

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**JOÃO CARLOS DINIZ ARRAES**

---

**BEVACIZUMABE INTRA-VÍTREO:**

**ANÁLISE DA TOXICIDADE RETINIANA APÓS 3 MESES**

**EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS**

---

**Goiânia  
2009**

**JOÃO CARLOS DINIZ ARRAES**

---

---

**BEVACIZUMABE INTRA-VÍTREO: ANÁLISE DA TOXICIDADE RETINIANA**

**APÓS 3 MESES EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS**

---

---

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pereira de Ávila

**Goiânia  
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**(GPT/BC/UFG)**

Arraes, João Carlos Diniz.

A773b Bevacizumabe intra-vítreo: análise da toxicidade retiniana após 3 meses em olhos de coelhos não albinos [manuscrito] / João Carlos Diniz Arraes. – 2009.

124 f. : il., color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pereira de Ávila

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2009.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, tabelas, símbolos, siglas e abreviaturas.

Anexos.

1. Retina – Mácula Lútea – Coelhos 2. Bevacizumabe 3. Drogas Anti-Angiogênicas – Toxicidade I. Ávila, Marcos Pereira.

II. Universidade Federal de Goiás. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**

III. Título.

CDU: 617.736:636.92

**BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO**

**Aluno: JOÃO CARLOS DINIZ ARRAES**

---

**Orientador: PROF. DR. MARCOS PEREIRA DE ÁVILA**

**Membros:**

1. Prof. Dr. Marcos Pereira de Ávila

2. Prof. Dr. Fernando Oréfice

3. Prof. Dr. David Leonardo Cruvinel Isaac

4. Prof. Dr. Francisco Eduardo Lima

5. Prof. Dr. Claudemiro Quireze Júnior

**Data: 19/06/2009**

***Dedico este trabalho a minha família.***

*Em especial a minha esposa Tatiana pelo eterno apoio e companheirismo em mais esta conquista de nossa vida, pelo empenho na educação de nossos filhos, essenciais na construção de nosso núcleo familiar, permitindo, assim, meu empenho diuturno neste trabalho.*

Aos meus filhos, João Felipe e Júlia, pelo incentivo de nos fazermos maiores a cada dia e construirmos um exemplo de uma vida correta e acadêmica a ser seguido.

Ao meu pai, João Arraes, por acreditar fielmente em todo meu projeto de vida até hoje, pelo apoio fundamental em cada passo conquistado de minha carreira pessoal, acadêmica e profissional e pelo exemplo de honestidade e bondade infinitas possíveis em um ser humano.

À minha mãe, Cármen Lúcia, por todos os ensinamentos éticos necessários na construção de minha personalidade, por todo o incentivo ao meu crescimento acadêmico e profissional desde os primeiros passos da minha vida e pelo carinho e amor espontâneos demonstrados durante todo este caminho.

A todos vocês, minha eterna e mais sincera gratidão.

## **AGRADECIMENTOS**

---

Ao Professor Doutor Marcos Ávila, Professor Titular da Disciplina de Oftalmologia e Chefe do Centro de Referência em Oftalmologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, pelo exemplo pessoal e profissional a ser seguido e pela orientação neste trabalho.

A Elilson Batista, médico-veterinário, pelo apoio e parceria essenciais ao desenvolvimento e conclusão deste projeto de pesquisa.

A Roberto Tedesco, biólogo e doutor da Fundação Oswaldo Cruz, pelo apoio e ensinamentos na análise histológica realizados neste trabalho.

Ao Professor Doutor David Leonardo Cruvinel Isaac, da Universidade Federal de Goiás pela ajuda dada durante toda a estruturação desta tese de doutorado.

À Professora Doutora Marise Moreira, médica patologista do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, pela ajuda na análise histológica deste projeto de pesquisa.

À Senhorita Márcia Gomes, técnica em exames do Hospital de Olhos de Palmas, pela ajuda nos procedimentos realizados durante o trabalho experimental com os coelhos.

À Professora Doutora Núbia Cristina Freitas Maia, Coordenadora do Curso de Medicina e Professora da Disciplina de Oftalmologia da Universidade Federal do Tocantins pelo apoio e credibilidade dada nas fases de desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

# SUMÁRIO

<b>TABELAS, FIGURAS E ANEXOS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XIV</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XV</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
1.1 A DEGENERAÇÃO MACULAR RELACIONADA À IDADE (DMRI) .....	16
1.2 O TRATAMENTO CIRURGICO E FOTODESTRUTIVO DA MEMBRANA NEOVASCULAR SUB-RETINIANA (MNSR).....	18
1.3 A TERAPIA ANTI-ANGIOGÊNICA .....	20
1.4 O BEVACIZUMABE .....	28
1.5 A RETINA .....	30
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>36</b>
<b>3 MÉTODOS .....</b>	<b>37</b>
3.1. DESENHO DO ESTUDO .....	37
3.2. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	37
3.3. OS ANIMAIS.....	37
3.4. A DROGA .....	42
3.5. GRUPOS DE ESTUDO .....	43
3.6. PROCEDIMENTOS.....	45
3.7. A ANÁLISE HISTOLÓGICA DA RETINA.....	49
3.8. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
4.1 OS EFEITOS DO PROCEDIMENTO DE INJEÇÃO INTRA-VITREA EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS.....	56
4.2 OS EFEITOS DO BEVACIZUMABE EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS: A ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	57
4.2.1 GRUPO CONTROLE .....	57

4.2.2 GRUPO PLACEBO .....	63
4.2.3 GRUPO 1 .....	66
4.2.4 GRUPO 2 .....	68
4.2.5 ANÁLISE DAS ESPESSURAS DAS CAMADAS DA RETINA NEUROSENSORIAL .....	70
4.2.6 ANÁLISE DO EPITÉLIO PIGMENTADO DA RETINA .....	73
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>75</b>
5.1 A INJEÇÃO INTRA-VÍTREA EM OLHOS DE COELHOS NÃO-ALBINOS .....	75
5.2 OS EFEITOS DO BEVACIZUMABE EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS.....	78
5.2.1 A ANÁLISE DA RETINA NEUROSENSORIAL. ....	78
5.2.2 A ANÁLISE DO EPITÉLIO PIGMENTADO DA RETINA.....	81
5.3 PERSPECTIVAS FUTURAS .....	83
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>85</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>100</b>
ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	100
ANEXO 2 – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DOS RESPECTIVOS PERIÓDICOS.....	101
ANEXO 3 – BULA DO AVASTIN (ROCHE, 2006).....	107
ANEXO 4 - DOCUMENTO DE ISENÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE .....	121
ANEXO 5 - REGISTRO DO AVASTIN® NA AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA .....	122

## TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

---

### TABELAS

<i>Tabela 1. Distribuição de peso e sexo dos coelhos.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabela 2. Distribuição dos olhos dos coelhos submetidos a injeção intra-vítrea nos grupos de estudo.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabela 3. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo controle com respectivos peso e sexo.</i>	<i>53</i>
<i>Tabela 4. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo placebo com respectivos peso e sexo.</i>	<i>54</i>
<i>Tabela 5. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo 1 com respectivos peso e sexo.....</i>	<i>54</i>
<i>Tabela 6. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo 2 com respectivos peso e sexo.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabela 7. Valores médios do peso com respectivos desvios-padrão e freqüências absolutas e relativas do sexo nos grupos estudados.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabela 8. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo controle .....</i>	<i>63</i>
<i>Tabela 9. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo placebo .....</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 10. Comparação das espessuras das camadas EPR, FR, CNE, CNI e do número de estratos celulares na CNE entre os grupos controle e placebo.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 11. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo 1. ....</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 12. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo 2 .....</i>	<i>70</i>
<i>Tabela 13. Comparação das espessuras das camadas EPR, FR, CNE, CNI e do número de estratos celulares na CNE entre o grupo placebo e o grupo 1.....</i>	<i>72</i>

<i>Tabela 14. Comparação das espessuras das camadas EPR, FR, CNE, CNI e do número de estratos celulares na CNE entre o grupo placebo e o grupo 2 .....</i>	<i>73</i>
<i>Tabela 15. Comparação da espessura do EPR entre o grupo placebo e os grupos 1 e 2. ....</i>	<i>74</i>

## **FIGURAS**

<i>Figura 1. Desenho esquemático mostrando as alterações da forma seca da DMRI. ....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 2. Desenho esquemático mostrando o crescimento de neovasos coroidais (NVC) para o espaço subretiniano na DMRI úmida ou neovascular. ....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 3. Relação entre ranibizumabe e bevacizumabe.....</i>	<i>24</i>
<i>Figura 4. Desenho esquemático mostrando as regiões macroscópicas da retina. ....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 5. Descolamento de retina.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 6. Artefato de preparação da peça com destacamento da retina.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 7. Exemplo de lesão aos fotorreceptores.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 8. Identificação por meio de tatuagem numérica na orelha.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 9. Gaiola individual metálica. ....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 10. Frasco-ampola de Bevacizumabe. ....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 11. Injeção intra-vítrea a 2mm do limbo após adequada anti-sepsia e isolamento ciliar. ....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 12. Punção da veia marginal do coelho.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 13. Microscópio Zeiss AxioPlan2 com sistema de captura de imagens AxioPhot2 utilizado na análise das lâminas dos olhos do estudo. ....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 14. Grupo Controle - olho direito do coelho C. Foto da lâmina para análise histológica da retina neurosensorial e epitélio pigmentado da retina. ....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 15. Grupo Controle - olho direito do coelho C. Espessura da camada de fotorreceptores compreendida entre o EPR e a MLE. ....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 16. Grupo Controle - olho esquerdo do coelho B. Espessura da camada nuclear externa (CNE) compreendida entre a MLE e CPE. ....</i>	<i>60</i>

<i>Figura 17. Grupo Controle - olho esquerdo do coelho A. Espessura da camada nuclear interna (CNI) compreendida entre a CPE e CPI. ....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 18. Grupo Controle - olho direito do coelho A. Camada de células ganglionares.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 19. Grupo Controle - olho direito do coelho C. Aspecto contínuo e a espessura do EPR. ....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 20. Grupo Placebo - olho esquerdo do coelho 2.. ....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 21. Grupo 1 - Injeção de 1,25mg/0,1ml de bevacizumabe - Olho direito do Coelho 3.....</i>	<i>67</i>
<i>Figura 22. Grupo 2 - Injeção de 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe. Olho esquerdo do coelho 12..</i>	<i>69</i>
<i>Figura 23. Comparação da espessura da camada de fotorreceptores entre o grupo placebo (solução salina balanceada), grupo 1 (bevacizumabe 1,25mg/0,1ml) e grupo 2 (bevacizumabe 2,5mg/0,1ml). ....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 24. A espessura da CNE (seta vermelha) e da CNI (seta amarela) no grupo 1 (bevacizumabe 1,25mg/0,1ml) e no grupo 2 (bevacizumabe 2,5mg/0,1ml) não diferiu do grupo placebo (solução salina balanceada). O número de camada celulares da CNE variou de 5 a 7 estratos nos 3 grupos, não diferindo significativamente entre eles.....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 25. Fotos do EPR representativas dos 3 grupos de estudo em que foi realizada injeção intra-vítrea. ....</i>	<i>74</i>

## **ANEXOS**

<i>ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....</i>	<i>100</i>
<i>ANEXO 2 – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DOS RESPECTIVOS PERIÓDICOS.....</i>	<i>101</i>
<i>ANEXO 3 – BULA DO AVASTIN (ROCHE, 2006).....</i>	<i>107</i>
<i>ANEXO 4 - DOCUMENTO DE ISENÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE .....</i>	<i>121</i>
<i>ANEXO 5. REGISTRO DO AVASTIN® NA AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA .....</i>	<i>122</i>

## SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

---

µm: Micrômetros

%: Por cento

ANOVA: Análise de Variância

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ARVO: do inglês, “Association for Research in Vision and Ophthalmology”

ATL: Área total da lesão

CCG: Camada de células ganglionares

CEROF: Centro de Referência em Oftalmologia

CFN: Camada de Fibras Nervosas

CNE: Camada Nuclear Externa

CNI: Camada Nuclear Interna

CPE: Camada Plexiforme Externa

CPI: Camada Plexiforme Interna

DMRI: Degeneração macular relacionada à idade

DP: Desvio-padrão

EPR: Epitélio pigmentado da retina

et al: e outros

ETDRS: do inglês, “Early Treatment Diabetic Retinopathy Study”

FDA: do inglês, “Food and Drug Administration”

FR: Fotorreceptores

g: gramas

GRUPO 1: Grupo em que foi injetado 1,25mg/0,1ml de bevacizumabe intra-vítreo

GRUPO 2: Grupo em que foi injetado 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe intra-vítreo

GRUPO P: Grupo em que foi injetado 0,1ml de solução salina balanceada intra-vítrea

Gy: Gray

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IV: Intra-vítreo

IVI: do inglês, “intravitreal injection”

mg: miligramas

ml: mililitros

MLE: Membrana limitante externa

MLI: Membrana limitante interna

mm: milímetros

MNSR: Membrana neovascular sub-retiniana

MNSR-MC: Membrana neovascular sub-retiniana minimamente clássica

MNSR-O: Membrana neovascular sub-retiniana oculta

MNSR-PC: Membrana neovascular sub-retiniana predominantemente clássica

OBI: Oftalmoscopia binocular indireta

°C: Graus Celsius

*OFF-LABEL*: Uso de uma medicação para finalidade diferente daquela aprovada pelos órgãos regulamentadores.

RNS: Retina neurosensorial

SSB: Solução salina balanceada

TAP: do inglês, "Treatment of Age-related Macular Degeneration with Photodynamic Therapy"

TFD-V: Terapia fotodinâmica com verterporfina

TTT: Termoterapia transpupilar

UFG: Universidade Federal de Goiás

VEGF: do inglês, "Vascular endothelial growth factor"

VEGF-R: Receptor do VEGF

## RESUMO

---

**INTRODUÇÃO:** A terapia anti-angiogênica tornou-se o tratamento de primeira linha para a forma neovascular da degeneração macular relacionada à idade. O Bevacizumabe é uma droga com boa eficácia e custo-efetividade, porém seu uso nesta doença ainda é considerado *off-label*. **OBJETIVOS:** Avaliar a toxicidade sobre a retina neurossensorial (RNS) e epitélio pigmentado da retina (EPR) da injeção intra-vítrea (IV) de bevacizumabe em olhos de coelhos não albinos; avaliar se o aumento súbito do volume vítreo após a injeção IV de 0,1ml de solução salina balanceada (SSB) no olho do coelho leva a danos histológicos na RNS e EPR; e avaliar as complicações clínicas pós-operatórias após a injeção IV em olhos de coelhos. **MÉTODOS:** 18 coelhos não albinos (36 olhos) foram distribuídos em 4 grupos. O grupo controle (3 coelhos – 6 olhos), o qual não recebeu injeção IV, foi sacrificado no início do estudo. Os trinta olhos dos 15 coelhos restantes foram distribuídos em 3 grupos (1:1:1): Grupo Placebo (injeção IV de 0,1ml de SSB); Grupo 1 (injeção IV de 1,25mg/0,1ml de bevacizumabe); e Grupo 2 (injeção IV de 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe). Os coelhos foram acompanhados por um período de 90 dias após o procedimento, quando então foram submetidos a eutanásia. Todos os coelhos tiveram seus olhos enucleados e avaliados histologicamente. Foram realizadas avaliação clínica pós-operatória (inspeção do segmento anterior e oftalmoscopia binocular indireta) e avaliação histológica da morfologia e da espessura das camadas da RNS e EPR. **RESULTADOS:** Não foram observadas complicações clínicas pós-operatórias significantes. A morfologia histológica e espessura das camadas da RNS e EPR não apresentou diferença significativa entre os grupos controle e placebo, grupo placebo e grupo 1 e grupo placebo e grupo 2. **CONCLUSÕES:** A injeção IV de 1,25mg/0,1ml e 2,5mg/0,1ml bevacizumabe não leva a alterações histológicas tóxicas na RNS e EPR, nem a complicações clínicas pós-operatórias importantes em olhos de coelhos não albinos. A injeção IV de 0,1ml de SSB não leva a danos histológicos ao RNS e ao EPR em olhos de coelhos não albinos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Inibidores da Angiogênese; Degeneração Macular; Neovascularização Patológica; Mácula Lútea; Drogas Anti-Angiogênicas/Toxicidade; Bevacizumabe

## ABSTRACT

---

**BACKGROUND:** Antiangiogenesis therapy has become a first-line treatment for neovascular age-related macular degeneration (AMD). Bevacizumab has proven to be efficient and cost effective, however its use in AMD is still off-label. **PURPOSES:** Evaluating the histological toxicity of bevacizumab on the neurosensorial retina (NSR) and the retinal pigmented epithelium (RPE) in pigmented rabbit eyes; evaluating if a fast increase in vitreous volume after a 0.1 ml balanced saline solution (BSS) intravitreal injection (IVI) in a rabbit eye will lead to histological damages in the NSR and RPE; and evaluating postoperative clinical complications after an IVI in rabbits' eyes. **METHODS:** Eighteen pigmented rabbits (36 eyes) were divided into 4 groups – a Control Group (3 rabbits - 6 eyes), which did not receive any IVI; the rabbits were sacrificed at the beginning of the study. Thirty eyes of the fifteen remaining rabbits were distributed to three groups: a sham group (S), that received a 0.1 ml balanced saline solution (BSS) IVI (ten eyes); group 1, that received a 1.25 mg (0.1 ml) bevacizumab IVI (ten eyes); and group 2, that received a 2.5 mg (0.1 ml) bevacizumab IVI (ten eyes). Postoperative clinical evaluation included inspection of the anterior segment and indirect binocular ophthalmoscopy. The rabbits were sacrificed 90 days after the procedure and both eyes of all the rabbits were enucleated. Histological examination of the NSR and RPE were performed and their morphological features and layer thickness were analyzed. **RESULTS:** No significant postoperative clinical complications were observed either in the neurosensorial retina or in the RPE. Histological morphology and thickness of the NSR and RPE layers did not differ significantly between BSS-injected eyes and bevacizumab-injected eyes. **CONCLUSIONS:** A rapid increase in vitreous volume, after 0.1 ml BSS IVI did not lead to any histological damage in the NSR and RPE in rabbit eyes. After a 90-day follow-up period, a single Bevacizumab 1.25 and 2.5 mg intravitreal injection did not lead any toxic damage in the NSR and RPE. No important postoperative complications in pigmented rabbit eyes were observed and it appears to be a safe procedure for the treatment of retinal neovascular diseases.

**KEYWORDS:** Angiogenesis Inhibitors; Macular Degeneration; Neovascularization, Pathologic; Macula Lutea; Antiangiogenic drugs/Toxicity; Bevacizumab

# 1 INTRODUÇÃO

---

## 1.1 A DEGENERAÇÃO MACULAR RELACIONADA À IDADE (DMRI)

A DMRI é a maior causa de perda da visão central em pacientes com idade superior a 65 anos de idade na América do Norte e na Europa (KLEIN *et al.*, 1992; VINGERLING *et al.*, 1995) e corresponde a 8,7% do total das causas de cegueira no mundo (RESNIKOFF *et al.*, 2004). Ela se apresenta nas formas seca e úmida ou neovascular. A forma seca corresponde a 85 ou 90% dos casos (Figura 1), sendo, entretanto, a forma neovascular responsável por 80% daqueles com baixa visual grave (perda de seis ou mais linhas de visão na acuidade visual medida pela tabela do *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* - ETDRS). Esta forma está ligada ao crescimento de neovasos coroidais para o espaço subretiniano (BRESSLER *et al.*, 1988; ÁVILA *et al.*, 2000). (Figura 2)

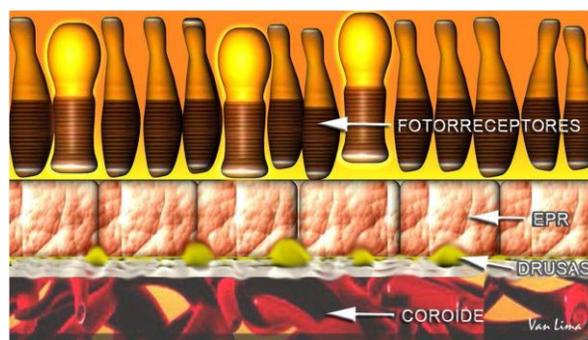


Figura 1. Desenho esquemático mostrando as alterações da forma seca da DMRI. Nota-se a presença de drusas abaixo do epitélio pigmentado da retina (cedido por Dr. David Leonardo Cruvinel Isaac).

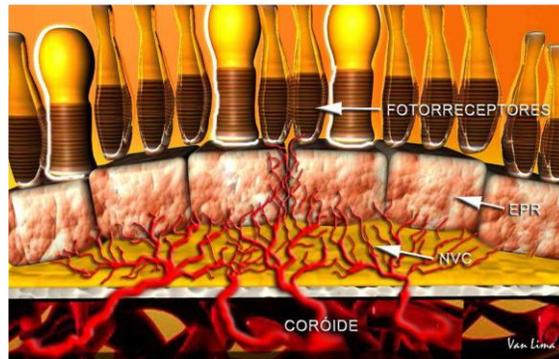


Figura 2. Desenho esquemático mostrando o crescimento de neovasos coroidais (NVC) para o espaço subretiniano na DMRI úmida ou neovascular (cedido por Dr. David Leonardo Cruvinel Isaac).

Estima-se que cerca de um milhão de pessoas com mais de 55 anos desenvolverão a doença nos Estados Unidos da América nos próximos cinco anos (BRESSLER *et al.*, 2003). Fatores que contribuem para o aumento de sua frequência envolvem o grande crescimento populacional, assim como o aumento da expectativa de vida, a excessiva exposição aos raios ultravioleta do sol, o baixo consumo de frutas e vegetais, o uso abusivo de álcool e tabaco e o aumento da prevalência de doenças cardiovasculares (AREDS, 2000; EHRLICH *et al.*, 2008). Fatores genéticos, como o polimorfismo Y402H no gene do fator de complemento H, mostraram também envolvimento na gênese, progressão e resposta ao tratamento da doença (KLEIN *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2008; SEDDON *et al.*, 2008).

O Brasil registrou, no ano 2000, 34 milhões de indivíduos com 55 anos ou mais de idade (20% de sua população total), segundo dados do IBGE (Censo Demográfico 2000). Cinco milhões (14% da população com idade igual ou superior a 55 anos) de brasileiros são prováveis portadores de DMRI, o que

leva à estimativa de que entre 500 e 750 mil pessoas devem portar a forma neovascular da doença no país (BRESSLER *et al.*, 2003). Isto indica ser a DMRI neovascular um importante problema de saúde pública em populações dessa faixa etária. Grandes investimentos têm sido feitos em busca de um tratamento mais eficaz para a doença.

## 1.2 O TRATAMENTO CIRÚRGICO E FOTODESTRUTIVO DA MEMBRANA NEOVASCULAR SUB-RETINIANA (MNSR)

Até recentemente, o tratamento da DMRI neovascular se baseava na destruição da MNSR, por meio da fotocoagulação a laser. Este tipo de terapia, no entanto, trata a MNSR por meio do bloqueio térmico não seletivo da lesão, o que elimina a possibilidade de recuperação visual, uma vez que a retina sobrejacente também é destruída, além de apresentar alta taxa de recorrência da neovascularização. Atualmente a fotocoagulação a laser tem sua utilização restrita a casos de MNSR extra-foveais (distantes pelo menos 200 micrômetros do centro foveal) (MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP, 1982; 1986; 1990; 1991b; a; 1993; 1994).

O tratamento cirúrgico das MNSR também foi tentado em um passado recente. A remoção cirúrgica das MNSR subfoveais em pacientes com DMRI, embora com sucesso em raros casos, não mostrou melhora da acuidade visual quando comparada ao grupo controle, nos acompanhamentos de curto e longo prazo (HAWKINS *et al.*, 2004; FALKNER *et al.*, 2007). O transplante autológico do complexo epitélio pigmentar da retina–membrana de Bruch e a cirurgia de

translocação macular, apesar de apresentarem estabilização da acuidade visual em alguns casos, possuem a proliferação vítreo-retiniana como uma grande limitação do seu sucesso (MA *et al.*, 2008; WICKHAM *et al.*, 2008)

Novas terapias têm tentado tratar a MNSR sem destruir a retina subjacente, entre as quais se destacam a termoterapia transpupilar (TTT), a terapia fotodinâmica com verteporfina (TFD-V) e a braquiterapia com estrôncio-90. O TTT utiliza laser de diodo vermelho, com baixa irradiância, no entanto, resultados recentes apontam para a ineficiência, não reprodutibilidade da técnica e o surgimento de complicações (REICHEL *et al.*, 1999; GUSTAVSSON e AGARDH, 2004; 2005; TSAI *et al.*, 2007).

A TFD-V baseia-se na aplicação endovenosa de uma droga fotossensibilizante, a verteporfina, que possui alta afinidade por vasos neoformados e ativada localmente no olho pela aplicação de laser de baixa intensidade (SCHMIDT-ERFURTH *et al.*, 2007). Para a utilização da TFD-V com verteporfina, uma nova classificação das MNSR foi criada com base na relação da área de neovasos coroidais que mostram limites bem definidos em relação à área total da lesão (ATL) na angiografia fluoresceínica. Considera-se membrana oculta (MNSR-O) aquela em que não se observam pontos de definição do complexo neovascular em toda a lesão e, membrana clássica, quando se evidencia MNSR com limites bem definidos. As membranas clássicas que possuem área de MNSR bem definida menor que 50% da ATL foram chamadas de minimamente clássicas (MNSR-MC) e as que possuem área de MNSR bem-definidos maior que 50% da ATL foram chamadas de predominantemente clássicas (MNSR-PC)(T.A.P., 1999).

A TFD-V com verteporfina conseguiu diminuir o risco de perda visual grave e o crescimento da lesão em pacientes com MNSR-PC subfoveais. Estas, no entanto, representam aproximadamente 13% do total de MNSR secundárias à DMRI. Soma-se a este fato o custo da terapia fotodinâmica com verteporfina, a necessidade de múltiplos retratamentos e a progressiva piora na acuidade visual experimentada por muitos pacientes, a despeito da terapia (T.A.P., 1999; MURJANEH *et al.*, 2008).

A braquiterapia com estrôncio-90, realizada pela aplicação epirretiniana de 24gy de radiação beta por meio da realização de uma cirurgia vítreo-retiniana, vem mostrando bons resultados na estabilização e melhora visual sem efeitos adversos relacionados à radiação (AVILA *et al.*, 2008).

### 1.3 A TERAPIA ANTI-ANGIOGÊNICA

Paralelamente às terapias fotossensibilizantes ou fotodestrutivas para a MNSR, outra modalidade de tratamento ressurgiu de forma promissora: a terapia farmacológica. A descrição do envolvimento de fatores angiogênicos no surgimento de neovasos retinianos (AIELLO *et al.*, 1995; MILLER, 1997) e coroidais (KRZYSTOLIK *et al.*, 2002) em estudos experimentais, estimulou a pesquisa e a utilização de drogas anti-angiogênicas no tratamento da forma neovascular da DMRI.

Considera-se o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) como estímulo para o surgimento de neovascularização na DMRI, induzindo

inflamação e aumento da permeabilidade vascular 50 mil vezes mais do que a histamina (FRANK *et al.*, 1996; KVANTA *et al.*, 1996; LOPEZ *et al.*, 1996; KLIFFEN *et al.*, 1997; OTANI *et al.*, 2002; AMERI *et al.*, 2007). Este aumento do extravasamento vascular é a principal causa da baixa de acuidade visual inicial na DMRI neovascular (DVORAK *et al.*, 1995). Em humanos, a alta concentração de VEGF intra-ocular em pacientes portadores de DMRI exsudativa corrobora o envolvimento deste fator no surgimento e desenvolvimento da MNSR (HERA *et al.*, 2005).

A família do gene VEGF é composta pelo VEGF-A, -B, -C, -D e o fator de crescimento placentário, que se liga com diferentes afinidades a 3 tipos de receptores VEGF (VEGFR) (BHISITKUL, 2006).

O VEGF, conhecido classicamente, refere-se ao VEGF-A e é codificado no cromossomo 6, sendo produzido em diferentes isoformas, onde as três mais importantes na angiogênese, tanto fisiológica como patológica são os VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub> e VEGF<sub>189</sub>, que, por sua vez, atuam sobre os receptores VEGFR-1 e VEGFR-2 (ADAMIS e SHIMA, 2005; RAHIMI, 2006).

A aplicação intra-vítrea de corticosteróides, como a triancinolona, tenta realizar um bloqueio do VEGF e dos fatores mediadores da inflamação nas MNSR, no entanto, seu insucesso em evitar a baixa visual grave em pacientes com MNSR e a associação com complicações oculares, como catarata e glaucoma, limitam seu uso (GILLIES *et al.*, 2003; BYLSMA e GUYMER, 2005).

Evidências de que a isoforma VEGF<sub>165</sub> seria a maior responsável pela neovascularização coroidal na DMRI estimularam o desenvolvimento de uma droga aptâmera para bloquear sua ação: o Pegaptanibe (Macugen<sup>®</sup>, PFIZER),

aprovada nos Estados Unidos pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e no Brasil pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para tratamento das MNSR secundárias da DMRI. Análise feita um ano após a administração de uma injeção intra-vítrea a cada 6 semanas (no total de 9 injeções) mostrou que o grupo tratado apresentou estabilização visual (definida como perda de visão menor que 15 letras na tabela do ETDRS) 15% maior que o placebo e uma perda de visão grave (maior que trinta letras) 10 a 12% menor (GRAGOUDAS *et al.*, 2004), havendo a necessidade de novas aplicações durante o segundo ano de tratamento (CHAKRAVARTHY *et al.*, 2006).

Drogas inibidoras das três isoformas do VEGF têm mostrado melhores resultados. O ranibizumabe (Lucentis<sup>TM</sup> Novartis), um fragmento RHU FAB do anticorpo monoclonal modificado contra todas as isoformas do VEGF, foi aprovado pelo FDA em junho de 2006 e pela ANVISA em setembro de 2007 para o tratamento da forma neovascular da DMRI. O uso de Injeções intra-vítreas de ranibizumabe em macacos mostrou eficácia na prevenção da formação de MNSR e na redução do vazamento de membranas já formadas, sem efeitos colaterais importantes (KRZYSTOLIK *et al.*, 2002; HEIER *et al.*, 2006).

Em estudos multicêntricos, ele conseguiu, ainda, uma estabilização visual em até 95% dos casos, com uma melhora da qualidade vida e aumento da acuidade visual de 15 ou mais letras em um terço dos pacientes (ROSENFELD *et al.*, 2006). Seu uso isolado ou combinado com a TFD-V mostrou resultados superiores em relação ao uso da TFD-V isolada nas MNSR-PC, MNSR-MC e MNSR-O (HUSAIN *et al.*, 2005; ANTOSZYK *et al.*, 2008;

REGILLO *et al.*, 2008; BROWN *et al.*, 2009). Ele também se mostrou mais efetivo que o pegaptanibe para o tratamento das MNSR secundárias a DMRI com maior estabilização visual (95% com ranibizumabe x 70% com pegaptanibe x 55-62% com placebo) e melhora da qualidade de vida devido ao aumento da acuidade visual (33,8% com ranibizumabe x 6% com pegaptanibe x 2-4,6% com placebo) em pacientes portadores de MNSR secundárias a DMRI (COLQUITT *et al.*, 2008).

No intuito de um bloqueio cada vez mais amplo e duradouro do VEGF, está em estudo o VEGF-Trap, uma proteína recombinante da porção solúvel dos receptores do VEGF, que poderá bloquear não só o VEGF-A, mas toda a família do gene VEGF (NGUYEN *et al.*, 2006; STEWART e ROSENFELD, 2008).

O tratamento da forma neovascular da DMRI com as drogas anti-angiogênicas aprovadas pela ANVISA, o Pegaptanibe e o Ranibizumabe, apesar de terem se mostrado efetivas e custo-efetivas em países desenvolvidos (COHEN *et al.*, 2008; COLQUITT *et al.*, 2008), apresentam um alto valor, tornando-as inacessíveis a grande parte da população dos países em desenvolvimento como o Brasil (AZAD *et al.*, 2007).

Segundo dados levantados pela própria ANVISA, relativos apenas a aquisição da medicação, o tratamento com Pegaptanibe seguindo o esquema proposto por seu estudo multicêntrico, o *VISION Study* (GRAGOUDAS *et al.*, 2004), custa ao ano por paciente no Brasil um pouco mais de R\$ 20.000,00 (vinte mil reais). O valor do tratamento pelo mesmo tempo com o Ranibizumabe, seguindo o esquema proposto em sua bula, sai em torno de R\$

10.300,00 (dez mil e trezentos reais), podendo custar mais, caso haja necessidade de mais de 3 aplicações nesse período (ANVISA, 2008).

Foi aprovado, em fevereiro de 2004 pelo FDA e em maio de 2005 pela ANVISA, o uso de outra droga inibidora do VEGF, o Bevacizumabe (AVASTIN<sup>®</sup> ROCHE), um anticorpo monoclonal modificado (rhuMab VEGF) para o tratamento coadjuvante de tumores colorretais (KERR, 2004; ELLIS, 2005; FERRARA, 2005; FERRARA *et al.*, 2005; GORDON e CUNNINGHAM, 2005; ARDAVANIS *et al.*, 2008; MA e WAXMAN, 2008). O bevacizumabe é considerado o anticorpo anti-VEGF humanizado completo, enquanto o ranibizumabe, um fragmento dele. (Figura 3)

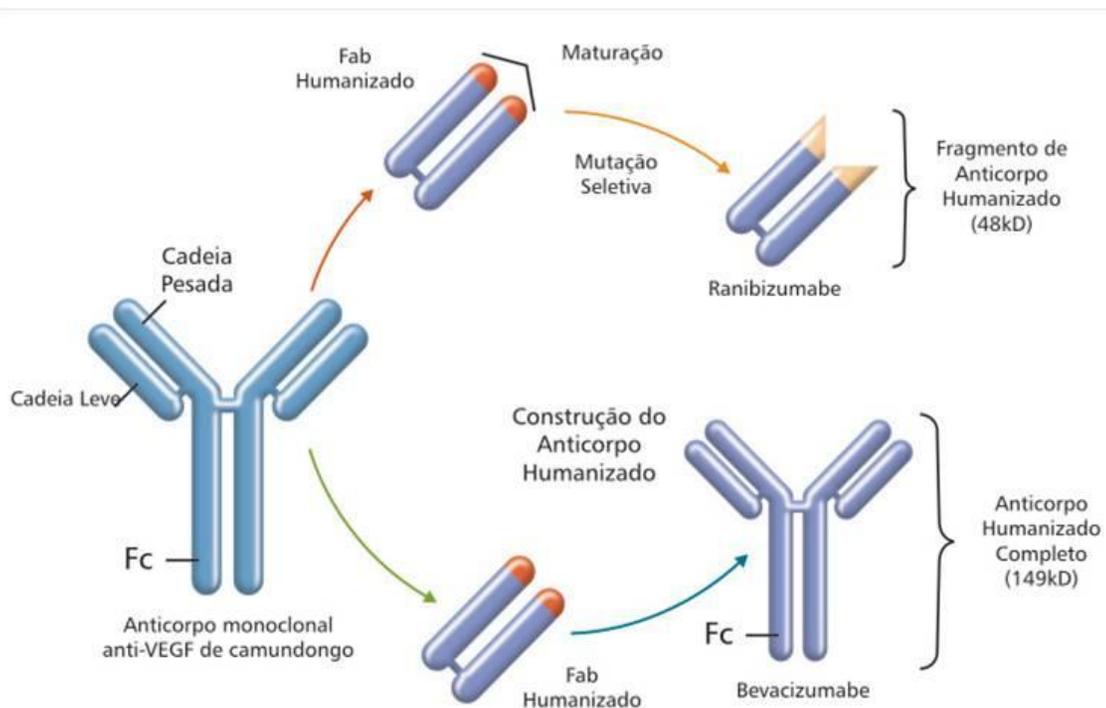


Figura 3. Relação entre ranibizumabe e bevacizumabe.

A infusão endovenosa desta droga (duas ou três aplicações) em portadores da forma exsudativa da DMRI levou a melhora da acuidade visual, diminuição da espessura retiniana e redução do vazamento do complexo neovascular, sem efeitos colaterais significativos (MICHELS *et al.*, 2005; GEITZENAUER *et al.*, 2008).

No entanto, pacientes em uso sistêmico de drogas anti-angiogênicas podem apresentar dificuldade na cicatrização de feridas pós-operatórias (SCAPPATICCI *et al.*, 2005), encefalopatias (LEVY *et al.*, 2008), eventos tromboembólicos fatais (HURWITZ *et al.*, 2004), hipertensão arterial sistêmica, hemoptise e proteinúria (YANG *et al.*, 2003) e um possível comprometimento da saúde da coriocapilar, epitélio pigmentado da retina e fotorreceptores de olhos sadios (BLAAUWGEERS *et al.*, 1999).

Este fato estimulou pesquisas sobre a viabilidade de se injetar uma quantidade bem inferior à dose sistêmica diretamente na cavidade vítrea. Em julho de 2005, os primeiros dois relatos da aplicação de 1,25mg/0,1ml intra-vítrea mostraram benefícios da medicação no tratamento das MNSR (ROSENFELD, MOSHFEGHI *et al.*, 2005; ROSENFELD, SCHWARTZ *et al.*, 2005).

Uma análise de sua ação comparada às terapias atualmente aprovadas para o tratamento das MNSR secundárias a DMRI mostrou um resultado superior ao da TFD-V isolada nas MNSR-PC, MNSR-MC E MNSR-O (BASHSHUR *et al.*, 2007; LAZIC e GABRIC, 2007).

Como tratamento primário, um ensaio clínico com pacientes portadores de MNSR secundária a DMRI mostrou que, após 1 ano de tratamento com

bevacizumabe intra-vítreo (média de 3,4 injeções), similarmente aos resultados obtidos com o ranibizumabe, obteve-se uma estabilização da acuidade visual em 92,2% e um ganho de 15 letras em cerca de 1/3 dos pacientes (BASHSHUR *et al.*, 2008). Estudos multicêntricos e também nacionais apontam para a eficiência desta droga no tratamento da DMRI exsudativa (COSTA *et al.*, 2006; AREVALO *et al.*, 2008).

Diante do princípio da inibição da angiogênese, a aplicação intra-vítrea de bevacizumabe começou também a ser utilizada com benefícios no tratamento de outras causas de neovascularização de coróide, como miopia e estrias angióides (RUIZ-MORENO *et al.*, 2007; NERI *et al.*, 2008), e no tratamento coadjuvante das doenças vaso-proliferativas da retina e do olho, tais como retinopatia diabética proliferativa (THEW, 2009), oclusão venosa da retina (COSTA *et al.*, 2007; PRAGER *et al.*, 2008), glaucoma neovascular e outras (MORACZEWSKI *et al.*, 2008).

O bevacizumabe é uma droga de fácil aquisição e o tratamento das MNSR secundárias a DMRI com ele por 1 ano, seguindo o esquema similar ao do Ranibizumabe, custa em torno de R\$ 1.127,75 (hum mil cento e vinte e sete reais e setenta e cinco centavos), podendo ter um valor menor dependendo do fracionamento adotado, ou seja, pode custar de 83% a 99,8% menos do que um tratamento pelo mesmo período com pegaptanibe e 67% a 99,6% menos do que um tratamento pelo mesmo período com ranibizumabe (ANVISA, 2008).

Em estudo de custo-efetividade, foi mostrado que o ranibizumabe, para se mostrar custo-efetivo frente ao bevacizumabe teria de ter eficácia 2,5 vezes

maior (RAFTERY *et al.*, 2007), porém esta superioridade do ranibizumabe é questionada (BROWN, 2008).

Apesar das evidências a favor da segurança do bevacizumabe (FUNG *et al.*, 2006), ele ainda é considerado com segurança limitada (IP *et al.*, 2008) e não tem sua aprovação para uso intra-vítreo tanto do FDA como da ANVISA, sendo considerada sua utilização como *off-label*.

Realmente, a retina é sede freqüente de lesões tóxicas induzidas por fármacos (MAIA, MARGALIT *et al.*, 2004; KOMAROWSKA *et al.*, 2009). O EPR também é uma região muito susceptível ao dano tóxico por medicamentos e tem importância vital para a sobrevivência e funcionamento dos fotorreceptores. Torna-se, portanto, de suma importância a avaliação da integridade desta camada em qualquer estudo que se proponha a avaliar a toxicidade retiniana induzida por fármacos.

Tais lesões tóxicas podem não ser percebidas clínica e histologicamente em um curto período de acompanhamento, no entanto, podem, em longo prazo, surgir como áreas de atrofia e perda celular nas camadas retinianas (KOMAROWSKA *et al.*, 2009).

Neste contexto, decidiu-se contribuir positivamente e de forma inédita na literatura mundial, com a realização deste estudo no Centro de Referência em Oftalmologia (CEROF) da Universidade Federal de Goiás para avaliação da segurança do bevacizumabe em modelo animal (olhos de coelhos não-albinos) por meio de análise histológica da retina e do epitélio pigmentado da retina após 3 meses de sua aplicação intra-vítrea.

## 1.4 O BEVACIZUMABE

### 1.4.1 Composição

O Bevacizumabe (anticorpo monoclonal anti-VEGF humanizado) é comercializado no Brasil pela Roche com o nome comercial de Avastin<sup>®</sup>, em ampolas para solução injetável contendo 100mg em 4ml ou 400mg em 16ml (ambas com 25mg/ml). A principal indicação é para uso combinado com a quimioterapia à base de fluoropirimidina no tratamento de primeira linha de carcinomas metastáticos colon-retais.

Em seu frasco-ampola original é um líquido incolor ou de coloração levemente castanho claro. É sensível à luz e deve ser mantido refrigerado em temperaturas de 2° a 8°C e dentro da embalagem original. O medicamento não tem conservante antimicrobiano, razão pela qual, depois de aberto, deve ser utilizado dentro das primeiras 24 horas (conservado entre 2 e 8°). Os excipientes do frasco-ampola são  $\alpha$ -trealose diidratada, diidrogeno fosfato de sódio monoidratado, fosfato dissódico anidro, polissorbato 20 e água para uso injetável. A medicação não deve ser agitada nem congelada.

### 1.4.2 Descrição

Avastin é o nome comercial para o Bevacizumabe, um anticorpo monoclonal humanizado recombinante, produzido por tecnologia de DNA

recombinante em um sistema de expressão de célula de mamífero, de ovário de Hamster Chinês, em meio nutriente contendo o antibiótico gentamicina. É purificado por um processo que inclui inativação viral específica e etapas de remoção. Gentamicina é detectável no produto final em  $\leq 0,35$  ppm. O bevacizumabe é constituído por 214 aminoácidos e tem um peso molecular de aproximadamente 149.000 Dalton.

#### 1.4.3 Farmacodinâmica e Farmacocinética

Mecanismo de ação: Avastin (Bevacizumabe) é um anticorpo monoclonal humanizado recombinante que se liga e neutraliza seletivamente a atividade biológica do fator de crescimento do endotélio vascular humano (*VEGF*). Contém regiões estruturais humanas, com regiões determinantes de complementaridade de um anticorpo murino humanizado, que se ligam ao *VEGF*. Avastin (Bevacizumabe) inibe a ligação de *VEGF* a seus receptores, Flt-1 e KDR, na superfície das células endoteliais. A neutralização da atividade biológica do *VEGF* reduz a vascularização de tumores, inibindo assim o crescimento tumoral. A administração de Bevacizumabe ou de seu anticorpo murino original, a modelos de xenoenxerto de câncer em camundongos pelados, resultou em atividade antitumoral extensa em cânceres humanos, incluindo câncer de cólon, de mama, de pâncreas e de próstata. A progressão da doença metastática foi inibida e a permeabilidade microvascular foi reduzida.

## 1.5 A RETINA

A retina é o estrato neurosensorial do olho, sendo responsável pela transdução do estímulo visual (luminoso) em elétrico (neuronal). Representa a túnica íntima, localizando-se internamente a coróide e externamente ao corpo vítreo. Macroscopicamente, ela divide-se em retina periférica e retina central ou pólo posterior. (Figura 4)

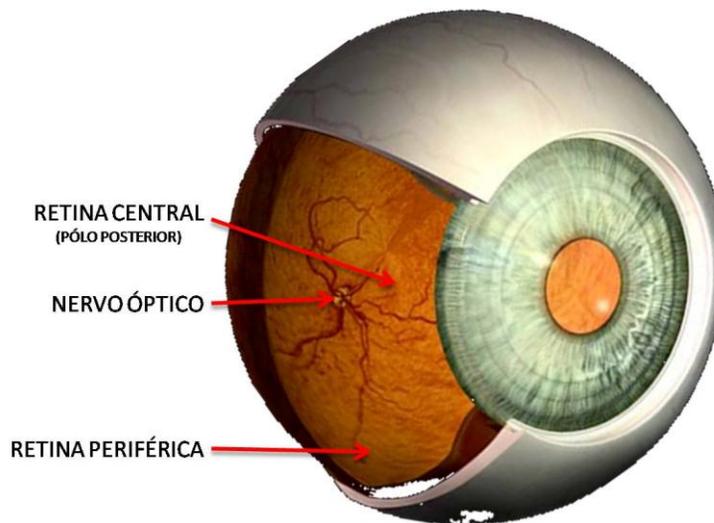


Figura 4. Desenho esquemático mostrando as regiões macroscópicas da retina.

Microscopicamente, a retina possui suas células distribuídas em dez camadas (DANTAS, 2002). Da região mais externa (próxima a coróide) para a mais interna (próxima ao corpo vítreo), são elas:

1. Epitélio Pigmentado da Retina (EPR) – camada monocelular formada por células pigmentadas que apresentam íntimo contato com o segmento externo dos fotorreceptores.
2. Camada de Fotorreceptores (FR) – Região onde se localizam os segmentos externos dos fotorreceptores, responsável pela captação dos estímulos luminosos e sua transdução elétrica. Os FR são considerados o primeiro neurônio das vias ópticas e dividem-se em dois tipos: cones e bastonetes
3. Membrana Limitante Externa (MLE): Delgada membrana formada pela extremidade externa das células de Müller.
4. Camada Nuclear Externa (CNE): Formada pelos núcleos dos FR. Organiza-se em cinco a oito estratos celulares que compõe sua estrutura.
5. Camada Plexiforme Externa (CPE): Região de sinapses entre os FR, células amácrinas, horizontais e bipolares.
6. Camada Nuclear Interna (CNI): Formada pelos núcleos das células horizontais, amácrinas, bipolares e de Müller.
7. Camada Plexiforme Interna (CPI): Camada de sinapses entre as células da CNI e as células ganglionares da retina.
8. Camada de Células Ganglionares (CCG): Formada pelos núcleos das células ganglionares da retina, considerada o segundo neurônio das vias ópticas.
9. Camada de Fibras Nervosas (CFN): Composta pelo prolongamento central dos axônios das células ganglionares que convergem centripetamente para formar o nervo óptico.

10. Membrana Limitante Interna (MLI): Formada pela porção mais interna das células de Müller.

Os processos degenerativos e as lesões tóxicas por medicamentos podem levar a uma reação inflamatória com conseqüente edema e espessamento (MAIA, KELLNER *et al.*, 2004) e, em um estágio final, a perda celular com atrofia retiniana (KOMAROWSKA *et al.*, 2009). A avaliação, portanto, da espessura das camadas celulares da retina pode fornecer dados valiosos relacionados às estas injúrias.

Na preparação de peças para análise histológica, no entanto, artefatos podem surgir e devem ser rigorosamente identificados, para que não sejam falsamente atribuídos a lesões ocorridas ainda *in vivo*. A inclusão em parafina, por exemplo, parte essencial no processo de montagem de lâminas histológicas, eleva a temperatura da peça a mais 60°C, o que pode levar a disrupção dos segmentos externos dos fotorreceptores semelhante ao achado de um descolamento de retina.

Os artefatos, portanto, podem ser exemplificados por:

1. A vacuolização leve a moderada por edema celular *post-mortem*, desde que não haja comprometimento significativo da espessura da camada. Discreta separação do segmento externo nos fotorreceptores também é atribuída à preparação da peça. Na camada de células ganglionares, é definida como vacuolização leve a moderada aquela em que é possível identificar três células ganglionares ou mais em um diâmetro de 50 micrometros. A visualização de duas ou menos células em um diâmetro de 50 micrometros (separação dos núcleos celulares maior que 25

micrometros), foi definida como vacuolização grave e associada à perda de células ganglionares (SMITH *et al.*, 2000).

2. A separação da retina neurosensorial do epitélio pigmentado da retina é definida como descolamento de retina prévio a enucleação ou artefato de preparação na peça, baseado nos seguintes critérios: na presença de atrofia do segmento externo dos fotorreceptores e células inflamatórias e/ou pigmentadas no espaço subretiniano, denomina-se descolamento de retina (Figura 5); na ausência, artefato de preparação da peça (Figura 6).

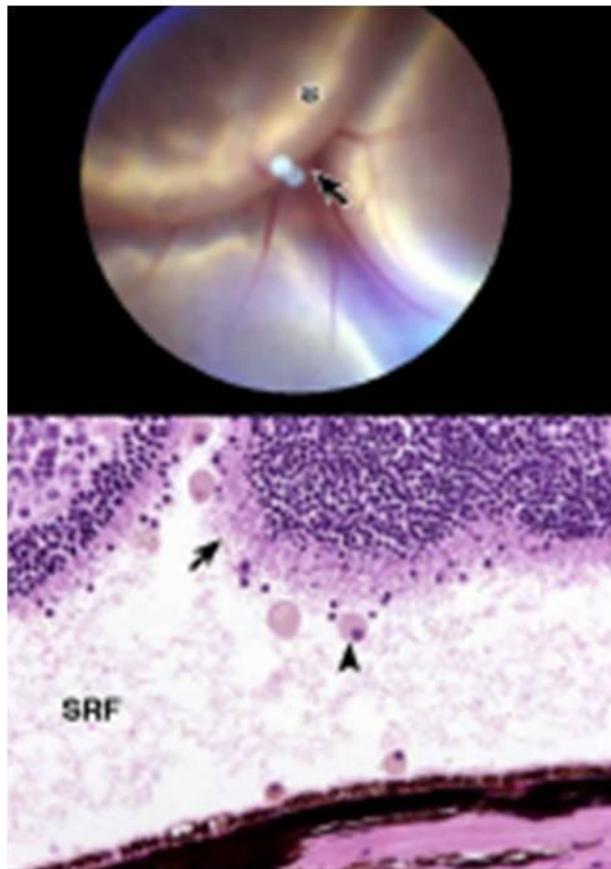


Figura 5. Descolamento de retina. Nota-se a presença de células inflamatórias no espaço subretiniano (cabeça da seta) e atrofia do segmento externo dos fotorreceptores (seta). Reproduzida de Smith, 2000.

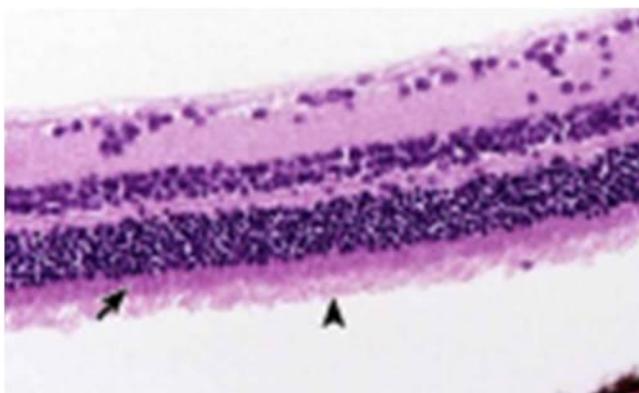


Figura 6. Artefato de preparação da peça com destacamento da retina. Nota-se a preservação do segmento externo dos fotorreceptores e a ausência de células no espaço subretiniano. Reproduzida de Smith, 2000.

Um importante sinal de dano retiniano pode ser atrofia da camada de fotorreceptores que leva a baixa visual irreversível. Em uma análise histológica, este achado está associado com uma diminuição do número de estratos celulares na CNE e uma atrofia dos segmentos externos e internos dos fotorreceptores. (Figura 7)

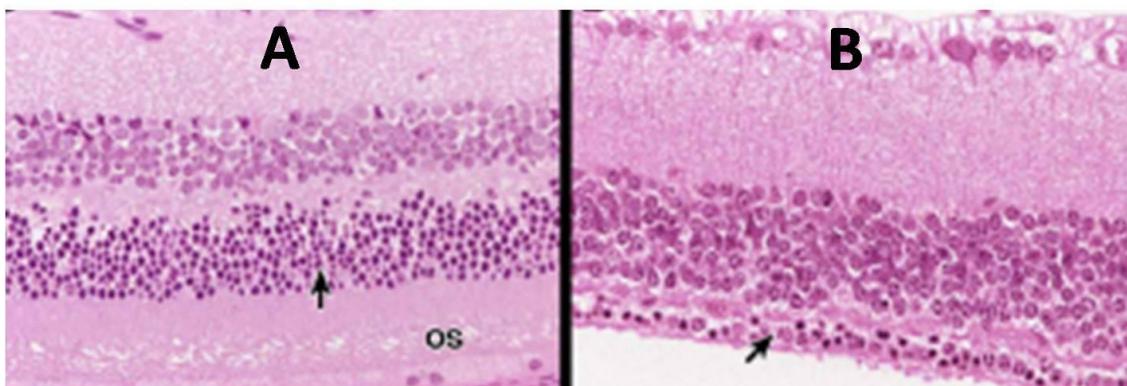


Figura 7. Exemplo de lesão aos fotorreceptores. Na figura A (Retina Normal), percebe-se uma CNE com várias estratos celulares (seta) com segmento externo dos FR (OS) preservado. Na figura B (mesmo olho após degeneração dos FR), percebe-se a CNE em monocamada celular (seta) e uma ausência do segmento interno e externo dos fotorreceptores compatível com atrofia da camada de FR. Reproduzida de Smith, 2000.

Portanto, a alteração da espessura das camadas retinianas, em especial a de fotorreceptores, nuclear externa e epitélio pigmentado da retina, pode estar associada à perda celular com atrofia e afinamento ou a edema celular com

espessamento. A avaliação desta espessura pode, então, gerar dados valiosos e, muitas vezes, subclínicos sobre lesões tóxicas de medicamentos sobre estas estruturas.

Diante disto, foi realizado neste trabalho, além de um detalhado estudo morfológico da histologia retiniana e também de forma inédita na literatura mundial, a medida da espessura das camadas retinianas para serem avaliados possíveis sinais de atrofia ou edema.

## 2 OBJETIVOS

---

1. Avaliar as alterações histológicas na retina neurosensorial e epitélio pigmentado da retina após a aplicação de 0,1ml de solução salina balanceada na cavidade vítrea de olhos de coelhos não albinos.
2. Determinar a incidência de complicações clínicas significativas pós-operatórias associadas à injeção intra-vítrea de bevacizumabe em olhos de coelhos não albinos.
3. Avaliar histologicamente a toxicidade sobre a retina neurosensorial de Bevacizumabe (Avastin®) em olhos de coelhos não albinos três meses após a injeção intra-vítrea de 0,1ml com 1,25mg e 2,5mg da droga.
4. Avaliar histologicamente a toxicidade sobre o epitélio pigmentado da retina de Bevacizumabe (Avastin®) em olhos de coelhos não albinos três meses após a injeção intra-vítrea de 0,1ml com 1,25mg e 2,5mg da droga.

## 3 MÉTODOS

---

### 3.1. DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental, placebo-controlado com trinta e seis olhos de dezoito coelhos não albinos, nos quais foram realizadas injeções intra-vítreas em trinta olhos de solução salina balanceada ou bevacizumabe.

O estudo foi conduzido no Centro de Referência em Oftalmologia da Universidade Federal de Goiás entre julho de 2006 e julho de 2008.

### 3.2. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi realizado após sua avaliação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e todos os animais foram tratados de acordo com o estatuto para uso de animais em pesquisas da visão e oftalmologia da *Association for Research in Vision and Ophthalmology – ARVO* (ARVO, 2006).

### 3.3. OS ANIMAIS

#### 3.3.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos dezoito coelhos não albinos com peso entre 1870 e 2800 gramas (valor médio do peso = 2306,1g) adquiridos de criatório de coelhos com certificação das autoridades sanitárias. Destes, 61,1% (onze coelhos) eram do sexo masculino. (Tabela 1)

Tabela 1. Distribuição de peso e sexo dos coelhos

<i>COELHO</i>	<i>PESO (gramas)</i>	<i>SEXO</i>
A	2020	Masculino
B	2130	Feminino
C	2640	Masculino
01	2320	Masculino
02	1870	Feminino
03	2400	Masculino
04	2320	Feminino
05	2650	Masculino
06	1990	Masculino
07	2050	Feminino
08	2350	Masculino
09	2460	Masculino
10	1970	Feminino
11	2800	Feminino
12	2410	Masculino
13	2650	Feminino
14	2130	Masculino
15	2350	Masculino

Legenda:

A, B, C – Coelhos não submetidos à injeção intra-vítrea, sacrificados no início do estudo.

01 ao 15 – Coelhos submetidos à injeção intra-vítrea e sacrificados/enucleados após 90 dias.

### 3.3.2. AVALIAÇÃO INICIAL

Foi realizada avaliação da retina de todos os coelhos por meio de oftalmoscopia binocular indireta (OBI) com lente de 28 dioptrias e inspeção do

segmento anterior para avaliação da presença de catarata ou alguma outra alteração da transparência dos meios que pudessem inviabilizar o adequado acompanhamento do fundo de olho pela OBI.

### 3.3.3. ACOMPANHAMENTO DOS ANIMAIS

Um médico-veterinário foi responsável pela avaliação diária dos animais e um funcionário responsável pela limpeza diária e alimentação. Cada animal recebeu uma tatuagem na orelha com seu número de identificação. (Figura 8)



Figura 8. Identificação por meio de tatuagem numérica na orelha.

### 3.3.4. ALOJAMENTO E GAIOLAS

Foi adaptado um alojamento apropriado com 50 metros quadrados coberto, bem ventilado e protegido por telas. Gaiolas individuais metálicas (40x45x60cm) foram utilizadas para acomodar cada animal. (Figura 9)



Figura 9. Gaiola individual metálica.

### 3.3.5. ALIMENTAÇÃO

Cada gaiola possuía bebedouro individual com água mineral para consumo diário do animal. Cada coelho foi alimentado com cerca de 80 gramas/dia de ração balanceada peletizada para coelhos (marca Do Sítio Coelho).

### 3.3.6. HIGIENE

Duas vezes por dia, a bandeja sob a gaiola era removida e lavada para retirar as fezes e a urina acumuladas. Uma vez por semana, o chão do alojamento era limpo com solução desinfetante e água corrente. Ainda uma vez por semana, os animais eram retirados da gaiola, um a um, sendo colocados

em uma gaiola sobressalente, individualmente. Naquele momento, cada gaiola era flambada para garantir a assepsia ideal para a sobrevivência do animal.

### 3.3.7. QUARENTENA

Todos os animais adquiridos passaram por um período de 40 dias, no qual o animal permaneceu no alojamento antes da realização dos procedimentos. Tal procedimento serviu para avaliação da boa adaptação do animal e para evitar que qualquer intercorrência pela adaptação inicial do coelho ao meio fosse falsamente atribuída a qualquer um dos procedimentos propostos.

### 3.3.8. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do trabalho coelhos que apresentaram durante o período de quarentena qualquer sinal de alteração retiniana, opacidade de meios oculares, doença infecciosa ocular ou sistêmica ou, ainda, qualquer outra que pudesse comprometer seu adequado acompanhamento ou a possibilidade do animal atingir o final do estudo.

## 3.4. A DROGA

O medicamento é distribuído pelo Laboratório Roche Brasil (frasco-ampola de Bevacizumabe - Avastin<sup>®</sup> - com 100mg/4ml) e foi comprado pelos autores do estudo. (Figura 10)

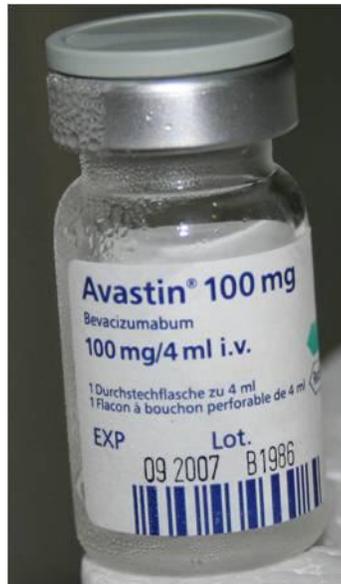


Figura 10. Frasco-ampola de Bevacizumabe.

### 3.5. GRUPOS DE ESTUDO

Os coelhos foram divididos em quatro grupos, sendo o primeiro grupo, denominado controle, composto por três coelhos (seis olhos), onde não foi realizada injeção intra-vítrea e já submetidos a eutanásia no início do estudo.

Os trinta olhos dos demais coelhos foram distribuídos por sorteio de forma mascarada, em três grupos (1:1:1): Grupo P, no qual foi realizada injeção de 0,1ml de solução salina balanceada (SSB); Grupo 1, no qual foi realizada a injeção de 0,1ml contendo 1,25mg de Bevacizumabe; e Grupo 2, no qual foi realizada a injeção de 0,1ml contendo 2,5mg de Bevacizumabe.

O grupo P foi considerado o grupo placebo e utilizado para controle da injeção intra-ocular pela comparação dos possíveis efeitos da droga nos grupos 1 e 2. (Tabela 2)

Tabela 2. Distribuição dos olhos dos coelhos submetidos à injeção intra-vítrea nos grupos de estudo

COELHO	OLHO	GRUPO
01	D	P
01	E	P
02	D	P
02	E	P
03	D	1
03	E	P
04	D	1
04	E	1
05	D	2
05	E	1
06	D	2
06	E	1
07	D	1
07	E	1
08	D	2
08	E	2
09	D	1
09	E	2
10	D	2
10	E	2
11	D	1
11	E	2
12	D	1
12	E	2
13	D	P
13	E	2
14	D	P
14	E	P
15	D	P
15	E	P

Legenda:

D = Direito

P = Grupo Placebo

2 = Grupo 2 (Bevacizumabe 2,5mg)

E = Esquerdo

1 = Grupo 1 (Bevacizumabe 1,25mg)

Os quinze coelhos foram seguidos por um período de noventa dias após a injeção, quando, então, tiveram seus bulbos oculares enucleados, seguido de sua eutanásia.

### 3.6. PROCEDIMENTOS

No próprio alojamento, em local asséptico e em mesa cirúrgica apropriada e limpa, foram realizados a anestesia geral e os procedimentos oculares.

#### 3.6.1. A oftalmoscopia binocular indireta

Foi realizada antes e após a injeção intra-ocular, assim como antes e após a enucleação, a oftalmoscopia binocular indireta para se averiguar a integridade retiniana e a transparência de meios adequada. A OBI serviu para evitar que qualquer alteração anterior à injeção ou posterior à enucleação fossem falsamente atribuída ao procedimento.

#### 3.6.2. A injeção intra-ocular

Os coelhos foram anestesiados por uma injeção intra-muscular combinada de cloridrato de xylazina (5mg/kg) e cloridrato de ketamina (25mg/kg) e, quando necessário, a dose das drogas foi progressivamente aumentada até que fosse atingido o plano anestésico adequado. Foi considerada profundidade cirúrgico-anestésica ideal quando, após provocação de estímulo doloroso na pata do animal, não foi percebido nenhum tipo de

contração muscular ou lacrimejamento, garantindo, assim, total analgesia trans-operatória (FONSECA *et al.*, 1996).

Foi utilizada uma mistura de colírios de tropicamida e fenilefrina a 10% (1:1) para se atingir dilatação pupilar e colírio de proximetacaína 0,5% para anestesia tópica. De acordo com os padrões de conduta para injeção intra-vítrea (AIELLO *et al.*, 2004), após anti-sepsia local com colírio de iodo-povidona 5%, aposição de campo cirúrgico estéril com adequada proteção ciliar e colocação do blefarostato, foi realizada uma única injeção intra-vítrea via *pars plana* com agulha de calibre 30 gauge a 2mm do limbo superior, definidos por sorteio e mascarada, de 0,1ml de SSB ou 1,25mg/0,1ml de Bevacizumabe ou 2,5mg/0,1ml de Bevacizumabe(Figura 11).



Figura 11. Injeção intra-vítrea a 2mm do limbo após adequada anti-sepsia e isolamento ciliar.

Foi utilizado um frasco-ampola contendo 100mg de Bevacizumabe em 4 ml (2,5mg/0,1ml). Para o Grupo 1, foi aspirado 0,05ml (1,25mg) da droga e diluído com 0,05ml de SSB atingindo a concentração de 1,25mg de Bevacizumabe em 0,1ml. Para o Grupo 2, foi aspirado 0,1ml do frasco ampola (2,5mg/0,1ml). No Grupo P, foi injetado 0,1ml de SSB.

Após a injeção, os coelhos retornaram para suas gaiolas e ficaram em observação pelo veterinário para, caso surgisse algum sinal de dor ou desconforto, eles fossem devidamente medicados (buprenorfina 0,05mg/kg subcutânea).

#### 3.6.3. A avaliação oftalmológica pós-operatória

Todos os coelhos foram avaliados nos 1º, 7º, 30º, 60º dias pós-operatórios por meio de inspeção e oftalmoscopia binocular indireta para avaliação do possível surgimento de complicações pós-operatórias relacionadas ao procedimento de injeção intra-vítrea (catarata, endoftalmite, descolamento de retina e outras opacidades de meios).

#### 3.6.4. A enucleação

A indução anestésica foi feita com injeção intra-muscular de ketamina (25mg/kg) e xylazina (10mg/kg) e, após punção da veia lateral da orelha do animal, mantida com tiopental sódico (10mg/kg) endovenoso (Figura 12). Quando necessário, a dose do tiopental foi progressivamente aumentada até que fosse atingido o plano anestésico adequado. Foi, novamente, considerada a profundidade cirúrgico-anestésica ideal quando, após provocação de estímulo

doloroso na pata do animal, não foi percebido nenhum tipo de contração muscular ou lacrimejamento, garantindo, assim, total analgesia trans-operatória (FONSECA *et al.*, 1996).

Foi feita, então, cuidadosa enucleação dos dois bulbos oculares que, imediatamente banhados com solução salina balanceada, foram armazenados em solução de fixação paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0.1M com pH de 7,4.

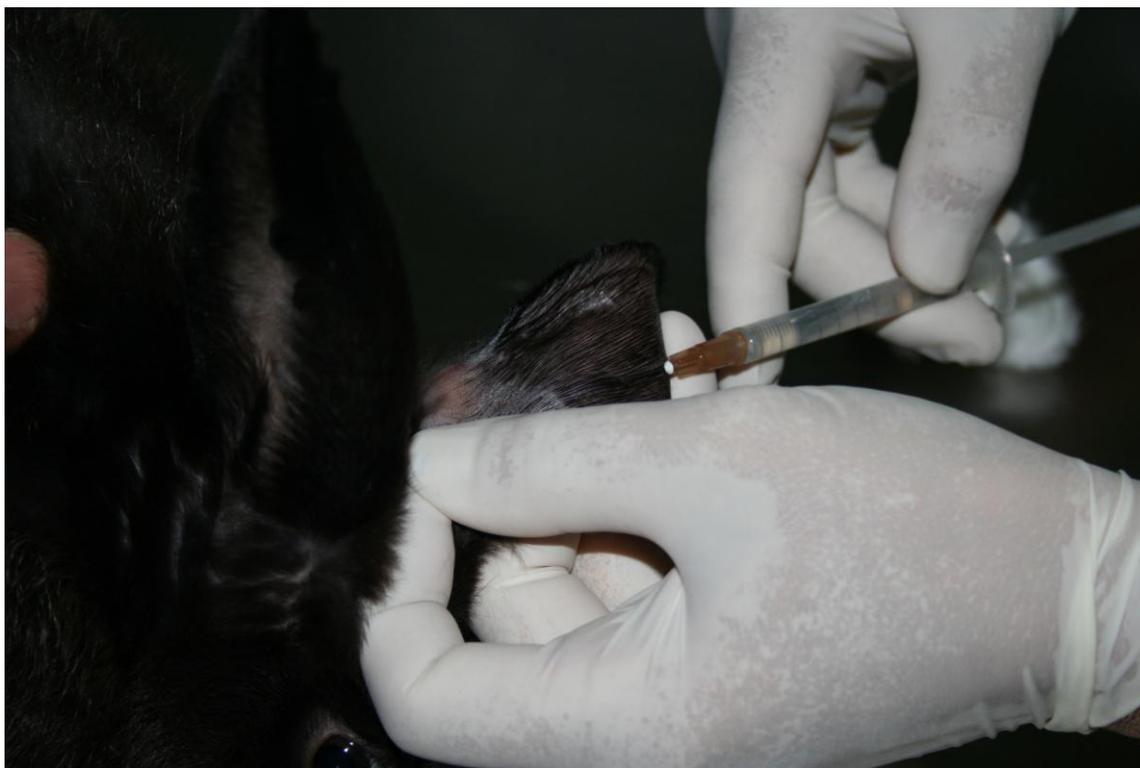


Figura 12. Punção da veia lateral da orelha do coelho.

### 3.6.5. A eutanásia

Após a enucleação dos dois bulbos oculares, ainda com o animal sob anestesia geral, foi realizado uma injeção endovenosa de pentobarbital

(250mg/kg) levando ao falecimento do animal, confirmada pela ausência de batimentos cardíacos e movimentos respiratórios.

### 3.7. A ANÁLISE HISTOLÓGICA DA RETINA

Os olhos enucleados foram deixados na solução de fixação por 48 horas. A seguir, foram desidratados por imersão em série crescente de etanol de 50, 70, 90 e 100% e depois incluídos em parafina.

Os blocos foram levados ao micrótomo e cortados com 5 $\mu$ m de espessura em sentido sagital orientados pelo nervo óptico até uma distância de 3 diâmetros de disco do nervo óptico, sendo, posteriormente corados com Hematoxilina-Eosina.

Foi realizado, então, análise histológica em microscopia óptica no microscópio Zeiss Axioplan 2 com sistema de captura de imagens AxioPhot2 através do software analySIS Imager Zeiss (Figura 13).



Figura 13. Microscópio Zeiss AxioPlan2 com sistema de captura de imagens AxioPhot2 utilizado na análise das lâminas dos olhos do estudo.

Os seguintes aspectos histológicos foram avaliados:

- 1 - Descrição morfológica das camadas da retina neurosensorial e do epitélio pigmentado da retina.
- 2 - Medidas da espessura do epitélio pigmentado da retina, da camada de fotorreceptores, da camada nuclear externa, da camada nuclear interna e do número de estratos celulares da nuclear externa.

Uma lesão sobre os fotorreceptores foi definida como a diminuição do número de estratos celulares e espessura da camada nuclear externa associada à diminuição da espessura da camada de fotorreceptores (atrofia).

Uma possível lesão do epitélio pigmentado associada à injeção intravítrea foi definida como atrofia, caso houvesse áreas de descontinuidade no seu aspecto ou afinamento significativo em sua espessura associado à diminuição da espessura da camada de fotorreceptores; e hipertrofia, caso houvesse aumento significativo de sua espessura associado a processo inflamatório prévio.

Foram avaliadas cinco lâminas de cada olho por dois avaliadores diferentes, especialistas em estudos histológicos da retina da Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro – RJ, em momentos diversos e de forma mascarada (o avaliador não sabia a qual olho nem a qual grupo pertenciam as lâminas). Cada avaliador definiu a descrição morfológica da retina e as espessuras das camadas retinianas de cada olho baseado no grupo de lâminas. O valor médio entre as medidas dos dois avaliadores foi definido como a espessura da camada retiniana de cada olho. Este protocolo foi seguido e repetido nos trinta e seis olhos do estudo.

### 3.8. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após coleta dos resultados, os dados foram desmascarados e atribuídos a cada olho de coelho dentro dos grupos de estudo. Os resultados das variáveis contínuas foram expressos por suas médias aritméticas e respectivos desvios-padrão ou por suas medianas e distâncias inter-quartílicas e os de variáveis categóricas por suas respectivas freqüências absolutas e relativas.

Foram utilizados os testes de análise de variância (ANOVA), t-student para amostras pareadas e não pareadas na avaliação de possíveis diferenças entre médias e os testes de Mann-Withney e Wilcoxon para avaliação de diferenças entre medianas. O teste do qui-quadrado avaliou possíveis diferenças entre freqüências. Um valor de  $p < 0,05$  foi utilizado para rejeitar a hipótese de nulidade.

## 4 RESULTADOS

---

O grupo controle, em que não foi realizada nenhuma injeção intra-vítrea, composto por seis olhos, apresentou valor médio do peso de 2263 gramas, sendo 67% do sexo masculino. (Tabela 3)

Tabela 3. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo controle com respectivos peso e sexo

COELHO	OLHO	PESO (gramas)	SEXO
A	D	2020	Masculino
A	E	2020	Masculino
B	D	2130	Feminino
B	E	2130	Feminino
C	D	2640	Masculino
C	E	2640	Masculino

Legenda:

D = Direito      E = Esquerdo

O grupo placebo em que foi realizada injeção intra-vítrea de solução salina balanceada, composto por dez olhos, apresentou valor médio do peso de 2195 gramas, sendo 70% do sexo masculino. (Tabela 4)

Tabela 4. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo placebo com respectivos peso e sexo

COELHO	OLHO	PESO (gramas)	SEXO
1	D	2320	Masculino
1	D	2320	Masculino
2	E	1870	Feminino
2	E	1870	Feminino
3	E	2400	Masculino
13	D	2650	Feminino
14	D	2130	Masculino
14	E	2130	Masculino
15	D	2130	Masculino
15	E	2130	Masculino

Legenda:

D = Direito      E = Esquerdo

O grupo 1 em que foi realizada injeção intra-vítrea de 1,25mg/0,1ml de bevacizumabe, composto por dez olhos, apresentou valor médio do peso de 2345 gramas, sendo 50% do sexo masculino.(Tabela 5)

Tabela 5. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo 1 com respectivos peso e sexo

COELHO	OLHO	PESO (gramas)	SEXO
3	D	2400	Masculino
4	D	2320	Feminino
4	E	2320	Feminino
5	E	2650	Masculino
6	E	1990	Masculino
7	D	2050	Feminino
7	E	2050	Feminino
9	D	2460	Masculino
11	D	2800	Feminino
12	D	2410	Masculino

Legenda:

D = Direito      E = Esquerdo

O grupo 2 em que foi realizada injeção intra-vítrea de 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe, composto por dez olhos, apresentou valor médio do peso de 2360 gramas, sendo 60% do sexo masculino. (Tabela 6)

Tabela 6. Distribuição dos olhos dos coelhos no grupo 2 com respectivos peso e sexo

COELHO	OLHO	PESO (gramas)	SEXO
5	D	2650	Masculino
6	D	1990	Masculino
8	D	2350	Masculino
8	E	2350	Masculino
9	E	2460	Masculino
10	D	1970	Feminino
10	E	1970	Feminino
11	E	2800	Feminino
12	E	2410	Masculino
13	E	2650	Feminino

Legenda:

D = Direito      E = Esquerdo

Não foi percebida diferença significativa nos valores médios do peso e na distribuição de freqüência dos sexos entre os grupos estudados. (Tabela 7)

Tabela 7. Valores médios do peso com respectivos desvios-padrão e freqüências absolutas e relativas do sexo nos grupos estudados

GRUPOS DE ESTUDO	PESO (MÉDIA±DP)	SEXO	
		MASCULINO	FEMININO
CONTROLE	2263±295g	4 olhos (67%)	2 olhos (33%)
PLACEBO	2195±238g	7 olhos (70%)	3 olhos (30%)
1	2345±263g	5 olhos (50%)	5 olhos (50%)
2	2360±301g	6 olhos (60%)	4 olhos (40%)
Valor de p	0,516 <sup>1</sup>	0,81 <sup>2</sup>	

Legenda

DP = Desvio padrão

<sup>1</sup> = Valor de p calculado pelo teste de análise de variância (ANOVA)

<sup>2</sup> = Valor de p calculado pelo teste do qui-quadrado ( $X^2=0,93$ )

A análise dos efeitos causados pela injeção intra-vítrea foram divididos em dois grupos: uns relacionados ao procedimento e outros relacionados à droga.

#### 4.1 OS EFEITOS DO PROCEDIMENTO DE INJEÇÃO INTRA-VÍTREA EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS.

Nos trinta olhos submetidos à injeção intra-vítrea:

- Não houve caso de falecimento ou doença sistêmica nos coelhos.
- Não houve opacificação dos meios sugestiva de turvação vítrea associada à endoftalmite.
- Não houve caso de opacificação importante na lente que inviabilizasse o adequado acompanhamento do fundo de olho pela oftalmoscopia binocular indireta. Em cinco olhos, dos trinta em que foram realizadas injeções intra-vítreas (16,67%), houve opacificação localizada do cristalino superior, próximo ao sítio de injeção.
- Não houve caso de descolamento de retina em nenhum dos olhos do estudo.
- Em todos os casos (100%), houve surgimento de edema de córnea súbito e transitório logo após a realização da injeção intra-vítrea. A oftalmoscopia binocular indireta após as injeções, no entanto, confirmou o fluxo sanguíneo normal pela artéria central da retina.
- Dois olhos (6,6%) apresentaram hemorragia subconjuntival localizada no sítio da injeção.

## 4.2 OS EFEITOS DO BEVACIZUMABE EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS: ANÁLISE HISTOLÓGICA.

### 4.2.1 GRUPO CONTROLE

No grupo em que não foi realizada injeção intra-vítrea, foram observados os seguintes aspectos nos olhos: (Figura 14)

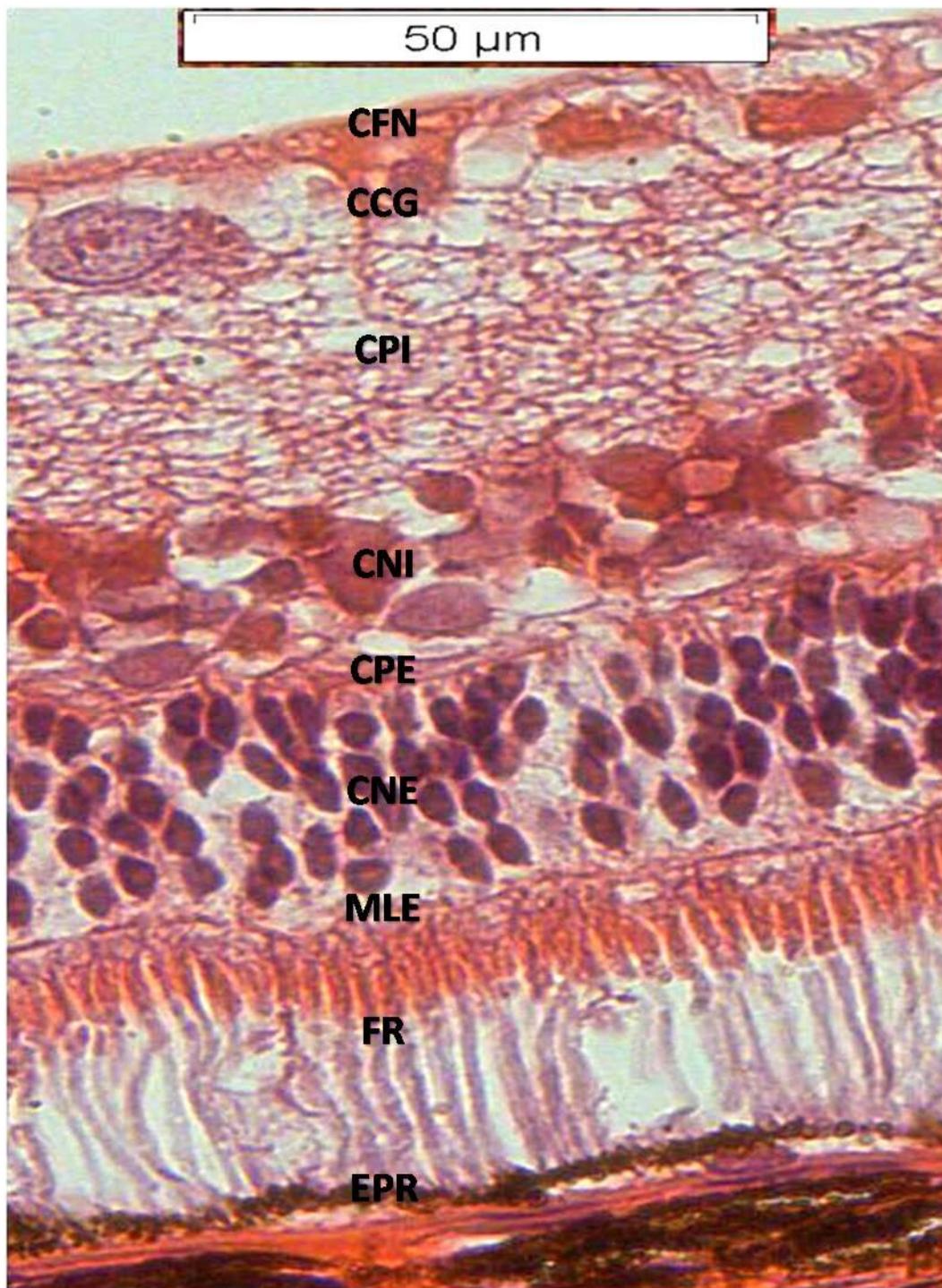


Figura 14. Grupo Controle - olho direito do coelho C. Microfotografia da lâmina para análise histológica da retina neurosensorial e epitélio pigmentado da retina. EPR - Epitélio Pigmentado da Retina; FR - camada de fotorreceptores; MLE - Membrana Limitante Externa; CNE - Camada Nuclear Externa; CPE - Camada Plexiforme Externa; CNI - Camada Nuclear Interna; CPI - Camada Plexiforme Interna; CCG - Camada de Células Ganglionares; CFN - Camada de Fibras Nervosas. Nota-se morfologia normal, boa definição e organização das camadas retinianas.

- Camada de fotorreceptores: corresponde ao segmento externo e interno dos fotorreceptores dispostos um ao lado do outro. Pequenas áreas de vacuolização ou separação dos segmentos externos sem aumento ou diminuição da espessura da camada foram consideradas artefatos. A medida de sua espessura teve valor médio de  $31 \pm 5,4 \mu\text{m}$ . (Figura 15)

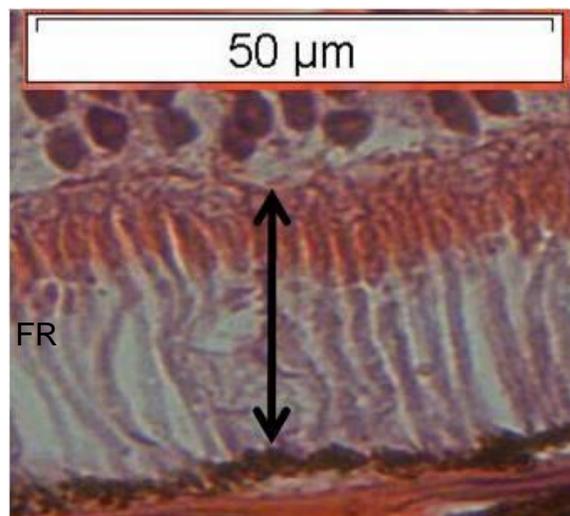


Figura 15. Grupo Controle - olho direito do coelho C. Espessura da camada de fotorreceptores compreendida entre o EPR e a MLE apresentou valor médio de  $31 \pm 5,4 \mu\text{m}$ .

- Membrana Limitante Externa: linha contínua separando os FR da CNE.
- Camada Nuclear Externa: corresponde ao núcleo dos fotorreceptores. É percebida uma justaposição de 5 a 8 estratos celulares que compõem sua espessura. Pequenas áreas de vacuolização e separação celular sem aumento da espessura da camada também foram consideradas como artefatos. A sua espessura teve valor médio de  $28 \mu\text{m}$  ( $DP=3,7 \mu\text{m}$ ). (Figura 16)

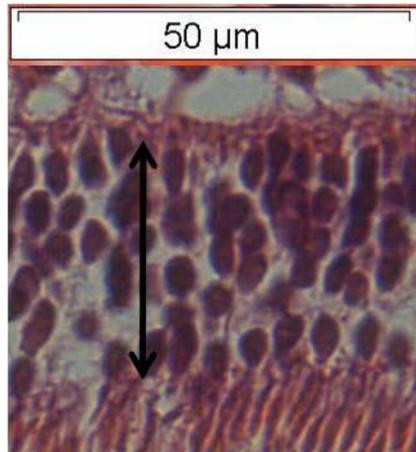


Figura 16. Grupo Controle - olho esquerdo do coelho B. A espessura da camada nuclear externa (CNE), compreendida entre a Membrana Limitante Externa e a Camada Plexiforme Externa, apresentou valor médio de  $28\mu\text{m}$  ( $DP=3,7\mu\text{m}$ ). Nota-se 5 a 8 estratos celulares com seus núcleos corados pela hematoxilina compondo a espessura da CNE.

- Camada Plexiforme Externa: delgada região eosinofílica de sinapse entre os núcleos dos fotorreceptores, células amácrinas, horizontais e bipolares.
- Camada Nuclear Interna: região de núcleo das células amácrinas, horizontais, bipolares e de Müller. Existe a presença de vacúolos formados no processo de preparação da peça. Sua espessura teve valor médio de  $17 \pm 1,8\mu$ . (Figura 17)

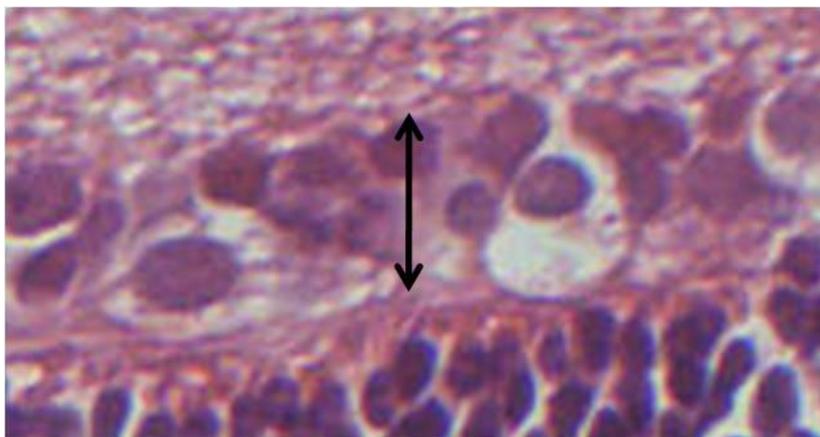


Figura 17. Grupo Controle - olho esquerdo do coelho A. A espessura da camada nuclear interna (CNI), compreendida entre a Camada Plexiforme Externa e a Camada Plexiforme Interna, apresentou valor médio de  $17 \pm 1,8\mu$ .

- Camada Plexiforme Interna: região eosinofílica de sinapses.
- Camada de Células Ganglionares: região de distribuição celular irregular e esparsa apresentando vacuolização leve a moderada (artefato).(Figura 18)

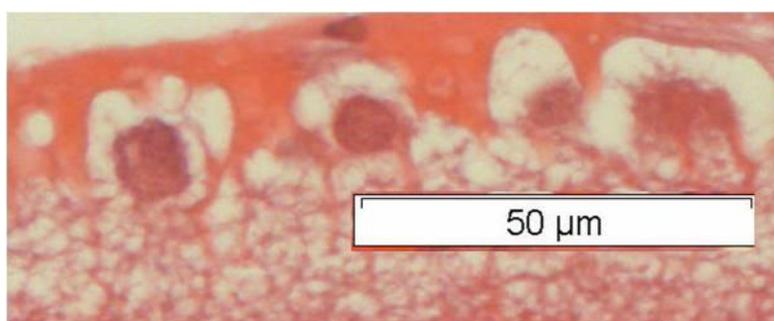


Figura 18. Grupo Controle - olho direito do coelho A. Camada de células ganglionares. Nota-se a presença de 3 células em um diâmetro de  $50\mu\text{m}$  compatível com vacuolização leve a moderada (artefato).

- Camada de fibras nervosas: região eosinofílica correspondendo ao prolongamento central dos axônios das células ganglionares.

- Membrana limitante interna: não visualizada nas peças estudadas.
- Epitélio pigmentado da retina: mostrou-se como uma camada pigmentar contínua, sem pontos de descontinuidade. Pequenas áreas de descolamento foram consideradas artefatos do processo de fixação e inclusão na parafina. Sua espessura teve valor médio de  $3,9 \pm 0,9 \mu$ . (Figura 19).

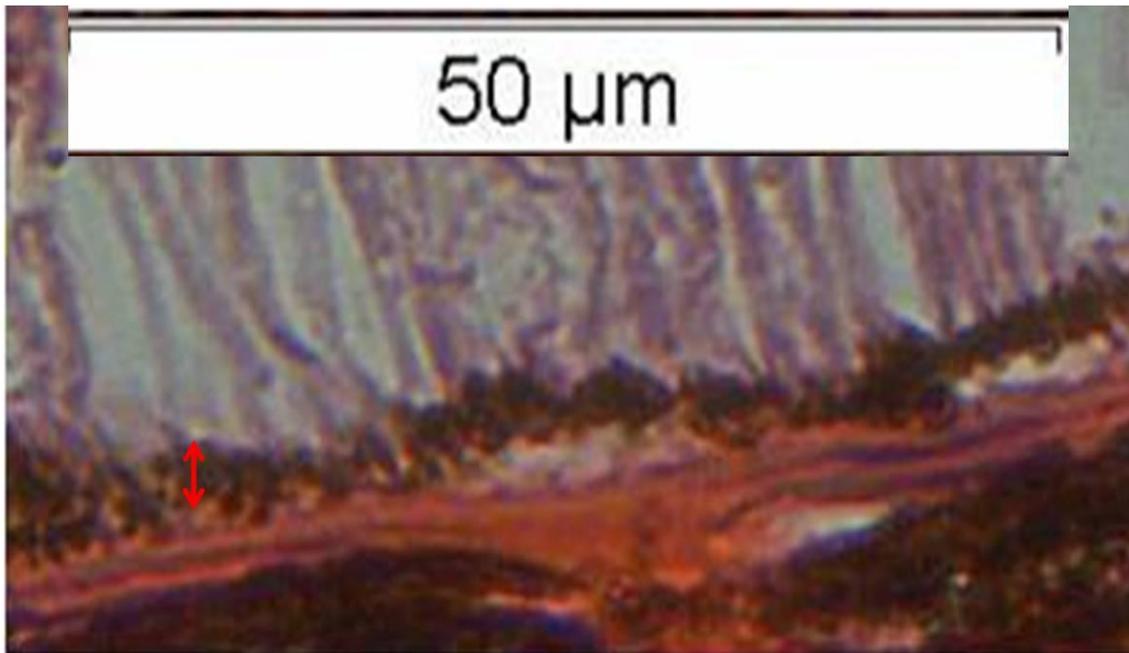


Figura 19. Grupo Controle - olho direito do coelho C. Aspecto contínuo e a espessura do EPR (seta vermelha). Pequenas áreas de destacamento são consideradas artefatos.

As medidas das camadas EPR, FR, CNE, CNI e do número de estratos celulares da CNE do grupo controle é descrita na tabela a seguir (Tabela 8).

Tabela 8. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo controle

OLHO	COELHO	EPR	ESPESSURA (u)			CAMADAS CNE
			FR	CNE	CNI	
A	D	4,8	30,9	33,6	17,5	6
A	E	3,2	23,6	22,3	15,8	5
B	D	3,4	38,4	28,6	17,3	6
B	E	4,5	32,8	27,8	14,1	6
C	D	4,9	34	27,7	17,8	5
C	E	2,8	26	29,4	19,3	6

Legenda:

D – Direito      E – Esquerdo

#### 4.2.2 GRUPO PLACEBO

Não foram observadas diferenças significantes entre a análise morfológica da retina neurosensorial do grupo controle e do grupo placebo, no qual foi injetado 0,1ml de solução salina balanceada. Não foram percebidas áreas de atrofia da camada dos fotorreceptores e da nuclear externa compatível lesão de fotorreceptores, nem espessamento significativo das demais camadas sugestivas de edema ou inflamação. Nenhum dos olhos apresentou áreas de descolamento de retina ao exame histológico. (Figura 20)

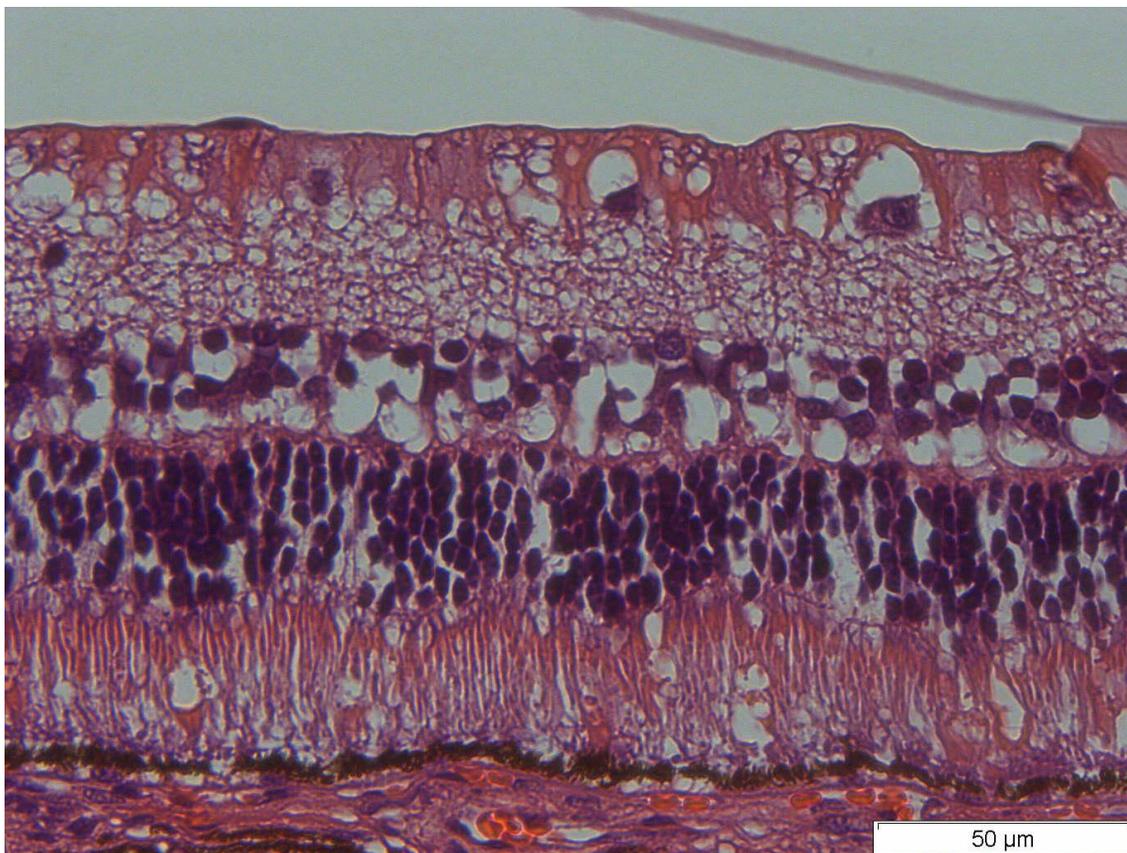


Figura 20. Grupo Placebo - olho esquerdo do coelho 2. Não foram observadas diferenças significantes na morfologia histológica da retina, quando comparada ao grupo controle.

As medidas das espessuras das camadas EPR, FR, CNE e CNI, assim como o número de estratos celulares na CNE estão descritos na tabela abaixo (Tabela 9).

Tabela 9. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo placebo

OLHO	COELHO	EPR	ESPESSURA (u)			CAMADAS CNE
			FR	CNE	CNI	
1	D	3,9	25,5	27,4	18,8	5
1	E	4,2	28,0	32,4	22,5	6
2	D	4,7	30,5	28,7	20,7	5
2	E	4,7	27,6	31,0	18,2	6
3	E	3,8	26,8	31,8	17,0	6
13	D	3,2	32,6	25,6	19,7	5
14	D	3,0	23,1	23,5	21,6	5
14	E	3,3	26,8	27,0	15,3	6
15	D	3,8	37,7	23,1	15	5
15	E	3,3	26,8	25,3	14,3	6

Legenda:

D – Direito      E – Esquerdo

#### 4.2.2.1 - Comparação das medidas do grupo controle e do grupo placebo

Não foi observada diferença significativa entre o valor médio das medidas das espessuras das camadas EPR, FR, CNE e CNI, assim como do número de estratos celulares na CNE entre os grupos controle e placebo (Tabela 10).

Tabela 10. Comparação das espessuras das camadas EPR, FR, CNE, CNI e do número de estratos celulares na CNE entre os grupos controle e placebo

GRUPO	ESPESSURA (u) <sup>1</sup>				CAMADAS CNE <sup>2</sup>
	EPR	FR	CNE	CNI	
CONTROLE	3,9±0,9	30,9±5,4	28,2±3,6	17,0±1,8	6 (0,75)
PLACEBO	3,8±0,6	28,5±4,1	27,5±3,3	18,3±2,8	5,5 (1,0)
Valor de p	0,70 <sup>3</sup>	0,33 <sup>3</sup>	0,71 <sup>3</sup>	0,32 <sup>3</sup>	0,61 <sup>4</sup>

Legenda:

<sup>1</sup> – Valor médio em micrometros ± Desvio-Padrão (DP)

<sup>2</sup> – Valor mediano (distância inter-quartilica)

<sup>3</sup> – Teste t de Student para amostras não-pareadas.

<sup>4</sup> – Teste de Mann-Whitney

#### 4.2.3 GRUPO 1

O grupo 1, em que foi injetado 1,25mg/0,1ml de Bevacizumabe intra-vítreo, não apresentou diferenças significantes no estudo histológico da retina neurosensorial em relação ao grupo placebo. Não foram percebidas áreas de atrofia da camada dos fotorreceptores e nuclear externa compatível lesão de fotorreceptores, nem espessamento significativo das demais camadas sugestivas de edema ou inflamação. Nenhum dos olhos apresentou áreas de descolamento de retina em exame histológico (Figura 21).

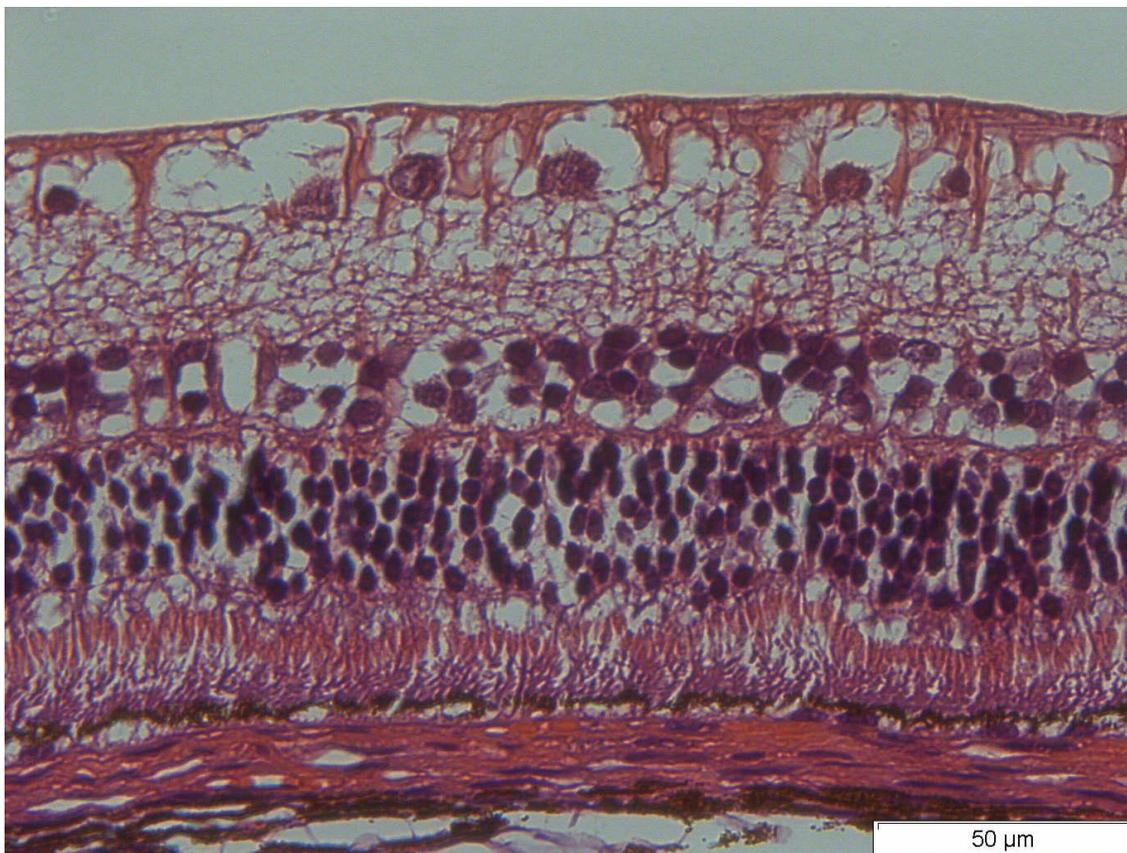


Figura 21. Grupo 1 - Injeção de 1,25mg/0,1ml de bevacizumabe - Olho direito do Coelho 3. Não são observadas diferenças morfológicas significantes em relação ao grupo placebo.

As medidas das espessuras das camadas EPR, FR, CNE e CNI, assim como o número de estratos celulares na CNE estão descritos na tabela abaixo (Tabela 11).

Tabela 11. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo 1.

OLHO	COELHO	EPR	ESPESSURA (u)			CAMADAS
			FR	CNE	CNI	CNE
3	D	4,3	25,0	32,8	18,4	6
4	D	4,2	39,0	37,0	18,6	7
4	E	2,8	28,6	25,8	16,5	6
5	E	3,3	28,3	23,9	19,9	5
6	E	4,5	40,1	37,1	22,0	6
7	D	4,5	42,4	27,1	15,1	5
7	E	3,0	33,0	28,8	12,0	5
9	D	4,5	26,6	31,5	14,1	6
11	D	3,3	24,1	23,4	17,7	5
12	D	3,0	24,0	21,4	15,5	5

Legenda:

D – Direito      E – Esquerdo

#### 4.2.4 GRUPO 2

O grupo 2, em que foi injetado 2,5mg/0,1ml de Bevacizumabe intra-vítreo, não apresentou diferenças significantes no estudo histológico da retina neurosensorial em relação ao grupo placebo. Não foram percebidas áreas de atrofia da camada de fotorreceptores e da camada nuclear externa compatível lesão de fotorreceptores, nem espessamento significativo das demais camadas sugestivas de edema ou inflamação. Nenhum dos olhos apresentou áreas de descolamento de retina ao exame histológico. (Figura 22)

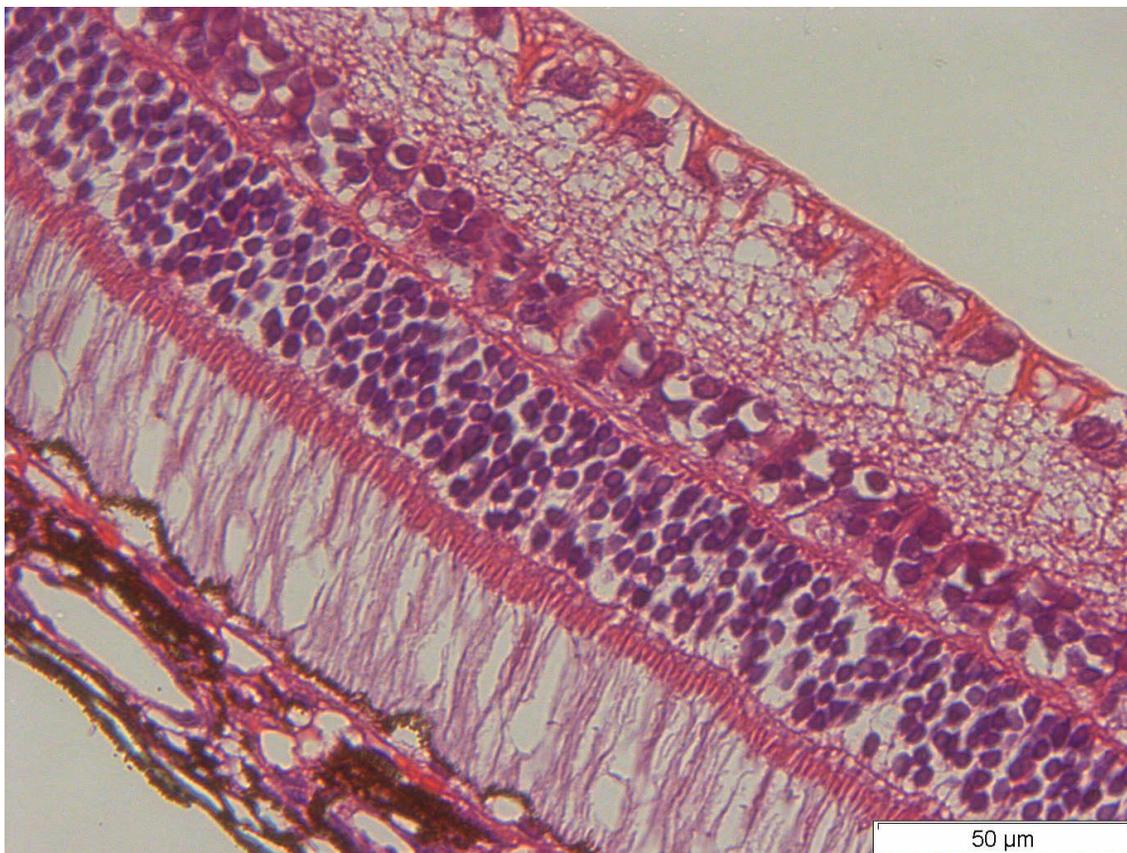


Figura 22. Grupo 2 - Injeção de 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe. Olho esquerdo do coelho 12. Não foram observadas diferenças morfológicas significantes em comparação com o grupo placebo.

As medidas das espessuras das camadas EPR, FR, CNE e CNI, assim como o número de estratos celulares na CNE estão descritos na tabela abaixo. (Tabela 12)

Tabela 12. Valores das espessuras das camadas de FR, CNE, CNI, EPR e do número de estratos celulares na CNE no grupo 2

OLHO	COELHO	EPR	ESPESSURA (µ)			CAMADAS CNE
			FR	CNE	CNI	
5	D	3,6	26,6	24,3	20,1	5
6	D	2,8	41,7	25,8	27,7	5
8	D	2,8	22,7	32,8	14,1	6
8	E	4,2	16,2	21,2	14,8	5
9	E	3,0	41,3	32,3	13,9	7
10	D	3,9	38,5	27,8	18,7	6
10	E	3,8	25,2	20,5	17,5	6
11	E	3,5	24,0	20,1	13,2	5
12	E	3,6	44,4	31,1	16,1	6
13	E	4,0	31,8	31,6	23,3	7

Legenda:

D – Direito      E – Esquerdo

#### 4.2.5 ANÁLISE DAS ESPESSURAS DAS CAMADAS DA RETINA NEUROSENSORIAL

As espessuras da camada de fotorreceptores não variou significativamente entre o grupo em que se injetou solução salina balanceada (placebo) e os grupos nos quais se injetaram bevacizumabe intra-vítreo com 1,25mg/0,1ml (grupo 1) e 2,5mg/0,1ml (grupo 2). (Figura 23)

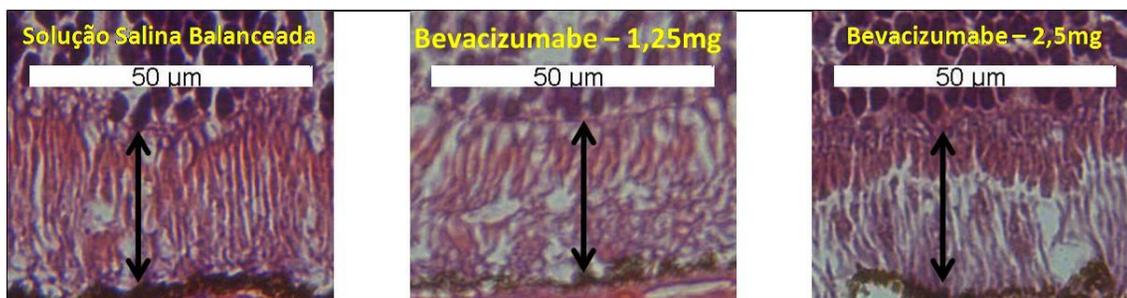


Figura 23. Comparação da espessura da camada de fotorreceptores entre o grupo placebo (solução salina balanceada), grupo 1 (bevacizumabe 1,25mg/0,1ml) e grupo 2 (bevacizumabe 2,5mg/0,1ml). Não se observam diferenças entre os achados histológicos do grupo placebo e dos outros dois grupos.

As espessuras das camadas nucleares externa e interna, assim como o número de estratos celulares na CNE, também não diferiram significativamente entre o grupo que injetou solução salina balanceada (placebo) e os grupos que injetaram bevacizumabe intra-vítreo com 1,25mg/0,1ml (grupo 1) e 2,5mg/0,1ml (grupo 2). (Figura 24)

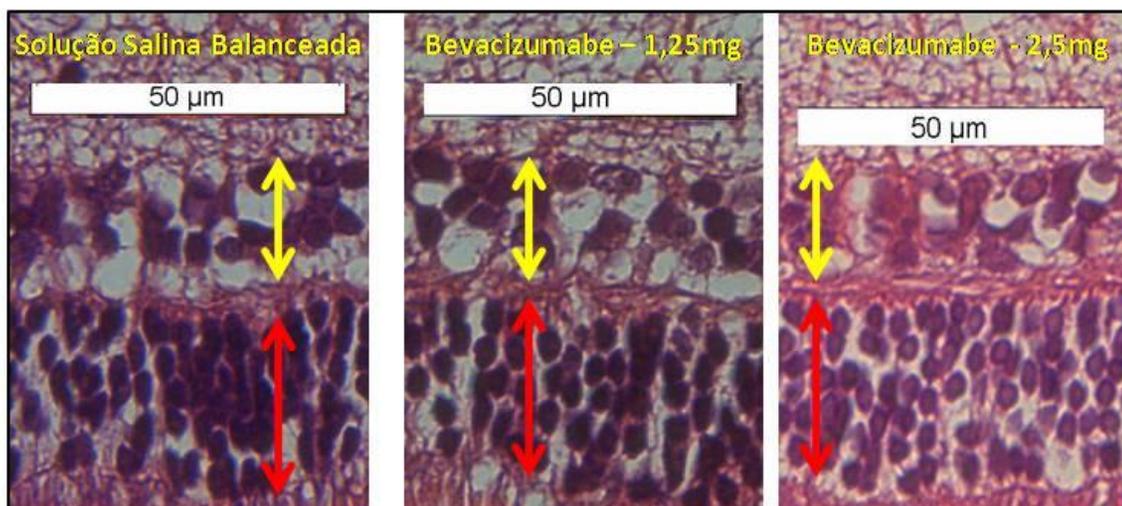


Figura 24. A espessura da Camada Nuclear Externa (seta vermelha) e da Camada Nuclear Interna (seta amarela) no grupo 1 (bevacizumabe 1,25mg/0,1ml) e no grupo 2 (bevacizumabe 2,5mg) não diferiram do grupo placebo (solução salina balanceada). O número de estratos celulares da CNE variou de 5 a 7 estratos nos 3 grupos, não diferindo significativamente entre eles.

Os valores médios das medidas das espessuras das camadas EPR, FR, CNE e CNI, assim como a mediana do número de estratos celulares na CNE dos grupos 1 (bevacizumabe 1,25mg/0,1ml) e placebo (solução salina balanceada 0,1ml) estão descritos na tabela abaixo (Tabela 13).

Tabela 13. Comparação das espessuras das camadas EPR, FR, CNE, CNI e do número de estratos celulares na CNE entre o grupo placebo e o grupo 1.

GRUPO	ESPESSURA (u) <sup>1</sup>				CAMADAS CNE <sup>3</sup>
	EPR	FR	CNE	CNI	
1	3,7±0,7	31,1±7,0	28,7±5,6	17,0±2,9	5,5 (1,0)
PLACEBO	3,8±0,6	28,5±4,1	27,5±3,3	18,3±2,8	5,5 (1,0)
Valor de p	0,86 <sup>2</sup>	0,35 <sup>2</sup>	0,36 <sup>2</sup>	0,35 <sup>2</sup>	0,81 <sup>4</sup>

Legenda:

<sup>1</sup> – Medida em micrometros ± Desvio-Padrão (DP)

<sup>2</sup> – Teste t de Student para amostra pareadas.

<sup>3</sup> – Mediana do número de camadas celulares da CNE (Distância Inter-quartilica)

<sup>4</sup> – Calculado pelo teste de Wilcoxon

\* - Grupo em que foi injetado 1,25mg de Bevacizumabe

Os valores médios das medidas das espessuras das camadas EPR, FR, CNE e CNI, assim como a mediana do número de estratos celulares na CNE dos grupos 2 (bevacizumabe 2,5mg/0,1ml) e placebo (solução salina balanceada) estão descritos na tabela abaixo (Tabela 14).

Tabela 14. Comparação das espessuras das camadas EPR, FR, CNE, CNI e do número de estratos celulares na CNE entre o grupo placebo e o grupo 2

GRUPO	ESPESSURA (u) <sup>1</sup>				CAMADAS CNE <sup>3</sup>
	EPR	FR	CNE	CNI	
2	3,5±0,5	31,2±9,7	26,7±5,0	17,9±4,7	6,0 (1,0)
PLACEBO	3,8±0,6	28,5±4,1	27,5±3,3	18,3±2,8	5,5 (1,0)
Valor de p	0,37 <sup>2</sup>	0,33 <sup>2</sup>	0,67 <sup>2</sup>	0,8 <sup>2</sup>	0,42 <sup>4</sup>

Legenda:

<sup>1</sup> – Medida em micrometros ± Desvio-Padrão (DP)

<sup>2</sup> – Teste t de Student para amostra pareadas.

<sup>3</sup> – Valor mediano do número de camadas celulares da CNE (Distância Inter-quartílica)

<sup>4</sup> – Calculado pelo teste de Wilcoxon

\* - Grupo em que foi injetado 2,5mg de Bevacizumabe

#### 4.2.6 ANÁLISE DO EPITÉLIO PIGMENTADO DA RETINA

Nos grupos placebo, grupo 1 e grupo 2, o EPR apresentou-se com aspecto contínuo, sem áreas sugestivas de atrofia e sem diferenças significantes entre eles (Figura 25).

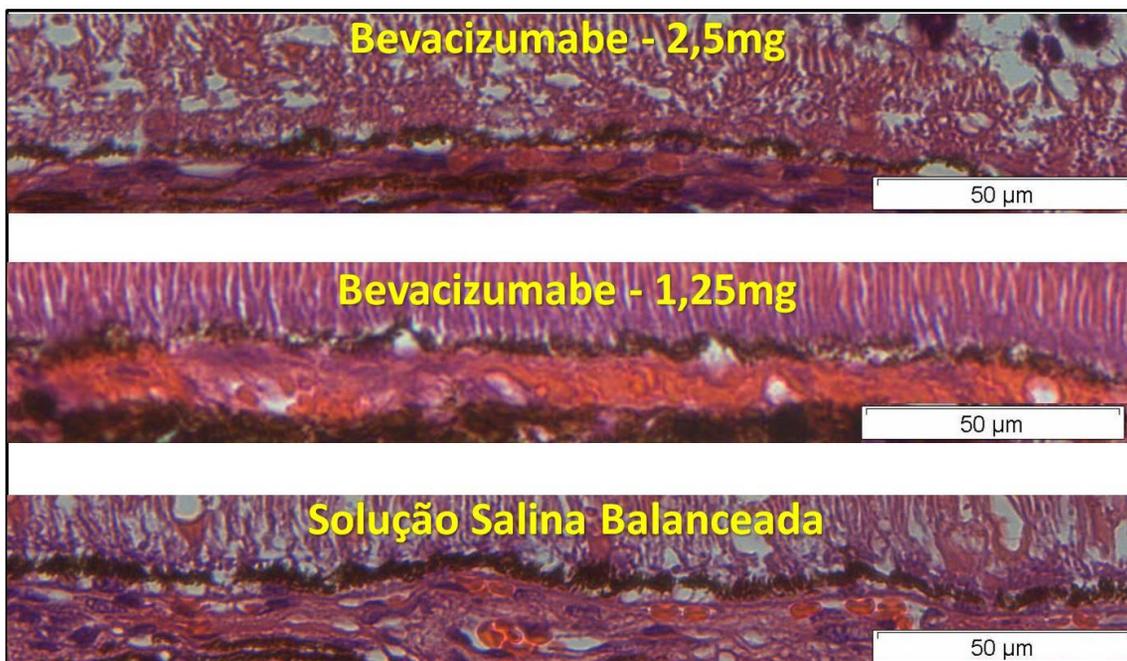


Figura 25. Fotos do EPR representativas dos três grupos de estudo em que foram realizadas injeções intra-vitreas. Não foi observada diferença significativa no aspecto contínuo entre os grupos.

A espessura média do EPR também não variou significativamente entre os grupos. (Tabela 15)

Tabela 15. Comparação da espessura do EPR entre o grupo placebo e os grupos 1 e 2

GRUPOS	ESPESSURA DO EPR (MÉDIA ± DP)	p
PLACEBO	3,8 ± 0,6µ	--
GRUPO 1 (1,25mg Bevacizumabe)	3,7 ± 0,7µ	0,88 <sup>1</sup>
GRUPO 2 (2,50mg Bevacizumabe)	3,5 ± 0,5µ	0,37 <sup>2</sup>

Legenda:

p – Valor de p calculado pelo teste t student para amostras pareadas.

<sup>1</sup> – Valor de p calculado pela comparação entre os grupos 1 e placebo.

<sup>2</sup> - Valor de p calculado pela comparação entre os grupos 2 e placebo.

## 5 DISCUSSÃO

---

### 5.1 A INJEÇÃO INTRA-VÍTREA EM OLHOS DE COELHOS NÃO-ALBINOS

A terapia anti-angiogênica popularizou a realização das injeções intra-vítreas no tratamento de diversas patologias vítreo-retinianas. Apesar de se mostrarem seguras, existem relatos de complicações e o uso de anti-angiogênicos na oftalmologia devem seguir os protocolos da boa prática clínica (AIELLO *et al.*, 2004; FUNG *et al.*, 2006; ANGULO BOCCO *et al.*, 2008; FINTAK *et al.*, 2008).

Estudando o uso de bevacizumabe e ranibizumabe intra-vítreo, FINTAK *et al* (2008) avaliaram 14.320 injeções e encontraram a incidência de 0,02% de endoftalmite . Acredita-se que a experiência acumulada, a adequada anti-sepsia e a adequação de normas para injeção intra-vítrea tenham levado a uma importante redução de endoftalmite associada ao procedimento (AIELLO *et al.*, 2004). ÂNGULO BOCCO *et al* (2008) avaliaram 2028 injeções realizadas com triancinolona, pegaptanibe e ranibizumabe e corroboraram os achados dos demais estudos. Eles ainda encontraram a incidência de 0,44% de catarata e 0,05% de rotura retiniana. FUNG *et al* (2006) realizaram um inquérito pela internet, que incluiu oftalmologistas de doze países em quatro continentes, coletando dados referentes a 7.113 injeções intra-vítreas com uma média de

três meses de acompanhamento. Esses autores também encontraram incidência de endoftalmite de 0,01% e descolamento de retina de 0,04% e consideraram os efeitos adversos sistêmicos inerentes à própria idade do paciente .

No presente estudo, o procedimento de injeção intra-vítrea em olhos de coelhos não levou a efeitos clínicos adversos relevantes no pós-operatório. A presença de opacificação cristalíniana localizada próximo ao sítio da injeção foi ocasionada, possivelmente, pelo toque cristalíniano durante o procedimento. Esta opacificação local, no entanto, em nada impediu o adequado acompanhamento da retina do animal.

O edema de córnea, surgido logo após a injeção, foi secundário ao aumento brusco da pressão intra-ocular. O volume da cavidade vítrea do olho do coelho é de aproximadamente 1,7ml, enquanto o do olho humano é de 4ml. O volume injetado no olho do animal foi baseado naquele que é injetado no ser humano, ou seja, proporcionalmente 2,5 vezes maior.

Foi levantada, ainda, na fase do estudo piloto do trabalho, a possibilidade deste volume maior ser responsável por danos estruturais à retina neurossensorial e epitélio pigmentado da retina e tais ocorridos poderiam ser falsamente atribuídos à droga em estudo (bevacizumabe). A análise histológica cuidadosa dos olhos que não realizaram injeção (grupo controle) e dos olhos que realizaram injeção de placebo (0,1ml de solução salina balanceada – SSB)

mostrou que esta injeção de 0,1ml não leva a danos estruturais a retina e EPR de olhos de coelhos (Tabela 10).

A verificação da existência de permeabilidade da artéria central da retina com oftalmoscopia binocular indireta, após a injeção, também confirmou a ausência da possibilidade de dano isquêmico secundário à injeção.

Não houve, ainda, nenhum caso de endoftalmite e de inflamação ocular grave usando-se os cuidados recomendados pela melhor prática clínica hoje existente para injeções intra-vítreas, conforme adotado pelo protocolo deste trabalho.

Os dados do estudo sugerem que a injeção intra-vítrea de 0,1ml em olhos de coelhos, sob condições de assepsia e anti-sepsia adequadas, seja um procedimento clinicamente seguro, podendo ser considerado útil e reprodutível em modelos experimentais para pesquisa sobre toxicidade retiniana de diferentes fármacos em animais.

## 5.2 OS EFEITOS DO BEVACIZUMABE EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS

### 5.2.1 A ANÁLISE DA RETINA NEUROSENSORIAL.

Neste estudo, trinta olhos de coelhos não albinos receberam injeção intra-vítrea de 0,1ml e foram distribuídos em três grupos (1:1:1), sem diferenças significantes de sexo e peso (Tabela 7) , nos quais foram injetados: solução salina balanceada (placebo), 1,25mg/0,1ml de bevacizumabe e 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe. Os olhos dos animais foram acompanhados por noventa dias e só então foram enucleados para avaliação histológica.

Por ter o olho consideravelmente maior que o dos camundongos, o que proporciona injeções intra-vitreas com volume semelhante àquelas feitas em seres humanos, e pela maior facilidade em mantê-los em ambientes experimentais quando comparados a porcos e macacos, os coelhos vêm sendo usados como modelo animal para investigação da toxicidade retiniana a diferentes fármacos (AHN *et al.*, 1995; MAIA, KELLNER *et al.*, 2004; KOMAROWSKA *et al.*, 2009).

MAIA *et al* (2004) detectaram histologicamente a toxicidade retiniana após o uso de indocianina verde na cavidade vítrea de olhos de coelhos pigmentados pela presença de edema nas camadas celulares, chegando até o nível dos fotorreceptores. KOMAROWSKA *et al* (2009) relataram alteração histológica descrita como afinamento de todas as camadas da retina,

relacionada à lesão tóxica por repetidas injeções de *ketorolac* na cavidade vítrea de nove coelhos albinos, surgidas após doze semanas de acompanhamento.

BAKRI et al (2008) mostraram não haver toxicidade histológica sobre a retina após aplicação intra-vítrea de *Nanogold* em dezesseis coelhos pigmentados. Estes autores encontraram apenas vacuolização leve nas camadas de células ganglionares e plexiforme interna, tanto no grupo controle como no grupo estudo, e atribuíram tal achado a artefato de preparação das peças.

A toxicidade do bevacizumabe sobre a retina também vem sendo testada. KAEMPF et al (2008) mostraram *in vitro* que uma concentração cinco vezes maior que a usada clinicamente não é deletéria para os fotorreceptores, corroborando com os achados de LUTHRA et al (2006).

*In vivo*, SANCHO-TELLO et al (2009) mostraram a presença de discreta inflamação transitória após a aplicação de bevacizumabe intra-vítreo em olhos de ratos. MANZANO et al (2006) e FEINER et al (2006) publicaram os primeiros estudos experimentais com análise histológica mostrando a ausência da toxicidade do bevacizumabe intra-vítreo em olhos de coelhos albinos. CHENG et al (2008) não detectaram toxicidade do bevacimabe intra-vítreo *in vivo* e *in vitro* sobre as células ganglionares da retina, mesmo após injeções repetidas em altas doses. Todos esses estudos, publicados na literatura mundial, apresentam tempo de acompanhamento de no máximo quatro semanas após a

injeção intra-vítrea de bevacizumabe. KOMAROWSKA et al (2009) só detectaram alterações de atrofia retina com o uso de ketorolac após doze semanas, logo alterações tóxicas relativas ao bevacizumabe também poderiam surgir após quatro semanas.

Neste estudo, foi proposto um tempo de acompanhamento mais prolongado que os estudos anteriores relatados na literatura, para se avaliar possíveis efeitos tóxicos tardios. Após noventa dias (12-13 semanas) de seguimento, não foram encontradas diferenças morfológicas entre a análise histológica dos olhos em que foi injetada solução salina balanceada (placebo) e aqueles submetidos a injeção intra-vítrea de bevacizumabe 1,25mg/0,1ml e 2,5mg/0,1ml.

Além da análise morfológica, de forma inédita na literatura mundial, foi realizada a medida das espessuras das camadas retinianas para possibilitar uma avaliação comparativa-quantitativa e detectar possíveis sinais de atrofia ou edema dos estratos celulares da retina, que poderiam associar-se à toxicidade pela injeção intra-vítrea de bevacizumabe.

Foi visto que o valor médio da espessura da camada de fotorreceptores (Figura 23), das camadas nucleares externa e interna, assim como o número de estratos celulares na CNE (Figura 24) não diferiram significativamente entre os olhos que realizaram injeção intra-vítrea de solução salina balanceada e os olhos que realizaram injeção intra-vítrea de bevacizumabe com 1,25mg/0,1ml (Tabela 13) ou 2,5mg/0,1ml (Tabela 14).

Diante da análise morfo-histológica e quantitativa da espessura das camadas, sugere-se que não houve lesão seguida de perda celular com conseqüente atrofia da camada, como relatado por KOMAROWSKA et al (2009) após o uso de Ketorolac, nem tão pouco, edema retiniano como referido por MAIA et al (2004) após uso de indocianina verde.

Pode-se considerar, assim, que a injeção intra-vítrea de 1,25mg/0,1ml ou 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe não levou a efeitos tóxicos sobre a retina neurossensorial de olhos de coelhos não albinos, sugerindo ser o uso de bevacizumabe seguro nas doses utilizadas comumente na prática oftalmológica.

### 5.2.2 A ANÁLISE DO EPITÉLIO PIGMENTADO DA RETINA

SPITZER et al (2006) mostraram *in vitro* que doses intra-vítreas de 1,25mg/0,1ml são seguras, no entanto, doses a partir de 2,5mg/0,1ml podem causar danos às células do epitélio pigmentado da retina. KERNT et al (2007) também mostraram *in vitro* que injeções intra-vítreas com mais de 1,25 mg de bevacizumabe podem levar danos às células do EPR.

DIB et al (2008) e SHAHAR et al (2006) mostraram que, em olhos de coelhos, o bevacizumabe atinge o espaço subretiniano em até duas horas após a injeção intra-vítrea. Diante disso, torna-se possível que o bevacizumabe possa levar danos ao EPR após sua aplicação na cavidade vítrea.

Poucos estudos na literatura mundial usaram coelhos pigmentados para testar a toxicidade de bevacizumabe intra-vítreo e todos eles tiveram seu tempo de acompanhamento máximo de quatro semanas (BAKRI *et al.*, 2006; AMERI *et al.*, 2007) .

Outro destaque deste estudo foi a atenção dada ao epitélio pigmentado da retina para se avaliar possíveis efeitos tóxicos tardios (noventa dias após o procedimento) do bevacizumabe. Em coelhos não albinos, a análise minuciosa do epitélio pigmentado da retina nos olhos submetidos à injeção de medicação placebo e de 1,25mg/0,1ml e 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe intra-vítrea não mostrou diferenças significantes entre os grupos com preservação de seu aspecto morfológico contínuo (Figura 25). A medida de sua espessura é extremamente importante para avaliar sinais de atrofia. Não foi observada diferença significativa desta medida entre os olhos que foram submetidos à injeção de solução salina balanceada e os que realizaram injeção intra-vítrea de bevacizumabe com 1,25mg/0,1ml ou 2,5mg/0,1ml (Tabela 15).

Sugere-se, portanto, que injeções intra-vítreas de 1,25mg/0,1ml e 2,5mg/0,1ml de bevacizumabe não levem a danos e a atrofia na camada de epitélio pigmentar da retina.

### 5.3 PERSPECTIVAS FUTURAS

1. Este trabalho mostrou a segurança da injeção intra-vítrea de bevacizumabe, uma droga de custo mais acessível, para o tratamento das diversas doenças proliferativas da retina e coróide. Projeta-se, agora, a construção de protocolos de trabalhos de pesquisa para avaliação de sua eficácia em larga série de pacientes.

2. Após longo e detalhado estudo bem sucedido na construção e desenvolvimento de um modelo animal reprodutível e seguro para realização de injeções intra-vítreas em ambiente experimental, espera-se, agora, utilizá-lo em futuros trabalhos para o teste de novas drogas a serem utilizadas no tratamento das doenças vasoproliferativas do olho.

## 6 CONCLUSÕES

---

1. O volume de 0,1ml de solução salina balanceada injetada na cavidade vítrea de olhos de coelhos não-albinos não leva a alterações histológicas nem a danos estruturais a retina neurosensorial e epitélio pigmentado da retina.
2. A injeção intra-vítrea de bevacizumabe em olhos de coelhos não foi associada a complicações clínicas pós-operatórias significativas.
3. A injeção intra-vítrea de 0,1ml com 1,25mg e 2,5mg de bevacizumabe em olhos de coelhos não albinos mostrou-se segura e sem sinais de danos histológicos a retina neurosensorial após um seguimento de três meses.
4. A injeção intra-vítrea de 0,1ml com 1,25mg e 2,5mg de bevacizumabe em olhos de coelhos não albinos mostrou-se segura e sem sinais de danos histológicos ao epitélio pigmentado da retina após um seguimento de três meses.

## REFERÊNCIAS

---

ADAMIS, A. P.; SHIMA, D. T. The role of vascular endothelial growth factor in ocular health and disease. **Retina**, v.25, n.2, Feb-Mar, p.111-8. 2005.

AHN, D. S. *et al.* Evaluation of retinal toxicity of acetylcholine in rabbit eyes. **Retina**, v.15, n.4, p.327-31. 1995.

AIELLO, L. P. *et al.* Evolving guidelines for intravitreal injections. **Retina**, v.24, n.5 Suppl, Oct, p.S3-19. 2004.

AIELLO, L. P. *et al.* Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.92, n.23, Nov 7, p.10457-61. 1995.

AMERI, H. *et al.* The effects of intravitreal bevacizumab on retinal neovascular membrane and normal capillaries in rabbits. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v.48, n.12, Dec, p.5708-15. 2007.

ANGULO BOCCO, M. C. *et al.* [Intravitreal injection: retrospective study on 2028 injections and their side effects.]. **J Fr Ophthalmol**, v.31, n.7, Sep, p.693-8. 2008.

ANTOSZYK, A. N. *et al.* Ranibizumab combined with verteporfin photodynamic therapy in neovascular age-related macular degeneration (FOCUS): year 2 results. **Am J Ophthalmol**, v.145, n.5, May, p.862-74. 2008.

ANVISA. Inibidores da angiogênese para o tratamento da degeneração macular relacionada a idade. **Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde**, 2008.3 (6). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/newsletter/brats/2008/brats6.pdf>. Acesso em: 06/02/2009.

ARDAVANIS, A. *et al.* Bevacizumab added to the irinotecan and capecitabine combination for advanced colorectal cancer: a well-tolerated, active and convenient regimen. **Anticancer Res**, v.28, n.5B, Sep-Oct, p.3087-92. 2008.

AREDS. Risk factors associated with age-related macular degeneration. A case-control study in the age-related eye disease study: Age-Related Eye Disease Study Report Number 3. **Ophthalmology**, v.107, n.12, Dec, p.2224-32. 2000.

AREVALO, J. F. *et al.* Primary intravitreal bevacizumab for subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: results of the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 12 months follow-up. **Retina**, v.28, n.10, Nov-Dec, p.1387-94. 2008.

Association for Research in Vision and Ophthalmology, 2006. Disponível em: <http://www.arvo.org/eweb/dynamicpage.aspx?site=arvo2&webcode=AnimalsResearch#Guidelines%20for%20the%20Design%20of%20Experiments>. Acesso em: 04/02/2009

ÁVILA, M. A. *et al.* Degeneração Macular Relacionada a Idade. In: ROCA E. (Ed.). **Retina e Vítreo, Clínica e Cirurgia**, 2000. Degeneração Macular Relacionada a Idade

AVILA, M. P. *et al.* Twelve-month short-term safety and visual acuity results from a multicentre, prospective study of epiretinal strontium-90 brachytherapy with bevacizumab for the treatment of subfoveal choroidal neovascularisation

secondary to age-related macular degeneration. **Br J Ophthalmol**, Nov 19. 2008.

AZAD, R. *et al.* The economic implications of the use of anti-vascular endothelial growth factor drugs in age-related macular degeneration. **Indian J Ophthalmol**, v.55, n.6, Nov-Dec, p.441-3. 2007.

BAKRI, S. J. *et al.* Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal bevacizumab in a rabbit model. **Am J Ophthalmol**, v.142, n.1, Jul, p.162-4. 2006.

BAKRI, S. J. *et al.* Absence of histologic retinal toxicity of intravitreal nanogold in a rabbit model. **Retina**, v.28, n.1, Jan, p.147-9. 2008.

BASHSHUR, Z. F. *et al.* Intravitreal bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a one-year prospective study. **Am J Ophthalmol**, v.145, n.2, Feb, p.249-256. 2008.

BASHSHUR, Z. F. *et al.* Intravitreal bevacizumab vs verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration. **Arch Ophthalmol**, v.125, n.10, Oct, p.1357-61. 2007.

BHISITKUL, R. B. Vascular endothelial growth factor biology: clinical implications for ocular treatments. **Br J Ophthalmol**, v.90, n.12, Dec, p.1542-7. 2006.

BLAAUWGEERS, H. G. *et al.* Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris. Evidence for a trophic paracrine relation. **Am J Pathol**, v.155, n.2, Aug, p.421-8. 1999.

BRESSLER, N. M. *et al.* Potential public health impact of Age-Related Eye Disease Study results: AREDS report no. 11. **Arch Ophthalmol**, v.121, n.11, Nov, p.1621-4. 2003.

BRESSLER, N. M. *et al.* Age-related macular degeneration. **Surv Ophthalmol**, v.32, n.6, May-Jun, p.375-413. 1988.

BROWN, D. M. *et al.* Ranibizumab versus verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration: Two-year results of the ANCHOR study. **Ophthalmology**, v.116, n.1, Jan, p.57-65 e5. 2009.

BROWN, G. Comparative effectiveness. **Curr Opin Ophthalmol**, v.19, n.3, May, p.175-6. 2008.

BYLSMA, G. W.; GUYMER, R. H. Treatment of age-related macular degeneration. **Clin Exp Optom**, v.88, n.5, Sep, p.322-34. 2005.

Censo Demográfico 2000. Disponível em:  
[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/default\\_censo\\_2000.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/default_censo_2000.shtm).

Acesso em: 04/02/2009

CHAKRAVARTHY, U. *et al.* Year 2 efficacy results of 2 randomized controlled clinical trials of pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v.113, n.9, Sep, p.1508 e1-25. 2006.

CHENG, C. K. *et al.* Bevacizumab Is Not Toxic to Retinal Ganglion Cells after Repeated Intravitreal Injection. **Retina**, Dec 2. 2008.

COHEN, S. Y. *et al.* Cost-effectiveness sequential modeling of ranibizumab versus usual care in age-related macular degeneration. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol**, v.246, n.11, Nov, p.1527-34. 2008.

COLQUITT, J. L. *et al.* Ranibizumab and pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration: a systematic review and economic evaluation. **Health Technol Assess**, v.12, n.16, May, p.iii-iv, ix-201. 2008.

COSTA, R. A. *et al.* Intravitreal bevacizumab for choroidal neovascularization caused by AMD (IBeNA Study): results of a phase 1 dose-escalation study. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v.47, n.10, Oct, p.4569-78. 2006.

COSTA, R. A. *et al.* Intravitreal bevacizumab (avastin) for central and hemicentral retinal vein occlusions: IBeVO study. **Retina**, v.27, n.2, Feb, p.141-9. 2007.

DANTAS, A. M. Olho. In: (Ed.). **Anatomia Funcional do Olho e seus Anexos**: Revinter, 2002. Olho, p.65-252

DIB, E. *et al.* Subretinal bevacizumab detection after intravitreal injection in rabbits. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v.49, n.3, Mar, p.1097-100. 2008.

DVORAK, H. F. *et al.* Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. **Am J Pathol**, v.146, n.5, May, p.1029-39. 1995.

EHRlich, R. *et al.* Age-related ocular vascular changes. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol**, Dec 16. 2008.

ELLIS, L. M. Bevacizumab. **Nat Rev Drug Discov**, v.Suppl, May, p.S8-9. 2005.

FALKNER, C. I. *et al.* The end of submacular surgery for age-related macular degeneration? A meta-analysis. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol**, v.245, n.4, Apr, p.490-501. 2007.

FEINER, L. *et al.* Safety of intravitreal injection of bevacizumab in rabbit eyes. **Retina**, v.26, n.8, Oct, p.882-8. 2006.

FERRARA, N. VEGF as a therapeutic target in cancer. **Oncology**, v.69 Suppl 3, p.11-6. 2005.

FERRARA, N. *et al.* Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. **Biochem Biophys Res Commun**, v.333, n.2, Jul 29, p.328-35. 2005.

FINTAK, D. R. *et al.* Incidence of endophthalmitis related to intravitreal injection of bevacizumab and ranibizumab. **Retina**, v.28, n.10, Nov-Dec, p.1395-9. 2008.

FONSECA, N. M. *et al.* Anestesia em Coelhos. **Acta Cir. Bras.**, v.11, n.2, p.82-104. 1996.

FRANK, R. N. *et al.* Basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor are present in epiretinal and choroidal neovascular membranes. **Am J Ophthalmol**, v.122, n.3, Sep, p.393-403. 1996.

FUNG, A. E. *et al.* The International Intravitreal Bevacizumab Safety Survey: using the internet to assess drug safety worldwide. **Br J Ophthalmol**, v.90, n.11, Nov, p.1344-9. 2006.

GEITZENAUER, W. *et al.* Comparison of 2.5 mg/kg and 5 mg/kg systemic bevacizumab in neovascular age-related macular degeneration: twenty-four week results of an uncontrolled, prospective cohort study. **Retina**, v.28, n.10, Nov-Dec, p.1375-86. 2008.

GILLIES, M. C. *et al.* A randomized clinical trial of a single dose of intravitreal triamcinolone acetonide for neovascular age-related macular degeneration: one-year results. **Arch Ophthalmol**, v.121, n.5, May, p.667-73. 2003.

GORDON, M. S.; CUNNINGHAM, D. Managing patients treated with bevacizumab combination therapy. **Oncology**, v.69 Suppl 3, p.25-33. 2005.

GRAGOUDAS, E. S. *et al.* Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. **N Engl J Med**, v.351, n.27, Dec 30, p.2805-16. 2004.

GUSTAVSSON, C.; AGARDH, E. Macular infarction after transpupillary thermotherapy for subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration - a possible association with systemic inflammatory disease? **Acta Ophthalmol Scand**, v.82, n.1, Feb, p.100-2. 2004.

GUSTAVSSON, C.; AGARDH, E. Transpupillary thermotherapy for occult subfoveal choroidal neovascularization: a 1-year, prospective randomized pilot study. **Acta Ophthalmol Scand**, v.83, n.2, Apr, p.148-53. 2005.

HAWKINS, B. S. *et al.* Surgery for subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: ophthalmic findings: SST report no. 11. **Ophthalmology**, v.111, n.11, Nov, p.1967-80. 2004.

HEIER, J. S. *et al.* Ranibizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: a phase I/II multicenter, controlled, multidose study. **Ophthalmology**, v.113, n.4, Apr, p.633 e1-4. 2006.

HERA, R. *et al.* Expression of VEGF and angiopoietins in subfoveal membranes from patients with age-related macular degeneration. **Am J Ophthalmol**, v.139, n.4, Apr, p.589-96. 2005.

HURWITZ, H. *et al.* Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. **N Engl J Med**, v.350, n.23, Jun 3, p.2335-42. 2004.

HUSAIN, D. *et al.* Safety and efficacy of intravitreal injection of ranibizumab in combination with verteporfin PDT on experimental choroidal neovascularization in the monkey. **Arch Ophthalmol**, v.123, n.4, Apr, p.509-16. 2005.

IP, M. S. *et al.* Anti-vascular endothelial growth factor pharmacotherapy for age-related macular degeneration: a report by the American Academy of Ophthalmology. **Ophthalmology**, v.115, n.10, Oct, p.1837-46. 2008.

KAEMPF, S. *et al.* Effects of bevacizumab (Avastin) on retinal cells in organotypic culture. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v.49, n.7, Jul, p.3164-71. 2008.

KERNT, M. *et al.* [Bevacizumab is not toxic to human anterior- and posterior-segment cultured cells]. **Ophthalmologe**, v.104, n.11, Nov, p.965-71. 2007.

KERR, D. J. Targeting angiogenesis in cancer: clinical development of bevacizumab. **Nat Clin Pract Oncol**, v.1, n.1, Nov, p.39-43. 2004.

KLEIN, M. L. *et al.* CFH and LOC387715/ARMS2 genotypes and treatment with antioxidants and zinc for age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v.115, n.6, Jun, p.1019-25. 2008.

KLEIN, R. *et al.* Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. **Ophthalmology**, v.99, n.6, Jun, p.933-43. 1992.

KLIFFEN, M. *et al.* Increased expression of angiogenic growth factors in age-related maculopathy. **Br J Ophthalmol**, v.81, n.2, Feb, p.154-62. 1997.

KOMAROWSKA, I. *et al.* Retinal toxicity of commercially available intravitreal ketorolac in albino rabbits. **Retina**, v.29, n.1, Jan, p.98-105. 2009.

KRZYSTOLIK, M. G. *et al.* Prevention of experimental choroidal neovascularization with intravitreal anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment. **Arch Ophthalmol**, v.120, n.3, Mar, p.338-46. 2002.

KVANTA, A. *et al.* Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v.37, n.9, Aug, p.1929-34. 1996.

LAZIC, R.; GABRIC, N. Verteporfin therapy and intravitreal bevacizumab combined and alone in choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v.114, n.6, Jun, p.1179-85. 2007.

LEE, A. Y. *et al.* Pharmacogenetics of Complement Factor H (Y402H) and treatment of exudative age-related macular degeneration with ranibizumab. **Br J Ophthalmol**, Dec 17. 2008.

LEVY, C. F. *et al.* Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome in a child treated with bevacizumab. **Pediatr Blood Cancer**, Dec 21. 2008.

LOPEZ, P. F. *et al.* Transdifferentiated retinal pigment epithelial cells are immunoreactive for vascular endothelial growth factor in surgically excised age-related macular degeneration-related choroidal neovascular membranes. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v.37, n.5, Apr, p.855-68. 1996.

LUTHRA, S. *et al.* Evaluation of in vitro effects of bevacizumab (Avastin) on retinal pigment epithelial, neurosensory retinal, and microvascular endothelial cells. **Retina**, v.26, n.5, May-Jun, p.512-8. 2006.

MA, J.; WAXMAN, D. J. Combination of antiangiogenesis with chemotherapy for more effective cancer treatment. **Mol Cancer Ther**, v.7, n.12, Dec, p.3670-84. 2008.

MA, Z. *et al.* Autologous Transplantation of Retinal Pigment Epithelium-Bruch's Membrane Complex for Hemorrhagic Age-Related Macular Degeneration. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, Dec 30. 2008.

MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP. Argon laser photocoagulation for senile macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. **Arch Ophthalmol**, v.100, n.6, Jun, p.912-8. 1982.

MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP. Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy. Three-year results from randomized clinical trials. Macular Photocoagulation Study Group. **Arch Ophthalmol**, v.104, n.5, May, p.694-701. 1986.

MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP. Persistent and recurrent neovascularization after krypton laser photocoagulation for neovascular lesions of age-related macular degeneration. Macular Photocoagulation Study Group. **Arch Ophthalmol**, v.108, n.6, Jun, p.825-31. 1990.

MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP. Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy. Five-year results from randomized clinical trials. Macular Photocoagulation Study Group. **Arch Ophthalmol**, v.109, n.8, Aug, p.1109-14. 1991a.

MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. Macular Photocoagulation Study Group. **Arch Ophthalmol**, v.109, n.9, Sep, p.1220-31. 1991b.

MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions of age-related macular degeneration. Updated findings from two clinical trials. Macular Photocoagulation Study Group. **Arch Ophthalmol**, v.111, n.9, Sep, p.1200-9. 1993.

MACULAR-PHOTOCOAGULATION-STUDY-GROUP. Persistent and recurrent neovascularization after laser photocoagulation for subfoveal choroidal neovascularization of age-related macular degeneration. Macular Photocoagulation Study Group. **Arch Ophthalmol**, v.112, n.4, Apr, p.489-99. 1994.

MAIA, M. *et al.* Effects of indocyanine green injection on the retinal surface and into the subretinal space in rabbits. **Retina**, v.24, n.1, Feb, p.80-91. 2004.

MAIA, M. *et al.* Effects of intravitreal indocyanine green injection in rabbits. **Retina**, v.24, n.1, Feb, p.69-79. 2004.

MANZANO, R. P. *et al.* Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). **Retina**, v.26, n.3, Mar, p.257-61. 2006.

MICHELS, S. *et al.* Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration twelve-week results of an uncontrolled open-label clinical study. **Ophthalmology**, v.112, n.6, Jun, p.1035-47. 2005.

MILLER, J. W. Vascular endothelial growth factor and ocular neovascularization. **Am J Pathol**, v.151, n.1, Jul, p.13-23. 1997.

MORACZEWSKI, A. L. *et al.* Outcomes of Treatment of Neovascular Glaucoma with Intravitreal Bevacizumab. **Br J Ophthalmol**, Dec 15. 2008.

MURJANEH, S. *et al.* Observational Prospective Study of the Effectiveness in Routine Clinical Practice of Verteporfin Photodynamic Therapy in Patients with Neovascular Age-related Macular Degeneration. **Br J Ophthalmol**, Dec 15. 2008.

NERI, P. *et al.* Long-term control of choroidal neovascularization secondary to angioid streaks treated with intravitreal Bevacizumab (Avastin(R)). **Br J Ophthalmol**, Oct 29. 2008.

NGUYEN, Q. D. *et al.* A phase I trial of an IV-administered vascular endothelial growth factor trap for treatment in patients with choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v.113, n.9, Sep, p.1522 e1-1522 e14. 2006.

OTANI, A. *et al.* Vascular endothelial growth factor family and receptor expression in human choroidal neovascular membranes. **Microvasc Res**, v.64, n.1, Jul, p.162-9. 2002.

PRAGER, F. *et al.* Intravitreal bevacizumab (Avastin(R)) for macular edema secondary to retinal vein occlusion - twelve-month results of a prospective clinical trial. **Br J Ophthalmol**, Dec 15. 2008.

RAFTERY, J. *et al.* Ranibizumab (Lucentis) versus bevacizumab (Avastin): modelling cost effectiveness. **Br J Ophthalmol**, v.91, n.9, Sep, p.1244-6. 2007.

RAHIMI, N. Vascular endothelial growth factor receptors: molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. **Exp Eye Res**, v.83, n.5, Nov, p.1005-16. 2006.

REGILLO, C. D. *et al.* Randomized, double-masked, sham-controlled trial of ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: PIER Study year 1. **Am J Ophthalmol**, v.145, n.2, Feb, p.239-248. 2008.

REICHEL, E. *et al.* Transpupillary thermotherapy of occult subfoveal choroidal neovascularization in patients with age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v.106, n.10, Oct, p.1908-14. 1999.

RESNIKOFF, S. *et al.* Global data on visual impairment in the year 2002. **Bull World Health Organ**, v.82, n.11, Nov, p.844-51. 2004.

ROCHE. Bula do Avastin. 2006. Disponível em: <http://www.roche.com.br/NR/rdonlyres/A0B79021-1399-4FF2-80CD-DBC07970C055/22545/bula1.pdf>. Acesso em:09/02/2009.

ROSENFELD, P. J. *et al.* Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. **N Engl J Med**, v.355, n.14, Oct 5, p.1419-31. 2006.

ROSENFELD, P. J. *et al.* Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmic Surg Lasers Imaging**, v.36, n.4, Jul-Aug, p.331-5. 2005.

ROSENFELD, P. J. *et al.* Maximum tolerated dose of a humanized anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment for treating neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v.112, n.6, Jun, p.1048-53. 2005.

RUIZ-MORENO, J. M. *et al.* Intravitreal bevacizumab to treat subfoveal choroidal neovascularization in highly myopic eyes: short-term results. **Eye**, Dec 7. 2007.

SANCHO-TELLO, M. *et al.* Transient bevacizumab (avastin)-induced alterations in rat eyes. **Ophthalmic Res**, v.41, n.1, p.28-35. 2009.

SCAPPATICCI, F. A. *et al.* Surgical wound healing complications in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. **J Surg Oncol**, v.91, n.3, Sep 1, p.173-80. 2005.

SCHMIDT-ERFURTH, U. M. *et al.* Guidance for the treatment of neovascular age-related macular degeneration. **Acta Ophthalmol Scand**, v.85, n.5, Aug, p.486-94. 2007.

SEDDON, J. M. *et al.* Prediction Model for Prevalence and Incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration Based on Genetic, Demographic, and Environmental Variables. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, Dec 30. 2008.

SHAHAR, J. *et al.* Electrophysiologic and retinal penetration studies following intravitreal injection of bevacizumab (Avastin). **Retina**, v.26, n.3, Mar, p.262-9. 2006.

SMITH, R. S. *et al.* Retina. In: SMITH R. S. (Ed.). **Systematic evaluation of the mouse eye - Anatomy, Pathology and Biomethods.**: CRC Press, v.1, 2000. Retina, p.195-225

SPITZER, M. S. *et al.* Antiproliferative and cytotoxic properties of bevacizumab on different ocular cells. **Br J Ophthalmol**, v.90, n.10, Oct, p.1316-21. 2006.

STEWART, M. W.; ROSENFELD, P. J. Predicted biological activity of intravitreal VEGF Trap. **Br J Ophthalmol**, v.92, n.5, May, p.667-8. 2008.

T.A.P. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: one-year results of 2 randomized

clinical trials--TAP report. Treatment of age-related macular degeneration with photodynamic therapy (TAP) Study Group. **Arch Ophthalmol**, v.117, n.10, Oct, p.1329-45. 1999.

THEW, M. Rapid resolution of severe retinal neovascularisation in proliferative diabetic retinopathy following adjunctive intravitreal bevacizumab (Avastin). **Clin Exp Optom**, v.92, n.1, Jan, p.34-7. 2009.

TSAI, T. H. *et al.* Transpupillary thermotherapy for the treatment of choroidal neovascularization in age-related macular degeneration in Taiwan. **Eye**, v.21, n.6, Jun, p.721-6. 2007.

VINGERLING, J. R. *et al.* The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. **Ophthalmology**, v.102, n.2, Feb, p.205-10. 1995.

WICKHAM, L. *et al.* Histological analysis of retinas sampled during translocation surgery: a comparison with normal and transplantation retinas. **Br J Ophthalmol**, Dec 17. 2008.

YANG, J. C. *et al.* A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. **N Engl J Med**, v.349, n.5, Jul 31, p.427-34. 2003.

# ANEXOS

## Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética

076/06



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
HOSPITAL DAS CLÍNICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA MÉDICA HUMANA E ANIMAL

PROTOCOLO CEPMHA/HC/UFG Nº 076/2006

Goiânia, 07/07/2006

INVESTIGADOR (A) RESPONSÁVEL (IES): *Dr. João Carlos Diniz Arraes*

**TÍTULO:** *Análise de toxicidade retiniana da injeção intra – vítrea de Bevacizumabe em olhos de coelhos*

**Área Temática:** *Grupo III*

**Local de Realização:** *HC/UFG - CEROF*

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal, após a análise, **aprovou \*com recomendação\*** o projeto de Pesquisa acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

**\*Recomendamos:**

- 1- O envio do nome e posologia do analgésico no pós operatório;*
- 2- Que o médico veterinário faça exame clínico dos animais durante o período de recuperação após o procedimento de injeção intra-vítrea, para detectar qualquer sintoma de dor no animal e tomar as devidas providências;*
- 3- Lavar o piso apenas 2 vezes por dia para evitar o estresse do animal;*
- 4- Cuidado com a solução desinfetante a ser usada, para evitar irritação às mucosas dos animais;*
- 5- Gaiolas a mais para colocar os coelhos quando da flambação;*
- 6- Que o piso das gaiolas seja sólido e com furos e não aramado.*

Não há necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.

→O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEPMHA/HC/UFG, relatórios trimestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).

**Prof. Joffre Rezende Filho**  
Coordenador do CEPMHA/HC/UFG

## **Anexo 2 – Normas de publicação dos respectivos periódicos**

### **Trabalho submetido para publicação:**

INTRAVITREAL BEVACIZUMABE IN PIGMENTED RABBIT EYES:  
HISTOLOGICAL ANALYSYS 90 DAYS AFTER INJECTION

**Períodico:** Arquivos Brasileiros de Oftalmologia      **ISSN:** 0004-2749

**Data de Submissão:** 07/05/2009

### **ARQUIVOS BRASILEIROS DE OFTALMOLOGIA**

#### **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

Os ARQUIVOS BRASILEIROS DE OFTALMOLOGIA (Arq Bras Oftalmol.) ISSN 0004-2749, órgão oficial do Conselho Brasileiro de Oftalmologia, é publicado bimestralmente, tendo como objetivo registrar a produção científica em Oftalmologia, fomentar o estudo, o aperfeiçoamento e a atualização dos profissionais da especialidade. São aceitos trabalhos originais, em português, inglês ou espanhol, sobre experimentação clínica e aplicada, relatos de casos, análises de temas específicos, revisões de literatura, cartas ao editor ou comentários contendo críticas e sugestões sobre as publicações, devendo ser categorizados pelos seus autores. Artigos com objetivos meramente propagandísticos ou comerciais não serão aceitos. Todos os trabalhos, após aprovação prévia pelos editores, serão encaminhados para análise e avaliação de dois ou mais revisores, sendo o anonimato garantido em todo o processo de julgamento. Os comentários serão devolvidos aos autores para as modificações no texto ou justificativas de sua conservação. Somente após aprovação final dos revisores e editores, os trabalhos serão encaminhados para publicação.

Os trabalhos devem destinar-se exclusivamente aos Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, não sendo permitida sua apresentação simultânea a outro periódico, nem sua reprodução, mesmo que parcial, como tradução para outro idioma, sem autorização dos Editores. As normas que se seguem foram baseadas no formato proposto pelo International Committee of Medical Journal Editors e publicadas no artigo: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals, atualizado em 2006 e disponível no endereço eletrônico <http://www.icmje.org/>. O respeito às instruções é condição obrigatória

para que o trabalho seja considerado para análise. Todos os trabalhos quando submetidos à publicação, deverão ter obrigatoriamente os seguintes formulários encaminhados à Secretaria dos ABO pelo correio:

- cessão de direitos autorais;
- contribuição de autores e patrocinadores;
- declaração de isenção de conflitos de interesses;
- comprovante de aprovação de um Comitê de Ética da Instituição onde foi realizado o trabalho, quando referente a Artigos Originais.

Os formulários poderão ser obtidos para impressão na página do ABO online ([www.aboonline.com.br](http://www.aboonline.com.br)) link Formulários e Cartas. A falta de qualquer destes documentos implicará na **retenção** do artigo na Secretaria Editorial aguardando até que os mesmos sejam recebidos para que se dê a liberação do trabalho para análise.

## PREPARO DO ARTIGO

### *REQUISITOS TÉCNICOS*

1. O texto deve ser digitado em espaço duplo, fonte tamanho 12, margem de 2,5 cm de cada lado, com páginas numeradas em algarismos arábicos, iniciando-se cada seção em uma nova página, na seqüência: página de identificação, resumo e descritores, “abstract” e “keywords”, texto (Introdução, Métodos, Resultados, Discussão/Comentários), Agradecimentos (eventuais), Referências, tabelas, figuras e legendas.

**2. Página de identificação:** Deve conter: **a)** Título do artigo, em português (ou espanhol) e Título em inglês, que deverá ser conciso, porém informativo; **b)** nome completo de cada autor, sem abreviações, com o mais elevado título acadêmico e afiliação institucional (nome completo da instituição que está filiado) ou, na falta deste, o título obtido na própria especialidade ou nível do curso universitário. Recomenda-se que o número de autores seja limitado a 5 para Relato de casos e a 8 para Artigos originais; **c)** indicação do departamento e nome oficial da Instituição aos quais o trabalho deve ser atribuído; **d)** nome, endereço, telefone e e-mail do autor a quem deve ser encaminhada correspondência; **e)** fontes de auxílio à pesquisa (se houver).

**3. Resumo e descritores:** Resumo em português (ou espanhol) e Abstract em inglês, de não mais que 3.000 caracteres. Para os artigos originais, deve ser estruturado, destacando os objetivos do estudo, métodos, principais resultados apresentando dados significativos e as conclusões. Para as demais categorias de artigos, o resumo não necessita ser estruturado, porém deve conter as informações importantes para reconhecimento do valor do trabalho. Especificar cinco descritores, em português e em

inglês, que definam o assunto do trabalho. Os descritores deverão ser baseados no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) publicado pela BIREME, traduzidos do MeSH (Medical Subject Headings) da National Library of Medicine e disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>. Abaixo do Resumo, indicar, para os Ensaio Clínicos, o número de registro na base de Ensaio Clínicos (<http://clinicaltrials.gov>)\*.

**4. Texto: a)** Artigos originais: devem apresentar as seguintes partes: Introdução, Métodos, Resultados, Discussão/Comentários, Conclusões e Referências. As citações no texto deverão ser numeradas sequencialmente em números arábicos sobrescritos, devendo evitar a citação nominal dos autores. O trabalho deverá ter no máximo 3.000 palavras, 4 imagens, 4 tabelas e conter até 30 referências; **b)** Relatos de casos: devem apresentar Introdução, com breve revisão da literatura, relato do caso, mostrando os exames importantes para o diagnóstico e o diferencial,

se houver, Comentários e Referências. Ele deverá ter no máximo 1.500 palavras, 2 imagens, 2 tabelas e conter até 10 referências; **c)** Em artigos de Atualização (sobre um tema, um método, etc), nos de proposições teóricas, comunicações, análises de temas específicos ou com outras finalidades, divisões diferentes podem ser adotadas, devendo conter um breve histórico do tema, seu estado atual de conhecimento e as razões do trabalho; métodos de estudo (fontes de consulta, critérios), hipóteses, linhas de estudo, etc, incluindo Referências. O manuscrito deverá ter até 4.000 palavras, 4 imagens, 4 tabelas e conter até 40 referências; **d)** Cartas ao Editor devem ser limitadas a duas páginas.

**5. Agradecimentos:** Colaborações de pessoas que mereçam reconhecimento mas que não justificam suas inclusões como autores e, ou por apoio financeiro, auxílio técnico, etc.

**6. Referências:** Em todas as categorias a citação (referência) dos autores no texto deve ser numérica e sequencial, na mesma ordem que foram citadas e identificadas por algarismos arábicos entre parênteses e sobrescrito. A apresentação deverá estar baseada no formato proposto pelo International Committee of Medical Journal Editors "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" atualizado em fevereiro de 2006, conforme exemplos que se seguem. Os títulos de periódicos deverão ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela List of Journal Indexed in Index Medicus, da National Library of Medicine e disponibilizados no endereço: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>

Para todas as referências, cite todos os autores, até seis. Nos trabalhos com mais autores, cite apenas os seis primeiros, seguidos da expressão *et al.*

**Exemplos de referências:**

**Artigos de Periódicos**

Costa VP, Vasconcellos JP, Comegno PEC, José NK. O uso da mitomicina C em cirurgia combinada. Arq Bras Oftalmol. 1999;62(5): 577-80.

#### **Livros**

Bicas HEA. Oftalmologia: fundamentos. São Paulo: Contexto; 1991. **Capítulos de livros** Gómez de Liaño F, Gómez de Liaño P, Gómez de Liaño R. Exploración del niño estrábico. In: Horta-Barbosa P, editor. Estrabismo. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 1997. p. 47-72.

#### **Anais**

Höfling-Lima AL, Belfort Jr R. Infecção herpética do recém-nascido. In: IV Congresso Brasileiro de Prevenção da Cegueira; 1980 Jul 28-30, Belo Horizonte, Brasil. Anais. Belo Horizonte; 1980. v.2. p. 205-12.

#### **Teses**

Schor P. Idealização, desenho, construção e teste de um ceratômetro cirúrgico quantitativo [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1997.

#### **Documentos Eletrônicos**

Monteiro MLR, Scapolan HB. Construção campimétrica causada por vigabatrin. Arq Bras Oftalmol. [periódico na Internet]. 2000 [citado 2005 Jan 31]; 63(5): [cerca de 4 p.]. Disponível em: <http://www.abonet.com.br/abo/abo63511.htm>

**7. Tabelas:** A numeração das tabelas deve ser seqüencial, em algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. Todas as tabelas deverão ter título e cabeçalho para todas as colunas. No rodapé da tabela deve constar legenda para abreviaturas e testes estatísticos utilizados, e a fonte bibliográfica quando extraída de outro trabalho.

**8. Figuras** (gráficos, fotografias, ilustrações, quadros): O arquivo deve conter a identificação das figuras, como por exemplo: Gráfico 1, Tabela 1, Figura 1. No caso de figuras desmembradas (Figura 1A, 1B) deverão também ser identificadas uma em cada arquivo. Os gráficos, figuras e tabelas deverão ser encaminhados em arquivo separado do texto, apenas sendo indicada sua localização no corpo do artigo. Apresentar gráficos simples e de fácil compreensão. Uniformizar o tamanho e o conteúdo (corpo e formato das letras) dos gráficos e tabelas. Fotografias e ilustrações deverão ter boa resolução e enquadramento apenas dos elementos importantes. Preferencialmente em formato JPG, podendo ser enviadas também em PDF, TIFF/GIF, EPS. A resolução precisa ser acima de 300 dpi. Observar a importância do enfoque porque serão submetidas à redução para uma ou duas colunas na diagramação

do texto. Cada figura deve vir acompanhada de sua respectiva legenda em espaço duplo e numerada em algarismo arábico, correspondendo a cada item e na ordem em que foram citados no trabalho. Será cobrado do Autor do artigo, o excedente de imagens e tabelas coloridas que ultrapassarem o número máximo estipulado pela revista.

**9. Abreviaturas e Siglas:** Devem ser, também, precedidas do correspondente nome completo ao qual se referem, quando citadas pela primeira vez, ou quando nas legendas das tabelas e figuras. Não devem ser usadas no título e no resumo.

**10. Unidades:** Valores de grandezas físicas devem ser referidos nos padrões do Sistema Internacional de Unidades, Disponível no endereço: <http://www.inmetro.gov.br/infotec/publicacoes/Si/si.htm>

**11. Linguagem:** É essencial que o trabalho passe previamente por revisão gramatical, evitando-se erros de concordância, pontuação, etc. Quando o uso de uma palavra estrangeira for absolutamente necessário, ela deve aparecer entre aspas (exceto a expressão *et al*, na referência). Agentes terapêuticos devem ser indicados pelos seus nomes genéricos evitando-se, tanto quanto possível, as citações de marcas comerciais; cabe(m) ao(s) autor(es) a responsabilidade por elas. Quando forem citados instrumentos e/ou aparelhos de fabricação industrial é necessário colocar o símbolo (sobrescrito) de marca registrada ® ou <sup>TM</sup>.

#### ENVIO DO TRABALHO

Os trabalhos deverão ser enviados pelo sistema de gerenciamento eletrônico de artigos científicos disponível no endereço eletrônico [www.aboonline.com.br](http://www.aboonline.com.br). Após as correções sugeridas pelos revisores, a forma definitiva do trabalho deverá ser encaminhada online (ícone "trabalho com as modificações") acompanhada de carta indicando as modificações realizadas ou o motivo pelos quais não estão sendo incorporadas. Artigos re-submetidos que não vierem acompanhados da carta aos revisores ficarão retidos aguardando o recebimento da mesma.

**\*Nota importante:** Os Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, em apoio às políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde (OMS) e do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e divulgação internacional de informação sobre estudos clínicos, em acesso aberto, somente aceitará para publicação, a partir de agosto de 2007, os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE, disponível no endereço: <http://clinicaltrials.gov> ou no site do Pubmed, no item <ClinicalTrials.gov>. O número de identificação deverá ser registrado ao final do resumo.

**Mais informações e detalhamentos** estão no endereço eletrônico [www.aboonline.com.br](http://www.aboonline.com.br) - <Informações aos Autores> sub-item <Instrução para Submissão online>.

**Endereço para correspondência:**

***Arquivos Brasileiros de Oftalmologia***

Al. Santos, 1343 - 11º andar - Cj. 1.110

CEP 01419-001 - São Paulo - Brasil

## Anexo 3 – Bula do Avastin (ROCHE, 2006)

### Avastin Roche – bevacizumabe - Antineoplásico IDENTIFICAÇÃO DO MEDICAMENTO

**Nome do produto:** Avastin

**Nome genérico:** bevacizumabe

**Forma farmacêutica, via de administração e apresentações**

Solução injetável concentrada para infusão intravenosa.

Caixa com 1 frasco-ampola de dose única de 100 mg (4 mL) ou 400 mg (16 mL).

#### USO ADULTO

#### Composição

#### Avastin injetável 100 mg

*Frasco-ampola de 4 mL contendo:*

*Princípio ativo:*

bevacizumabe (anticorpo monoclonal anti-VEGF humanizado).....100 mg (25 mg/mL).

*Excipientes:*  $\alpha$ ,  $\alpha$ -trealose diidratada, diidrogeno fosfato de sódio monoidratado (fosfato de sódio, monobásico, monoidratado), fosfato dissódico anidro (fosfato de sódio, dibásico), polissorbato 20 e água para injetável.

#### Avastin injetável 400 mg

*Frasco-ampola de 16 mL contendo:*

*Princípio ativo:*

bevacizumabe (anticorpo monoclonal anti-VEGF humanizado).....400 mg (25mg/mL)

*Excipientes:*  $\alpha$ ,  $\alpha$ -trealose diidratada, diidrogeno fosfato de sódio monoidratado (fosfato de sódio, monobásico, monoidratado), fosfato dissódico anidro (fosfato de sódio, dibásico), polissorbato 20 e água para injetável.

#### INFORMAÇÕES AO PACIENTE

Solicitamos a gentileza de ler cuidadosamente as informações abaixo. Caso não esteja seguro a respeito de determinado item, favor informar ao seu médico.

#### 1. AÇÃO DO MEDICAMENTO

**Avastin** é o nome comercial para o bevacizumabe, um anticorpo monoclonal humanizado recombinante que reduz a vascularização de tumores, inibindo assim o crescimento tumoral. O medicamento começa a agir logo após sua administração.

#### 2. INDICAÇÕES DO MEDICAMENTO

**Avastin** em combinação com quimioterapia à base de fluoropirimidina é indicado para tratamento de primeira-linha de pacientes com carcinoma metastático do cólon ou do reto.

#### 3. RISCOS DO MEDICAMENTO

##### Contra-indicações

**Avastin** é contra-indicado em pacientes com hipersensibilidade ou alergia conhecida a qualquer componente do produto, ou a outros produtos que contenham substâncias parecidas com o bevacizumabe.

**Avastin** é contra-indicado em pacientes com metástases não tratadas do Sistema Nervoso Central.

##### Advertências/Precauções

Existem várias condições que requerem cuidados na administração deste medicamento. Seu médico saberá identificar essas situações e adotar as medidas adequadas. Essas situações incluem a possibilidade de ocorrerem perfurações intestinais, aumento da pressão arterial, problemas de cicatrização de feridas e de cortes cirúrgicos, derrame cerebral e infarto agudo do miocárdio (principalmente em indivíduos com idade acima de 65 anos), hemorragias, entre outras. Solicite informações ao seu médico se desejar saber maiores detalhes a respeito dessas condições.

##### Principais interações medicamentosas

Não houve diferenças no *clearance* de **Avastin** em pacientes tratados com **Avastin** em monoterapia comparado aos pacientes que receberam **Avastin** em combinação com o regime *bolus* IFL. O efeito de outras quimioterapias co-administradas (5-FU-LV, capecitabina) no *clearance* de **Avastin** não foi considerado clinicamente significativo.

Resultados de um estudo de interação droga-droga demonstraram que o efeito do bevacizumabe não alterou, de forma significativa, a farmacocinética de irinotecano e de seu metabólito ativo SN38.

Resultados de um outro estudo também demonstraram que bevacizumabe não alterou de maneira

significativa a farmacocinética da capecitabina e seus metabólitos.

#### **Idosos**

A idade acima de 65 anos está associada a um risco aumentado de problemas vasculares arteriais, incluindo derrame cerebral e infarto do miocárdio, durante o tratamento com **Avastin**.

#### **Crianças**

A eficácia e segurança de **Avastin** em pacientes pediátricos não estão estabelecidas.

#### **Pacientes com insuficiência hepática e renal**

A eficácia e segurança de **Avastin** em pacientes com insuficiência hepática ou renal não estão estabelecidas.

#### **Gravidez e amamentação**

**Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.**

Em mulheres com potencial para engravidar, medidas contraceptivas adequadas são recomendadas durante o tratamento e durante pelo menos 6 meses depois da última dose de **Avastin**.

Não se sabe se o bevacizumabe é excretado no leite humano. Assim, as mulheres devem ser orientadas a interromper o aleitamento materno durante o tratamento e a não amamentar durante pelo menos 6 meses depois da última dose de **Avastin**.

**Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres durante a amamentação.**

#### **Efeitos sobre a capacidade de dirigir e operar máquinas**

Não foram realizados estudos sobre a capacidade de dirigir e operar máquinas. No entanto, não existe nenhuma evidência de que o tratamento com **Avastin** resulte em aumento dos eventos adversos que possam levar ao comprometimento da capacidade de dirigir ou operar máquinas ou prejudicar a capacidade mental.

**A eficácia e segurança de Avastin em pacientes pediátricos não estão estabelecidas.**

**Informe ao médico ou cirurgião-dentista o aparecimento de reações indesejáveis.**

**Informe ao seu médico ou cirurgião-dentista se você está fazendo uso de algum outro medicamento.**

**Não use medicamento sem o conhecimento do seu médico. Pode ser perigoso para a sua saúde.**

#### **4. MODO DE USO**

**Avastin** em seu frasco-ampola original é um líquido incolor ou de coloração levemente castanha clara.

Este medicamento é de uso hospitalar e deve ser preparado por um profissional de saúde, de maneira asséptica, misturado com soro fisiológico para infusão intravenosa antes de ser administrado.

Este medicamento deve apenas ser aplicado por profissionais treinados e habilitados para administrá-lo. Seu médico conhece os detalhes da administração e poderá lhe fornecer todas as informações desejadas.

A dose recomendada de **Avastin** é de 5 mg/kg de peso administrada uma vez a cada 14 dias em infusão intravenosa.

Recomenda-se que o tratamento com **Avastin** seja mantido continuamente até a progressão da doença de base.

**Siga a orientação de seu médico, respeitando sempre os horários, as doses e a duração do tratamento.**

**Não interrompa o tratamento sem o conhecimento do seu médico.**

**Não use o medicamento com o prazo de validade vencido. Antes de usar observe o aspecto do medicamento.**

#### **5. REAÇÕES ADVERSAS**

Assim como os medicamentos antitumorais de modo geral, **Avastin** pode causar reações indesejáveis.

As reações indesejáveis mais freqüentemente observadas em todos os estudos clínicos nos pacientes recebendo **Avastin** com ou sem quimioterapia foram cansaço, diarreia, dor abdominal e aumento da pressão arterial. Outras reações descritas incluem náuseas e presença de proteínas na urina. As reações mais graves relatadas foram perfurações gastrintestinais, hemorragias e trombose arterial.

**Atenção: este é um medicamento novo e, embora as pesquisas tenham indicado eficácia e segurança aceitáveis para comercialização, efeitos indesejáveis e não conhecidos podem ocorrer. Neste caso, informe ao seu médico.**

#### **6. CONDUTA EM CASO DE SUPERDOSE**

É muito pouco provável que você receba dose excessiva de **Avastin**. Se isto acontecer os principais sintomas correspondem às reações indesejáveis descritas para o medicamento, que

serão reconhecidos por seu médico que também saberá como tratá-los.

## **7. CUIDADOS DE CONSERVAÇÃO**

Antes de aberto, **Avastin** deve ser mantido em refrigerador, em temperaturas de 2o a 8oC. O frasco deve ser mantido dentro da embalagem externa original para proteger da luz até o momento de ser utilizado.

**Avastin** não contém nenhum conservante antimicrobiano; portanto, depois de aberto deve-se tomar cuidado para garantir a esterilidade da solução preparada. Depois de misturado com soro fisiológico para administração, o produto deve ser usado imediatamente. Se não usado imediatamente, os tempos e condições de armazenamento em uso são de responsabilidade do usuário e normalmente não deve ultrapassar 24 horas em temperaturas de 2o a 8o C, a menos que a diluição tenha sido feita em condições assépticas controladas e validadas.

### **NÃO CONGELAR. NÃO AGITAR.**

#### *Estabilidade:*

A data de fabricação e o prazo de validade de **Avastin** estão impressos na embalagem externa do produto. Não use qualquer medicamento fora do prazo de validade; pode ser prejudicial à saúde.

**Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance das crianças.**

## **INFORMAÇÕES TÉCNICAS AOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE**

### **1. CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS**

#### **Descrição**

**Avastin** é o nome comercial para o bevacizumabe, um anticorpo monoclonal humanizado recombinante, produzido por tecnologia de DNA recombinante em um sistema de expressão de célula de mamífero, de ovário de Hamster Chinês, em um meio nutriente contendo o antibiótico gentamicina e é purificado por um processo que inclui inativação viral específica e etapas de remoção. Gentamicina é detectável no produto final em  $\leq 0,35$  ppm. O bevacizumabe é constituído por 214 aminoácidos e tem um peso molecular de aproximadamente 149.000 daltons.

#### **Farmacodinâmica**

Mecanismo de ação: **Avastin** é um anticorpo monoclonal humanizado recombinante que se liga e neutraliza seletivamente a atividade biológica do fator de crescimento do endotélio vascular humano (*VEGF*). O bevacizumabe contém regiões estruturais humanas, com regiões ligantes de antígenos de um anticorpo murino humanizado, que se liga ao *VEGF*. **Avastin** inibe a ligação de *VEGF* a seus receptores, Flt-1 e KDR, na superfície das células endoteliais. A neutralização da atividade biológica do *VEGF* reduz a vascularização de tumores, inibindo assim o crescimento tumoral. A administração de bevacizumabe ou de seu anticorpo murino original, a modelos de xenoinxerto de câncer em camundongos, resultou em atividade antitumoral extensa em cânceres humanos, incluindo câncer de cólon, mama, pâncreas e próstata. A progressão da doença metastática foi inibida e a permeabilidade microvascular foi reduzida.

#### **Dados de segurança pré-clínicos**

Desenvolvimento epifisário: Em estudos com até 26 semanas de duração em macacos *cynomolgus*, **Avastin** esteve associado à displasia epifisária, caracterizada principalmente por espessamento da cartilagem da placa de crescimento, formação de placa óssea subcondral e inibição de invasão vascular da placa de crescimento. Este efeito ocorreu em doses  $\geq 0,8$  vezes a dose terapêutica humana e níveis de exposição discretamente abaixo da exposição clínica humana esperada, com base em concentrações séricas médias. Deve-se notar, no entanto, que a displasia epifisária ocorreu apenas em animais em crescimento ativo, com placas de crescimento abertas. Como **Avastin** será administrado mais provavelmente a pacientes adultos com placas de crescimento fechadas, não se espera que a displasia epifisária ocorra na população clínica. Cicatrização de feridas: Os efeitos do bevacizumabe sobre cicatrização de feridas circulares foram estudados em coelhos. A reepitelização de feridas foi retardada em coelhos após cinco doses de bevacizumabe, que variaram entre 2 e 50 mg/kg em um período de 2 semanas. Foi observada uma tendência a uma relação dose-dependente. A magnitude do efeito sobre a cicatrização de feridas foi semelhante à observada com a administração de corticosteróides. Ao cessar o tratamento com 2 ou 10 mg/kg de bevacizumabe, as feridas se fecharam completamente. A dose mais baixa, de 2 mg/kg, foi aproximadamente equivalente à dose terapêutica proposta. Um modelo mais sensível de cicatrização de ferida linear também foi estudado em coelhos. A administração de três doses de bevacizumabe, variando de 0,5 a 2 mg/kg reduziu, de forma dosedependente,

a tensão da ferida, o que foi consistente ao retardo da cicatrização da ferida. A dose baixa, de 0,5 mg/kg, foi 5 vezes menor do que a dose terapêutica proposta.

Como foram observados efeitos sobre cicatrização de feridas em coelhos com doses abaixo da dose terapêutica proposta, a capacidade do bevacizumabe exercer impacto adverso sobre cicatrização de feridas no homem deve ser considerada.

Em macacos *cynomolgus*, os efeitos do bevacizumabe sobre a cicatrização de incisão linear

foram altamente variáveis e não ficou evidente uma relação dose-resposta.

Função renal: Em macacos *cynomolgus* normais, o bevacizumabe não demonstrou nenhum efeito mensurável sobre a função renal, quando administrado uma ou duas vezes por semana durante até 26 semanas e não se acumulou no rim de coelhos depois de duas doses de até 100 mg/kg (aproximadamente 80 vezes maior do que a dose terapêutica proposta).

Estudos de pesquisa de toxicidade em coelhos, usando os modelos de disfunção renal, mostraram que o bevacizumabe não exacerbou a lesão glomerular renal induzida por albumina de soro bovino ou a lesão tubular renal induzida por cisplatina.

Albumina: Em macacos *cynomolgus* machos, o bevacizumabe administrado em doses de 10 mg/kg duas vezes por semana ou 50 mg/kg uma vez por semana durante 26 semanas foi associado com uma redução estatisticamente significativa da albumina e da razão entre albumina e globulina e aumento da globulina.

Esses efeitos foram reversíveis com a interrupção da exposição. Como os parâmetros permaneceram dentro do intervalo de referência normal de valores para essas avaliações, essas alterações não foram consideradas clinicamente significativas.

Hipertensão: Em doses de até 50 mg/kg duas vezes por semana em macacos *cynomolgus*, o bevacizumabe não apresentou nenhum efeito sobre a pressão arterial.

Hemostasia: Estudos de toxicologia não-clínica de até 26 semanas de duração em macacos *cynomolgus* não encontraram alterações hematológicas ou nos parâmetros de coagulação, incluindo número de plaquetas, tempo de protrombina e tromboplastina parcial ativada. Um modelo de hemostasia em coelhos, usado para pesquisar o efeito do bevacizumabe sobre a formação de trombos, não demonstrou alteração na velocidade de formação de trombos ou qualquer outro parâmetro hematológico em comparação ao tratamento com veículo de bevacizumabe.

Mutagenicidade/Carcinogenicidade: Não foram realizados estudos para avaliar o potencial carcinogênico e mutagênico de **Avastin**.

Toxicidade reprodutiva: Não foram realizados estudos específicos em animais para avaliar o efeito de **Avastin** sobre a fertilidade. Não foi observado nenhum efeito adverso sobre os órgãos reprodutivos masculinos em estudos de toxicidade com doses repetidas em macacos *cynomolgus*. A inibição da função ovariana foi caracterizada por reduções no peso ovariano e/ou uterino e no número de corpos lúteos, uma redução na proliferação endometrial e uma inibição de maturação folicular em macacos *cynomolgus* tratados com **Avastin** durante 13 ou 26 semanas. As doses associadas com este efeito foram  $\geq 4$  vezes a dose terapêutica humana ou  $\geq 2$  vezes acima da exposição humana esperada com base nas concentrações séricas médias em macacos fêmeas. Em coelhos, a administração de 50 mg/kg de bevacizumabe resultou em redução significativa do peso ovariano e do número de corpos lúteos. Os resultados em macacos e coelhos foram reversíveis com a interrupção do tratamento. É provável que a inibição de angiogênese após a administração de bevacizumabe resulte em um efeito adverso sobre a fertilidade feminina.

#### **Farmacocinética**

A farmacocinética do bevacizumabe foi caracterizada em pacientes com diversos tipos de tumores sólidos.

Em todos os estudos clínicos, o bevacizumabe foi administrado em infusão IV. Como observado com outros anticorpos, as propriedades farmacocinéticas do bevacizumabe são bem representadas por um modelo bicompartimental. De modo geral, baseado nos estudos clínicos, a distribuição do bevacizumabe foi caracterizada por um baixo *clearance*, um volume limitado do compartimento central ( $V_c$ ), e uma meia-vida de eliminação prolongada. Isto permite que os níveis plasmáticos terapêuticos alvo de bevacizumabe sejam mantidos com uma variação do esquema de administração (tais como uma administração a cada 2 ou 3 semanas).

Na análise farmacocinética populacional do bevacizumabe, não foi constatada diferença significativa na farmacocinética do bevacizumabe em relação à idade (sem correlação entre o *clearance* de bevacizumabe e a idade do paciente [a idade média foi de 59 anos com 5° e 95° percentil de 37 e 76 anos]).

Níveis de albumina baixos e de fosfatase alcalina altos são geralmente indicativos da gravidade da doença e da carga tumoral. O *clearance* do bevacizumabe foi aproximadamente 20% maior tanto em pacientes com níveis baixos de albumina sérica ou em pacientes com níveis elevados de fosfatase alcalina, quando comparados com os pacientes típicos com valores medianos de albumina e/ou fosfatase alcalina.

#### **Distribuição**

O valor médio típico do volume do compartimento central ( $V_c$ ) foi de 2,66 litros e 3,25 litros para mulheres e homens, respectivamente, sendo esta a faixa que tem sido descrita para IgGs e outros anticorpos monoclonais. Após a correção para o peso corporal, os homens apresentaram  $V_c$  maior (+ 22%) do que as mulheres.

## Metabolismo

A avaliação do metabolismo do bevacizumabe em coelhos após dose única IV de I125-bevacizumabe indicou que seu perfil metabólico foi semelhante ao esperado para uma molécula de IgG original que não se liga ao VEGF. O metabolismo e a eliminação do bevacizumabe é similar ao da IgG endógena, ou seja, dá-se principalmente por meio do catabolismo proteolítico em todo o corpo, incluindo as células endoteliais, e não depende fundamentalmente da eliminação através dos rins e fígado. A ligação da IgG ao receptor FcRn a protege do metabolismo celular e resulta na meia-vida terminal longa.

## Eliminação

A farmacocinética de bevacizumabe é linear em doses que variam de 1,5 a 10 mg/kg/semana. O valor para o *clearance* é, na média, igual a 0,207 L/dia para mulheres e 0,262 L/dia para homens. Após a correção para o peso corporal, os homens apresentavam uma depuração de bevacizumabe maior (+26%) do que as mulheres.

Conforme o modelo bicompartimental, a meia-vida inicial ( $\alpha$ ) é de 1,4 dias para ambos os sexos e a meia-vida terminal ( $\beta$ ) estimada é de 20 dias para um paciente típico feminino e 19 dias para um paciente masculino típico.

## Farmacocinética em populações especiais

As farmacocinéticas populacionais foram analisadas para avaliar os efeitos das características demográficas. Os resultados mostraram não haver diferenças significativas na farmacocinética de bevacizumabe em relação à idade.

Crianças e adolescentes: a farmacocinética do bevacizumabe foi estudada num número limitado de pacientes pediátricos. Os dados farmacocinéticos resultantes sugerem que o volume de distribuição e o *clearance* de bevacizumabe foram comparáveis ao de adultos com tumores sólidos.

Pacientes com disfunção renal: não foram realizados estudos para investigar a farmacocinética do bevacizumabe em pacientes com disfunção renal, já que os rins não são os principais órgãos do metabolismo e excreção do bevacizumabe.

Pacientes com disfunção hepática: não foram realizados estudos para investigar a farmacocinética do bevacizumabe em pacientes com disfunção hepática, já que o fígado não é o principal órgão do metabolismo e excreção do bevacizumabe.

## 2. RESULTADOS DE EFICÁCIA

A segurança e eficácia da dose recomendada de **Avastin** (5 mg/kg de peso a cada duas semanas) em carcinoma metastático do cólon ou reto foram estudadas em três estudos clínicos randomizados, com controle ativo, avaliando a combinação de **Avastin** com quimioterapia à base de fluoropirimidina, em primeira-linha de câncer colorretal metastático [1, 2, 3, 4, 5]. **Avastin** foi combinado com dois esquemas quimioterápicos:

- **Estudo AVF2107g**: Um esquema semanal de irinotecano/5-fluorouracil e leucovorin em *bolus* (esquema IFL) durante um total de 4 semanas, dentro de cada ciclo de 6 semanas [1, 2]
- **Estudo AVF0780g**: Em combinação com 5-fluorouracil/leucovorin (5-FU/LV) em *bolus*, durante um total de 6 semanas, dentro de cada ciclo de 8 semanas (esquema Roswell Park) [1, 3, 4]
- **Estudo AVF2192g**: Em combinação com 5-fluorouracil/leucovorin (5-FU/LV) em *bolus* durante um total de 6 semanas, dentro de cada ciclo de 8 semanas (esquema Roswell Park), em pacientes que não eram candidatos ideais para tratamento de primeira-linha com irinotecano [5].

**AVF2107g [1, 2]**: Este foi um estudo fase III, randomizado, duplo-cego, com controle ativo, avaliando **Avastin** em combinação com IFL como tratamento de primeira-linha para carcinoma metastático do cólon ou reto [1]. Oitocentos e treze pacientes foram randomizados para receber IFL + placebo (Braço 1) ou IFL + **Avastin** (5 mg/kg a cada 2 semanas, Braço 2). Um terceiro grupo de 110 pacientes recebeu 5-FU em *bolus*/LV + **Avastin** (Braço 3). A inclusão no Braço 3 foi interrompida, conforme predeterminado, depois que foi estabelecida e considerada aceitável a segurança do **Avastin** combinado ao esquema IFL.

O parâmetro primário de eficácia do estudo foi a sobrevida global. A adição de **Avastin** ao IFL resultou em aumento estatisticamente significante na sobrevida global, sobrevida livre de progressão (SLP) e taxa de resposta global (Tabela 1). O benefício clínico de **Avastin**, medido pela sobrevida, foi observado em todos os subgrupos predeterminados de pacientes, incluindo os definidos por idade, sexo, estado de desempenho (*performance status*), localização do tumor primário, número de órgãos envolvidos e duração da doença metastática.

Os resultados de eficácia de **Avastin** em combinação com quimioterapia IFL são mostrados na Tabela 1.

### Tabela 1. Resultados de Eficácia para o Estudo AVF2107g

### **AVF2107g**

Braço 1

IFL + Placebo

Braço 2

IFL + Avastina

Número de pacientes 411 402

*Sobrevida global*

Mediana (meses) 15,6 20,3

Intervalo de confiança 95% 14,29 a 16,99 18,46 a 24,18

Razão de risco 0,660

p valor 0,00004

*Sobrevida Livre de Progressão (SLP)*

Mediana (meses) 6,2 10,6

Razão de risco 0,54

p valor < 0,00001

*Taxa de Resposta Global*

Porcentagem 34,8 44,8

p valor 0,0036

a 5 mg/kg a cada 2 semanas

b Em relação ao grupo controle

Entre os 110 pacientes randomizados para o Braço 3 (5-FU/LV + **Avastin**), antes da descontinuação deste braço, a mediana de sobrevida global foi de 18,3 meses e a sobrevida livre de progressão (mediana) foi de 8,8 meses.

**AVF2192g [5]:** Este foi um estudo clínico fase II, randomizado, duplo-cego, com controle ativo, que estudou os efeitos do **Avastin** em combinação com 5-FU/Leucovorin como tratamento de primeira-linha para câncer colorretal metastático, em pacientes que não eram candidatos ideais para tratamento de primeira-linha com irinotecano. Cento e cinco pacientes foram randomizados para 5-FU/LV + placebo (Braço 1) e 104 foram randomizados para 5-FU/LV + **Avastin** (5 mg/kg a cada 2 semanas) (Braço 2). Todos os tratamentos foram mantidos até a progressão da doença. A adição de **Avastin** 5 mg/kg a cada duas semanas ao 5-FU/LV resultou em maiores taxas de resposta objetiva, sobrevida livre de progressão significativamente mais prolongada e uma tendência a uma sobrevida mais prolongada em comparação com a quimioterapia 5-FU/LV apenas.

### **Referências Bibliográficas**

1. Reinmann J & Novotny B. Clinical Summary. Summary of clinical efficacy. August 18, 2003.
2. Holmgren E. & Novotny B. Clinical Summary: Summary of Clinical Safety. September 02, 2003.
3. Lieberman G, Gaudreault J & Novotny W. Clinical Study Report AVF0780g: A phase II, multidosed, randomized, multicenter clinical trial to evaluate the efficacy, safety, and pharmacokinetics of recombinant humanized monoclonal anti-VEGF antibody (rhuMab VEGF) combined with 5-fluorouracil and Leucovorin chemotherapy in subjects with metastatic colorectal cancer, March 8, 2002.
4. Benson III AB, & Goldberg M. Optimal use of the combination of irinotecano and 5-fluorouracil. Seminars in oncology. 20(3. suppl.6):68-77, 2003.
5. Barron H. Clinical Study Report AVF2192g. A phase II, multicenter, double-blind, randomized, active-controlled clinical trial to evaluate the efficacy and safety of rhuMab VEGF (bevacimumab), a recombinant human monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor, in combination with 5-Fluorouracil and Leucovorin chemotherapy in subjects with metastatic colorectal cancer who are not optimal candidates for first-line CPT-11. Report CSR AVF2192g, May 6, 2004.

### **3. INDICAÇÕES**

**Avastin** em combinação com quimioterapia à base de fluoropirimidina é indicado para tratamento de primeira-linha de pacientes com carcinoma metastático do cólon ou do reto.

### **4. CONTRA INDICAÇÕES**

**Avastin** é contra-indicado em pacientes com hipersensibilidade conhecida a qualquer componente do produto, a produtos de células de ovário de hamster chinês ou a outros anticorpos recombinantes humanos ou humanizados.

**Avastin** é contra-indicado em pacientes com metástases do Sistema Nervoso Central não

tratadas (vide itens *Advertências e Reações Adversas*).

## 5. MODO DE USAR E CUIDADOS DE CONSERVAÇÃO DEPOIS DE ABERTO

Condições de conservação:

**Avastin** não contém nenhum conservante antimicrobiano, portanto, deve-se tomar cuidado para garantir a esterilidade da solução preparada.

**A estabilidade química e física durante o uso foi demonstrada durante 48 horas em temperaturas de 2o a 30oC em solução de cloreto de sódio 0,9%. Do ponto de vista microbiológico, o produto deve ser usado imediatamente. Se não usado imediatamente, o tempo e as condições de armazenamento em uso são de responsabilidade do usuário e normalmente não deve ultrapassar 24 horas em temperaturas de 2o a 8oC, a menos que a diluição tenha sido feita em condições assépticas controladas e validadas.**

**NÃO CONGELAR. NÃO AGITAR.**

Preparação e administração da solução de infusão:

**Avastin** deve ser preparado por profissional de saúde empregando técnica asséptica.

Retire a quantidade necessária de bevacizumabe e dilua em um volume necessário para administração com 0,9% de uma solução de cloreto de sódio. A faixa de concentração da solução de bevacizumabe final deve ser mantida entre 1,4 e 16,5 mg/mL.

Despreze qualquer quantidade deixada no frasco-ampola, pois este medicamento não contém conservantes. Medicamentos para infusão parenteral devem ser inspecionados visualmente quanto à presença de partículas e descoloração antes da administração.

Não foi observada nenhuma incompatibilidade entre **Avastin** e as bolsas de cloreto de polivinil ou poliolefin. Foi observado um perfil de degradação dependente de concentração de **Avastin** quando diluído com soluções de dextrose (5%). **Infusões de Avastin não devem ser administradas ou misturadas com soluções de dextrose ou glicose.**

Produtos parenterais devem ser inspecionados visualmente para verificar a presença de partículas e alterações de coloração do líquido antes da administração.

Descarte:

Como o produto não contém conservantes, todo o restante não usado do frasco de **Avastin** deve ser descartado.

Manuseio:

Precauções devem ser tomadas no manuseio de **Avastin**.

**Não administrar em injeção intravenosa direta ou em bolus.**

A dose inicial de **Avastin** deve ser administrada em 90 minutos, em infusão intravenosa. Se a primeira infusão for bem tolerada, a segunda infusão pode ser administrada durante 60 minutos. Se a infusão em 60 minutos for bem tolerada, todas as infusões subseqüentes podem ser administradas em 30 minutos.

A redução da dose de **Avastin** devido à presença de eventos adversos não é recomendada. Se indicado, **Avastin** deve ser suspenso ou temporariamente interrompido (vide itens *Advertências e Precauções*).

Atenção:

A velocidade de infusão recomendada não deve ser excedida.

Vias de administração:

**Avastin** é de uso exclusivamente injetável e deve ser administrado por via parenteral (intravenosa).

Prazo de validade:

Este medicamento possui prazo de validade a partir da data de fabricação (vide embalagem externa do produto). Não use o medicamento após a data de validade indicada na embalagem; pode ser prejudicial à saúde.

## 6. POSOLOGIA

### Dosagem padrão

A dose recomendada de **Avastin** é de 5 mg/kg de peso administrada uma vez a cada 14 dias em infusão intravenosa.

Recomenda-se que o tratamento com **Avastin** seja mantido continuamente até a progressão da doença de base.

### Instruções de Dosagens Especiais

**Crianças e adolescentes:** A segurança e eficácia de **Avastin** em crianças e adolescentes não foram estabelecidas.

**Insuficiência renal:** A segurança e eficácia de **Avastin** não foram estudadas em pacientes com insuficiência renal.

**Insuficiência hepática:** A segurança e eficácia de **Avastin** não foram estudadas em pacientes com insuficiência hepática.

**Idosos:** Não há recomendações especiais de doses para indivíduos idosos.

## 7. ADVERTÊNCIAS

Perfurações gastrintestinais:

Pacientes podem estar sob risco aumentado para desenvolvimento de perfuração gastrintestinal quando tratados com **Avastin** (vide item *Reações Adversas*). **Avastin** deve ser suspenso permanentemente em pacientes que desenvolverem perfuração gastrintestinal.

Fístula:

Os pacientes podem ter um risco aumentado para o desenvolvimento de fístula quando tratados com **Avastin**.

O tratamento com **Avastin** deve ser permanentemente descontinuado em pacientes com fístula traqueoesofágica ou fístula Grau 4. A informação disponível ainda é limitada quanto ao uso contínuo de **Avastin** em pacientes com outros tipos de fístulas. Em casos de fístula não gastrintestinal, a descontinuação de **Avastin** deve ser considerada.

Hipertensão:

Foi observada incidência aumentada de hipertensão em pacientes tratados com **Avastin**. Dados de segurança clínica sugerem que a incidência de hipertensão é provavelmente dose-dependente.

Hipertensão preexistente deve ser adequadamente controlada antes de iniciar o tratamento com **Avastin**. Não existem informações sobre o efeito de **Avastin** em pacientes com hipertensão não controlada quando iniciam o tratamento com **Avastin**. A monitoração da pressão arterial é recomendável durante o tratamento com **Avastin** (vide item *Reações Adversas*).

Na maioria dos casos, a hipertensão foi adequadamente controlada com terapia anti-hipertensiva padrão para a situação individual do paciente afetado. **Avastin** deve ser permanentemente interrompido se a hipertensão não puder ser adequadamente controlada com medicamentos antihipertensivos

ou se o paciente desenvolver crise hipertensiva ou encefalopatia hipertensiva (vide item *Reações Adversas: Experiência Pós-Marketing*).

Cicatrização:

**Avastin** pode afetar de forma adversa o processo de cicatrização. O tratamento com **Avastin** não deve ser iniciado durante um prazo de no mínimo 28 dias depois de cirurgia de grande porte ou até que a ferida cirúrgica esteja completamente cicatrizada. Em pacientes que apresentarem complicações da cicatrização de feridas durante tratamento com **Avastin**, este deve ser suspenso até que a ferida esteja completamente cicatrizada. O tratamento com **Avastin** deve ser suspenso para cirurgia eletiva (vide item *Reações Adversas*).

Proteinúria:

Em estudos clínicos, a incidência de proteinúria foi maior em pacientes recebendo **Avastin** em combinação com quimioterapia, quando em comparação com aqueles que receberam apenas quimioterapia. Proteinúria Grau 4 (síndrome nefrótica) foi incomum em pacientes com **Avastin**. Em caso de proteinúria Grau 4, o tratamento com **Avastin** deve ser permanentemente descontinuado.

Tromboembolismo arterial:

Em estudos clínicos, a incidência de tromboembolismo arterial, incluindo acidente vascular cerebral, ataque isquêmico transitório (AIT) e infarto agudo do miocárdio (IAM) foi maior em pacientes recebendo **Avastin** em combinação com quimioterapia, quando em comparação aos pacientes que receberam apenas quimioterapia.

**Avastin** deve ser definitivamente interrompido em pacientes que desenvolverem eventos tromboembólicos arteriais.

Pacientes recebendo **Avastin** mais quimioterapia, com história de tromboembolismo arterial e idade acima de 65 anos, apresentam risco aumentado de desenvolvimento de eventos tromboembólicos arteriais durante o tratamento com **Avastin**. Recomenda-se cautela ao tratar tais pacientes com **Avastin**.

Tromboembolismo venoso:

Pacientes sob tratamento com **Avastin** podem estar sob risco de desenvolver eventos tromboembólicos venosos, incluindo embolismo pulmonar. **Avastin** deve ser descontinuado em pacientes com embolismo pulmonar com risco de vida (Grau 4). Pacientes com Grau  $\leq 3$  necessitam de rigoroso monitoramento.

Insuficiência cardíaca congestiva (vide item *Reações Adversas*):

Eventos consistentes com Insuficiência Cardíaca Congestiva foram relatados em estudos clínicos. Os sintomas variaram de declínios assintomáticos na fração da ejeção ventricular esquerda a Insuficiência Cardíaca Congestiva sintomática, exigindo tratamento ou hospitalização.

Deve-se ter cautela quando tratar pacientes com doença cardiovascular clinicamente significativa ou insuficiência cardíaca congestiva preexistente com **Avastin**.

Neutropenia:

Índices aumentados de neutropenia severa, neutropenia febril ou infecção com neutropenia severa (incluindo algumas fatalidades) foram observados em pacientes tratados com alguns regimes

mielotóxicos de quimioterapia associados a **Avastin**, em comparação a quimioterapia sem adição de **Avastin**.

Hemorragia (vide item *Reações Adversas*):

Pacientes tratados com **Avastin** apresentam risco aumentado de hemorragia, especialmente hemorragias associadas ao tumor. **Avastin** deve ser suspenso definitivamente em pacientes que apresentarem sangramento Grau 3 ou 4 durante o tratamento com **Avastin**.

O risco de hemorragia no sistema nervoso central em pacientes com metástases no SNC recebendo **Avastin** não pôde ser completamente avaliado, pois tais pacientes foram excluídos dos estudos clínicos.

Não existe nenhuma informação sobre o perfil de segurança de **Avastin** em pacientes com diátese hemorrágica congênita, coagulopatia adquirida ou em pacientes recebendo dose plena de anticoagulantes para tratamento de tromboembolismo antes do início do tratamento com **Avastin**, pois pacientes com estas condições foram excluídos dos estudos clínicos. Portanto, recomenda-se cautela antes de iniciar o tratamento com **Avastin** nesses pacientes. No entanto, pacientes que desenvolveram trombose venosa enquanto tratados com **Avastin** não parecem apresentar incidência aumentada de sangramento Grau 3 ou acima quando tratados com dose plena de varfarina e **Avastin** concomitantemente.

Síndrome da Leucoencefalopatia Posterior Reversível (SLPR):

Houve raros relatos de pacientes tratados com **Avastin** que tenham desenvolvido sinais e sintomas que são consistentes com a Síndrome da Leucoencefalopatia Posterior Reversível (SLPR), um raro distúrbio neurológico, o qual pode apresentar os seguintes sinais e sintomas, dentre outros: convulsões, dor de cabeça, estado mental alterado, distúrbio visual ou cegueira cortical, com ou sem hipertensão associada. Um diagnóstico de SLPR requer confirmação por imagem cerebral. Em pacientes que desenvolvem SLPR, o tratamento de sintomas específicos, incluindo controle de hipertensão é recomendado juntamente com a descontinuação de **Avastin**. A segurança da retomada do tratamento com **Avastin** em pacientes que anteriormente tenham apresentado SLPR não é conhecida (vide item *Experiência Pós-Marketing*).

#### **Gestação e lactação**

**Categoria de risco na gravidez: C. Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.**

Foi demonstrado que **Avastin** é embriotóxico e teratogênico quando administrado a coelhos. Os efeitos observados incluíram reduções de peso materno e fetal, número aumentado de reabsorções fetais e incidência aumentada de alterações macroscópicas e esqueléticas fetais específicas. As evoluções fetais adversas foram observadas em todas as doses testadas, de 10 a 100 mg/kg. Foi demonstrado que a angiogênese é criticamente importante para o desenvolvimento fetal. A inibição da angiogênese depois da administração de **Avastin** pode causar resultado adverso da gravidez.

Não houve nenhum estudo adequado e bem controlado em gestantes. Sabe-se que IgGs cruzam a barreira placentária e **Avastin** pode inibir a angiogênese no feto. Portanto, **Avastin** não deve ser usado durante a gravidez. Em mulheres com potencial para engravidar, medidas contraceptivas adequadas são recomendadas durante o tratamento com **Avastin**. Com base em considerações farmacocinéticas, as medidas contraceptivas são recomendadas durante pelo menos 6 meses depois da última dose de **Avastin**.

Não se sabe se o bevacizumabe é excretado no leite humano. Como a IgG materna é excretada no leite e **Avastin** pode prejudicar o crescimento e desenvolvimento do lactente, as mulheres devem ser orientadas a interromper o aleitamento materno durante o tratamento e a não amamentar durante pelo menos 6 meses depois da última dose de **Avastin**.

**Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres durante a lactação.**

**Efeitos sobre a capacidade de dirigir e operar máquinas**

Não foram realizados estudos sobre a capacidade de dirigir e operar máquinas. No entanto, não existe nenhuma evidência de que o tratamento com **Avastin** resulte em aumento dos eventos adversos que possam levar ao comprometimento da capacidade de dirigir ou operar máquinas ou prejudicar a capacidade mental.

## **8. USO EM IDOSOS, CRIANÇAS E OUTROS GRUPOS DE RISCO**

### **Idosos**

Vide item *Advertências: Tromboembolismo arterial*.

### **Crianças**

A eficácia e segurança de **Avastin** em pacientes pediátricos não estão estabelecidas.

### **Pacientes com insuficiência hepática e renal**

A eficácia e segurança de **Avastin** em pacientes com insuficiência hepática ou renal não foram estudadas.

## **9. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS**

### **Efeito de agentes antineoplásicos na farmacocinética do bevacizumabe**

Não foram observadas interações farmacocinéticas clinicamente relevantes de quimioterapia coadministrada

ao **Avastin**, baseado nos resultados de uma análise de farmacocinética populacional. Não houve diferenças no *clearance* de **Avastin** em pacientes tratados com **Avastin** em monoterapia comparado aos pacientes que receberam **Avastin** em combinação com o regime *bolus* IFL. O efeito de outras quimioterapias co-administradas (5-FU-LV ou capecitabina) no *clearance* de **Avastin** não foi considerado clinicamente significativo.

### **Efeito do bevacizumabe na farmacocinética de outros agentes antineoplásicos**

Resultados de um estudo de interação droga-droga, AVF3135g, demonstraram que o efeito do bevacizumabe não alterou de maneira significativa a farmacocinética de irinotecano e de seu metabólito ativo SN38.

Resultados do estudo NP18587 demonstraram que o efeito do bevacizumabe não alterou de maneira significativa a farmacocinética da capecitabina e dos seus metabólitos, nem a farmacocinética da oxaliplatina, como determinado pela medição da platina livre e total.

### **Radioterapia**

A segurança e a eficácia de administração concomitante de radioterapia e **Avastin** não foi estabelecida.

## **10. REAÇÕES ADVERSAS A MEDICAMENTOS**

Experiência de estudos clínicos

O perfil de segurança foi conduzido em pacientes com várias malignidades tratados com **Avastin**, predominantemente em combinação com quimioterapia. O perfil de segurança de uma população clínica de mais de 3.500 pacientes é apresentado neste item.

Os eventos adversos mais graves foram:

- Perfurações gastrintestinais (vide item *Advertências*)
- Hemorragia (vide item *Advertências*)
- Tromboembolismo arterial (vide item *Advertências*)

As análises dos dados de segurança clínica sugerem que a ocorrência de hipertensão e proteinúria durante o tratamento com **Avastin** são provavelmente dose-dependentes.

Os eventos adversos mais freqüentemente observados em todos os estudos clínicos nos pacientes recebendo **Avastin** foram hipertensão, fadiga ou astenia, diarreia e dor abdominal.

A tabela 2 lista reações adversas de drogas associadas com o uso de **Avastin** em combinação com diferentes regimes de quimioterapia em múltiplas indicações. Estas reações ocorreram com pelo menos 2% de diferença, quando comparadas ao braço controle (reações Graus 3-5 do *NCICTC - National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria*) ou com ao menos uma diferença de 10% quando comparada ao braço controle (reações Graus 1-5 *NCI-CTC*), em ao menos um dos estudos clínicos prioritários. Estas reações adversas estão nas seguintes categorias: Muito Comum ( $\geq 10\%$ ) e Comum ( $\geq 1\% - < 10\%$ ). A reação adversa é adicionada à categoria apropriada na tabela abaixo, de acordo com a maior incidência vista nos estudos clínicos prioritários. Dentro de cada grupo de freqüência, as reações adversas são apresentadas em ordem de seriedade decrescente. Algumas reações adversas são reações geralmente vistas com quimioterapia (por exemplo, síndrome de eritrodisestesia palmo-plantar com capecitabina e neuropatia sensorial periférica com oxaliplatina). Entretanto, uma exacerbação da terapia com **Avastin** não pode ser excluída.

### **Tabela 2 – Reações adversas comum e muito comum**

#### **Classe de sistema orgânico**

#### **Eventos adversos Grau 3-5 NCI-CTC ( $\geq 2\%$ de diferença entre**

#### **os braços do estudo em pelo menos um estudo clínico) Todos os graus de reações**

#### **Infecções e Infestações**

Sepse Abscesso, Infecção

#### **Distúrbios do Sangue e Sistema Linfático**

Neutropenia Febril, Leucopenia, Neutropenia, Trombocitopenia, Anemia

#### **Distúrbios no Metabolismo e Nutrição**

Desidratação Anorexia,

#### **Distúrbios do Sistema Nervoso**

Neuropatia sensorial periférica, Acidente cerebrovascular, Síncope, Sonolência, Cefaléia, Disgeusia (alteração do paladar), Cefaléia

#### **Distúrbios oculares**

Lacrimejamento aumentado

#### **Distúrbios Cardíacos**

Insuficiência cardíaca congestiva, Taquicardia supraventricular

#### **Distúrbios Vasculares**

Hipertensão, Tromboembolismo (arterial), Trombose venosa profunda, Hemorragia, Hipertensão

#### **Distúrbios Respiratórios, Torácicos e do Mediastino**

Embolia pulmonar, Dispneia, Hipóxia, Epistaxe, Dispneia, Epistaxe, Rinite

#### **Distúrbios Gastrointestinais**

Diarréia, Náusea, Vômito, Perfuração intestinal, Obstrução intestinal, Dores abdominais, Estomatite, Constipação, Estomatite, Hemorragia retal

#### **Distúrbios de Pele e Tecido, Subcutâneo**

Síndrome eritrodiseestesia palmo-plantar, Dermatites esfoliativas, Pele seca, Descoloração de pele

#### **Distúrbios do Osso e Tecido Músculoesquelético**

Fraqueza Muscular, Mialgia, Artralgia

#### **Distúrbios Urinários e Renais**

Proteinúria, Infecção do trato urinário, Proteinúria

#### **Distúrbios Gerais e Condições do Local de Administração**

Astenia, Fadiga, Dor, Letargia, Inflamação mucosa, Febre. Astenia, Dor, Inflamação mucosa

As seguintes reações adversas relatadas usando NCI-CTC (critério comum de toxicidade) para avaliação de toxicidade, foram observadas em pacientes tratados com **Avastin**.

#### **Perfuração gastrointestinal** (vide item *Advertências*)

**Avastin** vem sendo associado a casos sérios de perfuração gastrointestinal.

Perfurações gastrointestinais têm sido relatadas em estudos clínicos com uma incidência de até 2% em pacientes com câncer colorretal metastático.

Evolução fatal foi relatada em aproximadamente um terço dos casos sérios de perfuração gastrointestinal, o qual representa entre 0,2% - 1% de todos os pacientes tratados com **Avastin**.

A apresentação desses eventos variou em tipo e gravidade, desde presença de ar livre observado em radiografia simples de abdome, que se resolveu sem tratamento, até perfuração intestinal com abscesso abdominal e evolução fatal. Em alguns casos, estava presente uma inflamação intraabdominal de base, tanto por doença ulcerosa gástrica, como por necrose tumoral, diverticulite ou colite associada à quimioterapia. Uma associação causal entre processo inflamatório intra-abdominal, perfuração gastrointestinal e **Avastin** não foi estabelecida.

#### **Fístulas**

**Avastin** foi associado com casos graves de fístula incluindo eventos resultando em morte.

Em estudos clínicos com **Avastin**, fístulas gastrointestinais têm sido relatadas com uma incidência de até 2% em pacientes com câncer colorretal metastático, mas também foram relatadas menos comumente em pacientes com outros tipos de câncer. Relatos incomuns ( $\geq 0,1\%$  a  $< 1\%$ ) de outros tipos de fístulas que envolvem áreas do corpo que não o trato gastrointestinal (brôncopleural, urogenital e biliar) foram observadas em várias indicações. Fístulas também foram observadas em experiência pós-marketing.

Foram observados eventos em períodos diferentes durante o tratamento, variando de uma semana até mais de um 1 ano do início do **Avastin**, com a maioria dos eventos ocorrendo dentro dos primeiros 6 meses de terapia.

#### **Cicatrização de feridas** (vide item *Advertências*)

Como **Avastin** pode ter impacto adverso sobre a cicatrização de feridas, pacientes submetidos a cirurgia de grande porte nos últimos 28 dias antes de iniciar o tratamento com **Avastin** foram excluídos da participação no estudo de fase III.

Através de estudos clínicos em câncer colorretal metastático, não houve um risco aumentado de hemorragia pós-operatória ou complicações na cicatrização de feridas observadas em pacientes que sofreram cirurgia de grande porte entre 28-60 dias antes de começar terapia com **Avastin**.

Foi observado um aumento na incidência de hemorragia pós-operatória ou complicações na cicatrização de feridas ocorrendo dentro de 60 dias de cirurgia de grande porte, em pacientes que estavam sendo tratado com **Avastin** na época da cirurgia. A incidência variou entre 10% (4/40) e 20% (3/15).

#### **Hipertensão** (vide item *Advertências*)

Foi observada uma incidência aumentada de 34% de hipertensão (todos os graus) em pacientes tratados com **Avastin**, comparado com 14% no braço de comparação.

Em ensaios clínicos nas múltiplas indicações, a incidência global de hipertensão, Graus 3 e 4 (NCICTC), variou de 0,4% a 17,9% em pacientes tratados com **Avastin**. Hipertensão Grau 4 (crise hipertensiva) ocorreu em até 1,0% dos pacientes tratados com **Avastin**, comparado com até 0,2% dos pacientes tratados com a mesma quimioterapia sozinha.

Geralmente, a hipertensão foi adequadamente controlada com anti-hipertensivos orais como inibidores da enzima conversora da angiotensina, diurético e bloqueadores do canal de cálcio.

Raramente resultou em descontinuação do tratamento com **Avastin** ou hospitalização.

Raros casos de encefalopatia hipertensiva foram relatados, alguns dos quais foram fatais (vide item

*Advertências*). O risco de hipertensão associada ao **Avastin** não se correlacionou com as características basais dos pacientes, doença de base ou terapia concomitante.

#### **Proteinúria**

Em estudos clínicos, proteinúria foi relatada na faixa de 0,7% a 38% dos pacientes recebendo **Avastin**. A proteinúria variou em gravidade, desde clinicamente assintomática, transitória, traços de proteinúria, até síndrome nefrótica. Proteinúria Grau 3 foi relatada em menos que 3% de pacientes tratados. Proteinúria Grau 4 (síndrome nefrótica) foi observada em até 1,4 % dos pacientes tratados. A proteinúria observada nos estudos clínicos com **Avastin** não foi associada a disfunção renal e raramente exigiu interrupção permanente do tratamento com **Avastin**.

Os pacientes com história de hipertensão podem apresentar um risco aumentado para desenvolvimento de proteinúria quando tratados com **Avastin**. Existem evidências sugerindo que proteinúria Grau 1 pode estar relacionada à dose de **Avastin** (vide item *Advertências*).

Recomenda-se efetuar um teste de proteinúria antes de iniciar a terapia com **Avastin**. Na maioria dos estudos clínicos, níveis protéicos na urina  $\geq 2$  g/24 h levaram a uma interrupção do **Avastin** até a recuperação dos níveis para  $< 2$  g/24 h.

#### **Hemorragia**

Em estudos clínicos realizados, a incidência total de eventos hemorrágicos Graus 3-5 variaram de 0,4% a 5% em pacientes tratados com **Avastin**, comparado com 0 a 2,9% dos pacientes no grupo de controle de quimioterapia.

Os eventos hemorrágicos que foram observados nos estudos clínicos com **Avastin** foram predominantemente hemorragia associada ao tumor (veja a seguir) e hemorragia mucocutânea mínima, como epistaxe.

- *Hemorragia associada ao tumor*: Hemorragia gastrointestinal, incluindo hemorragia retal e melena foram observadas em pacientes com câncer colorretal e foram avaliadas como hemorragias associadas ao tumor.

Hemorragia associada ao tumor também foi raramente observada em outros tipos e localizações de tumores, incluindo sangramento de sistema nervoso central (SNC) em um paciente com hepatoma e com metástases ocultas de SNC e um outro paciente que desenvolveu perda contínua de sangue em um sarcoma de coxa com necrose.

Em todos os estudos clínicos de **Avastin** foi observada **hemorragia mucocutânea**, em até 50% dos pacientes tratados com **Avastin**. Foi relatada, mais comumente epistaxe, Grau 1 *NCI-CTC* que durou menos de 5 minutos, e foi resolvida sem intervenção clínica, não necessitando de nenhuma alteração no esquema de tratamento com **Avastin**.

Dados de estudos clínicos sugerem que a incidência de pequenas hemorragias mucocutâneas secundárias (por exemplo, epistaxe) possam ser dose-dependente.

Também houve eventos menos comuns de hemorragia mucocutânea mínima em outros locais, como sangramento gengival ou hemorragia vaginal.

#### **Tromboembolismo**

##### *- Tromboembolismo arterial*

Uma incidência aumentada de eventos tromboembólicos arteriais foi observada em pacientes tratados com **Avastin**, incluindo acidentes cerebrovasculares, infarto do miocárdio, ataques isquêmicos transitórios e outros eventos tromboembólicos arteriais.

Em estudos clínicos, a incidência total variou em até 3,8% dos pacientes tratados com **Avastin** em comparação com 1,7% nos braços de controle da quimioterapia. Evento fatal foi relatado em 0,8% de pacientes recebendo **Avastin** em combinação com quimioterapia em comparação com 0,5% dos pacientes recebendo apenas quimioterapia.

Acidentes cerebrovasculares (incluindo ataques isquêmicos transitórios) ocorreram em 2,3% dos pacientes tratados com **Avastin** em comparação com 0,5% dos pacientes no grupo de controle: infarto do miocárdio em 1,4% dos pacientes tratados com **Avastin** em comparação com 0,7% dos pacientes observados no grupo de controle.

No estudo clínico AVF2192g, foram incluídos pacientes com câncer colorretal metastático que não eram candidatos para tratamento com irinotecano. Neste estudo, eventos tromboembólicos arteriais foram observados em 11% (11/100) dos pacientes, em comparação com 5,8% (6/104) no grupo de controle de quimioterapia.

##### *- Tromboembolismo venoso*

Em estudos clínicos nas múltiplas indicações, a incidência total de eventos tromboembólicos venosos variou de 2,8% a 17,3% dos pacientes tratados com **Avastin** comparado com 3,2% a 15,6% nos braços controle com quimioterapia. Eventos tromboembólicos venosos incluem trombose venosa profunda e embolismo pulmonar.

Eventos tromboembólicos venosos graus 3-5 têm sido relatados em até 7,8% dos pacientes tratados com quimioterapia mais bevacizumabe comparado com até 4,9% em pacientes com quimioterapia isolada. Pacientes que tiveram evento tromboembólico venoso podem ter alto risco

de recorrência se recebem **Avastin** em combinação com quimioterapia, em comparação com quimioterapia isolada.

#### **Insuficiência cardíaca congestiva**

Na maioria dos estudos clínicos com **Avastin**, pacientes com ICC grau II a IV (NYHA) preexistente foram excluídos, portanto, não há informações disponíveis sobre o risco de ICC nesta população. A exposição prévia a antraciclina e/ou irradiação da parede torácica podem ser possíveis fatores de risco para desenvolvimento de ICC.

#### **Pacientes idosos**

Em estudos clínicos randomizados, a idade > 65 anos foi associada a risco aumentado para desenvolvimento de eventos tromboembólicos arteriais, incluindo acidentes cerebrovasculares, ataques isquêmicos transitórios e infarto do miocárdio em comparação com os pacientes com idade ≤ 65 anos quando tratados com **Avastin** (vide itens *Advertências e Reações Adversas: Tromboembolismo*). Outras reações com uma maior frequência em pacientes acima de 65 anos foram: trombocitopenia e leucopenia grau 3-4, neutropenia, diarreia, náusea, dor de cabeça e fadiga em todos os graus.

Não se observou aumento na incidência de outros eventos relacionados a **Avastin**, incluindo perfuração gastrointestinal, complicações de cicatrização de ferida, hipertensão, proteinúria, insuficiência cardíaca congestiva e hemorragia em pacientes idosos (> 65 anos) com câncer metastático do cólon ou reto em comparação com os pacientes com idade < 65 anos também tratados com **Avastin**.

#### **Alterações laboratoriais**

Redução do número de neutrófilos, leucopenia e presença de proteinúria podem estar associados ao tratamento com **Avastin**.

De acordo com os estudos clínicos, as seguintes alterações laboratoriais Graus 3 e 4 foram observadas com uma incidência aumentada (≥ 2%) nos pacientes tratados com **Avastin**, comparadas com aquelas nos grupos controles: hiperglicemia, hemoglobina diminuída, hipocalemia, hiponatremia, contagem diminuída de células brancas do sangue, tempo aumentado da protrombina e razão normalizada.

Experiência Pós-Marketing

#### **Tabela 3: Reações adversas observadas no acompanhamento pós-marketing**

##### **Sistema Reações (frequência\*)**

Desordens do Sistema Nervoso

- Encefalopatia hipertensiva (muito rara) (vide itens *Advertências e Reações Adversas*)

- Síndrome da Leucoencefalopatia Posterior

Reversível (rara) (vide item *Advertências*)

Desordens respiratórias, torácicas e do mediastino

- Perfuração do septo nasal (desconhecida)

- Hipertensão pulmonar (desconhecida)

- Disfonia (comum)

\* se especificada, a frequência foi obtida de dados de estudos clínicos.

**Atenção: este é um medicamento novo e, embora as pesquisas tenham indicado eficácia e segurança aceitáveis para comercialização, efeitos indesejáveis e não conhecidos podem ocorrer. Neste caso, informe ao seu médico.**

#### **11. SUPERDOSE**

A maior dose testada no ser humano (20 mg/kg de peso corpóreo intravenosa a cada duas semanas), foi associada com enxaqueca intensa em vários pacientes.

#### **12. ARMAZENAGEM**

Antes de aberto, **Avastin** deve ser mantido em refrigerador, em temperaturas de 2o a 8oC. O frasco deve ser mantido dentro da embalagem externa original para proteger da luz, até o momento de ser utilizado.

#### **NÃO CONGELAR. NÃO AGITAR.**

*Estabilidade:*

A data de fabricação e o prazo de validade de **Avastin** estão impressos na embalagem externa do produto. Não use qualquer medicamento fora do prazo de validade; pode ser prejudicial à saúde.

MS-1.0100.0637

Farm. Resp.: Guilherme N. Ferreira - CRF-RJ nº 4288

Fabricado para F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basiléia, Suíça

por Genentech Inc, South San Francisco, CA, EUA

Ou

Fabricado na Suíça por F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basiléia

Embalado por F. Hoffmann-La Roche Ltd, Kaiseraugst, Suíça

Importado e distribuído no Brasil por:

**Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A.**

Est. dos Bandeirantes, 2020 CEP 22710-104 - Rio de Janeiro - RJ

CNPJ: 33.009.945/0023-39

**Serviço Gratuito de Informações – 0800 7720 289 R**

**[www.roche.com.br](http://www.roche.com.br)**

**USO RESTRITO A HOSPITAIS**

**VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA**

NO do lote, data de fabricação, prazo de validade: vide cartucho.

**CDS 12.0**

## **DECLARAÇÃO DE ISENÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE**

Eu, João Carlos Diniz Arraes, autor da tese de doutorado intitulada “BEVACIZUMABE INTRA-VÍTREO: ANÁLISE DA TOXICIDADE RETINIANA APÓS 3 MESES EM OLHOS DE COELHOS NÃO ALBINOS”, declaro que dentro dos últimos 5 anos e para o futuro próximo não possuo conflito de interesse de ordem pessoal, comercial, política e financeira na medicação Bevacizumabe (Avastin®) utilizada no desenvolvimento desta tese.

Declaro também que todo o material utilizado durante o desenvolvimento da pesquisa e elaboração da tese de doutorado teve seus custos pagos pelo próprio autor do estudo.

Goiânia, 15 de Abril de 2009

---

João Carlos Diniz Arraes  
(*Autor do Estudo*)

## Anexo 5 - Registro do Avastin® na Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Ministério da Saúde 

Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
www.anvisa.gov.br

### Processos Deferidos

Institucional Anvisa Divulga Serviços Áreas de Atuação Legislação Espaço Cidadão Profissional de Saúde Setor Regulado

### Detalhe do Produto : AVASTIN

<b>Nome da Empresa:</b>	PRODUTOS ROCHE QUÍMICOS E FARMACÊUTICOS S.A.		
<b>CNPJ:</b>	33.009.945/0001-23		
<b>Nome Comercial:</b>	AVASTIN		
<b>Princípio Ativo:</b>	BEVACIZUMABE		
<b>Categoria:</b>	ANTINEOPLASICO		
<b>Registro:</b>	10 1000637		
<b>Processo:</b>	25351.255514/2004-83	<b>Autorização:</b>	1001004
<b>Apresentação EM ANÁLISE</b>	<b>Forma Física</b>	<b>Nº Apres.</b>	<b>Data de Publicação</b>
25 MG/ML SOL INJ P/ INF IV CT FA VD INC X 4 ML	SOLUÇÃO INJETAVEL	1	
<b>Validade:</b>	24/Mês	<b>Registro:</b>	10100.0637/001-5
<b>Embalagem:</b>	FRASCO AMPOLA DE VIDRO INCOLOR - Primária CARTUCHO DE CARTOLINA - Secundária		
<b>Local de Fabricação:</b>	ESTADOS UNIDOS		
<b>Vencimento do Registro:</b>	05/2010		
<b>Apresentação EM ANÁLISE</b>	<b>Forma Física</b>	<b>Nº Apres.</b>	<b>Data de Publicação</b>
25 MG/ML SOL INJ P/ INF IV CT FA VD INC X 16 ML	SOLUÇÃO INJETAVEL	2	
<b>Validade:</b>	24/Mês	<b>Registro:</b>	10100.0637/002-3
<b>Embalagem:</b>	FRASCO AMPOLA DE VIDRO INCOLOR - Primária CARTUCHO DE CARTOLINA - Secundária		
<b>Local de Fabricação:</b>	ESTADOS UNIDOS		
<b>Vencimento do Registro:</b>	05/2010		
<input type="button" value="NOVA CONSULTA"/> <input type="button" value="VOLTAR"/>			