



Trattamento anti-VEGF con Ranibizumab intravitreale nella degenerazione maculare legata all'età: verifica dell'efficacia sulla neovascolarizzazione sottoretinica

Giulio Vandelli, Francesco Stringa, Mirella Lizzano, Anna Morano,
Alessandro Bianchi, Paola Castellani

Clinica Oculistica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

Trattamento anti-VEGF con Ranibizumab intravitreale nella degenerazione maculare legata all'età: verifica dell'efficacia sulla neovascolarizzazione sottoretinica

La degenerazione maculare legata all'età (DMLE) è la malattia retinica progressiva che costituisce la principale causa di cecità legale nei soggetti anziani residenti nei paesi occidentali. L'evoluzione più frequente è rappresentata dalla forma essudativa o umida, caratterizzata dallo sviluppo di nevasi sottoretinici.

Da alcuni anni è disponibile un trattamento specifico con farmaci anti-VEGF (Ranibizumab, Pegaptanib, Bevacizumab *off-label*) somministrati tramite iniezioni intravitreali. In Italia la loro somministrazione a carico del SSN è disciplinata da una specifica normativa AIFA che dispone il monitoraggio intensivo previsto per i farmaci ad alto costo con limitazioni nella indicazione.

Utilizzando i parametri clinici richiesti e immessi nel *database* AIFA (*visus* $\geq 2/10$, spessore retinico misurato mediante OCT, varie caratteristiche agiografiche, pressione intraoculare) è stato strutturato uno studio osservazionale di buona pratica clinica per verificare l'effetto della terapia nei diversi sottogruppi in cui può presentarsi la DMLE umida o essudativa (membrana neovascolare, vasculopatia polipoide, angiomatosi retinica) limitatamente alla fase di attacco prescritta per Ranibizumab (3 iniezioni mensili con rivalutazione 1 mese dopo l'ultima).

Da Novembre 2009 ad Aprile 2011 sono stati trattati con Ranibizumab 56 occhi di 56 pazienti affetti da DMLE essudativa. Dalla elaborazione statistica dei dati raccolti è emerso che Ranibizumab ha determinato un incremento dell'acuità visiva media parallelamente alla riduzione dello spessore retinico centrale e dell'area della lesione. I casi con acuità visiva all'ingresso compresa tra 4/10 e 6/10 hanno evidenziato un recupero funzionale maggiore rispetto a quelli con acuità visiva tra 2/10 e 4/10 e tra 7/10 e 8/10. Se si considerano le varianti cliniche della DMLE essudativa la vasculopatia polipoide ha mostrato il miglior recupero visivo dopo trattamento.

Intravitreal Ranibizumab as anti-VEGF in related macular degeneration: effectiveness on subretinal neovascular membranes

The age-related macular degeneration (AMD) is a progressive retinal disease which is the leading cause of legal blindness in the elderly residing in Western countries. The evolution type most represented is the exudative form or wet form, with the development of subretinal neovascularization.

For some years there is a specific treatment with anti-VEGF drugs (Ranibizumab, Pegaptanib, Bevacizumab off-label), administered by intravitreal injection. In Italy the administering is governed by SSN and regulated by specific legislation AIFA which has provided intensive monitoring for high-cost drugs with limitations in the display.

By using clinical parameters required and entered into the database AIFA (visual acuity $\geq 2/10$, retinal thickness measured by OCT, various angiographic features, intraocular pressure) we have structured an observational study of good clinical practice to test the effect of therapy in the various patterns which exudative AMD may appear (neovascular membrane, polypoid vascular disease, retinal angiomatosis) during the phase of attack required for Ranibizumab (3 monthly injections with a reevaluation 1 month after the last).

From November 2009 to April 2011 56 eyes of 56 patients affected by exudative AMD were treated with Ranibizumab. From the statistical data Ranibizumab caused an increase visual acuity in parallel with the reduction of retinal thickness and the central area of the lesion. The cases with visual acuity between 4/10 and 6/10 showed a greater functional recovery than those with visual acuity between 2/10 and 4/10 and between 7/10 and 8/10. If we consider the clinical variants of exudative AMD, polypoid vascular disease showed better visual recovery after treatment.

Introduzione

La degenerazione maculare senile (DMLE), retinopatia degenerativa legata all'età che colpisce la macula, rappresenta la principale causa di deficit irreversibile della funzione visiva centrale (cecità legale) nei soggetti con età maggiore di 50 anni residenti nei paesi occidentali. Vengono distinte una DMLE di tipo secco, (80% dei casi di DMLE) e una forma umida o essudativa (20% dei casi). La DMLE essudativa rappresenta la causa più frequente di neovascolarizzazioni sottoretiniche, causate dall'incremento di fattori proangiogenetici, primo fra tutti il *Vascular Endothelium Grow Factor* (VEGF) [1]. I fattori di rischio sono multipli; i principali ormai accertati comprendono l'invecchiamento fisiologico dell'EPR, una predisposizione genetica (principalmente CFH, APOE2, l'ABCE, gene che codifica per *ATP binding protein*) a cui si aggiunge una esposizione al fumo. Questi fattori determinano con differenti modalità un aumentato rilascio di fattori ossidanti e citochine infiammatorie aumentando l'apoptosi cellulare e richiamando macrofagi in loco [2]. Anche l'esposizione alla luce può favorire l'insorgenza della DMLE poiché la porzione ad alta energia nel blu svolge un'azione ossidativa sulla retina, indebolendo l'EPR e favorendo la formazione di piani di clivaggio retinici [3]. La DMLE è una patologia degenerativa della retina caratterizzata dalla presenza di almeno una delle seguenti entità:

- *drusen* (depositi sottoretinici di colore giallastro, escrescenze a livello della membrana basale dell'EPR);
- anomalie del complesso epitelio pigmentato-coriocapillare (*cluster* di pigmenti) che portano a ipo- o iperpigmentazione;
- atrofia geografica dell'EPR e della coriocapillare;
- maculopatia neovascolare, caratterizzata dalla presenza di CNV, neovascolarizzazioni coroideali [4].

La classificazione attualmente utilizzata distingue:

- CNV classica o occulta a seconda che la membrana neovascolare sia sopra sia sotto l'EPR (circa il 50-60% delle lesioni);
- proliferazione angiomatosa retinica (RAP), proliferazione vascolare intraretinica caratterizzata da una anastomosi vascolare retino-retinica (meno del 10% delle lesioni);
- vasculopatia polipoide della coroide, in cui si rilevano aneurismi a grappoli associati a distacchi sierosi ed emorragici del neuroepitelio e dell'EPR riscontrata nel 30-40% dei casi;
- anastomosi retino-coroideali, rara (meno del 5% dei casi) [5].

La perdita visiva nella DMLE essudativa è dovuta all'edema retinico e alla crescita di neovasi al di sotto dell'epitelio pigmentato retinico, con conseguente distacco essudativo secondario della retina ed emorragia subretinica [6]. Lo scopo principale della terapia è quello di stabilizzare la progressione neovascolare cercando di impedire l'allargamento della lesione e quindi la perdita visiva.

Negli anni ottanta e novanta la DMLE è stata trattata mediante fotocoagulazione diretta con laser termico [7]. Questa tecnica, però, si è rivelata essere insoddisfacente, sia per la parziale efficacia, sia perché è applicabile in una ridotta percentuale di pazienti, circa il 20% [8].

Alla fine degli anni novanta è stata introdotta la terapia fotodinamica con uso di verteporfina (PDT, *Photo-Dynamic Therapy*) la cui efficacia era limitata principalmente alla CNV classica. Deve essere però ripetuta più volte per procurare un risultato soddisfacente essendo frequenti le recidive. La PDT non è ugualmente efficace in tutti i tipi di CNV ed è responsabile della formazione di aree fibrotiche intraretiniche legate al trattamento [9].

Le conoscenze scientifiche acquisite nell'ultimo decennio nel campo dell'angiogenesi hanno portato allo sviluppo, dapprima in campo oncologico poi anche in altri campi compresa l'oftalmologia, della terapia anti-angiogenica che mira all'arresto della proliferazione vascolare [10]. Queste nuove terapie si sono dimostrate efficaci anche per la cura di alcune malattie oculari ad impronta vasogenica come la degenerazione maculare legata all'età, dove è necessario intervenire con trattamenti altamente selettivi per evitare la distruzione delle cellule neurosensoriali della retina centrale [11]. Il farmaco anti-VEGF più specifico per tale applicazione è Ranibizumab (Lucentis® Novartis), frammento di un anticorpo monoclonale umanizzato prodotto nelle cellule di *Escherichia Coli* mediante tecnologia del DNA ricombinante [12]. L'efficacia e la sicurezza del Ranibizumab è stata verificata in alcuni studi randomizzati in doppio cieco verso *sham* o controllo attivo in pazienti con DMLE neovascolare. Il primo studio di fase 3 eseguito con successo sulla CNV subfoveale minimamente classica od occulta è stato lo studio multicentrico denominato MARINA (*Minimally classic/occult trial of the Anti-VEGF antibody Ranibizumab In the treatment of Neovascular AMD*). Molti altri studi sono stati eseguiti su Ranibizumab: ANCHOR trial (*antiVEGF antibody for the treatment of predominantly classic choroidal neovascularization in AMD*) in cui si conclude che Ranibizumab è superiore alla verteporfina nel trattamento intravitreale della CNV prevalentemente classica con bassa incidenza di eventi avversi; lo studio FOCUS (*RhuFab V2 Ocular treatment combining the use of Visudyne to evaluate safety*), lo studio SAILOR (*Safety Assessment of Intravitreal Lucentis for AMD*) ed altri ancora.

Scopo del lavoro

Questo studio è stato disegnato per valutare l'efficacia nel tempo del trattamento anti-VEGF con Ranibizumab verso le neovascularizzazioni coroideali sottoretiniche stratificando la popolazione in rapporto al *visus* iniziale e al tipo di lesione.

I dati clinici sono stati ottenuti dal *database* AIFA contenente i dati immessi al momento della richiesta del farmaco secondo la procedura per i farmaci ad alto costo. Nello specifico la popolazione di studio è stata stratificata in tre gruppi in relazione al *visus* misurato nel pre-trattamento: il primo gruppo è costituito da pazienti con *visus* basso (2-3/10), il secondo *visus* intermedio (4-5-6/10), e il terzo *visus* alto (7-8/10). A tal scopo è stato seguito il protocollo di trattamento prescritto dall'AIFA.

Materiali e metodi

Dal Novembre 2009 al Aprile 2011 sono stati trattati con Ranibizumab 56 occhi di 56 pazienti con DMLE essudativa. La popolazione di studio comprende 25 uomini di età compresa tra 51 e 97 anni, 31 donne tra 64 e 90 anni di età. I criteri di inclusione sono la presenza di neovascolarizzazione sottoretinica e un *Best Visual Capacity Acuity* (BVCA) maggiore o uguale a 2/10.

Il farmaco viene somministrato per via intravitreale mediante iniezione transconiuntivale in *pars plana*, a 3.5-4 mm dal *limbus sclero-corneale*. Ogni ciclo terapeutico consiste in un'iniezione di 0.5 mg di Ranibizumab al mese, per tre mesi. Sono state condotte una valutazione basale il giorno precedente alla prima iniezione (t0) e una a tre mesi (t1) nel corso delle quali sono stati misurati i parametri BVCA (con tavola ottotipica secondo Snellen), pressione intraoculare, spessore retinico centrale, presenza/assenza di fluido sottoretinico (mediante OCT 3 Stratus), presenza/assenza di emorragia sottoretinica, area della lesione (mediante FAG con HRA2 Heildeberg). Nel corso delle valutazioni è stato condotto anche un esame del *fundus* alla lampada a fessura e una distinzione dei tipi di lesione neovascolare sulla base delle immagini fluoroangiografiche.

I dati ottenuti sono stati inseriti nel *database* dell'AIFA per il monitoraggio dei farmaci ad alto costo. La valutazione anatomo-funzionale comprende, ai fini dello studio, esclusivamente i dati quantitativi: BCVA, spessore retinico centrale (SRC), area della lesione (AL).

Risultati

Nella popolazione di studio, in seguito agli accertamenti clinici e strumentali, sono stati individuati 37 soggetti con CNV (classica od occulta), 13 con lesione polipoidale, 5 con RAP (in fase evolutiva iniziale) e 1 solo caso di macroaneurisma, che è stato escluso dallo studio in quanto si tratta di un tipo di lesione dal comportamento imprevedibile la cui risposta al trattamento anti-VEGF non è ancora chiara.

Considerando l'intera popolazione dal punto di vista funzionale è stato osservato il miglioramento dell'acuità visiva (BCVA) dopo tre mesi in 27 pazienti su 56 (48%); questo dato è risultato essere statisticamente significativo ($P=0.0198$). L'incremento medio del *visus* è stato quantificato in 0.7/10 (aumento del 21%). In 18 dei restanti pazienti (32%) si è invece verificato un peggioramento dell'acuità visiva, mentre 11 (19%) sono risultati stabili.

Dal punto di vista anatomico, lo spessore retinico centrale valutato con OCT è diminuito in 46 pazienti su 56 (82%), dato statisticamente significativo ($P=0.001$); lo spessore è rimasto invariato negli altri 10 (16%).

L'area della lesione valutata tramite fluoroangiografia retinica si è ridotta in 48 pazienti su 56 (85%), dato statisticamente significativo ($P=0.004$); in un unico caso l'area è rimasta invariata mentre nei rimanenti è aumentata (Figure 1, 2, 3).

L'analisi statistica eseguita con il test t di Student ha dato i risultati descritti, la differenza tra le medie osservate è stata considerata significativa per $P<0.05$ (Tabella 1).

Considerando l'effetto del farmaco in relazione alla tipologia di lesione (CNV, polipoidale, RAP) è emerso che, per quanto riguarda il *visus*, la RAP è la variante di DMLE associata mediamente ad un basso *visus* pre-trattamento (2.4/10); le CNV classiche ed occulte e le forme polipoidali si associano mediamente ad un *visus* pre-trattamento maggiore (rispettivamente 3.4/10 e 3.6/10).

L'incremento maggiore del *visus* a tre mesi è stato osservato nei soggetti con lesione polipoidale (aumento di 0.9/10) mentre nei soggetti con CNV classica od occulta è risultato 0.4/10. Nei pazienti con lesione tipo RAP l'aumento è stato del 0.8/10, similmente alle forme polipoidali, ma bisogna rilevare che, essendo basso il *visus* pre-trattamento, la BCVA finale è comunque inferiore rispetto agli altri gruppi.

Lo spessore retinico centrale medio pre-trattamento è risultato di 347 μm nei casi di RAP, 276 μm nelle CNV e 265 μm nelle polipoidali; alla fine del ciclo la riduzione di spessore è stata più marcata nel gruppo di RAP (di 134 μm , pari al 39%) rispetto agli altri due gruppi (23% nelle CNV, 31% nelle polipoidali).

La media delle aree di lesione per ciascun tipo di lesione misurata prima del trattamento era di 11.02 mm^2 nelle CNV, 5.86 mm^2 nelle polipoidali e 4.47 mm^2 nelle RAP. Al termine del trattamento la diminuzione maggiore è stata rilevata nei pazienti con lesioni polipoidali e RAP (rispettivamente del 38% e del 36%) mentre nei casi di CNV la diminuzione dell'area di lesione è stata del 27% (Figure 4, 5, 6).

L'analisi statistica ha dimostrato che la differenza dell'andamento dell'acuità visiva tra i tipi di lesione non è statisticamente significativa ($P=0.7333$); così come per lo spessore retinico centrale ($P=0.1586$) e per l'area della lesione ($P=0.8931$). Il motivo della mancanza di significatività tra tali parametri risiede probabilmente nell'esiguità del campione di studio.

Sono stati analizzati i risultati relativi all'effetto del farmaco sull'acuità visiva suddividendo i pazienti in 3 gruppi in rapporto alla BCVA misurata prima del trattamento. È stato rilevato che coloro che iniziano la terapia con *visus* basso (compreso tra 2/10 e 3/10) presentano un miglioramento medio di 0.75/10, meno marcato rispetto ai pazienti con *visus* intermedio (4/10, 5/10, 6/10), che manifestano un incremento medio di 1.7/10. Nell'esiguo gruppo di pazienti con maggiore acuità visiva pre-trattamento (7/10, 8/10) non si è riscontrato in media un miglioramento del *visus* ma piuttosto la sua stabilizzazione (Figura 7).

Discussione

Dalle analisi quantitative mediante OCT e FAG il trattamento intravitreale anti-VEGF si è dimostrato efficace sia per migliorare l'anatomia foveale che per la riduzione dello spessore e dell'area di lesione. Nel complesso il quadro funzionale e morfologico è migliorato dopo le iniezioni intravitreali di Ranibizumab in modo statisticamente significativo per i parametri considerati; non sono state inoltre riscontrate complicanze oculari e sistemiche nella popolazione di studio. Questi dati si correlano con l'inibizione della proliferazione vasale e del *leakage* di liquido nello spazio sotto-retinico che costituiscono il meccanismo d'azione del farmaco.

La forma polipoidale è risultata essere la variante con migliore prognosi visiva dopo il trattamento; si tratta comunque della variante meno aggressiva come evoluzione.

I risultati ottenuti confrontando la variazione di BCVA a tre mesi nei soggetti con *visus* pre-trattamento basso, intermedio e alto non è risultata statisticamente significativa a causa della ridotto numerosità del gruppo intermedio e alto. Si può comunque ipotizzare che l'entità del danno anatomico maculare sia tale da permettere un migliore recupero visivo nei casi con BCVA iniziale più elevata, ma solo un campione più vasto potrebbe chiarire questo aspetto. Le lesioni presenti nella DMLE umida in fase precoce, ancora senza un calo importante del *visus*, tendono a rispondere in misura minore di quelle presenti negli stadi successivi.

L'insieme di questi riscontri può essere interpretato considerando che il danno funzionale in parte è legato alla lesione dei fotorecettori e dell'epitelio pigmentato retinico, affacciati nello spazio sottoretinico, ma in parte anche è dovuto alla presenza di liquido sottoretinico e di edema retinico. Questi ultimi sono responsabili di un calo visivo reversibile almeno parzialmente con il loro riassorbimento sotto l'effetto antiedemigeno del Ranibizumab; la loro importanza fisiopatologica è maggiore nei casi con *visus* intermedio, nei quali le alterazioni dell'epitelio pigmentato, documentabili all'OCT, sono minori. Nei casi con *visus* basso, invece, le alterazioni cellulari potrebbero essere tali da consentire solo la stabilizzazione della situazione anatomica con un miglioramento funzionale limitato.

Tabelle e figure

Tabella 1. Andamento dei parametri nella popolazione di studio da 0 (t0) a 3 mesi (t1).

<i>DATASET</i>	BVCA	SRC(μm)	AL(mm²)
Media t0	3.3/10	283	9
Media t1	4/10	206	6.4
Deviazione Standard t0	1.78	84.9	28.7
Deviazione Standard t1	2.44	58.1	24.6
P (livello di significatività)	0.0198	0.001	0.004

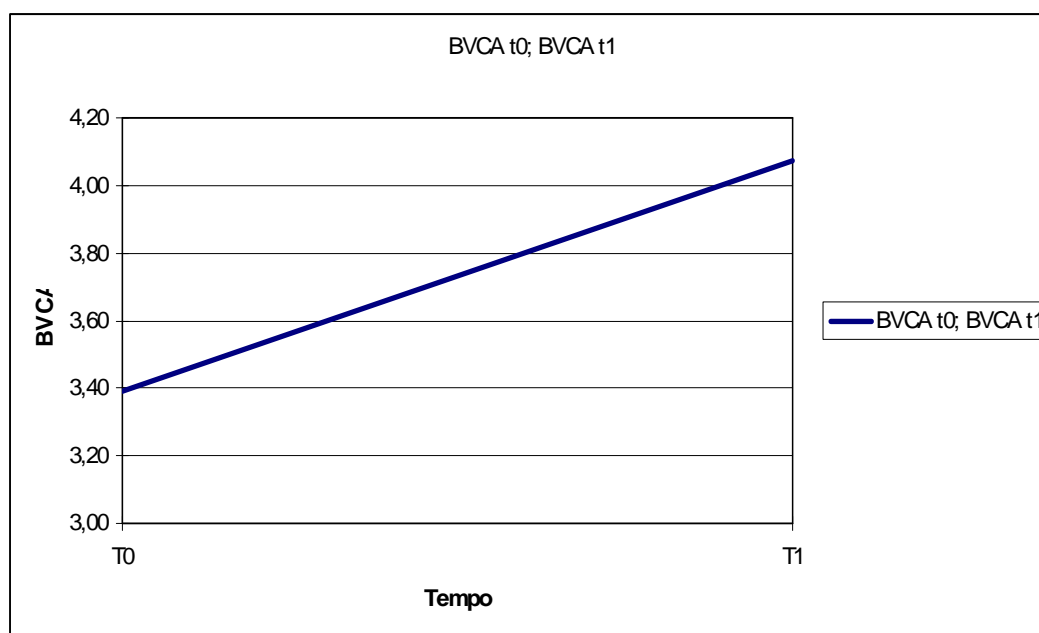


Figura 1. Andamento dell'acuità visiva media nel gruppo di studio.

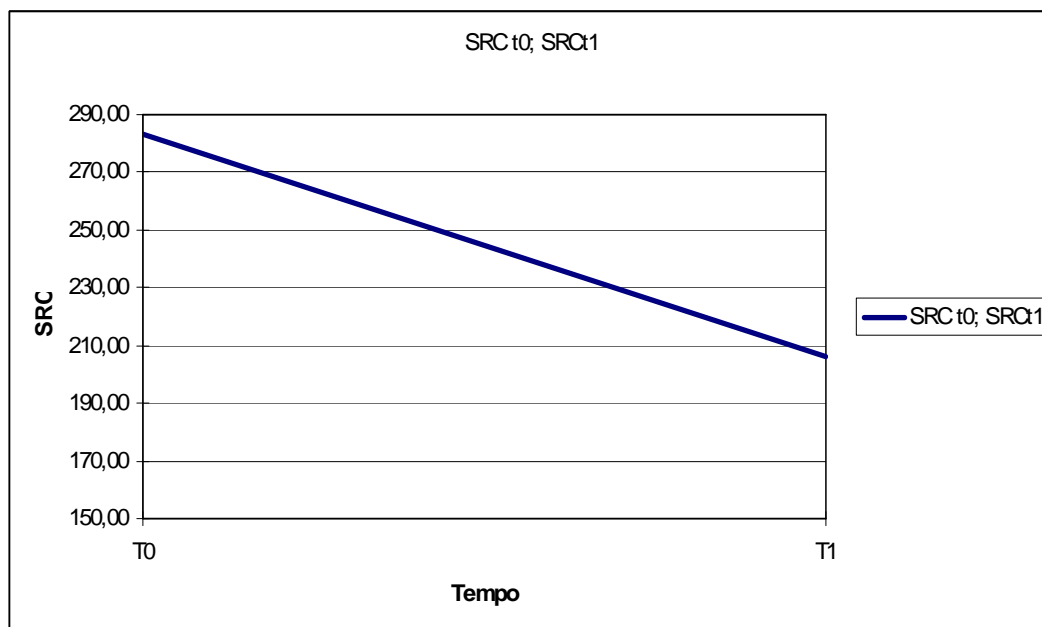


Figura 2. Andamento dello spessore retinico centrale medio (μm) nel gruppo di studio.

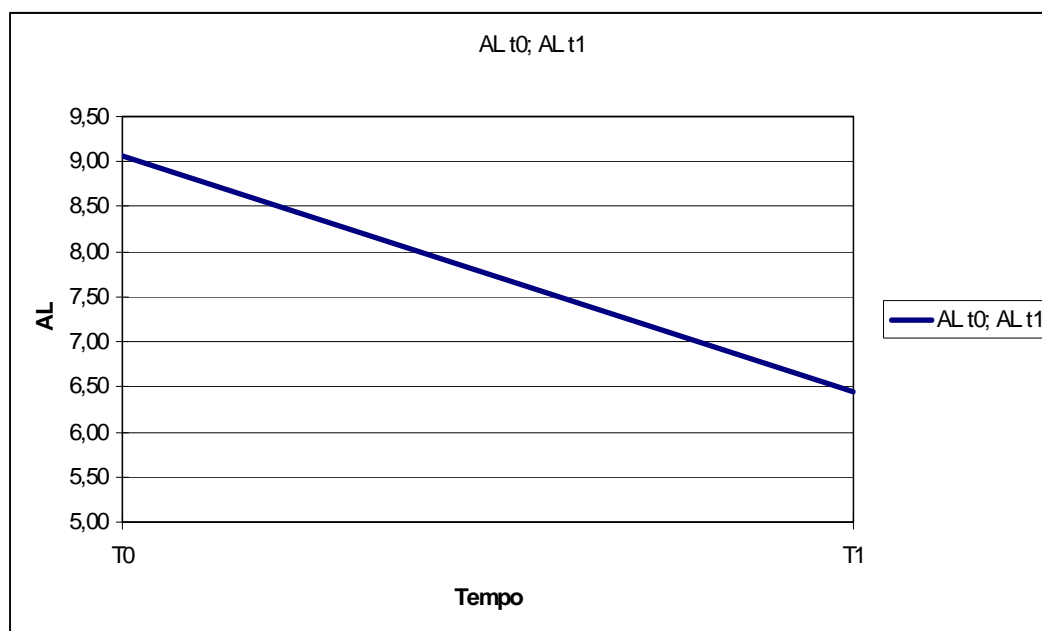


Figura 3. Andamento temporale dell'area della lesione media (mm²) nel gruppo di studio.

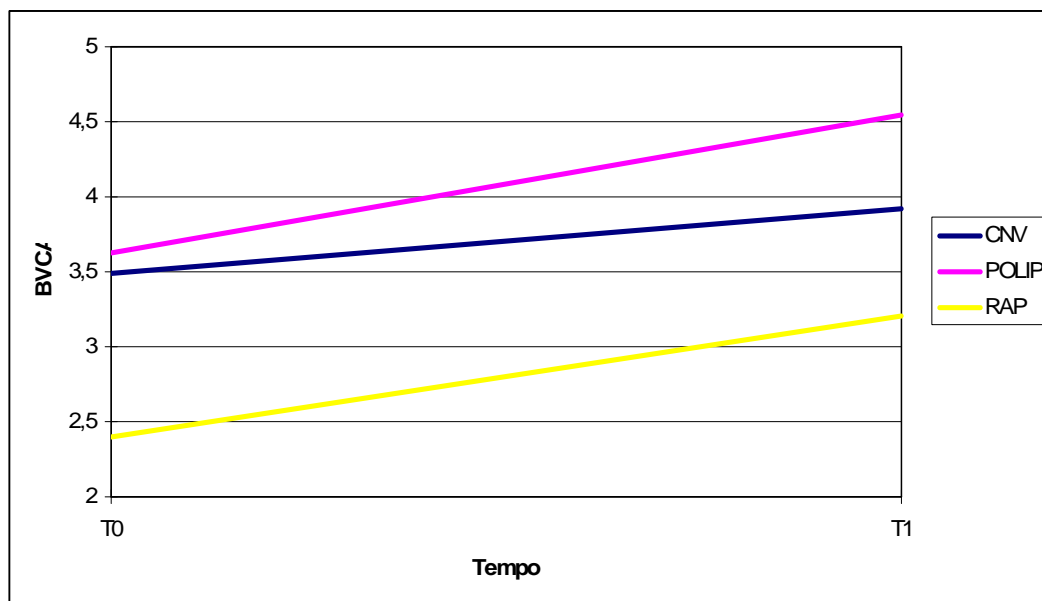


Figura 4. Andamento dell'acuità visiva per i diversi tipi di lesione.

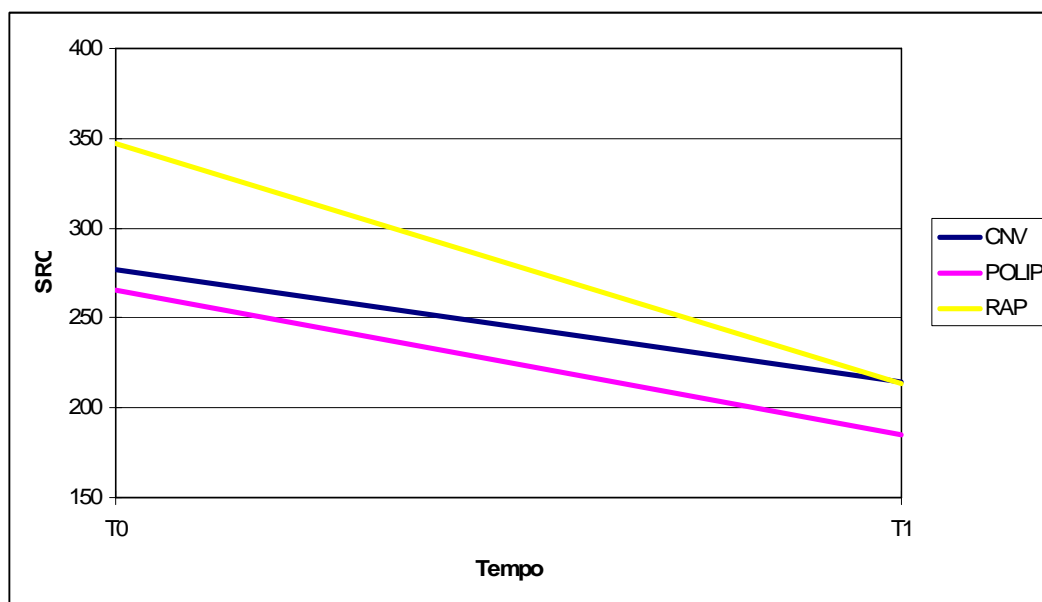


Figura 5. Andamento dello spessore retinico centrale (μm) per i diversi tipi di lesione.

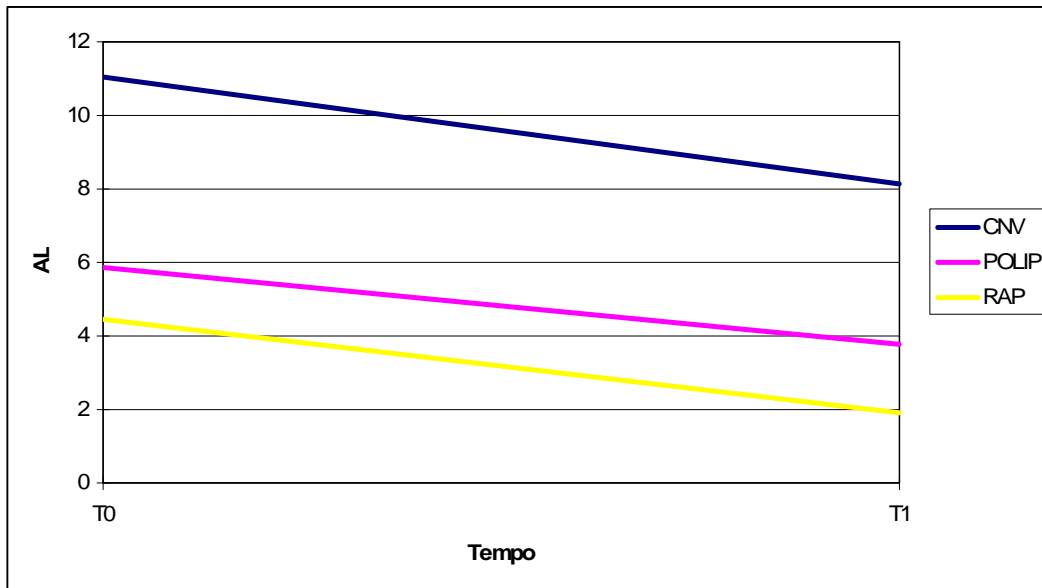


Figura 6. Andamento dell'area della lesione (mm²) per i diversi tipi di lesione.

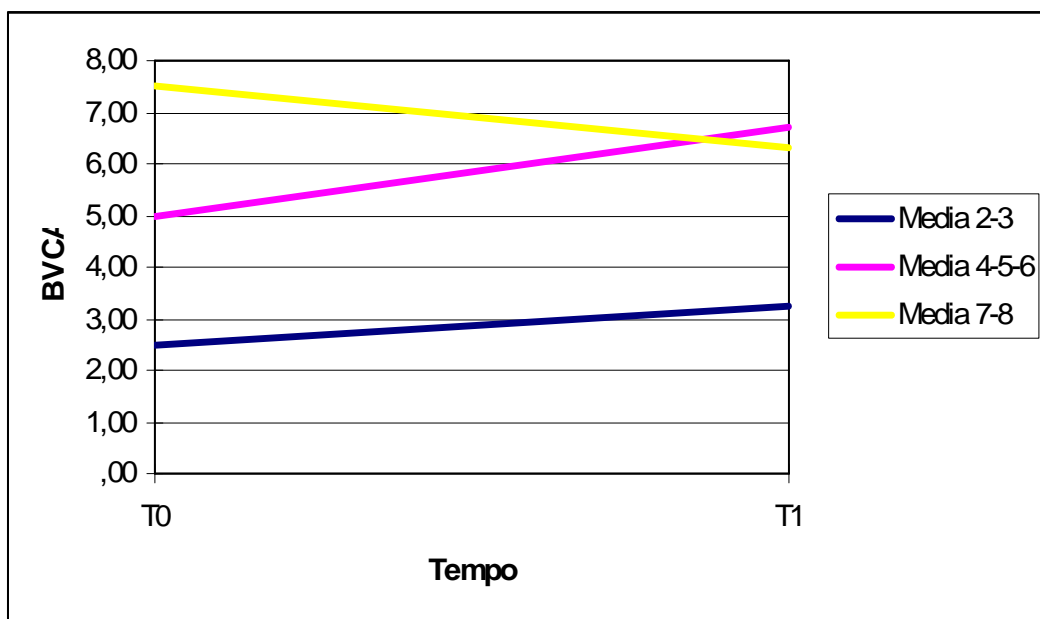


Figura 7. Andamento temporale della media dei *visus* per ciascun gruppo.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano la Dr.ssa Consuelo Gronda, ortottista, che ha contribuito alla raccolta dei dati clinici e all'esecuzione degli OCT.

Bibliografia

1. Adamis AP. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. *Retina* 2005;5:111-118.
2. Aiello L. Vascular endothelial growth factor and the eye: biochemical mechanisms of action and implications for novel therapies. *Ophthalmic Res* 1997;(29):354-362.
3. Aiello L, Pierce E, Folley ED et al. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (vegf) using soluble vegf receptor chimeric proteins. *Natl. Acad. Sci USA* 1995;(92):10457-10461.
4. Asano M, Yukita A, Matsumoto T et al. Inhibition of tumor growth and metastasis by an immunoneutralizing monoclonal antibody to human vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor. *Cancer Res* 1995;55:5296-5301.
5. Audren F, Lecleire-Collet A, Erginay A et al. Intravitreal triamcinolone acetate for diffuse diabetic macular edema: phase 2 trial comparing 4 mg vs 2 mg. *Am J Ophthalmol* 2006;142(5):794-799.
6. Bikfalvi A. Angiogenesis: molecular mechanisms of activation, promotion and maintenance. *J BUON* 2007;12(Suppl. 1):S59-66.
7. Brown DM, Kaiser PK, Michels M et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355(14):1432-1444.
8. Cekic O, Chang S, Tseng JJ et al. Intravitreal triamcinolone treatment for macular edema associated with central retinal vein occlusion and hemiretinal vein occlusion. *Retina* 2005;25(7):846-850.
9. Challa JK, Gillies MC, Penfold PL et al. Exudative macular degeneration and intravitreal triamcinolone: 18 month follow up. *N Z J Ophthalmol* 1998;26(4):277-281.
10. Chaparro M, Sanz-Cameno P, Trapero-Marugan M et al. Mechanisms of angiogenesis in chronic inflammatory liver disease. *Ann Hepatol* 2007;6(4):208-213.
11. Ciulla TA, Criswell MH, Danis RP et al. Intravitreal triamcinolone acetate inhibits choroidal neovascularization in a laser-treated rat model. *Arch Ophthalmol* 2001;119(3):399-404.
12. de Jong PT. Age related macular degeneration. *The new englnd journal of medicine* 2006;(355):1474-1485.