

# VEGF 抑制剂治疗糖尿病性视网膜病变的研究进展

张友义<sup>1</sup>, 吴晋晖<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(200433)中国上海市,第二军医大学长海医院学员管理大队;<sup>2</sup>(200433)中国上海市,第二军医大学附属长海医院眼科

作者简介:张友义,男,在读本科生。

通讯作者:吴晋晖,男,主治医师,讲师,在读博士研究生,研究方向:眼底病研究与临床工作. wjh2042@yahoo.com.cn

收稿日期:2010-07-13 修回日期:2010-08-16

## Advances in treatment of diabetic retinopathy with VEGF inhibitors

You-Yi Zhang<sup>1</sup>, Jin-Hui Wu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Group of Undergraduates, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;<sup>2</sup> Department of Ophthalmology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**Correspondence to:** Jin-Hui Wu. Department of Ophthalmology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. wjh2042@yahoo.com.cn

Received:2010-07-13 Accepted:2010-08-16

### Abstract

• Many clinical studies have implicated the importance of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the pathogenesis of diabetic retinopathy (DR). VEGF inhibitors were combined with VEGF molecules to counteract its function. There are achievements in the therapy for treating neovascularization and vascular leak-age of DR. This article makes a review in the classification, mechanism of function, safety as well as applied development of VEGF inhibitors for DR.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; pegaptanib; ranibizumab; bevacizumab; vascular endothelial growth factor

Zhang YY, Wu JH. Advances in treatment of diabetic retinopathy with VEGF inhibitors. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010; 10(9):1724-1727

### 摘要

许多临床研究表明糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)的发病机制与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)有关, VEGF抑制剂主要通过与其结合并阻断其生物活性而起作用。目前在DR新生血管形成及血管渗漏的治疗中取得了显著的成绩。我们对VEGF抑制剂的分类、作用机制、安全性以及治疗DR的相关应用进展作一综述。

**关键词:**糖尿病性视网膜病变; 哌加他尼钠; 兰尼单抗; 贝伐单抗; 血管内皮生长因子

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.09.028

张友义, 吴晋晖. VEGF抑制剂治疗糖尿病性视网膜病变的研究进展. 国际眼科杂志 2010; 10(9):1724-1727

### 0 引言

糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见的微血管并发症之一,是50岁以上人群主要致盲眼病之一。其致盲的主要机制是牵索性视网膜脱离、新生血管形成导致玻璃体积血、以及新生血管性青光眼等。近几年来,随着分子生物学技术和细胞生物学在DR发病机制方面的深入研究,细胞因子在其发生、发展中的作用越来越突出。其中,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)被认为是最重要的眼内新生血管生长因子,其生物活性可以被抑制剂阻断,从而达到抑制新生血管生成的目的。研究表明,VEGF抑制剂在治疗眼部渗出性以及新生血管性病变中疗效显著。

### 1 VEGF/VEGFR 结构、功能及在眼组织中的表达定位

**1.1 VEGF/VEGFR 结构和功能** VEGF是最直接的促血管内皮细胞分裂因子。VEGF家族包括胎盘生长因子(PlGF), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D和VEGF-E<sup>[1]</sup>。其中对VEGF-A研究得最深入,以其氨基酸的长短依次分为VEGF206, VEGF189, VEGF183, VEGF165, VEGF148, VEGF145和VEGF121。VEGF是通过与其受体结合而行使其各项功能的。VEGF诱导血管再生的关键步骤包括蛋白酶生成、血管渗透性增强和促进血管内皮细胞移动和增殖。VEGF受体主要有两种:KDR(kinase insert domain-containing receptor)和Flt(the fnd-like tyrosine kinase)。KDR, Flt-1是血管内皮细胞VEGF信号的主要换能器,促使VEGF诱导酪氨酸磷酸化、促进细胞有丝分裂、化学趋化性、肌动蛋白重组及介导内皮细胞增殖分化的活性。

**1.2 VEGF在眼内组织中的表达定位** 目前已证实在正常猴眼结膜、晶状体囊膜、虹膜、视网膜和脉络膜色素上皮层都有VEGF-1 mRNA, VEGF-2 mRNA的表达,其在糖尿病患者的眼组织内含量更高。众多研究表明VEGF在糖尿病性黄斑水肿(diabetic macular edema, DME)和DR的发病中起着重要的作用。并且人类中患有增生性糖尿病性视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)的玻璃体中VEGF水平很高。动物实验及临床观察均表明,VEGF在DR的增殖期和背景期均表达增高。抑制VEGF与受体结合、VEGF的表达以及VEGF下游信号途径均可作为治疗DR的靶方向。这些研究均为探索VEGF抑制剂治疗DR提供了早期的临床基础。

## 2 VEGF 抑制剂的分类及作用机制

**2.1 分类** 目前随着 VEGF 是促成新生血管形成的重要诱生物理论的出现,抗 VEGF 药物便应运而生,为新生血管性眼病的治疗开辟了新的方向,应用 VEGF 抑制剂治疗 DR 也受到越来越多的重视。若阻断 VEGF 的作用,可以抑制白细胞淤滞、视网膜细胞间黏附分子-1 的表达和血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)的破坏、减少视网膜微血管的渗漏,有效治疗 DR<sup>[2]</sup>。VEGF 抑制剂按作用途径可以分为 VEGF 受体嵌合蛋白、VEGF 中和抗体、反义寡聚脱氧核苷酸和选择性 VEGF 受体激酶抑制剂,其中选择性 VEGF 受体激酶抑制剂可能为较有前途的抑制剂。目前,美国食品和药物管理局(food and drugs administration, FDA)批准上市的 VEGF 抑制剂主要有 3 种:哌加他尼钠(pegaptanib sodium, Macugen)、兰尼单抗(ranibizumab, Lucentis)和贝伐单抗(bevacizumab, avastin),其中已被批准用于眼科临床的有哌加他尼钠和兰尼单抗。

### 2.2 作用机制

**2.2.1 贝伐单抗** 贝伐单抗生物制剂是一种新型的抗 VEGF 人源化单克隆抗体,它的分子结构主要是由人的 Ig-G1 框架区和鼠单克隆抗体的抗原结合互补决定区组成,可以同 VEGF 的所有异构体发生高亲和力结合,间接阻断 VEGF 与其受体的结合从而发挥作用<sup>[3]</sup>。贝伐单抗的结合表位已经通过对 Fab-Ligand 复合物的晶体结构分析而变得稳定。研究表明<sup>[4,5]</sup> 贝伐单抗的生物半衰期大约是 17~21d。人 VEGF 的 Gly88 是 VEGF 同其受体结合的关键点,也是贝伐单抗结合种属特异性的基础。而贝伐单抗并不中和 VEGF 家族中的其他成员,如 VEGF-C 以及 VEGF-D 等。

**2.2.2 哌加他尼钠** 哌加他尼钠已于 2004-12 得到美国 FDA 批准应用于眼科临床。是一种选择性 VEGF 拮抗剂,它能特定地与细胞外 VEGF 的异构体 VEGF165 结合,并抑制其活性,阻碍与 VEGF 受体结合,从而抑制新生血管生成。同时哌加他尼钠能改善血管通透性以及抑制 VEGF 的内皮细胞丝裂原活性。

**2.2.3 兰尼单抗** 兰尼单抗是一种抗体片段,2006-06 得到美国 FDA 批准应用于眼科临床。它是利用重组 DNA 技术获得的高亲和力人源化鼠抗体片段,这种多克隆抗体可与 VEGF 的所有异构体结合并使其失活,阻止其和受体结合,从而起到抑制新生血管形成的作用。

## 3 治疗

### 3.1 VEGF 抑制剂治疗 DME

**3.1.1 贝伐单抗** DME 是糖尿病患者视力下降的重要原因之一。目前有研究表明,高表达的 VEGF 通过破坏细胞吞饮作用、细胞间紧密连接以及激活视网膜内的蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC),从而导致血管内皮细胞增殖和血管渗漏,这是 DME 可能的发病机制之一<sup>[6,7]</sup>。DME 患者玻璃体内 VEGF 表达量明显高于非糖尿病患者和无 DME 的糖尿病患者,且玻璃体内的 VEGF 水平明显高于血管内水平。前瞻性研究<sup>[8]</sup> 表明,玻璃体内注射贝伐单抗对其他方法(如曲安奈德玻璃体内注射、全视网膜光凝法等)治疗无效的弥漫性 DME 疗效好,不仅能降低后极部视网膜厚度,还能提高最佳矫正视力,1/3 患者视力提高至少 3 行。类似研究也证实,玻璃体腔内注射贝伐单抗能

稳定或增加弥散性 DME 患者的最佳矫正视力<sup>[9]</sup>。Diabetic Retinopathy Clinical Research (DRCR) Network 对 121 只患眼进行了超过 12wk 的 II 期随机临床研究<sup>[10]</sup>, 结果发现:注射贝伐单抗对其他方法治疗过的 DME 或是没经过治疗的 DME 均有效,其中没经过治疗的眼视力改善更多( $P=0.04$ ),后极部视网膜厚度减小也更明显,大约一半可减小 11% 以上。并且发现有视网膜下积液的眼在治疗后视敏度会改善更明显( $P=0.06$ )。

**3.1.2 哌加他尼钠** Adamis 等<sup>[11]</sup> 报道,大部分患者在 6 次注射哌加他尼钠后(即第 36wk)出现视网膜新生血管萎缩。Macugen Diabetic Retinopathy Study Group 将 172 个 DME 患者随机分成 4 个研究组,分别给予 0.3, 1, 3, 0mg, 并分别在第 0, 6, 12wk 时注射哌加他尼钠<sup>[12]</sup>。结果显示:注射组比空白组效果好,特别是在注射 0.3mg 组。经过 36wk 的随访,注射 0.3mg 哌加他尼钠组比空白对照组视敏度改善更多( $P=0.04$ ),后极部视网膜厚度减少也更多( $P<0.01$ ),并减少了需要光凝治疗的的比例。在注射 0.3mg 组视力平均提高 4.7 个字母,18% 视力提高 3 行或是更多。他们还报道了给 DME 患者玻璃体内注射哌加他尼钠后,随访观察了 36wk,发现 34% 患者视敏度提高了 10 个字母,18% 患者视敏度提高了 15 个字母。在哌加他尼钠治疗 DR 的临床试验中<sup>[11]</sup> 显示,用药后患者视力改善、视网膜厚度减少,仍需要光凝治疗者的比例也明显减少。

**3.1.3 兰尼单抗** Nguyen 等<sup>[13]</sup> 及其同事对 126 只患有 DME 的眼行兰尼单抗玻璃体内注射治疗,随机分为 3 组,第一组在第 0, 1, 3, 5mo 分别给予 0.5mg 兰尼单抗玻璃体内注射;第二组接受局部激光光凝术,必要时在 3mo 后再次给予光凝;第三组同时接受激光光凝术和注射兰尼单抗,3mo 后重复处理。6mo 后行视敏度检查发现单纯注射兰尼单抗组视力平均提高 7.24 个字母,单纯激光光凝组提高 0.43 个字母,联合治疗组提高 3.8 个字母。Chun 等<sup>[14]</sup> 和 Nguyen 等<sup>[15]</sup> 各自对兰尼单抗进行了初步研究后发现尽管在后极部视网膜厚度以及视敏度上均有显著改善,但是其远期作用还需要随机对照试验来评价。为此 DRCR 正计划做两个随机的、多中心的 III 期临床试验。

**3.2 VEGF 抑制剂治疗 PDR** DR 的新生血管形成后结构不良,容易发生出血、渗漏,同时周围常伴有纤维组织增生,从而引起玻璃体、视网膜机化膜,最终引起视网膜脱离。随着 VEGF 抑制剂在临床的广泛应用, PDR 的治疗有了更直接、有效的方法。目前尚无大量的关于哌加他尼钠和兰尼单抗治疗 PDR 的试验研究,一些研究机构已经对贝伐单抗进行了研究, Jorge 等<sup>[16]</sup> 研究表明, VEGF 抑制剂(avastin)能快速改善 DR 所致的反复发生的新生血管渗漏。玻璃体内注射贝伐单抗,短期内可使 PDR 继发玻璃体积血的患者视力得到改善,积血得到快速吸收;迅速消退虹膜与视网膜新生血管;降低 PDR 的严重程度以及降低出现牵引性视网膜脱离的危险。PDR 玻璃体切除术前玻璃体内注射贝伐单抗可以减少术后玻璃体出血的发生率并能改善术后视力<sup>[17,18]</sup>。玻璃体内注射贝伐单抗能减少活动性新生血管复发率,可以作为全视网膜光凝的辅助手段,并可使部分 PDR 患者避免玻璃体手术<sup>[19]</sup>。最近的研究表明玻璃体内注射贝伐单抗治疗 DR

能减少黄斑水肿、视网膜中央静脉栓塞、视网膜新生血管形成、纤维血管增生、脉络膜新生血管形成,降低血管通透性以及改善老年性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)。Gonzalez等<sup>[20]</sup>及Querques等<sup>[21]</sup>研究也表明玻璃体内注射哌加他尼钠在DR及其并发症的治疗中有意义。

**3.3 VEGF 抑制剂联合治疗** VEGF抑制剂预处理对玻璃体切除术中出血的控制、增加玻璃体清除程度及速度等都是有帮助的<sup>[22,23]</sup>。最近的一些研究表明,联合激光治疗和注射贝伐单抗能迅速阻止新生血管的生成,且治疗效果优于单一疗法。为了比较激光光凝,玻璃体注射贝伐单抗以及联合治疗的Ⅱ期研究试验将患者随机分为5组:A:局部光凝;B:在第0,6wk时玻璃体腔内注射贝伐单抗1.25mg;C:注药2.5mg,时间同B;D:在最开始时注射贝伐单抗1.25mg同时,在第6wk时给予空白注射;E:在第0,6wk给予1.25mg贝伐单抗注射,第3wk给予激光光凝术。与A组相比,B,C组在第3wk时后极部视网膜厚度减少更多,12wk后视敏度平均提高1行<sup>[24]</sup>。B,C组在视敏度以及黄斑厚度上没有明显差别。为了观察单纯注射贝伐单抗以及联合曲安奈德和黄斑光凝对DME的最初治疗的功效,Soheilian等<sup>[25]</sup>将患者随机分为3组,24wk后注射贝伐单抗组比激光光凝组视力提高更明显。联合曲安奈德没有证明有更好的效果。Lam等研究发现,联合注射曲安奈德和激光治疗可以延长曲安奈德的作用时间<sup>[26]</sup>。

#### 4 VEGF 抑制剂治疗 DR 的安全性

理论上,玻璃体内注射贝伐单抗具有全身吸收引起的不良反应,但其应用剂量仅为静脉注射的1/400,以非结合形式到达血液循环,出现全身反应的可能性很小。贝伐单抗的安全性和有效性在动物试验、体外研究和临床中均有证实。统计表明,眼部不良反应可能有:角膜损伤、视网膜脱离、葡萄膜炎或炎症反应、晶状体损伤、眼内炎、白内障进展、视网膜动脉阻塞、视网膜下出血、急性视力下降、视网膜色素上皮脱离;全身不良反应包括急性缺血性心脏病发作、血压增高、脑血管意外或死亡,但发生率均未超过0.21%。因此,玻璃体内注射贝伐单抗并未增加药物相关性眼病和全身不良反应的比率,短期应用具有安全性。兰尼单抗最近也被FDA批准用于新生血管性AMD的治疗<sup>[1]</sup>。尽管已做了大量的研究,但是系统的随访其副作用仍然缺乏。Mason等<sup>[27]</sup>对5233例患者注射贝伐单抗后发生急性眼内炎进行了回顾性研究,结果只有1例出现急性眼内炎。Mason试验也已经提供了哌加他尼钠治疗AMD 3a的安全性数据<sup>[28,30]</sup>,他们认为严重并发症与注射过程有关而与药物本身无关。来自MARINA的2a随访数据显示用兰尼单抗并没有增加全身副作用<sup>[31]</sup>。新的安全性研究还需要研究不同病种的人群,因为患糖尿病的人倾向于更年轻,伴有更多心脏和肾脏疾病,眼内状况也不一样。糖尿病患者眼内可能有更多新生血管和纤维组织,可能引起不同的副作用。为此,我们期待更多关于治疗DME远期的安全性研究。

#### 5 展望

VEGF抑制剂在治疗眼部新生血管性以及渗出性病变更中疗效显著。在治疗DME以及PDR中能提高最佳矫

正视力,降低后极部视网膜厚度,使需要光凝治疗者的比例明显减少。目前研究表明,玻璃体内注射VEGF抑制剂并未增加药物相关性眼病和全身不良反应的比率,短期应用是安全的。尽管VEGF抑制剂药物治疗DME的应用越来越广泛,然而目前尚无大量关于哌加他尼钠和兰尼单抗治疗PDR的试验研究,还有诸如理想的治疗剂量、用药持续时间以及可能的联合治疗方案都尚未得以解决。其长期的安全性和有效性更有待进一步研究证实。

#### 参考文献

- 1 Nicholson Bejjarnin P, Sochat Andrew P. A review of clinical trials of anti-VEGF agents for diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248(7):915-930
- 2 Deissler HL, Lang GE. Effect of VEGF165 and the VEGF aptamer pegaptanib (Macugen) on the protein composition of tight junctions in microvascular endothelial cells of the retina. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2008;225(10):863-867
- 3 Cohen AF, Van Bronswijk H. New medications; bevacizumab. *Ned Tijdschr Geneeskde* 2006;150(40):2194-2195
- 4 Muller YA, Chen Y, Christinger HW, et al. VEGF and the Fab fragment of a humanized neutralizing antibody: crystal structure of the complex at 2.4 Å resolution and mutational analysis of the interface. *Structure* 1998;6(9):1153-1167
- 5 Fernando NH, Hurwitz HI. Inhibition of vascular endothelial growth factor in the treatment of colorectal cancer. *Semin Oncol* 2003;30(Suppl 6):39-50
- 6 Antonetti DA, Barber AJ, Hollinger LA, et al. Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occludin and zonula occludens 1. A potential mechanism for vascular permeability in diabetic retinopathy and tumors. *J Biol Chem* 1999;274(33):23463-23467
- 7 Hofmar P, Blaauwgeers HG, Tolentino MJ, et al. VEGF-A induced hyperpermeability of blood-retinal barrier endothelium *in vivo* is predominantly associated with pinocytotic vesicular transport and not with formation of fenestrations. *Vascular endothelial growth factor-A. Curr Eye Res* 2000;21(2):637-645
- 8 Mason JO 3rd, Albert MA Jr, Vail R. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for refractory pseudophakic cystoid macular edema. *Retina* 2006;26(3):356-357
- 9 Arevalo JF, Sanchez JG. Primary intravitreal bevacizumab for diffuse diabetic macular edema; the pan-American Collaborative Retina Study Group at 24 months. *Ophthalmology* 2009;116(8):1488-1497
- 10 Scott IU, Edwards AR, Beck RW, et al. Diabetic retinopathy clinical research network. A phase II randomized clinical trial of intravitreal bevacizumab for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2007;114(10):1860-1867
- 11 Adamis AP, Altaweel M, Bressler NM, et al. Changes in retinal neovascularization after pegaptanib (Macugen) therapy in diabetic individuals. *Ophthalmology* 2007;114(3):615-616
- 12 Cunningham ET Jr, Adamis AP, Altaweel M, et al. Macugen diabetic retinopathy study group? A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an antivascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2005;112(10):1747-1757
- 13 Nguyen QD, Shah SM, Heier JS, et al. Primary end point (six months) results of the ranibizumab for edema of the macula in diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology* 2009;116(11):2175-2181
- 14 Chun DW, Heier JS, Topping TM, et al. A pilot study of multiple intravitreal injections of ranibizumab in patients with center-involving clinically significant diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2006;113(10):1706-1712

- 15 Nguyen QD, Tatlipinar S, Shah SM, *et al.* Vascular endothelial growth factor is a critical stimulus for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2006;142(6):961-969
- 16 Jorge R, Costa RA, Calucci D, *et al.* Intravitreal bevacizumab(Avastin) for persistent new vessels in diabetic retinopathy (IBEPE study). *Retina* 2006;26(9):1006-1013
- 17 Modarres M, Nazari H, Falavarjani KG, *et al.* Intravitreal injection of bevacizumab before vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* 2009;19(5):848-852
- 18 Ahmadi H, Shoebi N, Entezari M, *et al.* Intravitreal bevacizumab for prevention of early postvitrectomy hemorrhage in diabetic patients: a randomized clinical trial. *Ophthalmology* 2009;116(10):1943-1948
- 19 Huang YH, Yeh PT, Chen MS, *et al.* Intravitreal bevacizumab and panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy associated with vitreous hemorrhage. *Retina* 2009;29(8):1134-1140
- 20 Gonzalez VH, Giuliani GP, Banda RM, *et al.* Intravitreal injection of pegaptanib sodium for proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2009;93(11):1474-1478
- 21 Querques G, Bux AV, Martinelli D, *et al.* Intravitreal pegaptanib sodium(Macugen) for diabetic macular edema. *Acta Ophthalmol* 2009;87(6):623-630
- 22 Yang CM, Yeh PT, Yang CH, *et al.* Bevacizumab pretreatment and long-acting gas infusion on vitreous clear up after diabetic vitrectomy. *Am J ophthalmol* 2008;146(2):211-217
- 23 Gandhi JS, Tan LT, Pearce I, *et al.* Bevacizumab (Avastin) as a surgical adjunct in diabetic vitrectomy for fibrovascular disease. *Eye* 2009;23(3):742-743
- 24 Yang XL, Liu K, Xu X. Update on treatments of diabetic macular edema. *Chin Med* 2009;122(22):2784-2790
- 25 Soheilian M, Ramezani A, Bijanzadeh B, *et al.* Intravitreal bevacizumab (avastin) injection alone or combined with triamcinolone versus macular photocoagulation as primary treatment of diabetic macular edema. *Retina* 2007;27(9):1187-1195
- 26 Ishida S, Usui T, Yamashiro K, *et al.* VEGF164-mediated inflammation is required for pathological, but not physiological, ischemia-induced retinal neovascularization. *J Exp Med* 2003;198(3):483-489
- 27 Mason JO 3rd, White MF, Feist RM, *et al.* Vail RS Incidence of acute onsetendophthalmitis following intravitreal bevacizumab (Avastin) injection. *Retina* 2008;28(54):564-567
- 28 Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, *et al.* VEGF inhibition study in ocular neovascularization clinical trial group pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004;351(27):2805-2816
- 29 D'Amico DJ, Masonson HN, Patel M, *et al.* Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration; two-year safety results of the two prospective, multicenter, controlled clinical trials. *Ophthalmology* 2006;113(6):992-1001
- 30 Singerman LJ, Masonson H, Patel M, *et al.* Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration; third-yearsafety results of the VEGF inhibition study in ocular neovascularisation(VISION) trial. *Br J Ophthalmol* 2008;92(12):1606-1611
- 31 Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, *et al.* MARINA Study Group Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355(14):1419-1431