

CARLOS CÉSAR LOPES DE JESUS

**AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE E SEGURANÇA DA VITAMINA C, SUPERÓXIDO
DISMUTASE E PENTOXIFILINA NO TRATAMENTO DA RETINOPATIA DIABÉTICA:
REVISÃO SISTEMÁTICA USANDO A METODOLOGIA DA COLABORAÇÃO
COCHRANE**

Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo - Escola Paulista de
Medicina, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

São Paulo

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CARLOS CÉSAR LOPES DE JESUS

**AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE E SEGURANÇA DA VITAMINA C, SUPERÓXIDO
DISMUTASE E PENTOXIFILINA NO TRATAMENTO DA RETINOPATIA DIABÉTICA:
REVISÃO SISTEMÁTICA USANDO A METODOLOGIA DA COLABORAÇÃO
COCHRANE**

Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo - Escola Paulista de
Medicina, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Virgínia Fernandes Moça
Trevisani

Co-Orientador:

Prof. Dr. Orsine Valente

São Paulo

2009

Lopes de Jesus, Carlos César

Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética: revisão sistemática usando a metodologia da Colaboração Cochrane./ Carlos César Lopes de Jesus, -- São Paulo, 2009.

XX, 159f.

Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Terapêutica.

Título em inglês: **Evaluation of efficacy and safety of vitamin C, superoxide dismutase and pentoxifylline in the treatment of diabetic retinopathy: systematic: review using the Cochrane Collaboration method.**

DADOS DO ALUNO

Dados Pessoais

Nome: Carlos César Lopes de Jesus
Endereço: R. Prof. Pedreira de Freitas, 980 – Apto. 21, São Paulo – SP
Fone: (11) 2296-4228
E-mail: caceloje@gmail.com

Formação Acadêmica

Graduação em Medicina pela Faculdade de Ciências Médicas de Santos (F.C.M.S.) em 1992.

Residência em Clínica Médica pelo Hospital Ipiranga em 1995.

Estágio em Terapia Intensiva pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) em 1996.

Residência em Cardiologia pelo Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia em 1998.

Residência em Emergências Cardiológicas pelo Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia em 1999.

Estágio em Unidade Coronariana pelo Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia em 2000.

Título de Especialista em Cardiologia pela Associação Médica Brasileira (A.M.B.).

Atuação Profissional

Médico Clínico do Pronto-Socorro do Hospital Ipiranga.

Médico Cardiologista do Hospital Municipal “Dr. Carmino Caricchio”.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
DISCIPLINA DE MEDICINA DE URGÊNCIA E MEDICINA BASEADA EM
EVIDÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA INTERNA E TERAPÊUTICA

Chefe do Departamento de Medicina: Prof. Dr. Angelo Amato Vincenzo de Paola

Coordenador do Programa de Pós-Graduação: Prof. Dr. Álvaro Nagib Atallah

CARLOS CÉSAR LOPES DE JESUS

**AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE E SEGURANÇA DA VITAMINA C, SUPERÓXIDO
DISMUTASE E PENTOXIFILINA NO TRATAMENTO DA RETINOPATIA DIABÉTICA:
REVISÃO SISTEMÁTICA USANDO A METODOLOGIA DA COLABORAÇÃO
COCHRANE.**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Humberto Saconato

Prof. Dr. João Eduardo Nunes Salles

Profa. Dra. Nilva Simeren Bueno de Moraes Ambrogini

Suplente:

Prof. Dr. Bernardo Garcia de Oliveira Soares

Aprovada em: 26/08/2009

A Deus

À minha querida esposa Luciana

Aos meus filhos Gabriela, Felipe e Fernando, luzes da minha vida

Aos meus amados pais Cassiano e Maria da Conceição

Ao meu querido irmão Otavio

“Eles não sabem, nem sonham,
que o sonho comanda a vida
Que sempre que um homem sonha
o mundo pula e avança
como bola colorida
entre as mãos de uma criança”.

Trecho de “Pedra Filosofal”

do poeta português Antônio Gedeão (1906-1997)

“Os homens perdem a saúde para juntar dinheiro,
depois perdem dinheiro para recuperar a saúde.

E por pensarem ansiosamente no futuro, esquecem do presente de tal forma
que acabam por não viver nem o presente nem o futuro.

E vivem como se nunca fossem morrer... e morrem como se nunca tivessem vivido”.

Tenzin Gyatso, o 14° Dalai Lama

Agradecimentos

À Profª. Drª. Virgínia Fernandes Moça Trevisani, pelo apoio, compreensão e orientação, essenciais para a elaboração desta tese.

Ao Prof. Dr. Orsine Valente, pela orientação suplementar durante a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Álvaro Nagib Atallah minha gratidão pela oportunidade, ensinamentos e acolhida no seu programa de Pós-Graduação.

Aos secretários da Disciplina de Medicina Interna e Terapêutica da UNIFESP-EPM: Mauro Ishioka, Davi Leite da Silva e Anderson Anacleto, pela ajuda constante e palavras de incentivo.

Aos membros do *Cochrane Metabolic and Endocrine Disorders Group* e do Departamento de Prática Geral do Centro Clínico da Universidade Heinrich-Heine, em Düsseldorf - Alemanha, pela acolhida e pelo auxílio, especialmente nos momentos mais difíceis.

À Diretora-Técnica do Hospital Municipal “Dr. Carmino Caricchio”, pela compreensão que tornou possível a realização de meu mestrado.

À minha querida esposa Luciana pela compreensão durante a realização desta tese.

Ao meu irmão Otávio César Lopes de Jesus, pela formatação do texto.

Sumário

| | |
|---|-----|
| Dedicatória | VII |
| Agradecimentos | IX |
| Listas | XII |
| Resumo | XIX |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 OBJETIVOS | 2 |
| 3 REVISÃO DA LITERATURA | 3 |
| 4 MÉTODOS | 43 |
| 4.1 Tipos de estudo | 43 |
| 4.2 Local | 43 |
| 4.3 Critérios de inclusão | 43 |
| 4.4 Amostra | 44 |
| 4.5 Desfechos avaliados | 44 |
| 4.6 Critérios de exclusão | 45 |
| 4.7 Estratégia de busca para a identificação dos estudos | 46 |
| 4.8 Avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos | 47 |
| 4.9 Qualidade metodológica | 51 |
| 5 RESULTADOS | 52 |
| 6 DISCUSSÃO | 53 |
| 7 CONCLUSÕES DOS AUTORES | 54 |
| 7.1 Implicações para a prática | 54 |
| 7.2 Implicações para a pesquisa | 54 |
| 8 ANEXOS | 56 |
| 9 REFERÊNCIAS | 128 |

Abstract

135

Lista de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. O olho | 5 |
| Figura 2. Camadas da retina | 6 |
| Figura 3. Vascularização do olho | 7 |
| Figura 4. Capilar normal | 9 |
| Figura 5. Perda do periclito | 9 |
| Figura 6. Espessamento da membrana basal | 10 |
| Figura 7. Oclusão vascular | 10 |
| Figura 8. Microaneurismas | 11 |
| Figura 9. Microaneurismas | 11 |
| Figura 10. Anormalidades microvasculares intraretinianas | 12 |
| Figura 11. Hemorragia retiniana | 12 |
| Figura 12. Edema macular | 13 |
| Figura 13. Neovascularização | 14 |
| Figura 14. Neovascularização | 14 |
| Figura 15. Hemorragias e exsudatos | 15 |
| Figura 16. Neovaso / hemorragia e fibrose pré-retiniana | 15 |
| Figura 17. Descolamento tracional da retina | 16 |

Lista de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Diagnóstico e classificação da retinopatia diabética | 57 |
| Tabela 2. Artigos excluídos (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética) | 59 |
| Tabela 3. Artigos excluídos (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina na retinopatia diabética) | 62 |
| Tabela 4. Estratégia de busca (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética) | 65 |
| Tabela 5. Estratégia de busca (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina na retinopatia diabética) | 70 |

Lista de gráficos

| | |
|--|-----|
| Gráfico 1. Gráfico fictício de revisão sistemática | 137 |
| Gráfico 2. Gráfico fictício de revisão sistemática | 137 |

Lista de abreviaturas

| | |
|------------|---|
| ADA | Associação Americana do Diabete |
| ADP ribose | Ribose Adenosina Difosfato |
| aFGF | Fibroblast Growth Factor Ácido - Fator de Crescimento de Fibroblasto Ácido |
| AGE(s) | Advanced Glycation End Products - Produtos Finais da Glicação Avançada |
| AMPC | Monofosfato de Adenosina Cíclico |
| ATP | Trifosfato de Adenosina |
| AVE | Acidente Vascular Encefálico |
| AVIR | Anormalidades Vasculares Intra-Retinianas |
| Bax | Proteína Pró-Apoptótica |
| bFGF | Fibroblast Growth Factor Básico - Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico |
| CEP | Comitê de Ética em Pesquisa |
| CuZnSOD | Cobre-Zinco Superóxido-Dismutase |
| DAG | Diacilglicerol |
| DCCT | Diabetes Control and Complications Trial |
| DHA | Deidroascorbato |
| DM | Diabete Melito |
| DM1 | Diabete Melito do Tipo 1 |
| DM2 | Diabete Melito do Tipo 2 |
| DNA | Ácido Desoxirribonucléico |
| ECM | Matriz Extra-Celular |
| ecNOS | Óxido Nítrico-Sintetase Constitutiva |
| EPR | Epitélio Pigmentado Retiniano |

| | |
|---------------|---|
| ERG | Eletrorretinograma |
| ET-1 | Endotelina-1 |
| ET-3 | Endotelina-3 |
| ETA | Receptor de Membrana Específico do Músculo Liso-A |
| ETB | Receptor de Membrana Específico do Músculo Liso-B |
| ETDRS | Early Treatment Diabetic Retinopathy Study |
| EURODIAB | Controlled Trial of Lisinopril in Insulin Dependent Diabetes |
| FCDP | Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas |
| FCE | Fator de Crescimento Epidérmico |
| FNT- α | Fator de Necrose Tumoral- α |
| GAPDH | Gliceraldeído-3-Fosfato-Desidrogenase |
| GLUT | Transportadores de Glicose |
| GMPc | Monofosfato de Guanosina Cíclico |
| HbA1c | Hemoglobina Glicosilada |
| HDL | Lipoproteína de Alta Densidade |
| ICAM | Molécula de Adesão Intercelular |
| ICAM-1 | Molécula de Adesão Intercelular-1 |
| IECA | Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina |
| IL-1 β | Interleucina-1 β |
| IL-6 | Interleucina-6 |
| IL-8 | Interleucina-8 |
| LDL | Lipoproteína de Baixa Densidade |
| LTB4 | Leucotrieno B4 |
| MMP | Metaloproteinases Matriciais |
| MnSOD | Manganês Superóxido-Dismutase |
| NAD(P)H | Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo-Fosfato Reduzida |

| | |
|------------------|---|
| NAD+ | Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo Oxidada |
| NADH | Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo Reduzida |
| NADPH | Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídeo-Fosfato Reduzida |
| Na-K-ATPase | Bomba de Sódio-Potássio |
| NEI | National Eye Institute |
| NFκβ | Fator Nuclear Kappa-β |
| O ₂ | Oxigênio |
| ON | Óxido Nítrico |
| ONOO | Peroxinitrito |
| PAF | Fator Ativador Plaquetário |
| PARP | Poli (ADP-Ribose) Polimerase |
| PARS | Poli (ADP-Ribose) Sintetase |
| PDE | Fosfodiesterase |
| PECAM | Molécula de Adesão Celular Plaquetária |
| PEDF | Fator Derivado do Epitélio Pigmentar |
| PGE1 | Prostaglandina E1 |
| PGI1 | Prostaciclina |
| PKC | Proteína Quinase C |
| RAGE(s) | Receptor Endotelial para os AGEs |
| RD | Retinopatia Diabética |
| RDNP | Retinopatia Diabética não-Proliferativa |
| RDP | Retinopatia Diabética Proliferativa |
| RL | Radical Livre |
| RNA _m | Ácido Ribonucléico Mensageiro |
| SOD | Superóxido-Dismutase |
| SP1 | Fator de Transcrição SP1 |

| | |
|----------|--|
| STAT1 | Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 1 |
| TET | Taxa de Escape Transcapilar |
| TGF-2 | Fator Transformador do Crescimento-2 |
| TGF-beta | Transforming Growth Factor Beta - Fator Transformador de Crescimento Beta |
| TxA2 | Tromboxane A2 |
| UKPDS | United Kingdom Prospective Diabetes Study |
| Upar | Receptor da Uroquinase |
| VCAM-1 | Molécula de Adesão Celular Vascular-1 |
| VEGF | Fator de Crescimento Endotelial Vascular |
| WEDRS | Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy |

Resumo

Objetivos: Avaliar a efetividade e a segurança da vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética em pacientes adultos acometidos por esta doença, de acordo com os critérios clínicos da **American Academy of Ophthalmology** (Anexo 1). **Métodos:** Revisão sistemática utilizando a metodologia da Colaboração Cochrane. **Estratégia de Busca:** As bases pesquisadas foram: **Cochrane Central Register of Controlled Trials** (CENTRAL, **The Cochrane Library** - até a última edição), MEDLINE (1966 - 2007), EMBASE (1980 - 2007), CINAHL (1982 - 2007) e **Web of Science** (1980 - 2007), além de bases de dados de ensaios clínicos em desenvolvimento: **Current Controlled Trials** (www.controlled-trials.com - com ligações para outras bases de dados de ensaios clínicos em andamento). Também foi realizada busca manual em anais de congressos, em listas de referências de artigos publicados, e feito contato com companhias farmacêuticas e autores de artigos publicados. Não houve restrição de idioma. **Critérios de Inclusão:** Ensaios clínicos randomizados sobre o uso da vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética, isoladamente ou em associação, controlado com nenhuma intervenção, placebo ou fotocoagulação a laser, em adultos de ambos os sexos. Também foram usados ensaios clínicos randomizados sobre o uso da pentoxifilina associada à fotocoagulação a laser controlado com placebo ou com a fotocoagulação isoladamente, em adultos de ambos os sexos. O principal critério de exclusão foi idade inferior a 20 anos ou superior a 75 anos. **Coleta e análise dos dados:** A extração de dados foi feita de maneira independente por dois investigadores de acordo com critérios previamente determinados e os resultados foram comparados para determinação do grau de concordância. A avaliação da qualidade metodológica não foi feita devido à ausência de estudos que preenchessem os critérios de inclusão. **Resultados:** Em relação à revisão sobre o uso da vitamina C e superóxido dismutase no tratamento da retinopatia diabética, um total de 241 publicações foram identificadas através da busca eletrônica. Destas, 28 foram identificados como contendo potenciais informações sobre o tratamento dos pacientes com retinopatia diabética utilizando-se estas substâncias e foram lidos na íntegra. Em relação à revisão sobre o uso da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética, um total de 97 publicações foram identificadas através da busca eletrônica. Destas, 17 foram identificados como contendo potenciais informações sobre o tratamento dos pacientes com retinopatia diabética utilizando-se esta substância e foram lidos na íntegra. Contudo, verificou-se que nenhum estudo, até o momento, avaliou o tratamento da retinopatia diabética com vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina segundo os critérios de inclusão de tal forma a indicar se o uso destas substâncias apresenta um impacto significativo sobre a progressão da doença ou sobre a incidência de cegueira. **Conclusões:** Nenhuma pesquisa, até o momento, examinou de forma adequada o tratamento da retinopatia diabética com a vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina de tal forma a indicar se tais formas de intervenção apresentam um impacto significativo sobre a progressão desta condição

clínica. O potencial papel destas substâncias no tratamento da retinopatia diabética permanece aberto ao debate e sugere-se que futuras pesquisas que enfoquem desfechos clínicos, sejam realizadas para se avaliar a relevância desta abordagem clínica.

1 INTRODUÇÃO

O diabetes melito (DM) é uma desordem metabólica resultante de um defeito na secreção de insulina, na sua ação ou de ambos os fatores (1). Sua principal consequência é a hiperglicemia crônica que, por sua vez, acarreta distúrbios do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (1).

As complicações clínicas do diabetes melito podem afetar as grandes e as médias artérias - levando à doença arterial coronariana e à doença arterial periférica, ou as pequenas artérias, causando a microangiopatia diabética - retinopatia, nefropatia e neuropatia (2,3).

A retinopatia diabética (RD) representa a principal causa de cegueira nos países desenvolvidos e acomete aproximadamente todos os indivíduos com diabetes melito do tipo 1 (DM 1) e cerca de 60% dos indivíduos com diabetes melito do tipo 2 (DM 2) (4,5).

Estudos demonstraram que o tratamento intensivo do diabetes reduz o risco do desenvolvimento e da progressão das complicações diabéticas (6).

A fotocoagulação a laser constitui uma das principais formas de tratamento da RD (5). Porém, é um procedimento invasivo que destrói células retinianas (7). Desta forma, tratamentos farmacológicos menos agressivos se fazem necessários para a prevenção ou, até mesmo, a regressão das lesões retinianas de pacientes diabéticos.

Pesquisas apresentam evidências crescentes de que a RD seja causada pela ação de radicais livres (8,9). Assim, “varredores” dessas substâncias, como a vitamina C e a superóxido dismutase (SOD), poderiam exercer influência sobre o desenvolvimento e a progressão desta condição clínica.

Outros estudos demonstraram que a oclusão capilar também apresenta um papel importante no desenvolvimento da RD (10). Assim, antiagregantes, como a pentoxifilina, poderiam ser úteis para o seu tratamento e, até mesmo, para a sua prevenção (10).

Faz-se, portanto, necessária a elaboração de uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de se verificar se essas substâncias apresentam utilidade no tratamento da RD.

2 OBJETIVOS

1. Avaliar a efetividade e a segurança do uso da vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina no tratamento da RD.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Diabete melito

3.1.1 Conceito

O diabete melito constitui um grupo de alterações metabólicas caracterizado por hiperglicemia crônica resultante da resistência periférica à insulina, da redução da secreção pancreática desta substância e do aumento da produção hepática de glicose, acarretando, a longo prazo, uma série de complicações (1).

3.1.2 Epidemiologia

O DM 1 é observado em 5% a 10% dos casos de diabete, apresentando uma variação da prevalência em diferentes regiões do mundo (11). Sua incidência, por 100.000 habitantes com idade inferior a 20 anos, é de 0,8 (Japão); 3,7 (França); 14,7 (Estados Unidos) e 28,6 (Finlândia) (11).

O DM 2 é a forma mais freqüente da doença (90% dos casos), cuja prevalência vem apresentando um elevado incremento nas últimas décadas (11). Os seus índices médios de prevalência variam em diferentes populações, podendo-se encontrar desde valores menores que 1,0% nos índios Mapuche, no Chile, até valores em torno de 40,0% nos índios Pima, do Novo México (11). Dentro de um mesmo país também podem ser observadas diferenças entre alguns grupos raciais, como a população negra dos Estados Unidos, cuja prevalência é estimada em 4,5%, contra 2,5% da população branca (11).

A doença, que atinge predominantemente as camadas populacionais mais idosas, não apresenta diferenças entre os sexos, e apresenta tendência de aumento de incidência e prevalência para os próximos anos, especialmente em países em desenvolvimento (11). Estudos epidemiológicos indicam que o DM deverá acometer mais de 200.000.000 de pessoas em todo o mundo até o ano 2010, o que representa o dobro dos valores observados em 1994, ocorrendo predomínio incremental em países em desenvolvimento da Ásia, África e América do Sul (11). Dentre os fatores que explicariam esses dados, destacam-se o aumento das faixas populacionais mais idosas, como consequência da maior expectativa de sobrevivência da população, e mudanças dos padrões alimentares e do estilo de vida (11).

3.1.3 Panorama brasileiro

Estima-se que no Brasil existam 5 milhões de diabéticos, dos quais metade desconhece o diagnóstico (11). De acordo com os dados obtidos pelo Estudo Brasileiro de Prevalência do Diabete, realizado em 1990 em 9 capitais brasileiras, evidenciou-se que o DM apresenta uma prevalência de 7,6% na população entre 30 e 69 anos (11). Apesar de ocorrerem índices mais elevados em São Paulo (9,7%) e Porto Alegre (8,9%), o DM é uma doença freqüente em praticamente todas as regiões do país, independentemente das diferenças de latitude, etnias, clima, hábitos alimentares e nível sócio-econômico (11). Homens e mulheres mostraram-se igualmente atingidos pela doença que, conforme o esperado, apresentou-se gradualmente mais prevalente nos grupos populacionais com idade mais elevada, chegando a apresentar, no grupo mais idoso (60 a 69 anos), uma prevalência de 17,4% (11).

3.1.4 Tratamento

O tratamento contemporâneo do DM baseia-se em medidas não-farmacológicas (orientação nutricional pelo médico, promoção de atividade física e educação básica a respeito da doença) e em medidas farmacológicas (insulina e antidiabéticos orais) (12).

O tratamento do DM 1 é feito com insulina administrada por meio de injeções diárias múltiplas ou através de infusão subcutânea com uma bomba (12).

No DM 2 o tratamento farmacológico inclui os secretagogos da insulina (ex. sulfoniluréias e repaglinida), os sensibilizadores da insulina - como as biguanidas e as tiazolidinedionas (que aumentam a captação da glicose e reduzem a sua produção hepática), os inibidores da α -glicosidase (que retardam a absorção de carboidratos) e, quando necessário, a insulina ou os seus análogos (12).

3.1.5 Complicações crônicas

As complicações clínicas do DM podem afetar tanto as grandes quanto as médias artérias, levando à doença arterial coronariana e à doença arterial periférica, ou as pequenas artérias, causando a microangiopatia diabética - retinopatia, nefropatia e neuropatia (2,3).

3.2 Retinopatia diabética

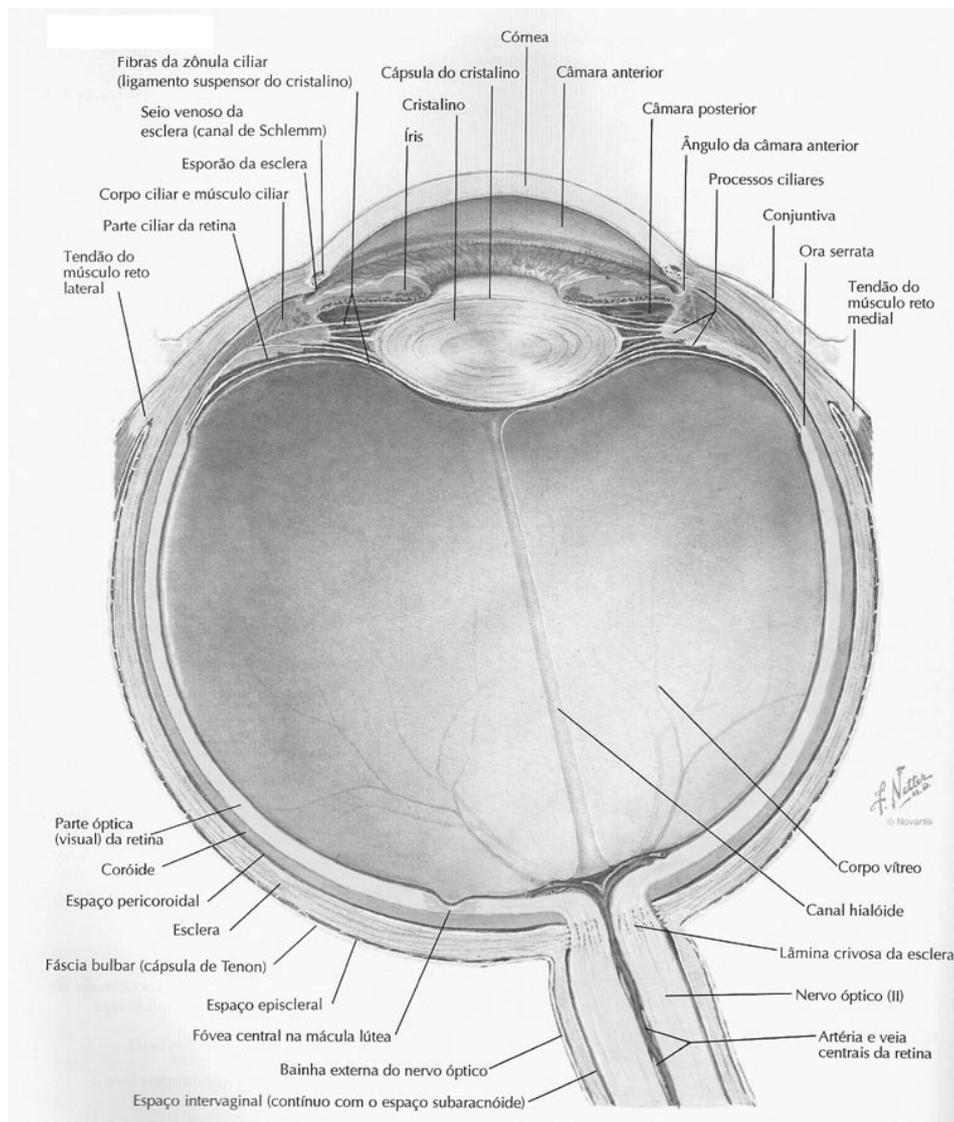


Figura 01: O olho (Netter Atlas de Anatomia Humana - quarta edição – Editora Elsevier - Rio de Janeiro, 2008)

A retina forma a porção mais interna do olho e consiste em duas camadas:

a) A camada pigmentada externa: formada por células retinianas pigmentadas que absorvem a luz para reduzir a sua dispersão, fagocitam fotopigmentos dos cones e reciclam a rodopsina (13).

b) A camada neural interna: que contém os fotorreceptores (bastonetes e cones), assim como outros tipos de células neuronais responsáveis pelo processamento e pela condução dos sinais luminosos (13).

As células de Müller e, numa menor extensão, os astrócitos são os principais componentes gliais da retina (13).

No pólo posterior do olho e na região temporal do disco óptico localiza-se uma área da retina conhecida como mácula (13). No centro da mácula, a fóvea apresenta a maior densidade de fotorreceptores do tipo cone e é responsável pela acuidade visual (13).

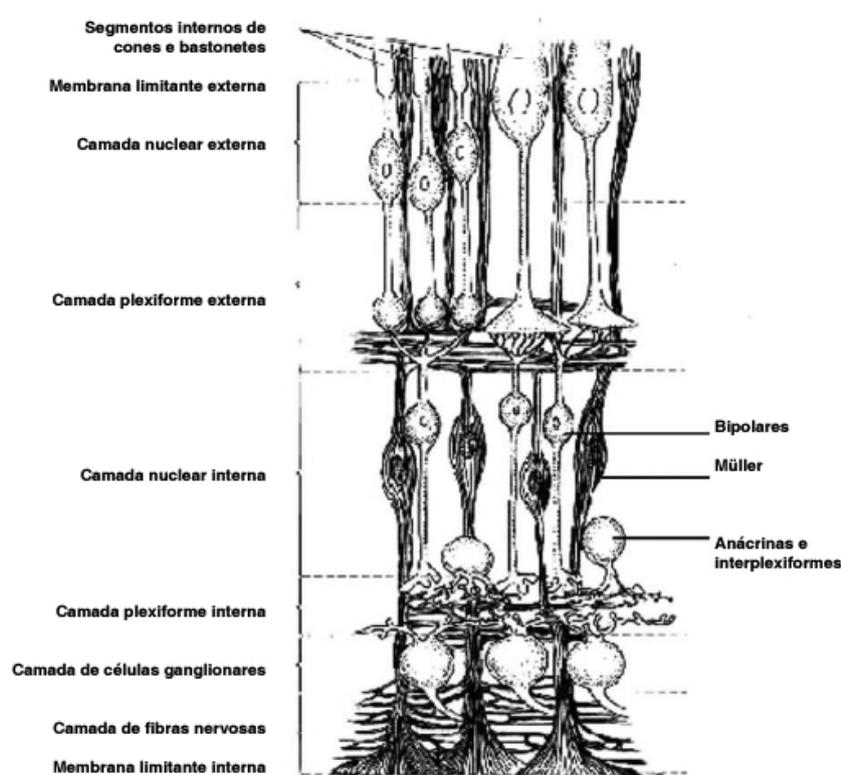


Figura 02. Camadas da retina (Guimarães, Dra. Márcia Reis. Curso de Histologia da Retina. Hospital de Olhos de Minas Gerais - Belo Horizonte, MG. 2003)

Ramos da artéria e veia centrais da retina dão origem a uma rede de capilares que irriga a porção interna da retina enquanto que a porção externa é suprida pela coróide através do Epitélio Pigmentado Retiniano (EPR) (13). As células endoteliais da vasculatura retiniana, juntamente com as células do EPR, constituem uma barreira que restringe os movimentos de moléculas hidrossolúveis no tecido retiniano, a barreira hemato-retiniana (13).

No **United Kingdom Prospective Diabetes Study** (UKPDS) 37% dos pacientes com DM 2 recentemente diagnosticado apresentavam retinopatia na época da inclusão no estudo (15).

No **Oulu Eye Study** foi encontrada uma prevalência de 21% de RD em indivíduos diabéticos com 70 anos de idade ou mais (3).

A cegueira e o comprometimento visual relacionados com o DM impõem uma carga significativa à sociedade (5). O custo orçamentário federal da cegueira foi estimado em US\$ 4,1 bilhões nos Estados Unidos da América (EUA) em 1990, e 97% deste custo deveu-se às pessoas em idade economicamente ativa (5). Os cuidados com a saúde e os encargos econômicos da RD são ainda responsáveis pelo resultante declínio na qualidade de vida; assim, o verdadeiro impacto na sociedade não pode ser estimado somente sobre uma base monetária (5).

3.2.2 Evolução da RD

Estudos em pacientes diabéticos demonstraram alterações precoces na função visual, incluindo-se o prejuízo da visão colorida e da sensibilidade ao contraste, e reduções dos potenciais oscilatórios do eletrorretinograma (ERG) (16). Essas alterações frequentemente precedem o estabelecimento de lesões microvasculares e predizem a piora da RD de uma melhor maneira do que as características clínicas, sugerindo que a neurodegeneração, assim como a disfunção vascular, seja uma característica importante da RD (16).

Os estágios iniciais da RD são caracterizados por alterações histopatológicas que incluem a perda de pericitos, o espessamento da membrana basal, alterações hemodinâmicas (alterações no fluxo sanguíneo retiniano e a presença de áreas de não-perfusão capilar), anormalidades vasculares (microaneurismas, anormalidades microvasculares intra-retinianas e sangramento venoso) e reduzida integridade vascular (17,18). Tais alterações caracterizam a RD não-proliferativa (RDNP) (17,18).

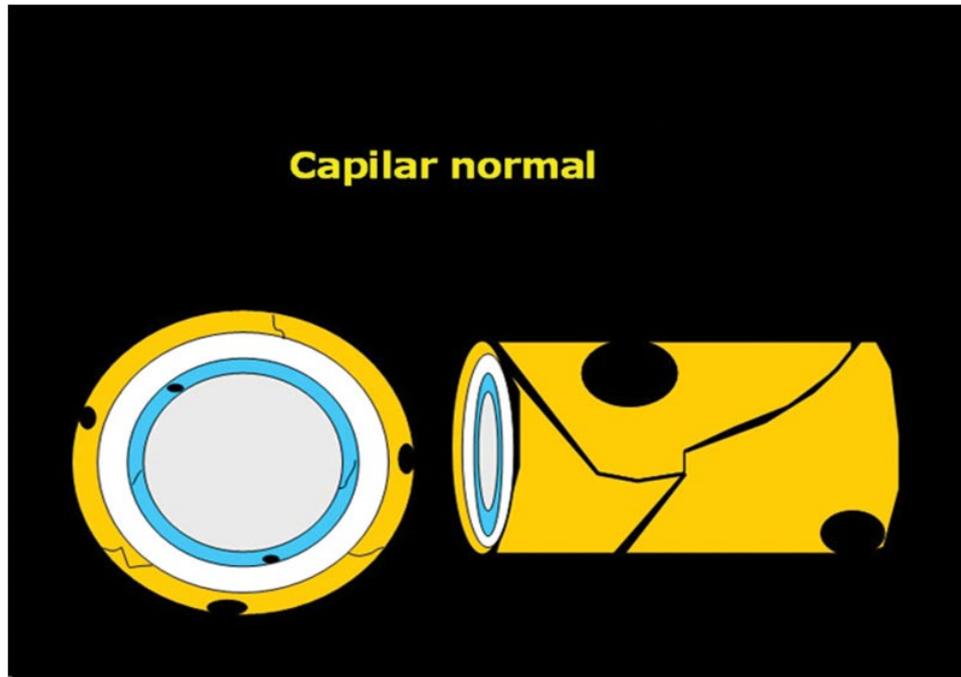


Figura 04. Capilar normal (Instituto da Visão, UNIFESP)

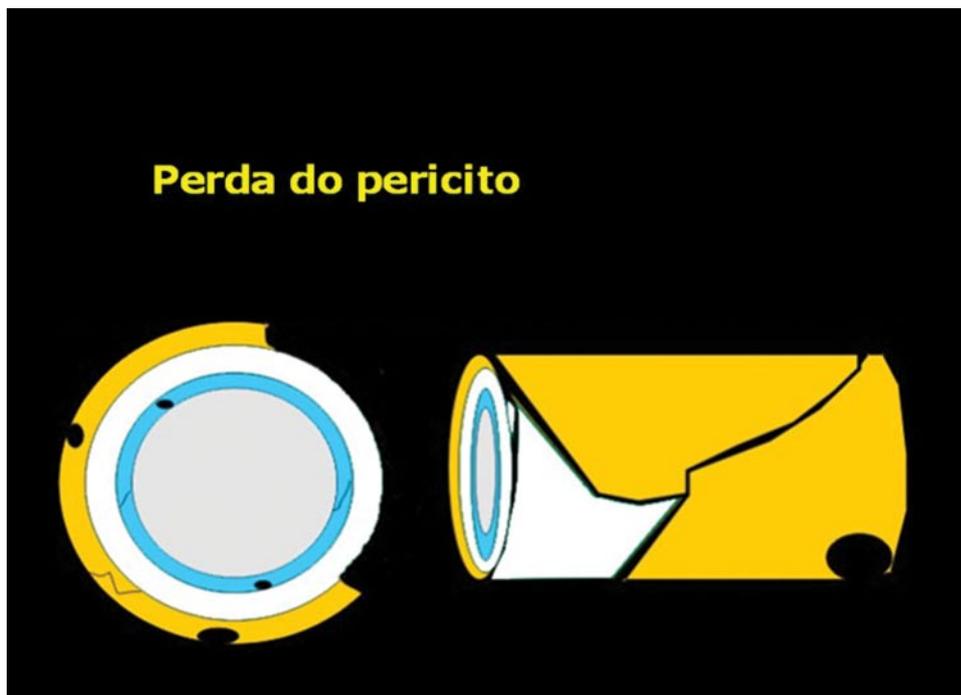


Figura 05. Perda do pericito (Instituto da Visão, UNIFESP)



Figura 06. Espessamento da membrana basal (Instituto da Visão, UNIFESP)

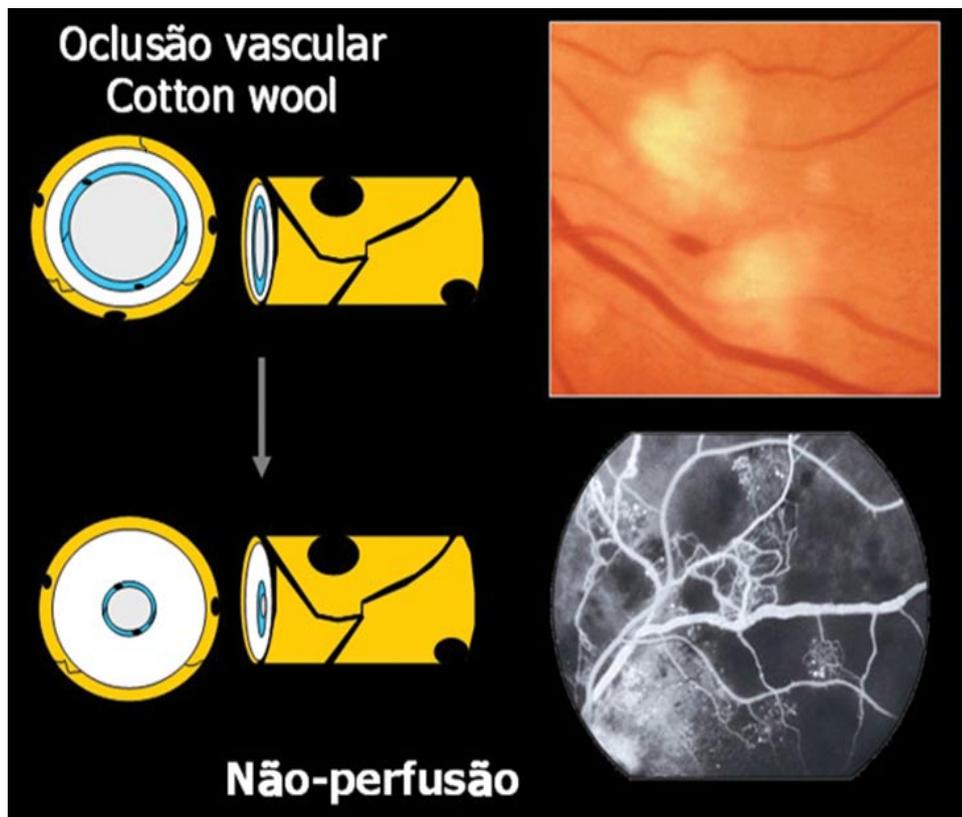


Figura 07. Oclusão vascular (Instituto da Visão, UNIFESP)

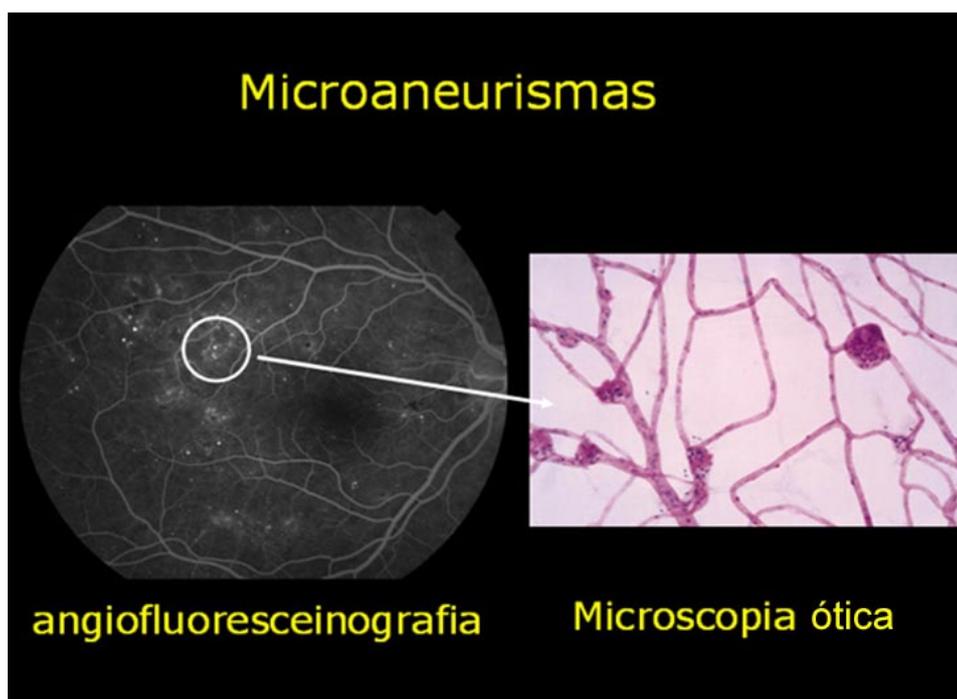


Figura 08. Microaneurismas (Instituto da Visão, UNIFESP)

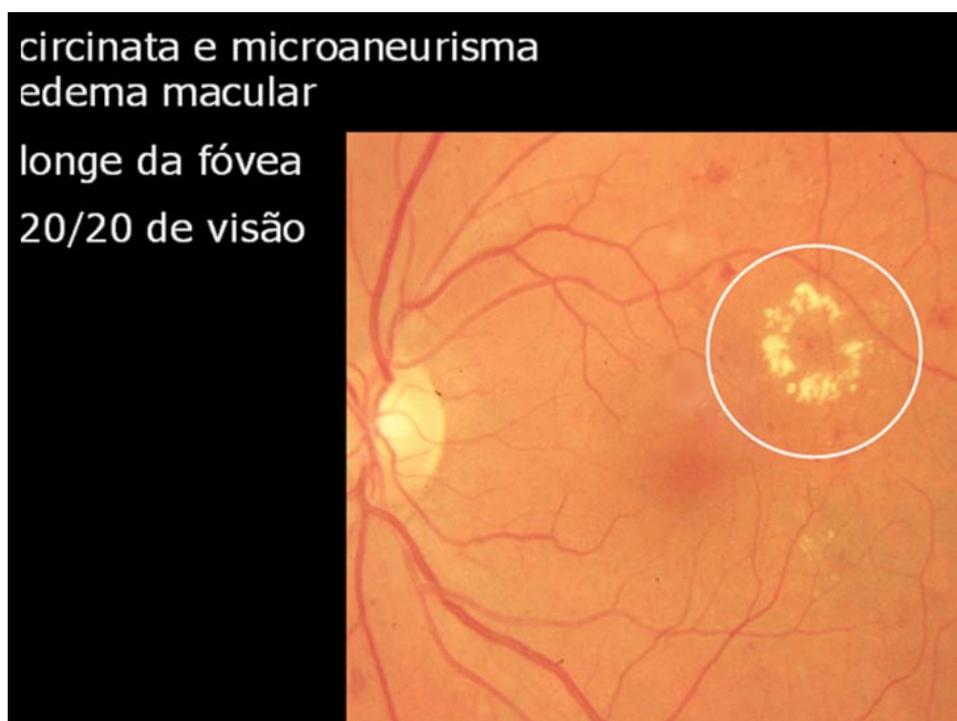


Figura 09. Microaneurismas (Instituto da Visão, UNIFESP)

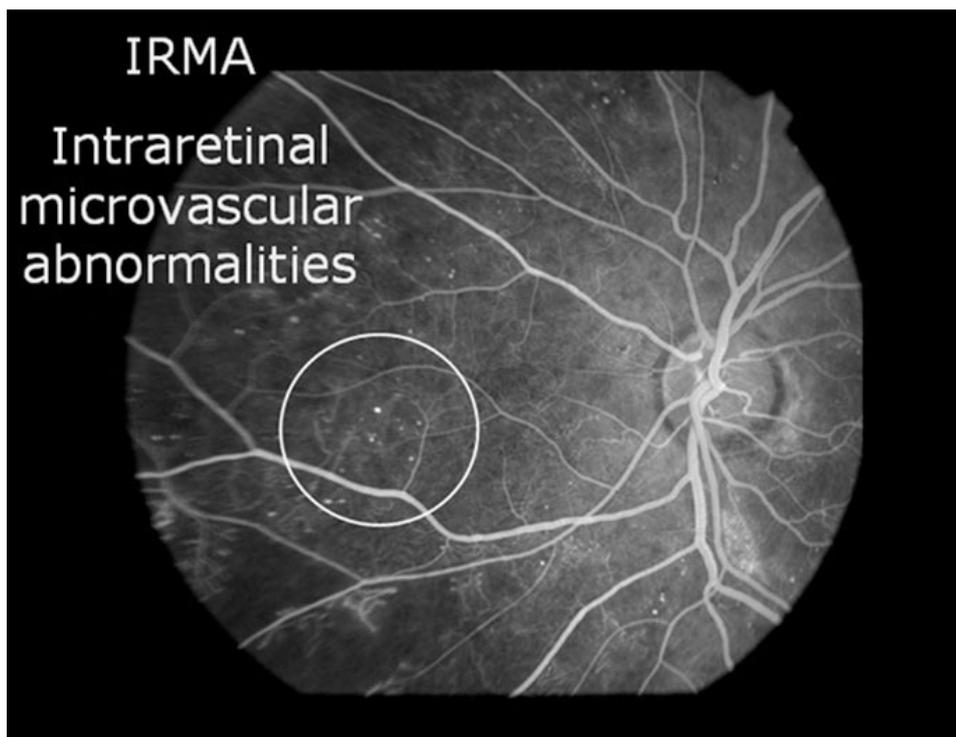


Figura 10. Anormalidades microvasculares intraretinianas (Instituto da Visão, UNIFESP)

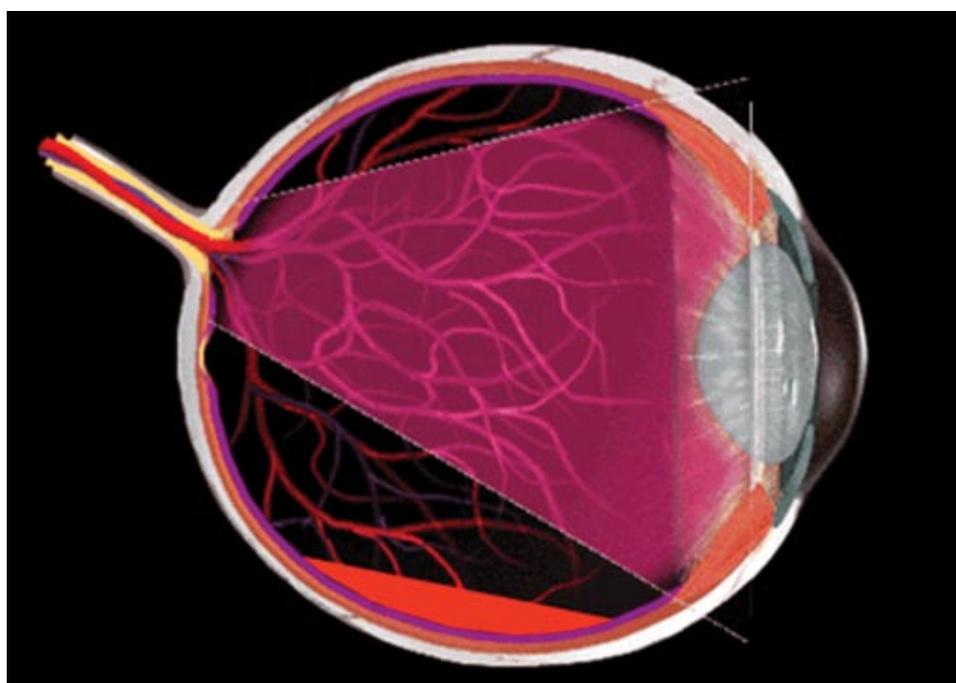


Figura 11. Hemorragia retiniana (Instituto da Visão, UNIFESP)

Os estágios tardios da RD são caracterizados por complicações que incluem uma alteração visual em virtude, primariamente, do edema macular e da retinopatia diabética proliferativa (RDP) (17,18). Na RDP, os novos vasos comumente emergem da retina e do disco óptico, mas muitos também podem ser encontrados na íris e na rede trabecular (17,18). Estes novos vasos são frágeis e suscetíveis de ruptura, resultando numa hemorragia vítrea e, subseqüentemente, no descolamento da retina (17,18). Se os vasos proliferam sobre a íris ou sobre a rede trabecular, a saída normal do fluido aquoso pode ser prejudicada levando ao glaucoma neovascular e à lesão permanente do nervo óptico (17,18).

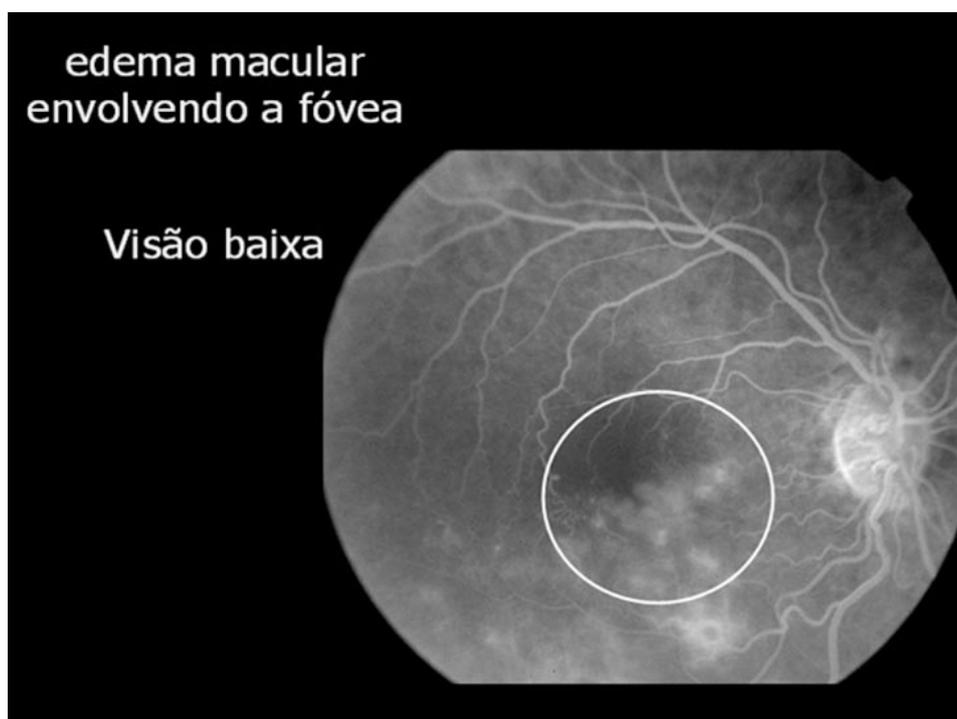


Figura 12. Edema macular (Instituto da Visão, UNIFESP)

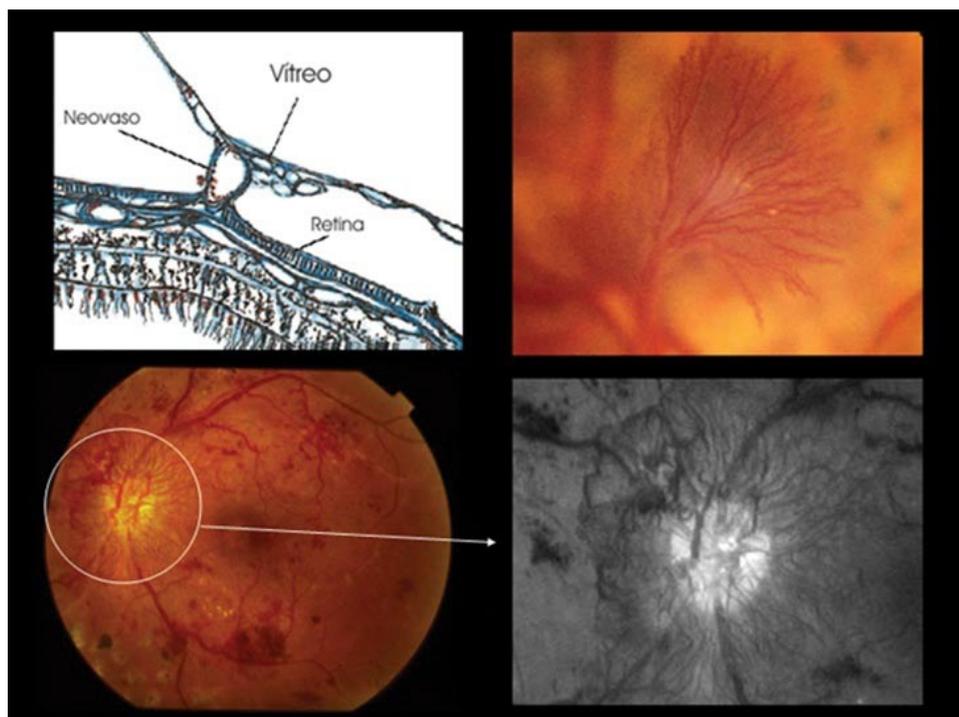


Figura 13. Neovascularização (Instituto da Visão, UNIFESP)

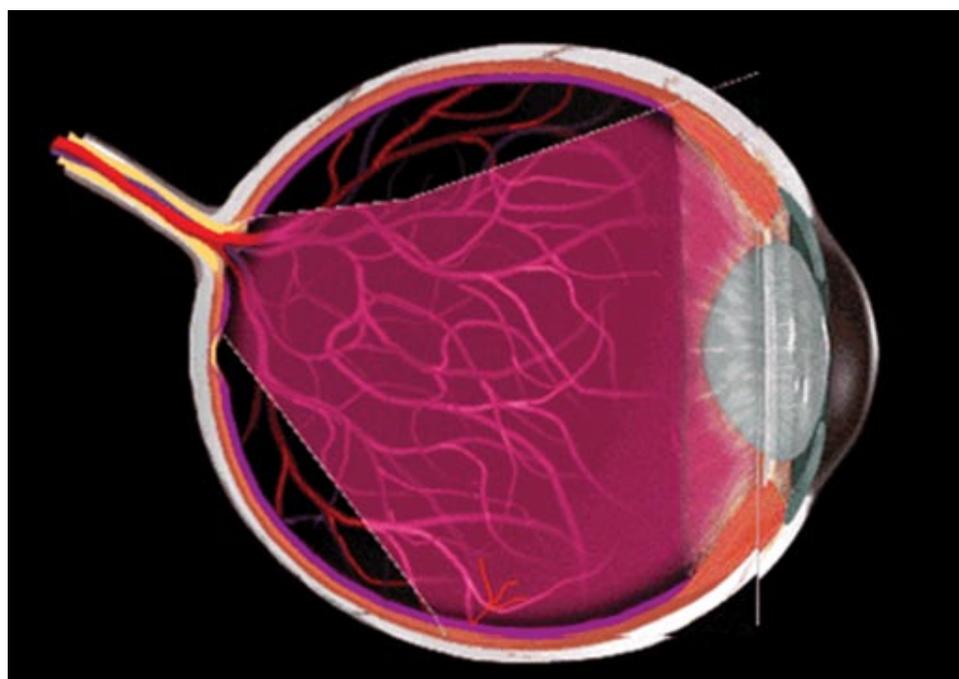


Figura 14. Neovascularização (Instituto da Visão, UNIFESP)

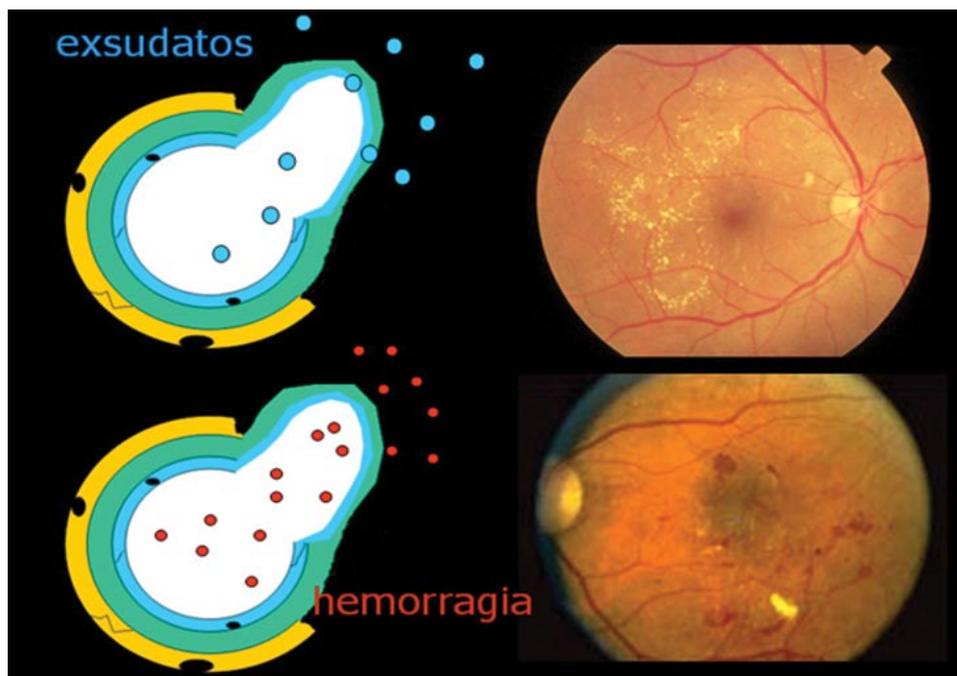


Figura 15. Hemorragias e exsudatos (Instituto da Visão, UNIFESP)

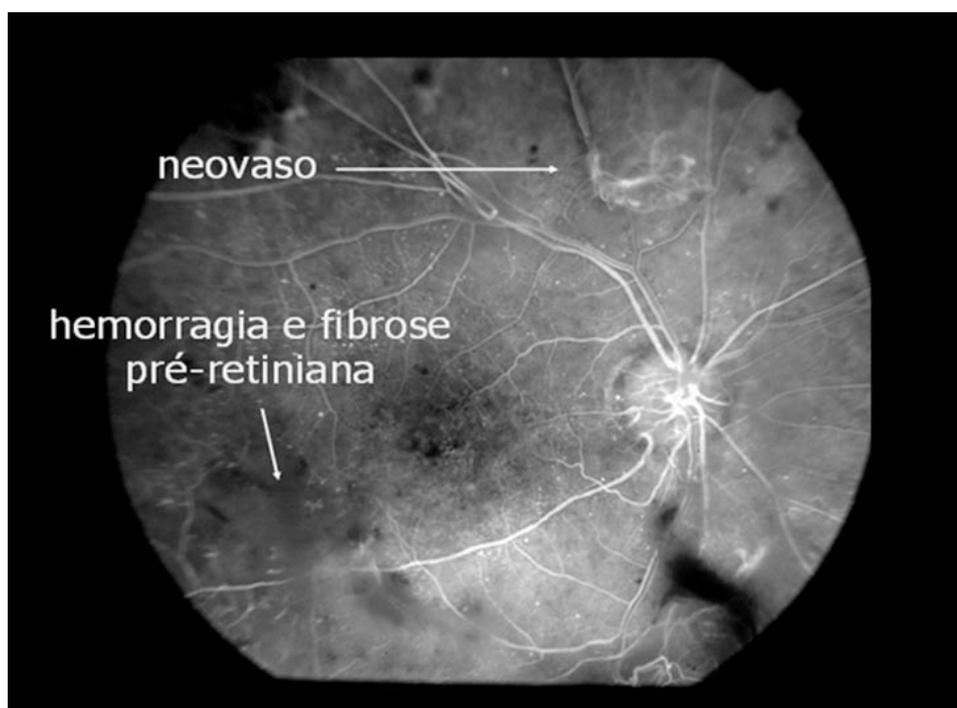


Figura 16. Neovaso / Hemorragia e fibrose pré-retiniana (Instituto da Visão, UNIFESP)

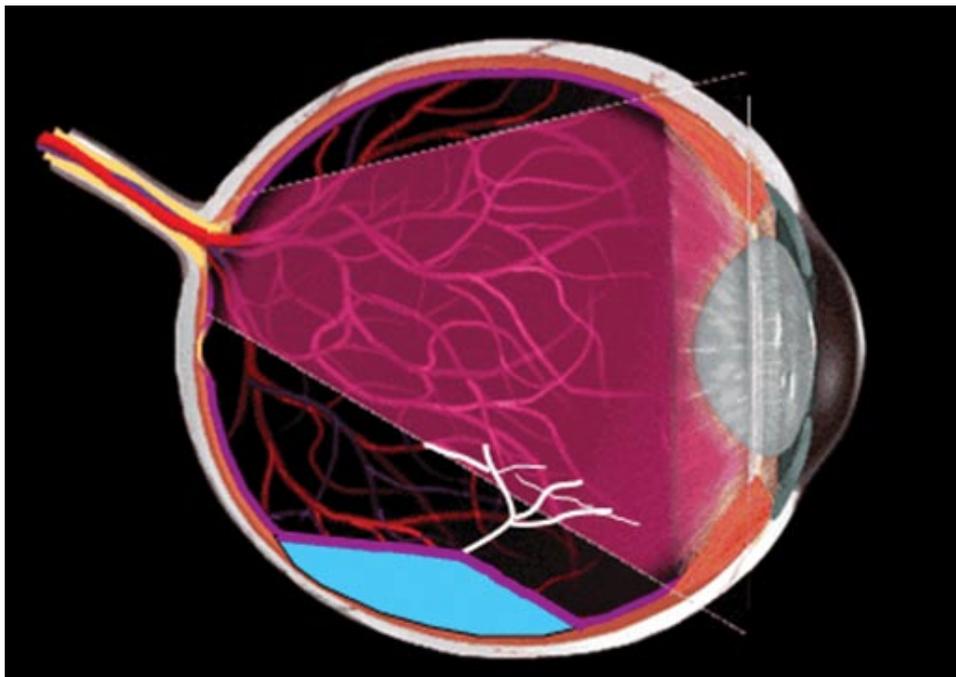


Figura 17. Deslocamento tracional da retina (Instituto da Visão, UNIFESP)

3.2.3 Fatores de risco

Os maiores fatores de risco para a RD incluem: duração do DM, controle glicêmico alterado, uso de insulina exógena e hipertensão arterial (19).

3.2.4 Rastreamento

Demonstrou-se que o rastreamento da RD é uma intervenção com boa relação custo-efetividade e que pode reduzir em um terço a incidência de perda parcial da visão em adultos com DM 2 (3).

O exame oftalmológico completo, incluindo a oftalmoscopia (direta e indireta) e a biomicroscopia da retina sob midríase medicamentosa, é fundamental para a detecção e o estadiamento da RD (7). A documentação fotográfica (retinografia) também é importante para a avaliação da progressão da doença e dos resultados do tratamento (7).

No **Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy** observou-se algum estágio de RD em 13% dos pacientes usuários de insulina em que o diagnóstico de DM foi feito antes de 30 anos (tipo 1), nos primeiros 5 anos de doença (20,21). Foi identificada RD em 40% dos pacientes com mais de 30 anos, usuários de insulina, e em 24% dos não-usuários, nos primeiros 5 anos de doença (22). Nos pacientes com DM 1, a prevalência nos primeiros 5 anos da doença foi menor (13%),

aumentando após 10-15 anos (90%) (21,23). Desta forma, de acordo com o estudo, preconiza-se que:

1. Pacientes com DM 1 devam ser submetidos a um exame oftalmológico completo dentro de 3 a 5 anos após o estabelecimento do DM (6);
2. Pacientes com DM 2 devam ser submetidos a um exame oftalmológico completo quando do diagnóstico do DM (6);
3. Exames subseqüentes, tanto de pacientes com DM 1 quanto daqueles com DM 2, devam ser repetidos anualmente (6);
4. Os exames sejam realizados mais precocemente se a RD apresentar progressão (6).

3.2.5 Classificação

A classificação corrente da RD permanece essencialmente aquela proposta durante o encontro de *Airlie House* em 1966 e posteriormente modificado no **Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)**, um ensaio clínico que estabeleceu os estágios e os procedimentos para a fotocoagulação a laser (24).

Diagnóstico e classificação da retinopatia diabética

| Grau de retinopatia | Achados observados à fundoscopia |
|-------------------------------|--|
| Sem retinopatia | Ausência de anormalidades |
| RD não-proliferativa leve | Apenas microaneurismas |
| RD não-proliferativa moderada | Mais do que apenas microaneurismas, mas menos do que RD não-proliferativa grave |
| RD não-proliferativa grave | Ausência de RD proliferativa e qualquer das alterações a seguir: mais de 20 hemorragias intra-retinianas em cada um dos 4 quadrantes; dilatação venosa em 2 ou mais quadrantes; anormalidades microvasculares intra-retinianas em 1 ou mais quadrantes |
| RD proliferativa | Neovascularização, hemorragia vítrea pré-retiniana |

RD = Retinopatia Diabética

Referência:

1. Esteves J, Laranjeira AF, Roggia MF, Dalpizol M, Scocco C, Kramer CK, *et al.* Fatores de risco para retinopatia diabética. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo*, 2008;**52(3)**:432-441.

Desta forma, a RD é classificada em retinopatia diabética não-proliferativa (RDNP) e proliferativa (RDP) (25). A RDNP é novamente dividida em RDNP com maculopatia e em retinopatia pré-proliferativa (25). A RDNP indica uma isquemia progressiva na retina e um risco aumentado de desenvolvimento de RDP e cegueira (25). As características clínicas proeminentes da RDNP incluem microaneurismas, hemorragias em nódoa ou em pontilhado, anormalidades vasculares, exsudatos duros amarelos, anormalidades venosas intra-retinianas e exsudatos algodinosos (25).

A maculopatia é definida pela presença de exsudatos duros, edema retiniano e / ou isquemia em áreas próximas à mácula, o centro da visão detalhada e colorida (24). Conforme aumenta a gravidade da maculopatia, os pacientes progridem da ausência de percepção de problemas visuais para uma grave perda da visão (24).

A retinopatia diabética pré-proliferativa constitui o estágio anterior ao estabelecimento da neovascularização e é caracterizada por hemorragias retinianas extensas, veias tortuosas e dilatadas com formato de contas, numerosos exsudatos algodinosos ou infartos retinianos, anormalidades vasculares intra-retinianas (AVIR) e uma marcante isquemia retiniana (7,25). A RDP é caracterizada pela presença de neovasos retinianos (neovascularização), tecido fibroso, hemorragia pré-retiniana, hemorragia vítrea, tração vítreo-retiniana e descolamento retiniano localizado (25).

3.3 Tratamento não-invasivo

3.3.1 Controle glicêmico

O **Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)** demonstrou que o tratamento intensivo do DM reduziu o risco de progressão da RD em 54% (6).

Um estudo da Universidade Kumamoto, no Japão, mostrou que o tratamento intensivo do DM 1 e 2 reduziu a progressão da RD para a forma não-proliferativa grave (RDNP) ou para a forma proliferativa (RDP) em 40%, assim como a necessidade de fotocoagulação com laser (12).

O **UKPDS** demonstrou que o controle rigoroso da glicemia reduziu em 25% o risco de desenvolvimento de complicações diabéticas (6,26). A análise epidemiológica dos dados do UKPDS mostrou uma relação contínua entre os riscos de complicações microvasculares e a glicemia, de forma que para cada ponto porcentual

da hemoglobina glicosilada (HbA1c) que é reduzido (por exemplo, de 8 para 7%), houve uma redução de 35% no risco de complicações microvasculares (6).

As recomendações correntes da Associação Americana do Diabete (ADA) apontam, como meta ideal, uma glicose plasmática de jejum < 110mg/dl e uma HbA1c < 7% (12,18). A ADA considera como um controle glicêmico inaceitável uma glicose plasmática de jejum > 140mg/dl e uma HbA1c > 8% (12).

3.3.2 Controle pressórico

No UKPDS os pacientes randomizados para o controle pressórico rigoroso apresentaram uma redução da progressão da RD e do risco de deterioração da acuidade visual de 34% e 47%, respectivamente (6,27). Além disso, houve reduções das mortes relacionadas com o DM, bem como de acidentes vasculares encefálicos (6).

O **Controlled Trial of Lisinopril in Insulin Dependent Diabetes** (EURODIAB) mostrou que o tratamento com Lisinopril reduziu a progressão da RD em 73% e a progressão para RDP em 82% (12). Neste estudo, os pacientes com melhor controle glicêmico apresentaram um maior benefício com a utilização de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA), sugerindo que esta combinação pode ser a melhor abordagem terapêutica (12).

Assim, os valores pressóricos recomendados para pacientes diabéticos são uma pressão sistólica < 130mmHg e uma pressão diastólica < 85mmHg (12).

3.3.3 Controle lipídico

A dislipidemia diabética, particularmente nos pacientes com mal controle glicêmico, caracteriza-se por níveis aumentados de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicérides e por níveis reduzidos de lipoproteína de alta densidade (HDL) (12).

Dados do WESDR e do ETDRS mostraram que níveis séricos de colesterol elevados estão associados a um aumento significativo da presença de exudatos lipídicos retinianos (12,27).

Os estudos sugerem que o tratamento da hiperlipidemia pode ajudar a estabilizar o estado retiniano e, possivelmente, a acuidade visual (12,28).

Desta forma, os valores recomendados de LDL-colesterol são < 100 mg/dl (12).

3.4 Tratamento invasivo

Frente a uma RD grave, as opções de tratamento são limitadas e baseiam-se no uso da fotocoagulação com laser e da vitrectomia (28,29).

A fotocoagulação consiste na coagulação da retina com um raio laser de comprimento de onda específico (7). Este procedimento apresenta três indicações (7):

1. Hemorragia vítrea ou pré-retiniana (7);
2. Neovascularização atingindo um terço ou mais do disco óptico (7) e;
3. Edema macular (7).

Segundo o **National Eye Institute** (NEI), se a fotocoagulação não for realizada em indivíduos que apresentam essas alterações, a probabilidade de que eles venham a perder seriamente a visão num período de dois anos é de 25 a 50% (5,7,16,28).

Os efeitos colaterais decorrentes da fotocoagulação consistem em escotomas centrais, dificuldade para leitura, aceleração da catarata e, principalmente, na perda da visão periférica ou diminuição do campo visual (5,7,16).

A vitrectomia é um procedimento cirúrgico realizado em casos mais graves de RD, especialmente naqueles com descolamento retiniano tracional ou hemorragia vítrea recorrente, sendo indicada para se prevenir cegueira ou uma perda visual grave (18,30). A vitrectomia é claramente benéfica no tratamento de RDP ativa avançada (5,18). A vitrectomia precoce aumentou a porcentagem de olhos com uma acuidade visual de 10/20 para 44%, comparada com 28% num grupo tratado convencionalmente (5,18).

A vitrectomia pode acelerar a formação de catarata e apresenta o risco de descolamento de retina e endoftalmite, felizmente raros (5).

Contudo, apesar dessas valiosas opções de tratamento, a perda visual ainda continua a ocorrer numa taxa alarmante (28) e, infelizmente, nenhum dos tratamentos é efetivo para se reverter a perda da acuidade visual (5). Portanto, há uma grande necessidade do desenvolvimento de fármacos para a prevenção e o tratamento da RD (16).

3.5 Fisiopatologia

Os elevados níveis séricos de glicose induzem uma série de anormalidades bioquímicas e celulares na retina que podem provocar as alterações

vasculares encontradas na RD (4,7,31). Os mecanismos induzidos pela hiperglicemia que podem acarretar a disfunção das células endoteliais incluem o aumento do fluxo da via dos polióis, a formação acelerada e não-enzimática dos produtos finais da glicação avançada (**Advanced Glycation End Products** - AGEs), o aumento da formação de diacilglicerol (com a subsequente ativação da proteína quinase C - PKC), o aumento do fluxo através da via da hexosamina e o estado de oxirredução celular alterado (4,7,31,32). Todos estes mecanismos podem contribuir para as conhecidas características fisiológicas das complicações diabéticas através do aumento da regulação das citocinas e dos fatores de crescimento, e da formação de radicais livres derivados do oxigênio e do nitrogênio (33).

3.5.1 Via dos polióis

A via dos polióis é constituída por duas etapas, a redução da glicose a sorbitol pela aldose redutase e NADPH (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzida), seguida pela oxidação do sorbitol a frutose pela sorbitol desidrogenase e NAD⁺ (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo oxidada) (24). Sob condições normais, a glicose é canalizada preferencialmente para a via glicolítica catalisada pela hexoquinase (24). Nos tecidos que não requerem insulina para a captação celular da glicose (rim, retina, sistema nervoso e células endoteliais), a via glicolítica está sobrecarregada na hiperglicemia prolongada (24). Isto favorece a formação de sorbitol e frutose através da ativação da aldose redutase e da sorbitol desidrogenase (24). Como resultado, a taxa NADH (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo reduzida) / NAD⁺ aumenta (24). O desbalanço cria um ambiente pseudo-hipóxico de fundamental importância para certas alterações celulares (24). O aumento da atividade da via dos polióis está associado a outras alterações, tais como o aumento do estresse oxidativo e da síntese de prostaglandinas e uma redução da produção de óxido nítrico (24). Estas alterações metabólicas culminam na lesão tecidual e nas alterações estruturais da vasculatura retiniana (24).

3.5.2 Mucopolissarídeos

No diabetes dois fatores podem contribuir para as anormalidades estruturais dos mucopolissacarídeos: 1. como a entrada da glicose nas vias precursoras de mucopolissacarídeos não depende de insulina, quantidades aumentadas de glicose podem ser dirigidas para estas vias no animal hiperglicêmico, 2. como a montagem das cadeias de açúcares ocorre numa etapa pós-ribossômica da síntese de mucopolissacarídeo, as alterações do meio interno que acompanham o estado diabético podem causar modificações estruturais na porção carboidrato da molécula (31).

De fato são vistas anormalidades na estrutura dos mucopolissacarídeos da aorta, do córtex renal, da medula renal e da pele de animais ou humanos diabéticos (31).

O olho, um outro alvo da doença microvascular diabética, também desenvolve anormalidades estruturais dos mucopolissacarídeos da retina; o humor vítreo de pacientes diabéticos acumula precursores dos mucopolissacarídeos em quantidades anormais (31). A reversibilidade das anormalidades estruturais dos mucopolissacarídeos no olho e na pele com o tratamento com insulina sugere que o tratamento otimizado pode desempenhar um importante papel na prevenção ou reversão dessas anormalidades bioquímicas ao limitar a quantidade de substrato que pode entrar nessa via (31).

3.6 Formação dos produtos finais de glicação avançada (AGEs)

A formação dos AGEs resulta de uma reação, conhecida como glicação, entre um grupo amina livre de uma proteína e um grupo carbonil de um açúcar redutor (34). A produção de AGEs aumenta com a idade, mas está acelerada no DM em proporção direta à glicemia (10,35). Em modelos animais de diabetes, tem-se encontrado uma formação excessiva de AGEs em vasos sanguíneos e na retina, onde estes compostos podem produzir a lesão celular vista no diabetes (10,35). A auto-oxidação da glicose e os AGEs produzem quantidades excessivas de radicais livres que podem reagir com a matriz extra-celular e com uma variedade de proteínas celulares, com a conseqüente alteração da sua função (10,35). Um resultado importante é a alteração da matriz subendotelial dos capilares que, por sua vez, acarreta alterações estruturais nos vasos – um evento importante na fisiopatologia da RD (10,36). Além disso, quando os AGEs se ligam aos receptores endoteliais (RAGE), induzem uma série de eventos, incluindo a expressão de genes para uma variedade de moléculas como, por exemplo, o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), o Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas (FCDP), os fatores de transcrição (NF κ B, SP1 e STAT1), a ativação de proteases - como as metaloproteinases matriciais (MMP), as caspases e as calpinas - e a síntese de moléculas de adesão, como a Molécula de Adesão Celular Endotelial Plaquetária (PECAM) e a Molécula de Adesão Intercelular (ICAM) (10,36).

As moléculas de adesão, por sua vez, estimulam a adesão célula-a-célula e a interação célula-matriz extracelular (ECM) (17). Este processo recruta macrófagos para a parede do vaso, estabelecendo o passo para a aterogênese ao elaborar citocinas e fatores de crescimento que ativam cascatas envolvidas na angiogênese, trombogênese e aterogênese (17).

3.6.1 Pericitos

O acúmulo de sorbitol nos pericitos (células de sustentação) e nas células endoteliais leva à perda de pericitos e à diminuição do número de células endoteliais que constituem as modificações histológicas mais precoces da RD (17,37). Os pericitos exercem uma influência inibidora sobre o crescimento das células endoteliais através do **Transforming Growth Factor** beta (TGF-beta) ativado (17,37). Assim, a perda de pericitos leva ao crescimento de células endoteliais e, daí, aos microaneurismas (17,37). A estimulação exata da neovascularização não é conhecida, mas a isquemia parece ser um fator importante (37).

Extratos de retina humana ou animal estimulam a proliferação de células endoteliais de homólogos do **Fibroblast Growth Factor** ácido (aFGF) e básico (bFGF) (37). Esses fatores ligados à heparina estimulam o crescimento das células endoteliais podendo, posteriormente, acarretar a ruptura da célula (37). Eles estão ligados a glicosaminoglicanas e ao sulfato de heparina da matriz celular, e são liberados pelas heparinases dos tecidos lesados (37).

Estudos demonstram que o pericito controla a integridade do endotélio, a proliferação celular endotelial e a manutenção da barreira hemorretiliana (17,25). Além disso, o pericito ainda preserva a capacidade de produção da prostaciclina e protege as células endoteliais contra a lesão induzida por radicais livres (17,25).

Foi relatado que humanos normais apresentam uma relação 1:1 entre as células endoteliais e os pericitos, enquanto nos diabéticos esta relação é de 4:1 (25).

Acredita-se que o pericito apresente um papel central no desenvolvimento da microangiopatia diabética pois a RDP se desenvolve invariavelmente em ratos quando a densidade dos pericitos se situa abaixo de 50% da normal (25). Desta forma, foi feita uma hipótese segundo a qual a perda de pericitos provê um ambiente “permissivo” para a proliferação subsequente das células endoteliais, resultando na neovascularização vista na RD (25). Isto sugere que a prevenção dos estágios iniciais da retinopatia, tais como a perda de pericitos, pode prevenir os estágios tardios subsequentes da neovascularização (25).

Yamaguchi e colaboradores relataram que os AGEs apresentam uma toxicidade específica sobre os pericitos através de interações com o seu receptor (RAGEs) (17,25). Isto leva à redução dos pericitos, a qual, ao facilitar a replicação das células endoteliais, pode promover a angiogênese (17,25).

3.6.2 Papel das citocinas

A formação da membrana proliferativa pré-retiniana é um passo muito importante na patogênese da RDP (25). Além do VEGF, demonstrou-se que o Fator Transformador do Crescimento-2 (TGF-2) desempenha um papel-chave na formação desta membrana, causada pelas anormalidades metabólicas retinianas (25). A contração das membranas proliferativa e neovascular está intimamente associada à expressão de citocinas pelas células retinianas, particularmente pelas células de Müller (25). Citocinas inflamatórias - como a Interleucina-6 (IL-6), a Interleucina-8 (IL-8) e o Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) - também foram estudadas nas amostras de vítreo e de plasma de pacientes com RDP (25). Os níveis de IL-6 e IL-8 eram maiores no vítreo de pacientes com RDP e os de TNF- α estavam elevados no plasma de pacientes com RDP comparados aos dos pacientes com retinopatia não-inflamatória (25).

Estudos ultra-estruturais da barreira hemorretiniana após exposição à Interleucina-1 β (IL-1 β) ou ao Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) mostraram efeitos pró-inflamatórios em experimentos animais (25). Os fatores causadores da quebra desta barreira não são completamente conhecidos, embora as citocinas tenham sido implicadas no desenvolvimento da RD (25).

3.6.3 Via da diacilglicerol-proteína quinase C

No diabetes há um aumento da síntese de diacilglicerol (DAG) devido a alterações na glicólise (inibição da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase e intensificação da redução da dihidroxiacetona fosfato a α -glicerol-3-fosfato) (25,38). A maior formação de α -glicerol-fosfato serve como um precursor prontamente disponível de DAG que estimula a PKC (25,38).

A hiperglicemia também pode ativar a PKC através da ligação aos receptores AGE, da maior atividade da via dos polióis, da ativação do trifosfato de inositol ou do desbalanço NADH / NAD⁺ (25,38).

O aumento da síntese de DAG e a ativação prolongada da PKC podem resultar em alterações na permeabilidade vascular, no fluxo sanguíneo e na síntese da membrana basal, além de também poderem favorecer a liberação de fatores de crescimento (25,38,39).

Verificou-se que a adesão dos leucócitos às células endoteliais está aumentada no diabetes e que este processo parece ser mediado por moléculas de adesão (38). Alguns estudos sugeriram que a PKC também está envolvida na expressão de moléculas de adesão pelas células endoteliais, como a Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1) e a Molécula de Adesão Celular Vascular-1 (VCAM-1) (38).

Estas alterações foram descritas na retina e há evidências do seu envolvimento nas lesões celulares relacionadas com a retinopatia diabética (10,38).

3.6.4 Radicais livres

Um radical livre (RL) pode ser definido como uma espécie química que possui um elétron não-pareado (40). Também pode ser considerado um fragmento de uma molécula (41). Desta forma, os radicais livres podem ser formados de 3 formas:

1. Pela clivagem de uma ligação covalente de uma molécula normal, com cada um dos fragmentos retendo um dos elétrons pareados (41);
2. Pela perda de um elétron de uma molécula normal (41);
3. Pela adição de um elétron a uma molécula normal (41).

Os radicais livres mais relevantes nos sistemas biológicos são aqueles derivados do oxigênio (40,41,42).

3.6.5 Estresse oxidativo

Diz-se que uma célula sofre estresse oxidativo quando a formação de radicais livres ultrapassa a habilidade do sistema antioxidante celular (10). Isto pode acontecer quando muitos radicais livres são formados, quando as defesas antioxidantes endógenas estão diminuídas ou, mais comumente, quando ambos os eventos ocorrem (10). A produção excessiva de radicais livres pode lesar qualquer estrutura celular, incluindo-se a membrana (peroxidação lipídica), as proteínas (polimerização anômala) e o núcleo (lesão do ácido desoxirribonucléico - DNA) (10).

No diabetes, a formação de radicais livres, juntamente com a deficiência de antioxidantes, aumenta com o tempo e pode ter um papel importante no desenvolvimento da retinopatia (8,9).

A retina é conhecida por ser um importante alvo da doença diabética (1). Por causa do seu alto requerimento de oxigênio e devido ao seu conteúdo de lipídios insaturados, a retina pode ser um sítio eletivo para a produção de radicais livres e para a peroxidação lipídica (1).

Nas células endoteliais, a hiperglicemia intracelular induz um aumento da produção do radical superóxido ao nível mitocondrial (41). Pensa-se que este aumento da produção de superóxido seja o processo ativador de todas as outras vias envolvidas na patogênese das complicações diabéticas (41). Também ocorre um aumento da produção de óxido nítrico (ON) que é particularmente danoso uma vez que

ele reage com o oxigênio (O_2^-) produzindo peroxinitrito ($ONOO^-$), um potente oxidante (41). O peroxinitrito é citotóxico porque inibe o transporte mitocondrial de elétrons, oxida grupos sulfidríla nas proteínas, inicia a peroxidação lipídica sem a necessidade de metais de transição e nitrata aminoácidos (tais como a tirosina), o que afeta muitas vias de transdução de sinal (41). A hiperglicemia crônica promove a glicação não-enzimática de proteínas e as proteínas glicadas podem aumentar a geração de oxidantes ao ativar os fagócitos ou por liberar diretamente O_2^- e peróxido de hidrogênio (41). Além disso, os AGEs estimulam a produção de oxidantes através de interações específicas com receptores presentes nas células vasculares (41).

3.6.6 Alterações da regulação do fluxo sanguíneo

Os principais vasoconstritores endoteliais são as endotelinas (10). Nas células endoteliais dos vasos retinianos, a principal endotelina é o subtipo ET-1, que é sintetizada e liberada através da ação de vários fatores (fatores de crescimento, citocinas, trombina e insulina, entre outros) e é negativamente controlada pela prostaciclina, ON e heparina, entre outras substâncias (10). A ET-1 interage com receptores de membrana específicos presentes nas fibras do músculo liso vascular (ETA e ETB) e isso deflagra um efeito vasoconstritor (10). Na retina de animais com diabetes, a síntese e a atividade de ET-1 e ET-3 estão aumentadas e os fatores que inibem estas ações estão reduzidos; as endotelinas são assim consideradas um dos fatores que contribuem para a redução do fluxo sanguíneo retiniano e para a proliferação dos capilares endoteliais (10).

Dentre os fatores vasodilatadores, aqueles que merecem maior atenção são a prostaciclina e o ON (10). A prostaciclina é formada a partir do ácido aracdônico através da participação da cicloxigenase, para formar endoperóxidos cíclicos, como ocorre nas plaquetas (10). A principal diferença entre a síntese de prostaciclina nas plaquetas e a no endotélio é que a primeira envolve a tromboxane sintetase, que produz tromboxane A₂ (TxA₂, um potente vasoconstritor e agregante plaquetário), enquanto a última envolve a prostaciclina sintetase (um potente vasodilatador e antiagregante plaquetário) (10). Devido à origem bioquímica compartilhada, mas efeitos opostos dos dois prostanóides, é aceito que um balanço apropriado entre o tromboxane plaquetário e a prostaciclina vascular seja fundamental para a interação fisiológica entre as plaquetas e a parede do vaso (10).

3.6.7 Origens da deficiência de óxido nítrico vascular no diabetes

No diabetes, a hiperglicemia pode ativar a isoforma β da PKC nas células endoteliais, o que reduz a entrada de cálcio nas células e, conseqüentemente, a síntese de óxido nítrico (ON) (43). Além disso, a PKC promove a geração de

superóxido nas células endoteliais e este se extingue numa reação que gera o radical tóxico peroxinitrito (43). Desta forma, a superativação da PKC mediada pela hiperglicemia tanto pode reduzir a síntese quanto acelerar a perda de ON (43).

A hiperglicemia também provê um aumento de substrato para a aldose redutase endotelial (43). Esta enzima gera sorbitol a partir da glicose numa reação que oxida NADPH – e, assim, reduz a disponibilidade do co-fator redutor para a ON sintase (39).

As proteínas tissulares glicadas (cujos níveis aumentam como conseqüência da hiperglicemia) podem gerar superóxido numa reação não-enzimática que requer a catálise de metais de transição; este fator também contribui para a deficiência de ON associada à hiperglicemia (43). Além disso, os AGEs também podem extinguir o ON diretamente (43).

3.6.8 Implicações patogênicas da deficiência de óxido nítrico

A deficiência vascular de ON pode ser crucial para a patogênese tanto das complicações micro quanto macrovasculares do diabetes não controlado (43). Isto pode ser prontamente apreciado à luz da importância fisiológica da atividade basal do ON em manter uma vasodilatação arteriolar apropriada, estabilizando as plaquetas e prevenindo a ativação excessiva e a adesão de leucócitos circulantes (43). A perda de tal atividade claramente pode promover isquemia ao induzir vasoconstrição arteriolar, oclusão microvascular por leucócitos aderentes ativados e trombose (43). Além disso, o ON aumenta a atividade da bomba de sódio-potássio (Na-K-ATPase) na parede arterial e em axônios do nervo periférico (43). A redução da atividade da NA-K-ATPase nas células endoteliais capilares retinianas expostas à hiperglicemia poderia, da mesma forma, ser atribuída à menor produção de ON (43).

No diabetes, o impacto vasoconstritor da deficiência de ON é exacerbado pelo estímulo da PKC sobre a produção de endotelina (43).

Também há evidências de que a síntese endotelial de PGI₁ (prostaciclina) tende a ser subnormal em diabéticos (43). Uma vez que a prostaciclina, assim como a prostaglandina E₁ (PGE₁), apresenta muitos efeitos fisiológicos que são complementares àqueles do ON – incluindo-se a vasodilatação – é provável que um prejuízo na sua produção amplifique o impacto patogênico da deficiência de ON (43).

No diabetes, a deficiência de ON e a ativação excessiva da PKC endotelial acarretam uma síntese aumentada de Fator Ativador Plaquetário (PAF) (43). O PAF endotelial, confinado à membrana endotelial luminal, estimula receptores nos leucócitos marginados que circulam ao longo das vênulas pós-capilares, induzindo a ativação destes leucócitos e levando-os a expressar β 2-integrinas, as quais possibilitam aos leucócitos aderir firmemente à superfície endotelial (43). Um dos

principais alvos endoteliais aos quais estas integrinas aderem – ICAM-1 – também é estimulada pela atividade da PKC (43).

Os leucócitos ativados também sintetizam o leucotrieno B4 (LTB₄), o que aumenta ainda mais a atividade da PKC ao estimular a fosfolipase C-b (43).

Os leucócitos são maiores e mais viscosos do que os eritrócitos e o processo de ativação aumenta a sua polimerização pela sua ação sobre a actina (43). Assim, sob condições nas quais o gradiente de pressão através dos capilares está reduzido – como nos leitos vasculares supridos por artérias estenóticas ou arteríolas constrictas – os leucócitos ativados se tornam encunhados nos capilares, impedindo o fluxo vascular (43).

Em diabéticos, a viscosidade sangüínea aumentada devido aos maiores níveis plasmáticos de fibrinogênio, pode prejudicar ainda mais o fluxo microcirculatório (43). Desta forma, estes fatores promovem hipóxia retiniana, a qual provoca a liberação de fatores angiogênicos – mais notavelmente, fatores de crescimento endoteliais vasculares – que induzem a neovascularização (43).

3.6.9 Alterações dos mecanismos de controle dos fatores de crescimento

Dentre todos os fatores de crescimento, o VEGF é o que está mais intimamente relacionado à neovascularização retiniana já que ele participa da formação dos novos vasos que aparecem após a isquemia retiniana (10). O VEGF pertence a uma grande família de proteínas com capacidades angiogênica e mitogênica (10). Ele é produzido na retina no epitélio pigmentado, na retina neurosensorial, nos pericitos e na camada muscular lisa vascular (10). Desde os estágios mais precoces da retinopatia (retinopatia inicial ou de fundo) já se observa um aumento da expressão do ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) do VEGF no epitélio pigmentar retiniano (10).

Estudos sobre a indução de permeabilidade nas células endoteliais retinianas em cultura mostraram que o VEGF induz uma hiperpermeabilidade transitória e transcelular, que envolve a ativação da óxido nítrico sintetase e a formação de óxido nítrico (16). Acredita-se que esta fase é seguida por um aumento sustentado da permeabilidade paracelular devido a uma redução da proteína ocludina das junções firmes e envolve a expressão do receptor da uroquinase (uPAR), o que pode deflagrar a formação de plasmina e a ativação de metaloproteinases da matriz (16).

O VEGF, por sua vez, ainda promove a expressão da ICAM-1 pela célula endotelial, o que acarreta a ativação leucocitária e liberação de citocinas, causando, assim, a amplificação da resposta inflamatória (10,36).

3.7 Fator Derivado do Epitélio Pigmentado (PEDF)

Além de causar lesão vascular, o diabetes também apresenta um impacto adverso e precoce sobre a retina neural (2,10,36). Estudos em pacientes diabéticos demonstraram alterações precoces na função visual, incluindo-se o prejuízo da visão colorida e da sensibilidade ao contraste, e reduções dos potenciais oscilatórios do ERG (2,10,36). Essas alterações freqüentemente precedem o estabelecimento de lesões microvasculares e predizem a piora da retinopatia de uma melhor maneira do que as características clínicas, sugerindo que a neurodegeneração, assim como a disfunção vascular, seja uma característica importante da RD (2,10,36). Estudos em pacientes e ratos diabéticos mostraram aumentos precoces e significativos da morte apoptótica de células gliais e neuronais na retina interna (2,10,36). Sugeriu-se que os fatores metabólicos que levam a esse fenômeno incluem a perda do suporte trófico mediado pela insulina ou uma lesão devido ao acúmulo excessivo de hexosamina, fator de necrose tumoral alfa ou glutamato (2,10,36). Dados que mostram níveis reduzidos do Fator Derivado do Epitélio Pigmentado (PEDF) em fluidos oculares e espécies de vitrectomia de pacientes com RD sugerem que a perda de PEDF contribui para a toxicidade das células neurogliais induzida pelo diabetes (2,10,36).

O PEDF ocorre naturalmente no olho e é expresso em múltiplas células retinianas, incluindo-se as células epiteliais pigmentares retinianas, células gliais, células endoteliais vasculares e neurônios (16). Demonstrou-se que o tratamento com PEDF previne a neovascularização retiniana num modelo de retinopatia isquêmica (16). Recentemente, verificou-se que o PEDF bloqueia o aumento da permeabilidade vascular retiniana induzido por injeções oculares de VEGF (16). O PEDF também pode funcionar como um antioxidante já que ele suprime a geração de espécies reativas mediada pela NAD(P)H oxidase e bloqueia o aumento da expressão de VEGF induzido pelo estresse oxidativo (16). Estudos dos fluidos oculares de pacientes com neovascularização ativa mostra uma correlação inversa entre os níveis de VEGF (elevados) e PEDF (reduzidos), sugerindo que uma mudança no balanço entre os níveis de PEDF e VEGF pode contribuir para o desenvolvimento da doença neovascular retiniana (16).

Reduções dos níveis de RNAm do PEDF foram relatadas em células endoteliais em cultura e em pericitos expostos a condições de estresse oxidativo, bem como em células endoteliais tratadas com o FNT- α (16). Estudos recentes com células em cultura indicam que a hipóxia e o VEGF inibem os níveis de PEDF ao aumentarem a atividade das metaloproteinases da matriz que degradam e inativam o PEDF (16).

3.8 Poli(ADP-ribose)polimerase e disfunção vascular diabética

A poli(ADP-ribose)polimerase (PARP), também conhecida como poli(ADP-ribose)sintetase (PARS), é uma enzima nuclear abundante nas células eucarióticas que participa do reparo do DNA em resposta ao estresse genotóxico (44).

O gatilho obrigatório para a ativação da PARP é a quebra do DNA, que pode ser induzida por uma variedade de estímulos ambientais e radicais livres/oxidantes, mais notavelmente o radical hidroxil e o peroxinitrito (33,45).

Quando ativada pela quebra do DNA, a PARP inicia um ciclo que consome energia ao transferir as unidades de ADP ribose do NAD⁺ para as proteínas nucleares (33,44). Este processo resulta numa rápida depleção dos estoques intracelulares de NAD⁺ e de ATP, reduzindo a taxa de glicólise (e a respiração mitocondrial), assim como os níveis de NADP (um cofator da via das pentoses e das vias sintéticas biorredutoras, envolvido na manutenção dos *pools* de glutathione reduzida), levando à disfunção e morte celulares (33,44). Demonstrou-se que a ativação da PARP ocorre numa ampla variedade de estados patológicos, incluindo-se a lesão de reperfusão do cólon, rim, músculo esquelético e miocárdio, doenças inflamatórias como a colite, diabete e artrite, choque séptico e hemorrágico (33,44). Demonstrou-se que a ativação da PARP também tem um papel central em doenças cardiovasculares, incluindo-se o acidente vascular encefálico (AVE), a aterosclerose, a doença isquêmica cardíaca, a toxicidade por doxorubicina e a disfunção cardiovascular diabética (33).

A ativação da PARP em resposta aos elevados níveis de glicose pode ser atenuada pela SOD (33).

A ativação da PARP pode ser relevante na disfunção das células endoteliais induzida pela hiperglicemia (33). As células endoteliais expostas à hiperglicemia durante 1-2 dias apresentam uma supressão intensa dos níveis celulares de fosfato de alta energia, assim como dos níveis de NAD⁺ e NADPH (33). Desde que a ON-sintetase constitutiva (ecNOS) é uma enzima dependente de NADPH, é concebível que a depleção celular de NADPH nas células expostas à hiperglicemia seja diretamente responsável pela supressão da atividade da ecNOS e pela redução da capacidade relaxante dependente do endotélio dos vasos diabéticos (33). Nos pacientes diabéticos, os efeitos da hiperglicemia sobre os níveis da NADPH podem ser exacerbados pela atividade aumentada da aldose redutase, que também depleta NADPH assim como gera oxidantes reativos (33).

A ativação da PARP nas células endoteliais expostas à hiperglicemia parece ser um fator comum entre 3 das maiores hipóteses pelas quais a hiperglicemia causa complicações diabéticas: ativação das isoformas da PKC, fluxo aumentado da via da hexosamina e formação aumentada dos AGEs (33,46). Cada uma destas vias pode ser ativada pela superprodução de superóxido a partir da cadeia de transporte de

elétrons mitocondrial que é induzida pela hiperglicemia (33,46). A superprodução de superóxido nas células endoteliais expostas à hiperglicemia resulta da inibição da atividade da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), sendo a PARP o mediador deste efeito (33). A inibição da atividade da GAPDH também ativa o fator de transcrição pró-inflamatória NF- κ B que, nas células endoteliais, é dependente da PKC (33). A inibição da atividade da GAPDH é um resultado da poli(ADP-ribosil)-ação da enzima pela PARP e pode ser revertida através da inibição da PARP (33). A GAPDH é uma proteína multifuncional que apresenta efeitos tanto no citoplasma quanto no núcleo e tem sido implicada não somente na fisiologia normal (exportação do RNA nuclear, replicação do DNA, reparo do DNA, fusão da membrana exocitótica, organização citoesquelética e atividade da fosfotransferase), mas também em estados patológicos, tais como, doenças neurodegenerativas (doença de Parkinson), câncer (próstata) e na patogênese viral, onde se mostrou que o GAPDH apresenta um papel na morte celular apoptótica (33). Demonstrou-se agora que o GAPDH é o elo de ligação entre a ativação da PARP e a disfunção diabética das células endoteliais (33).

3.9 Vitamina C

3.9.1 Introdução

A vitamina C (ácido ascórbico) é um micronutriente essencial para o metabolismo normal do corpo e está presente nas frutas frescas, em particular nas cítricas, e nos vegetais (43). A sua deficiência causa escorbuto (47).

A recomendação mínima necessária de vitamina C é de 60 mg/dia para pessoas saudáveis e não fumantes (47).

A vitamina C é um co-fator de várias enzimas (47):

1. A pró-colágeno-prolina deoxigenase (prolina hidroxilase) e a pró-colágeno lisina 5-deoxigenase (lisina hidroxilase), envolvidas na biossíntese do pró-colágeno (47). Assim, a deficiência de vitamina C causa perdas dentárias, dores articulares, desordens ósseas e dos tecidos conetivos, e uma cicatrização deficiente das feridas, todas as quais são características do escorbuto (47);
2. As deoxigenases, envolvidas na biossíntese da carnitina, substância essencial para o transporte de ácidos graxos de cadeia longa para o interior da mitocôndria (47). Como resultado, a deficiência de vitamina C resulta em fadiga e letargia, sintomas iniciais de escorbuto (47);
3. A dopamina-monooxigenase, que catalisa a conversão de dopamina em norepinefrina (47). Assim, a deficiência de

norepinefrina deve estar relacionada com a depressão, hipocondria e as alterações do humor que ocorrem no escorbuto (47).

A vitamina C também foi implicada no metabolismo do colesterol e dos ácidos biliares, através da enzima colesterol 7 α -monooxigenase, e no metabolismo esteróide das adrenais (47).

Outras atividades da vitamina C incluem a manutenção das enzimas tiol num estado reduzido, e um efeito poupador da glutatona (um importante antioxidante intracelular) e do tetrahydrofolato (co-fator para a síntese de catecolaminas) (47).

3.9.2 Efeito antioxidante

Segundo o **Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds of the Food and Nutrition Board**, um antioxidante pode ser definido como uma substância que reduz significativamente os efeitos adversos dos radicais livres sobre a função fisiológica normal (47).

A vitamina C (ou ácido L-ascórbico) é chamado de antioxidante doador de elétrons devido à sua habilidade de prevenir a oxidação de outros compostos ao se ligar aos seus elétrons (35). Enquanto o ácido ascórbico é oxidado numa forma estável e não reativa, os RL são reduzidos à água e não causam mais lesão celular (35).

A vitamina C varre os radicais superóxido e hidroperoxil, peroxil aquosos, o oxigênio *singlet*, ozônio, peroxinitrito e o dióxido de nitrogênio, os radicais nítróxido e ácido hipocloroso, protegendo, assim, outros substratos da lesão oxidativa (39,47).

Além disso, a vitamina C regenera o α -tocoferol (vitamina E) a partir do radical α -tocoferil (47). Isto é particularmente importante porque o α -tocoferol pode agir como um pró-oxidante na ausência de co-antioxidantes como a vitamina C (47).

3.9.3 Efeitos sobre a coagulação, as plaquetas e os vasos

Estudos demonstraram uma associação inversa entre as concentrações séricas de vitamina C e os fatores de coagulação (47,48).

3.9.4 Efeitos sobre as plaquetas

Estudos *in vitro* demonstraram que concentrações fisiológicas de vitamina C podem aumentar a produção de PGE1 e de PGI1, resultando numa redução da agregação plaquetária e da formação de trombos (47). Além disso, baixas concentrações de vitamina C também estão associadas a maiores níveis do Inibidor da Ativação do Plasminogênio 1, uma proteína que inibe a fibrinólise (47).

3.9.5 Vitamina C e óxido nítrico

Outros estudos recentes demonstraram que a vitamina C restaura a vasodilatação dependente do endotélio em pacientes com DM 1 e na hiperglicemia aguda em humanos saudáveis, enquanto que estudos realizados com diabéticos do tipo 2 mostraram resultados variados (48). Vários mecanismos podem ser responsáveis por estes efeitos e, provavelmente, estão relacionados à atividade antioxidante da vitamina C (47).

O ON apresenta um papel importante na vasodilatação e também inibe a agregação plaquetária e a adesão dos leucócitos (47). Estudos demonstraram que as concentrações de ON são reduzidas através da sua reação com os radicais superóxido e da inibição da sua liberação pelo LDL oxidado (47). Desta forma, a vitamina C pode prevenir a quebra de ON ao varrer os radicais superóxido ou prevenir a formação de LDL oxidada (35,39,47).

3.9.6 Efeitos sobre a fragilidade capilar

A deficiência de vitamina C promove as seguintes alterações sobre os tecidos vasculares: espessamento da íntima e da membrana basal, acúmulo da matriz extra-celular devido a uma sulfatação reduzida, perda das junções firmes do endotélio (com o conseqüente aumento da taxa de escape transcapilar – TET) e fragilidade capilar (48). Estes achados também são encontrados na microangiopatia diabética (48).

3.9.7 Efeitos sobre as complicações diabéticas

Um relato recente de que todas as alterações induzidas pela hiperglicemia - incluindo-se elevações da aldose redutase, PKC e dos AGEs - são revertidas pela inibição da produção de radicais livres induzida pela glicose (49). Este fato fornece a possibilidade de que, ao se bloquear o estresse oxidativo induzido pela glicose, também se possa prevenir a lesão causada pelas outras vias (49).

A vitamina C apresenta um papel central no sistema de defesa antioxidante e deve ajudar a mitigar o estresse oxidativo associado às complicações diabéticas (47). De fato, há relatos de que regimes com altas doses de vitamina C estão associados à reversão dos sinais precoces da retinopatia e à normalização da resistência capilar no DM, confirmando o papel protetor dos antioxidantes na lesão dos vasos sanguíneos (40,50).

3.9.8 Transporte intracelular de vitamina C

Conhece-se a existência de dois mecanismos distintos de transporte da vitamina C para o interior das células (49):

1. Um mecanismo dependente de sódio e mediado por um par de transportadores de ascorbato, que predomina na barreira hematoencefálica, osteoblastos, músculos, placenta, parede dos intestinos, nas células renais com borda em escova, no fígado, cérebro, músculo e na maioria dos sistemas endócrinos e neuroendócrinos, e não é afetado pelos níveis sanguíneos de glicose (49);
2. Um mecanismo extremamente sensível aos níveis sanguíneos de glicose e dependente de alguns membros da família de transportadores de glicose (GLUT) (49). As células epiteliais pigmentadas retinianas e certos tipos de células dos rins e dos intestinos captam o deidroascorbato através deste tipo de transporte (49).

Existem ainda, alguns tipos celulares, como os linfócitos e as células vermelhas sanguíneas, que utilizam ambos os mecanismos de captação de ascorbato (49).

Uma vez que o deidroascorbato (DHA) entra nas células, é convertido em ácido ascórbico e armazenado (49).

O co-transporte de glicose e DHA pelos GLUTs em certos tipos celulares sugere um novo mecanismo causador de doenças nestes tipos celulares específicos (49). Estudos mostram um aumento da produção de RL induzido pela hiperglicemia nos órgãos-alvo afetados pelo DM (49). Assim, sugere-se que a produção de RL seja a principal via causadora das complicações diabéticas (49).

O ácido ascórbico funciona como um importante componente da defesa celular contra a toxicidade do oxigênio e a peroxidação lipídica causada pelos radicais livres (8,50). Níveis reduzidos de ácido ascórbico têm sido observados em pacientes diabéticos, principalmente naqueles com microangiopatia (8,50).

A captação do ácido ascórbico pela célula é mediada por um processo relacionado com o transporte de glicose e foi demonstrado que uma alta concentração extracelular de glicose nos diabéticos pode prejudicar essa captação e acentuar os problemas associados à deficiência desta vitamina (8,50).

Este fenômeno privaria as células do antioxidante central e poderia levar ao acúmulo de RL seguido pela ativação das vias da PKC, aldose redutase e pela produção de AGEs no diabetes (49).

Estes efeitos são limitados a tipos celulares específicos que dependem do co-transporte de glicose e DHA pelos GLUT (49).

Já que o DHA e a glicose competem pelos transportadores GLUT, cada um pode inibir o transporte do outro (49,50). A glicose sanguínea basal no diabetes mal controlado está tipicamente elevada e, durante episódios hiperglicêmicos, eleva-se ainda mais (49,50). Além disso, os níveis de ascorbato tendem a estar significativamente reduzidos no diabetes mal controlado, mesmo em diabéticos que ingerem dietas ricas nessa substância (49,50). A perda de ascorbato parece se dever à sua excreção (juntamente com a glicose) pelos rins, ao bloqueio da sua recaptação pela maior concentração de açúcar e à sua reduzida reabsorção pelos túbulos renais (devido à diurese osmótica e à glicosúria) (49).

Verifica-se, em média, uma redução entre 30 e 80% das taxas normais de entrada de DHA nas células (49). Assim, o transporte de DHA para o interior de nervos, da retina, do rim e de outros tecidos que são única ou principalmente dependentes de GLUT, estará intensa e cronicamente diminuído (49).

Desta forma, é provável que a hiperglicemia resulte numa deficiência de vitamina C em tipos particulares de células (tais como neurônios periféricos, células pigmentadas retinianas e células endoteliais vasculares retinianas) que dependem principal ou exclusivamente dos transportadores GLUT para a sua captação (49).

3.9.9 Prevenindo e tratando as complicações diabéticas

Assim, acredita-se que o ácido ascórbico possa prevenir ou até tratar as complicações associadas ao diabetes ao afetar a glicosilação protéica (49,51), a sensibilidade à insulina, o fluxo sanguíneo retiniano e o estresse oxidativo (49,52).

3.9.10 Efeitos adversos da vitamina C

Os efeitos adversos do excesso de vitamina C são a hemocromatose ou a sobrecarga de ferro, o aumento da excreção de ácido úrico e de

oxalato (com o conseqüente desenvolvimento de cálculos renais), náuseas, vômitos e diarréia (53).

3.10 Superóxido dismutase (SOD)

3.10.1 Fisiopatologia das complicações crônicas do diabetes

Conforme já dito, as complicações crônicas do diabetes ocorrem como conseqüência da hiperglicemia persistente (32). A hiperglicemia, por sua vez, promove a auto-oxidação da glicose, a formação de AGEs e a sua interação com os RAGEs; a ativação de várias isoformas da PKC; a indução da via do poliol e o aumento do fluxo da via da hexosamina (32).

Recentemente, foi feita uma hipótese segundo a qual todos estes processos seriam uma conseqüência do aumento da produção de superóxido pela cadeia mitocondrial respiratória durante a hiperglicemia (32,54).

O papel da mitocôndria na patogênese da retinopatia é amparado por relatos que mostram que a mitocôndria retiniana apresenta uma disfunção no diabetes (54,55). Ratos diabéticos há 8 meses (uma duração na qual a apoptose da célula capilar é vista na retina) apresentam aumento da liberação do citocromo c no citosol e da proteína pró-apoptótica Bax na mitocôndria (54,55). Além disso, a incubação de células capilares retinianas em meio hiperglicêmico resulta nessas mesmas anormalidades, as quais são acompanhadas por apoptose celular aumentada (54).

A apoptose das células capilares retinianas é um evento inicial na patogênese da RD, e o estresse oxidativo foi ligado à apoptose acelerada das células capilares retinianas (54). Pelo fato de ter-se demonstrado que as células capilares retinianas são perdidas através da apoptose antes que outra alteração histopatológica seja detectável e porque os tratamentos que inibem o desenvolvimento da retinopatia também inibem a apoptose e a ativação da caspase-3, sugere-se que o superóxido apresenta um papel importante na patogênese da RD (54).

Desta forma, a redução da produção de superóxido pela mitocôndria ou o aumento da sua taxa de decomposição pelos antioxidantes poderiam bloquear muitas das conseqüências patológicas da hiperglicemia (32).

3.10.2 Histórico da SOD

Em 1938, Mann e Keilin descreveram uma proteína azul-esverdeada que contém cobre (hemocupreína), a qual eles haviam isolado do sangue bovino

(40,56). Em 1953, uma proteína similar foi isolada a partir do fígado de cavalos e chamada de hepatocupreína (40).

Em 1969, McCord e Fridovich relataram que a proteína eritrocitária é capaz de remover cataliticamente o radical superóxido, isto é, funciona como uma enzima superóxido dismutase (SOD) (40,57). Posteriormente, demonstrou-se que a SOD é idêntica à eritrocupreína humana e à hemocupreína bovina previamente descritas (55,57).

Logo, SODs foram isoladas de uma variedade de eucariontes e procariontes (57). Todas as SODs eucarióticas continham cobre e zinco (CuZnSOD), enquanto que as procarióticas continham manganês (MnSOD) (57). Enquanto trabalhava com fígados de frangos, Fridovich percebeu que ele continha dois tipos de SOD, um localizado na mitocôndria e outro localizado no citosol (57). Surpreendentemente, a SOD mitocondrial continha manganês (57).

A semelhança entre as SODs mitocondrial e bacteriana sugere que a mitocôndria evoluiu a partir de uma relação simbiótica endocelular com os procariontes (57).

Juntamente com Fred Yost, Fridovich também isolou uma SOD que contém ferro (57).

Howard M. Steinman e colaboradores determinaram a seqüência completa de aminoácidos da CuZnSOD (57). Steinman e Robert L. Hill determinaram a seqüência de aminoácidos dos primeiros 29 resíduos do amino terminal da Mn dismutase mitocondrial, da Manganês dismutase bacteriana e da Ferro dismutase bacteriana (57). O elevado grau de semelhança de identidade entre as dismutases bacteriana e mitocondrial forneceu um suporte adicional para a origem endossimbiótica da mitocôndria (57).

3.10.3 Ações da SOD

A SOD constitui a defesa primária contra os radicais superóxido, e a sua reação com estes radicais livres resulta na formação de peróxido de hidrogênio (39).

Devido à sua localização mitocondrial, considera-se a MnSOD como a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo (54).

Demostrou-se que há uma menor atividade da SOD mitocondrial na retina, bem como do seu RNAm, durante a apoptose das células capilares e o aparecimento das características histopatológicas da retinopatia diabética (54).

Estudos *in vivo* e *in vitro* sugerem que a MnSOD apresenta um papel protetor contra o desenvolvimento da retinopatia diabética pois o aumento da sua expressão em células endoteliais retinianas isoladas protege as células capilares retinianas do estresse oxidativo induzido pela glicose e da apoptose das células capilares (54).

3.10.4 Efeito da MnSOD sobre a “memória hiperglicêmica”

Um paradoxo no diabetes é denominado “memória hiperglicêmica” e refere-se à persistência da progressão das alterações microvasculares induzidas pela hiperglicemia durante os períodos subseqüentes de homeostase glicêmica normal (25). Este fenômeno notável ocorreu nos olhos de cachorros diabéticos durante um período de euglicemia pós-hiperglicêmica (25). Os olhos estiveram histologicamente normais por 2,5 anos frente à exposição à glicemia elevada e sustentada (25). Mas, após um período subseqüente de 2,5 anos de glicemia normal, os olhos desenvolveram retinopatia grave (25). A piora da retinopatia, apesar de uma normoglicemia sustentada, também foi relatada em ratos com diabetes induzido pela estreptozocina implicando em que o bom controle glicêmico isolado não detém o progresso da microangiopatia diabética no seu estágio tardio (25).

Resultados do **Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study** indicam que a memória hiperglicêmica também ocorre em pacientes humanos (25). Demonstrou-se que os efeitos do tratamento convencional e intensivo sobre a ocorrência e gravidade da retinopatia e nefropatia pós-estudo persistem por até 4 anos após o **Diabetes Control and Complications Trial**, apesar de valores de hemoglobina glicosilada quase idênticos durante o seguimento de 4 anos (25). O interessante é que a obtenção de normoglicemia através do transplante pancreático também não é efetivo em reduzir a progressão da RD (25). Outros estudos demonstram que a exposição glicêmica prévia (HbA1c) e o nível glicêmico na primeira visita também influenciam o desenvolvimento da RD (25). A lição desses estudos é que atingir-se o melhor controle glicêmico a partir do estabelecimento do diabetes parece ser de notável importância uma vez que os níveis de HbA1c já durante o primeiro ano de diabetes estão relacionados ao desenvolvimento posterior da retinopatia diabética (25).

Conforme sugerido por Brownlee e colaboradores, a produção mitocondrial de superóxido induzida pela hiperglicemia (estresse oxidativo) pode prover uma explicação para o desenvolvimento de complicações durante os períodos de glicemia normal pós-hiperglicemia (25,54).

Tratamentos que inibem a ativação da enzima promotora de apoptose e, conseqüentemente, o desenvolvimento da RD, reduzem o estresse oxidativo na retina (54). Assim, foi observado que o aumento da expressão da MnSOD

previne o estresse oxidativo induzido pela glicose nas células endoteliais retinianas (54). Assim, a MnSOD poderia ser utilizada no tratamento da “memória hiperglicêmica”.

3.10.5 Efeitos adversos

A superóxido dismutase não apresenta efeitos adversos conhecidos (40).

3.11 Pentoxifilina

3.11.1 Introdução

A pentoxifilina, 3,7-dimetil-1-(5-oxohexil)-xantina, é um derivado da xantina que inibe a xantina oxidase, uma enzima que é considerada candidata para a formação de radicais livres do oxigênio nas células (34).

3.11.2 Indicações

A pentoxifilina é usada clinicamente no tratamento da doença arterial periférica oclusiva crônica com claudicação intermitente, doença isquêmica cardíaca e insuficiência cérebro-vascular, num grande número de síndromes inflamatórias e na caquexia associada com câncer e com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (34,43,57,59).

3.11.3 Ações gerais

O tratamento das doenças vasculares com pentoxifilina melhora a perfusão em vasos ocluídos e o fluxo nutricional capilar, induz o desenvolvimento de circulação colateral, normaliza a microcirculação e o metabolismo muscular, possui uma importante ação vasodilatadora e antitrombótica, afeta os leucócitos com uma ação estabilizante endotelial e melhora a hemorreologia (60).

Estes efeitos também podem ser observados ao nível retiniano (60).

3.11.4 Efeito sobre o Fator de Necrose Tumoral- α

O FNT- α provoca a formação mitocondrial de peróxido de hidrogênio (61). A pentoxifilina, por sua vez, ao inibir a produção do FNT- α , reduz os níveis de peróxido de hidrogênio e, conseqüentemente, o estresse oxidativo (61).

3.11.5 Efeitos sobre o Fator de Crescimento Epidérmico (FCE)

Estudos mostram que pacientes com DM 1 e 2 apresentam, além do estresse oxidativo aumentado, alterações do Fator de Crescimento Epidérmico (FCE) e do ON (61).

Assim, a interação entre o FCE e o seu receptor causa uma elevação transitória do peróxido de hidrogênio (61). O sinal do receptor extra-celular de FCE regula a via da PKC e constitui a principal via de sinalização que media a expressão da aldose redutase sob o estresse oxidativo (61).

A pentoxifilina é um redutor do FCE capaz de aumentar os níveis de AMPc e GMPc ao inibir a fosfodiesterase (PDE), a enzima responsável pela degradação dos nucleotídeos cíclicos celulares (61). O aumento dos níveis dos nucleotídeos cíclicos, por sua vez, é capaz de prevenir o estresse oxidativo ao reduzir a peroxidação lipídica (61). Portanto, conclui-se que a pentoxifilina reduz a lesão celular resultante da ação dos RL (61).

3.11.6 Efeitos sobre o ON

A pentoxifilina, ao reduzir os níveis de peroxidação lipídica, pode proteger o ON da inativação pelos radicais livres contribuindo, assim, para a vasodilatação e para a melhora das propriedades hemorreológicas (60).

3.11.7 Efeitos sobre os leucócitos

O aumento da velocidade do fluxo leucocitário retiniano pela pentoxifilina, tanto em indivíduos normais quanto em diabéticos, provavelmente se deve a uma melhora da fluidez leucocitária (43,59). Os efeitos diretos da pentoxifilina incluem aumento da taxa de filtração do sangue total, aumento da deformabilidade dos eritrócitos e redução da agregação plaquetária e dos eritrócitos (43,59). A pentoxifilina tem efeitos significativos *in vitro* sobre os leucócitos, melhorando a sua deformabilidade ao reduzir o conteúdo de F-actina e a produção do ânion superóxido (43,59,62). Além disso, o aumento da velocidade dos leucócitos retinianos pode ser parcialmente devido a um efeito vasodilatador da pentoxifilina demonstrado no músculo cremastérico do rato (43,59). A vasodilatação pode ocorrer como resultado de uma redução do conteúdo de F-actina e da contratilidade das células musculares lisas individuais (43,59). Além disso, os ânions superóxido estimulam as contrações do músculo liso vascular resultando em vasoconstrição (43,59). Portanto, uma redução na produção de ânions superóxido pelos leucócitos (e, possivelmente, pelas células endoteliais), induzida pela pentoxifilina, também pode contribuir para a vasodilatação (43,59). Estas ações da pentoxifilina, teoricamente, reduzem o risco de aprisionamento leucocitário e

lesão vascular endotelial, sugerindo que ela possa ter um efeito benéfico no curso da RD (43,59).

3.11.8 Efeitos sobre os eritrócitos

Estudos demonstraram que a pentoxifilina promove um aumento significativo da velocidade de fluxo sanguíneo nos capilares retinianos (59). Ela corrige a deformabilidade eritrocitária alterada, reduz a hiperviscosidade sanguínea e exerce um efeito benéfico sobre os sintomas clínicos das doenças vasculares (43,59,63). Esta droga aumenta o conteúdo intracelular de ATP e afeta as funções da membrana eritrocitária, incluindo-se a alteração eletrolítica (43,59). Além disso, a pentoxifilina diminui a agregação plaquetária e reduz os níveis de fibrinogênio plasmático (43,59).

Vários investigadores demonstraram que a deformabilidade eritrocitária é dependente de ATP, e que a rigidez eritrocitária diminui à medida que o ATP intracelular aumenta (64). Demonstrou-se que a pentoxifilina aumenta o conteúdo intracelular de ATP, e este aumento, aparentemente, melhora a deformabilidade da célula sanguínea vermelha, conforme mensurado pela taxa de filtração sanguínea total (64). Assim, a melhora da filtrabilidade eritrocitária, observada em pacientes diabéticos, pode estar relacionada a uma ação farmacológica específica do fármaco (64).

Estudos mostraram reduções nas concentrações de fibrinogênio durante o tratamento com pentoxifilina, o que provavelmente contribui para a melhora da fluidez do eritrócito no DM (57,64).

Além desses efeitos, ainda se observa uma redução da pressão sanguínea, a qual também pode contribuir para a melhora da reologia sanguínea (57,64).

Devido a estes efeitos combinados, há um incremento do suprimento de oxigênio para áreas isquêmicas (bem como da taxa de captação de oxigênio pelo humor da câmara anterior), além de uma tendência a um aumento da amplitude das ondas do ERG (57,65). À angiografia fluorescente pós-tratamento do fundo de olho notou-se uma melhora da circulação sanguínea nos pequenos vasos (57,65).

3.11.9 Efeitos adversos

Os efeitos adversos mais comumente relatados do tratamento com pentoxifilina envolvem o trato gastrointestinal, como, por exemplo, vômitos e inapetência (66). Também há relatos de vertigem e cefaléia que ocorrem numa pequena porcentagem de pacientes que recebem a medicação (66). Outros efeitos

adversos (como, por exemplo, efeitos sobre o sistema cardiovascular ou sistema nervoso central) são raramente relatados (66).

3.11.10 Pentoxifilina e retinopatia diabética

Devido à habilidade da pentoxifilina em aumentar o fluxo sanguíneo microvascular retiniano, acredita-se que ela possa ser benéfica no tratamento da RD inicial (59).

Estudos mostram uma aparente melhora nas desordens microcirculatórias retinianas após o tratamento com pentoxifilina, tendo sido observado o desaparecimento de microaneurismas e hemorragias em pacientes com RDNP (64). Entretanto, nenhuma alteração foi observada em pacientes com RDP (64).

Nos casos de hemorragia retiniana, observou-se que a administração de pentoxifilina pode prevenir o ressangramento, o que mostra um efeito positivo sobre o prognóstico da acuidade visual (58).

Assim, a pentoxifilina é um agente patogenético altamente efetivo para o tratamento da RD (67). A sua peculiaridade farmacodinâmica consiste numa ação expressa sobre as propriedades reológicas do sangue e um efeito inibitório sobre as plaquetas (67).

Além disso, a pentoxifilina é bem tolerada e pode ser usada em combinação com outras substâncias (67).

4 MÉTODOS

4.1 Tipos de estudo

Revisão sistemática da literatura utilizando-se ensaios clínicos randomizados.

4.2 Local

Disciplina de Medicina de Urgência e Medicina Baseada em Evidências da Escola Paulista de Medicina (EPM) - Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo - SP.

Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Terapêutica (PGMIT).

Centro Cochrane do Brasil.

4.3 Critérios de inclusão

4.3.1 Tipos de estudos

Ensaio clínicos randomizados que utilizaram vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina, isoladamente ou em associação, no tratamento da retinopatia diabética comparadas à ausência de tratamento, ao uso de placebo e à fotocoagulação a laser.

4.3.2 Tipos de participantes

Pacientes adultos entre 20 e 75 anos com retinopatia diabética detectada clinicamente pela presença de lesões microvasculares retinianas oftalmoscopicamente visíveis.

Para ser consistente com as alterações na classificação e nos critérios diagnósticos do diabetes melito através dos anos, o diagnóstico deveria ter sido estabelecido utilizando-se os critérios padrões válidos quando do início do ensaio clínico [por exemplo, ADA, 1997 (68); ADA, 1999 (69); WHO, 1980 (70); WHO, 1985 (71); WHO, 1998 (72)]. O ideal é que os critérios diagnósticos deveriam ter sido descritos. Se necessário, a definição de diabetes melito do autor teria sido utilizada. O mesmo teria se aplicado aos critérios diagnósticos da retinopatia diabética. Os critérios

diagnósticos deveriam eventualmente ter sido submetidos a uma análise de sensibilidade.

4.3.3 Tipos de intervenções

Foram considerados estudos que compararam a vitamina C e / ou a superóxido dismutase a:

1. Nenhuma intervenção;
2. Placebo;
3. Fotocoagulação a laser.

E estudos que compararam a pentoxifilina associada à fotocoagulação a laser *versus*:

1. Placebo;
2. Fotocoagulação a laser

4.4 Amostra

4.4.1 Tamanho da amostra

Todos os estudos encontrados através da estratégia de busca (detalhada em Estratégia de busca) dos estudos e que preencheram os critérios de inclusão.

4.5 Desfechos avaliados

4.5.1 Primários

A avaliação primária da efetividade da vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética foi avaliada considerando-se os seguintes critérios:

1. Progressão da retinopatia diabética, definida como: (1) o desenvolvimento de qualquer retinopatia onde previamente nenhuma existia, (2) o desenvolvimento ou a progressão de edema macular clinicamente significativo conforme definido pelo **Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)**, e (3) o desenvolvimento de retinopatia proliferativa a partir da retinopatia

diabética não-proliferativa ou a recorrência de retinopatia diabética proliferativa ativa (73);

2. Incidência de cegueira.

4.5.2 Secundários

1. Mortalidade [mortalidade por todas as causas, mortalidade relacionada ao diabetes melito (morte por infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, doença vascular periférica, doença renal, hiper ou hipoglicemia ou morte súbita)];
2. Morbidade (morbidades de todas as causas, assim como as relacionadas ao diabetes e às doenças cardiovasculares, como, por exemplo, *angina pectoris*, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico, doença vascular periférica, neuropatia, retinopatia, nefropatia, disfunção erétil e amputações);
3. Efeitos adversos;
4. Qualidade de vida;
5. Custos.

4.5.3 Covariáveis e efeitos modificadores

1. Duração do diabetes melito;
2. Duração da retinopatia diabética;
3. Controle glicêmico;
4. Controle da pressão arterial;
5. Uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA);
6. Presença de outras doenças sistêmicas.

4.6 Critérios de exclusão

O principal critério de exclusão foi uma idade inferior a 20 (devido ao tempo de evolução da RD) ou maior do que 75 anos (devido à elevada presença de comorbidades após esta idade).

4.7 Estratégia de busca para a identificação dos estudos

Os estudos foram identificados através de uma pesquisa que contemplou as seguintes bases de dados: **Cochrane Central Register of Controlled Trials** (CENTRAL, **The Cochrane Library** - até a última edição), MEDLINE (1966 – 2007), EMBASE (1980 – 2007), CINAHL (1982 – 2007) e **Web of Science** (1980 – 2007).

Também foram pesquisadas bases de dados de ensaios clínicos em desenvolvimento: **Current Controlled Trials** (www.controlled-trials.com - com ligações para outras bases de dados de ensaios clínicos em andamento).

Não foi aplicada restrição de idioma.

Foram combinadas as estratégias de sensibilidade descritas no Apêndice 5b do **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions** (74) para a pesquisa de estudos clínicos controlados randomizados no MEDLINE.

Foram utilizados os seguintes termos (MeSH), em combinação com a estratégia de busca para estudos clínicos controlados randomizados, com o intuito de se identificarem estudos para inclusão na revisão sobre a efetividade e a segurança da vitamina C e superóxido-dismutase no tratamento da retinopatia diabética:

Ascorbic Acid [*therapeutic use]; Diabetic Retinopathy [*drug therapy]; Free Radical Scavengers [*therapeutic use]; Superoxide Dismutase [*therapeutic use]

Foram utilizados os seguintes termos (MeSH), em combinação com a estratégia de busca para estudos clínicos controlados randomizados, com o intuito de se identificarem estudos para inclusão na revisão sobre a efetividade e a segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética:

Pentoxifylline [*therapeutic use]; Diabetic Retinopathy [*drug therapy]; Disaggregants [*therapeutic use]

As estratégias de busca do MEDLINE (Anexos 3 e 4) foram adaptadas para refletir os títulos encontrados através dos descritores usados pela **The Cochrane Library**, EMBASE, CINAHL e **Web of Science**.

4.7.1 Outras fontes

Foram feitos contatos com os autores a fim de se identificarem pesquisas não publicadas e ensaios ainda em desenvolvimento.

4.7.2 Listas de referências

Tentariamos identificar estudos adicionais através da análise das listas de referência de revisões sistemáticas e ensaios clínicos incluídos, de metanálises e da avaliação de comunicados relacionados à área da saúde.

4.7.3 Seleção de estudos

Para se determinar os estudos que seriam posteriormente avaliados com mais profundidade, dois autores [Carlos César Lopes de Jesus (CCLJ) e Prof. Dr. Orsine Valente (OV)] acessaram de forma independente os estudos com base no título, no resumo ou em ambas as seções. Todos os estudos elegíveis foram obtidos na sua íntegra. A concordância entre os observadores seria mensurada utilizando-se o teste *kappa* (75). As divergências seriam assinaladas se esses estudos fossem incluídos posteriormente e a influência da escolha primária seria submetida a uma análise de sensibilidade. Onde houvesse divergências de opinião, estas seriam resolvidas através da consulta a um terceiro autor (Profa. Dra. Virgínia Fernandes Moça Trevisani). Se a resolução da divergência não fosse possível, o artigo deveria ser adicionado àqueles que aguardavam avaliação e os autores deveriam ser contatados para esclarecimento. Um gráfico em floresta, destinado à avaliação da qualidade das metanálises dos estudos selecionados, seria anexado (76).

4.7.4 Extração e manuseio dos dados

Dois autores (CCLJ e OV) realizariam a extração dos dados acerca do tipo de participantes, intervenções e desfechos de cada estudo que preenchesse os critérios de inclusão utilizando um formulário padronizado. Quaisquer divergências que ocorressem deveriam ser resolvidas através de um debate ou, se necessário, pelo terceiro autor. Qualquer informação relevante que não constasse no ensaio deveria ser obtida, se necessário, através do contato com o autor original do artigo.

4.8 Avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos

Cada estudo seria avaliado de forma independente por dois autores (CCLJ e OV). Possíveis divergências deveriam ser resolvidas através de um consenso, ou através da consulta ao terceiro autor (VFMT), no caso de discordância. Planejamos avaliar a influência dos critérios individuais de qualidade através de uma análise de sensibilidade. A concordância entre os autores seria calculada usando-se o índice *kappa* (75). Nos casos de discordância, os demais membros do grupo deveriam ser consultados e o julgamento deveria ser feito com base num consenso.

Além disso, avaliariamos a qualidade de cada estudo baseados nos critérios de qualidade especificados por Schulz e Jadad (77,78). De uma forma particular, os seguintes fatores seriam estudados:

1. Minimização do viés de seleção: a) o processo de randomização foi adequado? b) o sigilo de alocação foi adequado?;
2. Minimização do viés de condução: os pacientes e as pessoas envolvidas na administração do tratamento estavam cegas quanto à intervenção?;
3. Minimização do viés de seguimento: a) as perdas de seguimento e as retiradas foram totalmente descritas? b) foi feita análise de intenção de tratar?;
4. Minimização do viés de diagnóstico: os avaliadores dos desfechos estavam cegos quanto às intervenções?

Baseados nestes critérios, os estudos seriam subdivididos em uma das três categorias seguintes, de acordo com os critérios do **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions** (74):

1. Todos os critérios de qualidade atendidos: baixo risco de viés;
2. Um ou mais critérios de qualidade parcialmente atendidos: moderado risco de viés;
3. Um ou mais critérios de qualidade não atendidos: alto risco de viés.

4.8.1 Lidando com dados omitidos

Dados relevantes omitidos deveriam ser obtidos dos autores, se isso fosse factível. A avaliação de dados numéricos importantes (tais como pacientes investigados, elegíveis e randomizados), assim como uma análise da intenção de tratar e da população de acordo com o protocolo, seriam cuidadosamente realizadas. Taxas de atrito (como, por exemplo, abandonos, perdas de seguimento e retiradas) seriam investigadas. Abordagens com base na observação mais recente, análises de intenção de tratar e da população de acordo com o protocolo seriam apreciadas criticamente e comparadas com os parâmetros dos desfechos primários e com o cálculo do poder estatístico.

4.8.2 Lidando com publicações em duplicata

No caso de publicações em duplicata e de publicações secundárias de um estudo primário, maximizaríamos a coleta de informações através da avaliação simultânea de todos os dados disponíveis. Em caso de dúvidas, a publicação original (geralmente a mais antiga) teria prioridade.

4.8.3 Avaliação da heterogeneidade

No caso da presença de heterogeneidade clínica, estatística ou metodológica substancial, os resultados dos estudos não seriam combinados através de uma metanálise. A heterogeneidade seria identificada através da inspeção visual dos gráficos de metanálises, utilizando-se o teste do Qui quadrado com significado estatístico quando $p < 0,1$. Em vista do baixo poder de tais testes, a heterogeneidade seria especificamente estimada por meio do *I*-quadrado (79), onde valores do *I*-quadrado maiores ou iguais a 50% indicam um nível substancial de heterogeneidade (80). O *I*-quadrado mostra a porcentagem de variação total entre os estudos devida à heterogeneidade e seria utilizado para se julgar a consistência da evidência.

Quando a heterogeneidade fosse encontrada, tentaríamos identificar razões potenciais para isto ao examinar as características de cada estudos, assim como aquelas dos subgrupos do principal corpo de evidência.

4.8.4 Avaliação de vieses

Gráficos em funil seriam utilizados numa análise exploratória dos dados para se avaliar a potencial existência de pequenos vieses do estudo. Há um certo número de explicações para a assimetria de um gráfico em funil, incluindo-se a verdadeira heterogeneidade do efeito em relação ao tamanho do estudo, um desenho metodológico pobre dos pequenos estudos e o viés de publicação (81). Assim, este instrumento exploratório de dados poderia ser ilusório e não deveríamos depositar uma ênfase indevida em tal instrumento (82).

4.8.5 Síntese dos dados (metanálise)

Os dados seriam sintetizados estatisticamente se estivessem disponíveis, se fossem suficientemente similares e de suficiente qualidade. A análise estatística seria realizada de acordo com as diretrizes estatísticas referenciadas na versão mais recente do **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions** (74).

4.8.6 Análise de subgrupos e investigação de heterogeneidade

Análises de subgrupos seriam realizadas principalmente se um dos parâmetros de desfecho primário demonstrasse diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de intervenção. Em qualquer outro caso, as análises de subgrupos seriam claramente assinaladas como um exercício gerador de hipóteses.

As seguintes análises de subgrupo foram planejadas:

1. Gênero;
2. Localização geográfica do estudo;
3. Duração do diabetes melito;
4. Critérios para o diagnóstico do diabetes melito;
5. Duração da retinopatia diabética.
6. Critérios para o diagnóstico da retinopatia diabética;
7. Estratégia de comparação.

4.8.7 Análise de sensibilidade

Exploraríamos a influência de vários fatores sobre o tamanho do efeito. Para isto:

1. Realizaríamos uma análise de sensibilidade excluindo-se estudos não publicados;
2. Realizaríamos uma análise de sensibilidade levando-se em conta a qualidade do estudo, conforme especificado acima;
3. Realizaríamos uma análise de sensibilidade excluindo-se estudos muito longos ou muito grandes para estabelecermos o quanto eles dominariam os resultados;
4. Realizaríamos uma análise de sensibilidade excluindo-se estudos utilizando-se os seguintes filtros: critérios diagnósticos, idioma de publicação, fonte de recursos (indústria *versus* outro) e país.

A robustez dos resultados também seria testada repetindo-se a análise utilizando-se diferentes medidas de tamanho de efeito (risco relativo, razão de chances, etc.) e diferentes modelos estatísticos (modelos de efeitos fixos e randômicos).

4.9 Qualidade metodológica

A qualidade metodológica não foi avaliada devido à ausência de estudos a respeito do tratamento da retinopatia diabética com a vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina.

5 RESULTADOS

Em relação à revisão sobre o uso da vitamina C e superóxido dismutase no tratamento da retinopatia diabética, um total de 241 publicações foram identificadas através da busca eletrônica. Destas, 28 foram identificados como contendo potenciais informações sobre o tratamento dos pacientes com retinopatia diabética utilizando-se estas substâncias e foram lidos na íntegra. Em relação à revisão sobre o uso da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética, um total de 97 publicações foram identificadas através da busca eletrônica. Destas, 17 foram identificados como contendo potenciais informações sobre o tratamento dos pacientes com retinopatia diabética utilizando-se esta substância e foram lidos na íntegra. Contudo, verificou-se que nenhum estudo, até o momento, avaliou o tratamento da retinopatia diabética com vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina segundo os critérios de inclusão de tal forma a indicar se o uso destas substâncias apresenta um impacto significativo sobre a progressão da doença ou sobre a incidência de cegueira.

Nenhum estudo, segundo os critérios de inclusão, avaliou, até o momento, o tratamento da retinopatia diabética com vitamina C, superóxido dismutase e / ou pentoxifilina de tal forma a indicar se o uso destas substâncias apresenta um impacto significativo sobre a progressão da doença ou sobre a incidência de cegueira.

6 DISCUSSÃO

Há evidências de um papel-chave dos radicais livres na patogênese da retinopatia diabética. A retina é rica em ácidos graxos poliinsaturados e apresenta taxas de oxidação de glicose e de captação de oxigênio maiores do que qualquer outro tecido, sendo, assim, extremamente suscetível ao estresse oxidativo aumentado. Alterações na atividade das enzimas do sistema antioxidante (tais como a superóxido dismutase) parecem ser uma das possíveis fontes do estresse oxidativo no diabete. Evidências recentes também apontam para a participação das espécies reativas do oxigênio na cascata mitogênica iniciada pelos receptores de tirosina quinase de vários fatores de crescimento, incluindo-se o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF). Os antioxidantes, ao menos, inibem algumas anormalidades metabólicas e alterações patológicas induzidas pela hiperglicemia. Portanto, é razoável se postular que um tratamento antioxidante pode ser útil para se prevenir a progressão da retinopatia diabética e que combinações de medicamentos poderiam ser necessárias para se prevenir a perda visual em pacientes diabéticos. O ácido ascórbico está presente em grandes concentrações nos olhos humanos e a sua habilidade de “varrer” espécies reativas do oxigênio pode ter importância no tratamento da retinopatia diabética. O papel biológico da superóxido dismutase é o de “varrer” o superóxido, o qual é gerado *in vivo* após a exposição ao oxigênio. O Epitélio Pigmentado Retiniano (EPR) contém elevados níveis de Manganês-Superóxido Dismutase e uma redução dos seus níveis pode estar relacionada à lesão retiniana. Antioxidantes, tais como a vitamina C e a superóxido dismutase, podem proporcionar efeitos benéficos adicionais a pacientes com retinopatia diabética. Contudo, nenhum estudo clínico com estas substâncias foi realizado até o momento. Visto que a vitamina C e a superóxido dismutase apresentam potencial de influenciar positivamente a doença ocular, estas substâncias deveriam ser investigadas através de um ensaio clínico randomizado com desfechos como incidência de cegueira, progressão da retinopatia diabética, qualidade de vida e efeitos adversos do tratamento.

A oclusão capilar é um evento precoce na patogênese da retinopatia diabética. Há evidências de que a pentoxifilina induz a normalização dos padrões reológicos sanguíneos bem como uma redução significativa das taxas de excreção urinária de albumina e de proteína total. Estudos abertos mostraram que diabéticos tratados com pentoxifilina apresentaram uma absorção mais precoce da hemorragia retiniana e uma incidência significativamente menor de neovascularização. Em alguns casos, houve uma melhora significativa do tempo braço-retina e uma redução marcante de áreas avasculares. Estes resultados preliminares sugerem que a pentoxifilina pode ser eficaz na prevenção de neovascularização retiniana ou intra-retiniana e na melhoria da recuperação dessas desordens. Portanto, antiagregantes como a pentoxifilina podem proporcionar efeitos benéficos adicionais a pacientes com retinopatia diabética. Contudo, nenhum ensaio clínico randomizado investigou esta hipótese.

7 CONCLUSÕES DOS AUTORES

Nenhuma pesquisa, até o momento, examinou de forma adequada o tratamento da retinopatia diabética com a vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina de tal forma a indicar se tais formas de intervenção apresenta um impacto significativo sobre o progresso desta condição clínica. O potencial papel destas substâncias no tratamento da retinopatia diabética permanece aberto ao debate, e sugere-se que futuras pesquisas com o enfoque orientado em desfechos clínicos deveriam ser realizadas para avaliar um assunto de tal relevância.

7.1 Implicações para a prática

Na ausência de estudos a respeito de potenciais tratamentos farmacológicos da retinopatia diabética (tais como vitamina C, superóxido dismutase e pentoxifilina), a fotocoagulação a laser continua sendo o tratamento primário desta condição clínica.

7.2 Implicações para a pesquisa

Como a fotocoagulação a laser constitui um procedimento invasivo que destrói células retinianas, novas abordagens deveriam ser desenvolvidas para se prevenir ou se regredirem as lesões retinianas em diabéticos.

O papel dos radicais livres na patogênese da retinopatia diabética e os potenciais efeitos terapêuticos da vitamina C e da superóxido dismutase no tratamento da doença ocular diabética permanecem abertos ao debate.

O papel da oclusão capilar na patogênese da retinopatia diabética e o potencial efeito terapêutico da pentoxifilina no tratamento desta desordem clínica também permanecem abertos ao debate.

Desta forma, sugere-se que futuras pesquisas, feitas com ensaios clínicos randomizados que abordem tais tratamentos, sejam realizadas. Desta forma, poder-se-ia elaborar ensaios clínicos com as seguintes características:

- a. Estabelecimento do diagnóstico de DM segundo os critérios vigentes;
- b. Estabelecimento do diagnóstico, estágio e da gravidade da RD por um oftalmologista segundo os critérios vigentes;

- c. Padronização de desfechos e variáveis a serem medidas para se viabilizar a síntese dos resultados obtidos a partir de estudos diversos;
- d. Planejamento da quantificação formal de prováveis efeitos adversos associados, como hemocromatose, aumento da excreção de ácido úrico e de oxalato (com o conseqüente desenvolvimento de cálculos renais), náuseas, vômitos, diarréia, inapetência, vertigem, cefaléia e efeitos sobre o sistema cardiovascular ou sobre o sistema nervoso central;
- e. Avaliação da adesão ao tratamento após o término do estudo;
- f. Análise dos benefícios e possíveis malefícios a longo prazo;
- g. Avaliação da possível relação entre dose e resposta;
- h. Análise dos custos com vistas a se implementar a intervenção estudada na Rede Pública de Saúde.

Anexo 1

Critérios diagnósticos da retinopatia diabética da **American Academy of Ophthalmology**

Diagnóstico e classificação da retinopatia diabética

| Grau de retinopatia | Achados observados à fundoscopia |
|-------------------------------|--|
| Sem retinopatia | Ausência de anormalidades |
| RD não-proliferativa leve | Apenas microaneurismas |
| RD não-proliferativa moderada | Mais do que apenas microaneurismas, mas menos do que RD não-proliferativa grave |
| RD não-proliferativa grave | Ausência de RD proliferativa e qualquer das alterações a seguir: mais de 20 hemorragias intra-retinianas em cada um dos 4 quadrantes; dilatação venosa em 2 ou mais quadrantes; anormalidades microvasculares intra-retinianas em 1 ou mais quadrantes |
| RD proliferativa | Neovascularização, hemorragia vítrea pré-retiniana |

RD = retinopatia diabética

Referência:

1. Esteves J, Laranjeira AF, Roggia MF, Dalpizol M, Scocco C, Kramer CK, et al. Fatores de risco para retinopatia diabética. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo*, 2008;**52(3)**:432-441.

Anexo 2

Artigos excluídos (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética)

Artigos excluídos (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética)

| | |
|------------------|---|
| Bandello 2003 | Artigo de revisão. |
| Caldwell 2005 | Artigo de revisão. |
| Comer 2004 | Artigo de revisão. |
| Comer 2005 | Artigo de revisão. |
| Cunha-Vaz 1979 | Artigo de revisão. |
| Cunha-Vaz 2004 | Artigo de revisão. |
| De La Cruz 2004 | Artigo de revisão. |
| Gaede 2006 | Estudo sobre uma intervenção multifatorial em pacientes com diabetes melito 2. |
| Gupta 2005 | Neste estudo, o estresse oxidativo (mensurado através dos níveis de malondialdeído, superóxido dismutase, glutationala peroxidase e vitamina C) foi medido em 50 controles normais, 40 diabéticos sem complicações, 22 diabéticos com retinopatia proliferativa e em 20 com retinopatia não-proliferativa, respectivamente. |
| Ivanisevic 1994 | Artigo de revisão. |
| Jennings 1987 | Estudo que investigou as concentrações de ácido ascórbico e de-hidro-ascórbico em diabéticos e controles normais pareados. |
| Juhl 2004 | O estudo descreve uma redução da taxa de escape transciliar de albumina em diabéticos do tipo 1 tratados com vitamina C. |
| Kowluru 2001 | Artigo de revisão. |
| Leal 2005 | Artigo de revisão. |
| Mamputu 2004 | Os autores examinaram o efeito <i>in vitro</i> dos produtos finais de glicosilação avançada sobre a adesão de monócitos humanos às células endoteliais bovinas e os mecanismos moleculares envolvidos neste processo. |
| Mayer-Davis 1998 | Estudo epidemiológico. |

| | |
|--------------------|--|
| Millen 2003 | Estudo epidemiológico. |
| Newport 2005 | Estudo epidemiológico. |
| Palmieri 2006 | Artigo de revisão. |
| Porta 2004 | Artigo de revisão. |
| Rema 1995 | Estudo epidemiológico. |
| Sinclair 1992 | Este estudo mensurou a atividade dos radicais livres usando o ácido tiobarbitúrico, malondialdeído e a glutathione reduzida. |
| Soro-Paavonen 2006 | Artigo de revisão. |
| Vinson 1994 | Estudo que investigou os efeitos benéficos da vitamina C e E sobre as concentrações de sorbitol, a glicação e a peroxidação lipídica. |
| Wang 2005 | Artigo de revisão. |
| Wegewitz 2005 | Artigo de revisão. |
| Yam 2007 | Artigo de revisão. |
| Yildirim 2007 | Estudo que investigou a correlação entre cobre, zinco, óxido nítrico, glutathione, produtos finais da glicação avançada e superóxido dismutase plasmáticos e a gravidade da retinopatia diabética. |

Anexo 3

Artigos excluídos (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina na retinopatia diabética)

Artigos excluídos (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina na retinopatia diabética)

| | |
|------------------|---|
| Bloomgarden 1999 | Artigo de revisão. |
| Desai 2007 | Artigo de revisão |
| Gincherman 1982 | O objetivo deste artigo foi estudar a coagulação sangüínea em 78 pacientes com diabete melito durante o tratamento da retinopatia diabética com drogas antiagregantes e hemostáticas. |
| Gol'tseva 1983 | Os grupos deste estudo eram diferentes daqueles do protocolo. |
| Ivanisevic 1994 | Artigo de revisão. |
| Iwafune 1980 | O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da pentoxifilina oral em pacientes com hemorragia retiniana causada por distúrbios da circulação retiniana, isto é, obstrução da artéria ou da veia centrais da retina na retinopatia diabética e na policitemica. |
| Katznelson 1980 | O objetivo deste artigo foi avaliar o efeito da pentoxifilina sobre a oxigenação da câmara anterior e a atividade bioelétrica da retina. |
| McCarty 1980 | Artigo de revisão. |
| Parikh 2004 | Artigo de revisão. |
| Polunin 1993 | O artigo é diferente do que consta na referência. |
| Radfar 2005 | Os grupos deste estudo são diferentes daqueles do protocolo. |
| Saldan 1984 | O objetivo deste estudo foi investigar o papel das alterações da coagulação sangüínea na patogênese da retinopatia diabética. |
| Schubotz 1975 | Não constitui um ensaio clínico randomizado e não investigou a retinopatia diabética. |
| Schubotz 1975a | Não constitui um ensaio clínico randomizado e não investigou a retinopatia diabética. |

- Solerte 1985 O objetivo deste estudo foi avaliar a filtrabilidade eritrocitária, a redução dos níveis de fibrinogênio, a proteinúria e as taxas de excreção da albumina.
- Sonkin 1993 O objetivo deste estudo foi determinar se a petoxifilina oral melhoraria a hemodinâmica microvascular retiniana e a hemorreologia em pacientes diabéticos.
- Wroe 2001 Relato de conferência.

Anexo 4

Estratégia de busca (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética)

Estratégia de busca (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética)

substitute for one or no characters; tw = text word; pt = publication type; sh = MeSH; adj = adjacent.

1. *exp Diabetic Retinopathy/*
2. *exp Retinal Detachment/*
3. *exp Retinal Degeneration/*
4. *exp retinal hemorrhage/ or exp retinal neovascularization/ or exp vitreoretinopathy, proliferative/*
5. *vitreous detachment/ or vitreous hemorrhage/*
6. *(eye diseas\$ or blindness or visual loss\$ or vitrectom\$ or cataract\$).ti.*
7. *retina\$ detachment\$.ti,ab.*
8. *vitreous haemorrhag\$.ti,ab.*
9. *vitreous hemorrhag\$.ti,ab.*
10. *(macular adj (oedema or edema)).ti,ab.*
11. *microaneurysm\$.ti,ab.*
12. *neovascular\$.ti,ab.*
13. *fibrous tissue\$.ti,ab.*
14. *(retinopath\$ or retinitis or maculopath\$).ti.*
15. *(macula defect\$ or macula degeneration\$).ti.*
16. *(macula\$ adj (defect\$ or degeneration\$)).ti,ab.*
17. *or/2-16.*
18. *exp diabetes mellitus/*
19. *diabet\$.tw.*
20. *IDDM.tw.*
21. *NIDDM.tw.*
22. *MODY.tw.*

23. *(maturity onset adj diabet\$).tw.*
24. *hyperinsulin\$.tw.*
25. *insulin sensitiv\$.tw.*
26. *insulin\$ resist\$.tw.*
27. *(non insulin\$ depend\$ or noninsulin\$ depend\$ ar non insulin?depend\$ or noninsulin?depend\$) .tw.*
28. *((typ\$ 1 or typ\$ 2) and diabet\$).tw.*
29. *((typ\$ I or typ\$ II) and diabet\$).tw.*
30. *exp Insulin Resistance/*
31. *(insulin\$ depend\$ or insulin?depend\$).tw.*
32. *or/18-31.*
33. *17 and 32.*
34. *1 or 33.*
35. *exp Ascorbic Acid/*
36. *exp Antioxidants/tu [Therapeutic Use].*
37. *Vitamin\$ C.tw.*
38. *ascorbic acid.tw.*
39. *SOD.tw.*
40. *exp Superoxide Dismutase/*
41. *superoxide dismutase.tw.*
42. *(antioxidant adj6 (drug\$ or therap\$ or treatment\$)).tw.*
43. *(anti adj6 oxidants).tw.*
44. *35 or 36 or 37 or 38 or 39 or 40 or 41 or 42 or 43.*
45. *34 and 44.*
46. *randomized controlled trial.pt.*
47. *controlled clinical trial.pt.*
48. *randomized controlled trials.sh.*

49. *random allocation.sh.*
50. *double-blind method.sh.*
51. *single-blind method.sh.*
52. *46 or 47 or 48 or 49 or 50 or 51.*
53. *limit 52 to animal.*
54. *limit 52 to human.*
55. *53 not 54.*
56. *52 not 55.*
57. *clínical trial.pt.*
58. *exp clinical trials/*
59. *(c1inic\$ adj25 trial\$).tw.*
60. *«singl\$ or doubl\$ or trebl\$ or tripl\$) adj (mask\$ or blind\$).tw.*
61. *placebos.sh.*
62. *placebo\$.tw.*
63. *random\$.tw.*
64. *research design.sh.*
65. *(latin adj square).tw.*
66. *57 or 58 or 59 or 60 or 61 or 62 or 63 or 64 or 65.*
67. *limit 66 to animal.*
68. *limit 66 to human.*
69. *67 not 68.*
70. *66 not 69.*
71. *comparative study.sh.*
72. *exp evaluation studies/*
73. *follow-up studies.sh.*
74. *prospective studies.sh.*

75. *(control\$ or prospectiv\$ or volunteer\$).tw.*
76. *cross-over studies.sh.*
77. *71 or 72 or 73 or 74 or 75 or 76.*
78. *limit 77 to animal.*
79. *limit 77 to human.*
80. *78 not79.*
81. *77 not 80.*
82. *56 or 70 or 81.*
83. *45 and 82.*

Anexo 5

Estratégia de busca (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina na retinopatia diabética)

Estratégia de busca (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina na retinopatia diabética)

exp = exploded MeSH: Medical subject heading (Medline medical index term); (\$) stands for any character(s); ab=abstract; ot=original title; pt = publication type; sh = MeSH: Medical subject heading (Medline medical index term); ti=title.

I. Pentoxifylline

1. *exp Pentoxifylline/*
2. *(pentoxifyllin\$ or trental or torental or agapurin).ab,ti,ot.*
3. *bl-191.ab,ti,ot.*
4. *6493-05-6.m.*
5. *exp Phosphodiesterase inhibitors/*
6. *phosphodiesterase inhibitor\$.ab,ti,ot.*
7. *or/1-6*

II. Diabetic retinopathy

8. *exp Diabetic Retinopathy/*

III. Eye diseases

9. *exp Retinal Detachment/*
10. *exp Retinal Degeneration/*
11. *exp retinal hemorrhage/ or exp retinal neovascularization/ or exp vitreoretinopathy, proliferative/*
12. *vitreous detachment/ or vitreous hemorrhage/*
13. *(eye diseas\$ or blindness or visual loss\$ or vitrectom\$ or cataract\$).ab,ti,ot.*
14. *retina\$ detachment\$.ab,ti,ot.*
15. *vitreous haemorrhag\$.ab,ti,ot.*

16. *vitreous hemorrhag\$.ab,ti,ot.*
17. *(macular adj (oedema or edema)).ab,ti,ot.*
18. *microaneurysm\$.ab,ti,ot.*
19. *neovascular\$.ab,ti,ot.*
20. *fibrous tissue\$.ab,ti,ot.*
21. *(retinopath\$ or retinitis or maculopath\$).ab,ti,ot.*
22. *(macula defect\$ or macula degeneration\$).ab,ti,ot.*
23. *(macula\$ adj (defect\$ or degeneration\$)).ab,ti,ot.*
24. *or/9-23.*

IV. Diabetes mellitus

25. *exp diabetes mellitus/*
26. *diabet\$.ab,ti,ot.*
27. *IDDM.ab,ti,ot.*
28. *NIDDM.ab,ti,ot.*
29. *MODY.ab,ti,ot.*
30. *(maturity onset adj diabet\$).ab,ti,ot.*
31. *hyperinsulin\$.ab,ti,ot.*
32. *insulin sensitiv\$.ab,ti,ot.*
33. *insulin\$ resist\$.ab,ti,ot.*
34. *(non insulin\$ depend\$ or noninsulin\$ depend\$ or non insulin?depend\$ or noninsulin?depend\$).ab,ti,ot.*
35. *((typ\$ 1 or typ\$ 2) and diabet\$).ab,ti,ot.*
36. *((typ\$ I or typ\$ II) and diabet\$).ab,ti,ot.*
37. *exp Insulin Resistance/*
38. *(insulin\$ depend\$ or insulin?depend\$).ab,ti,ot.*
39. *or/25-38.*

V. Eye diseases + Diabetes mellitus

40. 24 and 39.

VI. Diabetic retinopathy

41. 8 or 40.

VII. RCT/CCT (sensitive search)

Part 1

- 42. *randomized controlled trial.pt.*
- 43. *controlled clinical trial.pt.*
- 44. *randomized controlled trials.sh.*
- 45. *random allocation.sh.*
- 46. *double-blind method.sh.*
- 47. *single-blind method.sh.*
- 48. *or/42-48.*

Part 2

- 49. *clinical trial.pt.*
- 50. *exp clinical trials/*
- 51. *(clinic\$ adj25 trial\$).ab,ti,ot.*
- 52. *((singl\$ or doubl\$ or trebl\$ or tripl\$) adj (mask\$ or blind\$)).ab,ti,ot.*
- 53. *placebos.sh.*
- 54. *placebo\$.ab,ti,ot.*
- 55. *random\$.ab,ti,ot.*
- 56. *research design.sh.*
- 57. *(latin adj square).ab,ti,ot.*

58. *or/49-57.*

Part 3

59. *comparative study.pt.*

60. *exp evaluation studies/*

61. *follow-up studies.sh.*

62. *prospective studies.sh.*

63. *(control\$ or prospectiv\$ or volunteer\$).ab,ti,ot.*

64. *cross-over studies.sh.*

65. *or/59-64.*

66. *48 or 58 or 65.*

VIII. Pentoxifylline + Diabetic retinopathy + RCT/CCT

67. *7 and 41 and 66.*

IX. Meta-analysis

68. *exp meta-analysis/*

69. *exp Review Literature/*

70. *meta-analysis.pt.*

71. *review.pt.*

72. *or/68-71.*

73. *letter.pt.*

74. *comment.pt.*

75. *editorial.pt.*

76. *historical-article.pt.*

77. *or/73-76.*

- 78. 72 not 77.
- 79. ((systematic\$ or quantitativ\$ or methodologic\$) adj (review\$ or overview\$)).ab,ti,ot.
- 80. meta?anal\$.ab,ti,ot.
- 81. (integrativ\$ research review\$ or research integration\$).ab,ti,ot.
- 82. quantitativ\$ synthes\$.ab,ti,ot.
- 83. (pooling\$ or pooled analys\$ or mantel\$ haenszel\$).ab,ti,ot.
- 84. (peto\$ or der?simonian\$ or fixed effect\$ or random effect\$).ab,ti,ot.
- 85. or/79-84.
- 86. 78 or 85.

X. Pentoxifylline + Diabetic retinopathy + Meta-analysis

- 87. 7 and 41 and 86.

XI. VIII + X

- 88. 67 or 87.
- 89. limit 88 to animal.
- 90. limit 88 to human.
- 91. 89 not 90.
- 92. 88 not 91.

Anexo 6

Publicação na **Cochrane Library** (Vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética)

Publicação na Cochrane Library (Vitamina C e superóxido dismutase na retinopatia diabética)

Vitamin C and superoxide dismutase (SOD) for diabetic retinopathy [Review]

CC Lopes de Jesus, AN Atallah, O Valente, VF Moça Trevisani

Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 3 (Status: Unchanged)

Copyright © 2008 The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

DOI: 10.1002/14651858.CD006695.pub2 This version first published online: 23 January 2008 in Issue 1, 2008

Date of Most Recent Substantive Amendment: 14 November 2007

This record should be cited as: CC Lopes de Jesus, AN Atallah, O Valente, VF Moça Trevisani. Vitamin C and superoxide dismutase (SOD) for diabetic retinopathy. Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 1. Art. No.: CD006695. DOI: 10.1002/14651858.CD006695.pub2.

Abstract

Background

There is increasing evidence that diabetic retinopathy is caused by the action of free radicals. Radical scavengers like vitamin C and superoxide dismutase (SOD) may influence the outcome and progression of diabetic retinopathy, but no systematic review of the literature has been published to examine this hypothesis.

Objectives

The aim of the current research was to review the literature in a standard systematic way in order to assess the effects of vitamin C and superoxide dismutase on diabetic retinopathy in methodologically robust trials.

Search strategy

We tried to obtain studies from computerised searches of MEDLINE, EMBASE, CINAHL, Web of Science and The Cochrane Library.

Selection criteria

Only randomized clinical trials (RCTs) that evaluated the effect of vitamin C, superoxide dismutase or both in the treatment of diabetic retinopathy were considered.

Data collection and analysis

Two authors independently read all abstracts, titles or both and wanted to assess risk of bias and to perform data extraction. Discrepancies were planned to be resolved by consensus or by the judgement of a third author.

Main results

A total of 241 publications were identified by the electronic searches. Of these, 28 were identified as potentially containing information about the treatment of patients with diabetic retinopathy using vitamin C or SOD and were read in full. No trial evaluated the treatment of diabetic retinopathy with vitamin C or SOD.

Authors' conclusions

No research to date has adequately examined the treatment of diabetic retinopathy with vitamin C or SOD in such a way as to indicate whether this form of intervention has a significant impact on the progress of this clinical condition. The potential role of these substances in the treatment of diabetic retinopathy remains open to debate, and it is suggested that future research focusing on patient-oriented outcomes should address this important issue.

Background

Description of the condition

Diabetes mellitus is a metabolic disorder resulting from a defect in insulin secretion, insulin action, or both. A consequence of this is chronic hyperglycaemia (that is elevated levels of plasma glucose) with disturbances of carbohydrate, fat and protein metabolism. Long-term complications of diabetes mellitus include retinopathy, nephropathy and neuropathy. The risk of cardiovascular disease is increased. For a detailed overview of diabetes mellitus, please see under 'Additional information' in the information on the Metabolic and Endocrine Disorders Group in The Cochrane Library (see 'About', 'Cochrane Review Groups (CRGs)'). For an explanation of methodological terms, see the main glossary in The Cochrane Library.

During the first two decades of the disease, nearly all patients with type 1 diabetes and more than 60% of patients with type 2 diabetes develop retinopathy. In the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR), 3.6% type 1 diabetes and 1.6% type 2 diabetes patients were legally blind. In the younger-onset group, 86% of blindness was attributable to diabetic retinopathy. In the older-onset group, one-third of legal blindness was associated with diabetic retinopathy (Klein 1984).

Diabetic retinopathy is detected clinically by the presence of visible ophthalmoscopic retinal microvascular lesions in an individual with diabetes mellitus. Retinopathy can be classified as non proliferative (NPDR) and proliferative diabetic retinopathy (PDR). NPDR is again divided into NPDR with maculopathy, NPDR without maculopathy and pre-proliferative retinopathy.

NPDR indicates progressive ischemia in the retina and an increased risk for the development of PDR and blindness. The prominent features of NPDR include microaneurysms, dot or blot haemorrhages, venous abnormalities, hard yellow exudates, intraretinal microvascular abnormalities, and cotton wool spots. Maculopathy is defined as the presence of oedema, haemorrhages, exudates, retinal thickening within five mm of the fovea, with or without visual loss or a combination of these factors. Pre-proliferative diabetic retinopathy is the stage before the onset of neovascularization and is characterized by extensive retinal haemorrhages, marked venous beading, numerous cotton wool spots or retinal infarcts, intra-retinal microvasculature abnormalities and marked retinal ischemia as evidenced by capillary drop-outs in the fundus fluorescein angiogram. Proliferative diabetic retinopathy is characterized by retinal new vessels, fibrous tissue, pre-retinal haemorrhage, vitreous haemorrhage, vitreoretinal traction and localized retinal detachment (Balasubramanyam 2002).

Laser photocoagulation is the primary means by which ophthalmologists control the progression of macular edema and neovascularization. Since it is still an invasive procedure destroying the retinal cells, pharmacotherapeutic approaches were developed to prevent or regress retinal lesions in diabetic people (Balasubramanyam 2002).

Description of the intervention and how the intervention might work

Studies revealed the retina is high in polyunsaturated fatty acids and has the highest glucose oxidation and oxygen uptake of any tissue, thus being extremely susceptible to increased oxidative stress. Impaired activities of antioxidant defence enzymes such as superoxide dismutase (SOD) appear to be one of the possible sources of oxidative stress in diabetes. Recent evidence also points to reactive oxygen species (ROS) in the mitogenic cascade initiated by the tyrosine kinase receptors of several growth factors, including vascular endothelial growth factor (VEGF) (Balasubramanyam 2002).

In 1969, McCord and Fridovich reported on an enzyme capable of removing the superoxide radical catalytically. They named this enzyme superoxide dismutase. There are three types of SOD: Copper-zinc SOD (CuZn-SOD), manganese SOD (Mn-SOD) and iron SOD (Fe-SOD) - being present only in bacteria, algae and higher plants. The discovery of SOD enzymes led to two important facts: 1. the superoxide theory of oxygen toxicity (which proposes that superoxide is a major factor in oxygen toxicity and that SODs are an essential defence against it) and 2. the introduction of the concept of antioxidants (any substance that, when present at low concentrations compared with those of an oxidizable substrate, significantly delays or prevents oxidation of that

substance) (Halliwell 1999). It is now accepted that the biological role of SOD is to scavenge superoxide, which is known to be generated *in vivo* after oxygen exposure (Fridovich 1995).

SOD is present in all eye tissues. The SOD activities of most eye tissues are largely inhibited by cyanide and thus most activity can be attributed to CuZn-SOD. The retinal pigment epithelium additionally contains high levels of mitochondrial Mn-SOD (Evans 1995). Lens SOD can also be glycosylated in diabetes, causing loss of some enzymatic activity.

In May 1747, James Lind, a Scottish naval surgeon, probably conducted the first controlled clinical trial in medical history. He tested a variety of reputed remedies on 12 scurbutic sailors. Two of them were restricted to a control diet, but each of the others was additionally given one of the substances under trial. The two seamen who were provided with two oranges and a lemon each day made a speedy recovery. The only other sailors to show any signs of recovery were those who had been given cider. Lind observed no improvement in the condition of those who had been given either oil of vitriol, vinegar, sea-water (popular remedies for scurvy at the time) or just the control diet. But, surprisingly, it was not until 1795 that the British Admiralty finally agreed to Lind's demands for a regular issue of lemon juice on British ships (Nishikimi 1996).

Ascorbic acid is present at high concentrations in the lens, cornea, retinal pigment epithelium, and aqueous humour of humans, monkeys and many other animals. Its ability to recycle α -tocopheryl radical and scavenge superoxide, singlet oxygen, hydroxyl and other free radicals may be of importance, for example, in the treatment of diabetic retinopathy. Vitamin C readily scavenges reactive oxygen and nitrogen species, such as superoxide and hydroperoxyl radicals, aqueous peroxy radicals, singlet oxygen, ozone, peroxy nitrite, nitrogen dioxide, nitroxide radicals, and hypochlorous acid (Carr 1999).

Adverse effects of the intervention

The known adverse effects of vitamin C are haemochromatosis or iron overload, increased uric acid and oxalate excretion with the consequent development of kidney stones, nausea, vomiting and diarrhea (Campos 1999). There are no known adverse effects of superoxide dismutase (Campos 1999).

Why it is important to do this review

Diabetic retinopathy is the most frequent cause of new cases of blindness among adults aged 20 to 74 years. That represents nearly all patients with type 1 diabetes and more than 60% of patients with type 2 diabetes (Fong 2003). This systematic review represents an attempt to offer novel ways of preventing or regressing the progression of diabetic retinopathy.

Objectives

To assess the effects of vitamin C and superoxide dismutase for diabetic retinopathy.

Criteria for considering studies for this review**Types of studies**

We considered randomized clinical trials (RCTs) that evaluated the effect of vitamin C, superoxide dismutase or both on diabetic retinopathy.

Types of participants

We planned to include adult patients aged 20 to 75 years with diabetic retinopathy, detected clinically by the presence of visible ophthalmoscopic retinal microvascular lesions.

To be consistent with changes in classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus through the years, the diagnosis should have been established using the standard criteria valid at the time of the beginning of the trial (for example ADA 1997; ADA 1999; WHO 1980; WHO 1985; WHO 1998). Ideally, diagnostic criteria should have been described. If necessary, authors' definition of diabetes mellitus was planned to be used. The same applied to diagnostic criteria of diabetic retinopathy. Diagnostic criteria would be eventually subjected to a sensitivity analysis.

Types of intervention

We considered the following types of intervention:

- 1. Vitamin C versus no treatment;*
- 2. Vitamin C versus placebo;*
- 3. Vitamin C versus photocoagulation;*
- 4. Superoxide dismutase versus no treatment;*
- 5. Superoxide dismutase versus placebo;*
- 6. Superoxide dismutase versus photocoagulation;*
- 7. Vitamin C and superoxide dismutase versus no treatment;*
- 8. Vitamin C and superoxide dismutase versus placebo;*
- 9. Vitamin C and superoxide dismutase versus photocoagulation.*

Types of outcome measures**Primary outcomes**

We wanted to evaluate the efficacy of vitamin C and superoxide dismutase for diabetic retinopathy by considering the following endpoints:

1. Progression of diabetic retinopathy;
2. Incidence of blindness.

Secondary outcomes

1. Mortality (all-cause mortality; diabetes related mortality (death from myocardial infarction, stroke, peripheral vascular disease, renal disease, hyper- or hypoglycaemia or sudden death));
2. Morbidity (all-cause morbidity as well as diabetes and cardiovascular related morbidity, for example angina pectoris, myocardial infarction, stroke, peripheral vascular disease, neuropathy, retinopathy, nephropathy, erectile dysfunction, amputation);
3. Adverse effects;
4. Health-related quality of life;
5. Costs.

Covariates and effect modifiers

1. Duration of diabetes mellitus;
2. Duration of diabetic retinopathy;
3. Glycaemic control;
4. Blood pressure control;
5. Use of ACE inhibitors;
6. Presence of other systemic diseases.

Timing of outcome assessment

We planned to measure outcomes in medium and long term trials, depending on data.

Search methods for identification of studies

See: Metabolic & Endocrine Disorders Group methods used in reviews.

Electronic searches

We used the following sources for the identification of trials:

1. The Cochrane Library (issue 2, 2006);

2. MEDLINE (until June 2006);
3. EMBASE (until October 2006);
4. CINAHL (until October 2006);
5. Web of Science (October 2006).

We also searched databases of ongoing trials: Current Controlled Trials (www.controlled-trials.com - with links to other databases of ongoing trials).

The described search strategy (see for a detailed search strategy under 'Additional tables' - Table 01) was used for MEDLINE. For use with EMBASE, The Cochrane Library and the other databases this strategy was slightly adapted.

Other sources

We contacted experts in order to identify unpublished research and trials still underway.

Reference lists

We tried to identify additional studies by searching the reference lists of included trials and (systematic) reviews, meta-analyses and health technology assessment reports noticed.

Studies published in any language would be included.

Methods of the review

Selection of studies

To determine the studies to be assessed further, two authors (CCLJ and VFMT) independently scanned the abstract, titles or both sections of every record retrieved. All potentially relevant articles were investigated as full text. Interrater agreement for study selection was measured using the kappa statistic (Cohen 1960). Differences were marked and if these studies were later on included, the influence of the primary choice would be subjected to a sensitivity analysis. Where differences in opinion existed, they were resolved by a third party. If resolving disagreement was not possible, the article was added to those 'awaiting assessment' and authors would be contacted for clarification. An adapted QUOROM (quality of reporting of meta-analyses) flow-chart of study selection would be attached (Moher 1999).

Data extraction and management

For studies that fulfilled inclusion criteria, two authors (CCLJ and VFMT) would independently abstract relevant population and intervention characteristics using standard data extraction templates with any disagreements to be resolved by

discussion, or if required by a third party. Any relevant missing information on the trial would be sought from the original author(s) of the article, if required.

Assessment of methodological quality of included studies

Two authors (CCLJ and VFMT) would assess each trial independently. Possible disagreement would be resolved by consensus, or with consultation of a third party in case of disagreement. We planned to explore the influence of individual quality criteria in a sensitivity analysis (see under 'sensitivity analyses'). Interrater agreement for key quality indicators would be calculated using the kappa statistic (Cohen 1960). In cases of disagreement the rest of the group would be consulted and a judgement would be made based on consensus.

Additionally, we would assess the quality of reporting each trial based largely on the quality criteria specified by Schulz and Jadad (Jadad 1996; Schulz 1995). In particular, the following factors would be studied:

(1) Minimisation of selection bias: a) was the randomisation procedure adequate? b) was the allocation concealment adequate?

(2) Minimisation of performance bias: were the patients and people administering the treatment blind to the intervention?

(3) Minimisation of attrition bias: a) were withdrawals and dropouts completely described? b) was analysis by intention-to-treat?

(4) Minimisation of detection bias: were outcome assessors blind to the intervention?

Based on these criteria, studies would be broadly subdivided into the following three categories according to the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (Higgins 2005).

a) All quality criteria met: low risk of bias.

b) One or more of the quality criteria only partly met: moderate risk of bias.

c) One or more criteria not met: high risk of bias.

Dealing with missing data

Relevant missing data would be obtained from authors, if feasible. Evaluation of important numerical data such as screened, eligible and randomised patients as well as intention-to-treat (ITT) and per-protocol (PP) population would be carefully performed. Attrition rates, for example drop-outs, losses to follow-up and withdrawals would be investigated. Issues of last-observation-carried-forward (LOCF), ITT and PP would be critically appraised and compared to specification of primary outcome parameters and power calculation.

Dealing with duplicate publications

In the case of duplicate publications and companion papers of a primary study, we would try to maximise yield of information by simultaneous evaluation of all available data. In cases of doubt, the original publication (usually the oldest version) would obtain priority.

Assessment of heterogeneity

In the event of substantial clinical or methodological or statistical heterogeneity, study results would not be combined by means of meta-analysis. Heterogeneity would be identified by visual inspection of the forest plots, by using a standard χ^2 -test and a significance level of $\alpha = 0.1$, in view of the low power of such tests. Heterogeneity would be specifically examined with I^2 (Higgins 2002), where I^2 values of 50% and more indicate a substantial level of heterogeneity (Higgins 2003). I^2 demonstrates the percentage of total variation across studies due to heterogeneity and would be used to judge the consistency of evidence.

When heterogeneity was found, we would attempt to determine potential reasons for it by examining individual study characteristics and those of subgroups of the main body of evidence.

Assessment of reporting biases

Funnel plots would be used in an exploratory data analysis to assess for the potential existence of small study bias. There are a number of explanations for the asymmetry of a funnel plot, including true heterogeneity of effect with respect to study size, poor methodological design of small studies and publication bias (Sterne 2001). Thus, this exploratory data instrument might be misleading and we would not place undue emphasis on this tool (Lau 2006).

Data synthesis (meta-analysis)

Data would be summarised statistically if they were available, sufficiently similar and of sufficient quality. Statistical analysis would be performed according to the statistical guidelines referenced in the newest version of the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (Higgins 2005).

Subgroup analysis and investigation of heterogeneity

Subgroup analyses would be mainly performed if one of the primary outcome parameters demonstrated statistically significant differences between intervention groups. In any other case subgroup analyses would be clearly marked as a hypothesis generating exercise.

The following subgroup analyses were planned:

1. Gender;
2. Geographical location of the study;
3. Duration of diabetes mellitus;
4. Diagnostic criteria for diabetes mellitus;
5. Duration of diabetic retinopathy;
6. Diagnostic criteria for diabetic retinopathy;
7. Comparator strategy.

Sensitivity analysis

We would perform sensitivity analyses in order to explore the influence of the following factors on effect size:

1. Repeating the analysis excluding unpublished studies;
2. Repeating the analysis taking account of study quality, as specified above;
3. Repeating the analysis excluding any very long or large studies to establish how much they dominate the results;
4. Repeating the analysis excluding studies using the following filters: diagnostic criteria, language of publication, source of funding (industry versus other), country.

The robustness of the results would also be tested by repeating the analysis using different measures of effects size (relative risk, odds ratio etc.) and different statistical models (fixed and random effects models).

Description of studies

We found no study which examined the treatment of diabetic retinopathy with vitamin C and superoxide dismutase.

Methodological quality

Methodological quality was not evaluated because of the absence of studies about the treatment of diabetic retinopathy with vitamin C and superoxide dismutase.

Results

No research to date has examined the treatment of diabetic retinopathy with vitamin C and superoxide dismutase in such a way as to indicate whether the use of these

substances has a significant impact on the progression of the disease or on the incidence of blindness.

Discussion

There is evidence of a key role of free radicals in the pathogenesis of diabetic retinopathy. The retina is high in polyunsaturated fatty acids and has the highest glucose oxidation and oxygen uptake of any tissue, thus being extremely susceptible to increased oxidative stress. Impaired activities of antioxidant defence enzymes (such as superoxide dismutase) appear to be one of the possible sources of oxidative stress in diabetes. Recent evidence also points to reactive oxygen species (ROS) in the mitogenic cascade initiated by the tyrosine kinase receptors of several growth factors including vascular endothelial growth factor (VEGF).

Antioxidants at least inhibit some retinal metabolic abnormalities and pathological changes induced by hyperglycemia. Therefore, it is reasonable to postulate that an antioxidative therapy may be useful to prevent the progression of diabetic retinopathy, combinations of drugs might be necessary to prevent vision loss in diabetic patients. Ascorbic acid is present at high concentrations in humans' eyes and its ability to scavenge reactive and oxygen species may be of importance in the treatment of diabetic retinopathy. Superoxide dismutase is present in all eye tissues. Its biological role is to scavenge superoxide, which is generated in vivo after oxygen exposure. The retinal pigment epithelium contains high levels of mitochondrial Manganese-Superoxide-Dismutase and a reduction in its level may be related to retinal lesion. Antioxidants, such as vitamin C and superoxide dismutase, may provide additional beneficial effects for patients with diabetic retinopathy. However, it appears that no clinical study with these substances has been performed so far. Since vitamin C and superoxide dismutase have the potential to positively influence diabetic eye disease these compounds should be investigated in RCTs on patient-oriented outcomes like incidence of blindness, progression of diabetic retinopathy, health-related quality of life and adverse effects of the treatment.

Authors' conclusions

Potential conflict of interest

None known.

Characteristics of excluded studies

Additional tables

Analyses

This review has no analyses.

Sources of support**External sources of support**

1. No sources of support supplied

Internal sources of support

2. No sources of support supplied

Index terms**Medical Subject Headings (MeSH)**

*Ascorbic Acid [*therapeutic use]; Diabetic Retinopathy [*drug therapy]; Free Radical Scavengers [*therapeutic use]; Superoxide Dismutase [*therapeutic use]*

MeSH check words

Humans

References**References to studies excluded from this review****Bandello 2003**

Bandello F, Pognuz R, Polito A, Pirracchio A, Menchini F, Ambesi M. Diabetic macular edema: classification, medical and laser therapy. Seminars in Ophthalmology 2003;18:251-58.

Caldwell 2005

Caldwell RB, Bartoli M, Behzadian MA, El Remessy AE, Al Shabrawey M, Platt DH, et al. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: role of oxidative stress. Current drug targets 2005;6:511-24.

Comer 2004

Comer GM, Ciulla TA. Pharmacotherapy for diabetic retinopathy [erratum appears in Curr Opin Ophthalmol 2005 Jun; 16(3): 195]. Current opinion in ophthalmology 2004;15:508-18.

Comer 2005

Comer GM, Ciulla TA. Current and future pharmacological intervention for diabetic retinopathy. Expert Opinion on Emerging Drugs 2005;10:441-55.

Cunha-Vaz 1979

Cunha-Vaz JG, Faria DA, Jr, Fonseca JR. Studies on diabetic retinopathy. III. Management. *Experientia Ophthalmologica* 1979;5:9-16.

Cunha-Vaz 2004

Cunha-Vaz JG. Medical treatment of retinopathy of type2-diabetes. *Ophthalmologica* 2004;218:291-96.

De La Cruz 2004

De La Cruz JP, Gonzalez-Correa JA, Guerrero A, De la Cuesta FS, et al. Pharmacological approach to diabetic retinopathy. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2004;20:91-113.

Gaede 2006

Gaede PH. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria: rationale and effect on late daibetic complications. *Danish Medical Bulletin* 2006;53:258-84.

Gupta 2005

Gupta MM, Chari S, Gupta MM, Chari S. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with diabetic retinopathy. *Indian journal of physiology and pharmacology* 2005;49:187-92.

Ivanisevic 1994

Ivanisevic M. Present approach to medical therapy of diabetic retinopathy. *Acta Clinica Croatica* 1944;33:221-7.

Jennings 1987

Jennings PE, Chirico S, Jones AF, Lunec J, Barnett AH, et al. Vitamin C metabolities and microangiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes research* 1987;6:151-4.

Juhl 2004

Juhl B. Vitamin C treatment reduces transcapillary escape rate of albumin in type 1 diabetes. *European Journal of Internal Medicine* 2004;15:428-35.

Kowluru 2001

Kowluru RA, Kennedy A. Therapeutical potential of anti-oxidants and diabetic retinopathy. *Expert opinion on investigational drugs* 2001;10:1665-76.

Leal 2005

Leal EC, Santiago AR, Ambrosio AF. Old and new drug targets in diabetic retinopathy: from biochemical changes to inflammation and neurodegeneration. *Current drug targets. CNS and neurological disorders* 2005;4:421-34.

Mamputu 2004

Mamputu JC, Renier G. Advanced glycation end-products increase monocyte adhesion to retinal endothelial cells through vascular endothelial growth factor-induced ICAM-1 expression: inhibitory effects of antioxidants. *Journal of Leukocyte Biology* 2004;75:1062-9.

Mayer-Davis 1998

Mayer-Davis EJ, Bell RA, Reboussin BA, Rushing J, Marshall JA, Hamman RF. Antioxidant nutrient intake and diabetic retinopathy: The San Luis Valley Diabetes Study. *Ophthalmology* 1998;105:2264-70.

Millen 2003

Millen AE, Gruber M, Klein R, Klein BEK, Palta M, Mares JA. Relations of serum ascorbic acid and α -tocopherol to diabetic retinopathy in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *American Journal of Epidemiology* 2003;158:225-233.

Newport 2005

Newport A, Lockwood B. Use of nutraceuticals for eye health. *Pharmaceutical Journal* 2005;275:261-4.

Palmieri 2006

Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: what for? Part I. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences* 2006;10:291-317.

Porta 2004

Porta M, Allione A. Current approaches and perspectives in the medical treatment of diabetic retinopathy. *Pharmacology & Therapeutics* 2004;103:167-77.

Rema 1995

Rema M, Mohan V, Bhaskar A, Shanmugasundaram KR, et al. Does antioxidant stress play a role in diabetic retinopathy?. *Indian journal of ophthalmology* 1995;43:17-21.

Sinclair 1992

Sinclair AJ, Girling AJ, Gray L, Lunec J, Barnett AH, et al. An investigation of the relationship between free radical activity and vitamin C metabolism in elderly diabetic subjects with retinopathy. *Gerontology* 1992;38:268-74.

Soro-Paavonen 2006

Soro-Paavonen A, Forbes JM. Novel therapeutics for diabetic micro- and macrovascular complications. *Current Medicinal Chemistry* 2006;13:1777-88.

Vinson 1994

Vinson J, Hsu C, Possanza C, Drack A, Pane D, Davis R, et al. Lipid peroxidation and diabetic complications: effect of antioxidant vitamins C and E. *Advances in experimental medicine and biology* 1994;366:430-2.

Wang 2005

Wang X-F. Therapeutic methods of diabetic retinopathy and its molecular biological study. *Zhongguo Lingchuan Kangfu* 2005;9:136-8.

Wegewitz 2005

Wegewitz U, Gohring I, Spranger J. Novel approaches in the treatment of angiogenic eye disease. *Current Pharmaceutical Design* 2005;11:2311-30.

Yam 2007

Yam JC, Kwok AK, Yam JCS, Kwok AKH. Update on the treatment of diabetic retinopathy. *Hong Kong medical journal* 2007;13:46-60.

Yildirim 2007

Yildirim Z, Ucgun NI, Kilic N, Gursel E, Sepici-Dincel A, et al. Antioxidant enzymes and diabetic retinopathy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1100:199-206.

Additional References**ADA 1997**

American Diabetes Association. Report on the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20 Suppl 1:S5-20.

ADA 1999

The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1999;22 Suppl 1:S5-19.

Balasubramanyam 2002

Balasubramanyam M, Rema M, Premanand C. Biochemical and molecular mechanisms of diabetic retinopathy. *Current Science* 2002;83:1506-14.

Campos 1996

Campos S. Medicina Biomolecular e Radicais Livres. São Paulo, Francolor Artes Gráficas e Editora Ltda., 1996:Vol 1:137-143.

Carr 1999

Carr A C, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 1999;6:1086-107.

Cohen 1960

Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 1960;20:37-46.

Evans 1995

Evans PJ. Metal ion release from mechanically-disrupted human arterial wall. Implications for the development of atherosclerosis. *Free Radicals Residence* 1995;23:465.

Fong 2003

Fong DS, Aiello L, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2003;26:99-102.

Fridovich 1995

Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry* 1995;64:97.

Halliwell 1999

Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition.* Oxford: Oxford University Press, 1999:23, 106 - 7.

Higgins 2002

Higgins JPT, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in medicine* 2002;21:1539-58.

Higgins 2003

Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analysis. *BMJ* 2003;327:557-60.

Higgins 2005

Higgins JPT, Green S, editors. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 4.2.5 [updated May 2005]. In: The Cochrane Library, Issue 3, 2005. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.*

Jadad 1996

Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: Is blinding necessary?. *Controlled Clinical Trials* 1996;17:1-12.

Klein 1984

Klein R, Klein BE, Mors SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Archives of Ophthalmology* 1984;102(4):532-52.

Lau 2006

Lau J, Ioannidis JPA, Terrin N, Schmid CH, Olkin I. The case of the misleading funnel plot. *BMJ* 2006;333:597-600.

Moher 1999

Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. *Quality of Reporting of Meta-analyses. Lancet* 1999;354(9193):1896-900.

Nishikimi 1996

Nishikimi M, Yagi K. Biochemistry and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis. *Subcellular Biochemistry* 1996;25:17.

Schulz 1995

Schulz KF, Chalmers I, Hayes RJ, Altman DG. Empirical evidence of bias: dimensions of methodological quality associated with estimates of treatment effects in controlled trials. *Journal of the American Medical Association* 1995;273:408-12.

Sterne 2001

Sterne JAC, Egger M. Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: Guidelines on choice of axis. *Journal of Clinical Epidemiology* 2001;54:1046-1055.

WHO 1980

WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. Second report. Technical Report Series 646. Geneva. WHO, 1980.

WHO 1985

WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. World Health Organization, 1985. Technical Report Series 727.

WHO 1998

Alberti KM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part I: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. Diabetic Medicine 1998;15:539-53.

Anexo 7

Publicação na **Cochrane Library** (Pentoxifilina na retinopatia diabética)

Publicação na *Cochrane Library* (Pentoxifilina na retinopatia diabética)

Pentoxifylline for diabetic retinopathy [Review]

CC Lopes de Jesus, AN Atallah, O Valente, VF Moça Trevisani

Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 3 (Status: Unchanged)

Copyright © 2008 The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

DOI: 10.1002/14651858.CD006693.pub2 This version first published online: 23 April 2008 in Issue 2, 2008

Date of Most Recent Substantive Amendment: 20 February 2008

This record should be cited as: CC Lopes de Jesus, AN Atallah, O Valente, VF Moça Trevisani. *Pentoxifylline for diabetic retinopathy*. *Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 2*. Art. No.: CD006693. DOI: 10.1002/14651858.CD006693.pub2.

Abstract

Background

There is increasing evidence that capillary occlusion plays an important part in the development of diabetic retinopathy. Disaggregants, such as pentoxifylline may influence the outcome and progression of diabetic retinopathy, but no systematic review of the literature on its efficacy and safety has been published to examine this hypothesis.

Objectives

The aim of the current research was to review the literature in a systematic way in order to assess the effects of pentoxifylline for diabetic retinopathy in methodologically robust trials. The null hypothesis was that pentoxifylline has no influence on the progression of diabetic retinopathy or blindness.

Search strategy

A systematic search of electronic databases was carried out to identify publications. Relevant papers, written in any language, were accessed and assessed for data.

Selection criteria

Only randomized controlled clinical trials (RCTs) evaluating the effects of pentoxifylline in the treatment of diabetic retinopathy were to be included.

Data collection and analysis

Two authors independently assessed studies for inclusion criteria and for risk of bias.

Main results

A total of 97 publications were identified by the electronic search and two authors checked the abstracts. Of these, 17 were identified as potentially relevant trials providing information about treatment of patients with diabetic retinopathy using pentoxifylline and were read in full. Unfortunately, no publication fulfilled our inclusion criteria.

Authors' conclusions

No sound research to date has examined the treatment of diabetic retinopathy with pentoxifylline in such a way as to indicate whether this form of intervention has a significant impact on the natural history of this clinical condition. The potential role of this substance in the treatment of diabetic retinopathy remains open to debate, and it is suggested that future research focusing on patient-relevant outcomes takes the opportunity of addressing this important issue directly.

Background**Description of the condition**

Diabetes mellitus is a metabolic disorder resulting from a defect in insulin secretion, insulin action, or both. A consequence of this is chronic hyperglycaemia (that is elevated levels of plasma glucose) with disturbances of carbohydrate, fat and protein metabolism. Long-term complications of diabetes mellitus include retinopathy, nephropathy and neuropathy. The risk of cardiovascular disease is increased. For a detailed overview of diabetes mellitus, please see under 'Additional information' in the information on the Metabolic and Endocrine Disorders Group in The Cochrane Library (see 'About', 'Cochrane Review Groups (CRGs)'). For an explanation of methodological terms, see the main glossary in The Cochrane Library.

During the first two decades of the disease, nearly all patients with type 1 diabetes and more than 60% of patients with type 2 diabetes develop retinopathy. In the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy (WESDR), 3.6% type 1 and 1.6% type 2 diabetes patients were legally blind. In the younger-onset group, 86% of blindness was attributed to diabetic retinopathy. In the older-onset group, one-third of legal blindness was associated with diabetic retinopathy (Klein 1984).

Diabetic retinopathy is detected clinically by the presence of visible ophthalmoscopic retinal microvascular lesions in an individual with diabetes mellitus. Retinopathy can be classified as non-proliferative (NPDR) and proliferative diabetic retinopathy (PDR). NPDR is again divided into NPDR with maculopathy, NPDR without maculopathy and pre-proliferative retinopathy.

NPDR indicates progressive ischemia in the retina and an increased risk for the development of PDR and blindness. The prominent features of NPDR include microaneurysms, dot or blot haemorrhages, venous abnormalities, hard yellow exudates, intraretinal microvascular abnormalities, and cotton wool spots. Maculopathy is defined as the presence of oedema, haemorrhages, exudates, retinal thickening within five mm of the fovea, with or without visual loss or a combination of these factors. Pre-proliferative diabetic retinopathy is the stage before the onset of neovascularization and is characterized by extensive retinal haemorrhages, marked venous beading, numerous cotton wool spots or retinal infarcts, intra-retinal microvasculature abnormalities and marked retinal ischemia as evidenced by capillary drop-outs in the fundus fluorescein angiogram. Proliferative diabetic retinopathy is characterized by retinal new vessels, fibrous tissue, pre-retinal haemorrhage, vitreous haemorrhage, vitreoretinal traction and localized retinal detachment.

Laser photocoagulation is the primary means by which ophthalmologists control the progression of macular oedema and neovascularization. Since this is an invasive procedure destroying retinal cells, pharmacotherapeutic approaches were developed to prevent or regress retinal lesions in diabetic people (Balasubramanyam 2002).

Description of the intervention and how the intervention might work

Pentoxifylline (1-[5-oxohexyl]-3,7-dimethylxanthine) is a xanthine derivative. It is used in the treatment of intermittent claudication from chronic occlusive arterial disease. Clinical trials show that pentoxifylline may increase walking distance before the beginning of claudication. Besides, there is evidence of an increase of blood flow in ischemic limbs of such patients, which reduces paraesthesia, cramps and rest pain. However, some investigators relate that just 20% to 30% of these patients may experience significant improvement of long duration. Pentoxifylline may also be beneficial in the treatment of diabetes associated vascular diseases. Usually, it takes two to six weeks before the favourable effects are evident. It appears that pentoxifylline has no vasodilator effect and therapeutic doses are not associated with significant changes of cardiac frequency or peripheral vascular resistance. Clinical responses to long-term oral administration of pentoxifylline appear to result primarily from the improvement of erythrocyte flexibility and from reduced blood viscosity; a reduced fibrinogen concentration may contribute to the latter one. A reduction in platelets and granulocytes' function may also be involved. However, the exact mechanism of action of pentoxifylline is currently poorly understood (Rall 1991).

Capillary occlusion is an early event in the development of diabetic retinopathy and, as was recently shown, leukocytes are involved in this process. Pentoxifylline improves deformability and decreases polymorphonuclear leukocytes F-actin content in normal individuals. Sonkin and co-workers showed, in a study with diabetic cats, a significant improvement in cellular deformability, in F-actin content and in superoxide production rate with the utilisation of pentoxifylline (Sonkin 1992).

Iwafune and co-workers furthermore demonstrated that diabetic individuals treated with pentoxifylline presented an earlier absorption of retinal haemorrhage and a significant lower appearance of neovascularization (Iwafune 1980). In some cases, there was a significant improvement in arm-retina time and a remarkable reduction of avascularized areas. Such results suggest pentoxifylline might be effective in preventing retinal or intra-retinal neovascularization and in improving recovery from these disorders.

A study elaborated by Ferrari and co-workers showed pentoxifylline to induce the normalisation of blood rheologic patterns and a significant decrease of total urinary protein and albumin excretion rates (Ferrari 1987). Such data suggest that pentoxifylline may play an important role in both the treatment of diabetic haemorrhological changes and renal disorders as well as in the prevention of accompanying degenerative vascular complications (Solerte 1985).

Adverse effects of the intervention

Most commonly reported adverse effects of pentoxifylline therapy involve the gastrointestinal tract (for example vomiting, inappetence). There are also reports of dizziness and headache occurring in a small percentage of humans receiving the drug. Other adverse effects (for example effects on the cardiovascular or central nervous system) have been reported as occurring rarely (Rall 1991).

Why it is important to do this review

Diabetic retinopathy is the most frequent cause of new cases of blindness among adults aged 20 to 74 years. That represents nearly all patients with type 1 and more than 60% with type 2 diabetes (Klein 1984).

In spite of its relevance, systematic reviews about pentoxifylline for diabetic retinopathy have not been performed. Therefore, this review attempts to investigate novel ways of preventing or slowing the progression of diabetic retinopathy.

Objectives

To assess the effects of pentoxifylline in the treatment of diabetic retinopathy.

Criteria for considering studies for this review

Types of studies

Randomized controlled clinical trials (RCTs) evaluating the effect of pentoxifylline on diabetic retinopathy.

Types of participants

We included any adult patient aged 20 to 75 years with diabetic retinopathy detected clinically by the presence of visible ophthalmoscopic retinal microvascular lesions.

To be consistent with changes in classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus through the years, the diagnosis should have been established using the standard criteria valid at the time of the beginning of the trial (for example ADA 1997; ADA 1999; WHO 1980; WHO 1985; WHO 1998). Ideally, diagnostic criteria should have been described. If necessary, authors' definition of diabetes mellitus would be used. The same applies to diagnostic criteria of diabetic retinopathy. Diagnostic criteria would be eventually subjected to a sensitivity analysis.

Types of intervention

We considered the following types of intervention:

- Pentoxifylline + photocoagulation versus placebo;*
- Pentoxifylline + photocoagulation versus no treatment + photocoagulation.*

Types of outcome measures

Primary outcomes

We planned to evaluate the efficacy of pentoxifylline for diabetic retinopathy by considering the following:

- 1. Progression of diabetic retinopathy defined as (1) the development of any retinopathy where none previously existed, (2) the development or progression of macular oedema with clinical significance as defined by the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), and (3) the development of proliferative retinopathy from non-proliferative diabetic retinopathy or the recurrence of active proliferative diabetic retinopathy (Borrillo 1999);*
- 2. Incidence of blindness.*

Secondary outcomes

- 1. Mortality (all-cause mortality; diabetes related mortality (death from myocardial infarction, stroke, peripheral vascular disease, renal disease, hyper- or hypoglycaemia or sudden death));*

2. *Morbidity (all-cause morbidity as well as diabetes and cardiovascular related morbidity, for example angina pectoris, myocardial infarction, stroke, peripheral vascular disease, neuropathy, retinopathy, nephropathy, erectile dysfunction, amputation);*
3. *Adverse effects;*
4. *Health-related quality of life;*
5. *Costs.*

Covariates and effect modifiers

1. *Duration of diabetes mellitus;*
2. *Duration of diabetic retinopathy;*
3. *Glycaemic control;*
4. *Blood pressure control;*
5. *Use of ACE inhibitors;*
6. *Presence of other systemic diseases.*

Timing of outcome assessment

Depending on data.

Search methods for identification of studies

See: Metabolic & Endocrine Disorders Group methods used in reviews.

Electronic searches

We used the following sources for the identification of trials:

1. *The Cochrane Library (latest issue);*
2. *MEDLINE (until July 2007);*
3. *EMBASE (until July 2007);*
4. *CINAHL (until July 2007);*
5. *Web of Science (until July 2007).*

We also searched databases of ongoing trials: Current Controlled Trials (www.controlled-trials.com - with links to other databases of ongoing trials).

The described search strategy (see for a detailed search strategy under 'Additional tables' - Table 01) was used for MEDLINE. For use with EMBASE, The Cochrane Library and the other databases this strategy was slightly adapted.

Other sources

We contacted experts in order to identify unpublished research and trials still underway.

Reference lists

We planned to identify additional studies by searching the reference lists of included trials and (systematic) reviews, meta-analyses and health technology assessment reports noticed.

Studies published in any language would be included.

Methods of the review

Selection of studies

To determine the studies to be assessed further, two authors (CCLJ and OV) independently scanned the abstract, titles or both sections of every record retrieved. All potentially relevant articles were investigated as full text. Interrater agreement for study selection was measured using the kappa statistic (Cohen 1960). Differences would be marked and if these studies were later on included, the influence of the primary choice would be subjected to a sensitivity analysis. Where differences in opinion existed, they would be resolved by a third party. If resolving disagreement is not possible, the article would be added to those 'awaiting assessment' and authors would be contacted for clarification. An adapted QUOROM (quality of reporting of meta-analyses) flow-chart of study selection would be attached (Moher 1999).

Data extraction and management

For studies that fulfilled inclusion criteria, two authors (CCLJ and OV) would independently abstract relevant population and intervention characteristics using standard data extraction templates with any disagreements to be resolved by discussion, or if required by a third party. Any relevant missing information on the trial would be sought from the original author(s) of the article, if required.

Assessment of methodological quality of included studies

Two authors (CCLJ, OV) would assess each trial independently for risk of bias. Possible disagreement would be resolved by consensus, or with consultation of a third party in case of disagreement. We would explore the influence of individual quality criteria in a sensitivity analysis (see under 'sensitivity analyses'). Interrater agreement for key quality indicators would be calculated using the kappa statistic (Cohen 1960). In cases of

disagreement, the rest of the group would be consulted and a judgement would be made based on consensus.

Dealing with missing data

Relevant missing data would be obtained from authors, if feasible. Evaluation of important numerical data such as screened, eligible and randomised patients as well as intention-to-treat (ITT) and per-protocol (PP) population would be carefully performed. Attrition rates, for example drop-outs, losses to follow-up and withdrawals would be investigated. Issues of missing data, ITT and PP would be critically appraised and compared to specification of primary outcome parameters and power calculation.

Dealing with duplicate publications

In the case of duplicate publications and companion papers of a primary study, we would try to maximise yield of information by simultaneous evaluation of all available data. In cases of doubt, the original publication (usually the oldest version) would obtain priority.

Assessment of heterogeneity

In the event of substantial clinical or methodological or statistical heterogeneity, study results would not be combined by means of meta-analysis. Heterogeneity would be identified by visual inspection of the forest plots, by using a standard χ^2 -test and a significance level of $\alpha = 0.1$, in view of the low power of such tests. Heterogeneity would be specifically examined with I^2 (Higgins 2002), where I^2 values of 50% and more indicate a substantial level of heterogeneity (Higgins 2003). I^2 demonstrates the percentage of total variation across studies due to heterogeneity and would be used to judge the consistency of evidence.

When heterogeneity is found, we will attempt to determine potential reasons for it by examining individual study characteristics and those of subgroups of the main body of evidence.

Assessment of reporting biases

Funnel plots would be used in an exploratory data analysis to assess for the potential existence of small study bias. There are a number of explanations for the asymmetry of a funnel plot, including true heterogeneity of effect with respect to study size, poor methodological design of small studies and publication bias (Sterne 2001). Therefore, we planned to carefully use this tool (Lau 2006).

Data synthesis (meta-analysis)

Data would be summarised statistically if they were available, sufficiently similar and of sufficient quality. Statistical analysis would be performed according to the statistical

guidelines referenced in the newest version of the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (Higgins 2005).

Subgroup analyses and investigation of heterogeneity

Subgroup analyses would be mainly performed if one of the primary outcome parameters demonstrated statistically significant differences between intervention groups. In any other case subgroup analyses would be clearly marked as a hypothesis generating exercise.

The following subgroup analyses were planned:

- 1. Age of patients (19 to less than 65 years, 65 years and above);*
- 2. Different pentoxifylline doses;*
- 3. Absence or presence of co-morbidities.*

Sensitivity analysis

We would perform sensitivity analyses in order to explore the influence of the following factors on effect size:

- 1. Repeating the analysis excluding unpublished studies;*
- 2. Repeating the analysis taking account of study quality, as specified above;*
- 3. Repeating the analysis excluding any very long or large studies to establish how much they dominate the results;*
- 4. Repeating the analysis excluding studies using the following filters: diagnostic criteria, language of publication, source of funding (industry versus other), country.*

The robustness of the results would also be tested by repeating the analysis using different measures of effects size (relative risk, odds ratio etc.) and different statistical models (fixed and random effects models).

Description of studies

We found no RCT which examined the treatment of diabetic retinopathy with pentoxifylline.

Methodological quality

Methodological quality was not evaluated because of the absence of studies about the treatment of diabetic retinopathy with pentoxifylline.

Results

No sound research to date has examined the treatment of diabetic retinopathy with pentoxifylline in such a way as to indicate whether the use of this substance has a significant impact on the natural history of the disease or on the incidence of blindness.

Discussion

Capillary occlusion is an early event in the pathogenesis of diabetic retinopathy. There is evidence that pentoxifylline induces the normalisation of blood rheologic patterns and a significant decrease of total urinary protein and albumin excretion rates. Diabetic individuals treated with pentoxifylline presented an earlier absorption of retinal haemorrhage and a significant lower appearance of neovascularization. In some cases, there was a significant improvement in arm-retina time and a remarkable reduction of avascularized areas. These preliminary results suggest that pentoxifylline may be efficacious in preventing retinal or intra-retinal neovascularization and in improving recovery from these disorders. Therefore, disaggregants like pentoxifylline may provide additional beneficial effects for patients with diabetic retinopathy. However, no sound RCT investigated this hypothesis.

Authors' conclusions**Potential conflict of interest**

None known.

Acknowledgements

This review was developed in cooperation with the German Cochrane Centre and the Department of General Practice, Clinical Centre of the Heinrich-Heine University in Duesseldorf, Germany.

Characteristics of excluded studies**Additional tables****Analyses**

This review has no analyses.

Sources of support**External sources of support**

5. No sources of support supplied

Internal sources of support

6. No sources of support supplied

References

References to studies excluded from this review

Bloomgarden 1999

Bloomgarden ZT. *The European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting, 1998: The U.K. Prospective Diabetes Study and other topics in type 2 diabetes. Diabetes Care. 1999; Vol. 22:989-95.*

Desai 2007

Desai K, Wu L. *Methylglyoxal and advanced glycation endproducts: new therapeutic horizons?. Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery 2007;2:89-99.*

Gincherman 1982

Gincherman EZ, Titova SI, Mazovetski AG, Perelygina AA, Gordeeva NP, Gincherman EZ, et al. *Use of preparations with antiaggregation and hemostatic action in treating diabetic retinopathy. Problemy Endokrinologii (Moskva) 1982;28:17-22.*

Gol'tseva 1983

Gol'tseva SV, Gol'tseva SV. *Comparative evaluation of the efficacy of various methods in the treatment of diabetic retinopathies. Oftalmologicheskil zhurnal 1983;38:36-8.*

Ivanisevic 1994

Ivanisevic M. *Present approach to medical therapy of diabetic retinopathy. Acta Clinica Croatica 1994;33:221-7.*

Iwafune 1980

Iwafune Y. *Clinical use of pentoxifylline in hemorrhagic disorders of the retina. Pharmatherapeutica 1980;2:429-38.*

Katznelson 1980

Katznelson LA, Mikhailova NA, Gurtovaya EE, Yakovlev AA. *Results of experimental and clinical trials of the drug trental. Vestnik Oftalmologii 1980;1:41-4.*

McCarty 1998

McCarty MF, McCarty MF. *Nitric oxide deficiency, leucocyte activation, and resultant ischemia are crucial to the pathogenesis of diabetic retinopathy / neuropathy - preventive potential of antioxidants, essential fatty acids, chromium, ginkgolides, and pentoxifylline. Medical Hypothesis 1998;50:435-49.*

Parikh 2004

Parikh A, Fantus IG. Screening and management of diabetic microvascular complications in older adults. *Geriatrics and Aging* 2004;7:22-30.

Polunin 1993

Polunin GS, Simonova KK, Pirogova EP. Results of diabetic retinopathy treatment with angioprotectors. *Vetnik oftalmologii* 1993;109:27-30.

Radfar 2005

Radfar M. Effects of pentoxifylline on oxidative stress and levels of EGF and NO in blood of diabetic type-2 patients: a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *Biomedicine & Pharmacotherapy - Biomédecine & Pharmacothérapie* 2005;59:302-6.

Saldan 1984

Saldan IR. Use of disaggregants in treating diabetic retinopathy. *Oftalmologicheskii zhurnal* 1984;7:395-8.

Schubotz 1975

Schubotz R. Demonstration of the effect of pentoxifylline in arterial circulating disorders (double-blind study using Trental 400). *Die Medizinische Welt* 1975;26:1884-5.

Schubotz 1975a

Schubotz R. Double-blind study with Pentoxifylline on 50 patients with maturity-onset diabetes. *Fortschritte der Medizin* 1975;93:1430-2.

Solerte 1985

Solerte SB, Ferrari E, Solerte SB, Ferrari E. Diabetic retinal vascular complications and erythrocyte deformability: results of a 2-year follow-up study with pentoxifylline. *Pharmatherapeutica* 1985;4:341-50.

Sonkin 1993

Sonkin PL, Kelly LW, Sinclair SH, Hatchell DL, Sonkin PL, Kelly LW, et al. Pentoxifylline increases retinal capillary blood flow velocity in patients with diabetes. *Archives of Ophthalmology* 1993;111:1647-52.

Wroe 2001

Wroe C. Highlights of the Diabetes UK Annual Professional Meeting: 4-6 April 2001. *Practical Diabetes International*. 2001; Vol. 18:217-24.

Additional references**ADA 1997**

American Diabetes Association. Report on the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20 Suppl 1:S5-20.

ADA 1999

The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1999;22 Suppl 1:S5-19.

Balasubramanyam 2002

Balasubramanyam M, Rema M, Premanand C. Biochemical and molecular mechanisms of diabetic retinopathy. *Current Science* 2002;83:1506-14.

Borrillo 1999

Borrillo JL, Mitra RA, Dev S, Mieler WF, Pescinski S, Prasad A. Retinopathy progression and visual outcomes after phacoemulsification in patients with diabetes mellitus. *Transactions of the American Ophthalmological Society* 1999;XCVII:435-49.

Cohen 1960

Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 1960;20:37-46.

Ferrari 1987

Ferrari E, Fioravanti M, Patti AL, Viola C, Solerte SB. Effects of long term (4 yeras) with pentoxifylline on haemorheological changes and vascular complications in diabetic patients. *Pharmatherapeutica* 1987;5(1):26-39.

Higgins 2002

Higgins JPT, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in medicine* 2002;21:1539-58.

Higgins 2003

Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analysis. *BMJ* 2003;327:557-60.

Higgins 2005

Higgins JPT, Green S, editors. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* 4.2.5 [updated May 2005]. The Cochrane Library 2005; Vol. 3.

Iwafune 1980

Iwafune Y, Yoshimoto H. Clinical use of pentoxifylline in haemorrhagic disorders of the retina. *Pharmatherapeutica* 1980;2(7):429-38.

Klein 1984

Klein R, Klein BE, Mors SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Archives of Ophthalmology* 1984;102(4):532-52.

Lau 2006

Lau J, Ioannidis JPA, Terrin N, Schmid CH, Olkin I. The case of the misleading funnel plot. *BMJ* 2006;333:597-600.

Moher 1999

Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. Quality of Reporting of Meta-analyses. *Lancet* 1999;354(9193):1896-900.

Rall 1991

Goodman, Gilman. Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P editor(s). Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eighth edition. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 1991:408-14.

Solerte 1985

Solerte SB, Ferrari E. Diabetic retinal vascular complications and erythrocyte filtrability; results of a 2-year follow-up study with pentoxifylline. *Pharmatherapeutica* 1985;4(6):341-50.

Sonkin 1992

Sonkin PL, Kelly LW, Sinclair SH, Hatchell DL. Pentoxifylline modulates deformability, F-actin content, and superoxide anion production of polymorphonuclear leukocytes from diabetic cats. *Experimental Eye Research* 1992;55(6):831-8.

Sterne 2001

Sterne JAC, Egger M, Davey Smith G. Investigating and dealing with publication and other biases. In: Egger M, Davey Smith G, Altman DG editor(s). *Systematic Reviews in Health Care; Meta-analysis in Context*. London: BMJ Publishing Group, 2001:189-208.

WHO 1980

WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. Second report. Technical Report Series 646. Geneva. WHO, 1980.

WHO 1985

WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. World Health Organization, 1985. Technical Report Series 727.

WHO 1998

Alberti KM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part I: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. Diabetic Medicine 1998;15:539-53.

Anexo 8

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da EPM – UNIFESP (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase no tratamento da retinopatia diabética)

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da EPM – UNIFESP (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido dismutase no tratamento da retinopatia diabética)



Universidade Federal de São Paulo
Comitê de Ética em Pesquisa
Escola Paulista de Medicina
Hospital São Paulo

São Paulo, 1 de dezembro de 2006

CEP 1792/06

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) CARLOS CÉSAR LOPES DE JESUS

Co-Investigadores: Virgínia Fernandes M. Trevisani (orientadora), Orsine Valente

Disciplina / Departamento: Medicina de Urgência / Medicina da Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo - Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: "**Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C, superóxido-dismutase e dobesilato de cálcio no tratamento da retinopatia diabética - revisão sistemática**".

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: revisão sistemática.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: sem risco, sem contato com paciente.

OBJETIVOS: Avaliar a efetividade e a segurança da vitamina C, superóxido-dismutase e dobesilato de cálcio no tratamento da retinopatia diabética, através de uma revisão sistemática de ensaios clínico randomizados que comparem o uso dessas substâncias com a fotocoagulação com laser.

RESUMO: Será realizada uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados que avaliam o efeito da vitamina C e / ou superóxido-dismutase e / ou dobesilato de cálcio sobre a progressão da retinopatia diabética. A amostra será de pacientes diabéticos, com idade entre 20 e 75 anos e com retinopatia diabética detectada clinicamente pela presença de lesões microvasculares retinianas visíveis ao exame oftalmoscópico.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudo fundamentado, visando avaliar a efetividade da vitamina C, superóxido-dismutase e dobesilato de cálcio no tratamento da retinopatia

diabética.

MATERIAL E MÉTODO: Revisão sistemática da literatura, sem contato com paciente.

TCLE: não se aplica.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo.

CRONOGRAMA: 12 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Mestrado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 26/11/2007 e 20/11/2008.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo

Rua Botucatu, 572 - 1º andar - conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil

Tel.: (011) 5571-1062 – 5539-7162

Anexo 9

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da EPM – UNIFESP (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética)

Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da EPM – UNIFESP (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética)



Universidade Federal de São Paulo
Comitê de Ética em Pesquisa
Escola Paulista de Medicina
Hospital São Paulo

São Paulo, 23 de março de 2007

CEP 0324/07

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) CARLOS CÉSAR LOPES DE JESUS

Co-Investigadores: Virgínia Fernandes M. Trevisani (orientadora), Orsine Valente

Disciplina / Departamento: Medicina de Urgência / Medicina da Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo - Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: "**Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética - revisão sistemática**".

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: revisão de literatura.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: sem risco.

OBJETIVOS: Avaliar a efetividade e a segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética através de uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados que comparem o uso desta substância com a fotocoagulação com laser e/ou com o controle glicêmico otimizado.

RESUMO: Revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados que avaliam o efeito da pentoxifilina sobre a progressão da retinopatia diabética. Serão incluídos estudos com pacientes diabéticos, com idade entre 20 e 75 anos e com retinopatia diabética detectada clinicamente pela presença de lesões microvasculares retinianas visíveis ao exame oftalmoscópico. Serão incluídos estudos que comparem pentoxifilina, em qualquer dose, ao controle glicêmico otimizado e/ou à fotocoagulação com laser.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Revisão de literatura sobre efetividade e segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética.

MATERIAL E MÉTODO: Estudo sem contato com paciente. Estão descritas as estratégias de busca e os parâmetros a serem considerados.

TCLE: Não se aplica.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo - R\$ 256,00.

CRONOGRAMA: 12 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Mestrado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: **22/3/2008** e **22/3/2009**.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo

Rua Botucatu, 572 – 1º andar - conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil

Tel.: (011) 5571-1062 – 5539-7162

Anexo 10

Carta à Comissão de Ética

Carta à Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo

São Paulo, 26 de janeiro de 2009

Ilmo. Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana

Ilmos. Membros do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo / Hospital São Paulo

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: “**Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C, superóxido-dismutase e dobesilato de cálcio no tratamento da retinopatia diabética – revisão sistemática**”.

Em relação ao projeto acima citado, comunico-os que, por aconselhamento do Centro Cochrane da Alemanha (*Cochrane Metabolic and Endocrine Diseases Group*) o título da revisão sistemática citada foi alterado para “**Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido-dismutase no tratamento da retinopatia diabética**”.

Atenciosamente,

Carlos César Lopes de Jesus

Pesquisador

Anexo 11

Formulário de extração de dados (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido-dismutase no tratamento da retinopatia diabética)

Formulário de extração de dados (Avaliação da efetividade e segurança da vitamina C e superóxido-dismutase no tratamento da retinopatia diabética)

DATA EXTRACTION FORM

Vitamin C and superoxide dismutase for the treatment of diabetic retinopathy.

Carlos César Lopes de Jesus, Álvaro Nagib Attalah, Orsine Valente, Virgínia Fernandes Moça Trevisani.

I. STUDY IDENTIFICATION

| |
|-----------------------------|
| <i>Study ID:</i> |
| <i>Authors:</i> |
| <i>Medline Journal ID</i> |
| <i>Year of Publication:</i> |
| <i>Language:</i> |

II. TYPE OF STUDY

| | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|
| <i>Type of study:</i> | <input type="checkbox"/> <i>RCT</i> | <input type="checkbox"/> <i>CCT</i> | <input type="checkbox"/> <i>Non-randomized</i> |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|

III. COMMENTS ON STUDY DESIGN

| |
|--|
| |
|--|

IV. QUALITY OF CONCEALMENT OF RANDOM ALLOCATION

| | |
|--|--|
| <i>Allocation was not concealed</i> | |
| <i>Allocation concealment was inadequate</i> | |
| <i>Methods of concealment were unclear</i> | |
| <i>Concealment was adequate (e.g. numbered, sealed opaque envelopes drawn NON consecutively)</i> | |

V. INCLUSION CRITERIA

| | |
|--|--|
| <i>Inclusion and exclusion criteria were clearly defined in the text</i> | |
| <i>Outcomes of patients who withdrew or were excluded after allocation were detailed separately OR included in an intention to treat analysis OR the text stated there were no withdrawals</i> | |
| <i>Treatment and control groups were adequately described at entry</i> | |

VI. BLINDING OF THE INTERVENTION

| | <i>Yes</i> | <i>No</i> | <i>Unclear</i> |
|---------------------------------|------------|-----------|----------------|
| <i>Subject blinded</i> | | | |
| <i>Physician blinded</i> | | | |
| <i>Outcome assessor blinded</i> | | | |

VII. PARTICIPANTS AND BASELINE CHARACTERISTICS

| <i>Not eligible</i> | <i>Not enrolled</i> | <i>Withdrawals</i> | <i>Laser photocoagulation</i> | | | <i>Pentoxifylline</i> | | |
|---------------------|---------------------|--|-------------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | | | <i>n</i> | <i>Males n (%)</i> | <i>Mean age (SD)</i> | <i>n</i> | <i>Males n (%)</i> | <i>Mean age (SD)</i> |
| | | <input type="checkbox"/> <i>Yes</i> <input type="checkbox"/> <i>No</i> <input type="checkbox"/> <i>Uncertain</i> <i>If yes, how many?</i> | | | | | | |

VIII. INTERVENTIONS

| | <i>Laser photocoagulation</i> | <i>Pentoxifylline</i> |
|--------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| <i>Treatment group A</i> | | |
| <i>Treatment group B</i> | | |

IX. OUTCOMES

| | <i>Progression of diabetic retinopathy</i> | <i>Blindness</i> | <i>Adverse effects</i> | <i>Quality of life</i> | <i>Costs</i> |
|--------------------------|--|------------------|------------------------|------------------------|--------------|
| <i>Treatment group A</i> | | | | | |
| <i>Treatment group B</i> | | | | | |

X. CHANGES IN PROTOCOL

| |
|--|
| |
|--|

XI. CONTACT WITH AUTHOR

| |
|--|
| |
|--|

XII. OTHER COMMENTS ON THIS STUDY

| |
|--|
| |
|--|

Anexo 12

Formulário de extração de dados (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética)

Formulário de extração de dados (Avaliação da efetividade e segurança da pentoxifilina no tratamento da retinopatia diabética)

DATA EXTRACTION FORM

Pentoxifylline for the treatment of diabetic retinopathy.

Carlos César Lopes de Jesus, Álvaro Nagib Atallah, Orsine Valente, Virgínia Fernandes Moça Trevisani.

I. STUDY IDENTIFICATION

| |
|-----------------------------|
| <i>Study ID:</i> |
| <i>Authors:</i> |
| <i>Medline Journal ID</i> |
| <i>Year of Publication:</i> |
| <i>Language:</i> |

II. TYPE OF STUDY

| | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|
| <i>Type of study:</i> | <input type="checkbox"/> <i>RCT</i> | <input type="checkbox"/> <i>CCT</i> | <input type="checkbox"/> <i>Non-randomized</i> |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|

III. COMMENTS ON STUDY DESIGN

| |
|--|
| |
|--|

IV. QUALITY OF CONCEALMENT OF RANDOM ALLOCATION

| | |
|--|--|
| <i>Allocation was not concealed</i> | |
| <i>Allocation concealment was inadequate</i> | |
| <i>Methods of concealment were unclear</i> | |
| <i>Concealment was adequate (e.g. numbered, sealed opaque envelopes drawn NON consecutively)</i> | |

V. INCLUSION CRITERIA

| | |
|--|--|
| <i>Inclusion and exclusion criteria were clearly defined in the text</i> | |
| <i>Outcomes of patients who withdrew or were excluded after allocation were detailed separately OR included in an intention to treat analysis OR the text stated there were no withdrawals</i> | |
| <i>Treatment and control groups were adequately described at entry</i> | |

VI. BLINDING OF THE INTERVENTION

| | <i>Yes</i> | <i>No</i> | <i>Unclear</i> |
|---------------------------------|------------|-----------|----------------|
| <i>Subject blinded</i> | | | |
| <i>Physician blinded</i> | | | |
| <i>Outcome assessor blinded</i> | | | |

VII. PARTICIPANTS AND BASELINE CHARACTERISTICS

| <i>Not eligible</i> | <i>Not enrolled</i> | <i>Withdrawals</i> | <i>Laser photocoagulation</i> | | | <i>Pentoxifylline</i> | | |
|---------------------|---------------------|--|-------------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | | | <i>n</i> | <i>Males n (%)</i> | <i>Mean age (SD)</i> | <i>n</i> | <i>Males n (%)</i> | <i>Mean age (SD)</i> |
| | | <input type="checkbox"/> <i>Yes</i> <input type="checkbox"/> <i>No</i> <input type="checkbox"/> <i>Uncertain</i> <i>If yes, how many?</i> | | | | | | |

VIII. INTERVENTIONS

| | <i>Laser photocoagulation</i> | <i>Pentoxifylline</i> |
|--------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| <i>Treatment group A</i> | | |
| <i>Treatment group B</i> | | |

IX. OUTCOMES

| | <i>Progression of diabetic retinopathy</i> | <i>Blindness</i> | <i>Adverse effects</i> | <i>Quality of life</i> | <i>Costs</i> |
|--------------------------|--|------------------|------------------------|------------------------|--------------|
| <i>Treatment group A</i> | | | | | |
| <i>Treatment group B</i> | | | | | |

X. CHANGES IN PROTOCOL

| |
|--|
| |
|--|

XI. CONTACT WITH AUTHOR

| |
|--|
| |
|--|

XII. OTHER COMMENTS ON THIS STUDY

| |
|--|
| |
|--|

9 REFERÊNCIAS

1. Yildirim Z, Ucgun NI, Kilic N, Gursel E, Sepici-Dincel A, et al. Antioxidant enzymes and diabetic retinopathy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1100:199-206.
2. Siemianowicz K, Gminski J, Telega A, Wójcik A, Posielezna B, Grabowska-Bochenek R, Francuz T. Blood antioxidant parameters in patients with diabetic retinopathy. *International Journal of Molecular Medicine* 2004;14:433-437.
3. Parikh A, Fantus IG. Screening and management of diabetic microvascular complications in older adults. *Geriatrics and Aging* 2004;7:22-30.
4. Kurtul N, Bakan E, Aksoy H, Baykal O. Leucocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase and catalase activities of type 2 diabetic patients with retinopathy. *Acta Medica (Hradec Králové)* 2005;48(1):35-38.
5. Ciulla TA, Amador AG, Zinman B. Diabetic retinopathy and diabetic macular edema – Pathophysiology, screening and novel therapies. *Diabetes Care* 2003; 26:2653-2664.
6. Fong DS, Aiello L, Gardner TW, King GL, Blankenship G, Cavallerano JD, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2003;26:99-102.
7. Bosco Adriana, Lerário Antonio Carlos, Soriano Danilo, Santos Rosa Ferreira dos, Massote Píndaro, Galvão Daniela et al . Retinopatia diabética. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia [serial on the Internet]*. 2005 Apr [cited 2008 Aug 22];49(2): 217-227. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302005000200007&lng=en. doi: 10.1590/S0004-27302005000200007.
8. Gupta MM, Chari S, Gupta MM, Chari S. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with diabetic retinopathy. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 2005;49:187-92.
9. Altomare E, Grattagliano I, Vendemaile G, Micelli-Ferrari T, Signorile A, Cardia L. Oxidative protein damage in human diabetic eye: evidence of a retinal participation. *European Journal of Clinical Investigation* 1997; 27:141-147.
10. De La Cruz JP, Gonzalez-Correa JA, Guerrero A, De la Cuesta FS, et al. Pharmacological approach to diabetic retinopathy. *Diabetes / Metabolism Research and Reviews* 2004;20:91-113.
11. Lerário AC. Diabete melito: aspectos epidemiológicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Cardiologia* 1998;8(5):885-891.

12. Cunha-Vaz JG. Medical treatment of retinopathy of type2-diabetes. *Ophthalmologica* 2004;218:291-296.
13. van Reyk DM, Gillies MC, Davies MJ. The retina: oxidative stress and diabetes. *Redox Report* 2003; 8(5):187-192.
14. Medical dictionary [text on the Internet]. San Clemente: MedicineNet, Inc.; 2008 [cited 2008 Dec 30]. Disponível em: <http://www.medicinenet.com/script/main/hp.asp>.
15. Gaede PH. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria: rationale and effect on late diabetic complications. *Danish Medical Bulletin* 2006;53:258-84.
16. Caldwell RB, Bartoli M, Behzadian MA, El Remessy AE, Al Shabrawey M, Platt DH, et al. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: role of oxidative stress. *Current Drug Targets* 2005;6:511-24.
17. Sulochana KN, Ramakrishnan S, Rajesh M, Coral K, Badrinath SS. Diabetic retinopathy: molecular mechanisms, present regime of treatment and future perspectives. *Current Science* 2001;80(2):133-142.
18. Yam JCS, Kwok AKH. Update on the treatment of diabetic retinopathy. *Hong Kong Medical Journal* 2007;13(1):46-60.
19. Mayer-Davis EJ, Bell RA, Reboussin BA, Rushing J, Marshall JA, Hamman RF. Antioxidant nutrient intake and diabetic retinopathy: The San Luis Valley Diabetes Study. *Ophthalmology* 1998;105:2.264-2.270.
20. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiological Study of Diabetic Retinopathy. IX. Four-year incidence and progression of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Archives of Ophthalmology* 1989;107:237-243.
21. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiological Study of Diabetic Retinopathy. ii. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Archives of Ophthalmology* 1984;102:520-526.
22. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, DeMets DL. The Wisconsin Epidemiological Study of Diabetic Retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Archives of Ophthalmology* 1984;102:527-532.
23. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiological Study of Diabetic Retinopathy. Ten-year incidence and

- progression of diabetic retinopathy. *Archives of Ophthalmology* 1994;112:1217-1228.
24. Porta M, Allione A. Current approaches and perspectives in the medical treatment of diabetic retinopathy. *Pharmacology & Therapeutics* 2004;103:167-77.
 25. Balasubramanyam M, Rema M, Premanand C. Biochemical and molecular mechanisms of diabetic retinopathy. *Current Science* 2002;83:1506-14.
 26. Bloomgarden ZT. The European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting, 1998: The U.K. Prospective Diabetes Study and other topics in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999; Vol. 22:989-95.
 27. Bandello F, Pognuz R, Polito A, Pirrachio A, Menchini F, Ambesi M. Diabetic macular edema: classification, medical and laser therapy. *Seminars in Ophthalmology* 2003;18(4):251-258.
 28. Comer GM, Ciulla TA. Current and future pharmacological intervention for diabetic retinopathy. *Expert Opinion on Emerging Drugs* 2005;10(2):441-455.
 29. Comer GM, Ciulla TA. Pharmacotherapy for diabetic retinopathy. *Current Opinion in Ophthalmology* 2004;15:508-518. Erratum in: *Current Opinion in Ophthalmology* 2005;16(3):195.
 30. Cunha-Vaz JG, Faria DA, Jr, Fonseca JR. Studies on diabetic retinopathy. III. Management. *Experientia Ophthalmologica* 1979;5:9-16.
 31. Anderson JW. Metabolic abnormalities contributing to diabetic complications. I. Glucose metabolism in insulin-insensitive pathways. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1975; 28:273-280.
 32. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 2004;53 Suppl 1:S110-S118.
 33. Mabley JG, Soriano FG. Role of nitrosative stress and poly(ADP-ribose) polymerase activation in diabetic vascular dysfunction. *Current Vascular Pharmacology* 2005;3:247-252.
 34. Desai K, Wu L. Methylglyoxal and advanced glycation endproducts: new therapeutic horizons?. *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery* 2007;2:89-99.
 35. Soro-Paavonen A, Forbes JM. Novel therapeutics for diabetic micro- and macrovascular complications. *Current Medicinal Chemistry* 2006;13:1777-88.
 36. Mamputu JC, Renier G. Advanced glycation end-products increase monocyte adhesion to retinal endothelial cells through vascular endothelial growth factor-

- induced ICAM-1 expression: inhibitory effects of antioxidants. *Journal of Leukocyte Biology* 2004;75:1062-9.
37. Porto CC. Retinopatia diabética. In: Porto CC. *Semiologia Médica*. 4a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2001. p.250-252.
38. Leal EC, Santiago AR, Ambrosio AF. Old and new drug targets in diabetic retinopathy: from biochemical changes to inflammation and neurodegeneration. *Current Drug Targets. CNS and neurological disorders* 2005;4:421-34.
39. Kowluru RA, Kennedy A. Therapeutic potential of anti-oxidants and diabetic retinopathy. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 2001;10:1665-76.
40. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third Edition. Oxford: Oxford University Press, 1999:23,106 - 127.
41. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: what for? Part I. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences* 2006;10:291-317.
42. Campos EBP, Yoshida WB. O papel dos radicais livres na fisiopatologia da isquemia e reperfusão em retalhos cutâneos: modelos experimentais e estratégias de tratamento. *Jornal Vasculiar Brasileiro* 2004;3(4):357-366.
43. McCarty MF. Nitric oxide deficiency, leucocyte activation, and resultant ischemia are crucial to the pathogenesis of diabetic retinopathy/neuropathy – preventive potential of antioxidants, essential fatty acids, chromium, ginkgolides, and pentoxifylline. *Medical Hypotheses* 1998;50:435-449.
44. Pacher P, Liaudet L, Soriano FG, Mabley JG, Szabó É, Szabó C. The role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the development of myocardial and endothelial dysfunction in diabetes. *Diabetes* 2002;51:514-521.
45. Szabó C, Mabley JG, Moeller SM, Shimanovich R, Pacher P, Virág L, et al. Part I: Pathogenetic role of peroxynitrite in the development of diabetes and diabetic vascular complications: studies with FP15, a novel potent peroxynitrite decomposition catalyst. *Molecular Medicine* 2002;8(10):571-580.
46. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003;26(5):1589-1596.
47. Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 1999;69:1086-1107.
48. Juhl B. Vitamin C treatment reduces transcapillary escape rate of albumin in type 1 diabetes. *European Journal of Internal Medicine* 2004;15:428-35.

49. Root-Bernstein R, Busik JV, Henry DN. Are diabetic neuropathy, retinopathy and nephropathy caused by hyperglycemic exclusion of dehydroascorbate uptake by glucose transporters? *Journal of Theoretical Biology* 2002;216:345-359.
50. Rema M, Mohan V, Bhaskar A, Shanmugasundaram KR. Does oxidant stress play a role in diabetic retinopathy? *Indian Journal of Ophthalmology* 1995;43:17-21.
51. Vinson J, Hsu C, Possanza C, Drack A, Pane D, Davis R, et al. Lipid peroxidation and diabetic complications: effect of antioxidant vitamins C and E. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1944;366:430-2.
52. Millen AE, Gruber M, Klein R, Klein BEK, Palta M, Mares JA. Relations of serum ascorbic acid and α -tocopherol to diabetic retinopathy in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *American Journal of Epidemiology* 2003;158:225-233.
53. Campos S. *Medicina Biomolecular e Radicais Livres*. São Paulo, Francolor Artes Gráficas e Editora Ltda., 1996:Vol 1:137-143.
54. Kowluru RA, Ho Y-S. Role of mitochondrial superoxide dismutase in the development of diabetic retinopathy. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2006;47:1594-1599.
55. Wikipedia The Free Encyclopedia [text on the Internet]. Los Angeles, The Wikimedia Foundation, Inc.; 2008 [cited 2009 Jan 12]. Disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/Bcl-2>.
56. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry* 1969;244(22):6049-6055.
57. Kresge N, Simoni RD, Hill RL. Forty years of superoxide dismutase research: the work of Irwin Fridovich. *Journal of Biological Chemistry* 2006;281(22);issue of June 2:p.e17-e19.
58. Iwafune Y. Clinical use of pentoxifylline in hemorrhagic disorders of the retina. *Pharmatherapeutica* 1980;2:429-38.
59. Sonkin PL, Kelly LW, Sinclair SH, Hatchell DL, Sonkin PL, Kelly LW, et al. Pentoxifylline increases retinal capillary blood flow velocity in patients with diabetes. *Archives of Ophthalmology* 1993;111:1647-52.
60. Incandela L, Cesarone MR, Belcaro G, Steigerwalt R, De Sanctis MT, Nicolaidis AN, Griffin M, Geroulakos G, Ramaswami G. Treatment of vascular retinal disease with pentoxifylline: a controlled, randomized trial. *Angiology* 2002;53 Suppl 1:S31-S34.

61. Radfar M. Effects of pentoxifylline on oxidative stress and levels of EGF and NO in blood of diabetic type-2 patients: a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *Biomedicine & Pharmacotherapy - Biomédecine & Pharmacothérapie* 2005;59:302-6.
62. Sonkin PL, Freedman SF, Needham D, Rao KM, Hatchell DL. Pentoxifylline modulates deformability, F-actin content, and superoxide anion production of polymorphonuclear leucocytes from diabetic cats. *Experimental Eye Research* 1992;55(6):831-838.
63. Ferrari E, Fioravante M, Patti AL, Viola C, Solerte SB. Effects of long-term treatment (4 years) with pentoxifylline on haemorheological changes and vascular complications in diabetic patients. *Pharmatherapeutica* 1987;5(1):26-39.
64. Solerte SB, Ferrari E, Solerte SB, Ferrari E. Diabetic retinal vascular complications and erythrocyte deformability: results of a 2-year follow-up study with pentoxifylline. *Pharmatherapeutica* 1985;4:341-50.
65. Katznelson LA, Mikhailova NA, Gurtovaya EE, Yakovlev AA. Results of experimental and clinical trials of the drug trental. *Vestnik Oftalmologii* 1980;1:41-4.
66. Goodman, Gilman. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P editor(s). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eighth edition. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 1991:408-14.
67. Gol'tseva SV, Gol'tseva SV. Comparative evaluation of the efficacy of various methods in the treatment of diabetic retinopathies. *Oftalmologicheskii Zhurnal* 1983;38:36-8.
68. American Diabetes Association. Report on the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20 Suppl 1:S5-20.
69. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1999;22 Suppl 1:S5-19.
70. WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. Second report. World Health Organization, 1980. Technical Report Series 646. Geneva. WHO, 1980.
71. WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. World Health Organization, 1985. Technical Report Series 727. Geneva. WHO, 1985.
72. Alberti KM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part I: diagnosis and classification of diabetes

- mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine* 1998;15:539-53.
73. Borrillo JL, Mitra RA, Dev S, Mieler WF, Pescinski S, Prasad A. Retinopathy progression and visual outcomes after phacoemulsification in patients with diabetes mellitus. *Transactions of the American Ophthalmological Society* 1999;XCVII:435-49.
74. Higgins JPT, Green S, editors. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* 4.2.5 [updated May 2005]. The Cochrane Library 2005; Vol. 3.
75. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 1960;20:37-46.
76. Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. *Quality of Reporting of Meta-analyses. Lancet* 1999;354(9193):1896-900.
77. Schulz KF, Chalmers I, Hayes RJ, Altman DG. Empirical evidence of bias: dimensions of methodological quality associated with estimates of treatment effects in controlled trials. *Journal of the American Medical Association* 1995;273:408-12.
78. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: Is blinding necessary?. *Controlled Clinical Trials* 1996;17:1-12.
79. Higgins JPT, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in Medicine* 2002;21:1539-58.
80. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analysis. *British Medical Journal* 2003;327:557-60.
81. Sterne JAC, Egger M. Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: Guidelines on choice of axis. *Journal of Clinical Epidemiology* 2001;54:1046-1055.
82. Lau J, Ioannidis JPA, Terrin N, Schmid CH, Olkin I. The case of the misleading funnel plot. *British Medical Journal* 2006;333:597-600.

Abstract

Objectives: To assess the effectiveness and safety of vitamin C, superoxide dismutase and pentoxifylline for the treatment of diabetic retinopathy in adults with such clinical condition according to diagnostic criteria of the American Academy of Ophthalmology (Table 1). **Methods:** Systematic review with Cochrane methodology. **Search strategy:** Databases: Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL, The Cochrane Library - until last edition), MEDLINE (1966 - 2007), EMBASE (1980 - 2007), CINAHL (1982 - 2007) and Web of Science (1980 - 2007), databases of developing clinical trials: Current Controlled Trials (www.controlled-trials.com - with links to other databases of ongoing clinical trials), hand searched reference lists of published articles and conference meetings. Pharmaceutical companies and authors of published articles were contacted. There was no language restriction. **Inclusion criteria:** Randomized controlled trials (RCTs) about the use of vitamin C and superoxide dismutase for diabetic retinopathy, isolated or in combination, compared to no intervention, placebo or laser photocoagulation, according to diagnostic criteria of the American Academy of Ophthalmology. Randomized controlled trials (RCTs) about the use of pentoxifylline associated to laser photocoagulation for diabetic retinopathy, compared to no intervention or to laser photocoagulation, according to clinical diagnostic criteria of the American Academy of Ophthalmology. The main criteria for exclusion were patients aged less than 20 years or more than 75 years. **Data collection & analysis:** Data abstraction and quality assessment was performed independently by two investigators according to predetermined criteria and the results were compared to determine the degree of agreement. Quality evaluation was not done because of the absence of articles which fulfilled the inclusion criteria. **Main results:** In relation to the review about vitamin C and superoxide dismutase for diabetic retinopathy, 241 publications were identified through electronic search. Of these, 28 were identified as containing potential information about the treatment of patients with diabetic retinopathy using such substances and were read in full. In relation to the review about the use of pentoxifylline for diabetic retinopathy, 97 publications were identified through electronic search. Of these, 17 were identified as containing potential information about the treatment of patients with diabetic retinopathy using such substances and were read in full. However, no article until the moment, evaluated the treatment of patients with diabetic retinopathy using vitamin C, superoxide dismutase and pentoxifylline in such a way as to indicate whether these substances present a significant impact on disease progression or blindness incidence. **Reviewers' conclusions:** No research, until the moment, examined appropriately the treatment of diabetic retinopathy in such a way as to indicate whether such interventions present a

significant impact on the progress of this clinical condition. The potential role of these substances in the treatment of diabetic retinopathy remains open to debate and it is suggested that future research focalising clinical outcomes should be accomplished to evaluate such important subject.

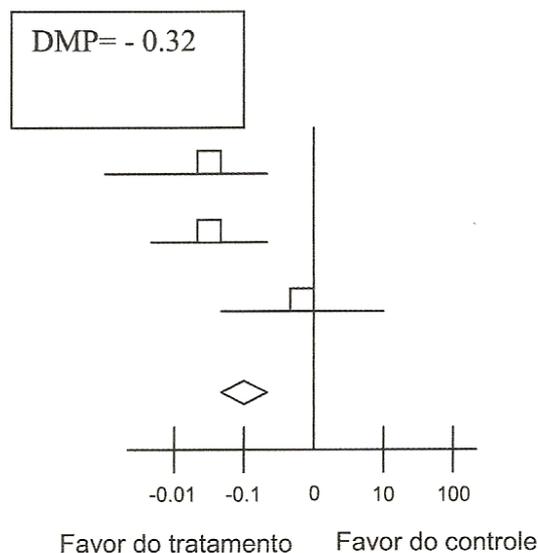
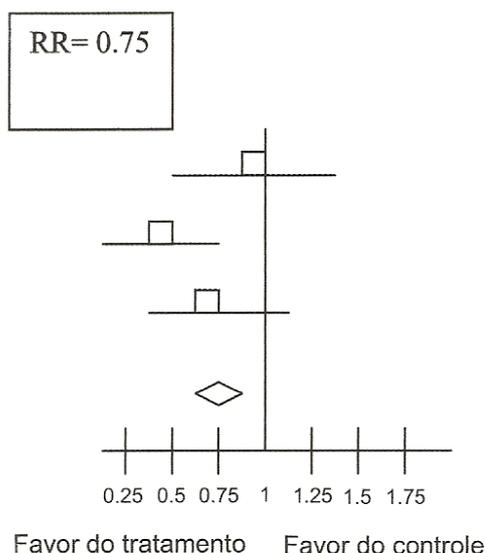
Apêndices

Apêndice 1: Metodologia da Colaboração Cochrane

Como interpretar um gráfico de metanálise:

a) Variáveis categóricas

b) Variáveis contínuas



As figuras a e b são exemplos fictícios dos gráficos resultantes de uma revisão sistemática, que é a maneira mais prática de apresentar e interpretar uma metanálise. Cada linha horizontal acima da base representa o intervalo de confiança de um ensaio clínico que passou pelos critérios de seleção de uma revisão específica. O intervalo de confiança é o intervalo no qual as proporções de eventos seriam verificadas em 95% das vezes se o mesmo estudo fosse repetido 100 vezes.

A linha horizontal, na base do gráfico, representa o efeito do tratamento e é dividida por uma linha vertical que marca o efeito nulo. Esse efeito nulo teria o valor de um (figura a) para variáveis categóricas, podendo ser apresentadas com a utilização do risco relativo (RR) ou do *odds ratio* (OR). Portanto, se esse valor for igual a 1 significa que não houve diferença de resultados entre o grupo tratado e o grupo controle. À esquerda do 1 estão os resultados favoráveis ao tratamento (apresentaram redução do risco) e, à direita, os resultados em que o tratamento trouxe piora ao grupo tratado (o grupo placebo apresentou melhores resultados que o grupo controle).

O mesmo raciocínio se aplica quando se utilizam variáveis contínuas (figura b). Entretanto, os resultados, neste caso, deverão ser apresentados através da Diferença da Média Ponderada (DMP) ou da Diferença da Média de Peso, sendo que o efeito nulo será igual a zero, com resultados favoráveis apresentando valores menores que zero e resultados desfavoráveis valores maiores que zero.

O resultado final do efeito - que representa a somatória dos resultados individuais de cada estudo analisado - é representado graficamente pelo losango (também chamado de diamante), cuja localização em relação à linha horizontal nos dará o resultado final da metanálise.

Bibliografia Consultada

1. Conn EE, Stumpf PK. Introdução à Bioquímica. Tradução da 4a edição americana. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda.; 1998.
2. Cunha C, Cintra L. Nova Gramática do Português Contemporâneo. 2a edição. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira; 1985.
3. Guralnik DB. Webster's New World Dictionary Compact School & Office Edition. New York: Simon and Schuster; 1980.
4. Houaiss A, Cardim I. Mini-dicionário Webster's Inglês-Português / Português-Inglês. Edição Especial Comemorativa ao Dia do Médico: 18 de Outubro de 1996. Rio de Janeiro: Distribuidora Record de Serviços de Imprensa S.A.; 1996.
5. Neto PC. Supra-renal ou suprarrenal? Revista Ser Médico. 2008 Out / Nov / Dez; pág.16-17.
6. Rother ET, Braga MER. Como elaborar sua tese: estrutura e referências. 2a ed. rev. e ampl. São Paulo, 2005.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)