



Universidad de Valladolid



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
INSTITUTO UNIVERSITARIO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA
TRABAJO FIN DE MASTER EN RETINA

Resultados a largo plazo del tratamiento de la DMAE
húmeda con Ranibizumab en la práctica clínica diaria

Alumna: Melissa Castrejón Alcázar

Tutora: Dra. Rosa M. Coco Martín

Valladolid, España, a 2 de Septiembre del 2013

AUTORIZACIÓN DEL TUTOR PARA LA EXPOSICIÓN PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE MASTER

(Art. 6.2 del Reglamento de la UVA sobre la Elaboración y Evaluación del Trabajo Fin de Máster)

D./Dña. Rosa M. Coco Martín
en calidad de Tutor/a del alumno/a
D. /Dña. Melissa Castrejón Alcázar
del Máster en: Retina
Curso académico: 2012 – 2013

CERTIFICA haber leído la memoria del Trabajo de Fin de Máster titulado

**“Resultados a largo plazo del tratamiento de la DMAE húmeda
con Ranibizumab en la práctica clínica diaria”**

y estar de acuerdo con su exposición pública en la convocatoria de Septiembre.

En Valladolid, España a 2 de Septiembre de 2013

Vº Bº

Fdo.:

El/La Tutor/a

Agradezco la ayuda incondicional la cual fue brindada por mi tutora

Dra. Rosa M. Coco Martín y a todo el personal del IOBA

Hospital Clínico Universitario de Valladolid

Dra. María Isabel López Gálvez

CAPA Complejo Asistencial de Palencia

Dra. M. Rosa Sanabria

Dra. Marta Fernández Muñoz

Hospital General de Segovia

Dr. Alejandro Antón

Hospital Nuestra Señora de Sonsoles de Ávila

Dr. Ismael Miranda

Dra. Sonia Villarón

Hospital Virgen de la Vega Salamanca

Dr. Emiliano Hernández

Dra. Lourdes De Juan

Complejo Asistencial Universitario de León

Dra. Belén Puente Luna

Dra. Laura Monje-Fernández

ÍNDICE

Acrónimos	5
1. Justificación	1
2. Introducción	2
3. Hipótesis de trabajo	7
4. Objetivo principal	8
Objetivos secundarios	8
5. Pacientes, material y métodos	9
Pacientes.....	9
Material y métodos	10
Análisis estadístico	13
6. Resultados	15
Resultados del análisis de la relación entre las variables.....	22
7. Discusión	29
8. Conclusiones	35
9. Anexos	36
Anexo 1. Estudios multicéntricos.....	36
Anexo 2. Aceptación del comité ético de investigación clínica.....	42
10. Referencias	38

ACRÓNIMOS

- AAG: Antiangiogénicos
- AFG: Angiografía fluoresceínica de retina
- ANCHOR: Anti-VEGF Antibody for the treatment of the predominantly classic choroidal neovascularization in age-related macular degeneration
- AV: Agudeza visual
- CATT: Comparison of Age-related macular degeneration treatment trials
- DEP: Desprendimiento del epitelio pigmentario
- DMAE : Degeneración macular asociada a la edad
- EMA: Agencia Europea del Medicamento
- EPR: Epitelio pigmentario de la retina
- EXCITE: Efficacy and Safety of Ranibizumab in Patients with Subfoveal Choroidal Neovascularization Secondary to Age-Related Macular Degeneration
- FO: Fondo de ojo (Fundoscopia)
- GCR: Grosor retiniano central
- HORIZON: An open label extension trial of Ranibizumab for Choroidal Neovascularization secondary to age-related macular degeneration
- ICG: Angiografía con verde indocianina
- IVAN: Inhibit VEGF in Age-related choroidal neovascularization
- LOGMAR: Logarithm of the minimum angle of resolution
- LSR: Líquido subretiniano
- LUMINOUS: Study to Observe the Effectiveness and Safety of Ranibizumab Through Individualized Patient Treatment and Associated Outcomes
- MAE: Maculopatía asociada a la edad
- MARINA: Minimally Classic/Occult Trial of the Anti-VEGF antibody Ranibizumab in the treatment of neovascular Age-related macular degeneration
- MNV: Membrana neovascular
- NICE: National Institute for Healthcare and Clinical Excellence
- OCT: Tomografía óptica de coherencia
- OCT-SD: Tomografía óptica coherente de dominio espectral
- PIER: A Phase IIIb, Multicenter, Randomized, Double-Masked, Sham Injection-Controlled Study of the Efficacy and Safety of Ranibizumab in Subjects with Subfoveal Choroidal Neovascularization [CNV] with or without Classic CNV Secondary to Age-Related Macular Degeneration
- PRN: Pro re nata
- PrONTO: Prospective Optical Coherence Tomography Imaging of Patients With Neovascular AMD Treated With Intra-Ocular Ranibizumab [Lucentis]
- SACYL: Sanidad de Castilla y León
- SAILOR: Safety Assessment of Intravitreal Lucentis for AMD
- SERV: Sociedad Española de Retina y Vítreo
- SEVEN-UP: Seven-Year Observational Update of Macular Degeneration patients post-MARINA/ANCHOR and HORIZON Trials.
- SUSTAIN: Study of Ranibizumab in patients with subfoveal choroidal neovascularization
- TFD: Terapia fotodinámica
- VEGF: Vascular endothelial growth factor/Factor de Crecimiento Vascular Endotelial
- VPF: Factor de permeabilidad vascular

1. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de Degeneración Macular asociada a la Edad (DMAE) en su forma húmeda está en continuo aumento en conjunto con otras enfermedades relacionadas a la edad. En la actualidad es la causa principal de pérdida de la visión central y ceguera legal entre las personas de más de 60 años de edad en países del primer mundo; esto va en aumento en la actualidad debido al incremento de la esperanza de vida. Por lo tanto, esta patología es extremadamente importante desde el punto de vista social y de atención sanitaria por su gran impacto en la salud pública.^{1,2}

En la actualidad el tratamiento estándar es el uso de antiangiogénicos intravítreos y según los ensayos realizados por las casas comerciales se obtienen buenos resultados a largo plazo, pero siempre con pautas estrictas de tratamiento que posteriormente no son las que se utilizan en la práctica clínica diaria. Ante esto se hace imperativo un estudio propio que permita conocer el resultado del uso de Ranibizumab en pacientes con DMAE húmeda a largo plazo, así como valorar qué es lo que sucede en nuestro ámbito de actuación, en el caso de este trabajo se ha contextualizado dentro del ámbito de nuestra comunidad: Castilla y León.

2. INTRODUCCIÓN

La DMAE, es una enfermedad de la retina que afecta a personas mayores de 55 años, por lo que es una patología en aumento debido al alargamiento de la esperanza de vida a nivel mundial.¹ En esta enfermedad se lesiona progresivamente la zona central de la retina o mácula, siendo los fotorreceptores los más dañados causando el correspondiente defecto en el centro del campo visual. Los síntomas principales son: agudeza visual central disminuida, escotoma central y metamorfopsia.³

El 48% de las personas con DMAE presentan una pérdida severa de visión, siendo la principal causa de ceguera legal (agudeza visual inferior a 20/200) en el mundo occidental en las personas de más de 55 años.^{4,5} Tres estudios poblacionales: Beaver Dam Eye Study,⁵ Blue Mountain Eye Study,⁶ y el Rotterdam Study,⁷ mostraron una prevalencia del 1,7% en US, 1,4% en Australia y 1,2% en Holanda respectivamente. En España más de 750.000 personas padecen DMAE y más de tres millones de personas están en riesgo de padecerla en los próximos años.⁸

La etiología de la DMAE es multifactorial siendo la edad el factor más importante y admitido por todos los autores. Sin embargo, existen otros factores de riesgo relacionados como: la raza (mayor en caucásicos),⁹ sexo (mayor afectación del sexo femenino),¹⁰ factores cardiovasculares (Hipertensión Arterial, Diabetes Mellitus y Dislipemias), tabaquismo,^{11,12} la dieta (mayor riesgo si la dieta es pobre en antioxidantes y rica en grasas animales),^{13,14,15,16,17} y sobre todo factores genéticos (un buen número de polimorfismos se han ido relacionando en la última década con un aumento o disminución del riesgo de padecer esta enfermedad).^{18,19,20,21}

Existen dos formas distintas de DMAE: la neovascular también llamada húmeda o exudativa y la no neovascular o seca o atrófica. La forma seca supone el 80-90% de los casos, presenta pérdida visual gradual y lenta por la formación de depósitos amarillentos (drusas) y cambios atróficos/hipertróficos en el epitelio pigmentario. La atrofia geográfica se define como áreas confluentes de atrofia del epitelio pigmentario de la retina (EPR) de un mínimo de 175 μ acompañadas de atrofia de los fotorreceptores.²² A pesar de los múltiples estudios que están en marcha, en el día de

hoy no existe manera de evitar su aparición y de parar los daños que conducen a la atrofia macular.²²

La forma húmeda supone un 10-20% del total de pacientes, es más agresiva y se encuentra asociada a la formación de neovasos o membranas neovasculares (MNV).²³ La forma húmeda es la menos frecuente, pero causa aproximadamente del 80% al 90% de los casos de pérdida grave de AV debido a la formación de MNV que provoca el deterioro de la retina central y ocasionan un daño con frecuencia irreversible. Angiográficamente se pueden distinguir dos tipos principales de MNV: clásicas, en las cuales el colorante sigue un patrón en encaje o en rueda de carro en fase precoz para desaparecer paulatinamente en 1-2 minutos; y ocultas, donde existen signos menos precisos en tiempos precoces pero en las que se produce una extravasación tardía.²⁴ Estos tipos angiográficos suelen corresponder a una situación de los neovasos por encima (MNV clásica) o por debajo (MNV oculta) del epitelio pigmentario de la retina.

El mecanismo molecular para el desarrollo de la angiogénesis esta guiado por una serie de factores que son activos en la patología coroidea y entre los que destacan el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular A (VEGF-A) originalmente llamado Factor de Permeabilidad Vascular (VPF) que es producido por las células hipóxicas y que estimula la angiogénesis y neovascularización para suplir las condiciones de hipoxia.²³ El VEGF es el principal elemento regulador en el equilibrio entre estímulos angiogénicos y estímulos antiangiogénicos con la subsecuente aparición de los neovasos de la DMAE húmeda.²³

Una lesión neovascular coroidea se considera activa en el caso de que presente las siguientes características:²

- Aparición *de novo* de un grosor retiniano anormal con evidencia de líquido subretiniano (LSR), o líquido intrarretiniano acumulado que produce engrosamiento retiniano, o EPR, todo ello confirmado por tomografía óptica de coherencia (OCT)
- Presencia o recurrencia de líquido intrarretiniano y/o subretiniano o hemorragia subretiniana

- Fuga nueva o persistente detectada mediante angiografía fluoresceínica de retina (AFG)
- Incremento evidente del tamaño de la MNV
- Deterioro de la AV debido a la actividad de la MNV

Ante la DMAE húmeda se han intentado múltiples tratamientos como láser, terapia fotodinámica (TFD) y actualmente los fármacos antiangiogénicos (AAG) o anti VEGF.²⁵ A inicios del año 2000 se comenzaron a desarrollar los fármacos AAG que inhiben el crecimiento de los neovasos y limitan su daño.

El tratamiento con AAG presenta una serie de efectos principales como son:² 1) inhibición del crecimiento y extensión de los nuevos vasos formados; 2) regresión de la neovascularización; 3) estabilización de las membranas de las células endoteliales y reducción de la permeabilidad de la microcirculación de la MNV; y 4) reducción de la difusión de las moléculas de proteínas y lípidos hacia los espacios extravasculares, reducción del edema y restauración del grosor macular central.

El primero que se desarrolló fue el Pegaptanib (Macugen®) que mejoró los resultados obtenidos con la TFD. El Macugen® es un oligonucleótido aptámero que bloquea la isoforma 165 del VEGF-A,²⁶ aunque pronto fue desplazado por los mejores resultados obtenidos por el Ranibizumab (Lucentis®) que es el tratamiento de elección en la actualidad además de ser el que está aprobado por la Agencia Europea del Medicamentos (EMA) y recomendado por la Sociedad Española de Retina y Vítreo (SERV).²⁷

El Ranibizumab (Lucentis®) es un fragmento de anticuerpo monoclonal recombinante humanizado dirigido contra todas las isoformas del VEGF-A, de un peso de 48 kD, y específicamente desarrollado para uso intraocular.²⁸ Debido a su bajo peso molecular penetra mejor en la pared retiniana, aunque su vida media sistémica es corta, mientras que su vida media intravítrea es de aproximadamente 9 días.²

Este fármaco ha sido investigado en ensayos clínicos multicéntricos que comprobaron su eficacia y su seguridad con inyecciones intravítreas mensuales (ANCHOR²⁹ y MARINA²⁴). Posteriormente a estos estudios se desarrollaron otros con el

propósito de modificar la pauta de administración, reduciendo la frecuencia de las inyecciones, surgieron así el PIER Study³⁰ (tratamiento trimestral tras tres inyecciones mensuales iniciales de carga sin realización de exámenes diagnósticos adicionales), y el PrONTO Study³¹ (primer ensayo en que se propone pauta variable dependiente de criterios claros de retratamiento *Pro-Re-Nata*(PRN)³² después de tres dosis de carga). Los criterios de retratamiento establecidos fueron los siguientes: 1) pérdida de cinco letras y exudado macular; 2) incremento del grosor retiniano central (GCR) $\geq 100\mu\text{m}$; 3) nueva MNV; 4) nueva hemorragia macular; y 5) líquido macular persistente durante ≥ 1 mes después de la inyección anterior. Por su parte, el estudio SUSTAIN³³ también programó una fase de carga con tres inyecciones, seguida de retratamiento dependiendo de los cambios observados en la AV y el OCT aunque con seguimiento mensual a discreción del investigador.³³

La idea de comparar los resultados encontrados en los ensayos clínicos (que presentan criterios de inclusión y exclusión de pacientes muy estrictos, así como controles médicos continuos exhaustivos y tratamientos sin tiempo de demora) con los de la práctica clínica habitual no es nueva. Existen estudios realizados de manera retrospectiva por diferentes centros de oftalmología en diferentes partes del mundo, los cuales no siempre encuentran resultados semejantes a los ensayos clínicos realizados por las empresas farmacéuticas. Así, autores como Michalova y cols.³⁴ obtienen resultados semejantes a los ensayos clínicos, en el ámbito de la práctica clínica habitual en Australia. Sin embargo, Bandukwala y cols.³⁵ no obtuvieron buenos resultados en Canadá, lo que en parte se explica por la alta tasa de abandono del tratamiento por los pacientes en un tiempo de seguimiento corto (1 año). Por otra parte, este autor encuentra que pacientes con AV inicial menor a 1.30 LogMAR (0.05 decimal) presentan mantenimiento o pequeñas disminuciones de AV, mientras que los de AV inicial mayor o igual a 1.30 sí mejoran con el tiempo. Otro estudio realizado por Heimes y cols.³⁶ en el cual no encontraron mejoras visuales a largo plazo, aunque observa que la visión se estabiliza a los 2 años con tratamiento y destaca la dificultad para seguir los criterios de reinyección (pérdida de 5 letras ETDRS o 100 micras de grosor macular foveolar). Por último, el estudio LUMIERE²³ realizado en Francia y recientemente publicado, concluye que se han obtenido resultados mediocres por un

pobre cumplimiento de las recomendaciones de administración y destaca que la práctica clínica está mejorando a través del tiempo.²³ Estos tres últimos estudios encuentran factores que se observan en la práctica diaria (abandono por terapias largas y AV que no mejora a largo plazo) que no han sido evaluadas y presentados en los ensayos del fármaco.

Ante estos dispares resultados, hace imperativo un estudio propio que permita conocer el resultado visual tras el tratamiento con Ranibizumab en pacientes con DMAE húmeda a largo plazo, cuáles son los factores que se asocian al abandono del tratamiento y cuáles han sido las pautas de administración y seguimiento en nuestros pacientes, y es importante también ver qué es lo que pasa localmente en nuestro ámbito de actuación, motivo por el cual decidimos evaluar que es lo que sucede en nuestra comunidad: Castilla y León.

Los servicios de oftalmología de los hospitales participantes, cuentan con una amplia experiencia en el uso de Ranibizumab en esta patología y tienen un protocolo detallado del uso de la OCT-SD para el seguimiento de estos pacientes de acorde a los criterios de la SERV. El análisis de estos datos aportará nuevas evidencias para mejorar y actualizar el manejo terapéutico de nuestros pacientes.

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los resultados visuales obtenidos tras el tratamiento de la DMAE húmeda con Ranibizumab intravítreo en la práctica clínica diaria no se mantienen estables a partir del segundo año de tratamiento.

4. OBJETIVO PRINCIPAL

Conocer los resultados obtenidos a largo plazo (superior a dos años) en los pacientes con DMAE húmeda tratados con Ranibizumab en el contexto de la práctica clínica diaria en Castilla y León.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Conocer la evolución de la AV al inicio del tratamiento, a los tres meses, al año, a los dos años (mínimo periodo de tiempo), al tercer año y al cuarto año de seguimiento (máximo periodo de tiempo).
- Conocer la necesidad media de inyecciones por año de tratamiento y su evolución con el tiempo.
- Conocer la media de grosor macular medida por OCT por año de tratamiento, así como la morfología del OCT y su evolución con el tiempo.
- Conocer las media de visitas realizadas por año de tratamiento y el total a finalizar los años de seguimiento (mínimo dos años de seguimiento).
- Conocer el estado macular anatómico final post tratamiento de al menos dos años de tratamiento y si tiene relación con alguna variable clínica inicial.
- Conocer el estado macular anatómico del ojo contralateral al iniciar y terminar el tratamiento.
- Conocer el porcentaje de bilateralidad durante el seguimiento del tratamiento.
- Cuantificar y conocer las causas de abandono y ausencia al tratamiento.

5. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio retrospectivo, descriptivo, longitudinal y analítico mediante la revisión de Historias Clínicas de pacientes que iniciaron tratamiento con Ranibizumab (Lucentis®) en el IOBA así como en los servicios de Oftalmología de hospitales asistenciales del SACYL de la comunidad autónoma de Castilla y León formados por el Complejo Asistencial de Palencia (CAPA), Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Hospital de Nuestra Señora de Sonsoles de Ávila, Hospital Virgen de la Vega Salamanca, Complejo Asistencial Universitario de León y Hospital General de Segovia.

Previamente, el estudio se sometió a aprobación por el Comité Ético del Hospital Clínico Universitario y las comisiones de investigación de cada uno de los centros. (Anexo 2).

PACIENTES

Criterios de inclusión: Pacientes con DMAE exudativa *naive* que iniciaron su tratamiento con Ranibizumab intravítreo entre el 1 de Enero del 2008 al 31 de Diciembre del 2010.

Criterios de exclusión: Aquellos pacientes que presenten otra patología asociada que pudiera producir disminución de agudeza visual, excepto catarata evolutiva, fueron excluidos del estudio. Se excluyeron también pacientes con DMAE en fase terminal. Así mismo todos aquellos pacientes que no completaron al menos 24 meses de seguimiento también fueron excluidos. Por último, se excluyeron aquellos que habían tenido otros tratamientos previos (TFD, Bevacizumab, Macugen®, fotocoagulación láser).

MATERIAL Y MÉTODOS

En la revisión de las historia clínicas se extrajeron los siguientes datos: Edad, sexo, procedencia del paciente, ojo afecto, agudeza visual, fecha del diagnóstico, edad al inicio del tratamiento, tipo angiográfico de la lesión, lesiones fundoscópicas asociadas, estado del cristalino al inicio del tratamiento, espesor retiniano central (OCT), número de visitas, número de inyecciones, el estado anatómico macular del ojo contralateral al inicio y final del tratamiento. La AV, el OCT, el número de visitas y el número de inyecciones se evaluaron al inicio de tratamiento, a los 3 meses, al año, a los dos años, a los tres años y al cuarto año en caso de presentar seguimiento exhaustivo. Si el paciente abandonó el tratamiento se trató de averiguar la causa.

Se valoró la agudeza visual mediante optotipo en escala decimal de Snellen o ETDRS. Posteriormente la escala decimal se transformó a LogMAR mediante tabla de equivalencia para el posterior análisis estadístico de este dato. Además para contrarrestar el efecto que pudiera tener la AV inicial, AV final y en la valoración de la respuesta al tratamiento, se consideró el cambio en la AV en cada momento m como,

$$\Delta AV = \begin{cases} \frac{AV_m - AV_i}{AV_{max} - AV_i} & \text{si } AV_m > AV_i \\ 0 & \text{si } AV_m = AV_i \\ \frac{AV_m - AV_i}{AV_i - AV_{min}} & \text{si } AV_m < AV_i \end{cases}$$

donde AV_m es la AV en el momento m , AV_i es la AV en el momento inicial, $AV_{max} = 3$ es la AV máxima y $AV_{min} = -0.3$ es la AV mínima. $\Delta AV * 100$ se puede interpretar como el porcentaje de cambio sobre la AV inicial, si es positivo significaba un aumento en la escala LogMAR (un empeoramiento en la AV) y viceversa.

Los grosores maculares centrales se midieron en micras mediante OCT en la fovea, además de registrar la morfología del OCT que implica reactivación de las lesiones (la presencia de LSR y/o de engrosamiento de la retina superior a 100 μ . Debido a la heterogeneidad de equipamiento entre los distintos centros, se recogieron también datos de actividad de la MNV como la presencia de líquido subretiniano o engrosamiento de la retina >100micras respecto al OCT anterior en las visitas de 3 meses y en las revisiones anuales como se detalla en tabla 1.

Tabla 1. Tipos de OCT

HOSPITAL	OCT
AVILA	3D OCT-1000 (Topcon)
HCU	3D OCT-1000 (Topcon)
IOBA	Stratus 4.0.7 (Carl Zeiss Meditec [®])2008-2010 OCT 3D-2000 (Topcon)2010-2013
LEÓN	OCT Spectralis (Heidelberg Engineering)
PALENCIA	OCT 4.0.7 (Carl Zeiss Meditec [®]).
SALAMANCA	OCT Stratus 3000 (Carl Zeiss Meditec [®]) 2008 – 2009 Cirrus HD-OCT 4000 (Carl Zeiss Meditec [®]) 2010-2013
SEGOVIA	Stratus 6.0.2 (Carl Zeiss Meditec [®])

Para que en el análisis estadístico no influyese el efecto del diferente instrumento de medida utilizado para analizar el grosor del OCT se utilizó también el porcentaje de cambio de cada paciente. Para ello se definió el **cambio en el grosor foveal en cada momento m** como,

$$\Delta Grosor = \begin{cases} \frac{Grosor_m - Grosor_i}{Grosor_{max} - Grosor_i} & si\ Grosor_m > Grosor_i \\ 0 & si\ Grosor_m = Grosor_i \\ \frac{Grosor_m - Grosor_i}{Grosor_i - Grosor_{min}} & si\ Grosor_m < Grosor_i \end{cases}$$

donde $Grosor_m$ es el grosor foveal en el momento m, $Grosor_i$ es el grosor foveal en el momento inicial, $Grosor_{max} = 750$ es el grosorfoveal máximo y $Grosor_{min} = 70$ es el

grosor foveal mínimo. $\Delta Grosor * 100$ se puede interpretar como el porcentaje de cambio sobre el grosor foveal inicial, si es positivo significaba un engrosamiento y si es negativo un adelgazamiento retiniano.

Los diferentes tipo de angiógrafos de los centros participantes se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Tipos de angiógrafos

HOSPITAL	ANGIÓGRAFO
AVILA	TRC-50DX (Topcon)
HCU	TRC-50DX (Topcon)
IOBA	TRC-50IX (Topcon)
LEÓN	FF450plus IR (Carl Zeiss Meditec®)
PALENCIA	FF450plus IR (Carl Zeiss Meditec®)
SALAMANCA	TRC-50DX (Topcon)
SEGOVIA	TRC-50X

Los pacientes se agruparon según las características angiográficas iniciales de la lesión en predominantemente clásicas, mínimamente clásicas, predominantemente clásicas y ocultas.

En la fundoscopia se recogió la presencia de las siguientes lesiones asociadas: sangrado mayor del 50%, Desprendimiento del EPR(DEP), desgarro del EPR, atrofia que afecte al área foveal, fibrosis, proliferación angiomasosa retiniana y polipoidea en caso de encontrarse presente al iniciar el tratamiento, a los 3 meses, al año, dos años, tres y a los cuatro años de tratamiento.

En general se realizó el tratamiento siguiendo el protocolo de “*Wait-and-Extent*”^{37,38} con 3 dosis mensuales de Ranibizumab intravítreos, cumpliendo el tratamiento de carga recomendado por la SERV. A partir del tercer mes tras el inicio del tratamiento se repitió la exploración de AV, FO y OCT indicando retratamiento según los criterios de reinyección de la SERV.²⁷

Durante el seguimiento se evaluaron también el número de inyecciones (Ranibizumab) y el número de visitas a los 3 meses, al año, dos años, tres años y cuatro años. El ritmo de las visitas posteriores se efectuó a criterio del oftalmólogo según la respuesta al tratamiento. Además durante el seguimiento se observó si algún paciente había abandonado el tratamiento y cuál fue la causa principal para ello.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El software utilizado fue R [R CoreTeam (2012)]. El contraste de normalidad se realizó utilizando el package `nor.test` [Juergen Gross and bug fixes by Uwe Ligges (2012)].^{39,40}

Para el **análisis estadístico descriptivo** se distinguió el tipo de variable:

- Variables cuantitativas. Los estadísticos descriptivos que se utilizan son la media, desviación típica (DT), el intervalo de confianza (IC) del 95% para la media, la mediana y los valores máximo (Max) y mínimo (Min). Además se comprueba la hipótesis de normalidad utilizando el contraste de Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov). Gráficamente se describe la muestra utilizando el histograma, en el que se representa la curva de la distribución normal correspondiente y un boxplot.
- Variables cualitativas. Los estadísticos descriptivos son los porcentajes de cada categoría junto con un intervalo de confianza del 95%.

Para el **análisis estadístico de relaciones entre variables** se siguió la siguiente metodología:

Se evaluó la relación entre variables cuantitativas utilizando el coeficiente de correlación rho de Spearman. Para comparar variables cuantitativas entre sí se contrastó la independencia entre variables utilizando tablas de contingencia: test chi-cuadrado y en el caso de que la convergencia de este estadístico no estuviese garantizada se utilizó el test exacto de Fisher.

Para evaluar la relación entre variables cualitativas y cuantitativas se utilizó el ANOVA no paramétrico de Kruskal Wallis, siempre que no fuera posible asumir normalidad en la variable cuantitativa. Para comprobar esta hipótesis se utilizó el contraste de Levene, y en caso de rechazar esta hipótesis, se buscará una

transformación de los datos. Cuando encontramos un p-valor significativo significa que alguna de las variables cualitativas tiene diferencias en su distribución respecto a la cualitativa, pero no nos habla acerca de quiénes son los grupos entre los que se encuentran estas diferencias. Para ello, necesitamos realizar un análisis post hoc comparando los grupos dos a dos. Esta comparación la hicimos contrastando la hipótesis de igualdad de medianas utilizando el contraste no-paramétrico U de Mann-Whitney y aplicando la corrección de Bonferroni para resolver el problema de las comparaciones múltiples.

Para analizar las características concretas de distintos grupos de pacientes, se utilizó en el caso de las *variables cuantitativas* un contraste de hipótesis de igualdad de medias para dos muestras independientes, utilizando el contraste t-Student, o su equivalente no paramétrico, el test U de Mann-Whitney, dependiendo de que sea posible o no asumir normalidad. Estos dos tests asumen que las varianzas de los dos grupos son iguales. Para comprobar esta hipótesis utilizamos el test de Levene. Si este contraste rechaza la hipótesis de homogeneidad de varianzas, utilizando el test de Welch en el caso paramétrico y el de Kolmogorov-Smirnov en el no-paramétrico. Sin embargo, en el caso de que se tratasen de *variables cualitativas* se contrastó la independencia entre el grupo y estas variables utilizando tablas de contingencia: test chi-cuadrado y en el caso de que la convergencia de este estadístico no estuviese garantizada se utilizó el test exacto de Fisher.

6. RESULTADOS

Tras la revisión sistemática de historias clínicas se han incluido en el estudio un total de 352 ojos (332 pacientes), de los cuales 63 (17.90%; IC95%: 14.11 – 22.39) abandonaron el tratamiento, quedando un total de 289 ojos que fueron los utilizados para el análisis estadístico de todas las variables que se detalla a continuación. Del total de la muestra 111 pacientes (38.41%) eran varones y 178 (61.59%) eran mujeres. El rango de edad fue de 55 a 95 años, siendo la mediana de 79, y la media y la desviación estándar de 78.18 ± 7.35 años. La distribución por ojo afecto fue: 154 ojos derechos (53.29%) y 135 ojos izquierdos (46.71%). La distribución por hospitales se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Frecuencia de hospitales de procedencia

HOSPITAL	TOTAL HISTORIAS REVISADAS N	HISTORIAS INCLUIDAS N	%
AVILA	114	23	7.96
HCU	216	69	23.88
IOBA	116	32	11.07
LEÓN	292	70	24.22
PALENCIA	165	34	11.76
SALAMANCA	280	22	7.61
SEGOVIA	53	39	13.49
TOTAL	1,236	289	100%

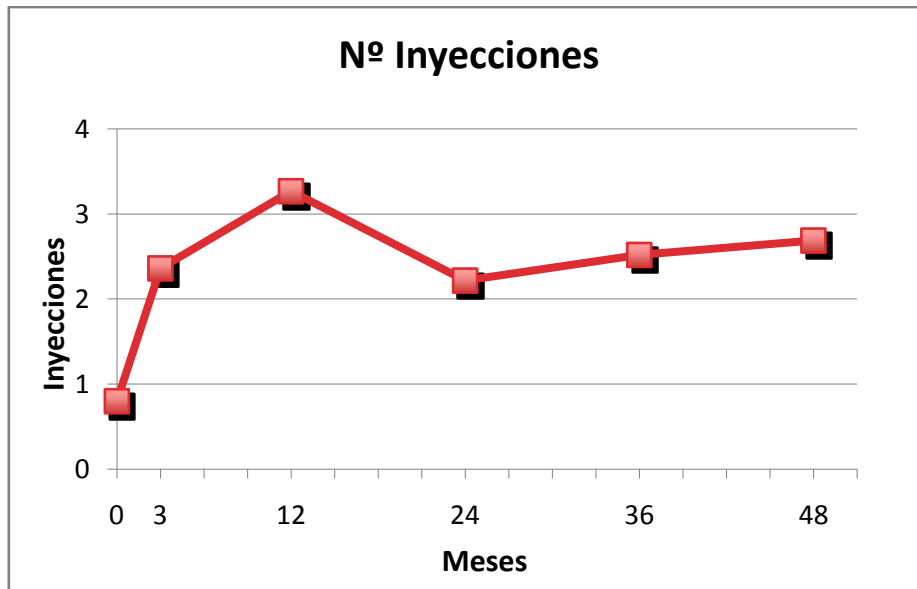
Se realizó el diagnóstico de DMAE húmeda en el año 2007 a 2 ojos (0.69%), en el 2008 a 81 ojos (28.03%), en el año 2009 a 141 ojos (48.79%) y en el año 2010 a 65 ojos (22.49%). Los pacientes iniciaron el tratamiento una media de 48.06 ± 90.19 días después de realizado el diagnóstico. Por lo tanto todos iniciaron tratamiento a partir de 2008.

El diagnóstico se realizó en un 68.17% (197 ojos) por medio de AGF+OCT, únicamente OCT en el 26.3%(76 ojos), solamente AGF en el 3.81% (11 ojos) y la combinación de AGF+OCT+ICG en el 1.73% (5 ojos).

El número de visitas a lo largo del seguimiento en los primeros tres meses del tratamiento fue de $2.82 \pm 0,94$, en el primer año de $7.29 \pm 2,61$, en el segundo año 7.55 ± 4.43 , en el tercer año $7.96 \pm 6,81$ y en el cuarto año $7.68 \pm 8,17$.

El número medio de inyecciones en los primeros tres meses del tratamiento fue de $2.36 \pm 0,75$, en el primer año $3.27 \pm 1,76$, en el segundo año $2.22 \pm 1,97$, en el tercer año $2.52 \pm 2,81$ y en el cuarto año $2.69 \pm 3,39$ inyecciones. (Gráfico1)

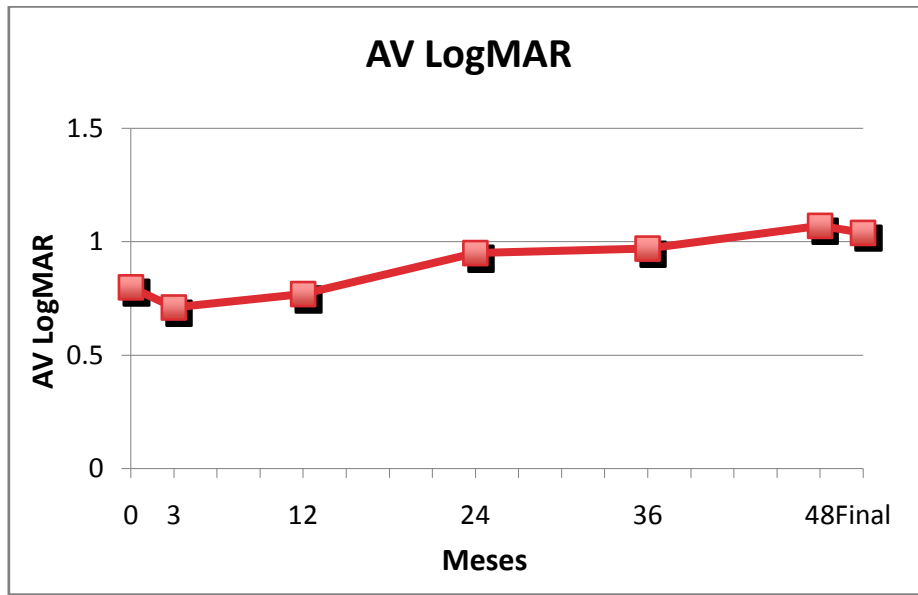
Gráfico 1. Número medio de inyecciones a largo plazo



El tiempo total de duración del tratamiento fue de 1162.52 ± 341.36 días comprendiendo un rango de 292 a 1938 días.

La AV inicial media en LogMAR fue 0.8 ± 0.52 ; a los 3 meses del tratamiento fue 0.71 ± 0.49 , al año fue 0.77 ± 0.51 , a los 2 años 0.95 ± 0.60 , a los 3 años 0.97 ± 0.62 , a los 4 años 1.07 ± 0.62 , encontrándose como AV final 1.04 ± 0.65 . (Gráfico 2)

Gráfico 2. AV media en LogMAR a largo plazo



289 ojos (100%) completaron los dos años de seguimiento, de estos 188 ojos (40.83%) completaron 3 años y 131 ojos (45.32%) cumplieron con cuatro años de seguimiento.

El resto de las características clínicas de la enfermedad en la muestra se presentan en las tablas 4 a 7. En el caso de las características del cristalino, al final del seguimiento el número de pseudofaquia aumentó a 89 ojos.

Tabla 4. Características cristalino inicial

Cristalino inicial	N	%	IC 95 % para el %	
			Inf.	Sup.
Opacidad	164	64.31	58.061	70.127
Pseudofaquia	81	31.76	26.173	37.916
Transparente	10	3.92	2.005	7.313
Total	255	100	.	.

Tabla 5. Características clasificación angiográfica

Clasificación angiográfica	N	%	IC 95 % para el %	
			Inf.	Sup.
Clásica	51	27.57	21.389	34.697
Pred. Clásica	19	10.27	6.458	15.796
Min. Clásica	20	10.81	6.891	16.419
Oculta	87	47.03	39.706	54.473
Otros	8	4.32	2.025	8.644
Total	185	100	.	.

Tabla 6. Características anatomía macular final

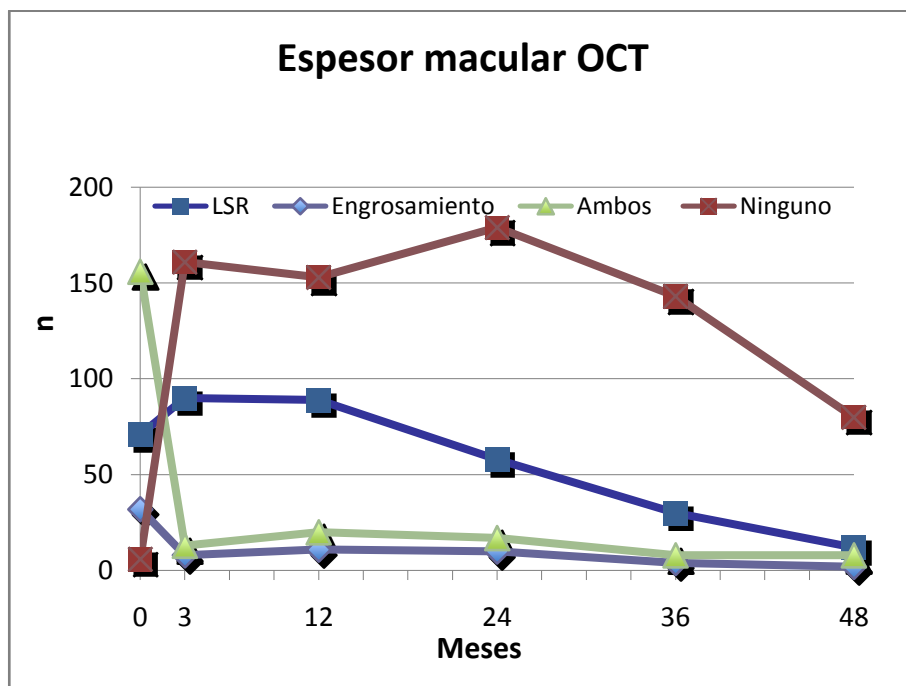
Anatomía macular final	n	%	IC 95 % para el %	
			Inf.	Sup.
Disciforme	96	36.23	30.495	42.364
Preservada	49	18.49	14.11	23.807
Atrofia	85	32.08	26.569	38.111
Activa	26	9.81	6.628	14.203
Otros	9	3.4	1.666	6.567
Total	265	100	.	.

Tabla 7. Lesiones asociadas iniciales

	Lesiones asociadas	n	%	IC 95 % para el %	
				Inf.	Sup.
Inicial	Missing	102	35.29	.	.
	Sangrado >50%	30	16.04	11.247	22.274
	Desprendimiento EP	48	25.67	19.7	32.657
	Desgarro EP	2	1.07	0.185	4.218
	Atrofia foveal	5	2.67	0.988	6.466
	Fibrosis	16	8.56	5.128	13.761
	Prolif. Angiomatosa retiniana	4	2.14	0.687	5.74
	Polipoidea	4	2.14	0.687	5.74
	Otras	78	41.71	34.625	49.144
	Total	187	100	.	.

Respecto a la morfología de los hallazgos encontrados con la OCT se muestran los datos en la gráfico 3.

Gráfico 3. Morfología del OCT



Los resultados del porcentaje de cambio del grosor macular a lo largo del tiempo debido a la heterogeneidad de equipos de OCT se visualizan en la tabla 8 y los datos de los espesores en cada momento en el gráfico 4.

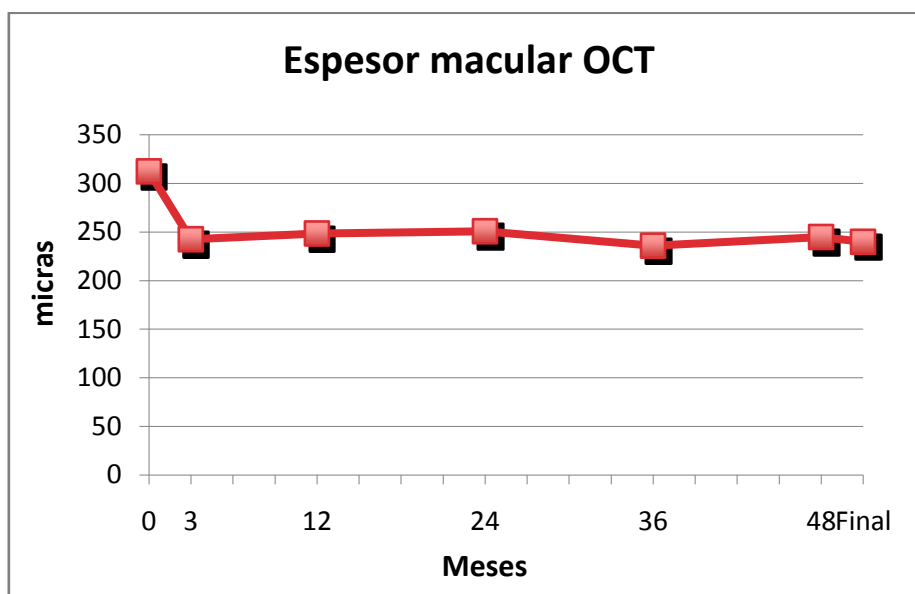
Tabla 8. Porcentaje de cambio del grosor macular

	Missing		N	Media	DT	IC 95% para la media		Med.	Mín.	Max.	H ₀ : normalidad	
	n	%				Inf.	Sup.				D	p-valor
3m	31	10.73	258	-0.26	0.29	-0.3	-0.23	-0.24	-0.98	0.75	0.073	0.002
1a	33	11.42	256	-0.24	0.3	-0.28	-0.21	-0.25	-0.89	0.61	0.063	0.0156
2a	41	14.19	248	-0.24	0.32	-0.28	-0.2	-0.25	-0.93	0.73	0.047	0.2124
3a	109	37.72	180	-0.28	0.32	-0.32	-0.23	-0.31	-0.98	0.64	0.06	0.122
4a	194	67.13	95	-0.28	0.35	-0.35	-0.21	-0.35	-0.91	0.88	0.093	0.042
Final	47	16.26	242	-0.27	0.31	-0.31	-0.23	-0.32	-0.91	0.95	0.073	0.0033

DT=Desviación Típica; Med. = Mediana; Mín.=Mínimo; Máx. = Máximo, D = Lilliefors test

No se rechaza la hipótesis de normalidad en los momentos 2 y 3 años.

Gráfico 4. Porcentaje de cambio del grosor macular



En cuanto al estado del ojo contralateral, al inicio del estudio 109 (40.52%) presentaron MAE, 29 (10.78%) DMAE exudativa activa, 55 (20.45%) DMAE atrofica y 49 (18.22%) disciforme. 70 (64.22%) pacientes de 109 afectados de MAE en el ojo contralateral al inicio del estudio tuvieron bilateralización al finalizarlo. De ellos 21 presentaban una DMAE DMAE húmeda, 3 más habían desarrollado ya una lesión disciforme con fibrosis debido a DMAE húmeda, y 10 presentaban atrofia con afectación foveal.

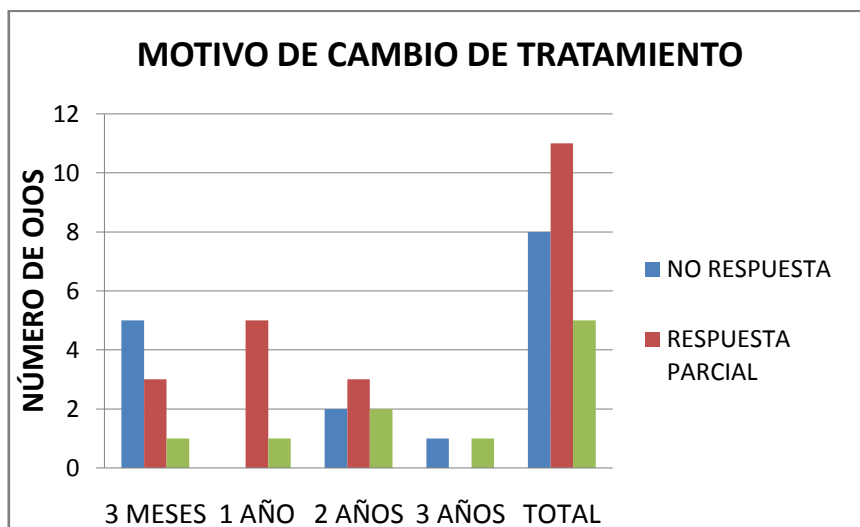
Antes de finalizar hay que recordar que se encontraron 37 (12.8%) pacientes que necesitaron cambiar de tratamiento a lo largo del estudio. El nuevo tratamiento utilizado sólo consta en 17 pacientes a lo largo del seguimiento, y en total de ellos 9 fueron tratados con Avastin®, 2 con Macugen®, 6 con Terapia combinada con Visudine® +Lucentis®. El momento del cambio se presenta en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentaje de individuos que cambian de tratamiento

	n	%	IC 95 % para el %	
			Inf.	Sup.
3M	13	4.5	2.519	7.755
1A	15	5.19	3.038	8.595
2A	17	5.88	3.57	9.424
3A	6	2.08	0.847	4.686
Total	37	12.8	9.284	17.341

Respecto al motivo de cambio de tratamiento ocurrió en la mayoría de los casos por respuesta parcial al uso de Ranibizumab en 11 ojos (29.72%), no respuesta en 8 ojos (21.62%) y efectos secundarios en 5 ojos (13.51%) como se ve en el gráfico 5.

Gráfico 5. Motivo de cambio de tratamiento



Como ya se ha dicho durante el seguimiento de largo plazo se observó abandono del tratamiento o del seguimiento de 63 pacientes. Los motivos de

abandono de estos 63 casos se ven reflejados en la tabla 10. Los abandonos acaecidos antes de los 2 años de seguimiento no quedan reflejados pues estos pacientes no cumplían criterios de inclusión en el presente estudio.

Tabla 10. Causas de abandono

Motivo	n	%	IC 95% para el %	
			Inf.	Sup.
Perdidos	9	14.29	.	.
Decisión del paciente	14	25.93	15.378	39.914
Decisión medica efectos secundarios	2	3.7	0.644	13.84
Decisión medica falta de eficacia	23	42.59	29.503	56.733
Fallecimiento	11	20.37	11.074	33.924
Otros	4	7.41	2.4	18.742
Total	54	100	.	.

IC: Intervalo de Confianza

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES

1.-Correlación entre el número de inyecciones y el porcentaje de cambio en el grosor foveal

Se encontró una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el número de inyecciones y el cambio en el grosor foveal a partir del segundo año ($p < 0.01$), observándose mayor cambio en el grosor (disminución del espesor) foveal cuánto mayor fue el número de inyecciones. Sin embargo esta relación está muy influenciada por unos pocos individuos que tienen 6 o más inyecciones. Si no se consideran estos individuos el coeficiente de correlación deja de ser significativo.

Para comparar la AV final LogMAR con otras variables se consideraron tres grupos: 1) 50 ojos con $AV < 0,4$ (17,30%), 2) 111 con AV entre 0,4 y 1 ambos incluidos (38,41%), y 3) 128 con AV final > 1 (44,29%). Después se realizó un análisis de la correlación entre el número de inyecciones y el cambio en el grosor foveal en cada uno de esos grupos. En el grupo con $AV < 0,4$ se encontró correlación positiva (mayor cambio en el grosor a mayor número de inyecciones) y estadísticamente significativa a los 3 meses ($p = 0.01$) y a los 3 años ($p = 0.01$). En el grupo de 0.4 a ≤ 1 es estadísticamente significativa a los 2

años ($p=0.00$). En el grupo AV final > 1 no se encontró correlación estadísticamente significativa en ninguno momento del seguimiento a largo plazo.

2.-Correlación entre el número de inyecciones y el porcentaje de cambio en la AV

Para la evaluación del cambio de la AV respecto al número de inyecciones se empleó la misma fórmula que en el análisis descriptivo.

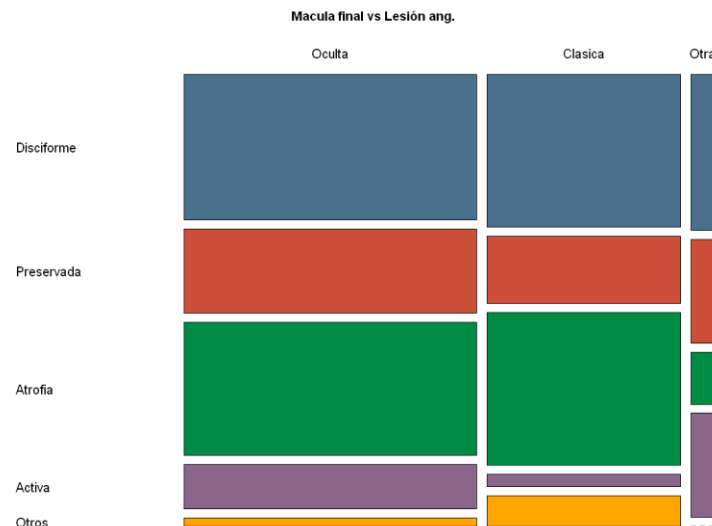
Se encontró una correlación negativa, es decir menor cambio en la AV cuánto mayor número de inyecciones en todos los momentos, excepto al año en que se encuentra correlación positiva. La correlación es estadísticamente significativa a los 3 años ($p=0.02$) y al año ($p= 0.01$). Analizando esta misma correlación en función de los grupos de AV final se obtuvieron los siguientes resultados:

- **$AV_{final}<0.4$:** La correlación es positiva al año, es decir a mayor número de inyecciones mayor cambio en la AV. Para el resto de los momentos la correlación es negativa, es decir a mayor número de inyecciones, menor cambio en la AV. La correlación es estadísticamente significativa al año ($p=0.02$).
- **$0.4 \leq AV_{final} \leq 1$:** La correlación es positiva al año y a los 4 años, es decir a mayor número de inyecciones mayor cambio en la AV. Para el resto de los momentos la correlación es negativa, es decir a mayor número de inyecciones, menor cambio en la AV. La correlación es estadísticamente significativa al año ($p=0.01$) y a los 4 años ($p<0.01$).
- **$AV_{final}>1$:** La correlación es positiva al año, es decir a mayor número de inyecciones mayor cambio en la AV. Para el resto de los momentos la correlación es negativa, es decir a mayor número de inyecciones, menor cambio en la AV. La correlación es estadísticamente significativa a los 2 años ($p=0.04$).

3.- Comparación entre el tipo de lesión angiográfica y la anatomía macular final

Para este análisis se agrupan las ocultas con las mínimamente clásicas, y las clásicas con las predominantemente clásicas. Los resultados se presentan en el gráfico 6.

Gráfico 6. Tipo de lesión angiográfica y anatomía macular final



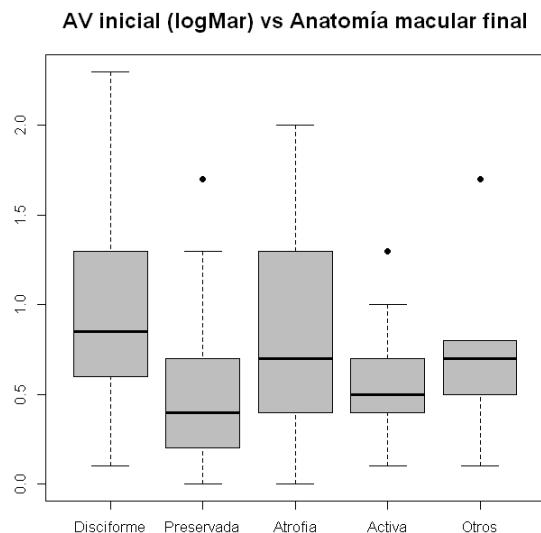
4.-Relación entre el número de inyecciones y la morfología del OCT.

A partir del año, es significativamente menor el nº de inyecciones en el grupo que no presenta signos de actividad respecto del grupo de los que presentan LSR. Además al año y a los 2 años también hay diferencias entre los que no tienen ni LSR ni engrosamiento en el OCT y los que presentan ambos (menor el nº de inyecciones en el grupo con ambos). En cualquier caso, tras corregir los p-valores por Bonferroni no se conservan ninguna de estas diferencias, quedando al borde de la significación el grupo “Ninguno” vs. “LSR” al año ($p < 0.01$) y a los 3 años ($p = 0.01$), y así como en la comparación de “Ninguno” de los signos vs presencia de “Ambos” a los 2 años ($p = 0.01$).

5.-Correlación entre la AV inicial y el estado macular final.

Se observa que la AV inicial es distinta en cada uno de los estados maculares. Así, las maculas que desarrollan cicatrices disciformes tienen una AV inicial en LogMAR significativamente mayor que las preservadas y las activas ($p < 0.01$). Mientras que las maculas cuyo aspecto anatómico en el examen final del seguimiento están relativamente bien preservado respecto a las atróficas tienen una AV inicial LogMAR significativamente menor ($p < 0.01$). Además hay una diferencia “Atrofia” vs “Activa” cuyo p-valor antes del ajuste de Bonferroni es significativo. El resultado se muestra en la gráfica 7.

Gráfico 7.

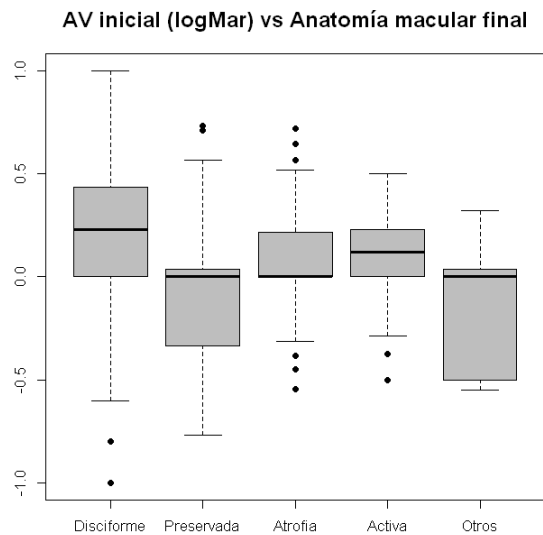


6.-Relación entre el cambio total de AV con el estado macular final.

La AV en LogMAR disminuye un 12% frente al aumento del 18% en las disciformes y el cambio cercano al 0% en las atróficas y activas. Se observa que las maculas que terminan desarrollando cicatrices disciformes tienen un cambio en la AV significativamente mayor ($p < 0.01$). Este cambio es positivo indicando que la AV en LogMAR aumenta un 18% frente al decremento del 12% en las preservadas y el cambio

es cercano al 0% en las atróficas. Por su parte, las máculas con anatomía retiniana preservada tienen un cambio en la AV significativamente menor que las atróficas y las activas ($p < 0.01$). Este cambio es negativo pues la AV en LogMAR disminuye un frente al aumento en las disciformes y el cambio cercano al 0% en las atróficas y activas. Esto se observa en la gráfico 8.

Gráfico 8.



7.-Correlación entre el número de inyecciones y el tipo lesión angiográfica.

Hay una diferencia, entre ocultas y clásicas a los 2 años cuyo p-valor es significativo antes de ajustarlo por el método de Bonferroni ($p=0.03$). Así, se encontró mayor número de inyecciones en las MNV ocultas (2.27 ± 1.94) que en las clásicas (1.76 ± 2.04) en ese momento del seguimiento.

8.-Características de los pacientes que abandonan.

Para el análisis se dividieron en dos grupos: pacientes que abandonan vs. los que no abandonan.

- En todo momento del seguimiento, la AV en valor absoluto de los pacientes que abandonan el tratamiento fue significativamente mayor que en el grupo de los pacientes que no abandonan ($p<0.01$).
- Cambio de la AV (respecto a la inicial): En todos los casos el cambio de AV es significativamente mayor (empeoran) en el grupo de pacientes que abandonan ($p<0.01$),
- Cambio en el grosor macular: El cambio absoluto en el grosor es negativo, es decir se produce un decremento. El cambio absoluto en el grosor es significativamente mayor ($p<0.01$) en el grupo de pacientes que abandonan; mientras que a los 4 años el cambio absoluto es mayor en el grupo que continúan ($p=0.04$)
- Morfología de OCT: En todos los casos la presencia de LSR y engrosamiento es mayor en el grupo de abandono, además, el número de los que no tienen ningún signo de actividad es menor. Las diferencias son estadísticamente significativas a partir de los dos años ($p<0.01$).
- Número de inyecciones: El número de inyecciones es mayor en el grupo de abandonos y es estadísticamente significativa a los 3 meses de seguimiento ($p<0.01$).

9.-Características de los pacientes con AV Final <0.4 LogMAR.

En todos los casos, el cambio absoluto en la AV y en el grosor macular son significativamente mayores en este grupo de pacientes ($p<0.01$). Respecto de la morfología del OCT, el porcentaje de pacientes que no presenta signos de actividad es mayor también ($p=0.04$), así como el número de inyecciones ($p<0.01$) y el porcentaje de fibrosis fueron menores ($p<0.01$). Por su parte, este grupo presenta mayor porcentaje de lesiones asociadas tipo: DEP a los 2 (19.35%) y 3 años (14.29%), y solo a los 2 años es mayor el desgarro EP (6.45%).

10.-Características de los pacientes con AV Final entre 0,4 Y 1 LogMAR.

En todos los casos, el cambio absoluto en la AV es menor en este grupo de pacientes y las diferencias son estadísticamente significativas en los momentos 2, 3 y 4 años ($p<0.01$). Respecto de la morfología del OCT, a los 2 años el porcentaje de LSR es significativamente mayor ($p=0.4$), así como el número de inyecciones el primer año ($p=0.01$). Por su parte, estos ojos presentan menor porcentaje de fibrosis (30.26%) y mayor de atrofia (21.05%) siendo estadísticamente significativo a los 2 años ($p=0.01$).

11.-Características de los pacientes con AV Final >1 LogMAR.

Respecto al cambio en la AV hasta el año este cambio es negativo (mejoran), pero a partir de los 2 años, el cambio es positivo (comienzan a empeorar) ($p<0.1$). Por su parte se observa un decremento en el cambio del grosor foveal a los tres meses que es significativamente mayor en este grupo que en el resto ($p=0.01$). Respecto de la morfología del OCT, a los 2 años porcentaje de pacientes que presentan engrosamiento (7.96%) es significativamente mayor en este grupo y el porcentaje de pacientes que no muestran ni LSR, ni engrosamiento es significativamente menor. ($p<0.01$). Además estos ojos con peor AV final fueron tratados con un menor número de inyecciones, siendo las diferencias con otros grupos estadísticamente significativas a los 3 meses ($p<0.01$) y al año ($p=0.01$). Por su parte, estos ojos presentan mayor porcentaje de fibrosis y lo que más llama la atención estas diferencias son estadísticamente significativas en todos los momentos estudiados excepto a los 4 años ($p=0.16$).

7. DISCUSIÓN

Respecto a la metodología cabe destacar que se ha realizado el análisis de las dos variables cuantitativas (AV y Grosor retiniano) en términos de cambio en cada momento estudiado respecto al valor inicial en un intento de contrarrestar la influencia del valor inicial de los mismos. Además, esta maniobra permite también contrarrestar el efecto de haber utilizado distintos instrumentos de medida de grosor retiniano en cada centro. En cualquier caso, el hecho de disponer también de datos de la morfología del OCT, permite complementar los resultados observados y definir la respuesta anatómica al tratamiento a lo largo del tiempo.

Respecto a los resultado funcionales o anatómicos observados en nuestro estudio, debemos recordar que en la actualidad el tratamiento que ha demostrado ser más eficaz para la DMAE húmeda es el Ranibizumab (Lucentis®) intravítreo. Gracias a este tratamiento se ha logrado evitar la pérdida de AV severa y se ha reportado mejoría en algunos casos. La industria farmacéutica Genentech, Inc, (South San Francisco, CA.) demostró en los estudios MARINA²⁴ Y ANCHOR²⁹ que la aplicación intravítrea de Ranibizumab mensual en un total de 24 inyecciones conseguía una mejoría de +7,3 y +11,3 de letras respectivamente en optotipos ETDRS. Sin embargo en la práctica diaria esta pauta resulta difícil de cumplir tanto para los pacientes como para los servicios de oftalmología, además de que en la práctica diaria no es viable por el alto coste económico que representa. Los ensayos clínicos, estudios aleatorizados a doble ciego, ofrecen la mayor evidencia científica en cuanto a la demostración de la eficacia de un tratamiento, pero en estos estudios se siguen rígidos protocolos de tratamiento, un tiempo concreto y limitado de seguimiento, así como estrictos criterios de inclusión y exclusión que aseguran la homogeneidad de la muestra. Sin embargo, en la clínica diaria no se pueden aplicar estos estrictos protocolos; los pacientes que debemos tratar no siempre cumplen los criterios de dichos estudios.

Por ello, se han probado pautas como las empleadas en el PIER³⁰ (3 inyecciones de carga seguidas de inyecciones trimestrales) que lograron peores resultados que los obtenidos en los ensayos MARINA²⁴ y ANCHOR²⁹. Otros protocolos de tratamiento *pro*

re nata (PRN)³² como el empleado en el estudio PrONTO³¹ consiguieron resultados visuales similares a los ensayos (aunque ligeramente inferiores) con una reducción sustancial del número de inyecciones, pero con un corto periodo de seguimiento.(Anexo 1)

Otros intentos de reducir el número de inyecciones y de visitas de seguimiento manteniendo los resultados visuales han surgido en estos últimos años, como el “*treat and extend*”.⁴¹ (Anexo 1.). En el ánimo de reducir las inyecciones y revisiones está también la pauta publicada por Arias y cols. que se ha denominado “*wait and extend*”^{37,38} “*wait and extend*”^{37,38} (Anexo 1). La pauta “*treat and extend*”³⁷ se ha hecho más popular en los últimos años por haber mostrado en muchos estudios un mejor resultado visual con tratamientos más proactivos.³⁷

Pacientes recogidos en el presente trabajo son los primeros que se empezaron a tratar con AAG en los centros de estudio. Los primeros tiempos de la introducción de los AAG en la clínica fueron algo confusos pues solo se tenía la información de los ensayos clínicos. La mayoría de los estudios antes expuestos no habían sido publicados y no estaba establecida aún la conveniencia de la dosis de carga. Esto explica que la media de inyecciones que los pacientes recibieron en los primeros 3 meses sea inferior a 3. Los datos recogidos para este trabajo datan desde finales del 2007 al 2013, realizándose el diagnóstico en la mayoría de ellos en el 2009 y esto explica que la pauta de tratamiento realizada en todos los centros haya sido la de “*wait and extend*”.^{37,38}

A pesar de ello, la media de inyecciones en los primeros 3 meses (2.36) en nuestro estudio es algo inferior a la dosis de carga recomendada por la SERV²⁷ y, de acuerdo a la evidencia científica para que se consiga la mejoría es preciso completar la fase de carga. Además el número de inyecciones durante el primer año (3.27) es muy inferior a la observada en los estudios(5.1 – 5.6) con el SUSTAIN³³, el LUMIERE²³ y el PrONTO³¹ En el resto del seguimiento el número de inyecciones anual se ha mantenido en torno a 2.5, no observándose reducción a lo largo de los años cómo sería esperable.

Esto nos hace reafirmar el concepto de que la DMAE es una enfermedad crónica en la que no podremos dar de alta a nuestros pacientes, y nos hace ser conscientes de que debemos efectuar revisiones periódicas aunque haga tiempo del

inicio del tratamiento. Por otra parte, el hecho de haber encontrado aquí en nuestro estudio una mejor AV y una mejor respuesta en el OCT en los pacientes con más inyecciones, confirma que cuánto más proactivo es el tratamiento, mejor es el resultado. Aunque, debemos recordar también que aquellos que no tenían signos de actividad en la variable “morfología del OCT” son los que han recibido un número menor de inyecciones y que son los pacientes con lesiones clásicas los que han recibido un mayor número de inyecciones. Por lo tanto, también es posible que el menor nº de inyecciones encontrado se deba a características especiales de la muestra, con AV iniciales malas, edad avanzada de los pacientes, desarrollo de cicatrices disciformes en el 36% de la muestra y de atrofia en el 32%, etc. Creemos que el menor número de inyecciones recibidas está en relación al menor número de visitas realizadas. El menor número de visitas realizadas podría tener varias causas: la avanzada edad de los pacientes (casi 80 años de media) que a veces dificulta su desplazamiento, así como la lejanía desde su domicilio al centro de atención (aunque sólo un 5% vinieron de medio rural). La saturación de los centros asistenciales y la fatiga del paciente o del médico en cuanto al seguimiento y tratamiento pueden haber influido también.

En el presente trabajo los resultados de agudeza visual inicial (0,8 LogMAR) obtenidos son inferiores a los obtenidos en el estudio PIER³⁰ (20/63 que correspondería con 0,5 LogMAR) y esta mala situación de la AV de partida puede que condicione todos los resultados de nuestro trabajo. Sin embargo, el dato es muy semejante a los resultados obtenidos en el trabajo de Bandukwala y cols.³⁵(AV inicial 1 LogMAR) que se desarrolla en un contexto clínico al igual que el presente trabajo. Los grososres maculares se han correlacionado perfectamente con las agudezas visuales iniciales y la normalización del grosor macular medio durante el seguimiento se ha obtenido en todos los pacientes.

Otro factor a considerar importante es el tiempo que ocurre entre la fecha del diagnóstico e inicio de tratamiento. En nuestro trabajo es de llamar la atención la demora que existe para iniciar el tratamiento, presentando como media más de un

mes a partir de que se realizó el diagnóstico y esto puede estar condicionado por la saturación de los servicios asistenciales de salud. Existen factores potenciales de retraso para el tratamiento que son entre el inicio de la enfermedad y el diagnóstico, entre el diagnóstico y la iniciación del tratamiento, en la detección de progresión de la enfermedad y el intervalo entre la decisión de retratamiento y el procedimiento real. Los hallazgos encontrados por Cohen y cols. en el estudio LUMIERE²³ indican que el intervalo entre el diagnóstico y la primera inyección es en particular clave para el pronóstico.

En nuestro estudio encontramos pérdida de AV respecto a la AV inicial lo cual se puede explicar por diversas causas. La AV inicial media de nuestros pacientes es menor a las AV medias de los estudios antes referidos. Además, es a mayor largo plazo que cualquier otro, con excepción del HORIZON y SEVEN-UP.⁴² El SEVEN-UP concluye con una pérdida de 8.2 letras al cabo de 7 años de seguimiento, sin embargo hay que recordar que dichos pacientes tuvieron dos años de dosis mensuales iniciales de Ranibizumab ocasionando la ausencia de lesiones fibroticas en casi un 40% de los ojos. Los pacientes con mejor AV final presentaron mayor disminución del grosor macular con mayor número de inyecciones y los que tenían peor AV final no presentaron cambios estadísticamente significativos en el grosor macular, lo que puede indicar peor respuesta al tratamiento; mientras que no ocurrieron cambios significativos en los pacientes con mala AV inicial demostrando el mal pronóstico visual que tiene este factor de entrada.

Los ojos con mejor AV final en escala LogMAR presentaban mejores datos clínicos como mayores cambios absolutos en la AV (hacia la mejoría) y el grosor macular (que se reducía) así como signos de inactividad en el OCT, por lo tanto posteriormente requirieron menor número de inyecciones y acabaron desarrollando menor porcentaje de fibrosis.

Por su parte, los ojos con AV entre 0.4 y 1 escala LogMAR presentaron un menor cambio en la AV, observándose mayor porcentaje de LSR en el segundo año y mayor número de inyecciones durante el primer año de seguimiento, sin embargo este

grupo finaliza produciendo menos fibrosis y mayor atrofia. La atrofia no permite obtener resultados buenos de AV, pero la visión previsiblemente no estará tan afectada como por las cicatrices con fibrosis, que además tienden a ser más grandes que las placas de atrofia.²²

Por último, los ojos con AV final superior a 1 LogMAR mejoran al iniciar el tratamiento pero a partir del segundo año de seguimiento empeoran inexorablemente. Además, a los 3 meses del inicio del tratamiento sí disminuye el grosor foveal de forma importante pero a los dos años el porcentaje de engrosamiento es mayor y esto es probable que ocurra por el menor número de inyecciones que recibieron obteniendo como resultado final fibrosis en mayor porcentaje.

Un hallazgo interesante de nuestro trabajo es el hecho de que las lesiones clásicas han necesitado más inyecciones que las lesiones ocultas. También las lesiones ocultas han terminado el seguimiento en más ocasiones como “mácula preservada” lo que también concuerda con la evolución natural que tiene este tipo de lesiones.

Respecto al tipo de lesión angiográfica, las lesiones ocultas presentaron más actividad al final del seguimiento lo que pudiera indicar que son más refractarias al tratamiento. Mientras que las clásicas necesitaron un mayor número de inyecciones posiblemente en relación con hallazgos en el OCT que implican actividad, algo que ya había sido previamente señalado por Liakopoulos y cols.⁴³ Con todo ello, se puede interpretar que las clásicas necesitan más inyecciones pero responden mejor al tratamiento consiguiéndose la inactivación mejor que en las ocultas.

El hecho de que encontremos que las cicatrices disciformes empeoran un 18% en la escala de LogMAR y las máculas preservadas mejoran un 12% a lo largo de todo el seguimiento, hace pensar que la evolución a lo largo del tiempo hacia fibrosis hace imposible la mejoría y otorga a los pacientes un pronóstico visual infinitamente peor.⁴⁴ Esto no ha sido mencionado por ninguno de los estudios similares ya señalados a lo largo de este texto, por lo que el hallazgo añade datos a la literatura existente en este campo de conocimiento.

Las características encontradas en los pacientes que abandonan el tratamiento muestran que tenían peor AV inicial y el porcentaje de cambio era significativamente mayor hacia lo positivo en escala de LogMAR (empeoran más), además de que el cambio en el grosor mayor es mayor en los primeros 3 meses respecto al grupo que no abandona, presentando además signos de actividad en el OCT. Más testimonial es el número de pacientes que requirieron un cambio de tratamiento, llamando la atención que la falta de respuesta o la respuesta parcial son las causas más importantes para que se dé esta circunstancia. No existen otros trabajos que hablen de estas circunstancias (abandono y cambio de tratamiento) por lo que pensamos que esta es una contribución importante y novedosa de nuestro estudio.

Existen muchas limitaciones en el presente trabajo. La primera es la derivada de su carácter retrospectivo,^{45,46} la información contenida en las historias clínicas no tiene propósito investigador y no siempre contienen toda la información que se pretende recoger. Por otra parte, el número de abandonos es llamativo y también sesga los resultados, aunque la elevada n final analizada creemos que contrarresta este efecto.

Los resultados del presente estudio podrían servir de guía en cuanto a las expectativas reales de los pacientes con DMAE exudativa que acuden a nuestros centros y que comienzan tratamiento con Ranibizumab, sin embargo, nuestro estudio sugiere que se requieren mayor número de visitas de seguimiento para realizar un control más cercano de los pacientes y evitar el deterioro retiniano que en muchos casos es irreversible y conduce a un empeoramiento de la visión que ya no es recuperable. Es necesario considerar en el futuro criterios para la inclusión de pacientes como por ejemplo las guías de tratamiento del Reino Unido, the NICE⁴⁷ (National Institute for Healthcare and Clinical Excellence) en el que se establece AV LogMAR de 0.3 a 1.2, evitando con ello saturar los servicios de salud y contemplando el riesgo-beneficio así como el coste económico que proporciona el tratamiento.

8. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos tras el tratamiento con AAG en pacientes con DMAE húmeda en la práctica clínica diaria, no son aplicables a los resultados encontrados en los ensayos clínicos promovidos por la empresa farmacéutica.
- Se ha encontrado mejoría de la AV media en los primeros 3 meses de tratamiento (1 línea) y empeoramiento de una a dos líneas a largo plazo.
- Los pacientes han precisado un menor número de inyecciones en el segundo año persistiendo así a lo largo del tercero y cuarto año, aunque se han realizado un número similar de revisiones a las realizadas en otros estudios.
- El tratamiento con Ranibizumab reduce significativamente el grosor retiniano central en todas las visitas respecto a la basal.
- Se han detectado un gran número de abandonos a lo largo del seguimiento siendo las principales causa de ello: la respuesta parcial y la no respuesta al Ranibizumab.
- Los resultados visuales obtenidos tras el tratamiento de la DMAE húmeda con Ranibizumab intravítreo en la práctica clínica diaria no se mantienen estables a partir del segundo año de tratamiento confirmándose la hipótesis de nuestro trabajo.

9. ANEXOS

Anexo 1. Estudios multicéntricos

ESTUDIO	No. INYECCIONES	NO. VISITAS POR AÑO	PAUTAS	VARIACION MEDIA DE LA AV	TIEMPO	COMENTARIOS
MARINA ²⁴ ANCHOR ²⁹	24 en 24 meses	12	Inyecciones mensuales por dos años 0.03mg/0.5mg/placebo	+7.3/+11.2 letras	2 años	LUCENTIS/ Estudio prospectivo Seguimiento dos años
HORIZON SEVEN-UP	4.9 en 12 meses 6-8 en 12 meses (rango 0 – 46)		Extensión del estudio MARINA y ANCHOR	-5 letras >11 inyecciones +3.9 letras 1.6 inyecciones por año = pérdida 8.2	4 años 7.3 años	LUCENTIS/ Estudio seguimiento de ANCHOR/MARINA 4 años/ 7 años
PIER ³⁰	3 mensuales+3 inyecciones trimestrales 0.3mg o 0.5mg Ranibizumab	8	3 inyecciones carga +eventualmente tto. Cada mes si requerían retratamiento Valoró eficacia y seguridad de Lucentis	-2.3 letras	2 años	LUCENTIS/ Estudio prospectivo Seguimiento dos años
PRONTO ³¹	5.6 en 12 meses 9.9 en 24 meses	12	3 inyecciones carga mensuales + eventualmente retratamiento guiada por OCT (segundo año)	+ 11.1 letras 2 años	2 años	LUCENTIS/ Estudio prospectivo Cambios en los criterios de retratamiento durante 2do año.
SUSTAIN ³³	5.6 en 12 meses	12	3 dosis mensuales + retratamiento guiada por AV y OCT	+ 3.6 letras	1 año	Estudio prospectivo
TREAT & EXTEND ⁴¹	12 en 24 meses 20 en 36 meses	12 en 24 meses	3 dosis de carga + seguidos de retratamientos a intervalos crecientes en 2 semanas por visita hasta un máximo 10 semanas. Si existe LSR en OCT los intervalos se acortan	AV media sin cambios en 24 y 36 meses	36 meses	Extender intervalo entre reinyección sin fluido macular y la siguiente visita
WAIT & EXTEND ^{37,38}	4.4 en 12 meses	8	3 dosis de carga seguidas de pauta PRN y revisiones a intervalos crecientes de 2 semanas a un máximo de 8 semanas	+7 letras en 12 meses	1 año	Estudio Prospectivo
LUMIERE ²³	5.1 en 12 meses	8.6	Criterios de retratamiento guiado por OCT	+3.2 letras	1 año	Estudio observacional Contexto practica clínica
PRACCyL*	3.3 en 12 meses	7.3	3 dosis de carga + wait and extend	Perdida de 2 lineas -10 letras	4 años	Estudio retrospectivo situado en la práctica clínica diaria en Castilla y León

PRACCyL* Resultados a largo plazo del tratamiento de la DMAE húmeda con Ranibizumab en la práctica clínica diaria

Anexo 2. Aceptación del Comité Ético de Investigación Clínica



COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE (CEIC-VA-ESTE-HCUV)

Dr. Francisco Javier Álvarez González, Secretario Técnico del Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Valladolid – Este

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta para que se realice el estudio titulado:

CODIGO HOSPITAL	TITULO	INVESTIGADOR PRINCIPAL SERVICIO PROMOTOR
EPA-12-100	RESULTADOS A LARGO PLAZO DEL TRATAMIENTO ANTIANGIOGÉNICO EN LA DMAE EN LA PRÁCTICA CLÍNICA DIARIA	EPA-OD NOVARTIS IOBA Dra. ROSA COCO MARTIN

En relación con el citado Estudio Postautorización de Medicamentos, según la orden SAS/3470/2009 que regula dichos estudios, y de acuerdo a la evaluación favorable a su realización en este Hospital por parte del CEIC Área Valladolid Este en su sesión del 22-11-2012,

Se informa favorablemente la realización del dicho estudio en el IOBA.

Lo que firma en Valladolid, a 22 de Noviembre 2012

Prof. F. Javier Álvarez.
Secretario Técnico
CEIC Hospital Clínico Universitario de Valladolid
Farmacología
Facultad de Medicina,
Universidad de Valladolid,
c/ Ramón y Cajal 7,
47005 Valladolid
alvarez@med.uva.es
jalvarezgo@saludcastillayleon.cs
tel: 983 423077



10. REFERENCIAS

1. Azad R, Chandra P, Gupta R. The economic implications of the use of anti-vascular endothelial growth factor drugs in age-related macular degeneration. *Indian J Ophthalmol* 2007;55:441–443.
2. Pece A, Azzolini C, Parodi MB, et al. Consensus on the diagnosis, treatment and follow-up of patients with age-related macular degeneration eligible for ranibizumab. *Expert Rev Ophthalmol* 2012;7:219–225. Available at: [Accessed August 14, 2013].
3. Chopdar A, Chakravarthy U, Verma D. Age related macular degeneration. *BMJ* 2003;326:485–488.
4. Anon. WHO | Priority eye diseases. WHO. Available at: <http://www.who.int/blindness/causes/priority/en/index.html> [Accessed August 14, 2013].
5. Klein R, Klein BE, Linton KL. Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1992;99:933–943.
6. Mitchell P, Smith W, Attebo K, Wang JJ. Prevalence of age-related maculopathy in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 1995;102:1450–1460.
7. Vingerling JR, Dielemans I, Hofman A, et al. The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. *Ophthalmology* 1995;102:205–210.
8. Mousavi K. Estrategias terapéuticas en la degeneración macular asociada a la edad. Available at: <http://www.laboratoriososthea.com/archivos/publicaciones/00071.pdf>.
9. Friedman DS, Katz J, Bressler NM, et al. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Baltimore Eye Survey. *Ophthalmology* 1999;106:1049–1055.
10. Evans JR. Risk factors for age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2001;20:227–253.
11. Smith W, Assink J, Klein R, et al. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology* 2001;108:697–704.
12. Anon. Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. The Eye Disease Case-Control Study Group. *Arch Ophthalmol* 1992;110:1701–1708.
13. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA J Am Med Assoc* 1994;272:1413–1420.
14. Smith W, Mitchell P, Rochester C. Serum beta carotene, alpha tocopherol, and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Am J Ophthalmol* 1997;124:838–840.
15. Smith W, Mitchell P, Webb K, Leeder SR. Dietary antioxidants and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 1999;106:761–767.
16. Seddon JM, Cote J, Rosner B. Progression of age-related macular degeneration: association with dietary fat, transunsaturated fat, nuts, and fish intake. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1728–1737.
17. Seddon JM, Rosner B, Sperduto RD, et al. Dietary fat and risk for advanced age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1191–1199.
18. Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, et al. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005;308:419–421.

19. Rivera A, Fisher SA, Fritsche LG, et al. Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Hum Mol Genet* 2005;14:3227–3236.
20. Thakkestian A, McKay GJ, McEvoy M, et al. Systematic review and meta-analysis of the association between complement component 3 and age-related macular degeneration: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2011;173:1365–1379.
21. Yates JR, Moore AT. Genetic susceptibility to age related macular degeneration. *J Med Genet* 2000;37:83–87. Available at: [Accessed August 18, 2013].
22. Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, et al. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol* 2003;48:257–293.
23. Cohen SY, Mimoun G, Oubraham H, et al. Changes in visual acuity in patients with wet age-related macular degeneration treated with intravitreal ranibizumab in daily clinical practice: the LUMIERE study. *Retina Phila Pa* 2013;33:474–481.
24. Boyer DS, Antoszyk AN, Awh CC, et al. Subgroup analysis of the MARINA study of ranibizumab in neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2007;114:246–252.
25. Singh RP, Kaiser PK. Role of ranibizumab in management of macular degeneration. *Indian J Ophthalmol* 2007;55:421–425.
26. European Medicines Agency. Resumen del EPAR para el público general: EMA/671614/2010. 2012. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000620/WC500026216.pdf [Accessed June 15, 2013].
27. Anon. Tratamiento de la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) Exudativa. Guías de Práctica Clínica de la SERV. 2009. Available at: www.serv.es.
28. European Medicines Agency. Ficha técnica o resumen de las características del producto: EU/1/06/374/001. 2012. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000715/WC500043546.pdf [Accessed June 15, 2013].
29. Kaiser PK, Brown DM, Zhang K, et al. Ranibizumab for predominantly classic neovascular age-related macular degeneration: subgroup analysis of first-year ANCHOR results. *Am J Ophthalmol* 2007;144:850–857.
30. Brown DM, Tuomi L, Shapiro H, Pier Study Group. Anatomical measures as predictors of visual outcomes in ranibizumab-treated eyes with neovascular age-related macular degeneration. *Retina Phila Pa* 2013;33:23–34.
31. Fung AE, Lalwani GA, Rosenfeld PJ, et al. An optical coherence tomography-guided, variable dosing regimen with intravitreal ranibizumab (Lucentis) for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2007;143:566–583.
32. Arias L, Roman I, Masuet-Aumatell C, et al. One-year results of a flexible regimen with ranibizumab therapy in macular degeneration: relationship with the number of injections. *Retina Phila Pa* 2011;31:1261–1267.
33. Holz FG, Amoaku W, Donate J, et al. Safety and efficacy of a flexible dosing regimen of ranibizumab in neovascular age-related macular degeneration: the SUSTAIN study. *Ophthalmology* 2011;118:663–671.

34. Michalova K, Wickremasinghe SS, Tan TH, et al. Ranibizumab treatment for neovascular age-related macular degeneration: from randomized trials to clinical practice. *Eye Lond Engl* 2009;23:1633–1640.
35. Bandukwala T, Muni RH, Schwartz C, et al. Effectiveness of intravitreal ranibizumab for the treatment of neovascular age-related macular degeneration in a Canadian retina practice: a retrospective review. *Can J Ophthalmol J Can Ophtalmol* 2010;45:590–595.
36. Heimes B, Lommatzsch A, Zeimer M, et al. Long-term visual course after anti-VEGF therapy for exudative AMD in clinical practice evaluation of the German reinjection scheme. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol* 2011;249:639–644.
37. Toalster N, Russell M, Ng P. A 12-month prospective trial of inject and extend regimen for ranibizumab treatment of age-related macular degeneration. *Retina Phila Pa* 2013;33:1351–1358.
38. Oubraham H, Cohen SY, Samimi S, et al. Inject and extend dosing versus dosing as needed: a comparative retrospective study of ranibizumab in exudative age-related macular degeneration. *Retina Phila Pa* 2011;31:26–30.
39. Anon. R Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0,. Available at: <http://www.R-project.org/>.
40. Juergen Gross. Juergen Gross and bug fixes by Uwe Ligges (2012). nortest: Tests for Normality. R package version 1.0-2. Available at: <http://CRAN.R-project.org/package=nortest>.
41. Engelbert M, Zweifel SA, Freund KB. Long-term follow-up for type 1 (subretinal pigment epithelium) neovascularization using a modified “treat and extend” dosing regimen of intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Retina Phila Pa* 2010;30:1368–1375.
42. Rofagha S, Bhisitkul RB, Boyer DS, et al. Seven-Year Outcomes in Ranibizumab-Treated Patients in ANCHOR, MARINA, and HORIZON: A Multicenter Cohort Study (SEVEN-UP). *Ophthalmology* 2013.
43. Liakopoulos S, Ongchin S, Bansal A, et al. Quantitative optical coherence tomography findings in various subtypes of neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:5048–5054.
44. Riusala A, Sarna S, Immonen I. Visual acuity and structural findings in old age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol* 2005;243:947–950.
45. Kuipers EJ, Peña AS, Meuwissen SG. H. pylori and gastric cancer: limitations of retrospective studies. *Gastroenterology* 1994;106:1398–1400.
46. Cohen SY, Oubraham H, Uzzan J, et al. Causes of unsuccessful ranibizumab treatment in exudative age-related macular degeneration in clinical settings. *Retina Phila Pa* 2012;32:1480–1485.
47. Keane PA, Tufail A, Patel PJ. Management of neovascular age-related macular degeneration in clinical practice: initiation, maintenance, and discontinuation of therapy. *J Ophthalmol* 2011;2011:752543.
49. Holz FG, Bandello F, Gillies M, et al. Safety of ranibizumab in routine clinical practice: 1-year retrospective pooled analysis of four European neovascular AMD registries within the LUMINOUS programme. *Br J Ophthalmol* 2013;97:1161–1167.