

Terapia antiangiogénica ocular: experiencia clínica en México

Hugo Quiroz-Mercado,* Raúl Vélez-Montoya, Jans Fromow-Guerra, José Luis Guerrero-Naranjo,
Daniel Moreno-Páramo y Virgilio Morales-Cantón

Servicio de Retina, Asociación para Evitar la Ceguera en México IAP, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 22 de mayo de 2007

Aceptado: 31 de agosto de 2007

RESUMEN

La angiogénesis patológica retiniana es la causa principal de pérdida visual en una gran cantidad de enfermedades: degeneración macular relacionada a la edad, retinopatía diabética y retinopatía del prematuro, entre otras. Estas últimas dos son, además, problemas de salud pública en los países en desarrollo. Estudios recientes sobre la fisiopatología de estas enfermedades han demostrado el papel fundamental que los factores de crecimiento tienen sobre la angiogénesis. La terapia antiangiogénica ocular nació como un esfuerzo de inhibir la acción de estos factores sobre la angiogénesis patológica y preservar la visión. El objetivo de esta revisión es hacer un recuento de la experiencia en México en cuanto a esta modalidad terapéutica.

Palabras clave:

Angiogénesis, terapia antiangiogénica, factor de crecimiento endotelial vascular

SUMMARY

Retinal pathological angiogenesis is the leading cause of visual loss in a wide variety of ocular diseases. Some of the examples include: Age-related macular degeneration, diabetic retinopathy and retinopathy associated with prematurity. These last two entities are, in addition, public health problems in developing countries. Recent physiopathological studies, have demonstrated that growth factors play a key role on angiogenesis. Anti-angiogenic therapy came about as an attempt to inhibit the action of growth factors over the process of pathological angiogenesis in order to preserve vision. The objective of this review is to describe Mexico's experience using this therapeutic approach.

Key words:

Angiogenesis, anti-angiogenic therapy, vascular endothelial growth factor

¿Qué es la angiogénesis?

El inicio de la vascularización de la retina comienza alrededor de la semana 14 de gestación. Los avances en el conocimiento de los fenómenos oculares asociados a la vascularización de la retina han permitido identificar dos fases:

- En la primera, células precursoras de origen mesenquimatoso¹ entran a la retina a través del nervio óptico. Estas células son las responsables de la formación de los vasos retinianos principales. Su crecimiento sigue una trayectoria centrípeta, es decir, del nervio óptico hacia la periferia, alcanzando el borde la retina nasal entre la semana 32 a la 36 de gestación y el borde temporal al momento del nacimiento.^{2,3} A esta etapa se le denomina *vasculogénesis*.
- En la segunda fase comienza la formación de capilares a partir de los vasos previamente formados, que se

denomina *angiogénesis*.² La cantidad de capilares aumenta y se forma la vasculatura periférica retiniana.³ Para que se pueda llevar a cabo esta fase es necesaria la estimulación, proliferación y migración de células endoteliales, el rompimiento proteolítico de la membrana basal endotelial, la degradación de la matriz extracelular adyacente, el reclutamiento de células de soporte (pericitos) y, por último, el cierre del circuito vascular.⁴

La vasculatura retiniana tiene tres características que la diferencian del resto de la vasculatura del cuerpo humano:

1. Tiene una estructura laminar, es decir, que se encuentra localizada a nivel de una capa específica del tejido (nuclear, plexiforme y capa de fibras nerviosas).
2. Las láminas vasculares se encuentran distribuidas de una manera desigual. Las capas más internas se extienden del nervio óptico hasta la ora serrata, mientras que las más externas apenas llegan hasta la media periferia de la retina.

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Hugo Quiroz-Mercado. Hospital "Vicente García Torres" 43, Col. San Lucas Coyoacán, 04030 México D.F., México. Tel.: (55) 1084 1400, extensión 117. Fax: (55) 5659 5928. Correo electrónico: hugoquiroz@yahoo.com

3. No cubre toda la superficie que irriga. Hay partes de la retina que permanecen avasculares durante toda la vida, como la capa de fotorreceptores, la región foveolar avascular, cerca de la ora serrata y el área alrededor de los propios vasos sanguíneos.²

Los factores de crecimiento son sustancias que promueven la formación de vasos en la retina.² Al ser secretados por sus células productoras, tienen una actividad autocrina, paracrina y endocrina.⁴ Existen varios identificados hasta la fecha, algunos de los cuales tienen el papel de ser reguladores en la vascularización de la retina, tanto en condiciones normales como patológicas. Unos fomentan la formación de vasos y otros la inhiben. Entre aquellos que fomentan la formación de vasos podemos mencionar el factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico, la angiogénina, el interferón, el factor de necrosis tumoral alfa, el factor de crecimiento similar a la insulina⁵ y el factor de crecimiento derivado de plaquetas.^{1,5,6} Los que inhiben la vascularización son el factor de crecimiento transformador beta,² el interferón alfa, la trombospondina, la angiostatina, la endostatina y el factor derivado del epitelio pigmentado de la retina.⁶

Otras moléculas descritas recientemente como probables protagonistas en la vascularización de la retina son las integrinas y las proteínas secretadas ácidas de contenido alto en cisteína, ya que al participar en la modulación de la interacción entre los vasos sanguíneos y la matriz extracelular podrían influir en los mecanismos de la angiogénesis.²

El factor de crecimiento más estudiado hasta la fecha, por el papel primordial que tiene en la génesis de enfermedades neovasculares en el cuerpo, es el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), glucoproteína dimérica que en condiciones de hipoxia es secretada por los pericitos, las células del epitelio pigmentado de la retina y por las células gliales (células de Müller).^{1,7-10} El VEGF estimula directamente el desarrollo de la vasculatura interna y externa del ojo,¹ además actúa como un factor de permeabilidad vascular.⁴ Sus isoformas con actividad biológica son la 121, 165, 189 y 206. Su actividad es mediada por dos receptores de membrana ligados a tirosina de alta afinidad: el receptor VEGFR1 (FLT1) y el receptor VEGFR2 (FLT2).^{5,7}

Por lo general, en condiciones naturales existe un equilibrio entre las moléculas promotoras y las inhibidoras de la angiogénesis. Sin embargo, cuando estas condiciones son alteradas, como sucede durante los episodios de hipoxia o inflamación, este equilibrio se rompe inclinando la balanza hacia la formación de vasos anormales.^{1,4}

¿Qué es la terapia antiangiogénica ocular?

Las enfermedades retinianas y coroideas son las causas principales de ceguera en el mundo. Se manifiestan a través de una permeabilidad vascular aumentada y crecimiento anormal de vasos sanguíneos. La angiogénesis es la responsable directa de estos trastornos y, por ende, de la

pérdida visual. Algunos ejemplos importantes de estas patologías son la retinopatía diabética, el edema macular diabético, la degeneración macular relacionada con la edad, las alteraciones secundarias a las oclusiones vasculares retinianas y la retinopatía del prematuro, entre otras.^{11,12}

A lo largo de los años, la fotocoagulación de la retina con láser ha demostrado ser efectiva para disminuir la neovascularización en algunas de estas enfermedades. Sin embargo, el mecanismo de acción de este tratamiento se basa en la destrucción intencional del tejido retiniano, por lo que el tratamiento puede afectar la visión por sí mismo. Es por eso que el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas es algo deseable.^{13,14}

Una de las piezas clave en la regulación de la angiogénesis es el VEGF y su actividad biológica. Como ya mencionamos, este factor de crecimiento promueve la proliferación de células endoteliales, aumenta la permeabilidad vascular y la inflamación ocular.¹² La terapia antiangiogénica moderna se basa en tratar de inhibir la producción o, en su defecto, los efectos biológicos de todas las moléculas involucradas, en especial el VEGF.¹⁵⁻¹⁷

Actualmente existen opciones de tratamiento que han demostrado ser seguras y eficaces como terapia antiangiogénica ocular para el tratamiento de estas enfermedades.^{18,19} Algunas se encuentran en etapa experimental, pero se espera tenerlas disponibles en un futuro muy cercano.⁶ Los mexicanos hemos sido pioneros en este tipo de tratamientos. A continuación haremos una revisión de la experiencia en terapia antiangiogénica ocular adquirida en nuestro país hasta la fecha.

Experiencia en México

Escualamina intravenosa

Demostrada en varios modelos animales, fue el primer intento de terapia antiangiogénica ocular en nuestro país. La escualamina es un aminoesterol cuya actividad antiangiogénica se debe a que interrumpe la vía de señalización del VEGF. Es por eso que se diseñó un estudio prospectivo en el Departamento de Retina de la Asociación para Evitar la Ceguera en México (APEC), en conjunto con los departamentos de oftalmología de las universidades de Houston, Texas y Tulane (New Orleans). Se incluyeron 40 pacientes con el diagnóstico de neovascularización coroidea secundaria a degeneración macular relacionada con la edad. Las lesiones se calificaron como clásicas, ocultas y mixtas, de acuerdo a la clasificación internacional vigente. Se midió agudeza visual de base y se realizó examen oftalmológico completo y control fotográfico del polo posterior. Los pacientes fueron asignados de manera aleatoria a recibir una infusión semanal de lactato de escualamina a dosis de 25 y 50 mg/m² en infusiones de 180, 90 y 45 minutos durante cuatro semanas. Fueron evaluados cada semana durante el tratamiento, y posteriormente al segundo y cuarto mes. Los resultados fueron los siguientes: se incluyeron 17 hombres y 23 mujeres; 10 mostraron incremento de la agudeza visual

en tres líneas de visión; 29 mantuvieron la misma agudeza visual registrada durante la visita de base o pérdida menor a tres líneas de visión durante el periodo de seguimiento. Si bien no se registró ningún efecto adverso debido al medicamento, el tratamiento demostró ser solo efectivo sobre los vasos recién formados, sin actividad sobre las lesiones previas en la mayoría de los pacientes. Éste fue el primer estudio de terapia antiangiogénica intravenosa en pacientes con degeneración macular relacionada con la edad que se tiene documentado.²⁰

Prolactina

Es un potente inhibidor de la angiogénesis, tanto *in vivo* como *in vitro*; es un fragmento N-terminal de 16 kD resultado del rompimiento de la prolactina (PLT-16K). Esta última es una proteína pleiotrópica que tienen actividad como hormona y citosina. Logra su acción antiangiogénica al bloquear la proliferación celular inducida por VEGF y estimular la expresión del inhibidor tisular del plasminógeno 1.^{21,22} Como antecedente podemos mencionar que en un estudio previo, elaborado en conjunto entre la APEC y el Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, se investigó el papel de la PLT-16K en la angiogénesis y vasodilatación de los vasos de retinas de ratas. Se bloqueó de manera intencional la PLT-16K con ayuda de un anticuerpo monoclonal, lo cual dio como resultado el aumento en el número de vasos y capilares retinianos de hasta tres veces su valor normal.²¹

Basados en esta experiencia, se tomó la decisión de diseñar un estudio en la APEC, en colaboración con la doctora Carmen Clapp, del Instituto de Neurología de la Universidad Nacional Autónoma de México, en el cual se determinaron los niveles de prolactina en niños con diagnóstico de retinopatía del prematuro en estadio V en humor acuoso, líquido subretiniano y suero, para después ser comparados con un grupo control de pacientes sanos.²³ El estudio demostró una elevación significativa de los niveles de prolactina en suero y fluidos oculares de los pacientes con retinopatía del prematuro. Las concentraciones de prolactina encontradas en humor acuoso correlacionaban de manera significativa con las halladas en el líquido subretiniano. Al buscar de manera intencionada el fragmento de PRL-16K, éste se encontró elevado de manera significativa en el líquido subretiniano.²³ Estas observaciones llevaron a la doctora Clapp a modificar la nomenclatura de la PRL-16K agrupándola junto con otras moléculas que de ella se derivan, en un nuevo grupo denominado *vasoinhibinas*.²⁴

En un trabajo más reciente se determinaron los niveles circulantes de prolactina en pacientes diabéticos (tipo 1 y 2) y no diabéticos. Se incluyeron 164 pacientes con un rango de edad de 40 a 70 años. En este grupo se logró identificar aumento significativo de la prolactina circulante en los pacientes diabéticos, la cual disminuía cuando los pacientes desarrollaban retinopatía diabética proliferativa. Lo anterior se debe a que las metaloproteasas intraoculares transforman la prolactina circulante en *vasoinhibinas*, tratando de detener la neovascularización.²⁵

Bloqueadores selectivos de VEGF

La identificación y comprensión de los mecanismos más sobresalientes de la fisiopatología de estas enfermedades han hecho posible el desarrollo de nuevos medicamentos. El bevacizumab (Avastin, Genetech Inc. San Francisco, CA) es un anticuerpo monoclonal contra el VEGF que se une a todas las isoformas activas de la molécula. Actualmente es un medicamento aprobado por la *Food and Drug Administration* para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico.²⁶⁻³¹ En los siguientes párrafos describiremos la experiencia del Departamento de Retina de la APEC utilizando bevacizumab en terapia antiangiogénica ocular.

Bevacizumab

Se realizó una revisión de 1765 aplicaciones en un lapso de dos años para diversas enfermedades retinianas, que fueron tratadas con bevacizumab.³² En cada paciente se valoró la agudeza visual (cartilla de Snellen y ETDRS) y la presión arterial sistémica, se realizó examen oftalmológico completo y de fondo de ojo bajo dilatación pupilar. Además, a cada paciente se practicó una tomografía óptica coherente, con la cual se valoró el grosor retiniano promedio en el área macular usando el protocolo de estrella macular, así como una angiografía retiniana con fluoresceína y un electrorretinograma multifocal. Todos los pacientes fueron dilatados, previa información con especial énfasis en los probables efectos adversos de la administración sistémica del bevacizumab y obtención por escrito del consentimiento informado. No se administró este medicamento a pacientes con antecedentes de enfermedades cardiovasculares, tromboembólicas o mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

Separamos dosis de 0.1 ml (2.5 mg) en jeringas de insulina refrigerada a 8 °C. La vía de administración fue intravítreo. Todas las dosis fueron aplicadas utilizando el protocolo estándar de la Academia Americana de Oftalmología.³³ Despues de la inyección, a cada paciente se le indicó antibiótico tópico, cinco veces al día, durante tres días. Los pacientes fueron evaluados a la semana siguiente y posteriormente cada mes. Al comenzar a utilizar este medicamento como terapia antiangiogénica ocular no se sabía cuál era la mejor dosis inicial para el bevacizumab intravítreo. Algunos autores propusieron 1.25 mg, basados en un estudio multicéntrico denominado ANCHOR, que para entonces se encontraba evaluando otro medicamento llamado ranibizumab.^{34,35} En México también se comenzó a utilizar una dosis de 1.25 mg de bevacizumab en los primeros casos, para posteriormente elevar la dosis a 2.5 mg. La razón para este cambio fueron las siguientes:

- En todos los casos se observó reflujo del medicamento posterior a la aplicación. Al aplicar 0.1 ml en lugar de 0.05 ml, una cantidad de medicamento mayor puede llegar al vítreo.
- Los resultados de un estudio multicéntrico denominado MARINA, el cual también se encontraba evaluando el

Cuadro I. Distribución de la población por sexo y promedio de seguimiento

| | n | % |
|--------------------------------|------|-------|
| Total de aplicaciones | 1765 | 100.0 |
| Masculinos | 692 | 39.3 |
| Femeninos | 1073 | 60.7 |
| Seguimiento promedio (semanas) | 24±8 | |

Datos demográficos de los pacientes inyectados con bevacizumab intravítreo en un periodo de dos años

ranibizumab, estableció que la dosis más alta de 0.5 mg fue superior en efectividad que la dosis de 0.3 mg. Como la molécula del ranibizumab es un derivado del bevacizumab, los resultados son comparables. Dado que el bevacizumab tiene un peso molecular más alto, esto le permitía un desplazamiento mejor a través de los tejidos oculares.³⁶

En 20 meses de seguimiento se encontró que el número total de inyecciones fue de 1764 aplicaciones, 692 hombres (39.2%) y 1073 mujeres (60.8%); el promedio de seguimiento de los pacientes fue de 24 semanas±8 semanas (Cuadro I). La distribución de nuestra población en cuanto a etiología se encuentra resumida en el cuadro II.

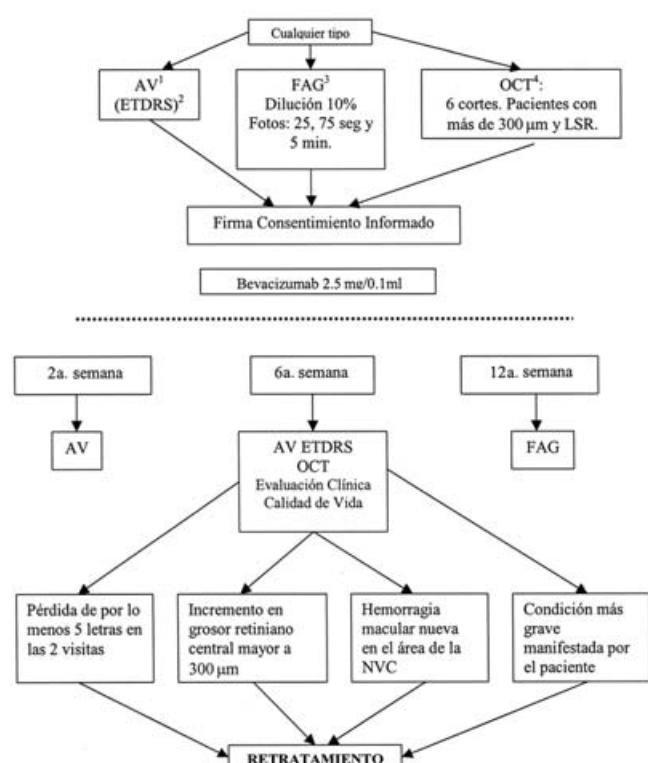


Figura 1. Algoritmo de aplicación de bevacizumab para el tratamiento de la neovascularización coroidea relacionada con la edad. 1. Agudeza visual. 2. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. 3. Angiografía de retina. 4. Tomografía óptica coherente.

Cuadro II. Distribución de la población según la etiología de la neovascularización

| Etiologías | Pacientes tratados |
|--|--------------------|
| Retinopatía diabética proliferativa | 1018 |
| Degeneración macular relacionada a la edad | 465 |
| Oclusión de vena central de la retina | 135 |
| Glaucoma neovascular | 42 |
| Adyuvante quirúrgico | 35 |
| Neovascularización coroidea | 14 |
| Retinopatía del prematuro | 13 |
| Neovascularización coroidea miópica | 12 |
| Coroidopatía serosa central | 11 |
| Telangiectasias yuxtafoveales | 11 |
| Neovascularización coroidea uveítis | 5 |
| Von Hippel Lindau | 2 |
| Enfermedad de Coats | 2 |

Neovascularización coroidea

Degeneración macular relacionada con la edad

En los últimos 20 meses se realizaron 465 aplicaciones intravítreas de bevacizumab en pacientes con diagnóstico de neovascularización coroidea. La agudeza visual mejoró en un promedio de cuatro líneas de visión (rango de cinco letras a siete líneas, $p=0.002$). El promedio del grosor retiniano antes de la administración del medicamento fue de 368 µm (rango de 157 a 1237 µm). Posterior a la inyección disminuyó a 274 µm (rango de 150 a 1262 µm). La diferencia entre ambos valores fue estadísticamente significativa ($p=0.001$). Los pacientes fueron divididos en dos grupos: el primer grupo (conformado por los casos iniciales) fue tratado con un esquema de dosis-respuesta, y el segundo de acuerdo con el algoritmo presentado en la figura 1. Los resultados del segundo grupo sugieren que el bevacizumab es bien tolerado y se encuentra asociado con mejora en la agudeza visual, así como con disminución del grosor retiniano, medido por tomografía óptica coherente. La administración periódica de bevacizumab cada seis semanas, al ser comparada con los resultados de la administración dosis-respuesta, resultó en mejor control de la neovascularización coroidea, mejor agudeza visual y estabilización de la lesión por más tiempo^{32,37} (Figura 2). Debido a que algunos pacientes requieren múltiples dosis, se planteó la posibilidad de administrar terapias combinadas como tratamientos más efectivos a largo plazo.

Se realizó un estudio prospectivo en el cual se incluyeron 10 pacientes a los cuales se les aplicó bevacizumab y terapia fotodinámica con el protocolo estándar y además se les administró bevacizumab intravítreo 72 horas después. Seis de estos pacientes mejoraron la agudeza visual, dos se mantuvieron estables durante el seguimiento y dos disminuyeron la visión. Todos los pacientes presentaron una disminución del grosor macular por tomografía óptica coherente. Aun cuando con la angiografía retiniana con fluoresceína no se pudo identificar cambios en el patrón de fuga entre el antes y el

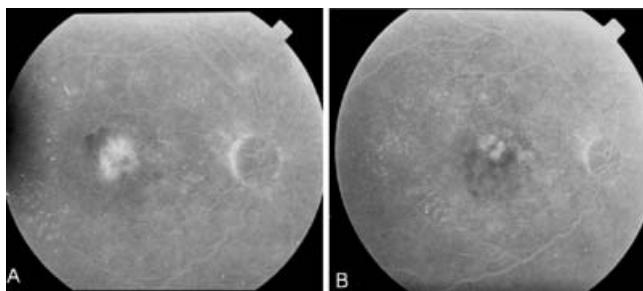


Figura 2. A) Ojo derecho que muestra fuga de fluoresceína en área macular debido a degeneración macular relacionada a la edad con neovascularización coroidea. B) Mismo ojo dos semanas posteriores al tratamiento con bevacizumab; desapareció la fuga.

después del tratamiento, la tomografía óptica coherente sí pudo identificar una disminución del líquido subretiniano de las lesiones. Durante el seguimiento de seis meses, dos pacientes necesitaron retratamiento. Con esta evidencia se pudo concluir que la terapia combinada mejora la agudeza visual de una manera similar a la que se logra con el bevacizumab solo, pero con un menor índice de retratamiento.³⁸

Neovascularización coroidea idiopática

Se elaboró un estudio que incluyó un grupo de 14 ojos con diagnóstico de membrana neovascular coroidea idiopática. El promedio de edad fue de 37.6 ± 11.1 años. La ganancia promedio de agudeza visual fue de cinco líneas de visión. El

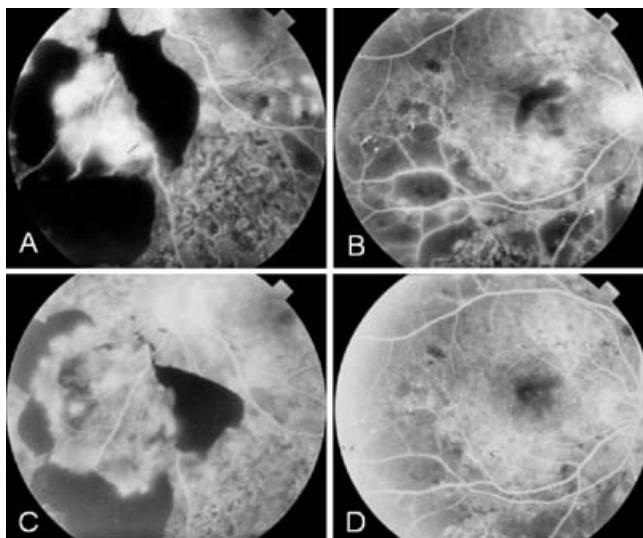


Figura 3. A) Ojo derecho de un paciente con retinopatía diabética proliferativa; se observa fuga de fluoresceína por neovasos y bloqueos por hemorragias. B) Mismo ojo con abundantes zonas de cierre capilar. C) Ojo derecho posterior a tratamiento con bevacizumab, que muestra disminución de la fuga y mejoramiento del bloqueo por las hemorragias. D) Mismo ojo posterior al tratamiento en el cual se aprecia disminución de las áreas de cierre capilar.

grosor macular disminuyó un promedio de 200 μm . Ninguno de los pacientes requirió retratamiento durante el periodo de seguimiento a un año; esto indica que los pacientes tenían un epitelio pigmentado de la retina sano.³⁹

Neovascularización coroidea miópica

Dentro de este grupo se incluyeron 12 pacientes. El promedio del equivalente esférico fue de -13.87 ± 3.68 D. La agudeza visual en promedio mejoró cinco líneas de visión. El grosor macular mejoró de 385.43 ± 125.83 μm a 194.54 ± 54.35 μm ($p=0.001$). Estos datos sugieren que el bevacizumab es un agente potente, útil en el tratamiento de la neovascularización coroidea relacionada a la miopía alta.^{32,40}

Neovascularización coroidea secundaria a uveítis

Se estudiaron cinco pacientes, de los cuales dos presentaban neovascularización coroidea secundaria a coroiditis serpinginosa, dos a coroiditis multifocal y un paciente con síndrome de Vogh-Koyanagi-Harada. Durante el seguimiento a seis meses, se observó mejoría de la agudeza visual sin reactivación de la entidad clínica de origen. Todos los casos fueron tratados con solo una dosis de bevacizumab (2.5 mg) y no presentaron ninguna complicación ni necesitaron retratamiento.⁴¹

Retinopatía diabética

La retinopatía diabética y la retinopatía diabética no proliferativa severa sin adecuado control metabólico, son indicaciones de panfotocoagulación retiniana. Dentro de este grupo de pacientes se incluyeron a aquellos con diagnóstico de retinopatía diabética, edema macular diabético o con retinopatía diabética que no respondieron al tratamiento convencional con láser. En todos los casos tratados con bevacizumab se observó regresión de los neovasos y disminución del edema macular. Sin embargo, algunos pacientes presentaron recurrencia entre la sexta y décima semana de seguimiento^{32,42,43} (Figura 3).

Panfotocoagulación vs. bevacizumab

Se realizó un estudio paralelo, el cual incluyó 10 pacientes (cinco con retinopatía diabética y cinco con retinopatía diabética no proliferativa). A todos se les trató un ojo con panfotocoagulación y el contralateral mediante aplicación intravítreo de bevacizumab. Los resultados fueron que la agudeza visual empeoró en tres de los ojos tratados con láser, aunada a incremento del grosor retiniano. De los ojos tratados con bevacizumab, solo en uno disminuyó la visión. Ningún de los ojos tratados con bevacizumab mostró aumento en el grosor macular. Se tomaron electrorretinogramas a todos los ojos, de los cuales ocho ojos tratados con láser tuvieron disminución de la onda b. Los ojos tratados con bevacizumab no mostraron cambios en el electrorretinograma. Dos ojos tratados con láser desarrollaron edema macular quístico y uno más, hemorragia vítrea. Después de seis meses de seguimiento podemos concluir que el tratamiento con bevacizumab intravítreo fue igual de efectivo para controlar la neovascula-

rización y el edema macular que la panfotocoagulación. Actualmente el Departamento de Retina de la APEC recomienda la terapia combinada de láser y bevacizumab.⁴⁴

Coadyuvante quirúrgico

Las complicaciones posoperatorias más frecuentes de la vitrectomía en un paciente con retinopatía diabética son glaucoma neovascular, los resangrados posquirúrgicos y el edema macular clínicamente significativo. Estos últimos se generan porque los niveles de VEGF en la cavidad vítreo después de la cirugía son esencialmente los mismos que antes de la cirugía. Tomando este antecedente, se elaboró un estudio que incluyó 35 pacientes programados para cirugía, a los cuales se les administró bevacizumab intravítreo como coadyuvante previo a la cirugía. De estos 35 pacientes, 19 tenían neovascularización primaria del iris. En todos los pacientes mejoró la agudeza visual, ninguno desarrolló glaucoma neovascular y solo cuatro pacientes presentaron resangrado. Como conclusiones de este estudio debemos resaltar que el bevacizumab intravítreo redujo la incidencia de edema macular clínicamente significativo, la frecuencia de resangrados y facilitó el pelamiento de las membranas durante la cirugía. El Departamento de Retina de la APEC actualmente recomienda su empleo dos semanas antes de la cirugía.

Glaucoma neovascular

Es una de las complicaciones con mayor repercusión en la agudeza visual de los pacientes con retinopatía diabética y con oclusión de la vena central de la retina. Debido a la importancia y frecuencia de la patología, se diseñó un estudio que comprendía tres diferentes grupos de pacientes:

- Grupo A, ocho pacientes que presentaban solo neovascularización del segmento anterior.
- Grupo B, 22 pacientes con neovascularización del segmento anterior asociada a hipertensión ocular y ángulo camerular abierto.
- Grupo C, 12 pacientes con neovascularización del segmento anterior, hipertensión ocular y ángulo cerrado.

A todos los se les administró una dosis de 2.5 mg de bevacizumab intravítreo. Los resultados fueron los siguientes: 72 horas posteriores a la administración del medicamento se observó resolución completa de la neovascularización del segmento anterior. Los pacientes del grupo A y B registraron presiones intraoculares menores a las observadas durante su visita de base. Los pacientes del grupo C presentaron menos complicaciones intraoperatorias. En conclusión, podemos afirmar que la terapia antiangiogénica ocular en pacientes con glaucoma neovascular mejora la presión intraocular y los resultados quirúrgicos de estos pacientes.

Oclusión de vena central de la retina

La causa más frecuente de disminución de la visión en la oclusión de la vena central de la retina y en las oclusiones de rama es el edema macular. En algunos casos, la hemorragia

intrarretiniana demora la instalación del tratamiento adecuado con láser. Debido a esto se elaboró un estudio en el cual a estos pacientes se les trató con bevacizumab intravítreo. Todos los pacientes tratados con esta modalidad mejoraron tanto la visión como el grosor macular promedio, medido por tomografía óptica coherente. A las seis semanas de seguimiento, la ganancia subjetiva de visión correlacionó de manera positiva con la disminución del grosor macular. Actualmente la recomendación de tratamiento del departamento consiste en una dosis de bevacizumab cada cuatro semanas por tres ocasiones. Con este esquema se obtiene una estabilización de la oclusión de la vena central de la retina, del grosor retiniano y mejoramiento de la agudeza visual. Posterior al estudio pudimos concluir que el aumento de la agudeza visual fue mejor que si se hubiera dejado evolucionar libremente la enfermedad. El retratamiento posterior al esquema inicial se recomienda según la evolución particular de cada paciente.⁴⁵

Otras enfermedades

Von Hippel-Lindau y enfermedad de Coats

Un grupo de cuatro pacientes (dos con enfermedad de Von Hippel-Lindau y dos con enfermedad de Coats) que desarrollaron edema macular, fueron tratados con 2.5 mg de bevacizumab intravítreo. En estos pacientes se observó disminución del edema (el cual desapareció de manera completa a las seis semanas de seguimiento) y aumento de la agudeza visual posterior al tratamiento. Como conclusión podemos afirmar que la terapia antiangiogénica ocular puede ser útil como coadyuvante en este tipo de padecimientos.^{46,47}

Coroidopatía serosa central

Se reclutó a 11 pacientes con diagnóstico de coroidopatía serosa central (cuatro con cuadro agudo y siete con recurrente). Después del tratamiento con bevacizumab intravítreo, todos los pacientes con cuadro agudo mejoraron la agudeza visual, el patrón de fuga en la angiografía retiniana con fluoresceína y el grosor macular promedio medido por tomografía óptica coherente. Sin embargo, la mejoría de estos pacientes es controversial ya que es muy difícil separar la historia natural de esta enfermedad de un verdadero efecto terapéutico del medicamento. Por otro lado, en el grupo con cuadro recurrente también mejoró notablemente el patrón de fuga por angiografía retiniana con fluoresceína y el grosor macular. No obstante, la mejoría de la agudeza visual fue mínima, lo cual puede explicarse por la atrofia del epitelio pigmentado antes del tratamiento.³²

Telangiectasias yuxtafoveales retinianas

Un grupo de 11 pacientes con telangiectasias yuxtafoveales retinianas (cinco con secundarias [80%] y seis con idiopáticas [83.3%]) fueron tratados con 2.5 mg de bevacizumab intravítreo. El resultado fue disminución del grosor retiniano

en la mayoría, sin embargo, la agudeza visual en el grupo de las idiopáticas se deterioró al tercer mes de seguimiento. Los hallazgos en la angiografía retiniana con fluoresceína mostraban mejoría en el patrón de fuga, sin embargo, estos cambios no pudieron asegurar una resolución completa de la fuga vascular perifoveal.⁴⁸

Retinopatía del prematuro

Esta enfermedad es la causa número uno de niños ciegos en América Latina. Debido a ello se diseñó un protocolo de tratamiento, el cual empleaba una dosis de 1.25 mg en 0.5 ml de bevacizumab, el cual sería administrado de manera intravítreo. Todos los pacientes incluidos presentaban neovascularización activa, vasos anormales y vasculatura fetal persistente (Figura 4). Los pacientes se dividieron en tres grupos:

- Grupo I, con retinopatía del prematuro en estadio IVa o IVb (desprendimiento de retina con involucro del área macular o sin involucro).
- Grupo II, pacientes difíciles de tratar debido a una visualización de la retina.
- Grupo III, pacientes que presentaron enfermedad umbral o preumbral de rápida progresión o alto riesgo.

Entre los tres grupos se incluyeron 13 pacientes (18 ojos), con edad promedio de 4 ± 3 meses. La regresión de los vasos se observó en 17 ojos. Un paciente en estadio IVa desarrolló desprendimiento de retina espontáneo después de la primera dosis de bevacizumab. Los hallazgos principales fueron que el medicamento inhibía de manera efectiva la

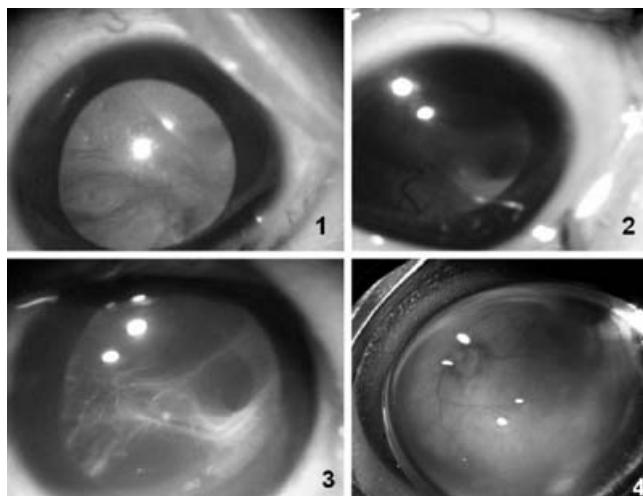


Figura 4: 1) Paciente en el grupo 1 de ROP. Foto inicial que muestra desprendimiento de retina temporal y neovascularización activa. 2) Una semana después del tratamiento con bevacizumab se observa regresión de la neovascularización y desprendimiento de retina persistente. 3) En la cuarta semana se evidencia una moderada fibrosis. 4) Al final del seguimiento se aprecia reaplicación de la retina sin neovascularización.

neovascularización, permitiendo la desaparición de la línea de demarcación. El medicamento no alteró la vascularización normal posterior de la retina. Ésta se realizó de manera completa hasta alcanzar la ora serrata. Todos los pacientes no presentaron efectos adversos locales o sistémicos después de 16 semanas de seguimiento. Quienes durante la visita de base presentaron vasculatura fetal persistente, demostraron reducción de la misma, así como aumento de la magnitud de la midriasis durante la exploración. Todos los procedimientos se realizaron bajo sedación con midazolam, fuera de la sala de operaciones, sin complicación alguna.^{32,42,49-53}

Otras aplicaciones del bevacizumab

Hemos usado el bevacizumab de manera exitosa en modelos de neovascularización corneal en animales en los cuales inyectamos 0.75 mg de bevacizumab directamente al estroma cornal. Los modelos se siguieron mediante observación clínica, angiografía retiniana con fluoresceína e histopatología. En ellos se observó disminución de la neovascularización.

Con este antecedente se estudió un grupo de 18 ojos de 17 pacientes, los cuales presentaron neovasos en la córnea. A este grupo se le inyectó 2.5 mg de bevacizumab de manera subconjuntival. Si bien se observó disminución de los vasos corneales, éstos nunca desaparecieron por completo.

Complicaciones

Hasta la fecha de elaboración de este manuscrito se han aplicado 1765 inyecciones para diversas enfermedades retinianas. Se tuvieron solo dos tipos de complicaciones, que pueden clasificarse asociadas al fármaco y asociadas a la técnica de aplicación. La complicación asociada al fármaco fue el empeoramiento del desprendimiento de retina traccional observado en cuatro ojos de pacientes con retinopatía diabética. Pensamos que la razón de estas complicaciones fue el desarrollo de fibrosis, que ocasionó la progresión de la tracción vitreoretiniana, secundaria a la aplicación del medicamento. Las complicaciones debidas a la técnica fueron una endoftalmitis, una hemorragia vítreo y un desprendimiento de retina reumatógeno. No se observó ningún caso de uveítis anterior, desarrollo de cataratas o elevación de la presión intraocular o arterial.

¿Hacia dónde vamos?

Si bien gran parte de nuestra revisión se ha dedicado a describir nuestra experiencia con el bevacizumab, actualmente se cuentan con otras opciones para terapia antiangiogénica ocular. A continuación haremos una breve mención de otras opciones disponibles, así como de algunas opciones que aún se encuentran en fase experimental.

- **Pegaptanib** (Macugen, Eyetech, Pharmaceuticals/Pfizer): Se trata de un aptámero de ARN, dirigido específicamente contra la isoforma 165 del VEGF. Es el primer aptámero aprobado para su uso en humanos por la Food

and Drug Administration para el tratamiento de todas las formas de degeneración macular relacionada con la edad, así como para el tratamiento del edema macular.^{6,54}

- **Ranibizumab** (Lucentis, Genetech/Novartis): Es un fragmento Fab recombinante que une a todas las isoformas activas del VEGF; es sintetizado a partir del bevacizumab. Resulta efectivo para el tratamiento de la neovascularización coroidea secundaria a la degeneración macular relacionada con la edad y para el edema macular. Se encuentra aprobado para su uso clínico desde junio de 2006.^{6,55}
- **VEGF Trap o trampa de VEGF** (Regeneron Pharmaceuticals): Es un antagonista de alta afinidad que se encuentra constituido por el dominio 2 del receptor VEGFR1 humano y por el dominio 3 del VEGFR2, ambos dominios unidos a un fragmento Fc de una inmunoglobulina G humana. Tiene la propiedad de captar todas las formas de VEGF tanto en la circulación sistémica como en los tejidos. En múltiples modelos animales este medicamento ha demostrado ser efectivo para combatir la neovascularización coroidea, sin embargo, su uso clínico aún no se aprueba.^{6,56}
- **Ruboxistaurina** (Eli, Lilly): Se trata de un inhibidor selectivo de la proteíncinasa C beta, la cual se encuentra activa durante el daño a la microvasculatura en los estados de hiperglucemia. Hasta el momento este medicamento ha demostrado ser efectivo al disminuir las anormalidades retinianas causadas por la diabetes.⁵⁷
- **SiRNA-027** (Sirna Therapeutics): ARN corto diseñado para disminuir la expresión de VEGFR1. En estudios preclínicos ha demostrado ser efectivo para reducir la angiogénesis patológica. En estos momentos se encuentra en una etapa experimental fase 1.^{6,58}
- **PCK412** (Novartis Pharma): Se trata de una molécula inhibidora de bajo peso molecular, la cual se une a la parte activa del receptor VEGFR1. Esta unión inhibe la actividad del receptor de tirosinas, lo que impide la fosforilación del receptor y el paro de la vía de transducción de señales. Las complicaciones de su empleo es su baja especificidad, ya que es capaz de inhibir cualquier tirosinasa.^{6,59}

Como podemos ver, la experiencia en México en terapia antiangiogénica ocular ha sido extensa. El Departamento de Retina de la Asociación para Evitar la Ceguera en México comenzó a aplicar bevacizumab desde septiembre de 2005. Desde entonces, la evolución de los conceptos en terapéutica ha sido constante.

El bevacizumab es un medicamento accesible en todo el mundo, sin embargo, hasta el momento no se encuentra aprobado para su uso clínico en el campo de la oftalmología. La angiogénesis en las enfermedades oculares ataca un sitio inmunoprivilegiado del cuerpo humano, donde la terapia antiangiogénica ocular tiene una buena oportunidad de éxito. En Latinoamérica, el bevacizumab ha abierto una oportunidad enorme en el tratamiento de pacientes con retinopatía diabética y retinopatía del prematuro, ya que es un medicamento barato, accesible y con una curva pequeña de aprendizaje. Es

una opción viable para hospitales en donde la tecnología láser o la crioterapia no se encuentran disponibles.

Referencias

1. Hutcheson KA. Retinopathy of prematurity. *Curr Opin Ophthalmol* 2003;14:286-290.
2. Gariano RY, Kalina RE, Hendrickson AE. Normal and pathological mechanisms in retinal vascular development. *Surv Ophthalmol* 1996;40:481-490.
3. Flynn JT, Chan-Ling T. Retinopathy of prematurity: Two distinct mechanism that underline zone 1 and zone 2 disease. *Am J Ophthalmol* 2006;142:46-59.
4. Kvanta A. Ocular Angiogenesis: The role of growth factors. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84:282-288.
5. Yoo MH, Hyun HJ, Kob JY, Yoon YH. Riluzole inhibits VEGF-induced endothelial cell proliferation in vitro and hypoxia-induced abnormal vessel formation in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4780-4787.
6. Dorrell M, Uusitalo-Jarvinen H, Aguilar E, Friedlander M. Ocular neovascularization: Basic mechanisms and therapeutic advances. *Surv Ophthalmol* 2007;52:S3-S19.
7. Lashkari K, Hirose T, Yazdany J, McMeel JW, Kazlauskas A, Rahimi N. Vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor levels are differentially elevated in patients with advance retinopathy of prematurity. *Am J Pathol* 2000;166:1337-1344.
8. Pierce EA, Foley ED, Smith LE. Regulation of vascular endothelial growth factor by oxygen in a model of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol* 1996;114:1219-1228.
9. Hellstrom A, Perruzzi C, Ju M, Engstrom E, Hard AL, Liu JL, et al. Low IGF-I suppresses VEGF-survival signaling in retinal endothelial cells: direct correlation with clinical retinopathy of prematurity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:5804-5808.
10. Madanlou HD, Gharaee Z, Hasan J, Waltzman J, Nageotte S, Beharry KD. Ontogeny of VEGF, IGF-I and GH in neonatal rat serum, vitreous fluid, and retina from birth to weaning. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:738-744.
11. Schlingemann RO, van Hinsbergh VW. Role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in eye disease. *Br J Ophthalmol* 1997;81:501-512.
12. Kowanetz M, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor signaling pathways: Therapeutic perspective. *Clin Cancer Res* 2006;12:5018-5022.
13. Aiello LP, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, Ferris FL 3rd, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1998;21:143-156.
14. Cai J, Boulton M. The pathogenesis of diabetic retinopathy: old concepts and new questions. *Eye* 2002;16:242-260.
15. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36:331-335.
16. Pai SA, Shetty R, Vijayan PB, Venkatasubramaniam G, Yadav NK, Shetty BK, et al. Clinical, anatomic, and electrophysiologic evaluation following intravitreal bevacizumab for macular edema in retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol* 2007;143:607-606.
17. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M. Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina* 2006;26:257-261.
18. Spaide RF, Fisher YL. Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment of proliferative diabetic retinopathy complicated by vitreous hemorrhage. *Retina* 2006;26:275-278.
19. Iturralde D, Spaide RF, Meyerle CB, Klancnik JM, Yannuzzi LA, Fisher YL, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) treatment of macular edema in central retinal vein occlusion. *Retina* 2006;26:279-284.
20. Quiroz-Mercado H, García CA, Uwaydat S, Sepúlveda-Flores RN, Meza-de Regil A, Holroyd K, et al. A Phase I/II trial of intravenous squalamine lactate infusion for treatment of choroidal neovascularization (CNV) associated with age-related macular degeneration (ARMD). 5th International Symposium on Ocular Pharmacology and Therapeutics ISOPT, Monte Carlo (Monaco), March 11-14, 2004.
21. Aranda J, Rivera JC, Jeziorski MC, Riesgo-Escobar J, Nava G, López-Barrera F, et al. Prolactins are natural inhibitors of angiogenesis in the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2947-2953.
22. Lee H, Struman I, Clapp C, Martial J, Weiner RI. Inhibition of urokinase activity by the antiangiogenic factor 16K prolactin: Activation of plasminogen activator inhibitor 1 expression. *Endocrinology* 1998;139:3696-3703.
23. Dueñas Z, Rivera JC, Quiroz-Mercado H, Aranda J, Macotela Y, Montes de Oca P, et al. Prolactin in eyes of patients with retinopathy of prematurity: Implications for vascular regression. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:2049-2055.
24. Clapp C, Aranda J, González C, Jeziorski MC, Martínez-de la Escalera G. Vasoinhibins: Endogenous regulators of angiogenesis and vascular function. *Trends Endocrinol Metab* 2006;17:301-307.

25. Rivera J, Moreno-Páramo D, Aranda J, et al. Prolactin decreases in the circulation of patients with proliferative diabetic retinopathy: Relationship to intraocular vasoinhibins. ARVO 2007, resumen 1408/B464.
26. Stone J, Itim A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T, et al. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 1995;15:4738-4747.
27. Aiello LP. Angiogenic pathways in diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2005;353: 839-841.
28. Murakami T, Suzuma K, Takagi H, Kita M, Ohashi H, Watanabe D, et al. Time-lapse imaging of vitreoretinal angiogenesis originating from both quiescent and mature vessels in a novel ex vivo system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:5529-5536.
29. Madan A. Angiogenesis and antiangiogenesis in the neonate. Relevance to retinopathy of prematurity. *NeuroReviews* 2003;4:456-464.
30. Hague S, MacKenzie IZ, Bicknell R, Rees MC. In-vivo angiogenesis and progestogens. *Hum Reprod* 2002;17:786-793.
31. US Food and Drug Administration. FDA approves first angiogenesis inhibitor to treat colorectal cancer. February 26, 2004. Disponible en <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2004/NEW0127.html>
32. Quiroz-Mercado H, Ustariz-González O, Martínez-Castellanos MA, Covarrubias P, Domínguez F, Sánchez-Huerta V. Our experience after 1765 intravitreal injections of bevacizumab: The importance of being part of a developing story. *Semin Ophthalmol* 2007;22:109-125.
33. Aiello LP, Brucker AJ, Chang S, Cunningham ET Jr, D'Amico DJ, Flynn HW, et al. Evolving guidelines for intravitreous injections. *Retina* 2004;24:S3-S19.
34. Liew G, Mitchell P. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2007;353:747-748.
35. Brown DM, Kaiser PK, Michels M, Soubrane G, Heier JS, Kim RY, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1432-1444.
36. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. The trigger for neovascularization in the eye. *Lab Invest* 1995;72:615-618.
37. Abraham-Marín ML, Cortés-Luna CF, Álvarez-Rivera G, Hernández-Rojas M, Quiroz-Mercado H, Morales-Cantón V. Intravitreal bevacizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:651-655.
38. Ustariz-González O, Abraham-Marín ML, Gordon-Angelozzi M, Suárez-Licona A, Kon-Jara V, Torres-Soriano M, et al. Treatment of choroidal neovascularization (CNV) associated with age related macular degeneration (AMD) with photodynamic therapy and bevacizumab (Avastin) injection. ARVO 2007, resumen 290/B343.
39. Martínez-Castellanos MA, Parrochia M, Quiroz-Mercado H, Guerrero-Naranjo JL, Ustariz O, Abraham ML, et al. Safety and efficacy of intravitreal bevacizumab for idiopathic subfoveal choroidal neovascularization. Pilot Study. ARVO 2006, resumen 4282/B343.
40. Hernández-Rojas ML, Quiroz-Mercado H, Dalma-Weiszhausz J, Fromow-Guerra J, Amaya-Espinoza A, Solís-Vivanco A, et al. Short-term effects of intravitreal bevacizumab for subfoveal choroidal neovascularization in pathologic myopia. *Retina* 2007;27:707-712.
41. Concha L, Kon V, Unzueta J, Navarro P, Arellanes L. Intravitreal bevacizumab for the treatment of neovascular membrane in patients with intraocular inflammation. ARVO 2007, resumen 5144/B292.
42. Wu L, Martínez-Castellanos MA, Quiroz-Mercado H, Arévalo JF, Berrocal MH, Farah ME, et al. Twelve-month safety of intravitreal injections of bevacizumab (Avastin): Results of the Pan-American Collaborative Retina Study Group (PACORES). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246:81-87.
43. Arévalo JF, Fromow-Guerra J, Quiroz-Mercado H, Sánchez JG, Wu L, Maia M, et al. Primary intravitreal bevacizumab (Avastin) for diabetic macular edema: Result from the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 6-month follow-up. *Ophthalmology* 2007;114:743-750.
44. García-Aguirre G, Reyna-Castelán E, Torres-Soriano ME, Kon-Jara V, Quiroz-Mercado H. Intravitreal bevacizumab vs. panretinal photocoagulation for the treatment of proliferative and severe non-proliferative diabetic retinopathy: A contralateral eye study. ARVO 2007, resumen 3349/B496.
45. Guerrero-Naranjo JL, Morales-Cantón V, Fromow-Guerra J, Álvarez-Rivera G, Solís-Vivanco A, Reyna-Castelán E, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) as treatment for macular edema in vein occlusions. Cannes Retina Festival 2006, ASRS and EVRS Meeting, resumen 345.
46. Ustariz-González O, Suárez-Licona A, Quiroz-Mercado H, Guerrero-Naranjo JL, Pérez-Reguera A, Moreno-Páramo D, et al. Bevacizumab injection in Von Hippel Lindau disease. ARVO 2006, resumen 4713/B1048.
47. Romo-García E, Álvarez-Rivera G, Gordon M, Kon-Jara V, Martínez-Castellanos MA, Moreno-Páramo D, et al. Is bevacizumab an effective treatment for coats disease? ARVO 2007, resumen 4552/B233.
48. Salazar-Terán N, Kon-Jara K, Ustariz-González O, Reyna-Castelán E, Fromow-Guerra F, Quiroz-Mercado H. Does avastin change evolution in juxtafoveal telangiectasias? ARVO 2007, resumen 4552/B233.
49. D'Amore PA. Mechanisms of retinal and choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3974-3979.
50. Villegas-Becerril E, González-Fernández R, Fernández-Molina F, Gallardo-Galera JM. Growth factor levels and ROP. *Ophthalmology* 2005;112:2238.
51. Alon T, Hemo I, Itim A, Pe'er J, Stone J, Keshet E. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity. *Nat Med* 1995;1:1024-1028.
52. Stone J, Chan-Ling T, Pe'er J, Itim A, Gnessin H, Keshet E. Roles of vascular endothelial growth factor and astrocyte degeneration in the genesis of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:290-299.
53. Bhisitkul RB. Vascular endothelial growth factor biology: Clinical implications for ocular treatments. *Br J Ophthalmol* 2006;90:1542-1547.
54. Ng EW, Shima DT, Calias P, Cunningham ET Jr, Guyer DR, Adamis AP. Pegaptanib, a Targeted anti-VEGF aptamer for ocular vascular disease. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:123-132.
55. Heier JS, Antoszyk AN, Pavan PR, Leff SR, Rosenfeld PJ, Ciulla TA, et al. Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. *Ophthalmology* 2006;113:642-644.
56. Saishin Y, Saishin Y, Takahashi K, Lima e Silva R, Hylton D, Rudge JS, et al. VEGF-TRAP (R1R2) suppresses choroidal neovascularization and VEGF-induced breakdown of the blood-retinal barrier. *J Cell Physiol* 2003;195:241-248.
57. Aiello LP, Clermont A, Arora V, Davis MD, Sheetz MJ, Bursell SE. Inhibition of PKC beta by oral administration of ruboxistaurin is well tolerated and ameliorates diabetes-induced retinal hemodynamic abnormalities in patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:86-92.
58. Shen J, Samul R, Silva RL, Akiyama H, Liu H, Saishin Y, et al. Suppression of ocular neovascularization with siRNA targeting VEGF receptor 1. *Gene Ther* 2006;13:225-234.
59. Campochiaro PA, C99-PKC412-003 Study Group. Reduction of diabetic macular edema by oral administration of the kinase inhibitor PKC412. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:922-931.