

Statusartikel

Ugeskr Læger 2020;182:V03200178

Patofysiologisk forståelse og terapeutiske muligheder ved hæmning af okulær karvækst

Yousif Subhi^{1, 2}, Lasse Jørgensen Cehofski^{3, 4, 5}, Anders Højslet Vestergaard^{3, 4}, Torben Lykke Sørensen^{1, 2} & Jakob Grauslund^{3, 4, 6}

1) Øjenafdelingen, Sjællands Universitetshospital, Roskilde, 2) Institut for Klinisk Medicin, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, 3) Øjenafdeling E, Odense Universitetshospital, 4) Forskningsenheden for Oftalmologi, Klinisk Institut, Syddansk Universitet, Odense, 5) Øjenafdelingen, Vejle Sygehus, Sygehus Lillebælt, 6) Steno Diabetes Center Odense, Odense Universitetshospital

Ugeskr Læger 2020;182:V03200178

HOVEDBUDSKABER

- Okulær iskæmi spiller en central rolle ved en række intraokulære sygdomme, som afficerer både cornea og retina.
- Betydningen af patologisk opregulering af vaskulær endotelial vækstfaktor (VEGF)-systemet er velkendt inden for især retinale sygdomme, og intravitrealt administrerede VEGF-hæmmere anvendes i dag terapeutisk til behandling af især retinal veneokklusion, diabetisk makulært ødem og våd aldersrelateret maculadegeneration.
- Hypoksiinducerbar transkriptionsfaktor (HIF)-1 α regulerer VEGF-A-sekretionen i øjet, og fremtidige studier forventes at kunne bidrage med en øget forståelse af denne styring, heraf om hæmning af HIF-1 α kan supplere eller erstatte de nuværende behandlingsmuligheder ved okulære iskæmiske lidelser.

Okulær iskæmi og heraf afledt kompensatorisk karvækst spiller en central rolle for en lang række øjensygdomme, som afficerer øjets både forreste og bageste segmenter. Erkendelsen heraf har haft en markant klinisk betydning, idet behandling med okulære vækstfaktorhæmmere har medført en halvering i antallet af nyblinde i Danmark [1]. Med denne artikel ønsker vi at give et patofysiologisk og klinisk overblik over relevante molekylære processer og den terapeutiske betydning af disse ved en række hyppige øjenlidelser.

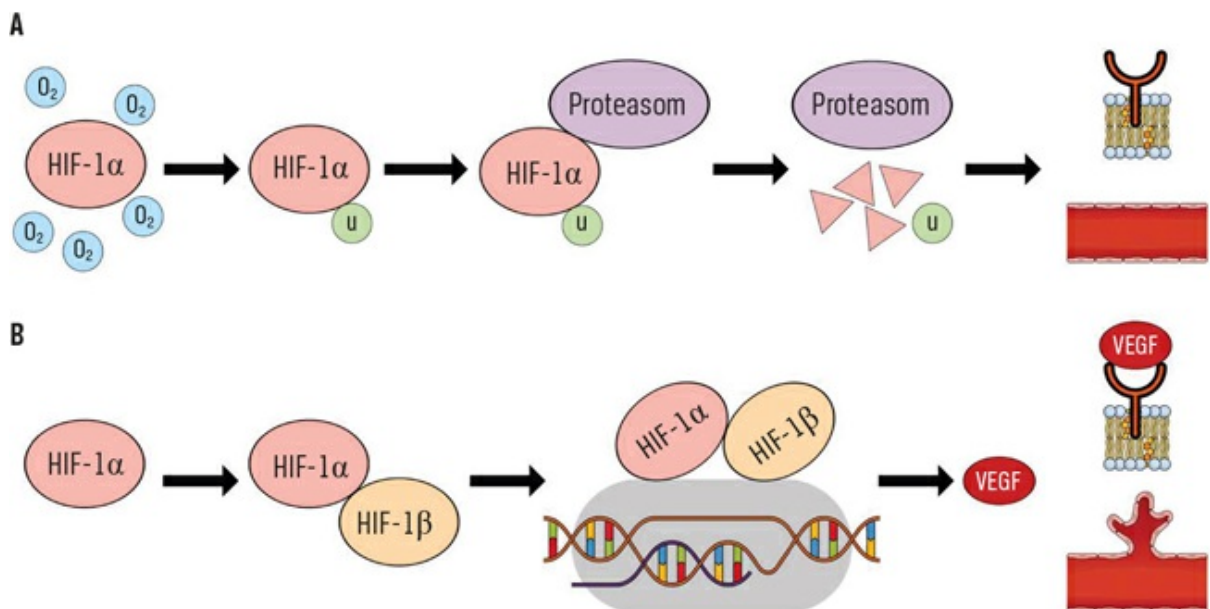
PATOFYSIOLOGI

Vaskulær endotelial vækstfaktor (VEGF) er et signalprotein, som tilhører gruppen af vækstfaktorer [2]. VEGF-A, som er en blandt flere beskrevne undertyper, spiller den vigtigste rolle for både normal og patologisk kardannelse i øjet [2]. VEGF-A virker ved at binde til membranbundne VEGF-receptorer, som fremmer angiogenesen [2]. VEGF-A-niveauet er vigtigt for angiogen aktivitet: Lave niveauer medfører karregression, og høje niveauer medfører karydannelse [2].

VEGF-A-sekretionen afhænger af cellers hypoksiinducerbare transkriptionsfaktorer (HIF), som reagerer på ændringer i iltniveauet [2, 3]. HIF er opbygget som dimer bestående af en iltlabil 1 α -del og en iltstabil β -del [3]. Ved normoksi medfører iltning af HIF-1 α en nedbrydning af proteinet (Figur 1) [3]. Ved hypoksi medfører manglende iltning af HIF-1 α , at der kan dannes dimer med β -delen, som fremmer transkription af bl.a. VEGF-A

[3]. VEGF-A-sekretionen er ikke kun aktiv ved ekstrem hypoksi. F.eks. ses der normalt udskilning af VEGF-A fra nethindens pigmentepitel til det underliggende karsystem i årehinden for at opretholde et tæt kapillærssystem [4]. Forhøjet VEGF-A-sekretion ses ved øget hypoksi, der fremmes yderligere af inflammation [2, 5]. VEGF-A-sekretionen er ikke isoleret til enkelte celle- eller vævstyper, og karydannelse som led i øjensygdom kan potentielt observeres i alle øjets dele. It observeres i alle øjets dele.

FIGUR 1 / Skematiseret virkning af hypoksiinducerbare transkriptionsfaktorer (HIF) og deres fremme af karydannelse. **A.** Under normoksi medfører iltning af den iltlabile HIF-1 α en ubiquitinering (U), dvs. en molekylær proteinmærkning, som medfører proteasomal proteinnedbrydning. Således ingen ekspresion af vaskulær endotelial vækstfaktor (VEGF), ingen VEGF-sekretion og ingen karyddannelse. **B.** Under hypoksi medfører manglende iltning af HIF-1 α , at der dannes dimer med HIF-1 β , hvorved transkription kan faciliteres. Således VEGF-ekspresion, VEGF-sekretion, VEGF-binding på receptorer og karydannelse.



VEGF-A-medieret angiogenese er hovedsageligt medieret gennem interaktion med VEGF-receptorer på vaskulære endotelceller [2]. På endotelcelleniveau induceres mitose og migration af endotelceller mod en VEGF-gradient [2, 6]. På karniveau ses dilatation og øget permeabilitet [6]. Disse forhold gør VEGF til et interessant mål for medicinsk behandling af en lang række øjensygdomme, hvor karydannelse eller ekssudative forandringer udgør en del af sygdomsmanifestationen.

Hypoksiinducerbar transkriptionsfaktor-1 ved hornhindsygdom

Talrige patologiske tilstande kan påvirke hornhindens form og transparens og resultere i nedsat syn, okulære overfladegener og skæmmende udseende. Særligt kan limbal stamcelledeficit (f.eks. efter ætsningskader eller infektion), eller lokalt forårsaget iltmangel (f.eks. hypoksi pga. kontaktlinsebrug) resultere i korneal angiogenese og dermed nedsat syn. Disse patologiske tilstande medfører en uligevægt mellem pro- og antiangiogene faktorer og en heraf følgende overvægt af VEGF-ekspresion.

Indtil nu har man kun i ganske få eksperimentelle studier undersøgt HIF-1 α 's rolle ved korneal angiogenese. I et

af disse studier påviste man en synergistisk antiangiogenetisk effekt ved at hæmme både VEGF og HIF-1 α i kaninhornhinder efter baseætsning [7]. Netop baseætsninger betragtes som en af de mest alvorlige bidragsydere til korneal neovaskularisation, som er en tilstand, der oftest er særdeles vanskelig at behandle. En mindre alvorlig, men væsentlig hyppigere årsag til korneal neovaskularisation, er hypoksi som følge af kontaktlinsebrug. I et studie af *Chen et al* fandtes øget ekspresion af såvel VEGF som HIF-1 α i det korneale epitel efter brug af kontaktlinser [8]. Ligeledes har man fundet opregulering af HIF-1 α ved infektiøs keratitis – især den bakterielle form – hvor opregulering har vist sig at være afgørende for succesfuldt at kunne bekæmpe f.eks. *Pseudomonas*-infektion [9].

Samlet set har vi fortsat meget at lære om HIF-1 α og dets betydning for hornhinden. Håbet er, at vi i fremtiden kan optimere behandlingen af disse tilstande vha. målrettet regulering af HIF-1 α -systemet.

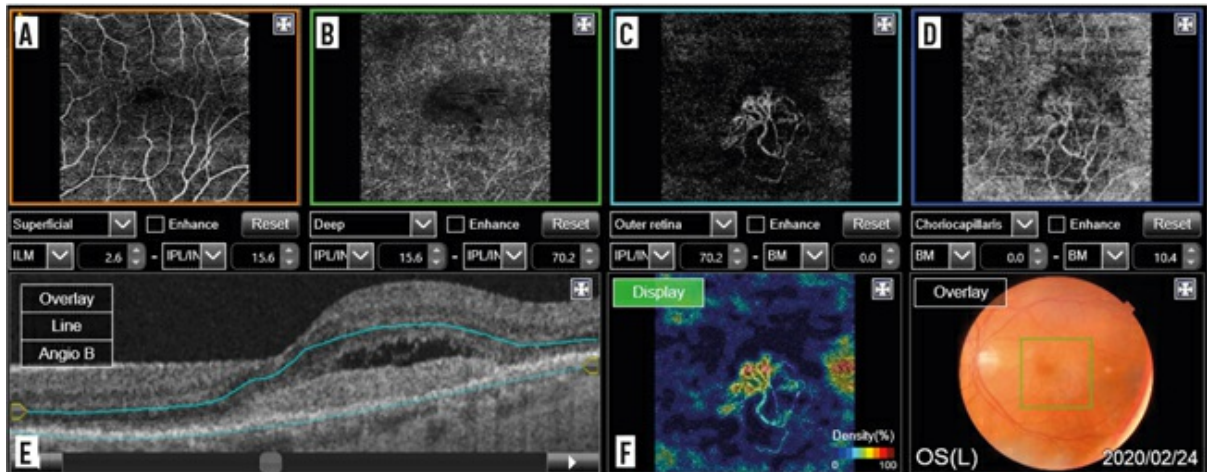
ALDERSRELATERET MACULADEGENERATION

Aldersrelateret maculadegeneration (AMD) er den hyppigste årsag til synsnedsættelse hos ældre [10]. Årsagen til AMD og årsagen til progression fra tidligere stadier til våd AMD kendes ikke, men alder er den mest anerkendte risikofaktor. Mange gener har været associeret med AMD, om end de enkelte geners rolle i sygdomsudviklingen ikke er afklaret.

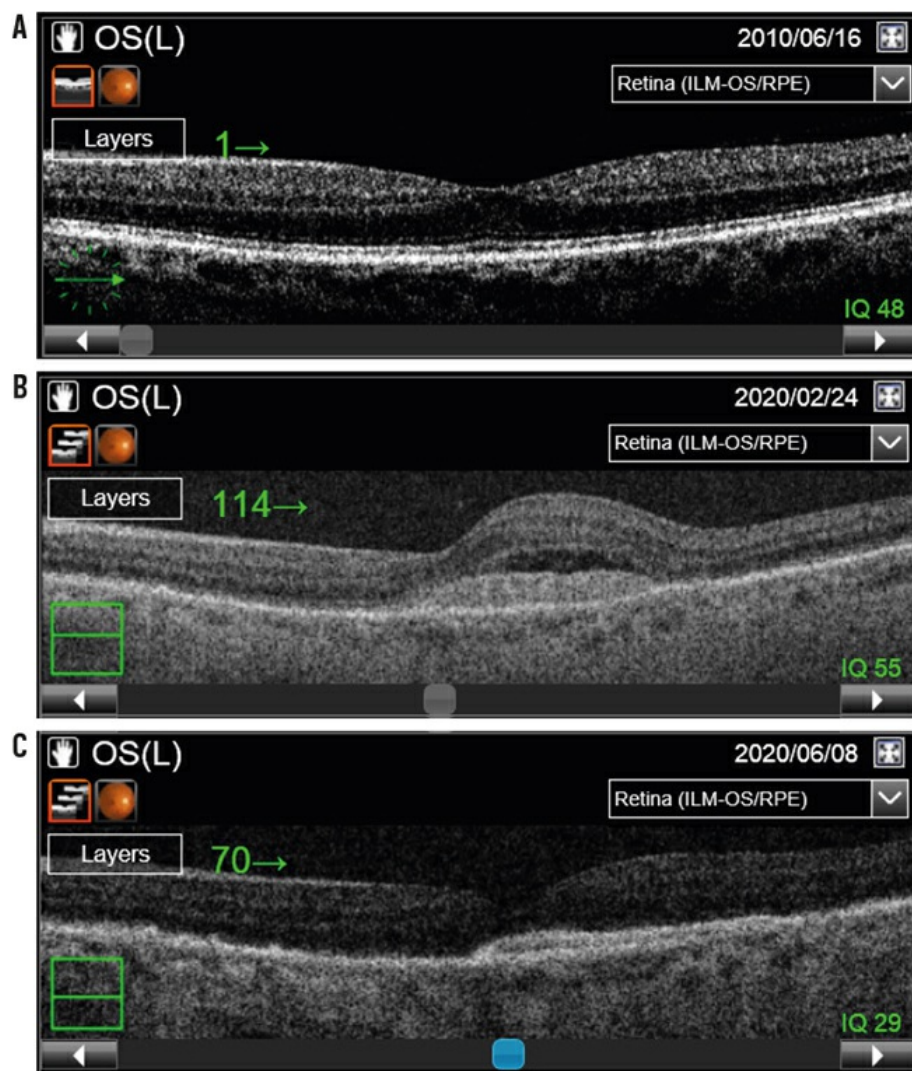
AMD opdeles typisk i en tidlig tør form, en sen tør form og en våd AMD. Våd AMD udgør 10-15% af alle tilfælde. Våd AMD er karakteriseret ved fremvækst af nydannet blodkar med oprindelse fra årehinden (**Figur 2**). Våd AMD har siden 2007 været behandlet med intravitreale injektioner med anti-VEGF-præparater (**Figur 3**) [11]. Som nævnt er den eneste nuværende tilgængelige behandling af våd AMD hæmning af angiogenese ved hjælp af anti-VEGF-præparater, hvorfor der har været en naturlig stor forskningsmæssig interesse i de processer, der kan føre til dannelsen af et nyt kar i årehinden. Denne forskning er blevet udfordret af den manglende tilgængelighed af histologisk materiale, heterogenitet i sygdomsformer og -forløb samt manglende dyremodeller. Dog synes retinalt pigment-epitel at være den primære kilde til proangiogene signaler ved våd AMD [12]. Denne induktion af proangiogene signaler kan bl.a. ske gennem komplementaktivering og oxidativt stress, men også via »almindelige aldringsprocesser«. Komplementsystemet har været meget undersøgt i relation til AMD, da specifikke gener, som involverer komplementsystemet, har været associeret med AMD, og oxidativt stress har været et stort fokusområde, da den naturlige synsproces involverer fagocytose af fotoreceptorernes ydersegmenter, hvilket er en mekanisme, der forårsager oxidativt stress. Med alderen ses der en fortykkelse af Bruchs membran pga. ophobning af lipid. Dette medfører iskæmi i det subretinale rum i forhold til transport af proteiner over blod-nethinde-barrieren. Denne iskæmi fører til opregulering af HIF-1 α , der medfører lokal produktion af VEGF, hvilket kan føre til dannelse af kar fra årehinden [13]. I den senere tid er rekruttering af proangiogene myeloide celler til det subretinale rum vist også at kunne bidrage til vedvarende og øget produktion af proangiogene signaler [5].

Således kan der ikke peges på enkelte processer, der kan forklare sygdomsudviklingen af våd AMD, og dette understreges af, at der er en meget variabel respons på behandlingen af våd AMD hos de enkelte patienter.

FIGUR 2 / Kombineret optisk kohærenstomografiske angiografier af nethindens forskellige lag (A-D), optisk kohærenstomografiske tværsnitsskanninger (E) og nethindefotografi (F) af et øje med våd aldersrelateret maculadegeneration. Angiografisk tegn på karnydannelse ses i C, som viser aktiviteten i nethindens ydre lag, der normalt ses uden kar. I E ses løft af nethinden med serøs afløsning, et tegn på sygdomsaktivitet.



FIGUR 3 / Optisk kohærenstomografiske skanninger af samme øje som i Figur 2. **A.** Skanning fra 2010, hvor nethinden ses uden karyndannelser eller ekssudative forandringer. **B.** Skanning ti år senere på samme tidspunkt som Figur 2, hvor der er tilkommet karyndannelse. **C.** Behandling med anti-vaskulær endotelial vækstfaktor-indsprøjtninger har medført regression af de ekssudative forandringer i neuroretina, hvorimod den underliggende karyndannelse persisterer.



ISKÆMI VED DIABETISK RETINOPATI

Diabetisk retinopati (DR) er den hyppigste mikrovaskulære komplikation ved diabetes, og tilstanden er nærmest uundgåelig efter mange år med især type 1-diabetes [14]. DR accelereres oftest af glykæmisk dysregulation, som medfører retinal neurovaskulær degeneration og forstærkning af en række iskæmiske signalveje [15]. Fra et

patofysiologisk udgangspunkt giver det god mening, at okulær iskæmi medfører VEGF-opregulering, således at der kan sikres en bedre ilttilførsel ved dannelse af nye blodkar, som det ses ved proliferativ DR. Dette er dog uhensigtsmæssigt, da de nye retinale blodkar er skrøbelige, hvilket kan medføre blødning i glaslegemet og heraf betinget svært synstab [16]. Endvidere medfører øget VEGF-ekspression en nedbrydning af den indre blodnethinde-barriere, hvilket medfører diabetisk makulært ødem, som også kræver synsstabiliserende behandling.

Ved proliferativ DR og diabetisk makulært ødem har man tidligere anvendt retinal laserbehandling som førstevalgsterapi for at undgå irreversibelt synstab. I de senere år har intravitreal terapi med VEGF-hæmmere imidlertid vist sig at have en bedre klinisk effekt, især hos patienter med centralt diabetisk makulært ødem, hvor sufficient laserbehandling ikke er mulig [16].

En række nylige studier i rottmodeller har vist, at HIF-1 α kan spille en uafhængig rolle i DR. Det er således påvist, at HIF-1 α allerede er opreguleret i den tidlige fase af DR [17, 18]. Endvidere påviste *Gao et al*, at hæmning af HIF-1 α medførte samtidig nedregulering af en række proinflammatoriske interleukinsignaller, som anses for vigtige ved især diabetisk makulært ødem [17]. *Zhang et al* supplerede denne observation ved også at påvise en aftagende angiogenese ved HIF-1 α -hæmning [18]. Fremtidige studier kan forventes at bidrage med yderligere forståelse af, hvorvidt HIF-1 α -signalvejen udelukkende har betydning i dyremodeller, eller om fundene også kan translateres til humane forhold.

RETINAL VENEOKKLUSION

Retinal veneokklusion (RVO) er den næsthyppest karsygdom i nethinden efter DR [19]. Visustab ved RVO skyldes især komplikationer som væskedannelse i den gule plet (makulært ødem), glaslegemeblødning eller glaukom som følge af karyndannelser [20]. Risikofaktorer for RVO omfatter bl.a. arteriel hypertension, diabetes, dyslipidæmi og sygdom i perifere arterier, hvoraf arteriel hypertension anses for at være den vigtigste enkeltstående risikofaktor [19]. Eksperimentelle studier tyder på et samspil mellem netop hypertension og HIF-1 α . F.eks. er det påvist, at hypertensive rotter udvikler højere retinale HIF-1 α -niveauer end normotensive rotter ved eksperimentel RVO [21].

RVO medfører varierende grader af retinal nonperfusion og deraf følgende hypoksi [22]. Ved retinal vaskulær sygdom responderer de retinale Müller-celler på hypoksi ved at øge stabiliteten af HIF-1 α [23], og den retinale HIF-1 α -ekspression stiger som følge af eksperimentel RVO [24].

Retinal nonperfusion ved RVO resulterer også i en stigning i VEGF [25], og anti-VEGF-præparater er i Danmark førstevalg til behandling af makulært ødem som følge af RVO. Viden om HIF-1 α forventes at bidrage til forklaringen på, hvorfor visse patienter ikke – eller kun delvist – responderer på VEGF-hæmmende behandling [26]. I dyrestudier har man kortlagt, at den øgede karpermeabilitet kun delvist kan forklares ved stigning i VEGF-ekspressionen [23], og at flere HIF-1 α -regulerede faktorer som f.eks. angiopoietin-like 4 medvirker til udvikling øget vaskulær permeabilitet og udvikling af makulært ødem [27].

HIF-1 α -hæmmende præparater til brug ved RVO er i øjeblikket under udvikling. F.eks. har et studie af *Yan et al* vist, at en anti-HIF-1 α -injektion givet i øjets glaslegeme kan reducere makulært ødem hos rhesusaber med eksperimentel RVO [28]. Studiet viste også, at anti-HIF-1 α -injektionen reducerede det intraokulære VEGF-niveau og udløste et antiinflammatorisk respons. Øget fokus på HIF-1 α vil således på sigt forventes at have betydning for de terapeutiske muligheder ved RVO.

KONKLUSION

Okulær iskæmi spiller en central rolle for en lang række lidelser i øjets forreste og bageste segmenter. Foruden

de nævnte sygdomme har HIF-1 α en betydning ved præmaturitetsretinopati [29]. Betydningen af VEGF-opreguleringen og den heraf følgende karynvækst og øget karpermeabilitet er velkendt, og intravitreal administrerede VEGF-hæmmere som bevacizumab, ranibizumab og aflibercept anvendes terapeutisk til behandling af især retinale sygdomme som RVO, diabetisk makulært ødem og våd AMD.

I flere nyligt publicerede studier har man påvist, at HIF-1 α også synes at spille en betydelig intraokulær rolle, og i forskellige dyremodeller har man påvist en favorabel terapeutisk effekt af direkte hæmning af HIF-1 α -systemet. Det forventes, at humane studier kan bidrage yderligere til forståelsen af det komplicerede samspil mellem pro- og antiangiogenetiske faktorer i øjet. Det vil have stor klinisk betydning, hvis HIF-1 α -hæmning kan supplere og evt. potentere de okulære behandlingsmuligheder, som i dag tilbydes med VEGF-hæmmende lægemidler.

KORRESPONDANCE: Jakob Grauslund. E-mail: jakob.grauslund@rsyd.dk

ANTAGET: 25. juni 2020

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 26. oktober 2020

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR: Findes i artiklen publiceret på Ugeskriftet.dk

SUMMARY

Pathological and therapeutic possibilities in inhibiting ocular angiogenesis

Yousif Subhi, Lasse Jørgensen Cehofski, Anders Højslet Vestergaard, Torben Lykke Sørensen & Jakob Grauslund

Ugeskr Læger 2020;182:V03200178

In a variety of corneal and retinal diseases, ocular ischaemia mediates vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, which in turn causes angiogenesis and increased vascular permeability. Consequently, VEGF-inhibitory treatment has been introduced in different ocular diseases. Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α is an upstream regulator of VEGF-A, and increased HIF-1 α expression has been established in ocular animal models. Upcoming translational studies are expected to increase our understanding of the complex balance between pro- and anti-angiogenic factors in the eye.

LITTERATUR

1. Bloch SB, Larsen M, Munch IC. Incidence of legal blindness from age-related macular degeneration in denmark: year 2000 to 2010. *Am J Ophthalmol* 2012;153:209-13e2.
2. Penn JS, Madan A, Caldwell RB et al. Vascular endothelial growth factor in eye disease. *Prog Retin Eye Res* 2008;27:331-71.
3. Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell* 2010;40:294-309.
4. Saint-Geniez M, Kurihara T, Sekiyama E et al. An essential role for RPE-derived soluble VEGF in the maintenance of the choriocapillaris. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:18751-6.
5. Rozing MP, Durhuus JA, Krogh Nielsen M et al. Age-related macular degeneration: A two-level model hypothesis. *Prog Retin Eye Res* 2019;76:100825.
6. Schlingemann RO, van Hinsbergh VW. Role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in eye disease. *Br J Ophthalmol* 1997;81:501-12.
7. Fu YC, Xin ZM. Inhibited corneal neovascularization in rabbits following corneal alkali burn by double-target interference for VEGF and HIF-1 α . *Biosci Rep* 2019;39:BSR20180552.
8. Chen P, Yin H, Wang Y et al. Inhibition of VEGF expression and corneal neovascularization by shRNA targeting HIF-1 α in a

- mouse model of closed eye contact lens wear. *Mol Vis* 2012;18:864-73.
9. Chidambaram JD, Kannambath S, Srikanthi P et al. Persistence of innate immune pathways in late stage human bacterial and fungal keratitis: results from a comparative transcriptome analysis. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7:193.
 10. Mitchell P, Liew G, Gopinath B et al. Age-related macular degeneration. *Lancet* 2018;392:1147-59.
 11. Brynskov T, Munch IC, Larsen TM et al. Real-world 10-year experiences with intravitreal treatment with ranibizumab and aflibercept for neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 2020;98:132-8.
 12. Kinnunen K, Petrovski G, Moe MC et al. Molecular mechanisms of retinal pigment epithelium damage and development of age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 2012;90:299-309.
 13. Mammadzada P, Gudmundsson J, Kvanta A et al. Differential hypoxic response of human choroidal and retinal endothelial cells proposes tissue heterogeneity of ocular angiogenesis. *Acta Ophthalmol* 2016;94:805-14.
 14. Grauslund J, Green A, Sjolie AK. Prevalence and 25 year incidence of proliferative retinopathy among Danish type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2009;52:1829-35.
 15. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG et al. Vascular endothelial growth-factor in ocular fluid of patients with diabetic-retinopathy and other retinal disorders. *New Engl J Med* 1994;331:1480-7.
 16. Grauslund J. Behandling af synstruende diabetisk retinopati. *Ugeskr Læger* 2018;180:V11170870.
 17. Gao X, Li Y, Wang H et al. Inhibition of HIF-1alpha decreases expression of pro-inflammatory IL-6 and TNF-alpha in diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2017;95:e746-e750.
 18. Zhang D, Lv FL, Wang GH. Effects of HIF-1alpha on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018;22:5071-6.
 19. Newman-Casey PA, Stem M, Talwar N et al. Risk factors associated with developing branch retinal vein occlusion among enrollees in a United States managed care plan. *Ophthalmology* 2014;121:1939-48.
 20. McIntosh RL, Rogers SL, Lim L et al. Natural history of central retinal vein occlusion: an evidence-based systematic review. *Ophthalmology* 2010;117:1113-23.e15.
 21. Kida T, Flammer J, Oku H et al. Vasoactivity of retinal veins: a potential involvement of endothelin-1 (ET-1) in the pathogenesis of retinal vein occlusion (RVO). *Exp Eye Res* 2018;176:207-9.
 22. Hayreh SS, Podhajsky PA, Zimmerman MB. Natural history of visual outcome in central retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 2011;118:119-33.e1-2.
 23. Bringmann A, Pannicke T, Grosche J et al. Muller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res* 2006;25:397-424.
 24. Ebneter A, Kokona D, Schneider N et al. Microglia activation and recruitment of circulating macrophages during ischemic experimental branch retinal vein occlusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58:944-53.
 25. Noma H, Funatsu H, Mimura T. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 are correlated with serous retinal detachment in central retinal vein occlusion. *Curr Eye Res* 2012;37:62-7.
 26. Ashraf M, Souka AA, Singh RP. Central retinal vein occlusion: modifying current treatment protocols. *Eye (Lond)*. 2016;30:505-14.
 27. Xin X, Rodrigues M, Umaphathi M et al. Hypoxic retinal Muller cells promote vascular permeability by HIF-1-dependent up-regulation of angiopoietin-like 4. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 2013;110:E3425-3434.
 28. Yan Z, An J, Shang Q et al. YC-1 inhibits VEGF and inflammatory mediators expression on experimental central retinal vein occlusion in rhesus monkey. *Curr Eye Res* 2018;43:526-33.
 29. Hoppe G, Yoon S, Gopalan B et al. Comparative systems pharmacology of HIF stabilization in the prevention of retinopathy of prematurity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113:E2516-E2525.