impianto intravitreale contenente 350 µg o 700 µg di desametasone. Il 95% dei valori delle concentrazioni plasmatiche di desametasone per il gruppo da 350 µg e l'86% per il gruppo da 700 µg sono risultate al di sotto del limite inferiore di quantificazione (0,05 ng/ml). Il valore massimo di concentrazione nel plasma, pari a 0,094 ng/ml, è stato rilevato in un soggetto del gruppo da 700 µg. La concentrazione di desametasone nel plasma non sembra essere in relazione con altri fattori quali l'età, il peso o il sesso dei pazienti. In uno studio condotto su scimmie della durata di 6 mesi, in seguito a una singola iniezione intravitreale di OZURDEX, il valore Cmax di desametasone nel vitreo era di 100 ng/ml al giorno 42 dopo l'iniezione e di 5,57 ng/ml al giorno 91. Il desametasone era rilevabile nel vitreo per sei mesi dopo l'iniezione. L'ordine dei valori di concentrazione di desametasone era retina > iride > corpo ciliare > vitreo > umor acqueo > plasma. In uno studio in vitro sul metabolismo, a seguito dell'incubazione per 18 ore di [14C]-desametasone con tessuti umani provenienti da cornea, iride-corpo ciliare, coroide, retina, vitreo e sclera, non sono stati rilevati metaboliti. Ciò è coerente con i risultati ottenuti dagli studi sul metabolismo oculare di conigli e scimmie. Il desametasone viene infine metabolizzato a lipidi e metaboliti solubili in acqua che possono essere escreti attraverso la bile e l'urina. La matrice di OZURDEX si degrada lentamente ad acido lattico e acido glicolico attraverso la semplice idrolisi, degradandosi ulteriormente in biossido di carbonio e acqua.

Le reazioni avverse più frequentemente segnalate nei pazienti che erano stati sottoposti al trattamento con OZURDEX sono state l'aumento della pressione intraoculare (24,0%) e l'emorragia congiuntivale (14,7%). Dai dati sopra elencati emerge come questo device sia, sul rapporto rischio / beneficio, una valida opportunità terapeutica per i pazienti affetti da edema maculare. È auspicabile

che questo prodotto venga autorizzato, nel più breve tempo possibile, anche per il trattamento dell'edema maculare diabetico<sup>[83]</sup>.

### **VI.3. TERAPIE ANTI VEGF**

Lo straordinario patrimonio di conoscenze scientifiche acquisite nell'ultimo decennio nel campo dell'angiogenesi e della terapia antiangiogenica ci sta aiutando a trovare nuove soluzioni, non solo nella cura dei tumori, ma anche nella terapia di alcune malattie oculari ad impronta vasogenica, emorragica ed essudativa, dove è necessario intervenire con trattamenti altamente selettivi per evitare la distruzione delle cellule neurosensoriali della retina centrale.

Alcuni trials clinici hanno dimostrato il beneficio clinico della terapia farmacologica antiangiogenica che, attraverso l'inibizione del VEGF umano (acronimo di Vascular Endothelial Growth Factor), ovvero del fattore di crescita delle cellule endoteliali, blocca la genesi vascolare della malattia.

Attualmente, si stanno sperimentando alcuni farmaci che, iniettati dentro l'occhio, tendono a far regredire i neovasi e ad arrestare la perdita delle funzioni visive centrali.

#### **VI.3.1. pegaptanib sodico (MACUGEN®)**

Da tempo, e non solo per la DMLE, si stanno cercando farmaci in grado di inibire il processo di angiogenesi per ciascuno dei passaggi della sua cascata, utili non solo per la DMLE e la retinopatia diabetica, ma anche come terapia contro i tumori. L'ultima novità arriva dagli USA ed è un farmaco antiangiogenico: il Pegaptanib sodico (MACUGEN®).

Il Pegaptanib è un aptamero, vale a dire un piccolo frammento di RNA sintetico, con conformazione tridimensionale e altamente specifica, che legandosi al VEGF<sub>165</sub> le impedisce il legame con il proprio recettore e la conseguente formazione di vasi anomali e l'aumento della permeabilità vascolare. Pertanto,

questo farmaco potrebbe essere usato in tutte quelle malattie caratterizzate da crescita anomala di vasi ed aumentata permeabilità vascolare come la DMLE, la retinopatia diabetica, le occlusioni venose retiniche, la retinopatia del prematuro, i tumori, ecc. Gli aptameri hanno il vantaggio di non stimolare di solito la risposta immunologica e così sembra essere anche con il Macugen<sup>®</sup>.

Per impedire la degradazione del farmaco da parte delle endonucleasi e delle esonucleasi ed aumentare l'emivita del farmaco, la molecola di Pegaptanib è stata legata ad un gruppo di polietilene glicole (PEG).

Il Macugen<sup>®</sup> è fornito come soluzione acquosa senza conservanti contenente Pegaptanib sodico alla concentrazione di 0,3 mg/100µl, in siringa sterile monouso di 1 ml del tipo USP I con ago da 27 gauge, iniettando 0,1ml.

Il farmaco è metabolizzato dalle endo ed esonucleasi endogene e poi eliminato dal rene, come è risultato dagli studi preclinici sul suo metabolismo ed escrezione.

Sono stati condotti due trials multicentrici, controllati, randomizzati, a doppio cieco, che trattavano con Macugen<sup>®</sup> pazienti con DMLE neovascolare classica, occulta o mista, con dimensione fino a 12 diametri papillari, e con AV nell'occhio trattato tra i 20/40 e 20/320<sup>[84]</sup>.

Circa 1200 pazienti di oltre 50 anni sono stati trattati con dosaggi intravitreali di Pegaptanib di 0,3 mg, 1 mg o 3 mg, oppure con placebo, ogni 6 settimane per 48 settimane per un totale di 9 iniezioni. In alcuni dei pazienti con NCV, prevalentemente classica, è stata eseguita anche la PDT secondo la discrezione del curante, per motivi di etica professionale. Dopo il primo anno di follow-up 1050 pazienti sono stati ri-randomizzati alla continuazione del trattamento o meno.

L'obiettivo principale era la valutazione del numero di pazienti con perdita visiva minore di 3 linee a 1 anno (15 lettere).

A 1 anno di distanza è stata dimostrata un'efficacia statisticamente rilevante per tutte e tre le dosi paragonate al placebo per quanto riguarda la riduzione dell'AV a meno di 15 lettere (3 linee), la riduzione del rischio di perdita visiva severa

(riduzione di 30 o più lettere) e il numero di pazienti che hanno avuto un'AV stabile o aumentata.

Il Pegaptanib è in grado di indurre un rallentamento statisticamente rilevante rispetto al placebo, nella crescita dell'area totale della lesione, nella grandezza della NCV e nel grado di leakage di tutte le lesioni, com'è stato documentato con le angiografie.

Gli effetti collaterali più gravi che sono stati segnalati, associati a grave perdita visiva, erano: endoftalmite nel 1,3%, cataratta traumatica iatrogena nello 0,7% e distacco retinico nello 0,6% dei pazienti. Quelli più frequentemente riscontrati (10-40% dei pazienti) con dosi di farmaco di 0,3-3 mg erano: infiammazione della camera anteriore, visione offuscata o ridotta, cataratta, emorragia congiuntivale, edema corneale, cheratite puntata, secrezione, irritazione o dolore oculare, ipertensione, ipertono e opacità vitreali fluttuanti.

Nel 6-10% dei pazienti sono stati riscontrati casi di blefarite, congiuntivite, fotopsia, bronchite, diarrea, cefalea, nausea e infezioni del tratto urinario.

Più raramente, nel 1-5% dei pazienti sono stati segnalati altri effetti collaterali, di solito modesti. Non sono note manifestazioni anomale a lungo termine.

Fino ad ora non ci sono studi sulle donne in gravidanza, in allattamento o sui bambini: pertanto si consiglia particolare attenzione e valutazione del rapporto rischio/beneficio.

Il farmaco si conserva ad una temperatura tra i 2°C e gli 8°C. Si inietta a temperatura ambiente e, pertanto, si consiglia di toglierlo dal frigo un paio d'ore prima dell'uso.

Il Macugen<sup>®</sup> si deve iniettare rispettando tutti gli accorgimenti di asepsi e sicurezza pre, intra e postoperatori che si usano per ogni iniezione intravitreale. I risultati sul tempo di permanenza del farmaco nel vitreo giustificano una frequenza di somministrazione nell'uomo di una volta ogni 6 settimane.

Il farmaco è oggi disponibile anche in Italia ad un prezzo di circa 800 euro ed ha un'indicazione per la degenerazione maculare senile.

I risultati, ad un anno degli studi clinici multicentrici, randomizzati, a doppio cieco, sono promettenti. Tuttavia, rimangono da accertare gli effetti a lungo termine e la compliance del paziente, essendo questa una terapia da somministrarsi ogni 6 settimane.

La scoperta di una nuova terapia offre anche la possibilità di usufruire del maggior effetto positivo di trattamenti combinati.

La combinazione della terapia fotodinamica con l'iniezione intravitreale di Pegaptanib sodico ed eventualmente con gli steroidi intravitreali, oltre a sommare gli effetti benefici di azioni diverse (riduzione di un eventuale distacco dell'EPR, chiusura dei neovasi, e contrasto dell'aumento secondario di VEGF), potrà sicuramente permettere risultati migliori e più duraturi, con la conseguente riduzione della frequenza di somministrazione.

### **VI.3.2. Ranibizumab (LUCENTIS®)**

Il Ranibizumab (RhuFab V2; Lucentis, Genentech, Novartis) è un frammento anticorpale umanizzato derivato dal Bevacizumab che lega e blocca tutte le forme di VEGF (VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>121</sub>, e VEGF<sub>110</sub>) nello spazio extracellulare.

Rispetto al Bevacizumab, Lucentis® è una molecola più piccola che ha delle proprietà peculiari quali il piccolo raggio e il minor peso molecolare (48 kD) che giustificano la maggior capacità di penetrare tutti gli strati della retina e quindi di diffondere nello spazio sottoretinico dopo somministrazione intravitreale.

Il meccanismo di azione consiste nell'inibizione della crescita neovascolare e nella riduzione della permeabilità vascolare.

Il farmaco viene iniettato per via intravitreale per massimizzare l'effetto inibitorio del VEGF nella retina mentre si minimizza l'inibizione sistemica del VEGF e non si interferisce con il suo ruolo fisiologico nei tessuti dei territori extraoculari.

Studi di farmacocinetica su animali di laboratorio hanno dimostrato che dopo iniezione intravitreale la biodisponibilità del Ranibizumab è molto elevata (50-

60%), in quanto il farmaco si distribuisce rapidamente nella retina nell'arco di 6-24 ore e viene eliminato da tutti i compartimenti oculari con 2 principali pathways di uscita: il primo, verso la camera anteriore e il secondo, verso la retina. L'emivita del farmaco è breve, circa 3 giorni.

Le concentrazioni del Ranibizumab nel plasma sono molto basse, riflettendo una biodistribuzione più alta e una clearance più bassa del farmaco nell'occhio. Tuttavia, non abbiamo dati disponibili sulla clearance del farmaco dal vitreo umano anche se si può ipotizzare che potrebbe essere più lenta a causa del maggior volume del vitreo umano (4,5 ml) rispetto al quello degli occhi di coniglio o di scimmia (1,5 ml).

Diversi studi internazionali sono stati condotti sull'efficacia del Lucentis; tra questi ricordiamo:

- **MARINA** (Minimally classic/occult trial of the Anti-VEGF antibody Ranibizumab In the treatment of Neovascular AMD)<sup>[85]</sup>.
- **ANCHOR** (ANti-VEGF Antibody for the Treatment of Predominantly Classic CHORoidal Neovascularization in AMD)<sup>[86]</sup>.
- **PIER** (Phase IIIb, Multicenter, Randomized, Double-Masked, Sham Injection-Controlled Study of the Efficacy and Safety of Ranibizumab in Subjects with Subfoveal Choroidal Neovascularization with or without Classic CNV Secondary to Age-Related Macular Degeneration)<sup>[87]</sup>.
- **FOCUS** (RhuFab V2 Ocular Treatment Combining the Use of Visudyne to Evaluate Safety)<sup>[88]</sup>.
- **SAILOR** (Safety Assessment of Intravitreal Lucentis fOR AMD)<sup>[89]</sup>.

Il farmaco è commercializzato in Italia dalla Novartis, ha un prezzo di 1.353,00 euro ed una indicazione per la degenerazione maculare senile, per l'edema maculare diabetico, edema maculare secondario ad occlusione venosa di centrale che di branca, neovascolarizzazione coroideale secondaria a miopia patologica.

### **VI.3.3. BEVACIZUMAB (AVASTIN<sup>®</sup>)**

Attualmente è disponibile una nuova cura farmacologica off label sperimentale che utilizza il Bevacizumab ovvero un anticorpo monoclonale umanizzato anti-VEGF (Avastin<sup>®</sup>, Roche Pharma), prodotto mediante la tecnica del DNA ricombinante, che ha dimostrato di possedere spiccate attività antiangiogeniche/antiedemigene e di arrestare la genesi vascolare della malattia.

In una serie di casi trattati con Bevacizumab, alcuni ricercatori<sup>[90]</sup> hanno evidenziato come questo farmaco abbia un effetto inibitorio sullo sviluppo della rete neovascolare che si esplica mediante il blocco del pathway molecolare che porta il VEGF ad agire sul trofismo endoteliale e sull'input pro-angiogenico.

La terapia prevede l'iniezione intraoculare della sostanza che, diffondendosi nel corpo vitreo e nello spessore della retina, giunge a contatto con la NCV dove esercita essenzialmente una serie di effetti caratterizzati da:

- inibizione della crescita e dell'estensione del processo neovascolare;
- regressione della neovascolarizzazione;
- stabilizzazione delle membrane endoteliali e decremento del grado di permeabilità nel microcircolo della NCV;
- riduzione dell'intensità di diffusione delle molecole proteiche e lipidiche negli spazi extravascolari, diminuzione dell'edema e normalizzazione dello spessore retinico maculare centrale.

La realizzazione di questi effetti può produrre risultati di rilevanza clinica, in quanto il farmaco ha la potenzialità di controllare la gravità della malattia e di rallentarne la progressione nel tempo.

Un altro effetto dell'inibizione del VEGF mediante Bevacizumab è la possibilità di creare un terreno microvascolare più simile a quello normale in cui la ridotta permeabilità dei neovasi, la diminuzione dell'edema retinico, e la migliore ossigenazione della neovascolarizzazione avrebbe la potenzialità di incrementare la biodisponibilità di O<sub>2</sub> dentro la NCV e di aumentare la sensibilità alla PDT.

L'Avastin<sup>®</sup> viene preso in “prestito” dalla terapia oncologica, dove è utilizzato per bloccare la crescita della rete neovascolare anarchica nell'ambito di alcune forme tumorali metastatiche.

I pazienti oncologici, candidati all'utilizzo sistemico di Avastin<sup>®</sup>, sono quelli che hanno metastasi del carcinoma del colon e del retto, del carcinoma mammario, del carcinoma polmonare non a piccole cellule e del carcinoma renale.

Nell'ambito del trattamento delle metastasi del carcinoma del colon e del retto ricordiamo lo studio clinico randomizzato di fase III AVF2107g effettuato a doppio cieco in cui 813 pazienti sono stati randomizzati a ricevere IFL + placebo (braccio 1) oppure IFL + Avastin<sup>®</sup> (braccio 2). L'end point per la valutazione dell'efficacia era la sopravvivenza globale. Dai dati raccolti emerge che l'utilizzo di IFL + Avastin<sup>®</sup> ha determinato incrementi statisticamente significativi della sopravvivenza globale, sopravvivenza libera da progressione e tasso di risposta globale. Infatti in termini di sopravvivenza globale si è passati da una mediana di 15,6 mesi ad una di 20,3; la sopravvivenza libera da progressione è passata da una mediana di 6,2 ad una di 10,6 mesi mentre il tasso di risposta globale ha guadagnato un abbondante 10%<sup>[91]</sup>.

Analoghi risultati si sono ottenuti negli studi di efficacia per il trattamento delle metastasi del carcinoma mammario e renale (studio E2100 e BO17705).

Risultati inferiori, in termini di sopravvivenza globale mediana, si sono avuti nell'ambito del trattamento delle metastasi del carcinoma polmonare non a piccole cellule, come dimostrato dallo studio E4599.

L'Avastin<sup>®</sup> è prodotto in cellule ovariche di criceto cinese ed esplica la sua attività mediante l'inibizione del Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)<sup>[92]</sup>, una proteina naturale che regola il processo dell'angiogenesi, nelle sue diverse tappe, dallo sviluppo alla maturazione dei vasi neoformati.

La secrezione del VEGF è intensa nei tessuti ischemici<sup>[93]</sup> e in quelli ad elevata attività proliferativa, dove, ad un'elevata domanda di saturazione di ossigeno, la risposta biologica porta alla neoformazione di vasi anomali, alla vasodilatazione

compensatoria e all'aumento della permeabilità vascolare per intensificare la portata ematica e l'ossigenazione cellulare loco-regionale<sup>[94]</sup>.

Le possibili applicazioni dell'Avastin<sup>®</sup>, al di fuori del campo oncologico, riguardano la terapia delle degenerazioni maculari di tipo neovascolare, e delle malattie vascolari della retina caratterizzate da una marcata componente edematosa ed essudativa<sup>[95]</sup>.

Il Bevacizumab viene approvato dalla FDA (Food and Drug Administration) nel 2004 come trattamento sistemico endovenoso di alcune forme tumorali metastatiche. Nell'anno successivo il principio attivo viene utilizzato per la prima volta nella terapia della AMD da Michels *et al.* in uno studio clinico aperto non controllato con tre mesi di follow-up: i risultati furono incoraggianti<sup>[96]</sup>.

Sull'onda dell'entusiasmo il Bevacizumab viene applicato per via endovitreali per il trattamento della NCV. Nell'anno 2006, infatti, ricordiamo due importanti studi retrospettivi: quello di Ryan *et al.* e quello di Avery *et al.*

Il primo gruppo si concentrò su 53 occhi di 50 pazienti sottoposti ad iniezione endovitreali, con una media di 2,3 ed un massimo di 4. Nel corso dello studio si rilevarono miglioramenti dell'acuità visiva (da 20/160 a 20/125) e dello spessore retinico centrale, senza la comparsa di effetti collaterali sistemici od oculari. Il gruppo di Avery trattò 81 occhi di 79 pazienti con iniezioni endovitreali mensili di Bevacizumab (1,25 mg) sino alla scomparsa dell'edema maculare e del distacco dell'epitelio pigmentato, confermando così i risultati<sup>[97]</sup> ottenuti da Ryan.

I dati relativi al profilo di sicurezza clinica del Bevacizumab possono essere estrapolati dalle sperimentazioni di fase II e III che hanno valutato gli effetti del farmaco nel trattamento di prima linea dei tumori primari e metastatici.

Gli effetti collaterali avversi più comuni, correlati alla via di somministrazione sistemica, sono:

- ipertensione arteriosa sistemica dose-dipendente; l'ipertensione arteriosa ha un'incidenza che varia dal 22,4 al 32% ed è reversibile nell'84% dei casi mediante terapia antiipertensiva. Essa è correlata al blocco del VEGF umano che

determina una ridotta produzione di ossido nitrico (NO) e una ridotta escrezione renale di sodio con aumento del volume plasmatico circolante;

- proteinuria asintomatica; l'incidenza della proteinuria asintomatica è stata osservata nel 21,7-38% dei pazienti. La sua comparsa non è associata a disfunzione renale e non preclude la continuazione del trattamento. La sindrome nefrosica è rara ed impone la sospensione della terapia;
- tromboembolia arteriosa; l'incidenza degli eventi tromboembolici (ictus cerebrale, TIA, infarto del miocardio) è risultata simile nei gruppi trattati con Avastin® (range 18,0-19,4%) e nei gruppi placebo (16,2-18,3%). Il rischio è maggiore per pazienti con età superiore ai 65 anni o con una storia di tromboembolismo arterioso;
- ritardo sulla cicatrizzazione delle ferite; un rallentamento nel tempo di cicatrizzazione delle ferite si è riscontrato nei pazienti che erano stati sottoposti a intervento chirurgico durante il trattamento anti-angiogenico;
- eventi emorragici; la tendenza all'emorragia cutanea (petecchie, ecchimosi) o mucosa (epistassi) dipende dal blocco della capacità proliferativa dell'endotelio. L'incidenza è del 3,1-5,1%;
- perforazioni gastrointestinali; questa complicanza è rara (1,4-2,0%) ma potenzialmente fatale (0,4-1,0%)<sup>[98]</sup>.

Si ritiene che l'incidenza di queste complicanze per i pazienti con patologie oculari sia bassa. Infatti, questo gruppo di pazienti sono in generale in uno stato di salute migliore rispetto ai pazienti con tumori metastatici e ricevono una dose significativamente inferiore che è rilasciata solo all'interno dell'occhio.

Principalmente le complicanze oculari sono legate alla via di somministrazione e comprendono il distacco di retina, l'emovitreo e l'endofalmitide<sup>[99]</sup>.

L'assenza della tossicità a carico del tessuto retinico, anche ad alte concentrazioni, è stato dimostrato da Manzano<sup>[100]</sup> *et al.*, grazie ad una serie di studi istologici ed elettroretinografici effettuati su un gruppo di conigli albini New Zeland. Comunque, gli Autori concordano nella necessità di studi a lungo

termine per verificare l'assenza di tossicità; inoltre non provoca glaucoma o progressione di cataratta.

La procedura viene eseguita in ospedale, in regime di day surgery. Il consenso informato è letto e discusso con il paziente.

L'iniezione intravitreale viene, quindi, eseguita in condizioni di sterilità, in sala operatoria, previa anestesia topica con colliri. Dopo l'iniezione il paziente viene tenuto in osservazione per qualche ora e controllato nei giorni successivi.

L'Avastin<sup>®</sup>, essendo una terapia off label, non può più essere utilizzata nelle neovascolarizzazioni mentre mantiene un suo ruolo negli edemi maculari.

Attualmente l'utilizzo della molecola vede delle forti limitazioni dal momento che altri competitor hanno ottenuto l'indicazione per la cura di edemi maculari di diversa origine, ponendo così il bevacizumab come molecola Against label.

Nell'anno 2014 l'antitrust ha sanzionato la Roche e la Novartis per aver creato un "cartello" a sostegno del carissimo Lucentis.

Attualmente AIFA autorizza in Italia l'utilizzo di Avastin sono in quei pazienti che hanno già subito come terapia Avastin, ottenendo risultati clinici al fine di garantire la continuità terapeutica

#### **VI.3.4. AFLIBERCEPT (EYLEA®)**

L'introduzione dei nuovi farmaci che contrastano il fattore di crescita neovascolare (VEGF) nella degenerazione maculare senile ha cambiato radicalmente l'efficacia della cura permettendo di avere il 90% di stabilità e il 40% di miglioramento con l'uso del lucentis.

Esistono attualmente limitazioni all'uso del bevacizumab (avastin) in quanto il farmaco non ha avuto il benestare dal ministero della salute per l'utilizzo oculare ed è attualmente registrato per la cura dei tumori intestinali. Ciononostante viene utilizzato ancora per il suo basso costo dopo che lo studio CATT ha evidenziato una sua sostanziale equivalenza con il lucentis.

Rimangono comunque aperte questioni legate ad una migliore efficacia complessiva del lucentis come numero inferiore di iniezioni, migliore riduzione di spessore retinico e soprattutto una migliore sterilità del lucentis. Infine sempre dal punto di vista amministrativo il lucentis non è rimborsato in tutti i casi come per esempio quando il visus è inferiore a 2/10 o quando debba essere trattato il secondo occhio. Da queste considerazioni emerge la ricerca di farmaci più efficaci e soprattutto di maggiore durata. In ciò si differenzia l'EYLEA (VEGF-Trap, distribuito in Italia dalla Bayer). La sua azione da un lato è simile agli altri anti VEGF inattivando e legandosi al VEGF-A dall'altro si lega anche al VEGF-B e al fattore di crescita placentare. VEGF Trap-Eye (tavola 2) è una proteina di fusione ricombinante completamente umana, costituito da porzioni di recettori VEGF solubili 1 e 2, da domini extracellulari fuse alla porzione Fc di IgG1 umana, che lega tutte le forme di VEGF-A e il relativo fattore di crescita placentare (PlGF). Ha un'affinità di legame più alta del recettore naturale del VEGF e degli altri anticorpi anti VEGF. È formulato come soluzione isotonica per l'iniezione intravitreale. EYLEA intrappola e blocca il VEGF, proprio come le chela di un'aragosta che cattura la sua preda. La dose raccomandata per EYLEA è di 2 mg somministrati per iniezione intravitreale ogni quattro settimane (mensili) per le prime 12 settimane (3 mesi), seguita da 2 mg una volta ogni otto settimane (2 mesi). Anche se EYLEA può essere dosato con una frequenza di 2 mg ogni quattro settimane (mensili), l'efficacia supplementare non è stato dimostrato quando EYLEA è stato somministrato ogni quattro settimane rispetto a ogni otto settimane. EYLEA è controindicato nei pazienti con infezioni oculari o perioculari, attiva l'infiammazione intraoculare, o ipersensibilità nota a aflibercept o ad uno qualsiasi degli eccipienti di EYLEA. Iniezioni intravitreali, comprese quelle con EYLEA, sono stati associati con endoftalmite e distacchi di retina. Aumenti acuti della pressione intraoculare sono stati osservati entro 60 minuti dall'iniezione intravitreale, anche con EYLEA. Sostanziosi incrementi di pressione intraoculare sono stati inoltre riportati dopo somministrazioni ripetute intravitreale di inibitori

VEGF. Pressione intraoculare e la perfusione della testa del nervo ottico devono essere monitorati e gestiti in modo appropriato. Vi è un potenziale rischio di eventi tromboembolici arteriosi (Ates) dopo l'uso di inibitori VEGF intravitreali, comprese EYLEA, definiti come ictus non fatale, infarto miocardico non fatale, o morte vascolare (comprese le morti di causa sconosciuta). L'incidenza di ATE con EYLEA negli studi clinici è stato basso (1,8%). Le reazioni avverse gravi correlati alla procedura di iniezione si sono verificati in meno dello 0,1% delle iniezioni intravitreali con EYLEA tra cui endoftalmite, cataratta traumatica, e aumento della pressione intraoculare.

Le reazioni avverse più comuni (maggiori o uguali al 5%) riportate in pazienti trattati con EYLEA erano emorragia congiuntivale, dolore oculare, cataratta, distacco del vitreo, corpi mobili vitreali, e aumento della pressione intraoculare.

Questi dati circa la posologia, l'efficacia e gli eventi avversi emergono dagli studi clinici condotti a livello mondiale tra cui figura il nostro centro.

#### **VI.3.4.1. AFLIBERCEPT NELL'AMD (Studio View 2)**

La degenerazione maculare legata all'età (AMD) è la principale causa di cecità acquisita. La degenerazione maculare è diagnosticata sia come asciutto (non-essudativa) o bagnato (essudativa). In AMD umida, nuovi vasi sanguigni crescono sotto la retina e la fuoriuscita di sangue e liquido. Questa perdita causa interruzione, disfunzione e distorsione della retina con creazione di punti ciechi nella visione centrale, e può rappresentare cecità nei pazienti. Infatti AMD umida è la principale causa di cecità per le persone di età superiore ai 65 negli Stati Uniti e Europa. Il programma VIEW (VEGF Trap-Eye: Investigation of Efficacy and Safety in Wet AMD) comprende due trial clinici randomizzati, in doppio cieco, di fase III che valutano VEGF Trap-Eye nel trattamento della forma neovascolare della degenerazione maculare legata all'età (degenerazione maculare umida). Lo studio VIEW 1, che ha randomizzato 1217 pazienti negli Stati Uniti e in Canada è stato condotto da Regeneron sotto "Special Protocol

Assessment” (SPA) in collaborazione con U.S. Food and Drug Administration. Lo studio VIEW 2, che ha randomizzato 1240 pazienti in Europa, Asia – Area del Pacifico - Giappone e America Latina, è stato condotto da Bayer HealthCare. Il disegno degli studi è sostanzialmente identico. L’obiettivo primario è stato valutato a 52 settimane. In ciascuno degli studi è stato valutato l’effetto di VEGF Trap-Eye sul mantenimento e sul miglioramento dell’acuità visiva ad una dose di iniezione intravitreale di 0,5mg al mese, 2mg al mese, o 2mg ogni 2 mesi (a seguito di 3 dosi di carico mensili), rispetto a ranibizumab intravitreale alla dose di 0,5mg al mese, per il primo anno di studio. Nel secondo anno di studio in caso di necessità (PNR) per entrambi i farmaci può essere presa in considerazione la somministrazione di una dose di farmaco almeno ogni tre mesi (in ogni caso una frequenza non superiore ad una somministrazione al mese). Questi studi fanno parte del programma globale di sviluppo di VEGF Trap-Eye che Bayer Healthcare sta conducendo con Regeneron. L’endpoint primario di questi studi di non inferiorità è la proporzione di pazienti trattati con VEGF Trap-Eye che hanno mantenuto l’acuità visiva alla fine del primo anno, rispetto ai pazienti trattati con ranibizumab. L’acuità visiva è misurata come un punteggio basato sul numero totale di lettere lette correttamente sulla tabella ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study), una tabella standard usata per misurare l’acuità visiva dopo 52 settimane. Il mantenimento della visione è definito come perdita inferiore a 3 righe (equivalenti a 15 lettere) sulla tabella ETDRS.

Nello studio nordamericano VIEW 1, il 96% dei pazienti curati con VEGF Trap-Eye 0.5mg a somministrazione mensile, il 95% di quelli curati con VEGF Trap-Eye 2mg mensili e il 95% dei pazienti curati con VEGF Trap-Eye 2mg ogni due mesi, ha mostrato il mantenimento della acuità visiva rispetto al 94% dei pazienti in cura con ranibizumab 0,5mg con dosaggio mensile.

Nello studio internazionale VIEW 2, il 96% dei pazienti curati con VEGF Trap-Eye 0.5 mg a somministrazione mensile, il 96% di quelli curati con VEGF Trap-Eye 2mg a somministrazione mensile e il 96% dei pazienti curati con VEGF Trap-Eye 2 mg somministrato ogni 2 mesi, ha mostrato un mantenimento

dell'acuità visiva rispetto al 94% dei pazienti in cura con ranibizumab 0,5mg con dosaggio mensile. Nello studio VIEW 1, i pazienti trattati con VEGF 2mg somministrato mensilmente hanno raggiunto, alla cinquantaduesima settimana, un miglioramento medio dell'acuità visiva rispetto al basale maggiore e statisticamente significativo (obiettivo secondario), in confronto a ranibizumab 0,5mg somministrato ogni mese; i pazienti trattati con VEGF Trap-Eye 2mg ogni mese, in media hanno guadagnato 10,9 lettere, rispetto a un guadagno medio di 8,1 lettere con ranibizumab 0,5mg ogni mese ( $p < 0,01$ ). Non si è verificata una differenza statisticamente significativa per questo obiettivo secondario né fra i gruppi ad altri dosaggi di VEGF Trap-Eye nello studio VIEW 1 né fra tutti i gruppi ai vari dosaggi nello studio VIEW 2. In generale il profilo di sicurezza osservato per VEGF Trap-Eye e ranibizumab è favorevole. L'incidenza di eventi avversi a seguito del trattamento oculare era bilanciata in tutti e quattro i gruppi di trattamento, in entrambi gli studi, con eventi avversi più frequenti associati alla procedura di iniezione, alla malattia di base e/o al processo di invecchiamento. Gli eventi avversi oculari più frequenti sono stati emorragia congiuntivale, degenerazione maculare, dolore all'occhio, emorragia della retina e segni vitreali. Gli eventi avversi seri più frequenti, non-oculari, sono quelli tipici della popolazione anziana che riceve un trattamento intravitreale per la degenerazione maculare umida; gli eventi più frequentemente riportati sono cadute, polmonite, infarto del miocardio, fibrillazione atriale, cancro al seno e sindrome coronarica acuta. Non sono state riscontrate differenze degne di nota fra i vari bracci in studio. Nel secondo anno di studio, i pazienti in VIEW 1 e VIEW 2 hanno continuato ad essere trattati con la stessa dose del primo anno – ma la somministrazione avverrà solo ogni 3 mesi o più spesso in caso di peggioramento dell'acuità visiva, ispessimento della retina o diffusione di sangue e fluidi (“quarterly capped dosing”). In un'analisi integrata dei 2 studi VIEW 1 e VIEW 2, il guadagno acuità visiva rispetto al basale del EYLEA 2mg ogni gruppo di otto settimane alla settimana 96 è stata di 7,6 lettere rispetto a 8,4 lettere alla settimana 52, con una media di 11,2 iniezioni nell'arco di due anni e 4,2 iniezioni

nel secondo anno. Il guadagno acuità visiva rispetto al basale nel gruppo ranibizumab mensile alla settimana 96 era 7.9 lettere rispetto a 8,7 lettere alla settimana 52, con una media di 16,5 iniezioni nell'arco di due anni e 4,7 iniezioni nel secondo anno. I risultati di ciascuno dei 2 studi VIEW 1 e VIEW erano coerenti con l'analisi integrata. Il numero complessivo meno medio di iniezioni nel secondo anno nella EYLEA 2mg ogni gruppo di otto settimane rispetto al gruppo ranibizumab (4.2 contro 4.7) è generato dal fatto che meno pazienti richiedono una terapia più intensa nel gruppo EYLEA e quei pazienti tenuti in meno iniezioni. La proporzione di pazienti che hanno richiesto frequenti iniezioni (sei o più) durante il secondo anno è stata inferiore nel EYLEA 2mg ogni gruppo di otto settimane rispetto al gruppo ranibizumab (15,9% contro 26,5%). Nel 25% dei pazienti che hanno richiesto la terapia più intensa (il maggior numero di iniezioni), i pazienti nel 2 mg EYLEA ogni gruppo di otto settimane richiesto una media di 1,4 minor numero di iniezioni nel secondo anno rispetto al gruppo ranibizumab (6,6 contro 8,0) . Nel 25% dei pazienti in ciascun gruppo che aveva il minor numero di iniezioni nel secondo anno, il numero medio di iniezioni era simile (circa 3 per entrambi i gruppi, corrispondenti al numero minimo protocollo mandato di iniezioni). Gli studi VIEW1 e VIEW 2 hanno dimostrato come l'EYLEA abbia una efficacia a uno e due anni simile al lucentis con percentuali simili di miglioramenti. Lo studio CLEAR ha invece evidenziato come il risultato visivo tra lucentis con una iniezione ogni mese e Eylea invece ogni due mesi fosse sovrapponibile. Infine riguardo agli eventi avversi i due gruppi erano simili. L'obiettivo primario era la non-inferiorità statistica nella proporzione di pazienti che hanno mantenuto (o migliorato) l'acuità visiva dopo 52 settimane, rispetto a ranibizumab.

In conclusione l'EYLEA è una nuova cura per la degenerazione maculare con risultati eccellenti e soprattutto con un minor numero di iniezioni a lungo termine.

#### **VI.3.4.2. AFLIBERCEPT NELL'OVCR (Studio Galileo)**

VEGF Trap-Eye è stato studiato in fase III anche per il trattamento dell'occlusione della vena centrale della retina (Central Retinal Vein Occlusion – CRVO), un'altra tra le principali cause di cecità, in due studi identici. Il COPERNICUS (COntrolled Phase 3 Evaluation of Repeated iNtravitreal administration of VEGF Trap-Eye In Central retinal vein occlusion: Utility and Safety) che è condotto da Regeneron, e il GALILEO (General Assessment Limiting InfiLtration of Exudates in central retinal vein Occlusion with VEGF Trap-Eye) promosso da Bayer HealthCare. L'endpoint primario di entrambi gli studi è il miglioramento dell'acuità visiva rispetto al basale dopo 6 mesi di trattamento. I dati iniziali dello studio sul CRVO verranno anticipati all'inizio del 2011. Oltre 100.000 persone in Stati Uniti e più di 66.000 persone nei principali paesi europei sono stimati a soffrire di CRVO. CRVO è causato da ostruzione della vena retinica centrale che porta ad un accumulo di sangue e fluido nella retina. Questo provoca lesioni retiniche e perdita della vista. La retina può anche diventare "ischemico" (affamato di ossigeno), con conseguente crescita di nuovi, non appropriati vasi sanguigni che può causare ulteriore perdita della vista e complicazioni più gravi. Rilascio di fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF) contribuisce ad un aumento della permeabilità vascolare negli occhi e inadeguata crescita di nuovi vasi. Si ritiene che il trattamento anti-VEGF può aiutare a diminuire la permeabilità vascolare ed edema e prevenire la crescita inadeguata di nuovi vasi sanguigni nella retina in pazienti con CRVO.

In GALILEO, l'endpoint primario alla settimana 24 è stato raggiunto: 60,2 per cento dei pazienti che hanno ricevuto mensili VEGF Trap-Eye 2 milligrammi (mg) ha guadagnato almeno 15 lettere di visione rispetto al basale, rispetto al 22,1 per cento dei pazienti trattati con iniezioni sham ( $p < 0,0001$ ). L'endpoint secondario chiave dello studio è stato anche incontrato: i pazienti trattati con VEGF Trap-Eye 2mg mensile guadagnato, in media, 18 lettere di visione rispetto a un guadagno medio di 3,3 lettere con iniezioni sham ( $p < 0,0001$ ). Come nella prova Copernico, VEGF Trap-Eye è stato generalmente ben tollerato nello studio

GALILEO e gli eventi avversi più comuni sono stati quelli tipicamente associati con iniezioni intravitreali o la malattia di base. L'incidenza di gravi eventi avversi oculari era più alta nel gruppo finto rispetto al braccio di trattamento attivo (8,8% vs 2,9%). I pazienti del Copernico (fase controllata 3 Valutazione di somministrazione intravitreale ripetuta di VEGF Trap-Eye In occlusione venosa retinica centrale: Utility e Sicurezza) e il quasi identico GALILEO (Valutazione generale limitazione Infiltrazione di essudati in occlusione venosa retinica centrale con VEGF Trap-Eye Gli studi) hanno ricevuto sei iniezioni mensili di entrambi VEGF Trap-Eye ad una dose di 2 mg o iniezioni sham. I pazienti in entrambi gli studi sono stati randomizzati in rapporto 3:2 con 114 pazienti randomizzati a ricevere VEGF Trap-Eye e il 73 randomizzati al braccio di controllo in Copernico e 104 pazienti randomizzati a ricevere VEGF Trap-Eye e 68 randomizzati al braccio di controllo in GALILEO . Alla fine dei primi sei mesi, tutti i pazienti randomizzati a VEGF Trap-Eye sono somministrati su un PRN (se necessario) base per altri sei mesi. Nello studio Copernico, i pazienti randomizzati a sham iniezioni nei primi sei mesi sono stati ammessi a attraversare a VEGF Trap-Eye PRN dosaggio nei secondi sei mesi. Durante il secondo semestre degli studi, tutti i pazienti sono eleggibili per il trattamento laser soccorso. L'acuità visiva è misurata come un punteggio basato sul numero totale di lettere lette correttamente sul trattamento precoce della retinopatia diabetica Study (ETDRS) grafico occhio, un grafico standard utilizzato nella ricerca per misurare l'acuità visiva. Nello studio GALILEO, il 60,2 per cento dei pazienti trattati con VEGF Trap-Eye 2mg mensile guadagnato almeno 15 lettere di visione dal basale, rispetto al 22,1 per cento dei pazienti trattati con iniezioni sham ( $p < 0.0001$ ), l'endpoint primario dello studio. I pazienti trattati con VEGF Trap-Eye 2mg mensile guadagnato, in media, 18 lettere di visione rispetto a un guadagno medio di 3,3 lettere con iniezioni sham ( $p < 0.0001$ ), un endpoint secondario. VEGF Trap-Eye è stato generalmente ben tollerato e gli eventi avversi più comuni sono stati quelli tipicamente associati con iniezioni intravitreali o la malattia di base. Gravi eventi avversi oculari del VEGF Trap-

Eye gruppo erano 2,9 per cento e sono stati più frequenti nel gruppo di controllo (8,8 per cento). Gli eventi avversi più frequentemente riportati complessivi nel braccio VEGF Trap-Eye sono stati dolore oculare, emorragia congiuntivale ed elevata pressione intraoculare. Gli eventi avversi più frequentemente riportati nel gruppo di controllo erano edema maculare, irritazione agli occhi, e la riduzione dell'acuità visiva. L'incidenza di eventi avversi gravi non-oculari è stato generalmente ben bilanciata tra i bracci di trattamento. Gli eventi avversi non-oculari più frequenti sono mal di testa e rinofaringite. Non ci sono stati morti in studio. Gli studi COPERNICO e GALILEO 2 hanno dimostrato come l'EYLEA abbia una efficacia a 6 mesi ed ad un anno con alte percentuali di miglioramenti. Infine riguardo agli eventi avversi i due gruppi erano simili. In conclusione l'EYLEA è una nuova cura per la OVCR con risultati eccellenti e soprattutto con un minor numero di iniezioni a lungo termine.

#### **VI.3.4.3. AFLIBERCEPT NELL'EMD (Studio Vivid-DME)**

DME è una complicanza comune di retinopatia diabetica (RD), una malattia che colpisce i vasi sanguigni della retina. Clinicamente significativa DME si verifica quando le perdite di fluido verso il centro della macula, la parte sensibile alla luce della retina responsabile nitida, visione diretta. Fluido nella macula può causare grave perdita della vista o cecità. DME è la causa più frequente di cecità nei giovani e metà età adulti. La popolazione trattabile per DME a livello globale è stimato in circa 6,2 milioni di persone. Secondo l'American Diabetes Association, oltre 18 milioni di americani attualmente soffrono di diabete, e molti altri sono a rischio di sviluppare il diabete. La fase III del programma DME è costituito da tre in doppio cieco prove: VIVID-DME, VISTA-DME, e VIVID-EST-DME, e uno studio di sicurezza braccio aperto etichetta singola in pazienti giapponesi (VIVID-Giappone ). Tutti e tre gli studi in doppio mascherati hanno tre bracci di trattamento, dove i pazienti sono stati randomizzati a ricevere o VEGF Trap-Eye 2 mg mensile, VEGF Trap-Eye 2 mg ogni due mesi (dopo 5

iniezioni mensili iniziali), o il trattamento di confronto della fotocoagulazione laser. Sulla base dei criteri di protocollo specificato, i pazienti erano eleggibili a ricevere il trattamento di salvataggio dalla settimana 24 in poi. Trattamento di salvataggio nei gruppi VEGF Trap-Eye è stato il trattamento laser aggiunto, e nel gruppo di controllo laser, era 2mg VEGF Trap-Eye. L'endpoint primario di tutti e tre gli studi è il cambiamento medio nel migliore acuità visiva corretta rispetto al basale, misurata sul trattamento precoce della retinopatia diabetica Scale (ETDRS) grafico occhio, un grafico standard utilizzato nella ricerca per misurare l'acuità visiva. Il VIVID-DME, VISTA-DME, e gli studi VIVID-est-DME sono in corso. I pazienti nello studio VIVID-DME sono stati randomizzati a ricevere o VEGF Trap-Eye 2 milligrammi (mg) mensili (n = 155), VEGF Trap-Eye 2 mg ogni due mesi (dopo 5 iniezioni mensili iniziali) (n = 152), o il trattamento di confronto della fotocoagulazione laser (n = 154). Risultati dello studio mostrano che dopo 100 settimane, i pazienti trattati con VEGF Trap-Eye 2 mg somministrata mensile avuto una variazione media rispetto al basale BCVA di 11.5 lettere (12.5 lettere a 52 settimane). I pazienti trattati con VEGF Trap-Eye 2 mg somministrato ogni due mesi (dopo 5 iniezioni mensili iniziali) hanno avuto un cambiamento medio dal basale BCVA di 11.1 lettere (10.7 lettere a 52 settimane). I pazienti nel gruppo di trattamento con fotocoagulazione laser avevano una variazione media rispetto al basale BCVA di 0.9 lettere (0.2 lettere a 52 settimane). Nello studio VIVID-DME, VEGF Trap-Eye è stato generalmente ben tollerato con una analoga incidenza complessiva degli eventi avversi (EA), eventi avversi gravi oculari, ed eventi avversi non-oculari gravi attraverso le VEGF Trap-Eye gruppo di trattamento e il gruppo di controllo laser . Eventi avversi erano tipici di quelli osservati in altri studi in pazienti con diabete sottoposti a terapia anti-VEGF intravitreale. Gli eventi avversi oculari più frequenti osservati negli studi VIVID-DME inclusi emorragia congiuntivale, dolore oculare, e miodesopsie. I più frequenti eventi avversi non-oculari inclusa l'ipertensione, anemia e infezioni del tratto urinario. Eventi tromboembolici arteriosi come definito dai Trialists anti-piastrinici 'Collaboration (ictus non-

fatale e non-fatale infarto miocardico e morte vascolare) erano simili tra i gruppi di trattamento e il gruppo di controllo laser con gli eventi che si verificano in 13 su 155 pazienti il gruppo dosato con VEGF Trap-Eye 2 mg al mese, 11 dei 152 pazienti nel gruppo dosato con VEGF Trap-Eye 2 mg ogni 2 mesi (dopo 5 iniezioni mensili iniziali), e 9 eventi su 154 pazienti nel gruppo laser . Otto su 155 pazienti sono deceduti nel gruppo dosato con VEGF Trap-Eye 2 mg al mese, quattro su 152 pazienti nel gruppo dosati con VEGF Trap-Eye 2 mg ogni 2 mesi (dopo 5 iniezioni mensili iniziali), e tre su 154 pazienti nel gruppo di trattamento laser. Visti oggi i risultati positivi a tre anni dello studio di Fase III trial VIVID-DME con VEGF Trap-Eye (soluzione aflibercept per iniezione) per il trattamento dell'edema maculare diabetico (DME ), si può affermare che EYLEA rappresenta una nuova strategia terapeutica nella cura dell'DME. I risultati hanno dimostrato un miglioramento duraturo con VEGF Trap-Eye nella migliore acuità visiva corretta (BCVA) in due diversi regimi di dosaggio, rispetto alla fotocoagulazione laser., la sicurezza e l'efficacia nel trattamento DME VEGF. Trap-Eye (soluzione aflibercept iniettabile) è stato approvato con il marchio EYLEA ® in Europa, Stati Uniti, Giappone, Australia e in molti altri paesi per il trattamento dei pazienti con degenerazione maculare neovascolare legata all'età (AMD umida ). EYLEA è stato approvato in Europa per il trattamento della diminuzione visiva causata da edema maculare secondario ad CRVO così come negli Stati Uniti, in Giappone e in alcuni paesi dell'Asia e dell'America Latina per il trattamento di edema maculare in seguito CRVO.

In Giappone invece si sta procedendo per il trattamento della neovascolarizzazione coroideale secondaria a miopia patologica (mCNV).

## **CAPITOLO VII**

### ***LASER MICROPULSATO***

#### **VII.1. PRINCIPI DEL LASER GIALLO MICROPULSATO**

Dal 2010, occorre ricordare, l'immissione in commercio di un nuovo tipo di laser definito "micro pulsato". Il trattamento laser sottosoglia è materia di ricerca e interesse da parte di molti retinologi in tutto il mondo. La tecnologia micropulsata, che utilizza le lunghezze d'onda da 810 nm e 577 nm, consente di produrre un effetto terapeutico senza indurre un danno intraretinico visibile oftalmoscopicamente. Questo tipo di tecnologia, detta micropulsato in quanto rilascia micro-impulsi, consente di trattare la maggiorparte delle patologie edematose della macula.

Sin dal suo inizio, la fotocoagulazione della retina è diventata il trattamento di prima scelta in numerose patologie della corioretina e la sua efficacia è stata dimostrata in diversi studi clinici. L'effetto terapeutico del laser consiste nella distruzione delle cellule che consumano ossigeno, fotorecettori (FR) ed epitelio pigmentato retinico (EPR), diminuendo quindi lo stato di ipossia della retina. Questo effetto terapeutico è oggi alla

base delle moderne terapie farmacologiche corticosteroidi e anti-vegf in grado di ridurre l'edema senza danneggiare i fotorecettori.

Il calore generato dai laser convenzionali è diretto all'epitelio pigmentato retinico e trasmesso alle strutture circostanti (neuroepitelio e coroide) con conseguente danno termico. L'effetto visibile dello "sbiancamento" che si ottiene con i laser convenzionali è la diretta conseguenza del fatto che l'innalzamento della temperatura si trasmette al neuroepitelio con conseguente perdita della naturale trasparenza della retina. Lo sbiancamento solitamente si verifica con aumenti della temperatura di 20-30°C al di sopra della temperatura corporea. E' noto che l'utilizzo dei laser convenzionali può determinare complicanze quali riduzione

dell'acuità visiva, del campo visivo, della percezione dei colori, della visione notturna e della sensibilità al contrasto. Altre complicanze sono l'insorgenza di neovascolarizzazione coroideale, emorragie, fibrosi preretinica e distacco sieroso della retina periferica. Con i laser convenzionali non è possibile agire direttamente sulle cellule bersaglio, cioè l'EPR, senza inevitabilmente danneggiare anche il neuroepitelio. E' noto infatti che la maggiorparte dei fattori di crescita angiogenetici sono prodotti direttamente dall'EPR. Inoltre il danno a tutto spessore della retina potrebbe non essere indispensabile per ottenere l'effetto terapeutico del laser. I benefici del trattamento laser potrebbero essere la conseguenza della sovra o sotto regolazione della produzione dei fattori di crescita angiogenetici mediati dalla reazione biologica dell'EPR danneggiato solo in modo parziale. L'EPR gioca anche un ruolo significativo nei processi di riparazione delle barriere emato – retiniche interna ed esterna indipendentemente dalla sede o dal tipo dell'applicazione laser. Da qualche anno si è iniziato a parlare di trattamento sotto-soglia per indicare la produzione di un danno intraretinico non visibile. Studi clinici recenti suggeriscono che il trattamento laser sotto-soglia può essere altrettanto efficace del trattamento laser convenzionale senza produrre i tipici danni iatrogeni ai tessuti circostanti. Minimizzare il danno retinico è possibile sfruttando sia principi di ottica che di termodinamica. Modificare i parametri del laser, diminuendo per esempio la lunghezza d'onda, le dimensioni dello spot, l'irradianza sulla retina e la durata dell'impulso, possono contribuire a limitare il danno retinico. Modificare l'endpoint da uno spot visibile ad uno invisibile sottosoglia utilizzando un laser micropulsato, può allo stesso modo ridurre il danno retinico. L'assenza di un effetto visibile significa che per individuare le lesioni è necessario utilizzare la fluorangiografia o l'angiografia con verde di indocianina, anche se in alcuni casi le lesioni potrebbero non essere visibili anche con questi esami.

Usando la modalità micropulsata, l'energia laser è rilasciata sotto forma di una serie di brevi impulsi ripetuti (solitamente 100-300 microsecondi in modalità "on" e 1700-1900 microsecondi in modalità "off") nell'ambito di un tempo di

esposizione che solitamente è di 200-300 millisecondi. Indagini istologiche hanno messo in evidenza che questa modalità di emissione laser è in grado di indurre un effetto fototermico limitato all'EPR senza danneggiare il neuroepitelio. I protocolli disegnati per non danneggiare i tessuti producono solo un lieve aumento della temperatura e di conseguenza l'effetto non è visibile e rimane tale anche nel tempo. Al fine di mantenere la naturale trasparenza della retina, la temperatura della retina interna deve rimanere inferiore alla soglia di coagulazione. Per cui invece di emettere l'energia richiesta con un singolo impulso di elevata energia, vengono utilizzati una serie ripetuti di impulsi a bassa energia, per cui si ottiene una riduzione da 4 a 10 volte l'energia richiesta per impulso. Impulsi di energie più basse riducono il rischio di emorragie, la temperatura infine producono un effetto fototermico più limitato. L'assenza di danno della corioretina permette trattamenti ad alta densità con applicazioni confluenti sull'intera area edematosa e la possibilità di trattare le stesse aree.

Nel momento in cui si decide di eseguire un trattamento al di sotto del punto di visibilità, si solleva la questione sulla dose del laser. Certamente in assenza di cicatrici laser permanenti, il rischio è di eseguire un sottotrattamento. Ad oggi non sono stati riportate complicanze o effetti collaterali del laser micropulsato; perciò, il futuro di questo trattamento sarà trovare i parametri ottimali, in quanto il problema dei non-responder è la principale preoccupazione clinica.

Edema maculare diabetico. L'Early Treatment Diabetic Retinopathy Study ha dimostrato a suo tempo che la fotocoagulazione laser diminuiva il rischio di moderata perdita visiva del 50%. Per questo motivo la fotocoagulazione laser è diventata il trattamento standard dell'EMD. Il laser micropulsato si è dimostrato efficace al pari della fotocoagulazione tradizionale. Modificazioni della sensibilità retinica (Figura 1), misurate mediante la microperimetria, diventano evidenti entro 1 mese dal trattamento, prima che diventino visibili significative modificazioni OCT nello spessore retinico. Il potenziale vantaggio della terapia confluyente del laser micropulsato può essere particolarmente utile nei casi in cui si debbano eseguire ritrattamenti per EMD persistente o di nuova formazione. E'

necessario ripensare al ruolo del trattamento laser dell'EMD nell'era dei farmaci anti-VEGF. Infatti oggi diventa sempre meno accettabile utilizzare un laser che provochi delle cicatrici retiniche. D'altro canto potrebbe non essere sempre facile indirizzare alla terapia iniettiva pazienti con EMD non interessante la fovea oppure senza diminuzione visiva. Perciò questi pazienti potrebbero essere candidati per il trattamento con il laser micropulsato (tavola 10).

Alcuni studi hanno dimostrato l'efficacia della fotocoagulazione panretinica utilizzando il laser micropulsato in confronto con la fotocoagulazione tradizionale. Il laser micropulsato consente di ottenere risposte terapeutiche più lentamente e senza significative contrazioni del tessuto neovascolare. Si pensa quindi che il laser micropulsato potrebbe essere particolarmente utile nei casi in cui vi sia una ampia neovascolarizzazione retinica (tavola 6) che potrebbe favorire un distacco retinico trazionale utilizzando la fotocoagulazione tradizionale. Inoltre il laser micropulsato potrebbe essere considerato per prevenire la comparsa di retinopatia diabetica proliferante.

Sebbene la maggiorparte dei casi di corioretinopatia sierosa centrale si risolve spontaneamente, alcuni pazienti hanno un decorso cronico che può provocare un calo del visus. Il laser micropulsato si è dimostrato in grado di indurre il completo riassorbimento del sollevamento sieroso entro il primo mese (tavola 7, 8, 9) e di mantenere la macula asciutta per 4 mesi senza nessun effetto visibile sulla retina.

Questa modalità di trattamento relativamente nuova in grado di non danneggiare il tessuto retinico sembra essere efficace dal punto di vista clinico. E' necessario tuttavia chiarire e comprendere meglio il meccanismo di azione e trovare i parametri dosimetrici ottimali.

Sperimentazioni cliniche randomizzate saranno necessarie per meglio comprendere come utilizzare questo tipo di terapia nella pratica clinica e per sviluppare linee guida.

Un lavoro del 2011 dimostra come ad 1 anno, l'affidabilità clinica di HD-SDM era superiore a quella della tecnica mETDRS fotocoagulazione, secondo le

misure anatomiche e funzionali di miglioramento usati in questa indagine. Un razionale per questa modalità di trattamento come un approccio preferibile è suggerito, e il ruolo preciso del trattamento laser sottosoglia micropulse può diventare più definito come l'esperienza cresce, guidata da linee guida di trattamento ottimizzati e prove più complete<sup>[101]</sup>.

## **CAPITOLO VIII**

### ***STUDIO DI CASI: LA NOSTRA ESPERIENZA***

#### **VIII.1. MATERIALI E METODI**

In questa serie di studi sperimentali condotti presso il nostro centro sono stati inclusi pazienti affetti da neovascolarizzazione secondaria a degenerazione maculare legata all'età, da edema maculare secondario a occlusione della vena centro retinica, da edema maculare secondario a diabete con coinvolgimento centrale e da edema maculare secondario a corioretinopatia sierosa centrale.

Per quanto riguarda lo studio condotto sulla popolazione affetta da neovascolarizzazione secondaria a degenerazione maculare legata all'età i pazienti dovevano necessariamente essere *naïve* a qualsiasi tipo di trattamento nell'occhio in studio, dal momento che il disegno dello studio prevedeva un braccio di comparazione attiva con l'unica molecola approvata per la cura dell'AMD neovascolare: il Ranibizumab.

Il Primary Outcome è stato definito come la percentuale di pazienti che hanno mantenuto la visione alla settimana 52; per mantenimento della visione si intendeva una perdita < 15 lettere valutata tramite tavole ETDRS nell'occhio in studio.

Passando allo studio condotto sulla popolazione affetta da edema maculare secondario a occlusione della vena centro retinica, i pazienti dovevano presentare edema maculare secondario a OVCR da meno di 9 mesi con uno spessore retinico > 250  $\mu\text{m}$  e, anche qui, dovevano essere *naïve* a qualsiasi trattamento pregresso, sia esso anti vegf, sia steroideo, sia laser. Non avevamo il braccio di controllo attivo, bensì di comparamento sham.

Il Primary Outcome è stato definito come la percentuale di pazienti che hanno migliorato la visione alla settimana 24, dove per miglioramento della visione si

intendeva un guadagno di almeno 15 lettere, valutato tramite tavole ETDRS nell'occhio in studio.

Per quanto concerne lo studio condotto sulla popolazione affetta da edema maculare secondario a diabete con coinvolgimento centrale, i pazienti dovevano presentare edema maculare secondario a diabete con coinvolgimento centrale, calo visivo imputato principalmente al DME e negli ultimi 3 mesi non dovevano aver effettuato alcun tipo di terapia per il DME, dal momento che il disegno dello studio prevedeva un braccio di comparazione attiva con l'attuale gold standard nella terapia dell'edema maculare diabetico: la fotocoagulazione laser maculare secondo il protocollo ETDRS modificato.

Il Primary Outcome è stato definito come il cambiamento dal baseline della BCVA misurato sulle tavole ETDRS.

Infine per quanto riguarda lo studio condotto sulla popolazione affetta da edema maculare secondario a corioretinopatia sierosa centrale, i pazienti dovevano presentare edema maculare secondario a corioretinopatia sierosa centrale che non si risolveva da più di 3 mesi, sia spontaneamente che sotto effetto di acetazolamide per os e Fans a livello topico.

Il Primary Outcome è stato definito come il cambiamento dal baseline della BCVA misurato sulle tavole ETDRS.

Ai pazienti che, alla sospensione delle dosi ripetute di Anti VEGF ripresentavano edema maculare, veniva somministrato uno o più trattamenti laser ( $\lambda$  577 nm) sotto soglia a livello maculare con una griglia 7 x 7, una grandezza dello spot pari a 200  $\mu$ m, una intensità di 400 mW, una durata di 200 ms e ogni microimpulso da 0,2 ms (duty cycle 10%). Il trattamento laser poteva essere risomministrato non prima di 6 mesi dal precedente trattamento.

Per questi pazienti il Primary Outcome consisteva nella riduzione dello spessore retinico centrale e nel contemporaneo ripristino della BCVA, come prima della recidiva dell' edema, rivalutato dopo 4 settimane, dopo 2 mesi, dopo 3 mesi e dopo 6 mesi.

Tutti e quattro gli studi erano stati disegnati come randomizzati, in doppio cieco, di fase III per valutare l'efficacia e la sicurezza di dosi ripetute di VEGF Trap - Eye intravitreale e l'efficacia e la sicurezza del trattamento maculare con il laser giallo micropulsato.

Si sono prese in considerazione le seguenti variabili: notizie anamnestiche e demografiche, raccolta di parametri vitali quali pressione sistolica/diastolica, frequenza cardiaca, temperatura ascellare, elettrocardiogramma, esami chimico – fisici del sangue e delle urine, acuità visiva al base line, miglior acuità visiva corretta (BCVA), biomicroscopia del segmento anteriore dell'occhio, gonioscopia, esame del segmento posteriore con pupilla dilatata tramite lente 90D di Volk o oftalmoscopia indiretta, misurazione della pressione intraoculare mediante tonometro ad appianazione di Goldmann, retinografia, fluorangiografia ed esame OCT.

La migliore acuità visiva corretta è stata valutata secondo ETDRS chart<sup>[102]</sup>.

Per valutare l'attività della neovascolarizzazione o la grandezza dell'edema maculare si è utilizzata la tomografia a coerenza ottica (OCT) e/o fluorangiografia.

I pazienti sono stati sottoposti a controlli mensili sia oftalmologici che sistemici per una valutazione dell'efficacia, della sicurezza e della farmacocinetica del principio attivo.

Ogni sei mesi ai pazienti sono stati somministrati dei questionari circa la qualità della vita (EQ-5D)<sup>[103]</sup> e circa la qualità della funzione visiva (NEI – VFQ25)<sup>[104]</sup>.

La dimensione della lesione neovascolare e dell'edema maculare è stata calcolata tramite il software in dotazione in “Topcon Imagenet 2000”.

Lo spessore retinico centrale (CRT) è stato valutato tramite OCH Heidelberg Spectralis ed elaborato secondo scansioni standardizzate.

## VIII.2. RISULTATI

Sette pazienti (7 occhi), riferiti al centro della Clinica Oculistica dell'Università Politecnica delle Marche di Ancona sono stati inclusi nello studio riguardante l'efficacia e la sicurezza di dosi ripetute di VEGF Trap - Eye intravitreale in pazienti affetti da neovascolarizzazione secondaria ad AMD: 2 di sesso maschile (28,5%) e 5 di sesso femminile (71,5%). L'età mediana era di 73 anni (min: 65 anni, max: 78 anni). Il follow-up è stato mensile.

I pazienti erano affetti dalle seguenti tipologia di NCV: 28,5% (n=2) occulta, 43% (n=3) prevalentemente classica, 28,5% (n=2) minimamente classica.

La BCVA media al base line era  $53,8 \pm 13,5$ .

I pazienti hanno ricevuto la seguente terapia: 28,5% (n=2) Ranibizumab 2 mg ogni 4 settimane, 28,5% (n=2) VEGF Trap - Eye 2 mg ogni 4 settimane, 14,5% (n=1) VEGF Trap - Eye 0,5 mg ogni 4 settimane, 28,5% (n=2) VEGF Trap - Eye 2 mg ogni 8 settimane. Il prodotto veniva iniettato a 3-4 mm dal *limbus* in sede nasale con un ago da 30 gauge (G).

Il cambio di BCVA media ad 1 anno di terapia (week 52) era pari a 9,4 per il gruppo trattato con Ranibizumab, 7,6 per il gruppo trattato con 2 mg VEGF Trap - Eye ogni 4 settimane, 8,9 per il gruppo trattato con 2 mg VEGF Trap - Eye ogni 8 settimane, 9,7 per il gruppo trattato VEGF Trap - Eye 0,5 mg ogni 4 settimane.

Tutti i pazienti presentavano un non peggioramento della BCVA alla week 52. Per quanto riguarda la percentuale di pazienti che hanno presentato un guadagno di almeno 15 lettere alla week 52: 100% Ranibizumab 0,5 mg ogni 4; 50% VEGF Trap - Eye 2mg ogni 4 settimane; 100% VEGF Trap - Eye 0,5 mg ogni 4 settimane; 100 % VEGF Trap - Eye 2mg ogni 8 settimane.

Tutti i pazienti hanno ottenuto una riduzione dell'area di CNV con un valore mediano di  $-4,7 \text{ mm}^2$  (min 4.16 max 5.95)

Riassumendo la percentuale di occhi che hanno mantenuto la BCVA in tutti i bracci di trattamento è stata dal 94,4% al 96,1% alla settimana 52, e dal 91,5% al 92,4% alla settimana 96. Il guadagno medio di BCVA è stato da 8,3 a 9,3 lettere

alla settimana 52 e 6,6 a 7,9 lettere alle settimana 96. La percentuale di occhi senza fluido sottoretinico era maggiore per il gruppo VEGF Trap – Eye 2mg ogni 4 settimane rispetto a Ranibizumab 2 mg ogni 4 settimane sia alla settimana 52 che 96 ( $p < 0,0001$ ). Il numero di iniezioni è stato più basso nei gruppi VEGF Trap - Eye 2 mg ogni 4 e 8 settimane rispetto a Ranibizumab 2 mg ogni 4 settimane.

Infine gli eventi avversi sono stati sovrapponibili in tutti i gruppi dal baseline alla settimana 96.

Concludendo Aflibercept e Ranibizumab sono stati ugualmente efficaci nel migliorare la BCVA e prevenirne la perdita. Il gruppo VEGF Trap – Eye 2 mg ogni 8 settimane è stato simile a Ranibizumab 2 mg ogni 4 settimane ma con una media di 5 iniezioni in meno (tavola 3).

Di questi 7 occhi, dopo la week 96, 5 hanno avuto recrudescenza dell'edema evidenziabile all'OCT come aumento del CRT e alla FA come aree di leakage. Gli occhi venivano trattati secondo protocollo. Di questi, 4 occhi presentavano una riduzione dell'edema maculare ed un ripristino del visus alla 4 settimana, a 2 mesi e al 3 mese. Al 6 mese solo 3 occhi avevano raggiunto il Primary Outcome. Da sottolineare come tutti e 4 i pazienti trattati, nei primi giorni dal trattamento, riferivano riduzione soggettiva della metamorfopsia e dello scotoma centrale, pur rimanendo invariato il CRT.

Di questi 4, 3 risubivano secondo trattamento laser con risultati sovrapponibili al primo ciclo. Nessun paziente ha avuto eventi avversi.

Concludendo, in questa serie di pazienti, il laser giallo micropulsato si è dimostrato efficace nel prevenire la perdita del visus e nel ristabilire, almeno nei primi 3 mesi, uno status clinico sovrapponibile a prima della recidiva della malattia.

Due pazienti (2 occhi), riferiti al centro della Clinica Oculistica dell'Università Politecnica delle Marche di Ancona sono stati inclusi nello studio riguardante l'efficacia e la sicurezza di dosi ripetute in VEGF Trap - Eye intravitreale in

pazienti affetti da edema maculare secondario a OVCR: 1 di sesso maschile (50%) e 1 di sesso femminile (50%). L'età mediana era di 68 anni (min: 62 anni, max: 74 anni). Il follow-up è stato mensile.

I pazienti erano affetti dalle seguenti tipologie di OVCR 50% (n=1) ischemica, 50% (n=1) non ischemica.

La BCVA media al baseline era 51,2.

I pazienti hanno ricevuto la seguente terapia: 50% (n=1) VEGF Trap 2 mg ogni 4 settimane per 20 settimane, 50% (n=1) sham injection iniettati a 3-4 mm dal *limbus* in sede nasale con un ago da 30 gauge (G).

Lo spessore retinico medio era di 680,20  $\mu\text{m}$ .

Il cambio di BCVA media a 6 mesi di terapia (week 24) era pari a 16,9 per il gruppo trattato VEGF Trap - Eye 2 mg ogni 4 settimane, 3,8 per il gruppo sham.

Tutti i pazienti nel braccio VEGF Trap presentavano un miglioramento > 15 lettere alla week 24. Per quanto riguarda la percentuale di pazienti che hanno presentato un guadagno di almeno 15 lettere alla settimana 52: 100% VEGF Trap - Eye 2 mg ogni 4 settimane; 0% per il gruppo sham.

Riassumendo, la percentuale di occhi che hanno incrementato la BCVA in tutti i bracci di trattamento è stata dal 100%. La riduzione media dello CRT è stata pari a 450,82  $\mu\text{m}$  ( $p < 0,005$ ).

Infine gli eventi avversi sono stati sovrapponibili in tutti i gruppi dal baseline alla settimana 52.

Concludendo si può affermare che Aflibercept provvede a un significativo miglioramento funzionale e anatomico alla settimana 52 paragonato allo sham (tavola 3).

Di questi 2 occhi, dopo la settimana 52, 2 hanno avuto recrudescenza dell'edema evidenziabile all'OCT come aumento del CRT e pertanto venivano trattati con laser micropulsato.

Di questi, un occhio presentava riduzione dell'edema e ripristino del visus alla settimana 4, mese 1, mese 2 e mese 3. L'altro occhio, non presentava miglioramento del CRT ma dimostrava aumento della BCVA pari a 6 righe

ETDRS fino al 6 mese. Entrambi gli occhi subivano secondo trattamento laser con raggiungimento del primary outcome solo alla 4 settimana.

Nessun evento avverso registrato.

Concludendo, l'efficacia del laser giallo si riduce all'aumentare dello spessore maculare, ma ha dimostrato di avere anche un effetto "foto stimolante" a livello dei fotorecettori.

Cinque pazienti (5 occhi), riferiti al centro della Clinica Oculistica dell'Università Politecnica delle Marche di Ancona sono stati inclusi nello studio riguardante l'efficacia e la sicurezza di dosi ripetute in VEGF Trap - Eye intravitreale in pazienti affetti da edema maculare diabetico: 3 di sesso maschile (60%) e 2 di sesso femminile (40%). L'età mediana è di 67 anni (min: 61 anni, max: 70 anni). Il follow-up è stato mensile.

La BCVA media al baseline era 19,8.

I pazienti hanno ricevuto la seguente terapia: 60% (n=3) VEGF Trap – Eye 2 mg ogni 4 settimane + sham laser per 100 settimane, 40% (n=2) VEGF Trap - Eye 2 mg ogni 8 settimane precedute da una dose iniziale mensile per i primi 5 mesi più sham laser per 100 settimane. La procedura laser viene eseguita secondo il protocollo ETDRS modificato.

Lo spessore retinico medio era di 610,20 µm.

Il cambio di BCVA media a 12 mesi di terapia (week 52) era pari a 12,5 per il gruppo trattato 2 mg ogni 4 settimane, 10,7 per il gruppo trattato 2 mg ogni 8 settimane. Il gruppo laser di controllo attivo 0,2.

I controlli a 24 mesi (week 100) invece hanno portato al gruppo 2 mg ogni 4 settimane un incremento di 11,5, mentre al gruppo 2 mg ogni 8 settimane di 11,1, al gruppo laser 0,9 (p<0,0001).

Tutti i pazienti nei bracci di trattamento sperimentali hanno incrementato la BCVA, e la riduzione media dello CRT è stata pari a 363,4 µm.

Infine gli eventi avversi sono stati sovrapponibili in tutti i gruppi dal baseline alla settimana 100.

Concludendo si può affermare che Aflibercept provvede a un significativo miglioramento funzionale e anatomico nei pazienti affetti da EMD, prediligendo quindi il regime iniettivo ogni 8 settimane (tavola 3).

Di questi 5 occhi, dopo la settimana 100, 5 hanno avuto recrudescenza dell'edema evidenziabile con gli esami strumentali.

Dopo il trattamento, tutti e 5 gli occhi raggiungevano il primary outcome alla settimana 4, al mese 2, al mese 3. Al mese 6 solo un occhio lo raggiungeva.

Di nuovo tutti e 5 i pazienti hanno subito ulteriore 2 trattamenti laser con risultati sovrapponibili al primo trattamento.

Nessun evento avverso.

Concludendo, in questa serie di pazienti, il laser giallo micropulsato si è dimostrato efficace e sicuro anche nei successivi ritrattamenti. Si ritiene comunque che un buon compenso glico - metabolico sia fondamentale nell'ottenimento del risultato clinico.

Quindici pazienti (15 occhi) sono stati inclusi nello studio riguardante l'efficacia e la sicurezza del trattamento con laser giallo micropulsato sotto soglia in pazienti affetti da edema maculare secondario a corioretinite sierosa centrale non risolto da almeno 3 mesi: 11 di sesso maschile (%) e 4 di sesso femminile (%). L'età mediana è di 36.4 anni. Il follow up è stato a 4 settimane, a 2 mesi, a 3 mesi e a 6 mesi. La BCVA media al base line era 42. Lo spessore retinico centrale medio è di 389,6  $\mu\text{m}$ .

I pazienti hanno ricevuto dei trattamenti customizzati: la potenza di titolazione, che è la potenza che da una reazione appena visibile su retina non edematosa a circa due diametri di disco ottico dal centro della fovea, è stata stimata, a partire da 50 mW in onda continua e quindi aumentando gradualmente la potenza mediante incrementi di 10 mW. Dopo di che il sistema laser veniva switchato in modalità micropulsato e la potenza di trattamento era il triplo della potenza di titolazione. Lo spot era di 200  $\mu\text{m}$  di diametro, la durata di 200 ms e la durata del microimpulso di 0,2 ms (10% duty cycle) per una griglia di 7 x 7.

Il cambio di BCVA media è stato di 15 al 6 mese (tavola 4).

La riduzione media dello spessore retinico centrale è stata di 130 µm al 6 mese (tavola5).

Nessun evento avverso.

Concludendo si può affermare che il trattamento con laser giallo micropulsato è efficace nel ridurre lo spessore retinico centrale in pazienti con edema secondario a corioretinopatia sierosa centrale e contestualmente provvede ad un significativo aumento dell'acuità visiva.

### **VIII.3. DISCUSSIONE**

Il peso sociale, inteso come costi medici diretti e indiretti, della degenerazione maculare legata all'età, dell'occlusione venosa retinica, dell'edema maculare diabetico e dell'edema maculare nella corioretinopatia sierosa centrale, hanno spinto la ricerca allo sviluppo di nuove molecole e di nuove metodiche laser per la cura di queste patologie cercando di migliorare la prognosi *quod valetudinem* dei pazienti colpiti da queste affezioni.

Il VEGF è una proteina normalmente presente in natura, nel corpo, e ha il compito di innescare la formazione di nuovi vasi sanguigni che supportano la crescita dei tessuti del corpo e degli organi.

Tuttavia, in alcune malattie, è anche associato alla crescita di nuovi vasi sanguigni anomali nell'occhio, vasi che presentano un anomalo aumento della permeabilità che porta successivamente a edema e a cicatrici con il risultato finale di perdita della visione centrale.

Aflibercept, noto in letteratura scientifica come VEGF Trap - Eye (EYLEA®), è una proteina di fusione ricombinante, costituita da porzioni di domini extracellulari di recettori di VEGF umano di tipo 1 e 2 fusi alla porzione Fc di IgG1 umana, prodotta in cellule ovariche di criceto cinese K1 mediante tecnologia del DNA ricombinante, e formulato come soluzione iso osmotica per la somministrazione intravitreale.

Aflibercept agisce come recettore solubile che si lega al VEGF – A e al fattore di crescita placentare (PlGF) andando così a inibire il legame e l'attivazione di questi recettori.

Il fattore di crescita endoteliale vascolare A (VEGF-A) e il fattore di crescita placentare (PlGF) appartengono alla famiglia VEGF dei fattori angiogenici che possono agire come potenti fattori mitogeni, chemiotattici e di permeabilità vascolare per le cellule endoteliali. Il VEGF agisce attraverso due recettori a tirosina chinasi, VEGFR-1 e VEGFR-2, presenti sulla superficie delle cellule endoteliali. PlGF si lega solo a VEGFR-1, che è anche presente sulla superficie dei leucociti. L'attivazione eccessiva di questi recettori da parte di VEGF-A può determinare una neovascolarizzazione patologica e un'eccessiva permeabilità vascolare. PlGF può agire in sinergia con VEGF-A in questi processi ed è noto che promuova anche l'infiltrazione leucocitaria e l'infiammazione vascolare.

La grande potenza biologica di queste molecole inibitori del VEGF ha trovato spazio in oftalmologia, in primi lavori pionieristici sull'inibizione del VEGF nell'occlusione venosa retinica e nella terapia della neovascolarizzazione coroideale secondaria alla degenerazione maculare legata all'età.

Anche l'universo parallelo delle neovascolarizzazioni coroideali secondarie a flogosi uveale, che costituisce un grande capitolo delle patologie infiammatorie oculari, vede nell'anti vegf un caparbio nemico.

L'efficacia di Aflibercept nel trattamento delle neovascolarizzazioni coroideali in AMD, nell'edema post OVCR e in EMD invece, ha una storia relativamente recente: infatti, nella letteratura medica si iniziano a identificare i primi lavori che hanno mostrato preliminari evidenze di grandi potenzialità della molecola a tale applicazione a partire dal 2010.

Come per il Bevacizumab, la storia dell'Aflibercept vede le proprie origini nell'oncologia come inibitore del VEGF in neoplasie come quelle dell'apparato urogenitale e quelle dell'intestino.

Nella nostra casistica sono stati trattati casi altamente selezionati con severi criteri di inclusione ed esclusione.

Nella nostra serie di pazienti, dal 2008 a oggi, l'efficacia di Aflibercept si è rivelata soddisfacente in tutti i casi sottoposti a tale metodica ( $p < 0,0001$ ), con il raggiungimento degli endpoints primari prefissateci a monte dello studio.

In tutte le fasi di osservazione si sono evidenziati miglioramenti della BCVA ( $p < 0,005$ ), una riduzione dello spessore retinico ( $p < 0,0001$ ) e una riduzione/stabilità della neovascolarizzazione coroideale che veniva soddisfatta nella totalità dei pazienti presi in considerazione.

La concordanza di questi parametri è di grande importanza nella gestione dei pazienti: infatti, minori dimensioni della neovascolarizzazione coroideale significano scotoma di piccola entità, equivalente, quindi, a migliori chance di avere un *visus* più soddisfacente, così come la riduzione dello spessore retinico.

Questo ottimo profilo di efficacia del farmaco si associa ad un profilo di sicurezza ottimale: nessuno dei nostri pazienti ( $p < 0,0001$ ) ha mostrato effetti indesiderati gravi correlati alla somministrazione del principio attivo in studio, sia sistemici sia locali, e ciò si sposa con quanto precedentemente pubblicato in letteratura.

I pazienti considerati nella nostra serie sono stati trattati con un numero mediano di 9 iniezioni all'anno (min: 6 - max: 12).

Sulla base delle nostre osservazioni, suggeriremmo di utilizzare la terapia iniettiva in corso di AMD con un'iniezione di 2 mg al mese per i primi tre mesi, seguite da un'iniezione ogni due mesi. Dopo i primi 12 mesi di terapia, l'intervallo tra un trattamento e l'altro può essere prolungato in base ai risultati visivi e anatomici raccolti nelle varie visite di follow up, passando così a un regime *pro re nata*.

In caso di OVCR invece suggeriremo un'iniezione di 2 mg con cadenza mensile fino a quando gli esiti visivi ad anatomici risultino stabili in tre esami di controllo mensili, dopodiché la necessità di continuare il trattamento deve essere riconsiderata. Se, invece, dopo le prime tre iniezioni non ci sia miglioramento visivo e anatomico, non è raccomandata la prosecuzione di terapia.

Per quanto concerne la posologia nei casi di EMD consigliamo 2 mg ogni 8 settimane, precedute da una dose di carico di 5 iniezioni mensili per i primi cinque mesi.

Risulta molto importante, in quest'ultima serie di pazienti, la stretta collaborazione con il medico endocrinologo specialista in diabetologia al fine di ottenere il miglior controllo glicemico possibile onde evitare le continue fluttuazione della glicemia che sono tanto dannose per i fini capillari presenti a livello retinico.

Da questa esperienza con la nuova tecnologia del laser giallo micropulsato, possiamo affermare che questo laser controlla con precisione gli effetti termici di fotocoagulazione, deleteri nei tradizionali Argon – laser, in modo da non danneggiare il tessuto retinico e può essere ripetuto in tutta sicurezza.

Ricordiamo come non vi sia alcun effetto visibile sul tessuto sia durante sia dopo il trattamento: questo vantaggio presenta tuttavia uno svantaggio nella curva di apprendimento dello strumento poiché si tende, non vedendo il classico sbancamento retinico, ad una sotto foto stimolazione con notevole riduzione degli effetti benefici di questo laser, sia a livello dell'EPR dove stimola la sua attività di pompa, sia a livello fotorecettoriale dove foto stimola le cellule ancora funzionanti.

Il laser giallo micropulsato provoca la stimolazione di una reazione biologica che ripristina la normale funzione di pompa delle cellule dell'EPR con conseguente maggiore e rapido assorbimento del fluido sottoretinico. Il laser giallo è ideale per le malattie in cui la patologia primaria è localizzata sull'EPR. Infatti tale lunghezza d'onda è altamente selettiva per queste cellule ed è scarsamente assorbita dai pigmenti xantofillici della fovea, proteggendo questa struttura da eventuali insulti termici. Poiché la lunghezza d'onda del giallo è meglio assorbita dall'EPR e dall'emoglobina, può penetrare le cellule dell'epitelio in maniera ottimale per ottenere un effetto simile con meno potenza. Questo spiegherebbe la bassa potenza utilizzata rispetto a vecchi studi clinici che utilizzavano lunghezza d'onda di 810  $\mu\text{m}$  del laser a diodi.

Consigliamo pertanto una maggior fiducia in questa tecnologia al fine di slatentizzare tutti i benefici che questa può portare a livello maculare.

Sottolineiamo come si renda necessaria una più ampia casistica sia come numero che come tempo di follow up per valutare al meglio le potenzialità di questa metodica soprattutto nel valutarne la capacità di ridurre le recidive.

## BIBLIOGRAFIA

- <sup>1</sup> Irvine SR. A newly defined syndrome following cataract surgery, interpreted according to recent concept of the structure of the vitreous. *Am J Ophthalmol.* 1953;36:599-619
- <sup>2</sup> Gass JDM. *Stereoscopic atlas of macular diseases: Diagnosis and treatment*, 3rd edn. St. Louis: CV Mosby; 1987:333-453
- <sup>3</sup> Carter J, Barron BA, McDonald MB. Cystoid macular edema following cornea-relaxing incision. *Arch Ophthalmol.* 1987;105:70-2
- <sup>4</sup> Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group. Photocoagulation for diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol.* 1985;103:1796-806
- <sup>5</sup> McDonald HR, Schatz H. Macular edema following panretinal photocoagulation. *Retina.* 1985; 5:5-10
- <sup>6</sup> Kanski JJ. *Clinical Ophthalmology*, 2nd edn. London: Butterworths; 1989:300-37
- <sup>7</sup> Branch Vein Occlusion Study Group. Argon laser photocoagulation for macular edema in branch vein occlusion. *Am J Ophthalmol.* 1984;98:271-82
- <sup>8</sup> Central Vein Occlusion Study Group. Evaluation of grid pattern photocoagulation for macular edema in central vein occlusion. *Ophthalmology.* 1994;102:1425-33
- <sup>9</sup> Nussenblatt RB, Kaufman SC, Palestine AG, et al. Macular thickening and visual acuity: measurement in patient with cystoids macular edema. *Ophthalmology.* 1987;94:1134-9.
- <sup>10</sup> Hee MR, Puliafito CA, Wong C, et al. Quantitative assessment of macular edema with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol.* 1995;113:1019-29
- <sup>11</sup> Hendrickson AE, Youdelis C. The morphological development of the human fovea. *Arch. Ophthalmol.* 1969;82:151-9

- <sup>12</sup> Rochon-Duvigneaud A. Recherches sur la fovea de la retine humanine et particulièrement sur le bouquet des cones centraux. Arch Anat Micros. 1907;9:315-42
- <sup>13</sup> Krebs W, Krebs I. Quantitative morphology of the central fovea in the primate retina. Am J Anat. 1989;184:225-36
- <sup>14</sup> Yamada E. Some structural features of the fovea central in the human retina. Arch Ophthalmol. 1969;82:151-9
- <sup>15</sup> Hogan MJ, Alvarado JA, Wedell JE. Histology of the human eye. Philadelphia: Saunders: 1971:491-8
- <sup>16</sup> Streeten B: Discussion of Tso MOM: Pathology of cystoids macular edema. Ophthalmology 89:902,1982.
- <sup>17</sup> Mutra JN, Cunha-Vaz JG, Sabo CA, et al: Microperfusion studies on the permeability of retinal vessel. Invest Ophthalmol. Vis Sci 31:471,1990
- <sup>18</sup> Schutz H, Burton T, Yanuzzi L, Rabb M. Interpretazione fluorangiografica del fondo oculare. A cura di G. Carella. Ed. Medical Book, Palermo, 1984
- <sup>19</sup> Giovannini A, Tittarelli R. L'angiografia al verde di indicianina. Monografie della Società Oftalmologica Italiana. Ed. I.N.C. 1994
- <sup>20</sup> Glaser BM, Campochiaro PA, et al. Retinal pigment epithelial cells release inhibitors of neovascularization. Ophthalmology 1987;94:780-784
- <sup>21</sup> Puliafito CA, Hee MR, Schuman JS, Fujimoto JG: Optical Coherence Tomography of Ocular Disease. Slack Incorporated, Thorofare, NJ, 1996
- <sup>22</sup> Hassenstein A, Bialasiewicz AA, Richard G. Optical coherence tomography in uveitis patients. Am J Ophthalmology. 2000 Nov;130(5):669-670
- <sup>23</sup> Fukuci T, Takashi K, Ida H, Sho K, Matsumura M. Staging of idiopathic choroidal neovascularization by OCT. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2001;239(6):424-429
- <sup>24</sup> Spraul CW, Lang GE, Grossniklaus HE, Lang KL. Histologic and morphometric analysis of the choroid, Bruch's membrane, and retinal pigment epithelium in postmortem eyes with age-related macular degeneration and

histologic examination of surgically excised choroidal neovascular membranes. *Surv Ophthalmol.* (Suppl 1) 1999;44:S10-S32

<sup>25</sup> Gass JDM. Biomicroscopic and histopathology consideration regarding the feasibility of surgical excision of subfoveal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol.* 1994; 118:285-298

<sup>26</sup> Spraul CW, Grossniklaus HE. Characteristic of drusen and Bruch's membrane in postmortem eyes with age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol.* 1997; 115: 267-273

<sup>27</sup> Grossniklaus HE, Green WR. Histopathologic and ultrastructural findings of surgically excised choroidal neovascularization. *Arch Ophthalmol.* 1998; 116:745-749

<sup>28</sup> Grossniklaus HE, Cingle KA, Yoon YD, et al. Correlation of histologic 2-dimensional reconstruction and confocal scanning laser microscopic imaging of choroidal neovascularization in eyes with age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol* 2000; 118:625-629

<sup>29</sup> Grossniklaus HE, Hutchinson AK, Capone A, et al. Clinicopathologic features of surgically excised choroidal neovascular membranes. *Ophthalmology* 1994;101:1099-1111

<sup>30</sup> Bird AC. What is the future of research in age related macular disease? *Arch Ophthalmol* 1997; 115:1311-1313

<sup>31</sup> Leibowitz H, Krueger DH, Ma under LR, et al. The Framingham eye study monograph: an ophthalmological study on cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975 *Surv Ophthalmol* 1980; 24 (Suppl):335-610

<sup>32</sup> Cohen SY, La roche A, Leguen Y, Soubrane G, Coscas GJ. Etiology of choroidal neovascularization in young patients. *Ophthalmol* 1996; 103:1241-1244

<sup>33</sup> Klein ML, Lorizzo PA, Watze RC. Growth features of choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration, *Ophthalmology* 1989; 96:1416-1421

- <sup>34</sup> Green WR. The uveal tract. In: Spencer WH, ed. *Ophthalmic Pathology; An Atlas and Textbook*. Philadelphia: WB Saunders, 1996: 1513-1521
- <sup>35</sup> Holloway TB, Verhoeff FH. Disk-like degeneration of the macula with microscopic report concerning a tumor-like mass in the macular region. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1928; 26:206-228
- <sup>36</sup> Verhoeff FH. Histological findings in a case of angioid streaks. *Br J Ophthalmol* 1948; 32:531-544
- <sup>37</sup> Ashton N, Sorsby A. Fundus dystrophy with unusual features: a histological study. *Br J Ophthalmol* 1951; 35:751-764
- <sup>38</sup> Gass JDM. Pathogenesis of disciform detachment of the neuroepithelium. III. Senile disciform macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 1967; 63:617-644
- <sup>39</sup> Sarks SH. New vessel formation beneath the retinal pigment epithelium in senile eyes. *Br J Ophthalmol* 1973; 57:951-965
- <sup>40</sup> Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implication. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186
- <sup>41</sup> Penfold P, Killingsworth M, Sarks SH. An ultrastructural study of the role of leucocytes and fibroblasts in the breakdown of Bruch's membrane. *Aust NZ J Ophthalmol* 1984; 12:23-31
- <sup>42</sup> Amin R, Pulkin JE, Frank RN. Growth factor localization in choroidal neovascular membranes of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3178-3188
- <sup>43</sup> Tobe T, Ortega S, Luna L, Ozaki H, Okamoto N, Derevjani NL, Viores SA, Basilico C, Campochiaro PA. Targeted disruption of the FGF2 gene does not prevent choroidal neovascularization in a murine model. *Am J Pathol* 1998; 153:1641-1646
- <sup>44</sup> Heriot WJ, Henkind P, Belhorn RW, Burns MS. Choroidal neovascularization can digest Bruch's membrane; a prior break is not essential. *Ophthalmol* 1981;91:297-311
- <sup>45</sup> Brooks PC, Clark RA, Cheresh DA. Requirement of vascular integrin alpha v integrins beta 3 for angiogenesis

- <sup>46</sup> Folkman J. *Curr Mol Med*. 2003;3(7):643-51
- <sup>47</sup> D'Amore P. *Inv Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35:3974-3979
- <sup>48</sup> Michaelson IC. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1948;68:137-180
- <sup>49</sup> Ferrara N. *Endocr Rev*. 2004;25:581-611
- <sup>50</sup> Aiello L.P. *Curr Opin Ophthalmol*. 1997;8:19-31
- <sup>51</sup> Rath EZ, Frank RN, Shin DH, Kim C. Risk factors for retinal vein occlusions. A case – control study. *Ophthalmology*. 1992;99:509-14
- <sup>52</sup> Glacet-Bernard A., Chabanel A, Lelong F, Samama MM, Coscas G. Elevated erythrocyte aggregation in patients with central vein occlusion and without conventional risk factors. *Ophthalmology*. 1994;101:1483-7.
- <sup>53</sup> The Central Vein Occlusion Study Group. Evaluation of grid pattern photocoagulation for macular edema in central vein occlusion: The Central Vein Occlusion Study Group M Report. *Ophthalmology* 1995;102:1425-33
- <sup>54</sup> Waite JH, Beetham WP: the visual mechanism in diabetes mellitus: a comparative study of 2002 diabetics and 457 non-diabetics for control. *N Engl J Med* 212:367-379,429-443. 1935
- <sup>55</sup> Diabetic Retinopathy Study Report Number 14: Indication for photocoagulation treatment of diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol Clin* 27:239-253,1987.
- <sup>56</sup> Early Treatment Diabetic Study Report Number 19: Focal photocoagulation treatment of diabetic macular edema: relationship of treatment effect to fluorescein angiographic and other retinal characteristics at baseline. *Arch Ophthalmol* 113:1144-1155, 1995
- <sup>57</sup> Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Report Number 5: Early vitrectomy for severe vitreous hemorrhage in diabetic retinopathy. Four – years result of a randomized trial. *Arch Ophthalmol* 108:958-964, 1990
- <sup>58</sup> DCCT Result Group: Progression of retinopathy with intensive versus conventional treatment in the Diabetes Control and Complication Trial. *Ophthalmology* 102:647-661,1995

- <sup>59</sup> Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report N. 12: Fundus photographic risk factor for progression of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 98:823-833,1991.
- <sup>60</sup> Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Treatment techniques and clinical guidelines for photocoagulation and diabetic macular edema. ETDRS Report no.2. *Ophthalmology* 1987; 94:761-764.
- <sup>61</sup> Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Early Photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS Report No. 9. *Ophthalmology* 1991; 98:Supp:776-779.
- <sup>62</sup> Abu El-Azrar A, Morse PH. Laser photocoagulation control of diabetic macular edema without fluorescein angiography. *Br J Ophthalmol* 1991;75:97-100.
- <sup>63</sup> Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Focal photocoagulation treatment of diabetic macular edema. Relationship of treatment effect to fluorescein angiographic and other retinal characteristics at baseline. ETDRS Report No. 19. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1144-1150.
- <sup>64</sup> Bandello F, Lanzetta P, Menchini U. When and how to do a grid laser for diabetic macular edema. *Doc Ophthalmol* 1999;97:415-417.
- <sup>65</sup> Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Techniques for scatter and local photocoagulation treatment of diabetic retinopathy. *Int Ophthalmol Clin* 1987;27:254-258.
- <sup>66</sup> Lee CM, Olk RJ. Modified grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema: long term visual result. *Ophthalmology* 1991;98:1594-1599.
- <sup>67</sup> Lewis H, Schachat AP, Haimann MH, et al. Choroidal neovascularization after laser photocoagulation for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 1990;97:503-508.
- <sup>68</sup> Schatz H, Madeira D, McDonald R, et al. Progressive enlargement of laser scar following grid laser photocoagulation for diffuse macula edema. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1549-1553.

- <sup>69</sup> Han DP, Mieler WF, Burton TC. Submacular fibrosis after photocoagulation for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 1992;113:513-517.
- <sup>70</sup> Guyer DR, D'Amico DJ, Smith CW. Subretinal fibrosis after laser photocoagulation for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 1992;113:652-654.
- <sup>71</sup> Fong DS, Segal PP, Myers FL, et al. Subretinal fibrosis in diabetic macular edema. ETDRS Report No. 23. *Arch Ophthalmol* 1997;115:873-876.
- <sup>72</sup> Zhao C, Zhang M, Gao F, Dong F. Surgical treatment of subretinal fibrosis caused macular detachment in Vogt – Koyanagi – Harada disease : A pioneer study. *Ocul Immunol Inflamm.* 2016 Aug 5; 1 - 6
- <sup>73</sup> Hench PS, Kendall EC, Slocomb CH, et al. Effects of cortisone acetate and pituitary ACTH on rheumatoid arthritis, rheumatic fever, and certain other conditions. Study in clinical physiology. *Arch Inter Med* 1950;85:545-666
- <sup>74</sup> Massin P, Andren F, Haouchine B, Erginay A, Bergmann JF, Benosman R, Caulin C, Gaudric A. Intravitreal triamcinolone acetonide for diffuse macular edema. *Ophthalmology* 2004; 111: 218-25
- <sup>75</sup> Martidis A, Duker JS, Greenberg PB, Rogers AH, Puliafito CA, Reichel E, Bauman C. Intravitreal triamcinolone for refractory diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2002 May;109(5):920-7
- <sup>76</sup> Jonas JB, Kreissig I, Sofker A, Degenring RF. Intravitreal injection of triamcinolone for diffuse diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol.* 2003 Jan;121(1):57-61
- <sup>77</sup> Park CH, Jaffe GJ, Fekrat S. Intravitreal triamcinolone acetonide in eyes with cystoid macular edema associated with central retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol.* 2003 Sep;136(3):419-25
- <sup>78</sup> Gillies MC, Simpson JM, Luo W, Penfold P, Hunyor AB, Chua W, Mitchell P, Billson F. A randomized clinical trial of a single dose of intravitreal triamcinolone acetonide for neovascular age-related macular degeneration: one-year results. *Arch Ophthalmol.* 2003 May;121(5):667-73

- <sup>79</sup> Jonas JB, Akkoyun I, Budde WM, Kreissig I, Degenring RF. Intravitreal reinjection of triamcinolone for exudative age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 2004 Feb;122(2):218-22
- <sup>80</sup> Spaide RF, Sorenson J, Maranan L. Combined photodynamic therapy with verteporfin and intravitreal triamcinolone acetonide for choroidal neovascularization. *Ophthalmology*. 2003 Aug;110(8):1517-25
- <sup>81</sup> Jonas JB, Kreissig I, Degenring R. Intraocular pressure after intravitreal injection of triamcinolone acetonide. *Br J Ophthalmol*. 2003 Jan;87(4):462-468
- <sup>82</sup> Haller JA, Bandello F, Belfort R Jr, Blumenkranz MS, Gillies M, Heier J, Loewenstein A, Yoon YH, Jacques ML, Jiao J, Li XY, Whitcup SM; OZURDEX GENEVA Study Group. Randomized, sham-controlled trial of dexamethasone intravitreal implant in patients with macular edema due to retinal vein occlusion. *Ophthalmology*. 2010 Jun;117(6):1134-1146
- <sup>83</sup> Dominik Zalewski, 1 ,\* Dorota Raczyńska, 2 and Krystyna Raczyńska 3 Five-Month Observation of Persistent Diabetic Macular Edema after Intravitreal Injection of Ozurdex Implant *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 364143.
- <sup>84</sup> Gragoudas ES, et al. Pegaptanib for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *N Engl J Med* 2004; 351; 27: 2805-16
- <sup>85</sup> Michels S, Rosenfeld PJ. Treatment of neovascular age-related macular degeneration with Ranibizumab/Lucentis *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2005 Jun;222(6):480-4
- <sup>86</sup> Rosenfeld PJ, Schwartz SD, Blumenkranz MS, Miller JW, Haller JA, Reimann JD, Greene WL, Shams N. Maximum tolerated dose of a humanized anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment for treating neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2005 Jun;112(6):1048-53
- <sup>87</sup> Rosenfeld PJ, Heier JS, Hantsbarger G, Shams N. Tolerability and efficacy of multiple escalating doses of ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2006 Apr;113(4):632.e1

- <sup>88</sup> Heier JS, Antoszyk AN, Pavan PR, Leff SR, Rosenfeld PJ, Ciulla TA, Dreyer RF, Gentile RC, Sy JP, Hantsbarger G, Shams N. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. *Ophthalmology*. 2006 Apr;113(4):642.e1-4. Epub 2006 Feb 14
- <sup>89</sup> Husain D, Kim I, Gauthier D, Lane AM, Tsilimbaris MK, Ezra E, Connolly EJ, Michaud N, Gragoudas ES, O'Neill CA, Beyer JC, Miller JW. Safety and efficacy of intravitreal injection of ranibizumab in combination with verteporfin PDT on experimental choroidal neovascularization in the monkey. *Arch Ophthalmol*. 2005 Apr;123(4):509-16
- <sup>90</sup> Nguyen QD, Shah S, Tatlipinar S, Do DV, Anden EV, Campochiaro PA. Bevacizumab suppresses choroidal neovascularisation caused by pathological myopia. *Br J Ophthalmol*. 2005 Oct;89(10):1368-70
- <sup>91</sup> Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335-2342
- <sup>92</sup> Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, et al. Humanization of an anti-VEGF monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 1997;57:4593-4599.
- <sup>93</sup> Ferrara N. VEGF and the quest for the tumour angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2002;2:795-803
- <sup>94</sup> Dvorak HF, Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor : a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002;20:4368-4380
- <sup>95</sup> Kurup S, Lew J, Byrnes G, Yeh S, Nussenblatt R, Levy-Clarke G. Therapeutic efficacy of intravitreal bevacizumab on posterior uveitis complicated by neovascularization. *Acta Ophthalmol*. 2008 May 28.

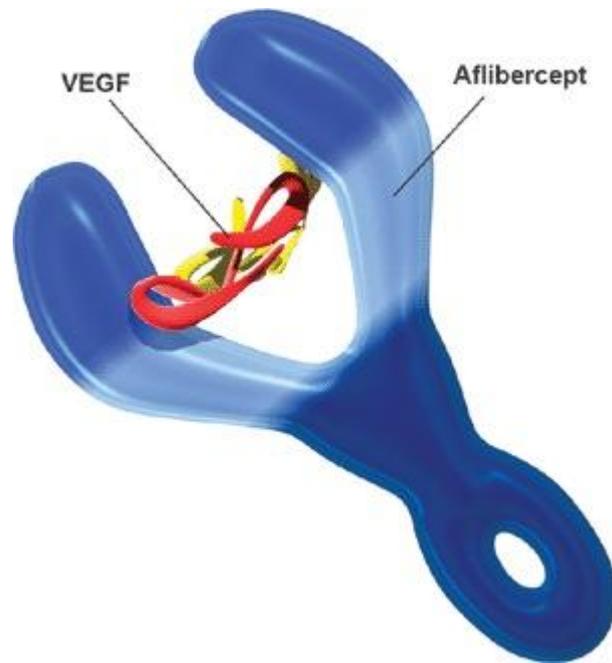
- <sup>96</sup> Michels S , Rosenfeld PJ, Pulifiato CA, et al. Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration: twelve week result of an uncontrolled open-label clinical study. *Ophthalmology* 2005;112:1035-1047
- <sup>97</sup> Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, Giust MJ. Intravitreal bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006; 113:363-372
- <sup>98</sup> Fernando NH, Hurwitz HI. Targeted therapy of colorectal cancer : clinical experience with Bevacizumab. *Oncologist* 2004;9(Suppl 1) :11-18
- <sup>99</sup> Benz MS, Murray TG, Dubovy SR, Kats RS, Eifrig CV. Endophthalmitis caused by *Mycobacterium chelonae* abscessus after intravitreal injection of triamcinolone. *Arch Ophthalmol* 2003;121 (2):271-273
- <sup>100</sup> Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M. Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006;26:257-261
- <sup>101</sup> Lavinsky D1, Cardillo JA, Melo LA Jr, Dare A, Farah ME, Belfort R Jr. Randomized clinical trial evaluating mETDRS versus normal or high-density micropulse photocoagulation for diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Jun 17;52(7):4314-23
- <sup>102</sup> *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 2008 May;225(5):380-4.
- <sup>103</sup> Eurich DT, Johnson JA, Reid KJ, Spertus JA. Assessing responsiveness of generic and specific health related of quality of life measures in heart failure. *Health Qual Life Outcomes*, 2006; 4: 89-103
- <sup>104</sup> Mangione CM, Berry S, Lee PP, et al. Identifying the content area for the National Eye Institute Vision Function Questionnaire (NEI-VFQ): Results from focus groups with visually impaired persons. *Arch Ophthalmol.* 1998;116:227-238.

## ALLEGATI

**TAVOLA 1**

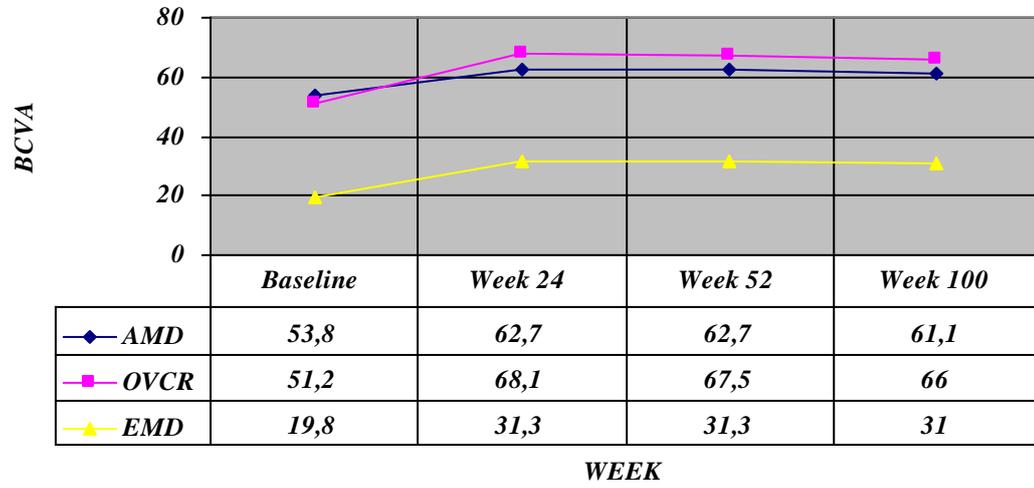
<i>Fattori endogeni angiogenici ed anti-angiogenici</i>	
<b>Pro-angiogenici</b>	<b>Anti-angiogenici</b>
VEGF	PEDF
FGF-1 e 2	TGF- $\beta$
angiopoietina-1	angiostatina
TGF- $\alpha$	endostatina
HGF	TSP-1
CTGF	TIMP
TNF- $\alpha$	
IL-8	
PIGF	

## TAVOLA 2

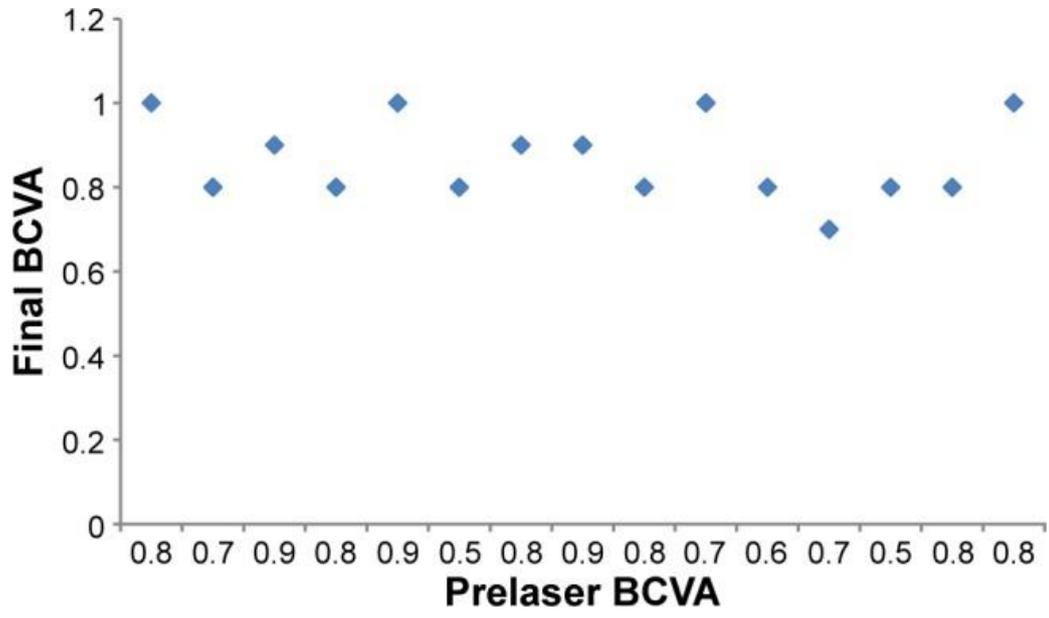


**L'anticorpo monoclonale anti-VEGF Bevacizumab**

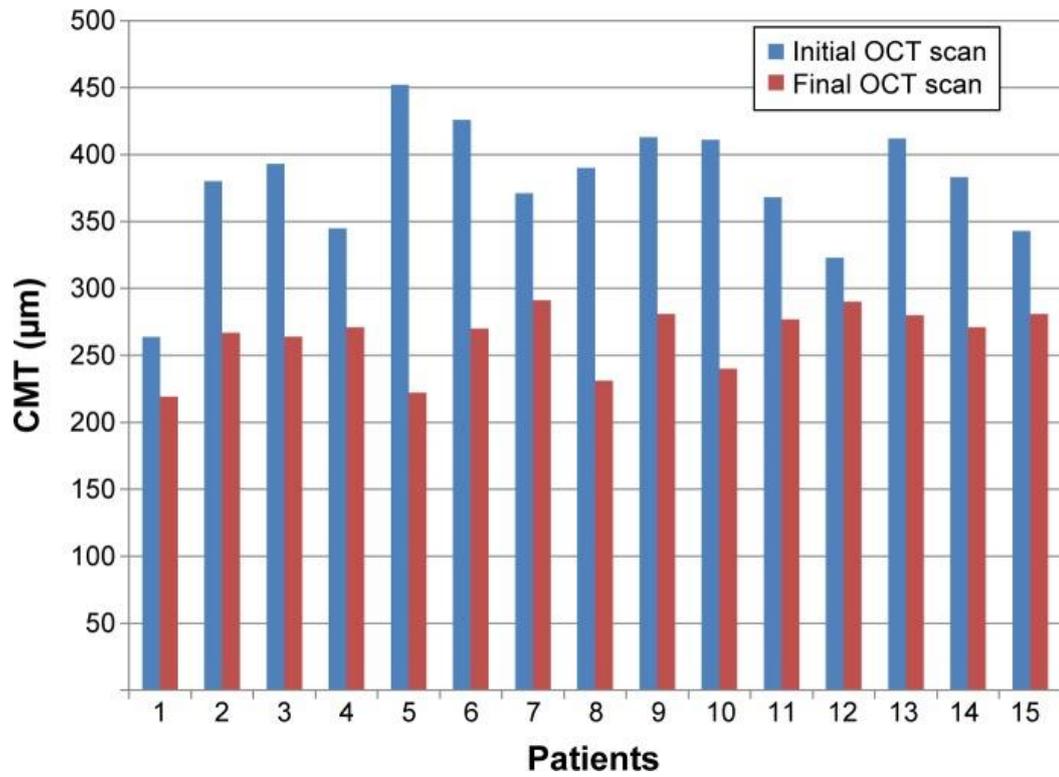
**TAVOLA 3**



**TAVOLA 4**

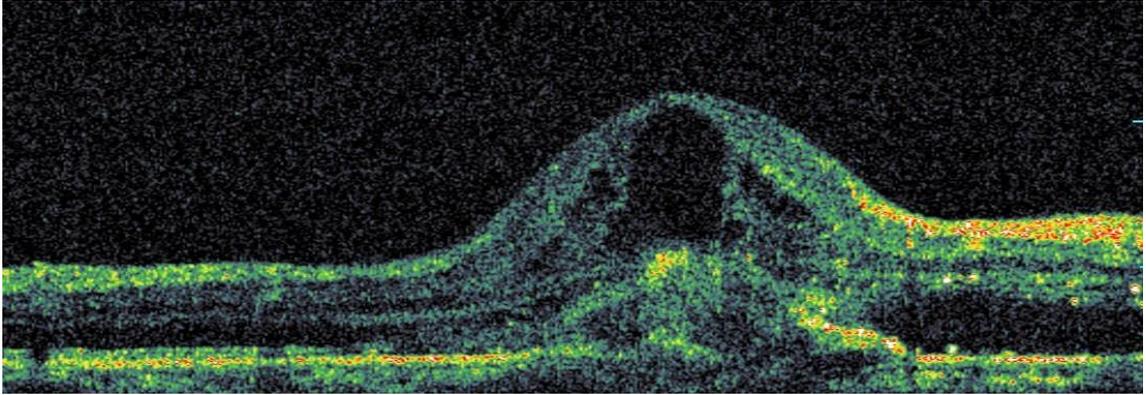


**TAVOLA 5**

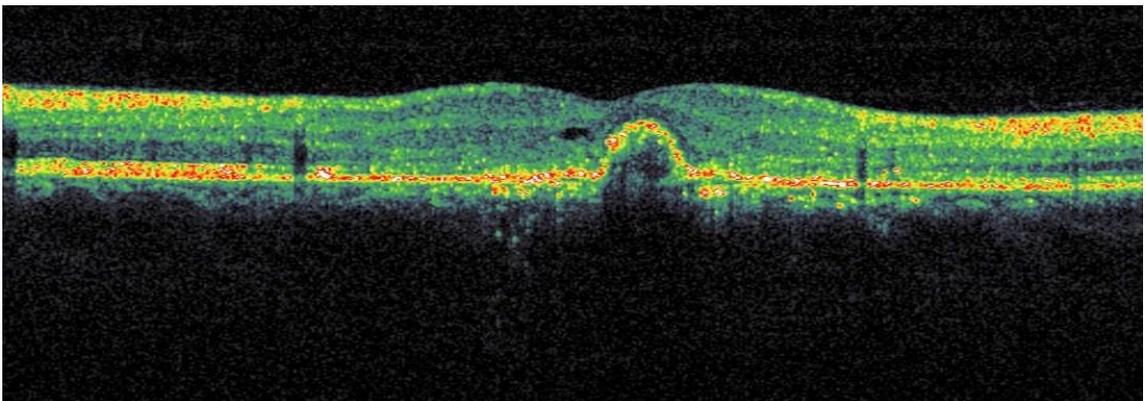


## TAVOLA 6

**Pre**

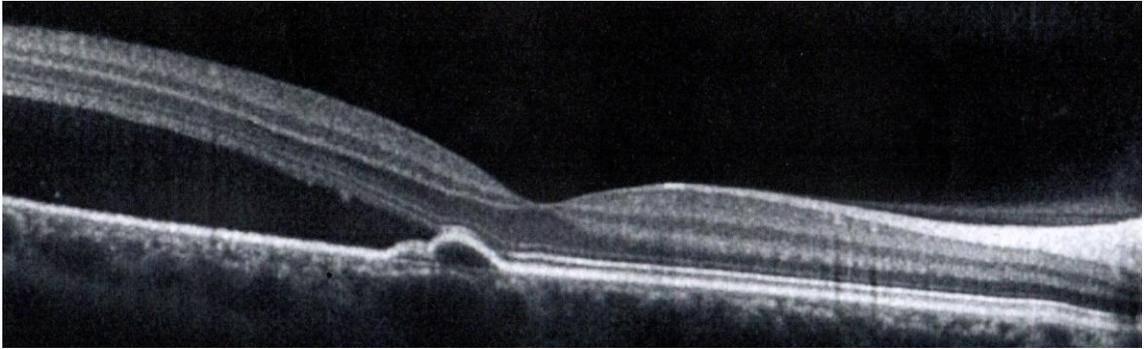


**Post**

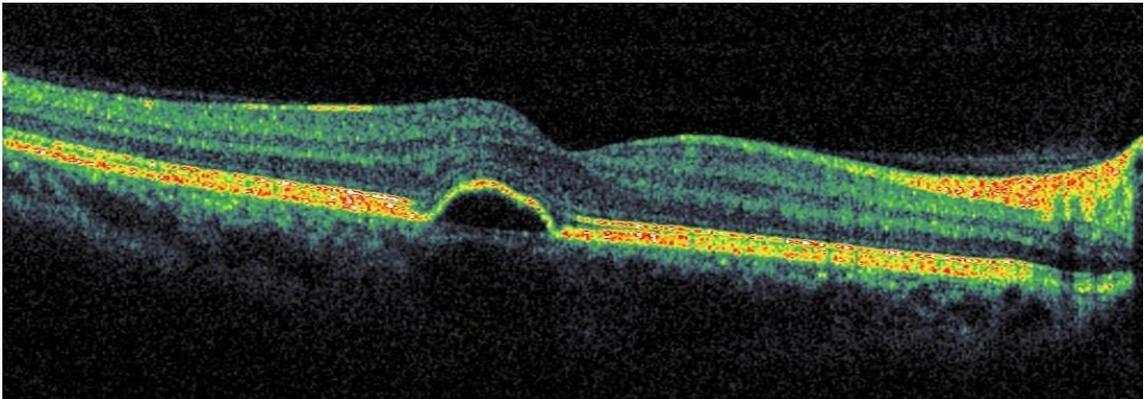


## TAVOLA 7

Pre

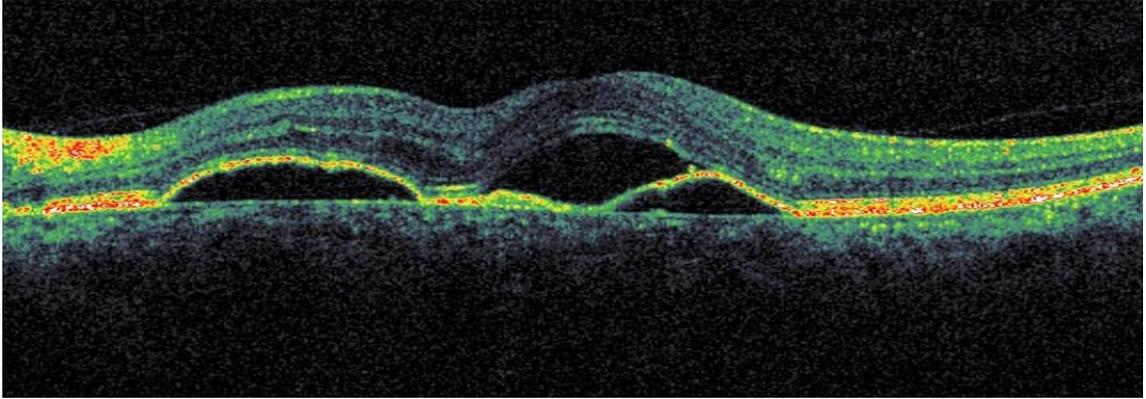


Post

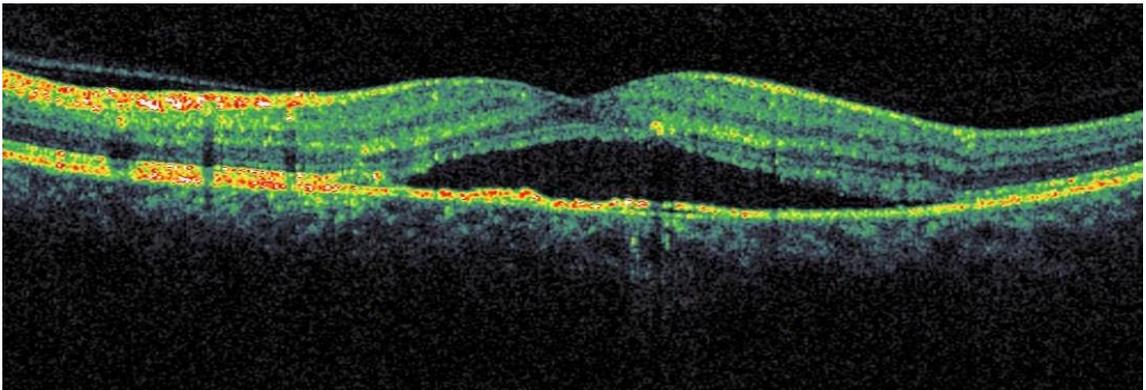


# TAVOLA 8

Pre

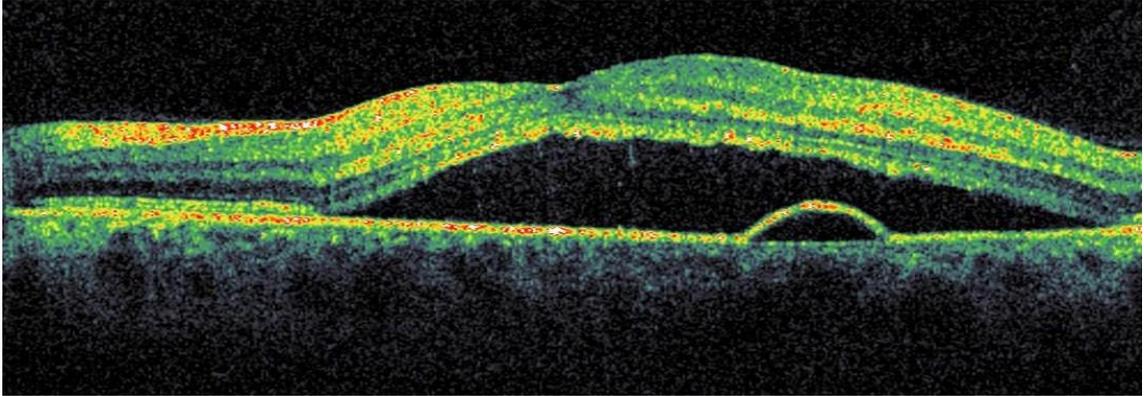


Post

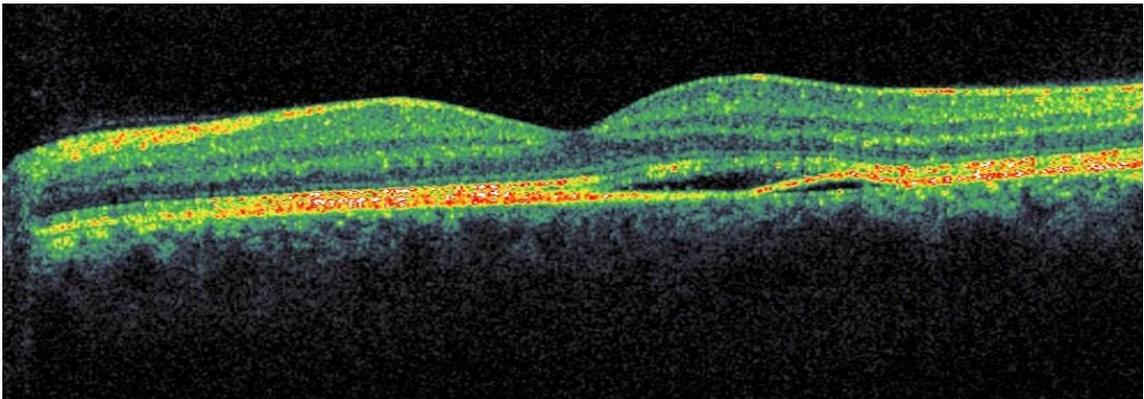


## TAVOLA 9

Pre

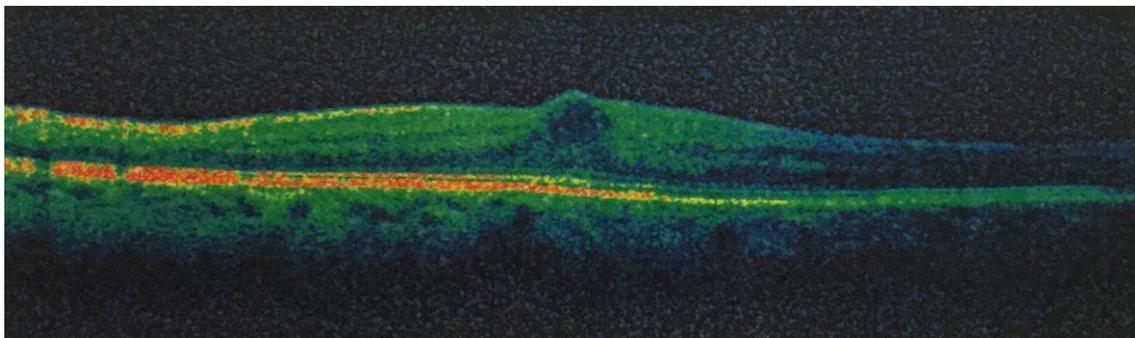


Post



## TAVOLA 10

**Pre**



**Post**

