

ABSTRACT

Fragestellung

In einer vorherigen Studie wurden Anti-Drug-Antikörper (ADA) gegen Brolucizumab (BCZM) als potenzielle Risikofaktoren für intraokulare Entzündungen und retinale Vaskulitis identifiziert.⁴ Diese In-vitro-Studie untersucht, ob ADA - allein oder im Komplex mit BCZM - die Bildung des terminalen Komplementkomplexes C5b-9 sowie eine proinflammatorische Aktivierung vaskulärer Endothelzellen induzieren.

Methodik

HUVECs wurden in verschiedenen Stimulationsansätzen mit IgG-Molekülen aus ADA-positiven oder -negativen Patientenseren mit oder ohne BCZM und humanem Komplementserum (HCS) als standardisierte Komplementquelle inkubiert. BasalmEDIUM (BM) und BM mit hitzeinaktiviertem HCS (HI-HCS) dienten als Negativkontrollen, während Ansätze mit BM, HCS und Zymosan als Positivkontrolle dienten. Anschließend wurden die HUVECs mithilfe von FITC/Alexa-Fluor-488-gekoppelten C5b-9-Antikörpern markiert und mittels (1) Fluoreszenzmikroskopie oder (2) Durchflusszytometrie (DZ) analysiert. In der DZ kam zudem ein Viabilitätsfarbstoff zum Einsatz. In den Überständen der stimulierten Zellen wurden Konzentrationen von IL-6, IL-8 und MCP-1 mittels (3) ELISA bestimmt.

Ergebnisse

Sowohl in der Immunfluoreszenz als auch der DZ zeigten Zellen der Positivkontrolle das signifikant stärkste C5b-9-Signal. Bei Zellgruppen mit IgG und/oder HCS lag das Signal zwischen der Positiv- und Negativkontrolle. Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen IgG aus ADA-positiven oder -negativen Seren mit oder ohne Zugabe von BCZM. Bei C5b-9-positiven Zellen war der Anteil toter Zellen erhöht. Das Muster der Zytokin-Konzentrationen deckte sich mit dem des C5b-9-Signals.

Schlussfolgerung

Eine verstärkte C5b-9-Bildung war mit einer erhöhten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und reduzierter Zellviabilität assoziiert, dies jedoch unabhängig von ADA - weder allein noch im Komplex mit BCZM. Funktionelle Eigenschaften von ADA gegen BCZM sollten weiter untersucht werden, um ihre Rolle bei okulären Entzündungen zu klären.

KLINISCHE RELEVANZ

- VEGF-Inhibitoren wie BCZM können den Visus bei Patienten mit altersbedingter Makuladegeneration oder diabetischer Retinopathie mit diabetischem Makulaödem stabilisieren oder verbessern
- entzündliche Nebenwirkungen stellen ein Behandlungsrisiko dar
- die Rolle der ADA hierbei könnte für Therapieentscheidungen und Wirkstoffentwicklungen relevant sein

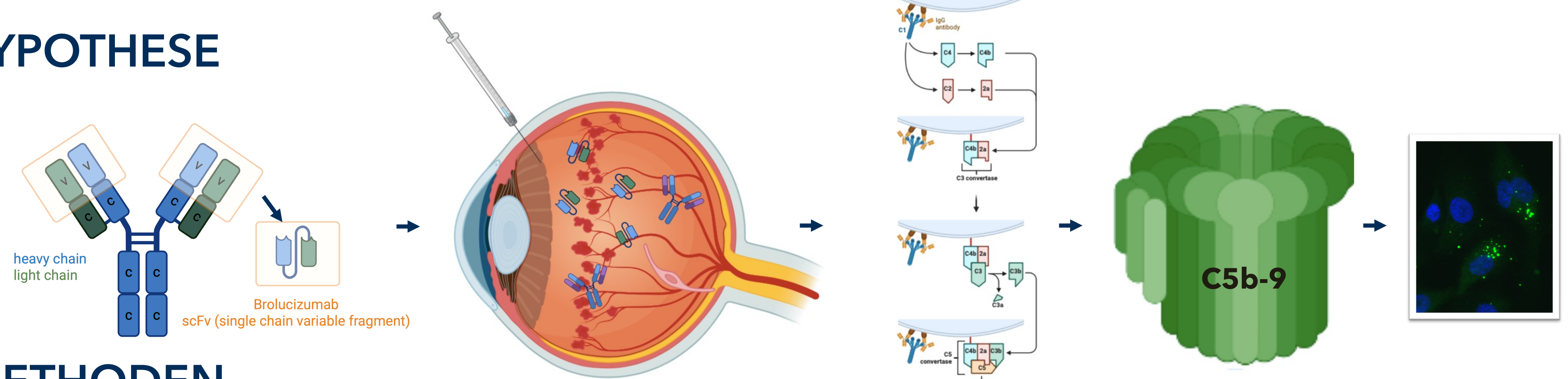
Referenzen

⁴ Busch M et. al. (2022): Anti-drug antibodies to brolucizumab and ranibizumab in serum and vitreous of patients with ocular disease. Acta Ophthalmologica 100: 903-910.

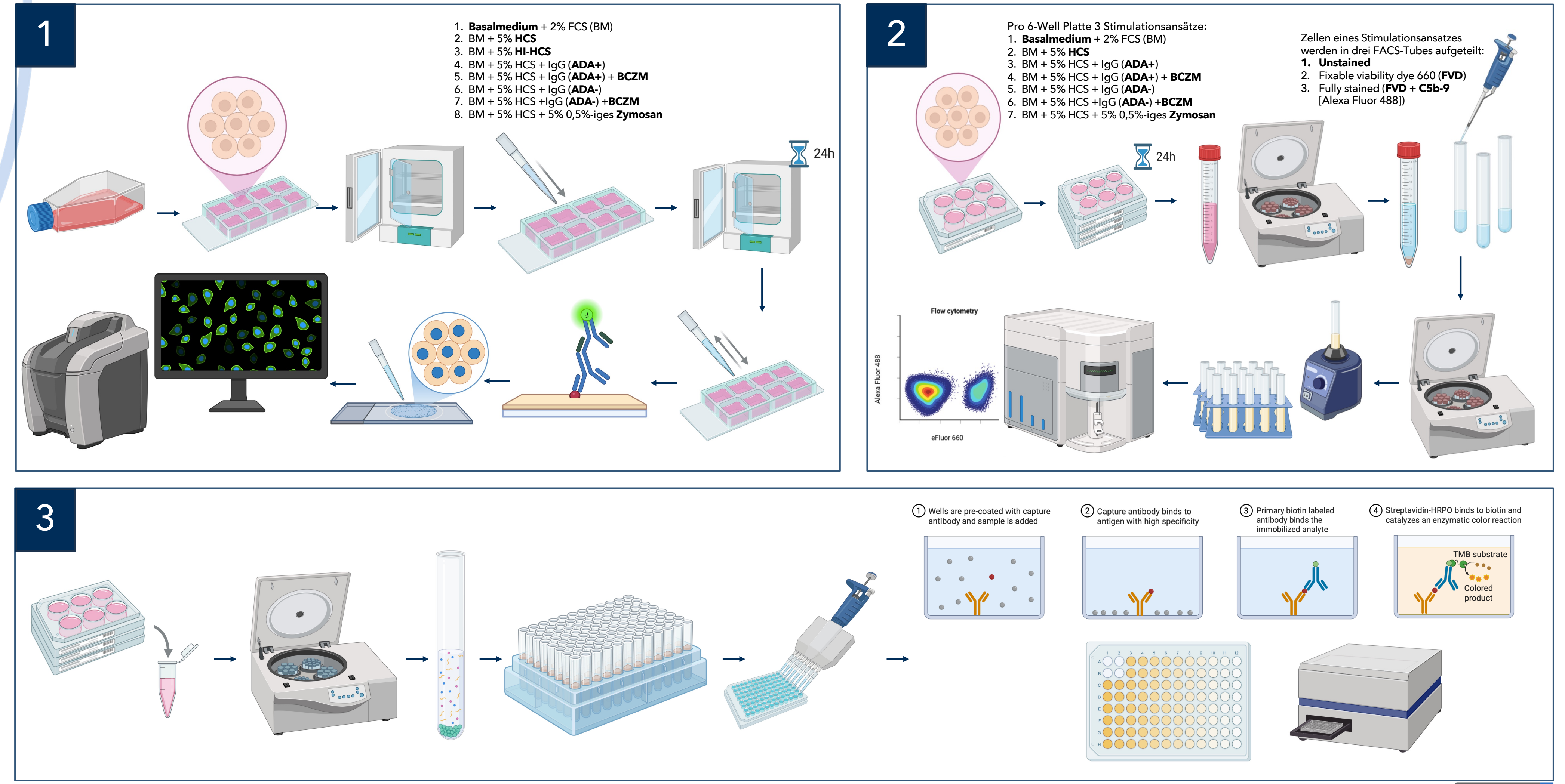
Acknowledgements

Vielen Dank an Dr. Martin Busch, Prof. Andreas Stahl, Svenja Koch und Amy Gahrig für ihre zuverlässige Betreuung und Arbeit in diesem Projekt. Vielen Dank an die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft für die finanzielle Unterstützung durch das DOG-Doktorandenstipendium und den Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE) für die Förderungen.

HYPOTHESE



METHODEN



ERGEBNISSE

