



Le traitement de la néovascularisation choroïdienne secondaire à la dégénérescence maculaire liée à l'âge : approches ciblant les facteurs de croissance endothéliaux vasculaires

Par Jean-François Nault, étudiant – École d'optométrie
Université de Montréal

Sommaire

Plusieurs traitements ont été développés ces dernières années pour combattre la néovascularisation choroïdienne secondaire à la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Certains visent à inhiber les facteurs de croissance responsables de cette condition, comme le Pegaptanib, le Ranibizumab ou le Bevacizumab, alors que d'autres tentent de diminuer l'expression des gènes responsables de la fabrication de ces facteurs de croissance ou de leurs récepteurs (Cand5 et Sirna-027). Enfin, les traitements les plus prometteurs à long terme utilisent un vecteur adénovirus, qui exprime des inhibiteurs de facteurs de croissance de façon soutenue dans les cellules cibles.

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est la principale cause de malvoyance chez les Américains de 65 ans et plus. La maladie se présente sous deux formes, soit la forme sèche ou la forme humide. La forme humide, qui sera abordée dans cet article, se caractérise par la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins sous la rétine (néovascularisation choroïdienne, NVC), produisant des oedèmes et des hémorragies localisées. Cette NVC, secondaire à la DMLA, est la cause principale de perte de vision centrale chez les personnes atteintes. Pour le patient, le principal symptôme est la diminution de l'acuité visuelle, qui peut inclure l'apparition de tâches sombres ou une vision déformée dans la zone de vision centrale. Le professionnel de la vue peut détecter des signes précoces de DMLA par l'examen de la rétine. En cas de doute, la grille de Amsler peut être utilisée pour confirmer le diagnostic¹.

Comme son nom l'indique, l'étiologie principale de la DMLA est l'âge, mais certains facteurs de risques existent : hérédité, tabagisme, hypertension, yeux clairs, obésité et certains médicaments (effets secondaires)¹. Les traitements actuels ne visent pas à guérir directement la DMLA, mais s'attaquent plutôt à la néovascularisation, qui engendre les pertes visuelles. En fait, la néovascularisation est le produit de l'angiogenèse. À prime abord, l'angiogenèse est un phénomène biologique normal et essentiel chez l'humain. En effet, elle participe notamment au cycle reproductif chez la femme, à la croissance des poils et à la guérison des blessures². Or, elle devient pathologique lors de NVC induite par la DMLA. L'angiogenèse est un phénomène très complexe, impliquant l'action coordonnée de nombreux facteurs de croissance avec des molécules d'adhésion cellulaire, survenant en réponse à l'hypoxie³, mais les facteurs de croissance endothéliaux vasculaires (VEGF) jouent probablement le rôle le plus important dans son processus, en la régulant et en induisant une forte perméabilité vasculaire⁴.

Les VEGF sont des glycoprotéines homodimériques, qui constituent des facteurs de croissance spécifiques aux cellules endothéliales⁵. Il en existe cinq classes, mais les VEGF-A sont les plus fortement associés à l'angiogenèse, ce qui en fait de bonnes cibles pour les traitements courants⁶. Jusqu'à maintenant, neuf isoformes de VEGF-A ont été identifiées⁷, mais le VEGF-A165 est le plus exprimé et a un rôle vital dans l'angiogenèse⁸. De plus, on sait que les VEGF-A peuvent se lier à deux récepteurs tyrosine kinases, soit VEGFR1 et VEGFR2⁹. Chez l'humain atteint de DMLA, l'expression des VEGF-A est accrue dans les cellules épithéliales pigmentaires au début de la maladie, ce qui suggère le rôle primaire joué par ces facteurs de croissance dans la NVC¹⁰, même si les bases moléculaires de la DMLA ne sont pas bien comprises et qu'on sait que plusieurs facteurs de croissance sont impliqués dans la maladie. De plus, de fortes concentrations de VEGF-A ont été observées dans l'humeur vitrée de patients souffrant de NVC¹¹.

Différents traitements ont vu le jour ces dernières années, ayant pour but de combattre la NVC. On a testé dernièrement différents agents anti-VEGF, qui agissent de différentes façons. Tout d'abord, le Pegaptanib (Macugen) est un aptamère produit synthétiquement et ayant pour cible spécifique l'isoforme VEGF-A₁₆₅ chez l'humain, l'empêchant de se lier à son récepteur. Il s'est montré efficace pour prévenir la perte de vision et la néovascularisation dans la DMLA¹². Ensuite, le Ranibizumab (Lucentis) est une petite fraction d'un anticorps monoclonal recombinant (possède un domaine de fixation à l'antigène), qui s'attache et neutralise l'activité biologique de toutes les formes actives de VEGF-A. On a démontré que l'administration intravitréenne de Ranibizumab pendant deux ans a prévenu la perte de vision et a amélioré l'acuité visuelle moyenne chez les sujets à l'étude souffrant de NVC secondaire à la DMLA, avec de faibles taux de complications¹³.

Par contre, une étude sur cinq ans a démontré une incidence annuelle d'accidents thromboemboliques de trois fois supérieure chez les patients prenant le Ranibizumab, comparativement au groupe témoin¹⁴. Par ailleurs, le Bevacizumab (Avastin), un peu comme le Ranibizumab, s'attache à toutes les formes de VEGF-A, mais agit comme un anticorps complet (possède deux domaines de fixation à l'antigène). Cette particularité lui donne une demi-vie de 17 à 21 jours chez l'humain¹⁵, comparativement à environ 3 jours chez le primate pour le Ranibizumab¹⁶. La fréquence d'administration est donc moindre pour le Bevacizumab, diminuant les risques associés d'infection, puisque l'administration se fait par voie intravitréenne

invasive. Par contre, le site actif d'adhésion du Ranibizumab possède une affinité aux VEGF-A de 14 fois supérieure à celui du Bevacizumab¹⁷. Il faut comprendre que ces traitements ne sont pas sans risques, puisque comme mentionné plus haut, l'angiogenèse est un phénomène normal dans l'organisme et ce dernier a besoin des VEGF. Donc, pour diminuer les effets systémiques indésirables, on doit limiter les agents actifs dans l'environnement de l'œil seulement et idéalement, dans les cellules qui produisent trop de VEGF¹⁸. Ainsi, l'injection des anti-VEGF se fait directement dans le vitré, puisque l'œil a l'avantage d'être un site immuno-privilégié, ce qui signifie qu'il dispose d'une barrière œil-sang, limitant le passage des molécules entre les deux milieux.

Par contre, le bris de cette barrière œil-sang est fréquent dans la NVC, et les agents anti-VEGF sont souvent victimes d'écoulement vers l'environnement systémique¹⁹. Jusqu'à maintenant, il n'existe pas d'étude comparative directe entre le Ranibizumab et le Bevacizumab, pour savoir lequel est le meilleur. De plus, on ne connaît pas vraiment les effets à long terme de tels agents, ainsi que les effets systémiques dus à des administrations répétées. En effet, comme la DMLA est une condition chronique et que la demi-vie des anti-VEGF est limitée, la fréquence des injections doit être relativement élevée, même si on ignore pour le moment la durée du traitement, les doses et les fréquences d'administration optimales²⁰.

Une autre approche, au lieu de s'attaquer aux VEGF ou à leurs récepteurs, cible directement les gènes qui les produisent. Le principe vise à arrêter la production des protéines voulues en détruisant les séquences d'ARN messagers (ARNm) correspondantes, bref à bloquer l'expression d'une séquence de gènes. C'est ce qu'on appelle l'interférence ARN (iRNA). En fait, l'iRNA est un processus normal dans l'organisme, qui permet de se débarrasser des virus à ARN¹⁵. Pour combattre les VEGF, on induit dans l'œil des *small interfering RNA* (siRNA), qui sont en fait des petits bouts de ARN bicaténaires. Ainsi, le siRNA, synthétisé chimiquement, se fixe à un complexe RISC (RNA-induced silencing complex) et à l'endonucléase Argonaute 2 (AGO2), ce qui permet le clivage du siRNA bicaténaire en siRNA monocaténaire. Ce nouveau brin simple s'attachera à l'ARNm ciblé à l'aide du RISC et le clivera, le rendant inactif. Le siRNA et le ARNm ciblé doivent avoir une complémentarité quasi parfaite de leurs paires de bases respectives²¹. L'avantage de cette technique est qu'elle est hautement spécifique, puisqu'elle dégrade les ARNm ayant une séquence homologue aux siRNA.

De plus, ces derniers sont très puissants, puisqu'une seule de leurs molécules peut détruire plusieurs ARNm dans la cellule, ce qui diminue l'expression intracellulaire des VEGF15. D'autre part, les siRNA ont une efficacité limitée, puisqu'ils ne demeurent pas longtemps dans l'organisme et comme le Ranibizumab ou le Bevacizumab, des administrations répétées sont requises, avec les mêmes problèmes associés. Deux principaux traitements sont

présentement à l'étude, soit le Cand5, qui prévient la production de tous les VEGF-A en dégradant les ARNm associés²², ainsi que le Sirna-027, qui cible les ARNm des récepteurs VEGFR1. En éliminant les récepteurs des VEGF, ceux-ci sont libres, mais ne peuvent pas être activés. Il a été démontré que Sirna-027 était très efficace à faible concentration et qu'il diminuait de façon significative la taille des lésions de la NVC chez les souris. Par contre, cinq jours après l'administration de l'agent chez celles-ci, la plupart des siRNA étaient éliminés de la rétine²³. Des études cliniques sur des humains ont démontré une amélioration de la vision chez plusieurs patients, ainsi que l'absence d'effets secondaires importants ou de toxicité¹⁵. Cand5 et Sirna-027 sont présentement en étude clinique.

Toutes les méthodes expliquées précédemment posent un problème commun : une demi-vie très courte dans l'organisme. Une stratégie est à l'étude, pour supprimer à long terme la voie des VEGF suractifs dans la DMLA, causant la NVC. Il s'agit des *short hairpin RNA* (shRNA), qui sont des courtes séquences d'ARN. Ceux-ci sont exprimés dans les cellules épithéliales pigmentaires de la rétine (RPE) à l'aide d'un vecteur, un adénovirus recombinant. La persistance de l'adénovirus dans l'organisme permettrait une interférence ARN soutenue, évitant les injections intravitréennes répétées. Dans les tissus oculaires de la souris, l'adénovirus peut persister pendant 6 mois²⁴. De plus, le vecteur adénovirus sérotype 5 possède un tropisme quasi exclusif pour les cellules RPE25, ce qui le rend idéal pour traiter la NVC en évitant de réguler à la baisse les VEGF dans le reste de l'organisme.

Par ailleurs, la puissance relativement élevée du traitement permet une livraison du vecteur à faible dose, diminuant ainsi la probabilité d'une réponse immunitaire associée à l'adénovirus. Même à forte dose, aucune toxicité significative n'a été observée chez l'humain, avec une efficacité de plus de 38 mois pour une seule injection. Les faibles inflammations rencontrées ont pu être contrôlées facilement²⁶. On a identifié des séquences puissantes de shRNA, exprimées par des adénovirus, capables d'inhiber de façon significative les VEGF dans les cellules RPE humaines. De plus, chez la souris, il a été possible de diminuer de façon substantielle une NVC induite, à l'aide de ce traitement¹⁸. Cette technique est donc fort prometteuse pour traiter la NVC secondaire à la DMLA. Toutefois, certains problèmes restent à résoudre. Tout d'abord, les fortes doses de vecteurs adénovirus sont immunogéniques. Ensuite, on ne sait pas si les shRNA s'attaquent à d'autre ARNm que ceux synthétisant les VEGF dans les cellules RPE. Enfin, une réponse immunitaire à l'expression à long terme des shRNA demeure entièrement possible¹⁸.

Plusieurs traitements ont vu le jour ces dernières années pour combattre la NVC secondaire à la DMLA. Par contre, ils sont encore tous à l'étude pour pouvoir bien déterminer le dosage, la fréquence des injections et la durée des traitements, car tous ces points ne sont pas encore

bien définis, même si des améliorations significatives au niveau de la vision ou de la NVC ont été observées. De plus, la courte demi-vie dans l'organisme de la majorité des agents demeure un problème, puisqu'ils nécessitent des fréquences d'administration élevées, avec tous les risques associés aux injections intravitréennes invasives. La stratégie liée au vecteur adénovirus (shRNA) semble très

intéressante, car elle permet une persistance des agents anti-VEGF dans les cellules cibles. Par contre, les effets à long terme de traitements prolongés pour toutes les thérapies demeurent plutôt inconnus. Bref, ces techniques semblent très prometteuses pour soulager les personnes atteintes de DMLA, et ce, dans un avenir rapproché.

Bibliographie

- Hadrill M, Slonim C. Macular degeneration. All about vision. Juin 2007. Consulté en ligne le 24 novembre 2007 : <http://www.allaboutvision.com/conditions/amd.htm>
- Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, et al. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med*. 1998;4:336–340.
- Kiefer FN, Neysari S, Humar R, et al. Hypertension and angiogenesis. *Curr Pharm Des*. 2003;9:1733–1744.
- Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989;246:1306–9.
- Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003;9:669–76.
- Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol*. 2002;29:10–14.
- Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109:227–41.
- Keyt BA, Berleau LT, Nguyen HV, et al. The carboxyl-terminal domain (111–165) of vascular endothelial growth factor is critical for its mitogenic potency. *J Biol Chem*. 1996;271:7788–95.
- Yonekura H, Sakurai S, Liu X, et al. Placenta growth factor and vascular endothelial growth factor B and C expression in microvascular endothelial cells and pericytes. Implication in autocrine and paracrine regulation of angiogenesis. *J Biol Chem*. 1999;274:35172–8.
- Kliffen M, Sharma HS, Mooy CM, et al. Increased expression of angiogenic growth factors in age-related maculopathy. *Br J Ophthalmol*. 1997;81:154–162.
- Wells JA, Murthy R, Chibber R, et al. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in the vitreous of patients with subretinal neovascularisation. *Br J Ophthalmol*. 1996;80:363–366.
- Lee JH, Canny MD, De Erkenez A, et al. A therapeutic aptamer inhibits angiogenesis by specifically targeting the heparin binding domain of VEGF165. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:18902–7.
- Rosenfeld P, Brown DM, Heier JS, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006;355:1419–31.
- Gillies MC, Wong TY. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2007;356:747–750.
- Kaiser PK. Antivascular Endothelial Growth Factor Agents and Their Development : Therapeutic Implications in Ocular Diseases. *American Journal of Ophthalmology*. 2006;142(4):660.e1–660.e10.
- Mordenti J, Cuthbertson RA, Ferrara N, et al. Comparisons of the intraocular tissue distribution pharmacokinetics and safety of 125 I-labeled Fab antibodies in rhesus monkeys following intravitreal administration. *Toxicol Pathol*. 1999;27:536-544.
- N. Ferrara, L. Damico, N. Shams, H. Lowman et R. Kim. Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina*. 2006;26(8):859–870.
- Cashman SM, Bowman L, Christofferson J, et Kumar-Singh R. Inhibition of Choroidal Neovascularization by Adenovirus-Mediated Delivery of Short Hairpin RNAs Targeting VEGF as a Potential Therapy for AMD. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2006;47(6):3496-3504.
- Drolet DW, Nelson J, Tucker CE, et al. Pharmacokinetics and safety of an anti-vascular endothelial growth factor aptamer (NX1838) following injection into the vitreous humor of rhesus monkeys. *Pharm Res*. 2000;17:1503–1510.
- Bhisitkul RB. Vascular endothelial growth factor biology: clinical implications for ocular treatments. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:1542–1547.
- Martinez J, Patkaniowska A, Urlaub H, Luhrmann R, et Tuschl T. Single-stranded antisense siRNAs guide target RNA cleavage in RNAi. *Cell*. 2002;110:563–574.
- Reich SJ, Fosnot J, Kuroki A, et al. Small interfering RNA (siRNA) targeting VEGF effectively inhibits ocular neovascularization in a mouse model. *Mol Vis*. 2003;9:210-216.
- Shen J, Samul R, Silva RL, et al. Suppression of ocular neovascularization with siRNA targeting VEGF receptor 1. *Gene Therapy*. 2006;13:225–234.
- Kim IH, Jozkowicz A, Piedra PA, Oka K, Chan L. Lifetime correction of genetic deficiency in mice with a single injection of helperdependent adenoviral vector. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:13282–13287.
- Cashman SM, Sadowski SL, Morris DJ, Frederick J, Kumar-Singh R. Intercellular trafficking of adenovirus-delivered HSV VP22 from the retinal pigment epithelium to the photoreceptors-implications for gene therapy. *Mol Ther*. 2002;6:813–823.
- Chevez-Barrios P, Chintagumpala M, Mieler W, et al. Response of retinoblastoma with vitreous tumor seeding to adenovirus-mediated delivery of thymidine kinase followed by ganciclovir. *J Clin Oncol*. 2005;23:7927–7935.