



**FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

*Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia, Cirurgia
de Cabeça e Pescoço.*

Campus Universitário, S/N, Monte Alegre - Ribeirão Preto / SP
CEP 14048-900 Telefone: (016) 3602-2523



PROJETO DE PESQUISA

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS DA
RETINA APÓS QUIMIOTERAPIA ENDOVENOSA E
INTRA-ARTERIAL PARA RETINOBLASTOMA**

Orientador – Pesquisador Associado: Prof. PhD. João Marcello Fortes Furtado
TEL: (11) 989438666

Co - Orientador - Pesquisador Associado: Prof. PhD. Rodrigo Jorge
rjorge@fmrp.usp.br
TEL: (16) 3602-2523 / (16) 36022860

Co - Orientador - Pesquisador Associado: Prof. PhD. André Marcio Vieira Messias
a.messias@usp.br
TEL: (16) 992780945

Pesquisador Responsável: Arthur Sampaio Zupelli
aszupelli@gmail.com
TEL: (62) 999726146

Pesquisador Colaborador: João Pedro Romero Braga
joaopedrobraga@usp.br
TEL: (17) 991797206

Pesquisador Colaborador: Rafael Montanholi Martins
rafaelmontanholimedica@gmail.com
TEL: (67) 998653088

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS DA RETINA APÓS QUIMIOTERAPIA ENDOVENOSA E INTRA-ARTERIAL PARA RETINOBLASTOMA

Arthur Sampaio Zupelli¹
João Pedro Romero Braga¹
Rafael Montanholi Martins¹
João Marcello Fortes Furtado²
Rodrigo Jorge³
André Marcio Vieira Messias⁴

Filiação dos autores

1. Residente de Oftalmologia do Setor de Retina e Vítreo do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil.

2. Chefe do Setor de Uveítes do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil.

3. Chefe do Setor de Retina e Vítreo do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil.

4. Chefe do Setor de Catarata e Neurooftalmologia do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil.

Financiamento: Será solicitado fomento à Fundação Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP e ao departamento de oftalmologia do HC-FMRP.

Conflitos de interesse: Arthur Sampaio Zupelli, João Pedro Romero Braga, Rafael Montanholi Martins, João Marcello Fortes Furtado, Rodrigo Jorge e André Marcio Vieira Messias declaram não haver conflitos financeiros ou de interesse.

Correspondência dos autores:

Arthur Sampaio Zupelli, M.D. (aszupelli@gmail.com)

João Pedro Romero Braga, M.D (joaopedrobraga@usp.br)

Rafael Montanholi Martins, M.D (rafaelmontanholimedicina@gmail.com)

João Marcello Fortes Furtado, MD, PhD

Rodrigo Jorge, MD, PhD (rjorge@fmrp.usp.br)

André Marcio Vieira Messias, MD, PhD (a.messias@usp.br)

Departamento de Oftalmologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto,
Universidade de São Paulo,

Avenida Bandeirantes, 3900 Ribeirão Preto, SP. 14049-900, Brasil.

Protocolo de estudo	
Título	ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS DA RETINA APÓS QUIMIOTERAPIA ENDOVENOSA E INTRA-ARTERIAL PARA RETINOBLASTOMA
Data	Dezembro, 2022
Centro de estudos e países	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – HC-FMRP – USP Ribeirão Preto / Brasil
Período planejado de estudo	Dezembro de 2022 à Dezembro de 2024.
Objetivos do estudo	<p>Primário: Avaliar e documentar os achados eletrofisiológicos em pacientes com retinoblastoma.</p> <p>Secundário: Comparar os achados eletrorretinográficos, antes e após o uso de Melphalan intra-arterial</p>
População do estudo	<p>Crítérios de inclusão: Pacientes portadores de retinoblastoma e presença de sementes vítreas que indiquem a injeção intra-arterial de Melphalan.</p> <p>Crítérios de exclusão: Qualquer condição clínica que prejudique a documentação do fundo de olho ou o seguimento do paciente</p>
Desenho e planejamento geral	Ensaio clínico, não randomizado e aberto
Tamanho da amostra	10 pacientes ou 10 olhos
Intervenção	Realização de Eletrorretinograma Reteval antes e após injeção intra-arterial de Melphalan
Análise Estatística	Teste de Wilcoxon com parâmetros do Reteval
Resultados esperados	Espera-se que esse projeto, possa apresentar resultados positivos em casos de retinoblastoma, impactando fortemente nos serviços de oncologia intraocular.

1. INTRODUÇÃO:

Retinoblastoma é o tumor intraocular pediátrico mais comum e ocorre em crianças menores de cinco anos. O retinoblastoma ocorre em 1 em cada 16.000 a 18.000 nascidos vivos na população global (1).

O tratamento do retinoblastoma evoluiu dos tratamentos primários de enucleação e radiação de feixe externo para tratamentos mais conservadores do globo. Embora a radiação externa tenha salvado a visão, as principais complicações incluem o aumento do risco de câncer secundário e efeitos colaterais prejudiciais que promovem anomalias faciais no osso em desenvolvimento. Além disso, a enucleação frequentemente resulta em perda parcial ou total da visão. Para anular essas complicações graves, os protocolos de quimioterapia sistêmica foram desenvolvidos na década de 1990 que revolucionou o manejo do retinoblastoma ao conservar os olhos e a visão sem os efeitos adversos da radiação (2)

Nas últimas décadas, assistimos a uma mudança de paradigma no tratamento do retinoblastoma com a introdução da quimioterapia intra-arterial. O melphalan é o quimioterápico preferido para o tratamento intra-arterial devido ao seu comprovado efeito benéfico a pacientes com retinoblastoma (2)

Ao injetar seletivamente quimioterapia, como o melphalan, na artéria oftálmica por meio de um procedimento de cateterização, os efeitos colaterais sistêmicos da quimioterapia foram diminuídos. No entanto, mesmo com o advento da quimioterapia intra-arterial, a disseminação do vítreo ou o estabelecimento de um grupo hipovascularizado de células tumorais no humor vítreo ainda é considerado um obstáculo primário para a obtenção de uma entrega eficaz. Devido à estrutura avascular do vítreo, concentrações inadequadas de quimioterápicos são administradas, minimizando o efeito tumoricida. Para enfrentar esses desafios, o uso de melphalan intravítreo para controle de sementes vítreas em retinoblastoma foi pioneiro, melhorando significativamente a eficácia em pacientes para 60% a 100%, em relação aos casos anteriores em que quase todos os pacientes com sementes vítreas foram submetidos à enucleação (3).

2. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA PARA REALIZAÇÃO DO ESTUDO:

Não há nenhum estudo que descreva os achados do eletrorretinograma de campo total em pacientes com retinoblastoma.

Além disso, torna-se importante a documentação do estudo eletrofisiológico desses pacientes, antes e após a terapia com Melphalan intra-arterial, visto não haver relatos na literatura descrevendo essas associações.

3. OBJETIVOS:

3.1. Primário: Avaliar e documentar os achados eletrofisiológicos em pacientes com retinoblastoma.

3.2. Secundário: Comparar os achados eletrorretinográficos, antes e após o uso de Melphalan intra-arterial

3.3. Desenho do estudo: Ensaio clínico, não randomizado e aberto.

4. MATERIAIS E MÉTODOS:

O estudo será realizado através de exame oftalmológico incluindo, mapeamento de retina e retinografia. Além, disso será utilizado o exame oftalmológico complementar de eletrorretinograma de campo total de forma portátil, o Retheval.

A intervenção do estudo envolve a aplicação de melphalan intra-arterial. Os riscos das injeções incluem endoftalmite, catarata, hemorragia no gel vítreo, disseminação extraocular do tumor e descolamento de retina, bem como outras complicações decorrentes da embolização. Todos os acompanhantes dos pacientes receberão informações verbais sobre o procedimento. Será necessária a anuência verbal e por escrito para a realização da intervenção.

Para redução do risco de infecção a intervenção será realizada em sala cirúrgica com técnica asséptica.

4.1 População: Serão inclusos 5 pacientes ou 5 olhos de pacientes atendidos no serviço de Oncologia Intraocular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, com diagnóstico de retinoblastoma e com indicação de Melphalan.

4.2 Critérios de inclusão:

Os critérios de inclusão do estudo são:

- 1) Pacientes portadores de retinoblastoma;
- 2) Presença de sementes vítreas que indiquem a injeção intra-arterial do Melphalan

4.3 Critérios de exclusão:

Os critérios de exclusão serão:

- 1) Qualquer condição clínica que prejudique a documentação do fundo de olho, ou o seguimento do paciente;

4.4 Retirada de pacientes do estudo:

Os pacientes envolvidos estão livres para sair do estudo, sem necessidade de justificativas. Os pacientes deverão ser removidos na ocorrência de qualquer um dos quatro itens seguintes: (1) retirada do TCLE pelo paciente (nenhum dado será ser incluído no estudo); (2) ocorrência de algum critério de exclusão que possa interferir nos

resultados do estudo; (3) Perda de seguimento, definida como ausência em três consultas consecutivas, sem justificativa considerada plausível pelo pesquisador responsável; (4) não comparecimento para realização das intervenções programadas, dentro do cronograma planejado

4.5 Descontinuidade do estudo:

A descontinuidade do estudo fica a critério do coordenador em qualquer um dos quatro eventos seguintes (1) motivos clínicos ou éticos que afetem o contínuo desempenho do estudo; (2) dificuldades no recrutamento dos participantes; (3) cancelamento do projeto; (4) ineficácia do estudo. Em caso de descontinuidade do estudo por qualquer um dos motivos supracitados, o CEP e CONEP serão notificados.

4.6 Métodos de avaliação:

Oftalmoscopia Binocular indireta: O exame será realizado, em ambiente calmo e privado, com auxílio de lente de 20 dioptrias (Volk) e com o paciente em decúbito dorsal, utilizando-se do menor nível de iluminação possível para identificação das alterações patológicas e com a menor duração possível, garantindo menor desconforto ao paciente, principalmente no quesito fotofobia, inerente ao exame, em todas as consultas.

Eletrorretinograma de campo total: O exame será realizado com o paciente anestesiado, antes e após o procedimento de quimioterapia intra-arterial com Melphalan. Será realizado em ambiente cirúrgico com auxílio do dispositivo móvel de eletrorretinografia ocular Retheval.

4.7 Intervenção:

A injeção intra-arterial de melphalan será realizada em ambiente cirúrgico. Nesse esquema o paciente será submetido após a injeção a um novo eletrorretinograma de campo total avaliando mudanças nas respostas eletrofisiológicas de acordo com a medicação.

4.8 Orçamento:

Para o financiamento do projeto será solicitado fomento da Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo. – FAPESP e utilizado financiamento próprio. O projeto contará com o apoio do Departamento de Oftalmologia do HCFMRP.

Exames	Valor Unitário	Total
Eletrorretinograma Reteval	R\$ 24,24	R\$ 484,80

4.9 Análise estatística

As variáveis acessadas no estudo, a saber: aspecto do retinoblastoma á retinografia, dessa forma classificando o mesmo nos estágios A, B, C, D ou E e padrão de resposta do eletrorretinograma de campo total. Serão consideradas diferenças estatisticamente significativas quando $p < 0.05$. Será utilizado teste de Wilcoxon.

4.10 Plano de trabalho

O estudo será realizado dentro do Setor de Oncologia Intraocular do HCFMRP, sendo os atendimentos integralmente no Ambulatório de Oncologia-

Pesquisa, sem prejuízo as atividades assistenciais do Setor de Oncologia Intraocular do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

O eletrorretinograma será realizado antes do tratamento e após o tratamento.

Após o término do estudo, o seguimento dos pacientes será feito regularmente no setor de Oncologia Intraocular do HCFMRP segundo os padrões rotineiramente utilizados.

5. RESULTADOS E IMPACTO ESPERADO:

Não há nenhum estudo local que associe os achados eletrorretinográficos do retinoblastoma antes e após alguma modalidade de tratamento.

Espera-se, portanto, que esse projeto, possa apresentar resultados positivos na documentação de alterações morfofisiológicas trazidas pela quimioterapia em casos de retinoblastoma, impactando na indicação desse tratamento e na intervenção precoce de possíveis complicações, possibilitando ainda a possível criação de um protocolo a partir dos achados.

6. LIMITAÇÕES DO PROJETO

Trata-se de um estudo prospectivo, onde serão avaliados apenas 5 pacientes ou 5 olhos

7. ASPECTOS ÉTICOS

7.1 Responsabilidades do investigador

Os investigadores conduzirão a pesquisa de acordo com a versão do protocolo aprovada pelo CEP. Serão respeitados os princípios éticos da

Declaração de Helsinki e da Nota da Conferência Internacional sobre Padronização (ICH) para orientação sobre as Boas Práticas Clínicas (ICH, Tópico E6, 1995). A Resolução 466/12 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde serão normativas no presente protocolo.

Os investigadores garantirão assistência integral e imediata aos participantes da pesquisa.

Os investigadores revelarão quaisquer conflitos de interesse financeiros que tenham ou que seus dependentes possam ter durante todo o estudo e até doze meses após sua conclusão.

7.2 Informações ao paciente

Os investigadores fornecerão as informações, em termos acessíveis, sobre cada procedimento que se pretende realizar, os possíveis riscos e desconfortos, bem como as medidas que se pretende adotar para minimizá-los previamente a assinatura do TCLE. Ao decorrer do estudo, os investigadores se disponibilizam para esclarecimento de eventuais dúvidas, durante as intervenções ou pelos telefones fornecidos no TCLE.

7.3 Consentimento do paciente

O convite à participação na pesquisa será após o esclarecimento, de forma clara e acessível, sobre os objetivos, métodos do estudo e riscos e benefícios. Após esclarecimento será apresentado ao convidado o TCLE contendo por escrito, em linguagem simplificada os objetivos e os procedimentos que serão utilizados na pesquisa, com o detalhamento dos métodos e informando a possibilidade de inclusão no grupo controle ou tratado. O texto

explicitará o caráter experimental da intervenção proposta e a ausência de tratamento alternativo no momento. O texto contemplará explicações dos possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa, além dos benefícios esperados dessa participação e apresentação das providências e cautelas a serem empregadas para evitar e/ou reduzir efeitos e condições adversas que possam causar dano. Constarão no texto esclarecimentos sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa, e posterior seguimento nos ambulatórios de Retina e Vítreo do Hospital das Clínicas após encerramento ou interrupção do protocolo; sobre a garantia do sigilo e privacidade durante todas as fases da pesquisa e garantia da plena liberdade ao participar da pesquisa. O termo não exigirá do participante a renúncia ao direito à indenização por eventuais danos.

O assentimento livre e esclarecido do paciente para participar do estudo será obtido antes que qualquer atividade. Duas vias do TCLE serão geradas: uma permanecerá com o pesquisador disponível para fins de monitoramento, auditoria e inspeção, a outra com o participante no estudo. Em ambas estará disponível o endereço e contato telefônico e eletrônico dos responsáveis pela pesquisa, informações e contato do CEP. Todas as páginas serão rubricadas pelo pesquisador e participante. Na última página constará, preenchido em próprio punho, os nomes do investigador e participante, a data e respectivas assinaturas.

8. COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Este protocolo de pesquisa será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa para análise, parecer e aprovação. A aprovação do CEP institucional

será mantida no arquivo do investigador e uma cópia será mantida no arquivo do coordenador do estudo ou seus representantes.

O estudo iniciará após aprovação por escrito do CEP. O registro da data da reunião, a constituição do comitê e os membros com direito a voto presentes na reunião será exigido pelo coordenador. Faz-se necessário que esteja claramente identificada a versão do protocolo submetida ao CEP.

Eventuais alterações ao protocolo serão submetidas aos CEPs e CONEP sob a forma de emendas.

9. GERENCIAMENTO DO ESTUDO

9.1 Utilização da Ficha Clínica do Estudo

Nas fichas clínicas do estudo, os investigadores garantirão que os documentos associados não contenham menções sobre nomes de pacientes.

9.2. Informações fonte e arquivos do paciente

Os dados sócios demográficos e as informações clínicas dos pacientes serão documentados em impresso próprio. O TCLE assinado e impressões originais dos exames complementares realizados serão identificados e anexados conjuntamente. Todos esses documentos conterão, pelo menos, o identificador do paciente e a data de impressão.

Será possível verificar os critérios de inclusão e exclusão do estudo a partir dos dados disponíveis na ficha clínica do estudo.

10. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

ATIVIDADES	MESES/ANO
Seleção de pacientes elegíveis	Dezembro/2022 a Agosto/2023
Intervenção dos pacientes	Agosto/2023 a Novembro/2023
Avaliação estatística	Novembro/2023 a Fevereiro/2024
Elaboração do manuscrito	Fevereiro/2024 a Dezembro/2024

REFERÊNCIAS :

- 1- Kivela T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death. *Brit J Ophthalmol*. 2009;93:1129–1131.
- 2- Inomata M, Kaneko A. Chemosensitivity profiles of primary and cultured human retinoblastoma cells in a human tumor clonogenic assay. *Jpn J Cancer Res*. 1987;78:858–868.
- 3- Munier FL, Gaillard MC, Balmer A, et al. Intravitreal chemotherapy for vitreous disease in retinoblastoma revisited: from prohibition to conditional indications. *Br J Ophthalmol*. 2012;96:1078–1083.
- 4- Lohmann DR, Gallie BL. Retinoblastoma. 2000 Jul 18 [updated 2018 Nov 21]. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2022. PMID: 20301625.
- 5- Aerts I, Lumbroso-Le Rouic L, Gauthier-Villars M, Brisse H, Doz F, Desjardins L. Retinoblastoma. *Orphanet J Rare Dis*. 2006 Aug 25;1:31. doi: 10.1186/1750-1172-1-31. PMID: 16934146; PMCID: PMC1586012.
- 6- Ishaq H, Patel BC. Retinoblastoma. [Updated 2022 May 24]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545276/>
- 7- Dimaras H, Corson TW, Cobrinik D, White A, Zhao J, Munier FL, Abramson DH, Shields CL, Chantada GL, Njuguna F, Gallie BL. Retinoblastoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Aug 27;1:15021. doi: 10.1038/nrdp.2015.21. PMID: 27189421; PMCID: PMC5744255.
- 8- Creech O, Kremenz ET, Ryan RF, Winblad JN. Chemotherapy of cancer: regional perfusion utilizing an extracorporeal circuit. *Ann Surg*. 1958;148:616–32. <https://doi.org/10.1097/00000658-195810000-00009> .
- 9- Hansson J, Lewensohn R, Ringborg U, Nilsson B. Formation and removal of DNA cross-links induced by melphalan and nitrogen mustard in relation to drug-induced cytotoxicity in human melanoma cells. *Cancer Res*. 1987;47:2631–7.
- 10- Minor DR, Allen RE, Alberts D, Peng YM, Tardelli G, Hutchinson J. A clinical and pharmacokinetic study of isolated limb perfusion with heat and melphalan for melanoma. *Cancer*. 1985;55(11):2638–44. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19850601\)55:11%3c2638::aid-cncr2820551118%3e3.0.co;2-e](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19850601)55:11%3c2638::aid-cncr2820551118%3e3.0.co;2-e) .
- 11- Shields CL, Jorge R, Say EA, Magrath G, Alset A, Caywood E, et al. Unilateral retinoblastoma managed with intravenous chemotherapy versus intra-arterial chemotherapy. Outcomes based on the international classification of retinoblastoma. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2016. <https://doi.org/10.1097/APO.0000000000000172> .
- 12- Francis JH, Abramson DH, Gobin YP, Marr BP, Dunkel IJ, Riedel ER, Brodie SE. Electroretinogram monitoring of dose-dependent toxicity after ophthalmic artery chemosurgery in retinoblastoma eyes: six year review. *PLoS ONE*. 2014;9(1): e84247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084247> .