

# VEGF: KLÍČOVÝ HRÁČ NEJENOM U MAKULÁRNÍ DEGENERACE

## PŘEHLED

Slíva J.

Ústav farmakologie, 3. LF UK, Ruská 87, 100 00 Praha 10

Do redakce doručeno dne: 7. 3. 2020

Přijato k publikaci dne: 6. 5. 2020



MUDr. Jiří Slíva, Ph.D.  
Ústav farmakologie, 3. LF UK  
Ruská 87  
100 00 Praha 10  
Jiri.Sliva@lf3.cuni.cz

### SOUHRN

Problematika makulární degenerace sítnice představuje jednu ze stěžejních oblastí oftalmologie. Pokroky posledních let spočívající v cíleném podávání látek potlačujících účinky vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) výrazně zasáhly do prognózy v podobě razantního zpomalení progresu onemocnění. Některé z látek si postupně našly uplatnění i v dalších indikacích (okluze centrální retinální vény či diabetický makulární edém). Následující text podává stručný pohled na fyziologii VEGF, nikoliv však pouze v oku, nýbrž v celém těle, zejména pak v kontextu nežádoucích účinků plynoucích ze systémové inhibice jeho účinků.

**Klíčová slova:** VEGF, vaskulární endoteliální růstový faktor, farmakokinetika, nežádoucí účinky, ranibizumab, bevacizumab, aflibercept, pegaptanib

### SUMMARY

#### VEGF: A KEY PLAYER NOT ONLY IN MACULAR DEGENERATION. A REVIEW

The issue of macular retinal degeneration is one of the key areas of ophthalmology. Recent advances in the targeted delivery of vascular endothelial growth factor (VEGF) suppressants have significantly impacted the patient's prognosis in the form of a significant deceleration in disease progression. Some of the drugs have gradually found their use in other indications (central retinal vein occlusion or diabetic macular edema). The following text gives a brief look at the physiology of VEGF, but not only in the eye, but throughout the human body, particularly in the context of adverse effects resulting from systemic inhibition of its effects.

**Key words:** VEGF, vascular endothelial growth factor, pharmacokinetics, adverse effects, ranibizumab, bevacizumab, aflibercept, pegaptanib

### ÚVOD

Vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) je silný angiogenní faktor, jenž byl poprvé popsán jako základní růstový faktor pro vaskulární endoteliální buňky. VEGF je up-regulován v mnoha nádorech a jeho příspěvek k angiogenezi tumoru je dobře definován, jakkoliv velmi dobře zmapována je také jeho role v patofyziologii některých onemocnění oka. Kromě endoteliálních buněk jsou receptory VEGF exprimovány také v řadě neendotelových buněk včetně vlastních nádorových buněk.

VEGF je tvořeno mnoha typy buněk včetně buněk nádorově transformovaných, makrofágů, trombocytů, keratinocytů a renálních mesangálních buněk. Působení VEGF přitom zdaleka není omezeno jenom na vaskulární systém; VEGF hraje roli v běžných fyziolo-

gických funkcích, jako je tvorba kostí, hematopoéza či hojení ran.

Pokroky na poli farmakoterapie daly vzniknout cílené léčbě neovaskulární (vlhké) formy věkem podmíněné makulární degenerace. Po schválení na úrovni amerického Úřadu pro potraviny a léčiva (FDA) v roce 1999 začala být realitou fotodynamická terapie verteporfinem s cílem zpomalit rychlost ztráty zraku, avšak stabilita nebo zlepšení zrakové ostrosti nebyly nikterak přesvědčivé. Výzkum se proto obrátil právě na vaskulární endoteliální růstový faktor, jenž sehraje klíčovou roli v makulární angiogenezi a vaskulární permeabilitě [1]. V roce 2004 se tak do klinického užívání dostává pegaptanib sodný, aptamer navržený pro cílení na izoformu VEGF-A<sub>165</sub>, což znamená novou éru anti-VEGF terapie. Následují jej ranibizumab, bevacizumab (v ČR *off-label*) a aflibercept (pozn.: v USA dostupný rovněž brolucizumab) [2].

## Stručný komentář k VEGF

Vznik vaskulárního systému představuje základní strukturní pilíř embryogeneze obratlovců, přičemž zahrnuje dva základní procesy: *vaskulogenezi*, definovanou jako diferenciace progenitorních endoteliálních buněk a jejich sestavení do primárního kapilárního plexu, a *angiogenezi*, tvorbu (angl. sprouting = pučení) nových kapilár z již existujících buněk. V dospělosti je angiogeneze také nezbytná během těhotenství a při růstu a opravě tkání. Bohužel však je často i klíčovým procesem v patogenezi řady onemocnění, včetně onkologických chorob či chorob oka (zejm. makulární degenerace sítnice aj.).

Na existenci látek podněcujících vznik nových cév bylo poukázáno již r. 1983 [3]. Následný výzkum záhy ukázal, že v daném ohledu nejvýznamnější je vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF-A). VEGF-A je prototypem rodiny příbuzných růstových faktorů souborně označované jednoduše VEGF. Tato rodina kromě již uvedeného VEGF-A dále zahrnuje VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D (syn. růstový faktor indukovaný c-FOS; FIGF) a také placentární růstový faktor (PLGF); u parapoxvirů byl identifikován též gen pro VEGF-E (u člověka vyvolává pustulární dermatidu) a u octomilek PVF1-3 (PDGF/VEGF-like factors) [4].

Biologické účinky VEGF jsou zprostředkovány rodinou příbuzných receptorů s tyrosinkinázovou aktivitou (VEGFR). VEGF-A se váže na VEGFR2 (také nazývaný KDR / Flk-1) a VEGFR1 (Flt-1); VEGF-C a VEGF-D se vážou VEGFR2 a VEGFR (Flt4); PLGF a VEGF-B se vážou pouze k VEGFR1; a VEGF-E se váže na VEGFR2 [4]. Některé izoformy rodiny VEGF se navíc vážou na netyrosinkinázové receptory, které se nazývají neuropiliny (NRP) s receptory NP-1 [5,6].

Skupina VEGF, stejně jako PDGF (platelet-derived growth factor, destičkový růstový faktor) je evolučně příbuzná jiným skupinám zahrnující např. glykoproteinové hormony, mucin-like proteiny nebo vzdáleně též rodinu transformačních růstových faktorů (TGF-beta). Jejich současná absence v jednobuněčných eukaryotech (např. kvasinky) naznačuje, že evolučně vznikly teprve nedávno. Tomu odpovídá i jejich funkce spočívající v modulaci extracelulárních signálních cest v mnohobuněčných organismech s organizací na úrovni tkáně. VEGF byly nalezeny u všech dosud zkoumaných živočišných druhů obratlovců, napříč kterými si jsou strukturně vzájemně velmi blízké – např. VEGF-A čtverzubce (*Fugu rubripes*) vykazuje 68% a 69,7% aminokyselinovou identitu s lidským VEGF-A, respektive VEGF-A u myši (*Mus musculus*) [7].

Alternativní splicing lidského VEGF-A genu je zdrojem nejméně šesti různých transkriptů definovaných různě dlouhým aminokyselinovým řetězcem: 121 (120 u myši), 145, 165 (164 u myši), 183, 189 a 206 [8].

## Fyziologický význam VEGF

Všechny dosud zkoumané formy VEGF u obratlovců s příslušnými receptory jsou schopny regulovat angiogenezi, přičemž participují při vývoji vaskulárních struktur za embryogeneze, ale též u dospělých. VEGF však neovlivňuje jenom cévy.

Předně budiž zmíněn kardiovaskulární systém. Expres VEGF je zjišťována v srdečních myofibroblastech i v endoteliálních buňkách s morfologickými rysy fibroblastů. Myofibroblasty hrají hlavní roli v růstu, vývoji a reparaci normální tkáně a nacházejí se v místě infarktu. Koexpres VEGF a jeho receptorů na myofibroblastech tak naznačuje, že VEGF autokrinním způsobem participuje v procesu remodelace tkáně v místě infarktu. VEGF může také hrát roli v rozvoji aterosklerózy. Jelikož VEGF také zvyšuje vaskulární permeabilitu, tvorba VEGF pěnými buňkami a makrofágy může zhoršovat aterosklerózu zvýšením permeability cév pro lipoproteinové částice s nízkou hustotou (LDL, *low-density lipoproteins*) [9].

Na úrovni centrálního nervového systému VEGF vykazuje neurotrofický účinek. Prodlužuje délku přežití Schwannových buněk, stimuluje růst axonálních výběžků [10] a chrání hipokampální neurony před ischemickým poškozením [11]. Zhoršená indukce VEGF v míše vede k degeneraci motorických neuronů [12].

Ačkoli je chrupavka ve své podstatě avaskulární tkáň, neovaskularizace se vyskytuje v růstové chrupavce vyvíjející se kosti. VEGF je tvořen hypertrofovanými chondrocyty, a významně tak participuje na remodelaci mezibuněčné hmoty, angiogeneze a novotvorbě kosti [13]. VEGF se mj. rovněž nachází v synoviální tekutině nemocných s revmatoidní artritidou či osteoartrózou. Přítomný je též ve zdravé chrupavce, avšak pouze osteoartrótická chrupavka exprimuje receptory VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 a NP-1 [14].

VEGF také hraje nezastupitelnou roli v hematopoéze [15]. VEGF je exprimován v kostní dřeni hematopoetickými kmenovými buňkami, které rovněž stimuluje – identifikovány zde byly receptory VEGFR-1 i VEGFR-2 [16].

## Možné konsekvence plynoucí z intravitreálně aplikovaných anti-VEGF látek

V kontextu nastíněné fyziologie VEGF je jistě racionální potlačovat účinky VEGF pouze v místě patologického procesu. S cílem maximalizace účinku je proto anti-VEGF léčba podávána topicky do sklivce. I přesto však možné systémové účinky budí obavu [17], a to především ve vztahu k možné kardiotoxicitě [18,19] či vaskulární toxicitě [20] a obecně z pohledu vývoje u malých dětí.

Na riziko systémových nežádoucích účinků intravitreálně podávaných anti-VEGF působících léčivých přípravků lze usuzovat dle jejich systémové kinetiky, tj. jak extenzivně pronikají do systémové cirkulace. Zřejmě jako první se na tuto otázku pokusil odpovědět autorský kolektiv Zehetner et al. [21], jenž porovnával bevacizumab, ranibizumab a pegaptanib u osob s diabetickým makulárním edémem nebo exsudativní formou věkem podmíněné makulární degenerace (n = 40), a to ve vztahu ke koncentraci VEGF v periferním cévním řečišti. U obou skupin nemocných vedlo podávání bevacizumabu k jejímu významnému poklesu, zatímco pegaptanib ani ranibizumab ji významněji neovlivňovaly [21]. O dva roky později tentýž autor

publikoval rovněž srovnání ranibizumabu s afliberceptem u osob s makulární degenerací (n = 38). Zatímco ranibizumab žádné systémové změny nevyvolal, aflibercept významně snižoval koncentraci VEGF v periferním řečišti [22].

Obě uvedené studie jsou plně v souladu s další prací, tentokrát porovnávající bevacizumab oproti ranibizumabu a afliberceptu u 56 osob s makulární degenerací. Všechny tři látky se sice přesouvaly do krevního řečiště, ovšem zatímco ranibizumab byl rychle odbourán a vyloučen, bevacizumab i aflibercept zde setrvaly déle, což korespondovalo i s výraznějším periferním potlačením VEGF [23]. Toto zjištění koresponduje i se závěry autorovy novější studie zahrnující nemocné s makulární degenerací, diabetickým makulárním edémem či okluzí centrální retinální vény (n = 151). Nejméně vyjádřen byl periferní účinek ranibizumabu, naopak nejvýrazněji periferní VEGF blokoval aflibercept [24]. K prakticky identickým výsledkům dospěli rovněž japonští autoři u 72 nemocných stížených diabetickým

otokem makuly, tj. ranibizumab periferní koncentraci VEGF neovlivňoval, zatímco aflibercept i bevacizumab ji významně snižovaly [25].

## ZÁVĚR

Vaskulární endoteliální růstový faktor je v současné medicíně velmi často využívaný terapeutický cíl řady léčivých látek u nejrůznějších patologických stavů. V oftalmologii jde o vlhkou formu makulární degenerace sítnice, okluzi centrální retinální vény a diabetický makulární edém. Intravitreálně podávané látky působí podobným, přesto však nikoliv identickým mechanismem účinku. V kontextu dosavadních klinických zkušeností a s přihlédnutím k farmakokinetice jednotlivých zástupců je patrné, že při jejich užívání lze očekávat nikoliv pouze dílčí odlišnosti z pohledu účinnosti, ale též rozdíly z pohledu možných rizik na úrovni systémových nežádoucích účinků daných extraokulární blokádou VEGF.

## LITERATURA

1. Miller JW, Le Couter J, Strauss EC, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor a in intraocular vascular disease. *Ophthalmology*. 2013 Jan;120(1):106–114.
2. Campa C, Alivernini G, Bolletta E, Parodi MB, Perri P. Anti-VEGF Therapy for Retinal Vein Occlusions. *Curr Drug Targets*. 2016;17(3):328–336.
3. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983 Feb 25;219(4587):983–985.
4. Holmes DL, Zachary I. The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease. *Genome Biol*. 2005;6(2):209.
5. Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G, Klagsbrun M. Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell*. 1998 Mar 20;92(6):735–745.
6. Gluzman-Poltorak Z, Cohen T, Herzog Y, Neufeld G. Neuropilin-2 is a receptor for the vascular endothelial growth factor (VEGF) forms VEGF-145 and VEGF-165 [corrected]. *J Biol Chem*. 2000 Jun 16;275(24):18040–18045.
7. Gong B, Liang D, Chew TG, Ge R. Characterization of the zebrafish vascular endothelial growth factor A gene: comparison with vegf-A genes in mammals and Fugu. *Biochim Biophys Acta*. 2004 Jan 5;1676(1):33–40.
8. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci*. 2001 Mar;114(Pt 5):853–865.
9. Yang PY, Rui YC, Jin YX, Li TJ, Qiu Y, Zhang L et al. Antisense oligodeoxynucleotide inhibits vascular endothelial growth factor expression in U937 foam cells. *Acta Pharmacol Sin*. 2003 Jun;24(6):610–614.
10. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci*. 1999 Jul 15;19(14):5731–5740.
11. Jin KL, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in vitro ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Aug 29;97(18):10242–10247.
12. Oosthuysen B, Moons L, Storkebaum E, Beck H, Nuyens D, Brummens K et al. Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat Genet*. 2001 Jun;28(2):131–138.
13. Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nat Med*. 1999 Jun;5(6):623–628.
14. Enomoto H, Inoki I, Komiya K, Shiomi T, Ikeda E, Obata K et al. Vascular endothelial growth factor isoforms and their receptors are expressed in human osteoarthritic cartilage. *Am J Pathol*. 2003 Jan;162(1):171–181.
15. Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, Gerber HP, Nguyen TN, Peers D et al. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med*. 1998 Mar;4(3):336–340.
16. Ziegler BL, Valtieri M, Porada GA, De Maria R, Müller R, Masella B et al. KDR receptor: a key marker defining hematopoietic stem cells. *Science*. 1999 Sep 3;285(5433):1553–1558.
17. Semeraro F, Morescalchi F, Duse S, Gambicorti E, Cancarini A, Costagliola C. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Anti-VEGF Drugs After Intravitreal Injection. *Curr Drug Metab*. 2015;16(7):572–584.
18. Touyz RM, Herrmann J. Cardiotoxicity with vascular endothelial growth factor inhibitor therapy. *NPJ Precis Oncol*. 2018 May 8;2:13.
19. Neves KB, Rios FJ, van der Mey L, Alves-Lopes R, Cameron AC, Volpe M et al. VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor) Inhibition Induces Cardiovascular Damage via Redox-Sensitive Processes. *Hypertension*. 2018 Apr;71(4):638–647.
20. Touyz RM, Herrmann SMS, Herrmann J. Vascular toxicities with VEGF inhibitor therapies-focus on hypertension and arterial thrombotic events. *J Am Soc Hypertens*. 2018 Jun;12(6):409–425.
21. Zehetner C, Kirchmair R, Huber S, Kralinger MT, Kieselbach GF. Plasma levels of vascular endothelial growth factor before and after intravitreal injection of bevacizumab, ranibizumab and pegaptanib in patients with age-related macular degeneration, and in patients with diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol*. 2013 Apr;97(4):454–459.
22. Zehetner C, Kralinger MT, Modi YS, Wälti I, Ulmer H et al. Systemic levels of vascular endothelial growth factor before and after intravitreal injection of aflibercept or ranibizumab in patients with age-related macular degeneration: a randomised, prospective trial. *Acta Ophthalmol*. 2015 Mar;93(2):e154–159.
23. Avery RL, Castellarin AA, Steinle NC, Dhoot DS, Pieramici DJ, See R et al. Systemic pharmacokinetics following intravitreal injections of ranibizumab, bevacizumab or aflibercept in patients with neovascular AMD. *Br J Ophthalmol*. 2014 Dec;98(12):1636–1641.
24. Avery RL, Castellarin AA, Steinle NC, Dhoot DS, Pieramici DJ, See R et al. Systemic pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravitreal aflibercept, bevacizumab, and ranibizumab. *Retina*. 2017 Oct;37(10):1847–1858.
25. Hirano T, Toriyama Y, Iesato Y, Imai A, Murata T. Changes in plasma vascular endothelial growth factor level after intravitreal injection of bevacizumab, aflibercept, or ranibizumab for diabetic macular edema. *Retina*. 2018 Sep;38(9):1801–1808.