AUS DEM INSTITUT FÜR HUMANGENETIK
Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Weber

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

Untersuchungen zur genetischen Assoziation bei der Progression der geographischen Atrophie, eine Spätform der altersabhängigen Makuladegeneration

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Sebastian Harsch

2020

AUS DEM INSTITUT FÜR HUMANGENETIK
Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Weber

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

Untersuchungen zur genetischen Assoziation bei der Progression der geographischen Atrophie, eine Spätform der altersabhängigen Makuladegeneration

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Sebastian Harsch

2020

Dekan:	Prof. Dr. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Weber
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Andreea Gamulescu
Tag der mündlichen Prüfung:	16.06.2020

Inhalt

1 – Einleitung 5

1.1 – Physiologie der Netzhaut und Klinik der altersabhängigen Makuladegeneration 5

1.2 – Therapie der feuchten AMD 9

1.3 – Die Age-Related Eye Disease Study (AREDS) 9

1.4 – Risikofaktoren für das Entstehen der trockenen AMD 11

1.5 – Pathomechanismen und erste Therapieversuche bei der trockenen AMD 11

1.6 – Über die Heritabilität der AMD 13

1.7 – Ziel der Arbeit 15

2 – Material und Methoden 17

2.1 – Herkunft und Vorbereitung der Bilder 17

2.2 – RS/LS und Kriterien zur Auswahl eines Bildes 17

2.3 – Dokumentation von Cofaktoren und Einflussgrößen 19

2.4 – Ausmessung der geographischen Atrophie 22

2.5 – Umformung der Messergebnisse über den Sehnerv 24

2.6 – Berechnung der individuellen Wachstumsrate 24

2.7 – Qualitätskontrolle mittels AREDS-GA-Kategorie und Cofaktoren 25

2.8 – Einfluss einiger Cofaktoren auf das GA-Wachstum 25

2.9 – Berechnung der Heritabilität mittels GCTA und BOLT-REML 26

2.10 – Berechnung des Einflusses einzelner SNPs auf das GA-Wachstum 26

3 – Ergebnisse 28

3.1 – Über den Datensatz und verwertbare Bilder 28

3.2 – Merkmalsverteilung in allen ausgewerteten Bildern 29

3.3 – Einfluss ausgewählter Cofaktoren auf die Größe der gemessenen GA 30

3.4 – Statistik der Patienten für die Progressionsanalyse 38

3.5 – Einfluss einiger Cofaktoren auf die Progressionsgeschwindigkeit der Erkrankung ... 39

3.6 – Einfluss der Genetik auf das GA-Wachstum ... 42

3.7 – Einfluss inzidenzerhöhender SNPs auf das GA-Wachstum ... 43

4 – Diskussion ... 49

5 – Zusammenfassung ... 57

6 – Anhang ... 59

7 – Abkürzungsverzeichnis ... 68

8 – Literaturverzeichnis ... 69

1 – Einleitung

Die Fähigkeit zu Sehen wird als der wichtigste Sinn des Menschen erachtet. Sehen zu können, ermöglicht nicht nur Orientierung im Raum und das Erkennen von Personen und Objekten, sondern spielt auch in der Kommunikation eine elementare Rolle. Der Verlust des Sehvermögens nimmt vielen Menschen ihre Selbständigkeit und ist oftmals der Grund für soziale Isolation und ein vermindertes Selbstwertgefühl.(Jorkasky, 2014) Da es insbesondere ältere Mitmenschen sind, die unter Einsamkeit und im Zuge anderer Erkrankungen oft auch Desorientierung leiden, sollte der Erhalt des Augenlichts einen hohen Stellenwert in ihrer Therapie einnehmen.

Die Hauptgründe für Erblindung veränderten sich während des letzten Jahrhunderts grundsätzlich. Dominierten bis vor etwa 100 Jahren noch Verletzungen und Infektionen des Auges, waren Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts Katarakt und chronisch-degenerative Erkrankungen des optischen Nervs die häufigsten Auslöser.(Sir Stewart Duke-Elder, 1957) Zurückzuführen ist dies auf die allgemein erhöhte Lebenserwartung und das damit einhergehende vermehrte Auftreten chronischer Erkrankungen im Alter, sowie die Fortschritte in Bezug auf Arbeitssicherheit, Prävention und Hygiene. Umfassende Forschung ermöglichte erste Therapien von typischen Alterserkrankungen. Für die bis heute noch immer unbefriedigend verstandene altersabhängige Makuladegeneration (AMD) gibt es für die meisten Patienten keine Behandlungsoptionen obwohl sie der häufigste Grund für Erblindung im Alter darstellt.(Congdon et al., 2004) Bereits in der Gruppe der 65- bis 74-jährigen beträgt ihre Prävalenz in Deutschland 24,2% für ihre frühe und 0,7% für ihre späte Form – für ältere Kohorten sind weitaus höhere Anteile beschrieben.(Korb et al., 2014) Vor dem Hintergrund der stetig alternden Bevölkerung lässt sich in Zukunft eine Häufung der AMD-Fälle prognostizieren (von global 196 Millionen Patienten mit der Frühform im Jahr 2020 auf 288 Millionen im Jahr 2040(Wong et al., 2014)): Eine Entwicklung, die mit einer stärkeren Belastung des Gesundheitssystems und steigendem Druck auf die Erforschung der Krankheit einhergeht.

1.1 – Physiologie der Netzhaut und Klinik der altersabhängigen Makuladegeneration

Die AMD ist eine heterogene, multifaktorielle Erkrankung der Netzhaut, deren Hauptmerkmal ein zunehmender Visusverlust darstellt. Dieser wird bedingt durch degenerative Prozesse, welche insbesondere die Funktionalität des retinalen Pigmentepithels (RPE) und der Lichtsinneszellen stören. Das RPE spielt eine Schlüsselrolle im Funktionszyklus der

lichtsensitiven Stäbchen und Zapfen, sodass sein Verlust auch einen Ausfall der sensorischen Fähigkeiten der Photorezeptorzellen nach sich zieht. Es hat die Fähigkeit, das beim Sehprozess anfallende All-trans-Retinal aufzunehmen und daraus das erneut aktivierbare 11-cis-Retinal herzustellen. Hierzu phagozytiert es die distalen Anteile der Membranstapel (Stäbchen) und Membraneinfaltungen (Zapfen) der Sinneszellen und führt ihnen im Gegenzug Nährstoffe und das regenerierte Vitamin-A-Derivat zu, welches die Sinneszellen, in Kombination mit dem passenden Opsin, erneut in ihre Membran einbauen können. Zusätzlich reguliert das RPE maßgeblich den Lichteinfall auf die Photorezeptoren, indem es seine melaninreichen Mikrovilli bis in die Schicht der Stäbchen und Zapfen vorschiebt und diese so vor schädigender UV-Strahlung schützt. Auch als Barriere zwischen der stark vaskularisierten Choroidea und dem inneren Blatt der Retina nimmt es eine wichtige Stellung in der Physiologie der Netzhaut ein. Jegliche Unterbrechung dieses feinregulierten Systems führt letztendlich zu einem Absterben der Lichtsinneszellen und einem konsekutiven Sehverlust.

Ophthalmoskopisch lässt sich die AMD in eine Frühform, ein fortgeschrittenes Stadium und zwei Spätformen unterteilen (**Abbildung 1** zeigt ein Beispiel einer gesunden Netzhaut). In der Regel führen lediglich die Spätformen zu Sehstörungen, während die beiden frühen Erscheinungen meist symptomlos bleiben und Zufallsbefunde bei Routineuntersuchungen darstellen. Allerdings besteht bei beidseitiger früher AMD ein Risiko von etwa 12,6%, innerhalb von zehn Jahren an einer Spätform zu erkranken.(R Klein et al., 1997)

Die Frühform ist gekennzeichnet durch wenige kleine Drusen. Hierbei handelt es sich um cholesterin- und lipofuszinreiche Ablagerungen zwischen dem RPE und der Bruch-Membran. Physiologischerweise werden diese Rückstände von der Choroidea resorbiert. In Bereichen geschädigten RPEs akkumulieren die Bestandteile jedoch und werden damit zum wichtigsten Indikator einer beginnenden AMD. Erreichen die Drusen einen Durchmesser zwischen 63 und 124µm und/oder liegen sichtbare Unregelmäßigkeiten des retinalen Pigmentepithels vor, spricht man vom fortgeschrittenen Stadium der AMD. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kann es zu mit Sehstörungen verbundenen Veränderungen der Netzhaut kommen, die das Erreichen eines Spätstadiums der AMD markieren. Unterschieden wird hierbei die „trockene“ von der „feuchten“ AMD.

Die „trockene“ AMD ist durch einen flächigen Untergang des RPE gekennzeichnet.(Jager et al., 2008) Wie auch bei der Früh- und Zwischenform, lässt sich die Diagnose meist opthalmoskopisch stellen. Da das Absterben des Pigmentepithels den Blick auf die darunter gelegene Choroidea (Aderhaut) freigibt, präsentiert sich dem Untersucher bei der Spiegelung des Augenhintergrunds ein typisches Bild: Die Netzhaut weist ein scharf begrenztes Areal auf,

dessen Fläche im Gegensatz zum umliegenden Gewebe eine klare Gefäßzeichnung aufweist. Genannt wird dieser Bereich – häufig synonym für die trockene AMD – „geographische Atrophie“ (GA). Je nach Zeitpunkt der Diagnose kann es sich entweder um ein kleines, asymptomatisches Areal handeln, oder es können bereits mehrere Quadratmillimeter betroffen sein. Dies führt zu einer von der Lokalisation abhängigen Sehstörung. Des Weiteren werden unifokale von multifokalen GAs unterschieden, die anhand der Anzahl der atrophischen Regionen klassifiziert werden (**Abbildung 2**).

Um „feuchte“ AMD handelt es sich, wenn der Patient in die Netzhaut einwachsende Blutgefäße aufweist.(Jager et al., 2008) Diese fördern aufgrund ihrer starken Durchlässigkeit für Flüssigkeiten die Ödembildung im Gewebe und können im schlimmsten Fall Blutungen und daraufhin Vernarbungen der Netzhaut verursachen. Aufgrund des Ursprungs der Blutgefäße wird häufig von „choroidaler Neovaskularisation“, oder kurz CNV gesprochen.

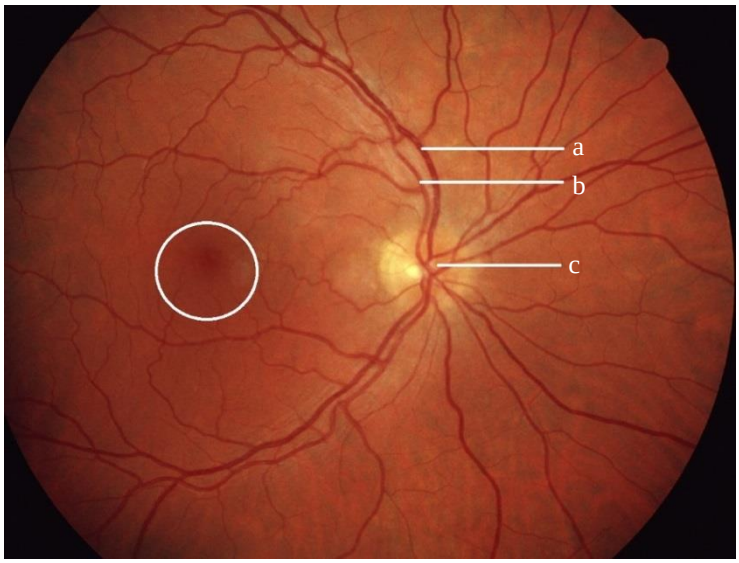

Abbildung 1: Beispiel einer gesunden Netzhaut.
a = Vene b = Arterie c = Sehnervenkopf
Kreis = Makula lutea mit Fovea centralis, die Stelle schärfsten Sehens
Quelle: https://www.augenzentrum-bayern.de/de/leistungen/18/netzhaut-makula-und-glaskoerper

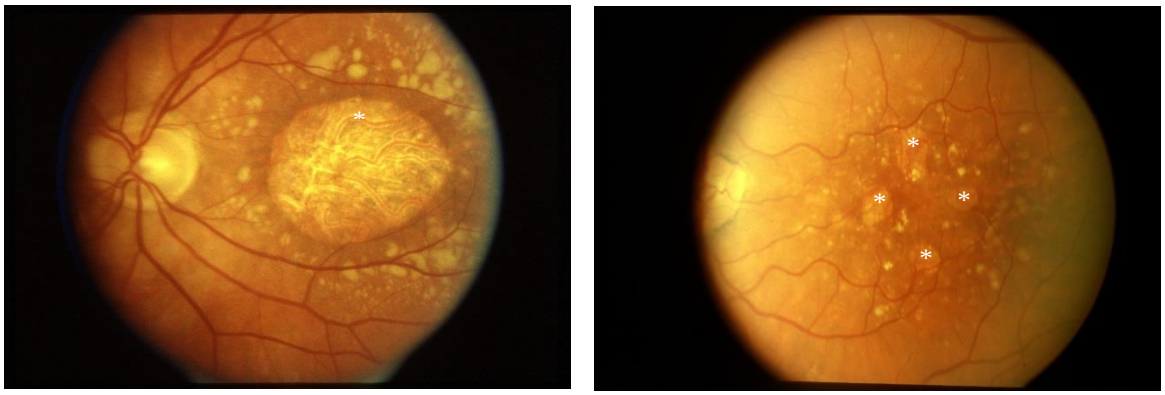

Abbildung 2: Zwei Beispiele einer trockenen AMD. * = geographische Atrophie
Linkes Bild: unifokal, vollständige Ausbreitung über die Makula. Dieser Phänotyp führt zu starken zentralen Sehverlusten. In der Peripherie erkennt man zahlreiche gelbe, fleckige Drusen.
Rechtes Bild: multifokal, vier Atrophieherde, zentrale Aussparung. Patienten mit diesem Phänotyp haben kaum merkliche bis keine Empfindungsstörungen, da die Makula frei von atrophiertem Gewebe ist.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Unter den AMD-Patienten mit Sehbeeinträchtigung leiden mehr als 80% unter CNV, obwohl etwa neun von zehn AMD-Patienten an der trockenen Form erkranken.(Jager et al., 2008) Trockene AMD führt häufig erst nach Monaten bis Jahren zu merklichen Gesichtsfeldausfällen,(Jager et al., 2008) damit einhergehend zu einer Einschränkung der Lese- und Fahrfähigkeiten und einer allgemein verringerten Lebensqualität.(Mitchell et al., 2006) Dies liegt vorrangig am schleichenden Verlauf der Erkrankung und dem regionalen Auftreten der geographischen Atrophie. Der Großteil des menschlichen Gesichtsfelds wird über die Macula lutea wahrgenommen. Gleichzeitig sind die Atrophieherde aber meist parazentral gelegen und infiltrieren erst im späteren Verlauf die Macula, sodass häufig erst bei einer starken Ausbreitung über die Netzhaut merkliche Sehstörungen auftreten. Mitverantwortlich sind hierbei vermutlich die in der Macula lutea in höherer Konzentration vorkommenden Carotinoide Lutein und Zeaxanthin – Antioxidantien, denen ein protektiver Effekt auf die trockene AMD zugeschrieben wird.(Beatty et al., 1999) Zusätzlich fördert das langsame Fortschreiten der Erkrankung Kompensationsmechanismen (beispielsweise im visuellen Kortex, über die Anerkennung des gesunden Auges als dominante Sehquelle), welche die Entwicklung von merklichen Sehstörungen verzögern.

Für Patienten mit trockener AMD besteht ein Risiko von etwa 20% im Laufe der Erkrankung eine feuchte AMD zu entwickeln, die einen deutlich rapideren Krankheitsverlauf aufweist.(Ferris et al., 1984)

1.2 – Therapie der feuchten AMD

Die Therapie der CNV machte in den letzten Jahren mithilfe intravitrealer Anti-VEGF-Injektionen (*Anti-Vascular Endothelial Growth Factor*, ein Gefäßwachstumshemmer) große Fortschritte.(Lim et al., 2012) Maßgeblich war hierbei die Etablierung eines Mausmodells: Es konnte gezeigt werden, dass nach Irritation der Bruch-Membran mittels eines genau dosierten Krypton-Lasers Lücken entstehen, durch welche Gefäße in die Retina einwachsen und einen der CNV sehr ähnlichen Zustand herbeiführen.(Dobi et al., 1989) Forschungen an diesem Modell wiesen eine Überexpression des VEGF nach,(Shen et al., 1998) der sonst insbesondere in verletztem und auch tumorösem Gewebe exprimiert wird und eine Gefäßproliferation sowie eine erhöhte Durchlässigkeit bereits bestehender Blutgefäße bewirkt. Das erste auf diesen Erkenntnissen produzierte Medikament war Pegaptanib,(van Wijngaarden et al., 2005) ein spezifischer VEGF-A_{165}-Antagonist, der die Progressionsgeschwindigkeit einer feuchten AMD im Vergleich zu Placebo deutlich senkt und bei einigen Patienten sogar eine Verbesserung der Sehfähigkeit bewirkt. Im Jahr 2006 konnte ein weiterer Wirkstoff mit dem Namen Ranibizumab entwickelt werden, welcher sich als Antikörperfragment gegen alle VEGF-A-Isomere richtet und im direkten Vergleich ähnliche Ergebnisse erzielt.(Honda et al., 2012) Zumindest in den USA weitaus üblicher ist die *Off-Label*-Therapie mittels Bevacizumab, welches bei gleichen Remissions- und Komplikationsraten eine deutlich günstigere Alternative darstellt (USD 42 anstelle USD 1.593 pro monatlicher intravitrealer Injektion). Mittels regelmäßiger Applikation des Antikörpers konnte die Zahl der Erblindungen in Folge einer feuchten AMD halbiert und die Lebenssituation zahlreicher Patienten verbessert werden.(Lim et al., 2012)

1.3 – Die *Age-Related Eye Disease Study* (AREDS)

Noch lange Zeit vor diesem Erfolg, in den 1980er Jahren, wurde vermutet, dass eine antioxidantienreiche Ernährung das Fortschreiten der trockenen AMD eindämmen kann. Inspiriert durch die inhomogen dokumentierten Therapieerfolge setzte sich das *National Eye Institute* (NEI) in Bethesda zum Ziel, Klarheit in Bezug auf diese Ernährungsintervention zu schaffen. Das Institut entwarf eine Studie mit dem Ziel den natürlichen Krankheitsverlauf der AMD zu beschreiben, Risikofaktoren zu dokumentieren und den Einfluss einer täglichen Einnahme von Vitamin C und E, Beta-Carotin und Zink zu untersuchen. Parallel hierzu wurde bei der augenärztlichen Untersuchung der Linsenstatus bezüglich Katarakt aufgenommen.(Age-Related Eye Disease Study Research Group, 1999)

In den Jahren 1992 bis 2001 akquirierte die hierfür gegründete AREDS-Forschungsgruppe (*Age-Related Eye Disease Study*) 3.640 Probanden zwischen 55 und 80 Jahren mit der

Mindestdiagnose einer frühen Form der AMD in einem Auge und führte halbjährliche *Follow-Up*-Untersuchungen durch. Neben einer allgemeinen Untersuchung der körperlichen Maße und des Blutdrucks sowie einer detaillierten Augenprüfung inklusive Augeninnendruck und Sehschärfe wurden Farbfunduskopie-Aufnahmen erstellt und von 2 unabhängigen Experten befundet, um den exakten Zustand der Netzhaut festzuhalten. Zusätzlich beantworteten die Probanden einen umfangreichen Fragebogen zu ihren demographischen Daten, Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme sowie Ernährungs- und Risikoverhalten wie Rauchen oder Sonnenexposition.(Age-Related Eye Disease Study Research Group, 1999)

Zur Testung unterschiedlicher Nahrungsergänzungsmittel wurden die Patienten in vier Subgruppen randomisiert, die jeweils nur Antioxidantien (Vitamin C und E und Beta-Carotin), nur Zink, eine Kombination aus Antioxidantien und Zink oder ein Placebo erhielten.

Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass jede der drei Interventionsgruppen einen Vorteil gegenüber dem Placebo aufwies. Die Kohorte mit Antioxidantien und Zink erreichte ein um 25% gesenktes Risiko bei Vorliegen des fortgeschrittenen AMD-Stadiums eine Spätform zu entwickeln. In Bezug auf das Fortschreiten der Frühform konnte kein positiver Effekt erkannt werden. Die Empfehlung des NEI lautete dementsprechend, bei Hinweisen auf eine frühe AMD regelmäßige Augenuntersuchungen wahrzunehmen und bei einem fortgeschrittenen Stadium die AREDS-Diät, bestehend aus Vitamin C und E, Beta-Carotin und Zink, einzunehmen.(Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001)

Eine spätere Neubewertung der Ergebnisse zeigte, dass Raucher unter der beschriebenen Diät ein erhöhtes Risiko für Lungenkrebs aufweisen.(Tanvetyanon et al., 2008) Zudem wurde ein tendenziell protektiver Effekt von Omega-3-ungesättigten Fettsäuren auf das Fortschreiten der geographischen Atrophie beschrieben, weshalb eine Folgestudie aufgesetzt wurde. Diese unter dem Namen AREDS-II bekannte Untersuchung lieferte Ergebnisse, die eine Anpassung der AREDS-I-Diät empfahlen. Zwar wurde ein Vorteil bei einer zusätzlichen Einnahme der Omega-3-ungesättigten Fettsäuren nicht bestätigt, die Verwendung von Lutein und Zeaxanthin anstelle von Beta-Carotin zeigte allerdings einen vergleichbar positiven Effekt auf das Fortschreiten der AMD bei gleichzeitig geringerem Lungenkrebsrisiko für Raucher.(Age-Related Eye Disease Study 2 Research Group., 2013) Die aktuell empfohlene Supplementierung ist in bereits vordosierter Kapselform unter dem Handelsnamen *PreserVision* erhältlich.

1.4 – Risikofaktoren für das Entstehen der trockenen AMD

Neben dem NEI bemühten sich nun mehr und mehr Arbeitsgruppen den Pathomechanismus der altersabhängigen Makuladegeneration zu erforschen. Während bis in die frühen 1990er Jahre jährlich weniger als 200 wissenschaftliche Veröffentlichungen über die AMD in der *US National Library of Medicine* verzeichnet sind, verfünffachten sich diese bis 2006. Nichtsdestotrotz bleibt die Anzahl der wissenschaftlichen Auseinandersetzungen mit der AMD, im Vergleich zu ähnlich häufigen Erkrankung des Auges, gering. Beispielhaft sei hier die Katarakt (jährlich über 1.000 Publikationen seit 1989) und das Glaukom (jährlich über 1.000 Publikationen seit 1997) genannt, zu welchen damit einhergehend ein umfangreicheres Wissen und erprobte Therapieformen bestehen.

Eine Vielzahl der Studien setzte es sich zum Ziel, Risikofaktoren für die Entstehung der altersabhängigen Makuladegeneration zu identifizieren. Als ein gesicherter Faktor gilt das Alter der Patienten.(Jager et al., 2008; VanNewkirk et al., 2000) Weisen die Spätformen der Erkrankung etwa eine gemeinsame Prävalenz von 0,2% in der Gruppe der 55- bis 64-Jährigen auf, so erreichen sie bei den über 85-Jährigen bereits Werte von circa 13%.(Smith et al., 2001) Ein weiterer, in nahezu jeder Studie beschriebener Risikofaktor ist das Rauchen, wobei dieser stärker mit feuchter als mit trockener AMD korreliert und das Risiko nach einer Entwöhnung wieder Normalniveau erreichen kann.(Smith et al., 2001) Zusätzlich gibt es starke geographische Unterschiede: Menschen afroamerikanischer Herkunft scheinen ein deutlich geringeres Risiko für die Entwicklung einer AMD zu haben als Kaukasier(Bressler et al., 2008), während das Risiko an der AMD zu erkranken in asiatischen und hispanoamerikanischen Bevölkerungen zwischen diesen beiden Gruppen liegt.(Ronald Klein et al., 2006) Neben diesen stark assoziierten Einflüssen werden teilweise das weibliche Geschlecht, starker Sonnenlichteinfall, geringere Bildung und ein kardiovaskuläres Risikoprofil, insbesondere ein hoher BMI und Blutdruck, als Risikofaktoren genannt. Ihre Effektgrößen sind aber deutlich geringer als bei den zuvor genannten Faktoren und ihr Einfluss lässt sich nicht immer reproduzieren.(Clemons et al., 2005; Jager et al., 2008; Lim et al., 2012)

1.5 – Pathomechanismen und erste Therapieversuche bei der trockenen AMD

Neben Studien deren Ziel es ist, das Auftreten der AMD durch Ergründung von Risikoverhalten zu beeinflussen, konzentrieren sich zahlreiche Forscher auf den Pathomechanismus der Erkrankung. Leider gestaltet sich die Untersuchung der atrophen Spätform der AMD schwieriger als die der neovaskulären, da bisher kein Maus- oder ein anderes Tiermodell etabliert werden konnte, welches alle wesentlichen Aspekte der geographischen Atrophie in

sich vereint. Studien am Menschen sind schwierig, da es sich meist um multimorbide Patienten höheren Alters handelt, die aufgrund des natürlichen Verlaufs der Erkrankung erst in einem fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung Hilfe aufsuchen. Dies ist sowohl dem schleichenden Charakter der Erkrankung, als auch dem schmerzlosen Verlauf geschuldet, sowie der Fähigkeit des kognitiven Systems, kleine Gesichtsfeldausfälle auszugleichen (analog zum physiologischen, durch den optischen Nerv verursachten blinden Fleck). Aus diesem Grund wird die Erkrankung häufig erst diagnostiziert, wenn der Sehverlust starke, nicht mehr zu kompensierende Einschränkungen im Alltag verursacht.

Heute werden unterschiedliche Hypothesen über die Entstehungsursachen der Erkrankung diskutiert. Oxidativer Stress wird als maßgeblich bei der Entstehung der trockenen AMD angesehen.(Chiras et al., 2015) Alternde RPE-Zellen neigen dazu, pro-oxidative Melaninaggregate in ihren Lysosomen anzureichern.(Sarangarajan et al., 2005) Dies verringert ihre Phagozytoserate, fördert die Einlagerung von Lipofuszin und führt letztendlich zum Absterben der Pigmentzellen. Ein Ungleichgewicht zwischen absterbenden RPE-Zellen und Metabolisierung der dabei anfallenden Abfallprodukte (insbesondere Lipofuszin) ist wiederum ursächlich für die Entstehung von Drusen.(Sarangarajan et al., 2005) Proteinbiochemische Untersuchungen von Drusen zeigen eine Anhäufung von Komplementfaktoren, welche eine Überaktivität des Komplementsystems und damit einhergehend eine chronische, leichte Entzündungsreaktion nahe legen.(Mullins et al., 2000) Die örtliche Inflammation fördert das Absterben des RPE. Da das Pigmentepithel die Photorezeptoren mit seinen melaninreichen Fortsätzen vor schädigender UV-Strahlung schützt und auch sonst zahlreiche Funktionen im Stoffwechselgeschehen der Netzhaut übernimmt, hat ihr Absterben einen baldigen Untergang der Stäbchen und Zapfen und somit eine lokale Sehbeeinträchtigung zur Folge.

Trotz jahrzehntelanger Bemühungen zur Aufklärung des Pathomechanismus und der Entwicklung einer Therapieoption für die trockene AMD ist es bisher nicht gelungen, den Verlauf der Erkrankung zu stoppen, geschweige denn atrophierte Netzhautareale zu regenerieren. Zahlreiche klinische Studien spiegeln mit ihren unterschiedlichen Ansätzen das lückenhafte Wissen über die trockene AMD wider und basieren nicht selten auf vagen Vermutungen über Verbindungen zu anderen Erkrankungen und Mechanismen. So wurden bereits die verschiedensten Medikamentenklassen untersucht, hierunter eine immunsuppressive Therapie durch Corticosteroide (Fluocinolone acetonide), eine Verbesserung des choroidalen Blutflusses mittels Prostaglandin E1 (Alprostadil), Sympathomimetika (Brimonidin) und zahlreiche Andere.(Taskintuna et al., 2016) Zudem ist nach wie vor unklar ob intravitreale Injektionen einer Applikation mittels Augentropfen überlegen sind, oder eine systemische

Therapie die größten Erfolge mit sich bringt. Einen vielversprechenden Versuch startete die Firma *Novartis* (ursprünglich *Genentech*) mit der *Mahalo*-Studie (Phase 2), die anhand von Antikörpern gegen Komplementfaktor D (Lampalizumab) eine 20-44%ige Reduktion der Progressionsgeschwindigkeit erreichen konnte.(Yaspan et al., 2017) Doch auch dieser Therapieversuch schaffte es nicht, in Phase 3 zu bestehen.(Holz et al., 2018) Um eine zielgerichtete Therapie zu entwickeln wäre es hilfreich, genauere Einblicke in Teilaspekte der trockenen AMD zu gewinnen.

1.6 – Über die Heritabilität der AMD

Schon früh wurde aufgrund von Zwillingsstudien sowie familiärer und geographischer Häufung vermutet, dass die AMD genetisch beeinflusst wird. Im Zuge der Entwicklung kostengünstiger DNA-Sequenzierungsmethoden um die Jahrtausendwende und den zunehmenden Möglichkeiten der computergesteuerten statistischen Analyse, eröffnete sich eine neue Möglichkeit, Erbkrankheiten zu ergründen. Zwei zufällig gewählte Individuen teilen sich mehr als 99% ihrer genetischen Information. Dennoch lassen die insgesamt rund 3,6 Milliarden Basenpaare des menschlichen Genoms genügend Spielraum für Variationen, meist *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs), die für die Individualität eines jeden Menschen und die Unterschiede im Verhalten, Aussehen und Auftreten von Krankheiten verantwortlich sein können.

Schnell wuchs das Interesse den Zusammenhang zwischen Genetik und einer Merkmalsausprägung zu quantifizieren. Die erste Studie, die nicht mehr auf offensichtlich Verwandte zurückgriff um genetische Anteile an der Ausprägung eines Phänotyps zu ermitteln, sondern das komplett sequenzierte Genom ihrer Probanden berücksichtigte, befasste sich mit Größenunterschieden von Menschen und konnte einen genetischen Anteil von 45% nachweisen.(Yang et al., 2010) Bereits im folgenden Jahr wurde die angewandte Software namens GCTA (*Genome-wide Complex Trait Analysis*) veröffentlicht.(Yang et al., 2011)

Ihr Algorithmus beruht auf der Berechnung von hypothetischen Verwandtschaftsgraden. Zur Erstellung einer Korrelationsmatrix (**Abbildung 4**) werden alle Patienten in der gleichen Reihenfolge auf Ordinate und Abszisse eines Koordinatensystems aufgetragen und ihr Erbgut auf Gemeinsamkeiten überprüft. In der Diagonale ergibt sich somit eine hundertprozentige Übereinstimmung, da jeder Patient sich selbst gegenübersteht. Alle anderen Felder beziffern niedrigere Werte, die sich aus der relativen Übereinstimmung ihres genetischen Materials ergeben. Diese Ziffer, der für zwei Individuen spezifische Korrelationskoeffizient, wird nun in Zusammenhang mit den beiden zu vergleichenden Phänotypen gebracht. Weisen die

Phänotypen zweier Personen mit hohem Korrelationskoeffizient eine hohe Ähnlichkeit auf, wird der genetische Einfluss ebenfalls als hoch eingeschätzt. Ist die Merkmalsausprägung wiederum trotz einer starken genetischen Übereinstimmung unterschiedlich, scheint die Genetik eine untergeordnete Rolle zu spielen. Aus dem Mittelwert jeglicher Kombinationsmöglichkeiten lässt sich die Heritabilität eines bestimmten Charakteristikums ablesen und eventuell Rückschlüsse auf die Gesamtpopulation ziehen.

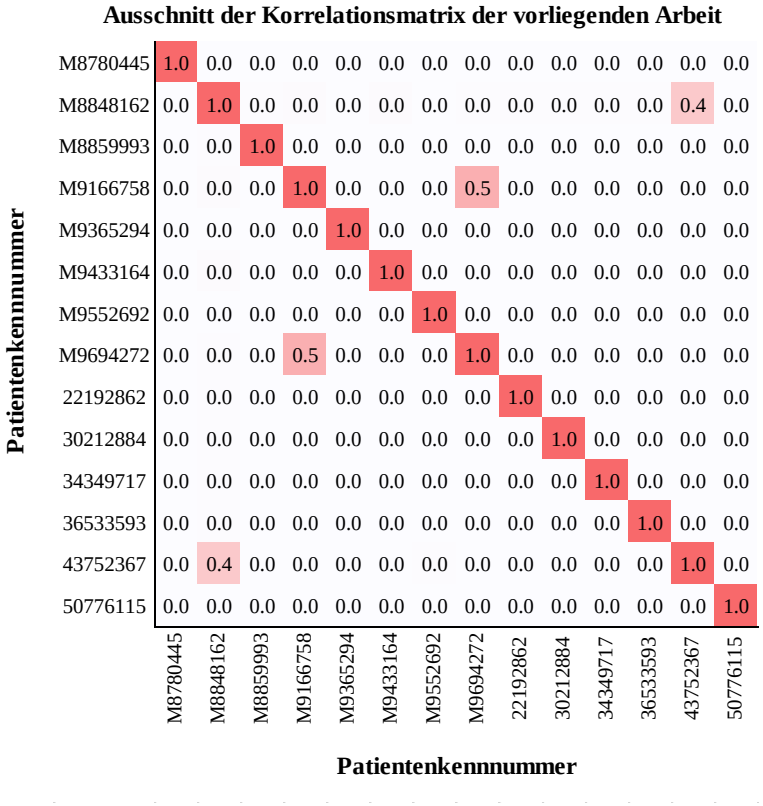

Abbildung 3: Ordinate und Abszisse verzeichnen die Identifikationsnummern der jeweiligen Patienten, während in der Matrix sowohl numerisch als auch farblich der Verwandtschaftsgrad dargestellt ist. Die gesamte Matrix befindet sich im Anhang (**Abbildung 32**)

Quelle: Korrelationsmatrix der vorliegenden Arbeit

Des Weiteren ist es anhand der GCTA-Software möglich, den Einfluss von einzelnen Genvarianten zu untersuchen. Häuft sich ein SNP und korreliert beispielsweise mit der Inzidenz einer Erkrankung, lassen sich die ihm am nächsten liegenden Gene identifizieren und darüber hinaus Vermutungen über den der Erkrankung zugrundeliegenden Pathomechanismus anstellen.

Die Hypothese, dass chronische Inflammation in Folge einer Überaktivierung des Komplementsystems bedeutsam für die Entstehung der trockenen AMD ist,(Mullins et al., 2000) konnte durch die Genetik gestützt werden. (Despriet et al., 2009; Hageman et al., 2005; R. J. Klein et al., 2005; Maller et al., 2007) Insbesondere Mutationen im Komplementfaktor H und im Komplementfaktor 3 konnte ein starker Einfluss auf die Inzidenz der Erkrankung nachgewiesen werden, und auch Varianten der Faktoren CFB, CFI, C1 und C2 werden als einflussreich beschrieben.(Lim et al., 2012) Weitere assoziierte SNPs befinden sich unter

anderem an Genorten, die den Fettstoffwechsel betreffen (ABCA1, GPX4 und APOE), am Aufbau der extrazellulären Matrix beteiligt sind (MMP9, MMP19 und COL4A3), oder möglicherweise mit dem Energiehaushalt der Zelle in Zusammenhang stehen (ARMS2).(Fritsche et al., 2016)

2016 wurde eine Studie mit über 16.000 Patienten (und ähnlich vielen Kontrollen) veröffentlicht, die diesbezüglich die bisher umfangreichste Untersuchung des genetischen Einflusses auf die Inzidenz der AMD darstellt. Insgesamt wurden 52 signifikant assoziierte SNPs identifiziert, anhand welcher etwa 50% der Heritabilität erklärt werden konnte. (Fritsche et al., 2016)

Einige Studien legen jedoch nahe, dass die Faktoren, welche die Inzidenz beeinflussen, nicht zwangsläufig mit der Progression der AMD zusammenhängen. Beispielsweise scheint das Alter lediglich die Wahrscheinlichkeit des Auftretens,(Grassmann et al., 2015) nicht aber den Krankheitsprozess als solchen zu beeinflussen, und auch Rauchen oder ein erhöhter BMI beschleunigen nicht den Verlauf der Erkrankung.(Lindblad et al., 2009) Bei genetischen Faktoren verhält es sich ähnlich: Risikoverändernde genetische Varianten lassen sich nicht einfach auf die Progressionsrate der Erkrankung übertragen. Während beispielsweise das Risikoallel ARMS2_rs10490924 auch einen beschleunigenden Einfluss auf die Progression der Erkrankung hat, zeigen viele der anderen Risikoallele in den Analysen keinen oder sogar einen negativen Effekt (z.B. C3_rs2230199).(Grassmann et al., 2015) Dies impliziert, dass der Krankheitsverlauf von anderen Faktoren beeinflusst wird als denjenigen, die das Auftreten der Erkrankung verursachen. Auf die Progressionsrate der geographischen Atrophie bezogene genetische Studien könnten demnach gänzlich neue Einblicke in den Pathomechanismus der AMD gewähren, und somit auch eine völlig neue Grundlage für die Entwicklung von Therapieansätzen bilden.

1.7 – Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den genetischen Anteil am Wachstum der geographischen Atrophie der AMD zu bestimmen. Darüber hinaus sollen auch Genvarianten und Stoffwechselwege gefunden werden, die mitverantwortlich für die zu verzeichnende interindividuelle Variabilität der Progression sind. Die hierzu erhobenen Progressionsraten und patientenbezogenen Informationen zu möglichen Einflussfaktoren werden anschließend dem Institut für Humangenetik Regensburg zur Verfügung stehen, welches unter Einbezug weiterer Patienten eine genomweite Assoziationsstudie plant. Die vorliegende Arbeit dient demnach sowohl einer ersten Einschätzung des genetischen Anteils an der Progression der AMD, als

auch einer Erprobung der Herangehensweise für den darauffolgenden genomweiten Ansatz.(siehe Grassmann et al., 2019, doi:10.1001/jamaophthalmol.2019.1318)

Für die vorliegende Arbeit wird auf den Datensatz der AREDS-Forschungsgruppe zurückgegriffen und diejenigen AMD-Patienten in die Analyse aufgenommen, für die sowohl *Follow-Up*-Aufnahmen des Augenhintergrunds als auch die vollständigen Informationen der DNA-Sequenzierung vorliegen. Mittels des digitalen Bildbearbeitungsprogramms *ImageJ* wird die Fläche der geographischen Atrophien möglichst exakt ausgemessen und unter Berücksichtigung des Aufnahmezeitpunkts eine individuelle Wachstumsrate errechnet (**Abbildung 5**).

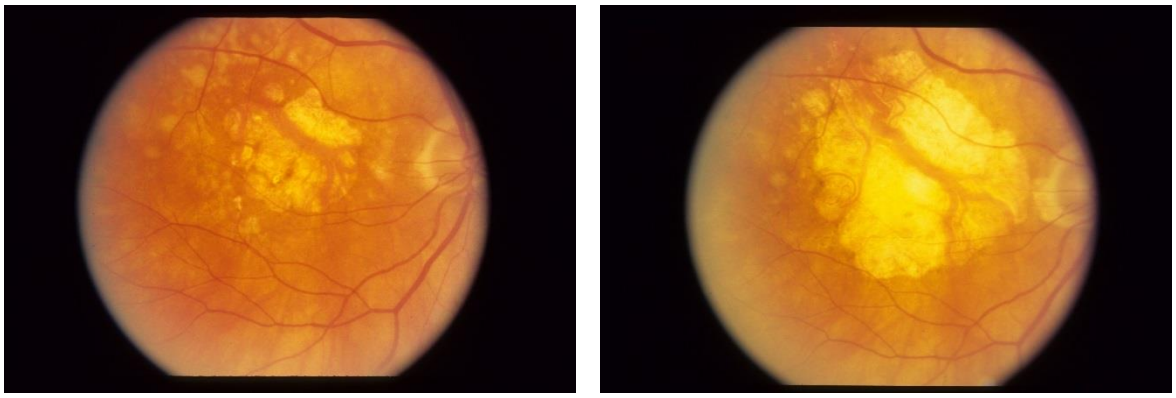

Abbildung 4: Die Abbildungen zeigen die Netzhaut eines Patienten zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten. Die Ausmessung der beiden Flächen und die Berechnung einer individuellen Wachstumsgeschwindigkeit anhand des zeitlichen Abstands zwischen den Messungen ist Grundlage dieser Arbeit.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Mithilfe der GCTA-Software wird anschließend der Zusammenhang zwischen Genetik und Wachstumsgeschwindigkeit untersucht. Da vermutet wird, dass das Erbgut nicht der einzige Faktor ist, der einen Einfluss auf die Progression der Erkrankung hat und mögliche Cofaktoren berücksichtigt werden sollten, werden zusätzlich einige klinische Zeichen dokumentiert und in die Analyse aufgenommen. Hierzu zählen Alter und Geschlecht der Patienten, ob die Erkrankung einen einzelnen oder mehrere Atrophieherde auf der Netzhaut verursacht hat, ob beide Augen betroffen sind oder ob Zeichen einer feuchten AMD vorliegen. Außerdem werden Drusenfläche und GA-Größe beim ersten Besuch notiert und es wird festgehalten, ob die Ausdehnung der geographischen Atrophie bis an den optischen Nerv reicht. Aufnahmebedingte Unterschiede werden in der Bildqualität vermerkt, ebenso die Anzahl Bilder je Patient.

Neben der Berechnung der Gesamtheritabilität werden die 52 von Fritsche *et al.* (2016) identifizierten, AMD-assoziierten SNPs in die Studie einbezogen und ihr Einfluss auf das Wachstum der geographischen Atrophie untersucht. Anschließend werden beteiligte Stoffwechselwege diskutiert und ihre Wirkung mit Ergebnissen aus der Literatur verglichen.

2 – Material und Methoden

2.1 – Herkunft und Vorbereitung der Bilder

Nachdem das AREDS-Team zahlreiche Analysen ihrer Daten in den sogenannten AREDS-Berichten selbst veröffentlicht hatte, stellten sie umfassende Informationen zu Phänotypen, Genotypen und individuellen Charakteristika der Patienten über die *Database of Genotypes and Phenotypes* (dbGaP), einen Dienst des *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), der Öffentlichkeit zur Verfügung.(Tryka et al., 2014) Dem Institut für Humangenetik Regensburg wurde Zugang zu diesen Datensätzen gewährt. Diese umfassen alle erhobenen und anonymisierten Informationen wie Ernährungsgewohnheiten, Lebensqualität, Krankengeschichte der Patienten und die bei der Augenuntersuchung aufgenommenen Bilder des Augenhintergrunds, inklusive einiger vom AREDS-Team dokumentierter ophthalmologischer Daten. Die zugehörigen DNA-Informationen sind gegen eine Gebühr über das *Coriell Institute for Medical Research* erhältlich.

Von den etwa 134.500 verfügbaren farbfunduskopischen Bildern wurden diejenigen ausgewählt, welche laut AREDS-Gruppe eine geographische Atrophie im Zuge einer altersabhängigen Makuladegeneration aufweisen. Anschließend wurden alle Bilder von Patienten ausgeschlossen, zu denen keine genetischen Informationen vorliegen. Nach Ausschluss dieser ungeeigneten Bilder verblieben 3.498 für die Studie.

Da die Aufnahmen der Netzhaut aus elf verschiedenen US-amerikanischen Kliniken stammen und über mehrere Jahre hinweg erstellt wurden, unterscheiden sie sich teilweise deutlich in ihrer Auflösung. Um später eine Umrechnung der gemessenen Pixel in Millimeter zu ermöglichen, war es jedoch nötig, ein einheitliches Format auszumessen. Die meisten Aufnahmen maßen 3.400 x 2.300 Pixel, weshalb die restlichen Bilder mittels *IrfanView4.44* in die entsprechende Auflösung umgewandelt wurden. Um verfälschende Stauchungseffekte zu vermeiden wurden im selben Schritt die Randabmessungen der Bilder angepasst, so dass das Seitenverhältnis aller Bilder übereinstimmte, aber dennoch der größtmögliche Netzhautabschnitt abgebildet wurde.

Die anschließende Randomisierung der einzelnen Aufnahmen gewährleistete ein unvoreingenommenes Ausmessen der Bilder.

2.2 – RS/LS und Kriterien zur Auswahl eines Bildes

Im Zuge der augenärztlichen Untersuchung der Patienten wurden zu jedem Zeitpunkt vier Fundusfotografien erstellt, je zwei von jedem Auge. Zwei Bilder des gleichen Auges wurden

mit „RS“ und „LS“ gekennzeichnet (für *right side* und *left side*) und unterscheiden sich leicht im abgebildeten Abschnitt der Netzhaut. Vor Beginn der Bildanalyse war es daher nötig, das jeweils bessere Bild der Netzhaut auszuwählen, wobei verschiedene Kriterien zur Anwendung kamen.

Belichtung: Manche Bilder weisen aufnahmebedingte Lichtreflexe oder Verschattungen auf.

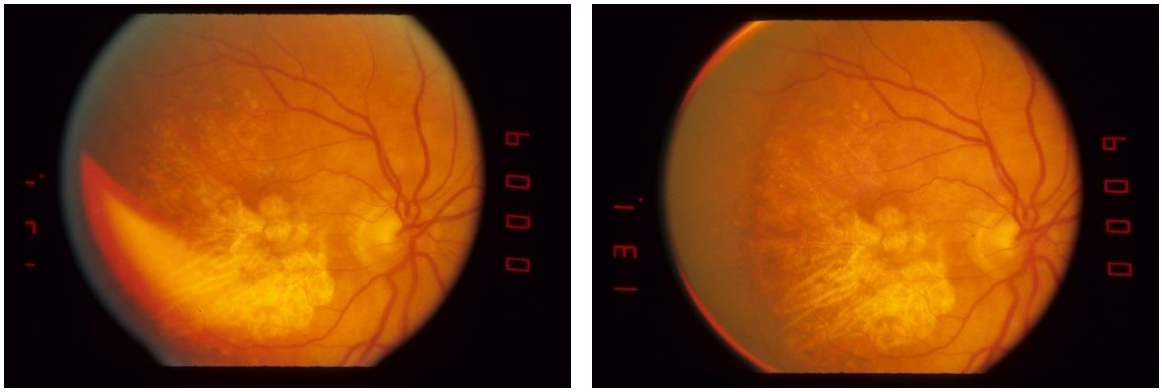

Abbildung 5: RS- und LS-Aufnahme eines rechten Auges. Etwas unterhalb des Zentrums der Aufnahme ist eine große GA sichtbar. Im linken Bild sind die Ränder von einem Lichtreflex überlagert, was ein exaktes Ausmessen unmöglich macht.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Verunreinigung: Bei einigen Fotografien war die Linse durch Wasser und Schmutz verunreinigt.

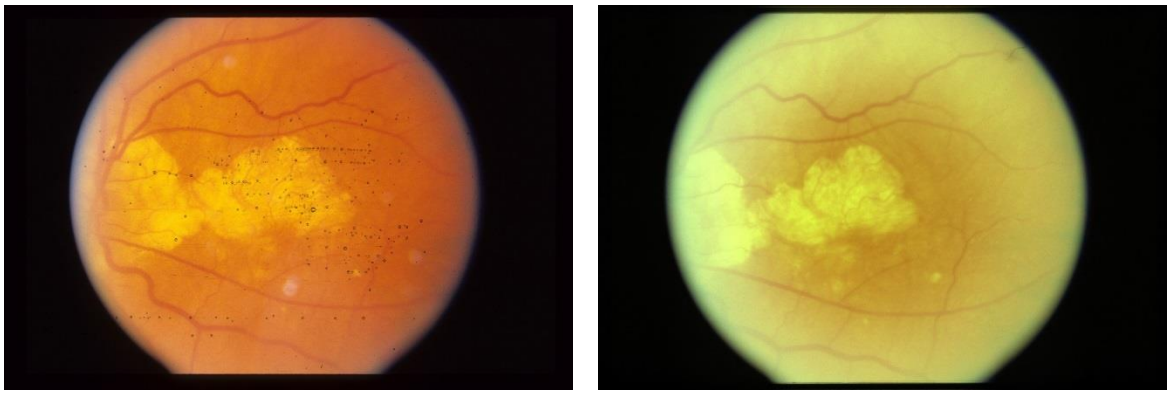

Abbildung 6: Zwei unterschiedliche Bilder derselben Netzhaut. Das linke wird von kleinen Schmutzpartikeln überlagert.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Schärfe: Teilweise bestanden große Schärfeunterschiede zwischen den jeweiligen Aufnahmen.

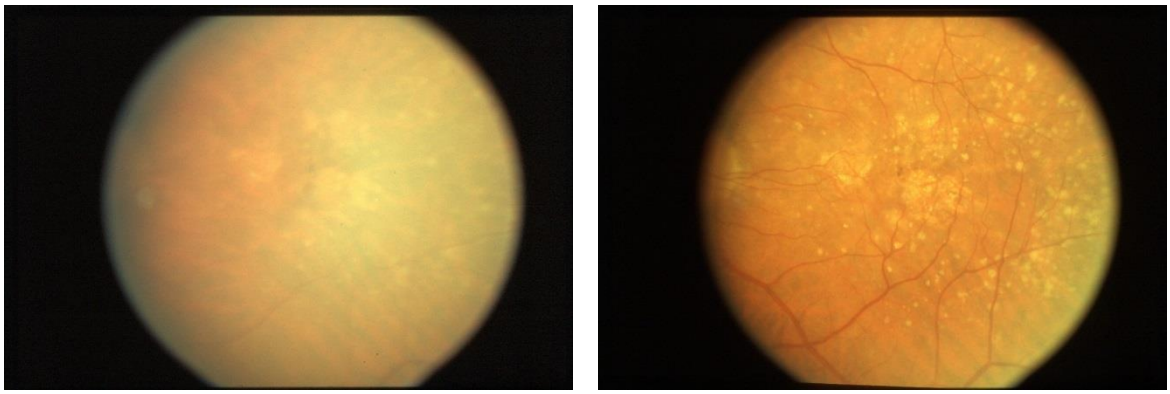

Abbildung 7: Zwei Aufnahmen eines linken Auges. Im rechten Bild ist zentral eine kleine GA sichtbar, wohingegen links keine eindeutige Ausmessung der GA möglich war.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Vollständigkeit: Manchmal wurde der Ausschnitt der Netzhaut vom Untersucher so gewählt, dass entweder der optische Nerv oder Teile der geographischen Atrophie (meist aufgrund ihrer Größe) über die Grenzen der Aufnahme hinausgehen, und somit eine exakte und vollständige Ausmessung der GA unmöglich wurde.

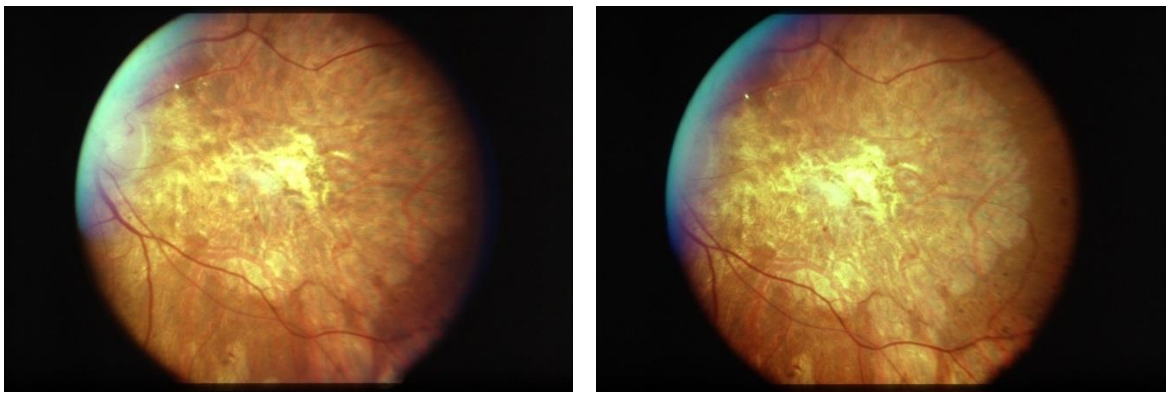

Abbildung 8: LS-/RS-Aufnahme eines linken Auges. In beiden ist die sehr große GA erkennbar. Der rechte Ausschnitt ist allerdings passender gewählt, da hier die Grenzen der AMD klar zu umranden sind.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

2.3 – Dokumentation von Cofaktoren und Einflussgrößen

Vor der Ausmessung der geographischen Atrophie und des optischen Nervs wurden einige zusätzliche Informationen notiert, die aus den Farbfunduskopieaufnahmen ersichtlich waren. Von Interesse waren hierbei die folgenden Kategorien:

Bildqualität: Es wurde vermerkt, ob die Bilder von sehr guter (1), mittlerer (2) oder schlechter Qualität (3) waren. Bilder, bei denen es nicht möglich war, Messungen vorzunehmen, wurden als unzureichend (4) eingestuft und von der Studie ausgeschlossen. Diese Einschätzung beruhte

auf subjektiven Eindrücken des Untersuchers, denen die zur Bildauswahl verwendeten Kriterien zugrunde lagen.

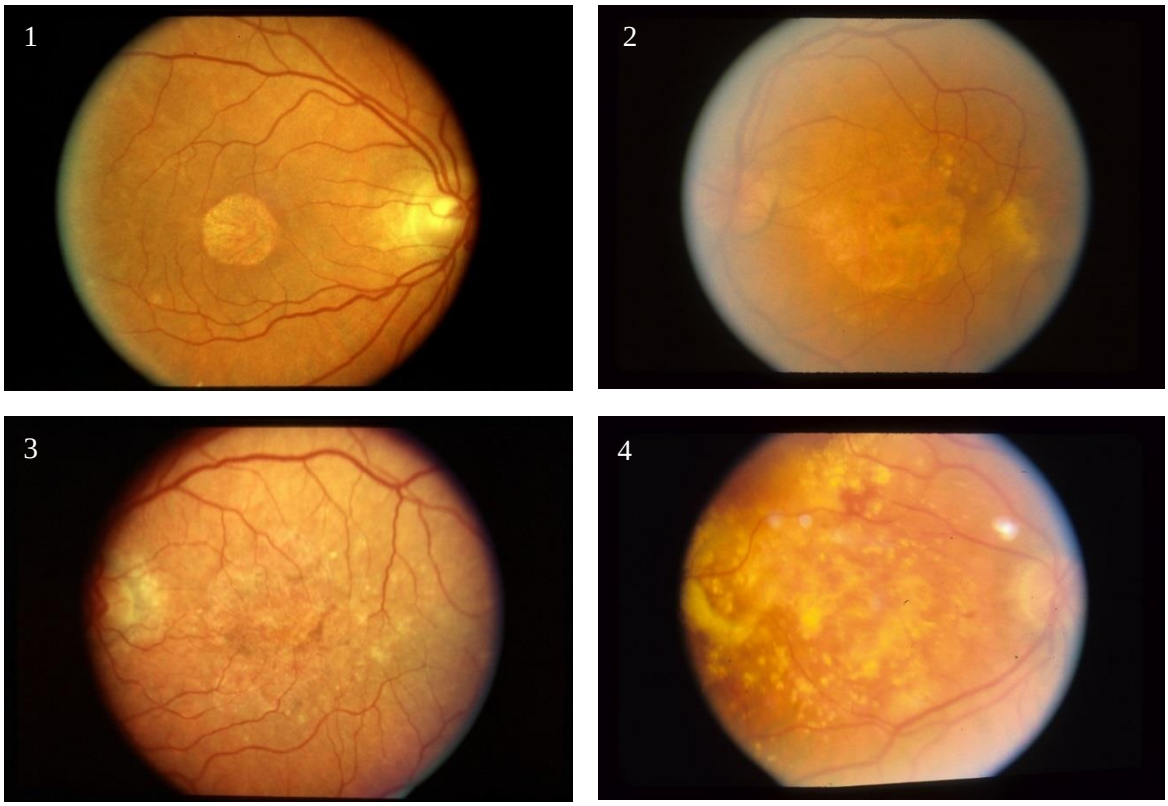

Abbildung 9: Beispiele unterschiedlicher Bildqualität. 1 = sehr gut, 2 = mittel, 3 = schlecht, 4 = nicht ausreichend.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Auge: Anhand der Lage des optischen Nervs konnte das Auge des Patienten ermittelt werden. Lag er im Bild links der Makula, handelte es sich um ein linkes Auge, lag er wiederum rechts, wurde die Aufnahme einem rechten Auge zugeordnet.

Fokalität und Fleckzahl: Um ein potenziell unterschiedliches Wachstumsverhalten von uni- und multifokalen GAs zu erkennen, wurden sowohl die Fokalität, als auch die Anzahl der unzusammenhängenden Atrophieherde (1-8, ≥ 9) notiert. Zwei eindeutig ineinander übergehende Herde wurden als ein Fleck bewertet.

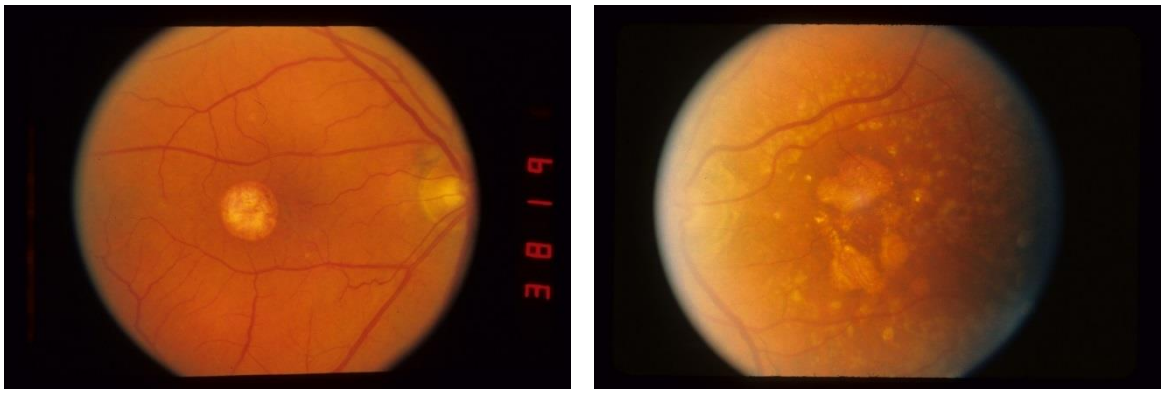

Abbildung 10: Vorstellung einer Uni- (links) und Multifokalen (rechts) GA. Auf dem rechten Bild sind, neben zahlreichen Drusen, drei unabhängige GA-Herde zu erkennen. Ihre Anordnung zeigt die typische Aussparung der zentral gelegenen Fovea.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Zeichen einer feuchten AMD: Sollte das Auge Blutungen oder Vernarbungen aufweisen, wurde dies notiert und als choroidale Neovaskularisation gewertet.

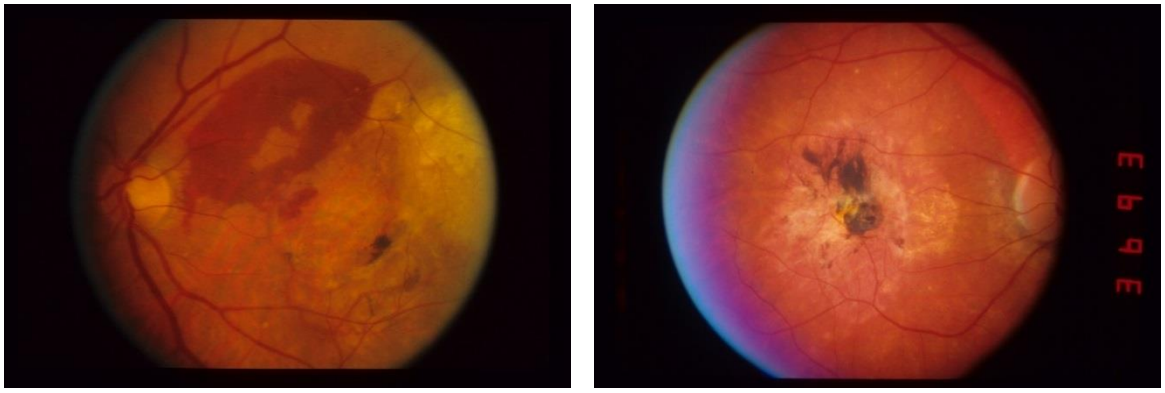

Abbildung 11: Links die Darstellung einer frischen Blutung, rechts eine Narbe infolge eines ehemaligen Blutungsgeschehens. Beides sind Kriterien für die Diagnose einer feuchten AMD, die sich zusätzlich zur trockenen Form ausbilden kann.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Nervinfiltration: Die Ränder der geographischen Atrophie reichen je nach Lage und Größe an den Sehnerv. Da sich die GA hier aufgrund eines Mangels an RPE nicht weiter ausbreiten kann, bildete dies einen zu vermerkenden Störfaktor. Teilweise war der Sehnerv außerhalb des abgebildeten Bereichs, weshalb hier keine Aussage getroffen werden konnte.

Abbildung 12: Beispiel einer großen, bis an den Sehnerv reichenden geographischen Atrophie.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Zusätzlich zu den oben genannten, aus den Farbfunduskopieaufnahmen ersichtlichen Einflussfaktoren, wurden das Alter und Geschlecht des Patienten, die Größe der von Drusen besiedelten Fläche und der AMD-Status des zweiten Auges dokumentiert. Weitere Cofaktoren stellten die GA-Größe beim ersten Besuch und die Bildanzahl dar. Außerdem wurde die vom AREDS-Team erhobene GA-Kategorie notiert, welche die Größe der GA in verschiedene Kategorien unterteilte.

2.4 – Ausmessung der geographischen Atrophie

Um eine möglichst exakte Messung vornehmen zu können wurde ein farblich kalibrierter, hochauflösender Bildschirm verwendet: Der *HP Elite Display E222* mit 21,5 Zoll Bildschirmdiagonale und Full-HD-Auflösung. Mithilfe des *Datacolor Spyder 4 Elite* wurde zudem ein möglichst natürliches Farbspektrum dargestellt. Zusätzlich wurde die Umgebungsbeleuchtung so gering wie möglich gehalten.

Die Vermessung der geographischen Atrophie erfolgte mittels *ImageJ*-Bildbearbeitung.(Schindelin et al., 2012) Hierbei wurde das Atrophieareal unter starker Vergrößerung dargestellt.

Im ersten Schritt wurde die GA möglichst exakt von Hand umrandet. Zur Anwendung kam dabei das *Paintbrush Tool*, mit einer voreingestellten Strichbreite von fünf Pixeln und weißer

Farbe, um den größtmöglichen Kontrast zur Netzhaut zu erzielen. Anschließend wurde die geschlossen nachgezeichnete Fläche weiß ausgefüllt. Mittels *Measure*-Funktion errechnete das Programm die Anzahl der markierten Pixel.

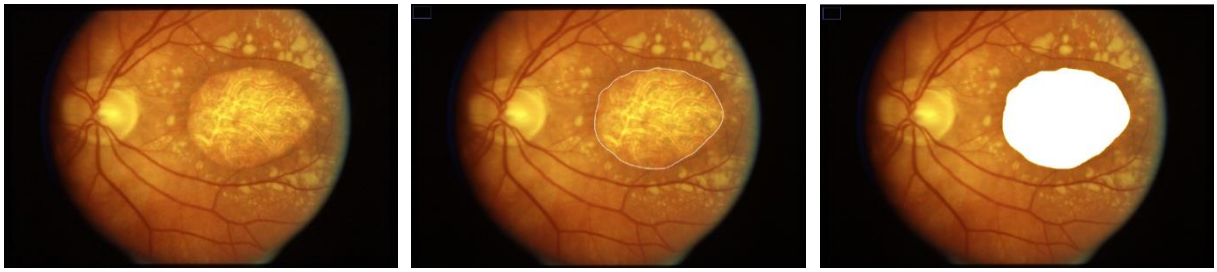

Abbildung 13: Vorgang der Ausmessung einer unifokalen GA.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

Bei multifokalen GAs wurde jeder einzelne Herd umrandet und ausgefüllt. Um alle Foki in die Messung miteinzubeziehen wurde der *Color Threshold* angepasst, wobei sich die besten Ergebnisse unter Verwendung des RGB-Farbschemas und vollständiger Sättigung des blauen Kanals erzielen ließen. Nach automatisierter Auswahl der hervorgehobenen Flecken ließ sich nun wie bei unifokalen GAs die Fläche berechnen.

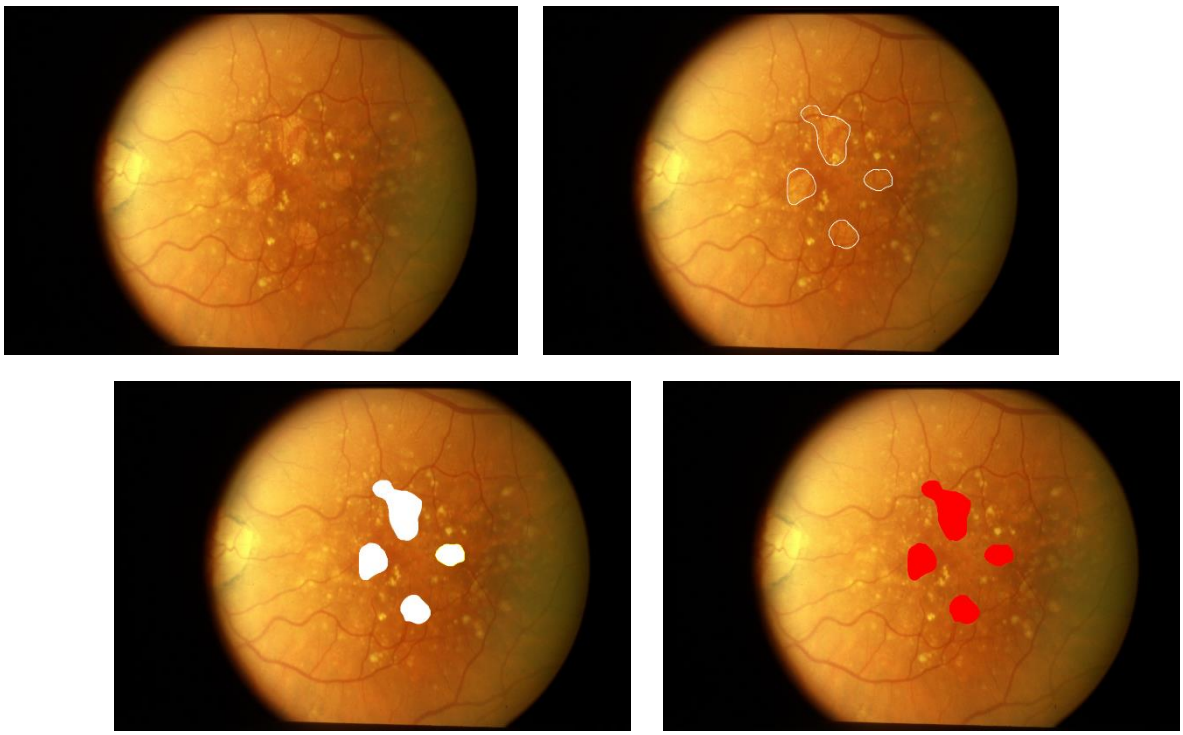

Abbildung 14: Vorgang der Ausmessung einer multifokalen GA.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

2.5 – Umformung der Messergebnisse über den Sehnerv

Die Wachstumsgeschwindigkeit einer geographischen Atrophie steht in Zusammenhang mit ihrer initialen Fläche.(Feuer et al., 2013) Um große und kleine GAs vergleichen zu können, muss dieser Einfluss ausgeschlossen werden. Dies wurde erzielt, indem aus allen gemessenen GA-Größen die Wurzel gezogen wurde, wonach die GA-Größe und das daraus errechnete GA-Wachstum in einem eindimensionalen Raum vorlagen.

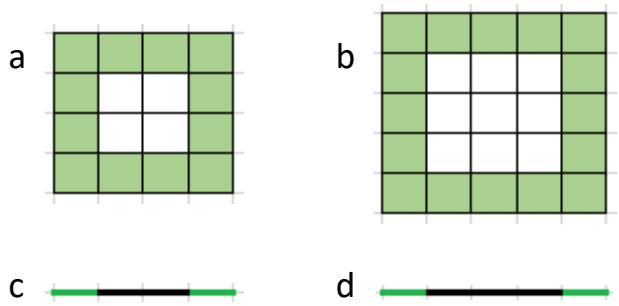

Abbildung 15: Wenn Objekt a in jede Richtung um eine Einheit wächst, gewinnt seine Fläche insgesamt zwölf Kästchen hinzu, Objekt b wiederum 16 (dargestellt durch die grüne Fläche). Betrachtet man lediglich die Ausbreitung in einer Dimension (Objekte c und d), so vergrößern sich beide Körper um zwei Einheiten, ungeachtet der ursprünglichen Größe.

Quelle: selbst erstellt

Um später eine Umrechnung der in Pixeln gemessenen GA-Größe in Millimeter zu ermöglichen, wurde in jedem Bild der vertikale Durchmesser des optischen Nervs ausgemessen. Der tatsächliche durchschnittliche Durchmesser variiert leicht zwischen Männern und Frauen, wie auch zwischen den unterschiedlichen Ethnizitäten.(Quigley et al., 1990) Als Mittelwert wurde eine senkrechte Länge von 1,92mm angenommen.(Tasman et al., 2006) Bei einem durchschnittlich gemessenen vertikalen Durchmesser von 426,2Pixeln (Standardabweichung SD = 18,6) ergibt sich ein Umrechnungsfaktor von 0,004506mm/Pixel.

Abbildung 16: Messung des Abstands von der oberen bis zur unteren Begrenzung des optischen Nervs.

Quelle: AREDS-Datensatz, über dbGaP erhältlich

2.6 – Berechnung der individuellen Wachstumsrate

Zu jedem ausgemessenen Bild liegt unter Anderem das Datum des Aufnahmetages vor. Aus dem Abstand zwischen zwei Untersuchungszeitpunkten und der Differenz der gemessenen GA-Größen lässt sich eine für dieses Intervall spezifische Progressionsrate in Millimetern pro Jahr errechnen. Wurde, aufgrund von Messungenauigkeiten, ein negatives Wachstum zwischen zwei Aufnahmen errechnet, so wurde dies als Null verzeichnet. Der Mittelwert aller Intervalle eines Patienten spiegelt, sofern man ein lineares Wachstumsverhalten annimmt, die Wachstumsgeschwindigkeit über den gesamten Untersuchungszeitraum wider.

Handelte es sich um einen Patienten mit bilateraler GA, wurde die gemeinsame mittlere Wachstumsrate über beide Augen errechnet. Lag für das zweite Auge lediglich ein Bild und somit keine Wachstumsrate vor, so wurde angenommen, dass die Wachstumsgeschwindigkeit für das zweite Auge der des ersten entspricht.

2.7 – Qualitätskontrolle mittels AREDS-GA-Kategorie und Cofaktoren

Um korrekte und möglichst genau Ergebnisse zu gewährleisten, wurde nach der Ausmessung aller geographischen Atrophien eine Qualitätskontrolle durchgeführt. Hierbei wurde überprüft, ob die erhobenen Daten mit der Einschätzung des AREDS-Teams übereinstimmen. Die Mitarbeiter des NEI hatten in den 1990er-Jahren zwar nicht exakt gemessen, allerdings teilten sie die Größe der geographischen Atrophien mithilfe eines kreisförmigen Gitternetzes, dessen Durchmesser an die jeweilige Größe des optischen Nervs angepasst wurde, annäherungsweise ein. Sie definierten neun Kategorien von null bis acht, mit 0 = keine GA, 1 = fragliche GA, 2-7 = zunehmende Größe der GA und 8 = nicht bewertbar.

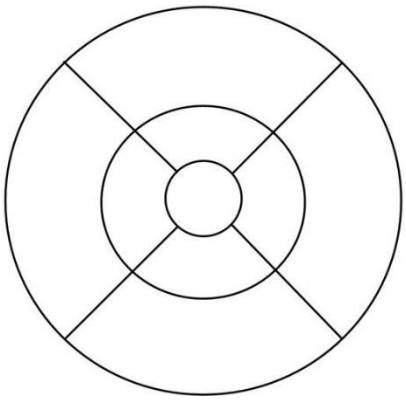

Abbildung 17: Das AREDS-Gitter, ein Mittel zur Einschätzung der Ausbreitung der trockenen AMD.

Quelle: http://iovs.arvojournals.org/data/Journals/IOVS/932944/m_z7g00908913700002.jpeg

Jegliche Aufnahmen im Datensatz für die vorliegende Arbeit liegen im Bereich der Kategorien zwei bis sieben: Es wurden Grafiken erstellt, um das Verhältnis zwischen AREDS-GA-Kategorie und gemessener GA-Größe darzustellen. Farblich wurden verschiedene Einflussfaktoren hinterlegt. Zur Anwendung kam hierbei das Statistikprogramm *R*, dessen Abbildungen anschließend mittels *CorelDraw X8* bearbeitet wurden.

2.8 – Einfluss einiger Cofaktoren auf das GA-Wachstum

Nach der Untersuchung der Verteilung der Cofaktoren über die Messdaten, wurde ihr Einfluss auf das Wachstum der geographischen Atrophie berechnet. Hierzu diente erneut das Statistikprogramm *R*, welches einzelne Cofaktoren gegen das GA-Wachstum auftrug, und mittels linearer Regression aus der Steigung der Regressionsgerade den Einfluss dieser Steuergrößen errechnete (Befehl *fit = lm*). Untersucht wurde hierbei der Einfluss der Cofaktoren Alter, Geschlecht, Fokalität, Fleckzahl, Drusenfläche, GA im zweiten Auge, Zeichen einer feuchten AMD, GA-Größe beim ersten Besuch, GA infiltriert Nerv,

Nervendurchmesser, Bildanzahl und -qualität auf das Wachstum der GA von 349 Patienten, für die sowohl Wachstumsraten, Cofaktoren als auch genetische Daten vorlagen.

2.9 – Berechnung der Heritabilität mittels GCTA und BOLT-REML

Die in dieser Arbeit verwendeten Programme GCTA und BOLT-REML unterscheiden sich in ihrer Vorgehensweise. Die GCTA-Software berechnet wie im vorangegangenen Kapitel beschrieben für jedes Patientenpaar, ob ein genetischer Anteil wahrscheinlich ist und führt all diese Informationen zu einem Ergebnis zusammen. BOLT-REML wiederum erstellt erst zahlreiche sich gegenseitig überlappende Untergruppen aus der Gesamtstichprobe, errechnet für jede Gruppe ein individuelles Ergebnis und auf Basis dieser erst die Gesamtheritabilität.
Da für jeden für diese Arbeit untersuchten Patienten zu jedem der mindestens zwei Messzeitpunkte unabhängige Daten zu den Cofaktoren vorliegen und die Programme zur Heritabilität lediglich einen Wert pro Cofaktor in ihre Schätzung mit einbeziehen können, musste für beinahe alle Einflussgrößen ein Mittelwert aus den pro Patient dokumentierten Werten errechnet werden. Lagen bei mindestens einem der Bilder Zeichen einer feuchten AMD oder Nervinfiltration vor, wurde für diese Faktoren die maximale Ausprägung in die Analyse aufgenommen.

2.10 – Berechnung des Einflusses einzelner SNPs auf das GA-Wachstum

Zusätzlich zur Berechnung des Gesamteinflusses der Genetik wurden die Genregionen untersucht, die mit der Inzidenz der geographischen Atrophie in Verbindung gebracht wurden.(Fritsche et al., 2016)
Um dies zu ermöglichen, wurde erneut das Statistikprogramm *R* benutzt. Kongruent zur Untersuchung des Einflusses der Cofaktoren wurde der Genotyp gegen die Wachstumsgeschwindigkeit aufgetragen und der Einfluss anhand der Steigung der Regressionsgeraden bestimmt. Der Genotyp wurde dabei als lineare Variable kodiert und repräsentiert in der Regel die Anzahl der risikoerhöhenden Allele (0,1 oder 2).

Tabelle 1: Die 52 inzidenzerhöhenden SNPs aus Fritsche *et al. 2016*

CFH - rs10922109	C2/CFB/SKIV2L - rs114254831	LIPC - rs2043085
CFH - rs570618	C2/CFB/SKIV2L - rs181705462	LIPC - rs2070895
CFH - rs121913059	VEGFA - rs943080	CETP - rs5817082
CFH - rs148553336	KMT2E/SRPK2 - rs1142	CETP - rs17231506
CFH - rs187328863	PILRB/PILRA - rs7803454	CTRB2/CTRB1 - rs72802342
CFH - rs61818925	TNFRSF10A - rs79037040	TMEM97/VTN - rs11080055
CFH - rs35292876	MIR6130/RORB - rs10781182	NPLOC4/TSPAN10 - rs6565597
CFH - rs191281603	TRPM3 - rs71507014	C3 - rs2230199
COL4A3 - rs11884770	TGFBR1 - rs1626340	C4 - rs147859257
ADAMTS9-AS2 - rs62247658	ABCA1 - rs2740488	C5 - rs12019136
COL8A1 - rs140647181	ARHGAP21 - rs12357257	CNN2 - rs67538026
COL8A2 - rs55975637	ARMS2/HTRA1 - rs3750846	APOE - rs429358
CFI - rs10033900	RDH5/CD63 - rs3138141	APOE - rs73036519
CFI - rs141853578	ACAD10 - rs61941274	MMP9 - rs142450006
C9 - rs62358361	B3GALTL - rs9564692	C20orf85 - rs201459901
PRLR/SPEF2 - rs114092250	RAD51B - rs61985136	SYN3/TIMP3 - rs5754227
C2/CFB/SKIV2L - rs116503776	RAD51B - rs2842339	SLC16A8 - rs8135665
C2/CFB/SKIV2L - rs144629244		

Tabelle 1: Siehe auch (Fritsche et al., 2016)

Mithilfe der *Single Nucleotide Polymorphism Database* des UCSC *Genome Browser Gateways* (Feb. 2009 (GRCh37/hg19)), wurden schließlich Vermutungen über die betroffenen Stoffwechselwege angestellt.

Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgelegt und nicht für multiples Testen adjustiert. Dieser in der Regel bei Mehrfachtestungen zur Verringerung der Häufigkeit des Alpha-Fehlers angewandte Schritt wurde (aufgrund der nötigen immensen Rechenkraft) der anschließenden genomweiten Assoziationsstudie vorbehalten. Zwar mindert diese Vorgehensweise die Aussagekraft der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, es können jedoch weiterhin relative Aussagen über die Relevanz einzelner Genvarianten getroffen werden, deren Zuverlässigkeit in der Folgestudie überprüft werden soll.

Ebenso verhält es sich mit der Teststärke, welche nicht berechnet wurde.

3 – Ergebnisse

3.1 – Über den Datensatz und verwertbare Bilder

Für die Ausmessung geographischer Atrophien in Farbfunduskopieaufnahmen aus dem AREDS-Datensatz standen insgesamt 3.498 Bilder zur Verfügung. Da die Aufnahmen zu zwei verschiedenen Zeitpunkten veröffentlicht wurden (72.000 im November 2010 und insgesamt 134.500 seit Februar 2014), beinhaltete die Sammlung 57 Duplikate. Von den verbleibenden 3.441 Bildern wiesen 744 eine für die Messung unzulängliche Bildqualität auf. GA-Größen liegen demzufolge für 2.697 Bilder vor, die insgesamt 494 Patienten zugeordnet werden konnten (durchschnittlich 5,46 Bilder pro Patient, die Bildzahl pro Patient reicht von eins bis 23). Auf diesen 2.697 Bildern basieren die Tabelle und Grafiken in den Kapiteln 3.2 und 3.3, welche sich auf die Auftretenshäufigkeit bestimmter Merkmale in der Gesamtheit der Bilder beziehen.

Es wurden für die Progressionsanalysen (Kapitel 3.4 bis 3.7) diejenigen Patienten ausgeschlossen, für die lediglich ein gutes Bild zur Verfügung stand und somit keine Wachstumsrate berechnet werden konnte. Außerdem wurden all jene Patienten entfernt, für die negative Wachstumsraten errechnet wurden. Letztendlich lagen 349 Patienten für die Patientenstatistik vor.

Für einige Patienten standen deutlich mehr Bilder zur Verfügung als für andere. Zusätzlich verhindern beispielsweise die Kriterien für die Diagnosestellung einer feuchten AMD direkte Rückschlüsse von der Statistik der Bilder auf die Statistik der Patienten, da jeder Patient mit mindestens einem Bild, welches CNV-Zeichen aufweist, auch als CNV-Patient gewertet wurde (15,2% aller Bilder gegenüber 35% aller Patienten wiesen Zeichen einer CNV auf). Aus diesem Grund werden die Informationen getrennt dargestellt.

3.2 – Merkmalsverteilung in allen ausgewerteten Bildern

Tabelle 2: Übersicht der erhobenen Bilddaten

AREDS-GA-Kategorie	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**gesamt**
Bildanzahl pro Kategorie	37	142	246	381	461	1430	2.697
Gute Qualität (%)	4 (10,8)	32 (22,5)	66 (26,8)	130 (34,1)	126 (27,3)	307 (21,5)	665 (24,7)
Mittlere Qualität (%)	26 (70,3)	93 (65,5)	151 (61,4)	203 (53,3)	276 (59,9)	759 (53,1)	1.508 (55,9)
Schlechte Qualität (%)	7 (18,9)	17 (11,9)	29 (11,8)	48 (12,6)	59 (12,8)	364 (25,5)	524 (19,4)
Anzahl linkes/rechtes Auge	21/16	54/88	115/131	177/204	226/235	723/707	1.316/1.381
Mittlere GA-Größe [mm^2] (SD)	1,8 (4,6)	1,1 (2,3)	2,6 (3,8)	3,7 (4,7)	6,4 (4,9)	18,6 (10,7)	11,8 (11,1)
Uni-/multifokale GAs	31/6	96/46	174/72	242/139	297/164	1.125/305	1.965/732
Anteil unifokal [%]	83,8	67,6	70,7	63,5	64,4	78,7	72,9
GAs mit CNV-Zeichen	2	5	14	27	44	319	411
Anteil CNV [%]	5,4	3,5	5,7	7,1	9,5	22,3	15,2
GAs mit Nervinfiltration	0	0	0	5	5	185	195
Anteil Nervinfiltration [%]	0	0	0	1,3	1,1	12,9	7,2

Tabelle 2: SD = Standardabweichung

Die meisten gemessenen GAs befanden sich in Kategorie sieben. Atrophien dieser Gruppe waren häufiger unifokal (78,7%) als Atrophien der Kategorien zwei bis sechs (durchschnittlich 66,3%), was vermutlich auf das Verschmelzen mehrerer Flecken zu einer großen Atrophiefläche zurückzuführen ist.

Aus **Tabelle 2** lässt sich außerdem ableiten, dass flächenmäßig größere GAs häufiger Anzeichen einer feuchten AMD aufweisen. In Kategorie sieben betrug der Anteil der Bilder mit Anzeichen einer feuchten AMD 22,3%, während er in den restlichen Kategorien durchschnittlich bei 7,3% lag. Ob die feuchte Komponente einen Einfluss auf die Wachstumsgeschwindigkeit hat oder die große GA das Gefäßwachstum fördert ist aus den Daten nicht abzuleiten.

Linke und rechte Augen liegen im Datensatz gleich oft vor.

In der Sammlung kam es erst ab einer AREDS-GA-Kategorie fünf zu Nervinfiltrationen. Dies legt nahe, dass sich geographische Atrophien primär nicht in der Nähe des optischen Nervs ausbilden, sondern erst ab einer gewissen Größe an ihn heranreichen.

3.3 – Einfluss ausgewählter Cofaktoren auf die Größe der gemessenen GA

Um einen groben Messfehler auszuschließen und erste Einflüsse zu untersuchen, wurde die gemessene √GA-Größe in Zusammenhang mit der AREDS-GA-Kategorie grafisch dargestellt. Farblich hinterlegt wurden hierbei Nebenbefunde und Cofaktoren.

Die entsprechenden Abbildungen werden im Folgenden erläutert.

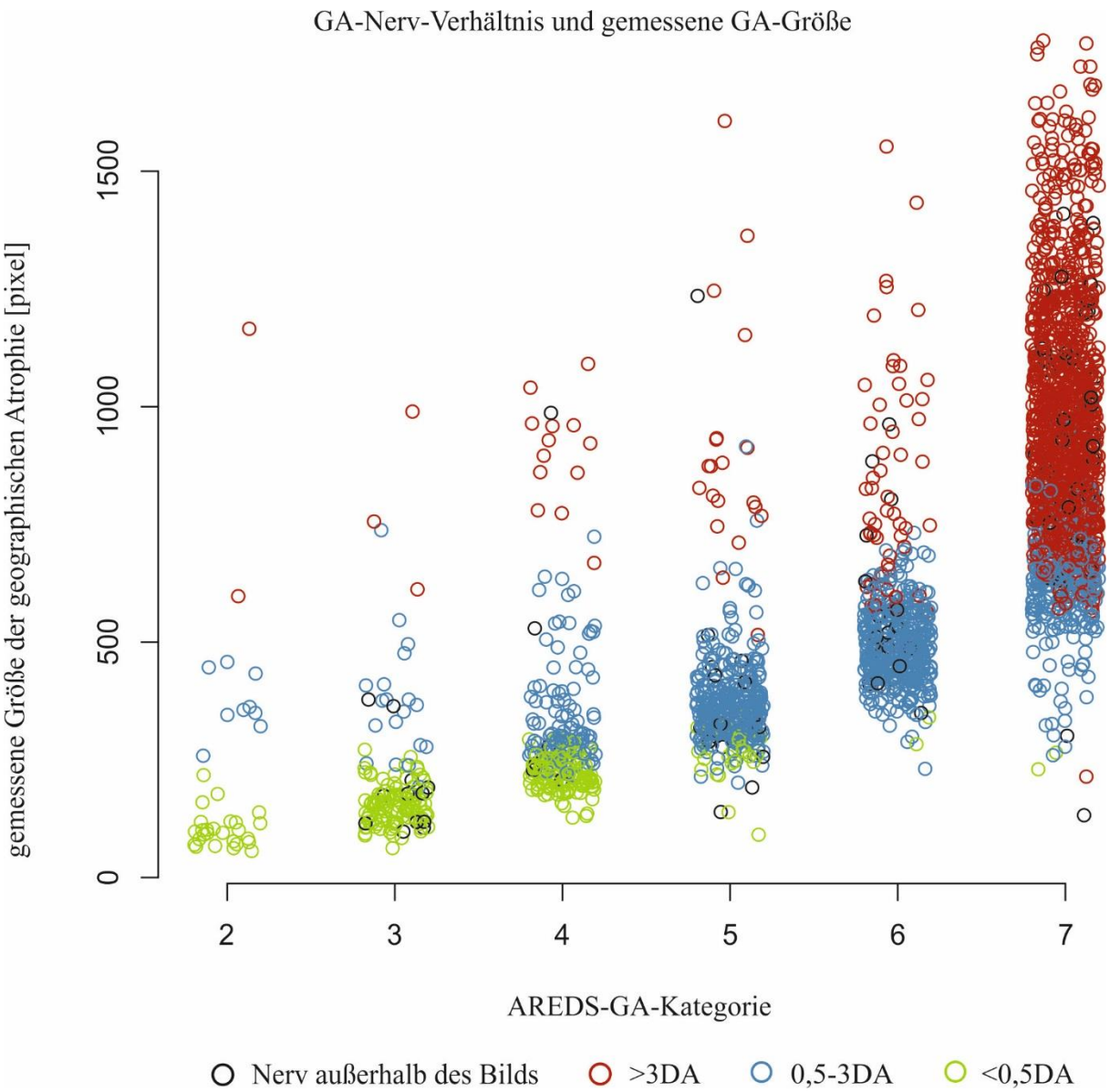

Abbildung 18: Farblich hinterlegt ist das Verhältnis zwischen geschätzter GA-Größe und der Fläche des optischen Nervs. DA = Disc Area; N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

Abbildung 19 zur Patientenstatistik erleichtert das Verständnis der weiteren Analysen und zeigt sowohl Grenzen als auch Möglichkeiten der AREDS-GA-Kategorisierung auf. Das bei der Ausmessung zusätzlich geschätzte GA-Nerv-Verhältnis entspricht in Annäherung der AREDS-GA-Kategorie, was durch die Schichtung der Farben verdeutlicht wird (Die

GA-Fläche wurde hierbei als ein Vielfaches der Fläche des optischen Nervs geschätzt, während für die Klassifizierung in eine AREDS-GA-Kategorie das im Methodenteil unter 2.7 beschriebene, an die Größe des optischen Nervs angepasste Gitter verwendet wurde). Die fokal hohe Dichte der Punktwolken zeigt, dass die AREDS-GA-Kategorie einen guten Indikator für die tatsächlich gemessene GA-Größe darstellt. Ausreißer implizieren Messfehler, die sowohl bei der Einteilung in die AREDS-GA-Kategorie als auch bei der exakten Messung vorkommen können. Etwa 5% aller Messungen liegen außerhalb der Bereiche hoher Dichte, was zum Teil auf die nachfolgend erläuterten Ursachen zurückzuführen ist.

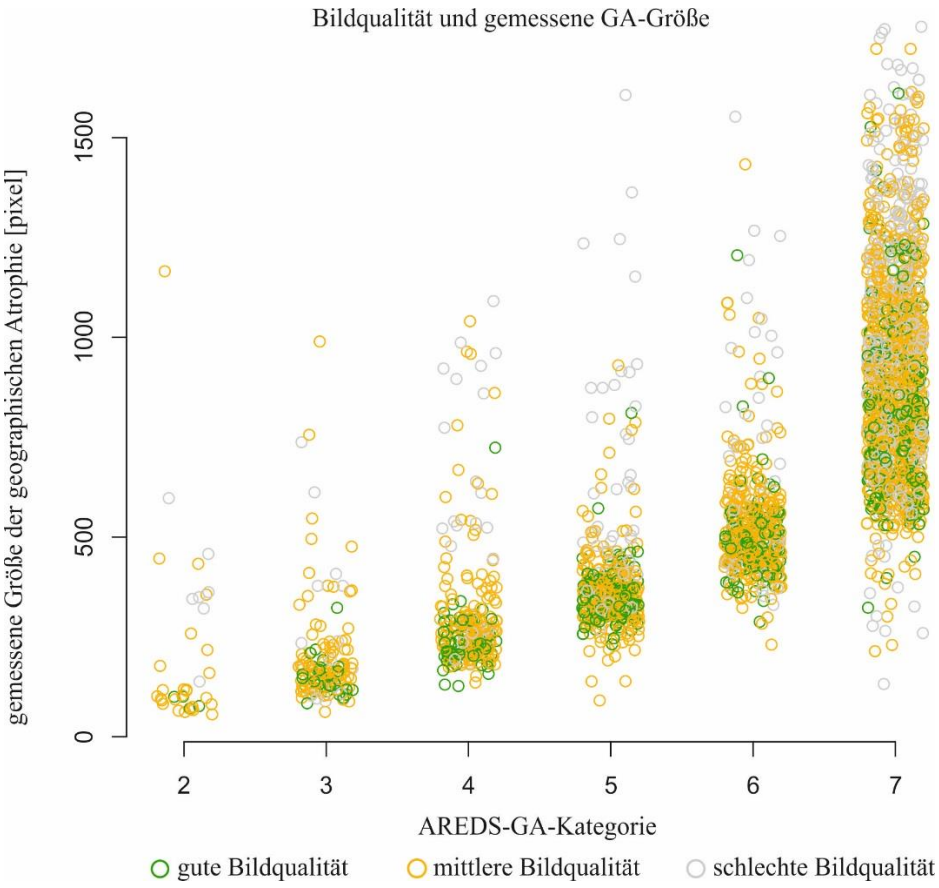

Abbildung 19: Streudiagramm mit Fokus auf die Bildqualität. N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

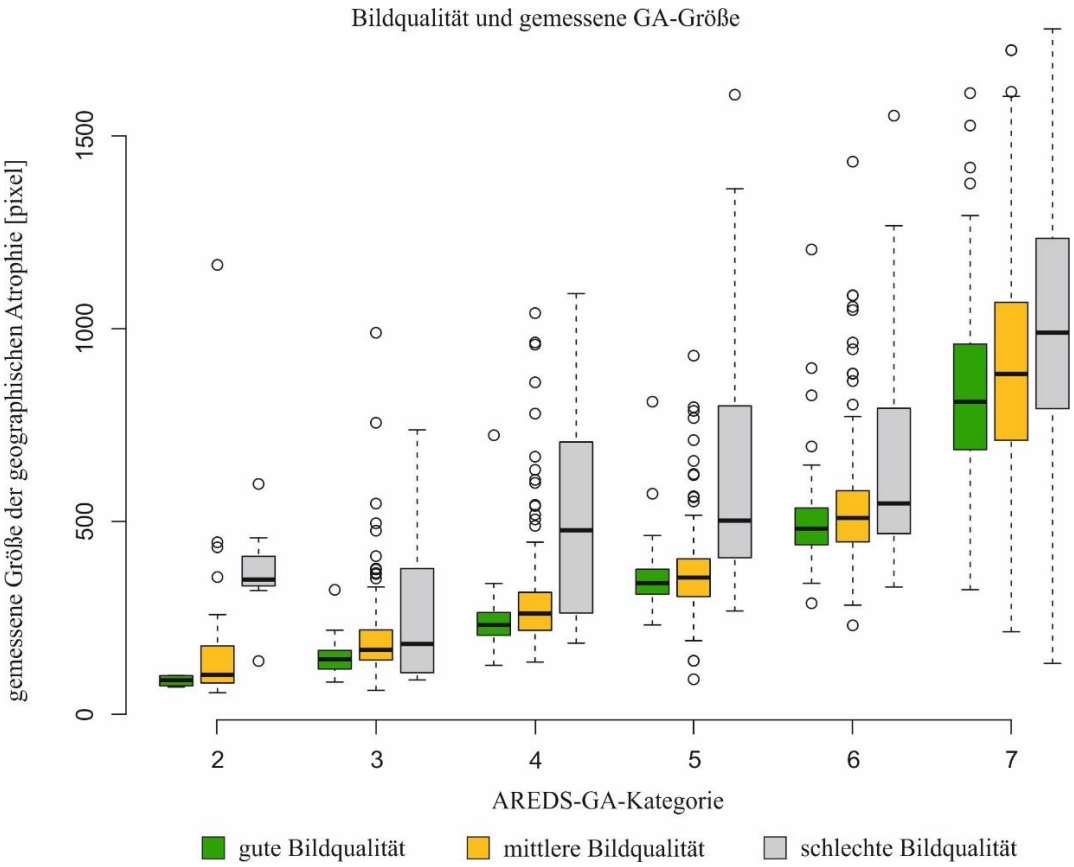

Abbildung 20: Darstellung der Verteilung der Messwerte für die GA-Größe in Abhängigkeit von der Bildqualität. N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

Während des Ausmessens der Fläche der geographischen Atrophien fiel auf, dass sich die Bildqualität der Fundusaufnahmen verschiedener Personen sehr stark unterscheidet. Teilweise war es bei den Bildern mit schlechter Qualität nicht möglich, den exakten Übergang zwischen gesundem und erkranktem RPE zu erkennen. Hier half es, zuerst die Bereiche zu zeichnen, welche klar zu erkennen waren und anschließend die schlechter sichtbaren Areale zu umrahmen. Diese Vorgehensweise, welche teilweise auf Vermutungen bezüglich des tatsächlichen Verlaufs der Demarkationslinie beruht, ist fehleranfällig und lies bereits bei der Messung vermuten, dass hier ein Störfaktor vorliegen könnte. Tatsächlich sind viele, der aus der Reihe fallenden Punkte, von mittlerer (gelb) bis schlechter (grau) Qualität (**Abbildung 20**) und auch bei der Betrachtung des Boxplots (**Abbildung 21**) zeigt sich die größere Streubreite der Bilder minderer Qualität, insbesondere im Bereich kleiner AREDS-GA-Kategorien.

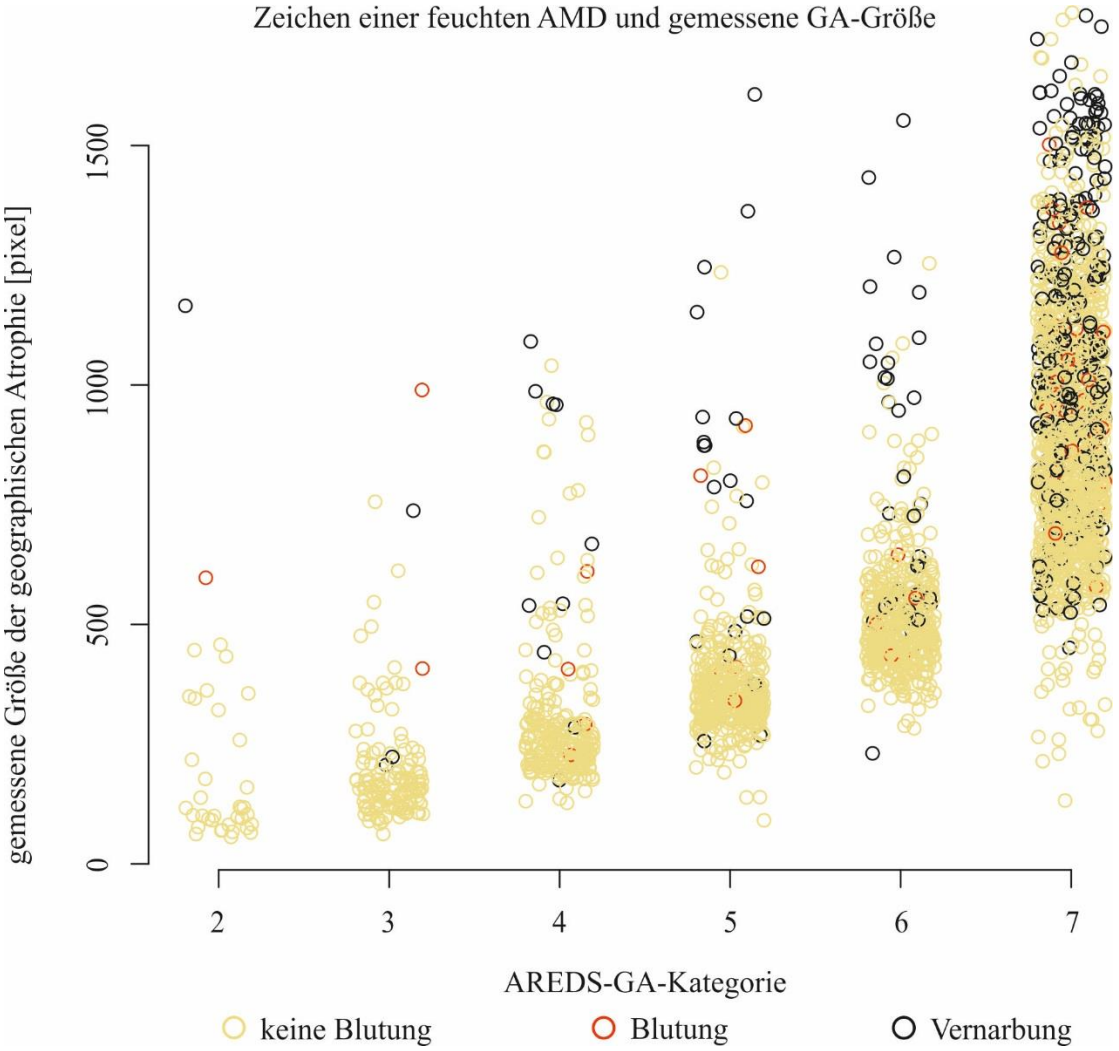

Abbildung 21: Streudiagramm mit Hervorhebung von Zeichen einer feuchten AMD. N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

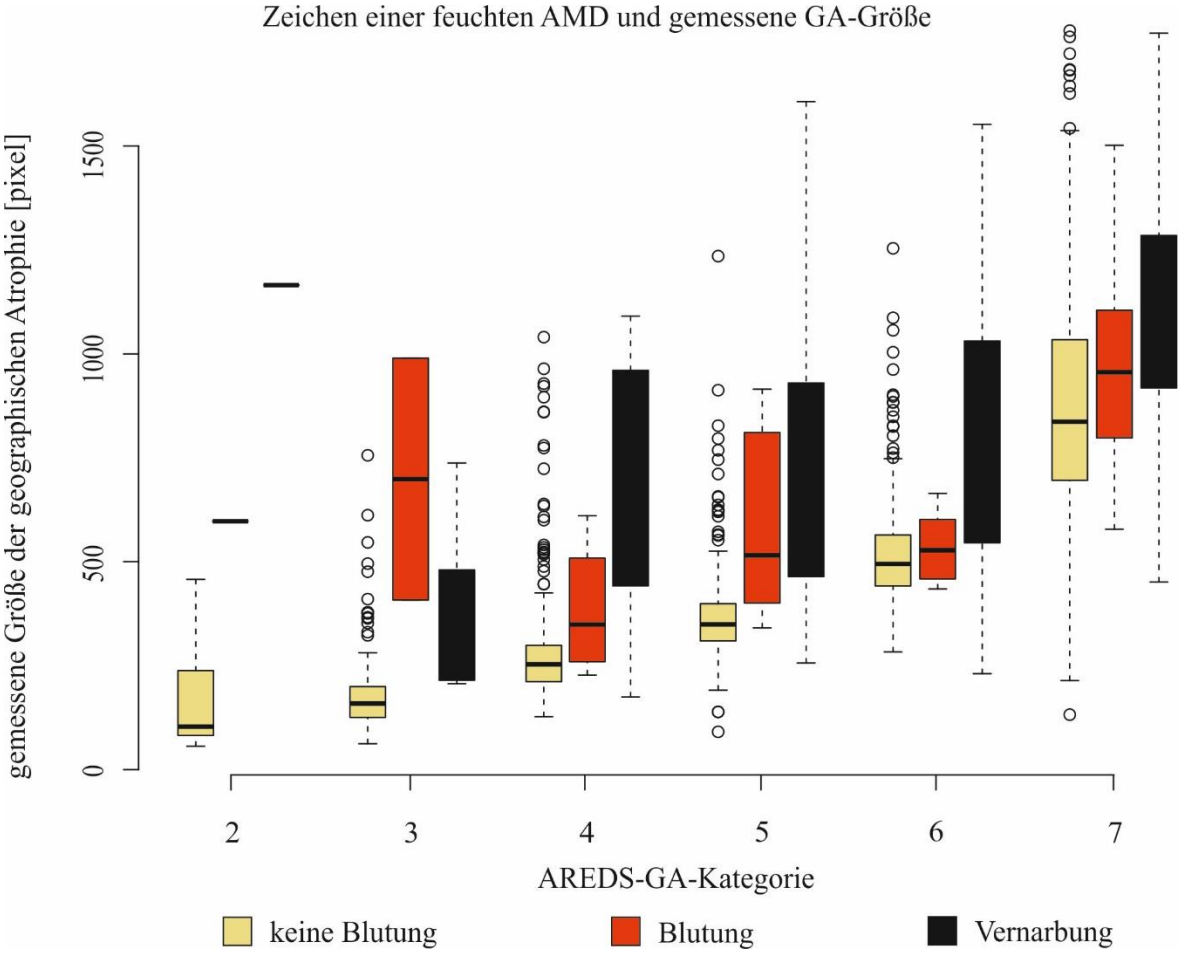

Abbildung 22: Boxplot, farblich sind Zeichen einer feuchten AMD hinterlegt. N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

Insgesamt 15,2% aller Bilder in diesem Datensatz wiesen Zeichen einer CNV auf (**Tabelle 2**). Blutungen und narbige Umbauten können die Sicht auf das RPE blockieren und bildeten somit einen weiteren Störfaktor bei der exakten Messung. Dies spiegelt sich auch im diesbezüglichen Streudiagramm wider, welches eine Häufung der Bilder von Patienten mit CNV unter den Ausreißern verzeichnet (**Abbildung 22**). Auch der zugehörige Boxplot (**Abbildung 23**) lässt eine deutlich größere Streubreite unter den Patienten mit feuchter AMD erkennen. Dies könnte jedoch teilweise auch durch die geringe Anzahl CNV-Bilder im Vergleich zu Bildern mit reiner GA erklärt werden, da sich das Phänomen in AREDS-GA-Kategorie 7 nicht wiederholt.

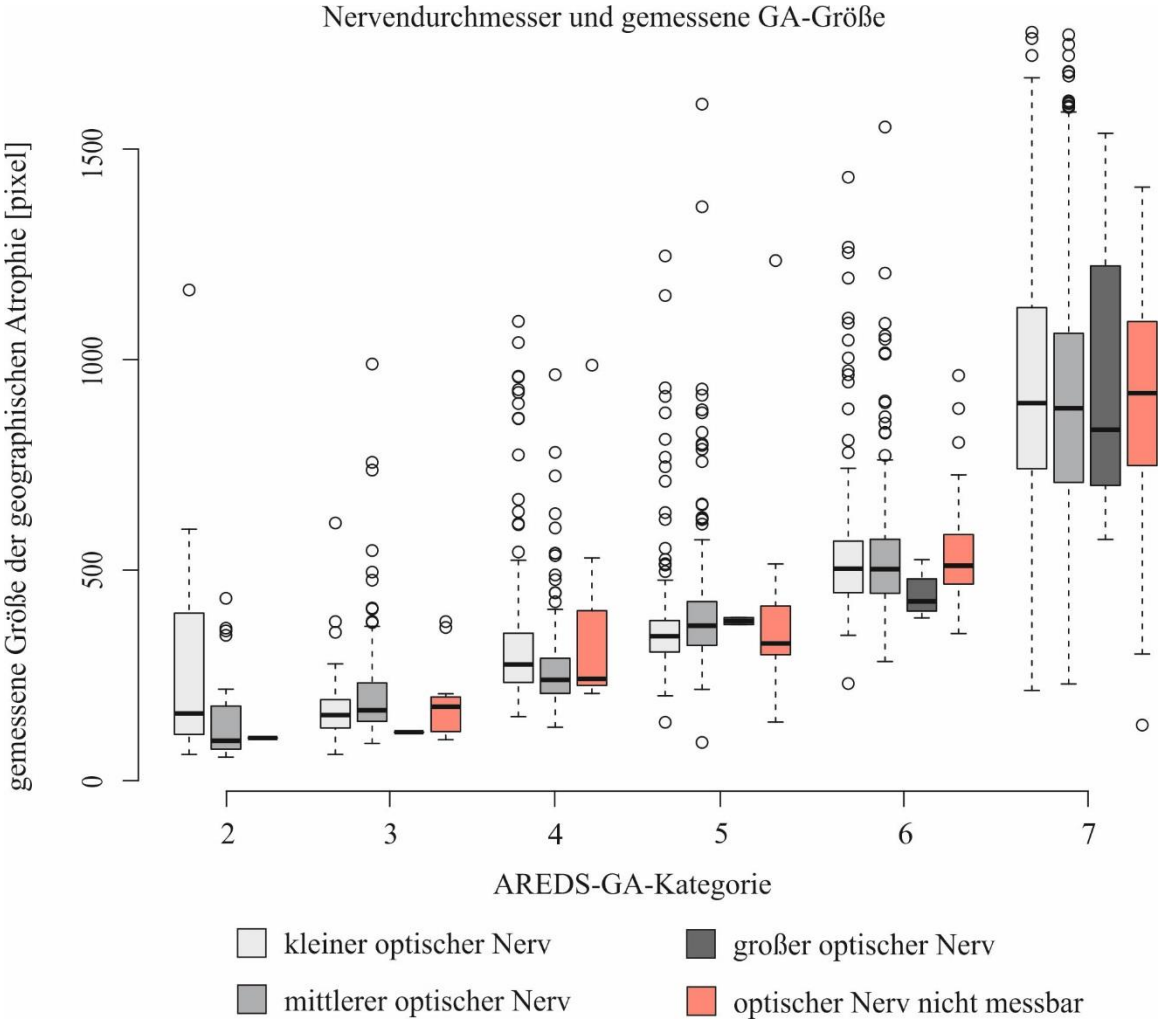

Abbildung 23: Boxplot in Abhängigkeit des Durchmessers des optischen Nervs. N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

Die Ausmessung des optischen Nervs und die damit verbundene Umrechnung von Pixeln auf Millimeter sind Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit denen anderer Arbeiten. Daher wurde untersucht, ob Bilder, in denen kein Sehnervkopf zur Messung zur Verfügung stand, abweichende Ergebnisse mit sich bringen. Jedoch lässt sich weder ein signifikanter Unterschied bezüglich des Medians, noch der Streuung der Werte erkennen (**Abbildung 24**). Auch die Streuung der gemessenen Werte eines einzelnen Patienten war gering (Durchschnittlicher Nervendurchmesser = 426,2 Pixel, SD = 18,6).

Weiterhin wurde untersucht, wie sehr sich die Umrechnung von Pixeln in Millimeter anhand eines universalen Umrechnungsfaktors von der Umrechnung mittels eines individuellen Multiplikators unterschied. Für die vorliegende Arbeit wurde anhand aller gemessenen Nervendurchmesser der mittlere Nervendurchmesser berechnet (426,2 Pixel), mit dessen Hilfe anschließend, durch Umrechnung über den zuvor recherchierten mittleren Durchmesser von 1,92mm,(Tasman et al., 2006) der Umrechnungsfaktor 0,004506mm/Pixel bestimmt wurde. Zusätzlich wurde nun ein für jeden Patienten individueller Umrechnungsfaktor berechnet, der

sich am mittleren Nervendurchmesser des jeweiligen Patienten orientierte. Die mit diesen beiden Ansätzen erzielten Ergebnisse unterschieden sich kaum (siehe **Abbildung 25**): bei nahezu identischer mittlerer Wachstumsrate aller Patienten wichen die Wachstumsraten im Mittel lediglich um 8% voneinander ab (min = 0,02%, max = 34%, SD = 6,5%)

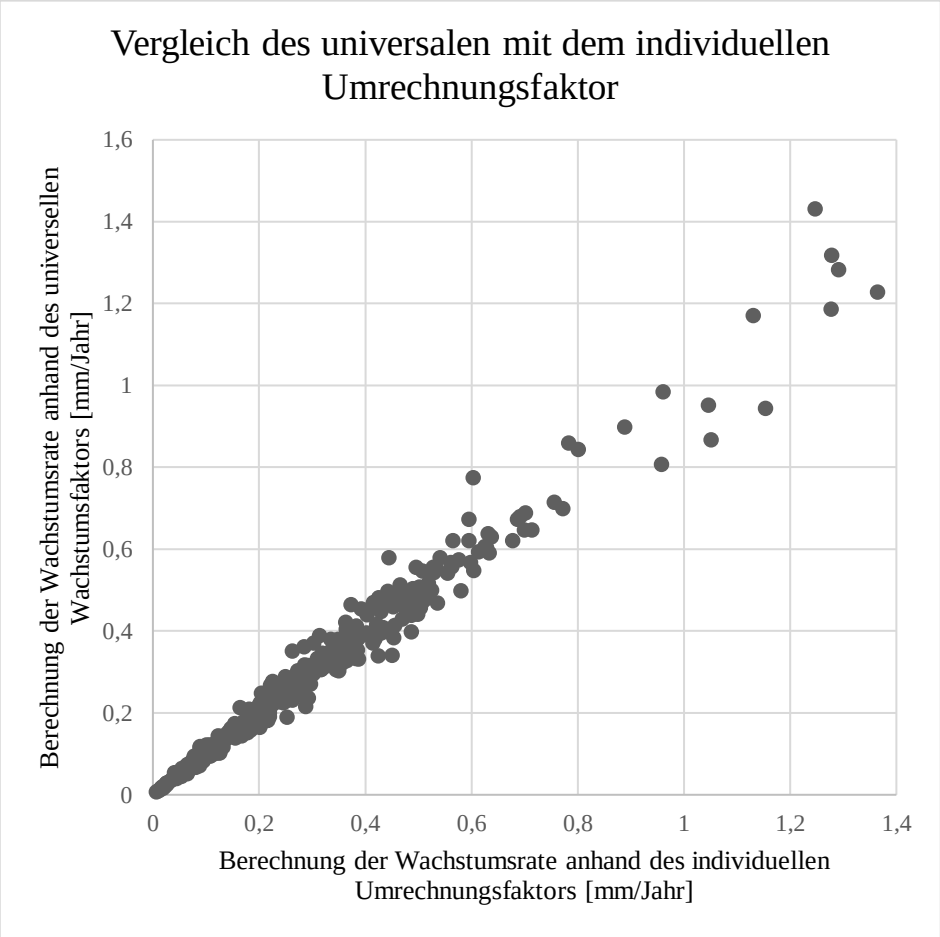

Abbildung 24: Neuberechnung und Gegenüberstellung der Wachstumsraten aller Patienten, um den Einfluss des allgemeinen Umrechnungsfaktors auf die errechnete Wachstumsrate darzustellen. N = 349

Dies legt nahe, dass der exakte Durchmesser des Nervs eines jeden Bildes eine zu vernachlässigende Rolle spielt und es genügt, den Mittelwert der gemessenen Diameter zu verwenden. Dies erleichtert insbesondere den Einbezug derjenigen Bilder, deren optischer Nerv nicht messbar war.

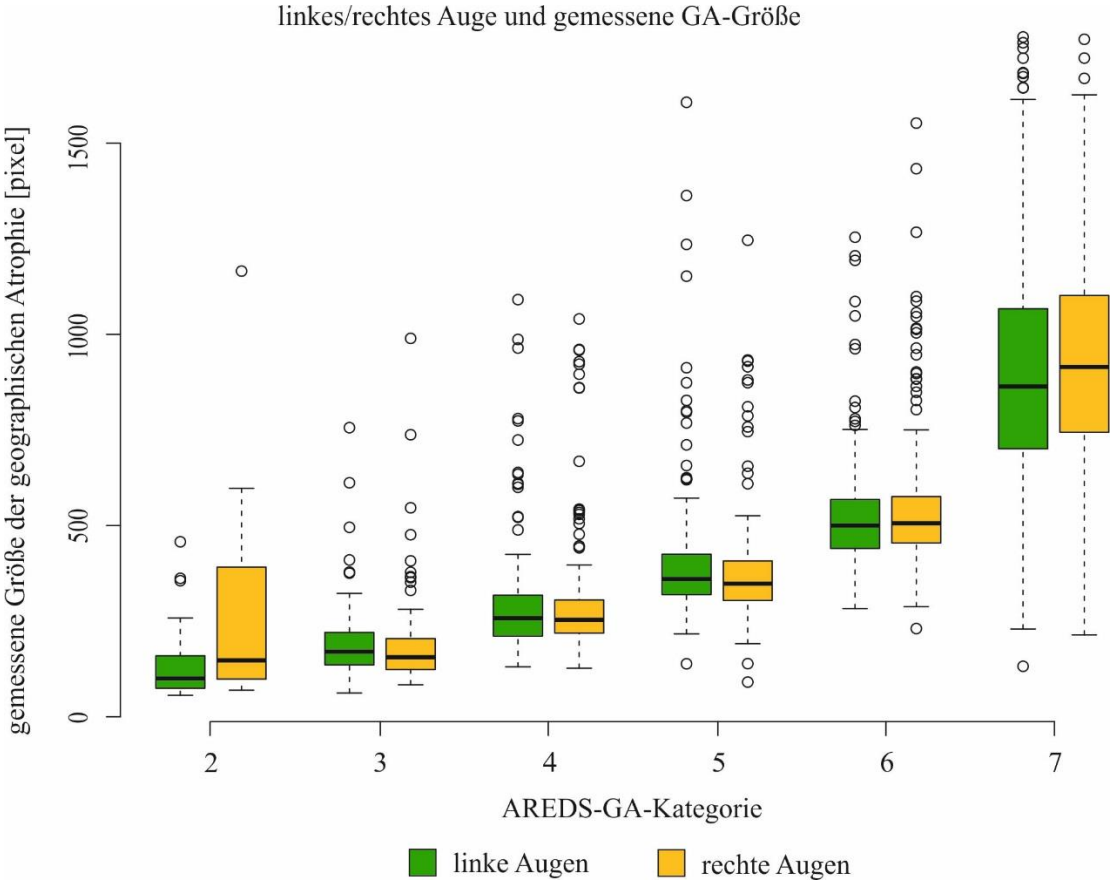

Abbildung 25: Vergleich linker und rechter Augen. N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

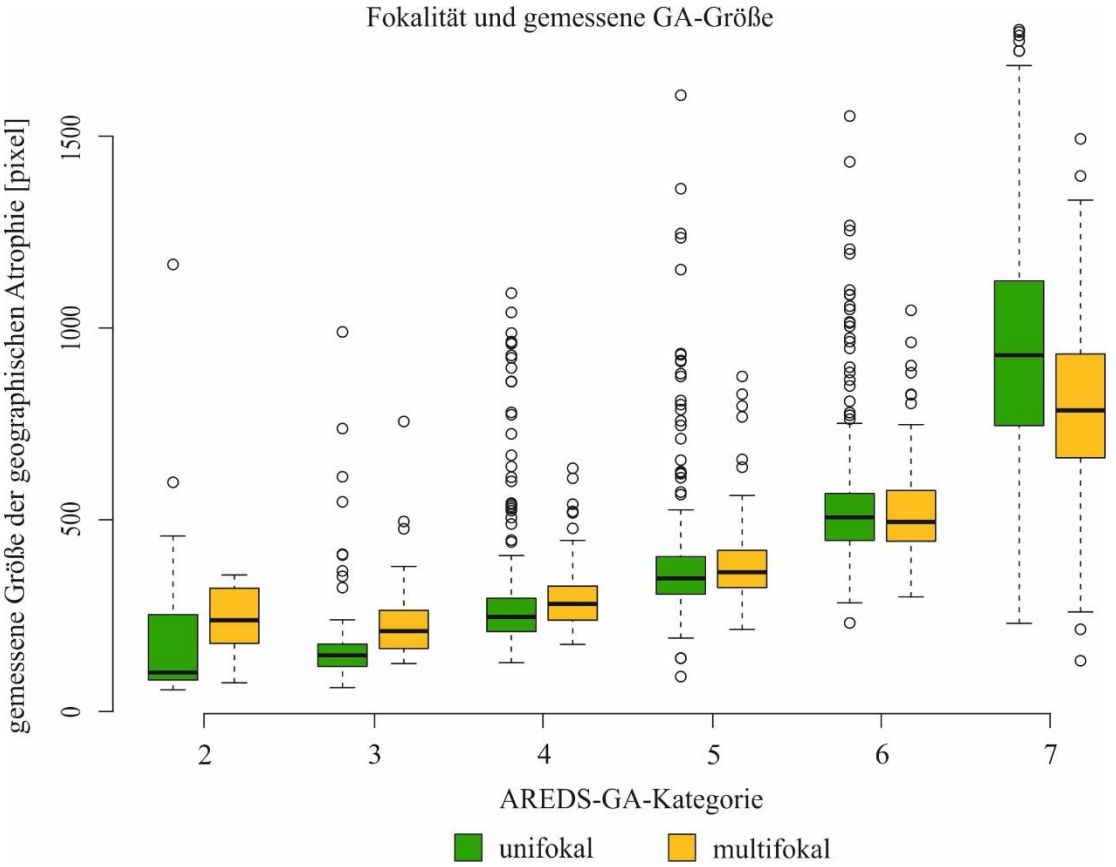

Abbildung 26: Vergleich unifokaler und multifokaler GAs. N = 494 Patienten, 2.697 Bilder

Es konnte weder zwischen linken und rechten Augen (**Abbildung 26**), noch zwischen uni- und multifokalen GAs (**Abbildung 27**) ein signifikanter Unterschied bezüglich der gemessenen GA-Größe festgestellt werden. Ein damit einhergehender Fehler ist demnach unwahrscheinlich.

3.4 – Statistik der Patienten für die Progressionsanalyse

Tabelle 3: Übersicht der einbezogenen Patienten

Anzahl Patienten	349
Mittlerer Untersuchungszeitraum [Jahre] (SD)	5,5 (3,1)
Mittleres Alter der Patienten in Jahren (SD)	70,0 (5,3)
Verhältnis männlich/weiblich (% männlich)	154/195 (44,1)
Mittlere Bildanzahl pro Patient (SD)	7,2 (4,9)
Patienten mit eindeutig unifokaler GA (%)	150 (43,0)
Patienten mit uneindeutiger Fokalität (%)	174 (50,0)
Patienten mit eindeutig multifokaler GA (%)	25 (7,2)
Durchschnittliche Fleckzahl bei eindeutig multifokaler GA (SD)	4,05 (2,0)
Patienten mit Zeichen einer feuchten AMD (%)*	122 (35,0)
Patienten, deren GA an den optischen Nerv reicht (%)*	62 (17,8)
Patienten mit bilateraler GA (%)	206 (59,0)
Mittlere √Wachstumsrate [Pixel/Jahr] (SD)	68,97 (55,52)
Mittlere Wachstumsrate [mm^2/Jahr] (SD)	1,94 (1,99)
Mittlere √Wachstumsrate [mm/Jahr] (SD)	0,316 (0,28)
Mittlere √Wachstumsrate [Log(mm/Jahr)] (SD)	-0,65 (0,40)
Mittlere GA-Größe beim ersten Besuch [mm^2] (SD)	8,13 (9,76)
Mittlere √GA-Größe beim ersten Besuch [mm] (SD)	2,34 (1,36)

Tabelle 3: SD = Standardabweichung. % = prozentualer Anteil der gemessenen Ausprägung an der Gesamtzahl der Patienten. Patienten mit weder eindeutig unifokalen noch eindeutig multifokalen GAs wurden zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedlich gewertet. Bei bilateraler GA sind beide Augen betroffen. Die mit Stern (*) markierten Ausprägungen wurden als positiv gewertet, sobald auch nur ein Bild des Patienten einen positiven Befund aufwies.

349 Patienten zwischen 55 und 81 Jahren (mittleres Alter 70,0) wurden in der Progressionsanalyse betrachtet (siehe auch **Tabelle 3**). Die Anzahl Bilder pro Patient reichte von zwei bis 23. Die Patienten waren nicht miteinander verwandt und ausschließlich europäischer Herkunft.

Im Mittel nahmen geographische Atrophien jährlich um 1,94mm^2 (SD = 1,99, min = 0,01mm^2/Jahr, max = 16,84mm^2/Jahr) an Fläche zu, während die unter Verwendung der

Wurzel ermittelte mittlere √Wachstumsrate 0,316mm/Jahr (SD = 0,28, min = 0,01mm/Jahr, max = 2,73mm/Jahr) betrug. Die individuellen Werte finden sich in **Tabelle 7** im Anhang.
Der Anteil Patienten mit eindeutig unifokaler GA betrug 43%, wohingegen bei 57% aller Teilnehmer der Studie zu mindestens einem der Messzeitpunkte mehrere Atrophieherde nachgewiesen werden konnten. Des Weiteren zeigten sich bei 35% der Probanden in mindestens einer der Aufnahmen Zeichen eines Blutungsgeschehens oder Vernarbung. Es konnte bei 59% der Patienten ein bilaterales Krankheitsgeschehen verzeichnet werden.

3.5 – Einfluss einiger Cofaktoren auf die Progressionsgeschwindigkeit der Erkrankung

Tabelle 4: Cofaktoren und ihr Einfluss auf das GA-Wachstum

Cofaktor	Steigung	Standardfehler	P-Wert
Alter	-0,002	0,009	0,823
Geschlecht	0,100	0,104	0,335
Fokalität*	0,679	0,149	7,17e-06
Fleckanzahl*	0,212	0,040	2,94e-07
Drusenfläche	0,024	0,036	0,503
GA im zweiten Auge*	0,264	0,099	0,008
Zeichen einer feuchten AMD	-0,013	0,055	0,817
GA-Größe beim ersten Besuch	-0,002	0,036	0,952
GA infiltriert Nerv*	0,178	0,062	0,005
Nervendurchmesser	0,002	0,001	0,079
Bildanzahl	0,015	0,010	0,127
Bildqualität*	0,458	0,103	1,08e-05

Tabelle 4: Mit Stern (*) markierte erreichten statistische Signifikanz. Um Normalverteilung zu erreichen wurde den Wachstumsraten der 10. Logarithmus hinterlegt. Ergebnisse sind auf drei Nachkommastellen gerundet. N = 349

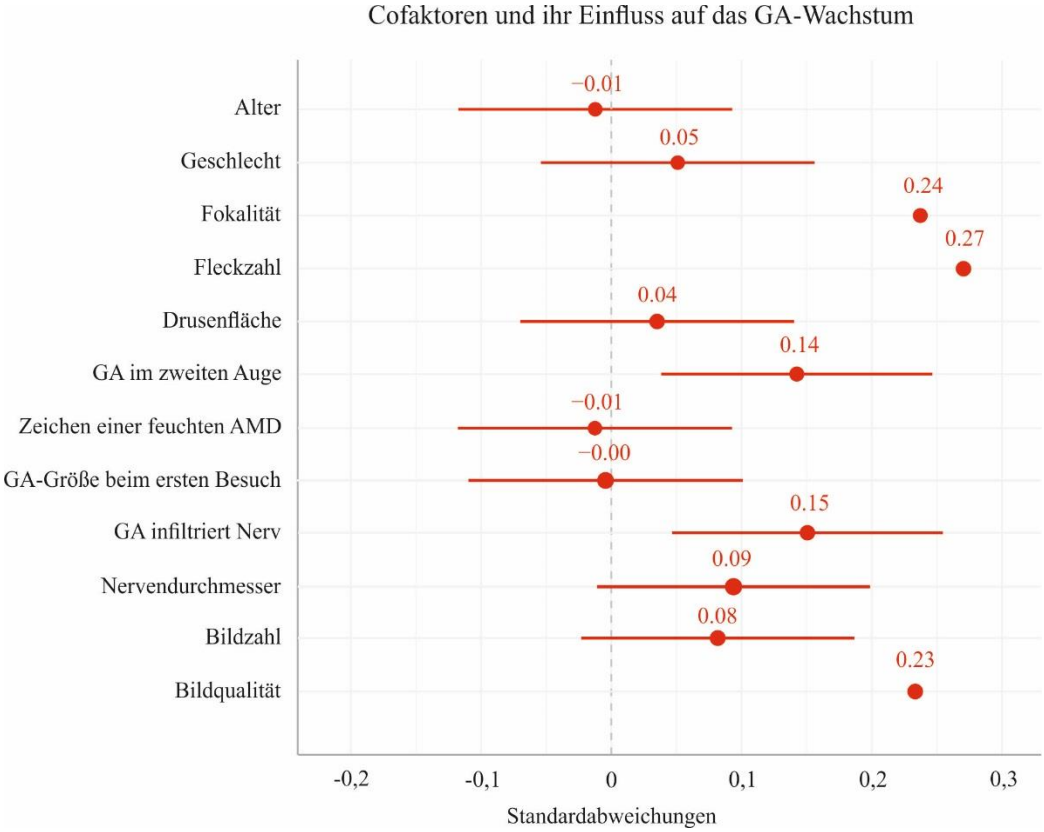

Abbildung 27: Forest Plot bezüglich des Einflusses einiger Cofaktoren auf das logarithmierte GA-Wachstum in Standardabweichungen. N=349 Patienten

Es wurde untersucht, welche der erhobenen Cofaktoren einen Einfluss auf die Progressionsgeschwindigkeit der geographischen Atrophie haben (**Tabelle 4** und **Abbildung 28**). Dieser Einfluss steht in Relation zur errechneten Steigung: Eine hohe Steigung markiert eine stark wachstumssteigernde Einflussgröße, während eine niedrige Steigung keinen Einfluss bedeutet. Negative Werte implizieren einen protektiven Effekt. Statistische Signifikanz erreichten diejenigen Faktoren, deren Einfluss einen P-Wert kleiner als 0,05 aufwies.

Für das Alter des Patienten, dem größten Risikofaktor für die Entstehung einer trockenen AMD,(Jager et al., 2008; VanNewkirk et al., 2000) konnte kein Einfluss auf die Wachstumsgeschwindigkeit nachgewiesen werden. Ähnlich verhielt es sich bei der Drusenfläche, welche ebenfalls einen starken Prädiktor für die Inzidenz der Erkrankung darstellt. Des Weiteren wiesen weder das Geschlecht des Patienten, noch das Vorhandensein einer neovaskulären Komponente einen Einfluss auf.

Aufgrund der Verwendung der Quadratwurzel der Wachstumsgeschwindigkeit gelang es, den Einfluss der initialen GA-Größe zu eliminieren (Steigung der linearen Regressionsgeraden = -0,002).

Statistische Signifikanz erreichten sowohl die Fokalität und Fleckzahl der geographischen Atrophie (Steigung 0,679 und 0,212 bei P-Werten von $7{,}17 \times 10^{-06}$ und $2{,}94 \times 10^{-07}$), sowie das

Vorhandensein einer trockenen AMD im zweiten Auge (Steigung = 0,264, P-Wert = 0,008). Außerdem erreichten Nervinfiltration (Steigung = 0,178, P-Wert = 0,005) und Bildqualität (Steigung = 0,458, P-Wert = 1,08e-05) das gesetzte Signifikanzniveau.

Der Anzahl der Bilder, welche für die Berechnung der durchschnittlichen Wachstumsrate eines Patienten verwendet wurden, konnte in der beschriebenen Analyse kein Effekt auf das Wachstum der geographischen Atrophie nachgewiesen werden (P-Wert = 0,127, Steigung = 0,015). Auch in einer anschließenden Überprüfung des Einflusses der zur Berechnung der Wachstumsraten verwendeten Anzahl Bilder konnten lediglich geringe Unterschiede festgestellt werden: Bei 92 Patienten mit mindestens acht Aufnahmen je Auge wurden erneut Wachstumsgeschwindigkeiten aus lediglich zwei, drei beziehungsweise vier Bildern berechnet (im Folgenden als „Wachstumsrate-2“, „Wachstumsrate-3“ und „Wachstumsrate-4“ gekennzeichnet) und anschließend mit der mittleren Wachstumsrate über alle Messzeitpunkte verglichen. In die Berechnung der Wachstumsrate-2 floss jeweils das erste und letzte Bild eines Patienten ein, während für die Wachstumsrate-3 und -4 zusätzlich zufällig gewählte Bilder aus der Mitte des Untersuchungszeitraums gewählt wurden.

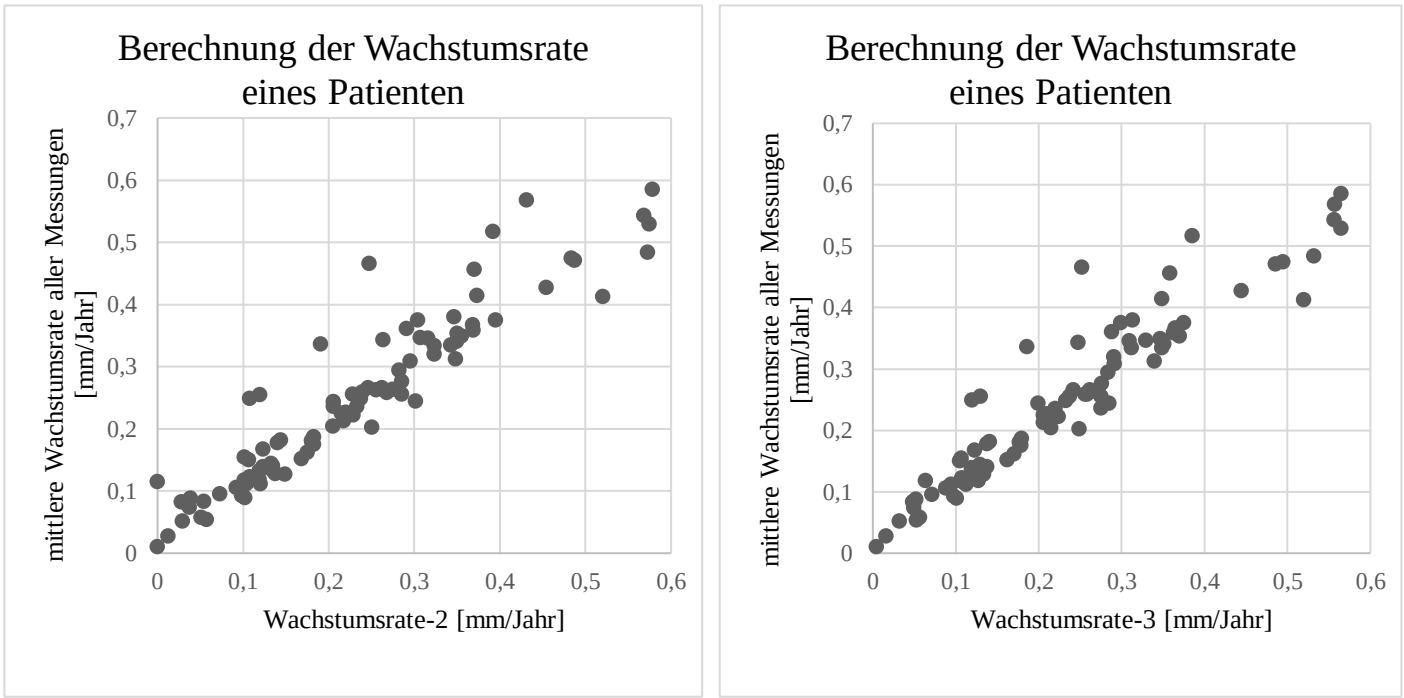

Abbildung 28: Vergleich zweier Ansätze zur Berechnung der Wachstumsgeschwindigkeit eines Patienten. Neben der mittleren Wachstumsrate aller Messintervalle (Ordinate) wurde hierzu die Wachstumsgeschwindigkeit zusätzlich aus lediglich zwei (Wachstumsrate-2) beziehungsweise drei Messzeitpunkten (Wachstumsrate-3) ermittelt (Abszisse) und beide gegeneinander aufgetragen. N = 92

Die mittlere (ursprünglich berechnete) Wachstumsrate der 92 Patienten betrug durchschnittlich 0,248mm/Jahr, während der Mittelwert für die Wachstumsrate-2, -3 und -4 etwas niedriger lag (0,231mm/Jahr, 0,230mm/Jahr und 0,232mm/Jahr). Die mittlere Abweichung des aus zwei Aufnahmen berechneten Werts im Vergleich zur mittleren Wachstumsrate über alle Zeitpunkte

betrug 16,0% (min = 0,5%, max = 100%, SD = 15,2%) während unter Einbezug von drei Messwerten eine Abweichung von durchschnittlich 13,6% resultierte (min = 0,02%, max = 53,4%, SD = 14,2%). Unter Verwendung von vier Aufnahmen zur Berechnung einer mittleren Wachstumsrate betrug die Abweichung im Mittel 14,7% (min = 0,2%, max = 94,9%, SD = 15,7%). In den zugehörigen Streudiagrammen zeigte sich eine Häufung der Werte entlang der Winkelhalbierenden durch den Ursprung (**Abbildung 29**), jedoch auch einige abweichende Ergebnisse.

Beim direkten Vergleich der Wachstumsrate-3 und der Wachstumsrate-4 zeigte sich ein deutlich geringerer Unterschied (mittlere Abweichung 7%, min = 0,1%, max = 89,2%, SD = 12,0%, siehe auch **Abbildung 30**).

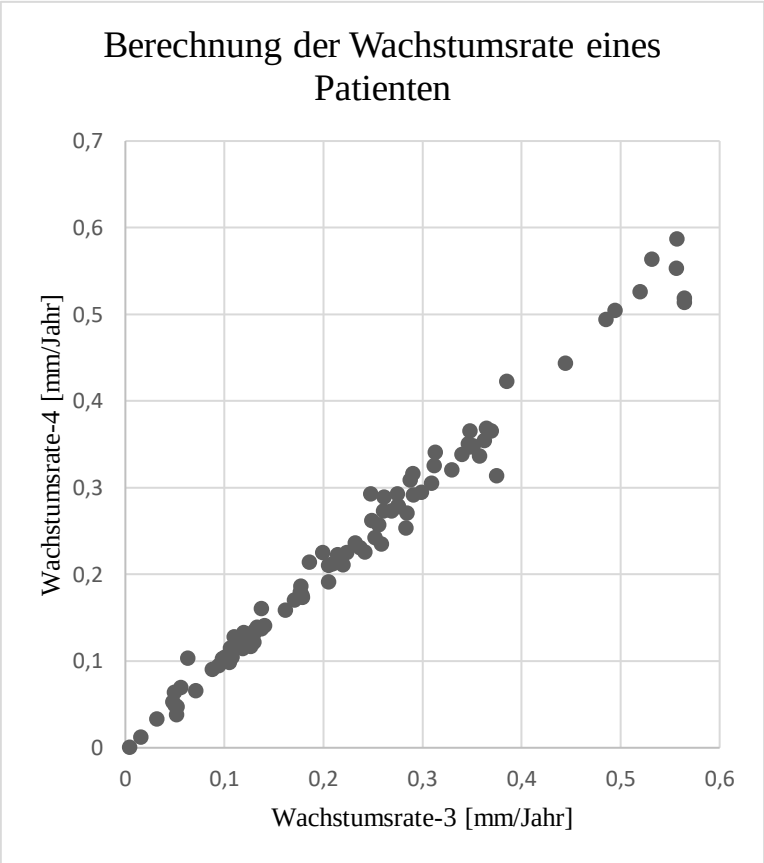

Abbildung 29: Verglichen wurden hier die errechneten Wachstumsraten aus drei beziehungsweise vier Aufnahmen je Patient. N = 92

3.6 – Einfluss der Genetik auf das GA-Wachstum

Ein Ziel dieser Arbeit ist es, den prozentualen Anteil der Genetik an der Progression der Erkrankung zu quantifizieren. Hierzu wurde zuerst die GCTA-Software verwendet, welche zwischen genetischen und Umwelteinflüssen unterscheidet und als Ergebnis den genetischen Einfluss als einen Wert zwischen null und eins darstellt. In die Kategorie der Umwelteinflüsse

fallen sowohl bekannte, vom Nutzer angegebene Cofaktoren, als auch solche, die nicht definiert waren, vom Programm aber als unbekannter Einfluss erkannt wurden (Umwelteinfluss = 1 - genetischer Einfluss).

Konnte das Programm lediglich auf die Wachstumsgeschwindigkeit und die genetische Korrelationsmatrix der Patienten zurückgreifen, ging es von einem genetischen Einfluss von 0,198 (P-Wert = 0,290), und folglich einem Umwelteinfluss von 0,802 aus. Bei Zugabe aller Cofaktoren änderte sich der geschätzte genetische Einfluss mit 0,195 (P-Wert = 0,291) kaum, während er unter Einbezug der vorher als relevant erkannten Cofaktoren einen Einfluss von 0,133 (P-Wert = 0,35) annahm

Um die Güte des Ergebnisses zu beziffern, berichtet die GCTA-Software sowohl den P-Wert, als auch den Standardfehler der geschätzten Heritabilität. Dieser lag bei jeder Messung über 0,37, und ist somit zu hoch für ein verlässliches Ergebnis. Eine exakte Bestimmung des genetischen Einflusses auf die Progressionsgeschwindigkeit der geographischen Atrophie ist mit dem dieser Arbeit zugrundeliegenden Datensatz demnach nicht möglich. Um den Standardfehler zu senken und signifikante Ergebnisse zu erhalten, müsste die Stichprobe vergrößert werden.

Um das Ergebnis der GCTA-Software zu verifizieren, wurde zusätzlich das Programm BOLT-REML genutzt: Aufgrund der kleinen Stichprobe konnte dieses die Heritabilität nicht einschätzen.

3.7 – Einfluss inzidenzerhöhender SNPs auf das GA-Wachstum

Unter den untersuchten 52 AMD-assoziierten Genvarianten erreichten lediglich drei ein Signifikanzniveau mit einem P-Wert kleiner 0,05. Hierbei handelt es sich um die Varianten rs2230199 – C3, rs3750846 – ARMS2/HTRA1 und rs429358 – APO E (**Tabelle 5**).

Die Variante rs2230199 in der Nähe des Komplementfaktors C3 zeigte den niedrigsten P-Wert mit 0,006 (Steigung = 0,233). Des Weiteren fielen einige andere SNPs auf, die mit dem Immun- und insbesondere dem Komplementsystem assoziiert sind und P-Werte um 0,2 und niedriger erreichten. Zu ihnen zählen rs11080055 – TMEM97/VTN (VTN beziehungsweise sein Produkt Vitronektin inhibiert das Komplementsystem, während TMEM97 für ein Transmembranprotein codiert, welches die intrazelluläre Cholesterinkonzentration beeinflusst) und rs2746394 – C2/CFB/SKIV2L (C2 und CFB sind Bestandteile des Komplementsystems, SKIV2L beeinflusst RNA-Modifizierung und die Translation), wobei letzterer mit einer Steigung von -0,393 einen protektiven Effekt aufweist.

Weiterhin fielen in der vorliegenden Arbeit einige Varianten des Fettstoffwechsels auf. Unter ihnen erreichte rs429358 bei Apo E Signifikanzniveau (P-Wert = 0,031, Steigung = 0,273), also ein Apolipoprotein, welches maßgeblich Anteil an der Verteilung von Fetten im Körper hat. Zusätzliche, jedoch nicht ausreichend sicher assoziierte, Genvarianten des Lipidmetabolismus stellten der Genlocus LIPC mit den beiden Varianten rs2070895 und rs2043085, sowie rs5817082 der CETP-Region dar.

Neben den Genvarianten des Komplementsystems und des Fettstoffwechsels befinden sich weitere SNPs unter den Kandidaten mit einem P-Wert um 0,2 und kleiner, allen voran rs3750846 – ARMS2/HTRA1 (P = 0,018, Steigung = 0,169), dessen Funktion gänzlich unbekannt ist. Die restlichen SNPs sind bisher nur unscharf kartiert und lassen, auch aufgrund ihrer Unabhängigkeit untereinander, keine sichere Interpretation der beteiligten Stoffwechselwege zu.

Tabelle 5: siehe die folgenden drei Seiten. Darstellung des Einflusses der 52 inzidenzerhöhenden SNPs nach Fritsche *et al.*(Fritsche et al., 2016) Die Reihenfolge der Loci und ihre Sortierung nach Signalnummern, die Position des Allels auf den Chromosomen und die Base des Risikoallels wurden der Originalarbeit entnommen. Die Allelfrequenzen der Effektallele (und die restlichen Angaben aus der Tabelle) beruhen auf eigenen Erhebungen aus dem Datensatz der vorliegenden Arbeit. Die Steigung und somit Einflussstärke und -richtung des jeweiligen SNPs bezieht sich auf das untersuchte Effektallel. „N“ bezeichnet die Anzahl Patienten, für die Informationen des jeweiligen SNPs vorlagen. Signifikanzniveau erreichten SNPs mit einem P-Wert < 0,05, sie sind mit „*“ markiert. „SE“ = Standardfehler.

Tabelle 5: inzidenzerhöhende SNPs und ihr Einfluss auf das GA-Wachstum

Signalnummer	Locus	Indexvariante	Position	Allelfrequenz	Effektallel	Risikoallel	N	Steigung	SE	P-Wert
1.1	CFH	rs10922109	1:196,704,632	0.825	C	C	348	0.015	0.092	0.872
1.2	CFH	rs570618	1:196,657,064	0.629	T	T	349	-0.065	0.069	0.344
1.3	CFH	rs121913059	1:196,716,375	0.008	T	T	319	0.147	0.415	0.723
1.4	CFH	rs148553336	1:196,613,173	0.998	T	T	319	0.231	0.923	0.802
1.5	CFH	rs187328863	1:196,380,158	0.078	T	T	345	0.073	0.134	0.586
1.6	CFH(CFHR3/CFHR1)b	rs61818925	1:196,815,450	0.263	T	G	319	0.030	0.080	0.706
1.7	CFH	rs35292876	1:196,706,642	0.016	T	T	319	-0.114	0.270	0.673
1.8	CFH	rs191281603	1:196,958,651	0.997	C	G	319	0.562	0.653	0.390
2.0	COL4A3	rs11884770	2:228,086,920	0.751	C	C	319	-0.002	0.082	0.979
3.0	ADAMTS9-AS2	rs62247658	3:64,715,155	0.425	C	C	348	0.061	0.071	0.393
4.1	COL8A1	rs140647181	3:99,180,668	0.017	C	C	348	-0.041	0.270	0.881
4.2	COL8A1	rs55975637	3:99,419,853	0.152	A	A	348	-0.031	0.098	0.753
5.1	CFI	rs10033900	4:110,659,067	0.553	T	T	319	0.055	0.073	0.449
5.2	CFI	rs141853578	4:110,685,820	0.002	T	T	319	0.327	0.923	0.724
6.0	C9	rs62358361	5:39,327,888	0.017	T	T	349	-0.107	0.270	0.691
7.0	PRLR/SPEF2	rs114092250	5:35,494,448	0.986	G	G	319	-0.110	0.312	0.724
8.1	C2/CFB/SKIV2L	rs429608	6:31,930,462	0.933	G	G	349	-0.055	0.141	0.697
8.2	C2/CFB/SKIV2L	rs2746394	6:31,946,792	0.013	A	A	349	-0.393	0.309	0.204

Tabelle 5: inzidenzerhöhende SNPs und ihr Einfluss auf das GA-Wachstum

Signalnummer	Locus	Indexvariante	Position	Allelfrequenz	Effektallel	Risikoallel	N	Steigung	SE	P-Wert
8.3	C2/CFB/SKIV2L(PBX2)b	rs204993	6:32,155,581	0.301	G	G	349	-0.065	0.074	0.382
8.4	C2/CFB/SKIV2L	rs181705462	6:31,947,027	0.019	T	T	349	-0.291	0.240	0.226
9.0	VEGFA	rs943080	6:43,826,627	0.517	C	T	319	0.029	0.073	0.691
10.0	KMT2E/SRPK2	rs1142	7:104,756,326	0.374	T	T	349	-0.017	0.071	0.810
11.0	PILRB/PILRA	rs7803454	7:99,991,548	0.205	T	T	349	0.123	0.083	0.140
12.0	TNFRSF10A	rs13278062	8:23,082,971	0.491	G	T	319	0.076	0.071	0.289
13.0	MIR6130/RORB	rs10781182	9:76,617,720	0.354	T	T	319	0.007	0.077	0.929
14.0	TRPM3	rs71507014	9:73,438,605	0.445	GG	GG	319	0.099	0.072	0.171
15.0	TGFBR1	rs1626340	9:101,923,372	0.828	G	G	349	0.035	0.091	0.705
16.0	ABCA1	rs2740488	9:107,661,742	0.731	A	A	347	0.058	0.079	0.469
17.0	ARHGAP21	rs12357257	10:24,999,593	0.273	A	A	348	0.139	0.077	0.072
18.0	ARMS2/HTRA1*	rs3750846	10:124,215,565	0.450	C	C	319	0.169	0.071	0.018
19.0	RDH5/CD63	rs3138141	12:56,115,778	0.216	A	A	336	-0.124	0.089	0.164
20.0	ACAD10	rs61941274	12:112,132,610	0.027	A	A	319	0.192	0.229	0.403
21.0	B3GALTL	rs9564692	13:31,821,240	0.748	C	C	347	0.152	0.079	0.054
22.1	RAD51B	rs61985136	14:68,769,199	0.669	T	T	319	0.026	0.079	0.742
22.2	RAD51B	rs2842339	14:68,986,999	0.088	G	G	319	0.035	0.128	0.781

Tabelle 5: inzidenzerhöhende SNPs und ihr Einfluss auf das GA-Wachstum

Signalnummer	Locus	Indexvariante	Position	Allelfrequenz	Effektallel	Risikoallel	N	Steigung	SE	P-Wert
23.1	LIPC	rs2043085	15:58,680,954	0.671	T	T	319	-0.097	0.077	0.205
23.2	LIPC	rs2070895	15:58,723,939	0.777	G	G	349	0.153	0.085	0.071
24.1	CETP	rs5817082	16:56,997,349	0.773	C	C	319	-0.117	0.082	0.155
24.2	CETP	rs17231506	16:56,994,528	0.348	T	T	342	-0.019	0.072	0.787
25.0	CTRB2/CTRB1	rs72802342	16:75,234,872	0.961	C	C	347	-0.059	0.184	0.749
26.0	TMEM97/VTN	rs11080055	17:26,649,724	0.528	A	C	319	0.119	0.074	0.110
27.0	NPLOC4/TSPAN10	rs6565597	17:79,526,821	0.379	T	T	342	-0.021	0.072	0.771
28.1	C3*	rs2230199	19:6,718,387	0.270	G	G	319	0.233	0.085	0.006
28.2	C3	rs147859257	19:6,718,146	0.028	G	G	319	-0.128	0.224	0.566
28.3	C3(NRTN/FUT6)b	rs12019136	19:5,835,677	0.966	G	G	343	0.183	0.199	0.359
29.0	CNN2	rs67538026	19:1,031,438	0.577	T	C	342	0.119	0.070	0.089
30.1	APOE*	rs429358	19:45,411,941	0.911	T	T	344	0.273	0.126	0.031
30.2	APOE(EXOC3L2/MARK	rs73036519	19:45,748,362	0.713	G	G	341	0.055	0.072	0.447
31.0	MMP9	rs142450006	20:44,614,991	0.887	TTTTC	TTTTC	319	-0.034	0.121	0.776
32.0	C20orf85	rs201459901	20:56,653,724	0.944	T	T	319	0.102	0.158	0.517
33.0	SYN3/TIMP3	rs5754227	22:33,105,817	0.890	T	T	349	0.069	0.110	0.528
34.0	SLC16A8	rs8135665	22:38,476,276	0.240	T	T	346	-0.026	0.079	0.742

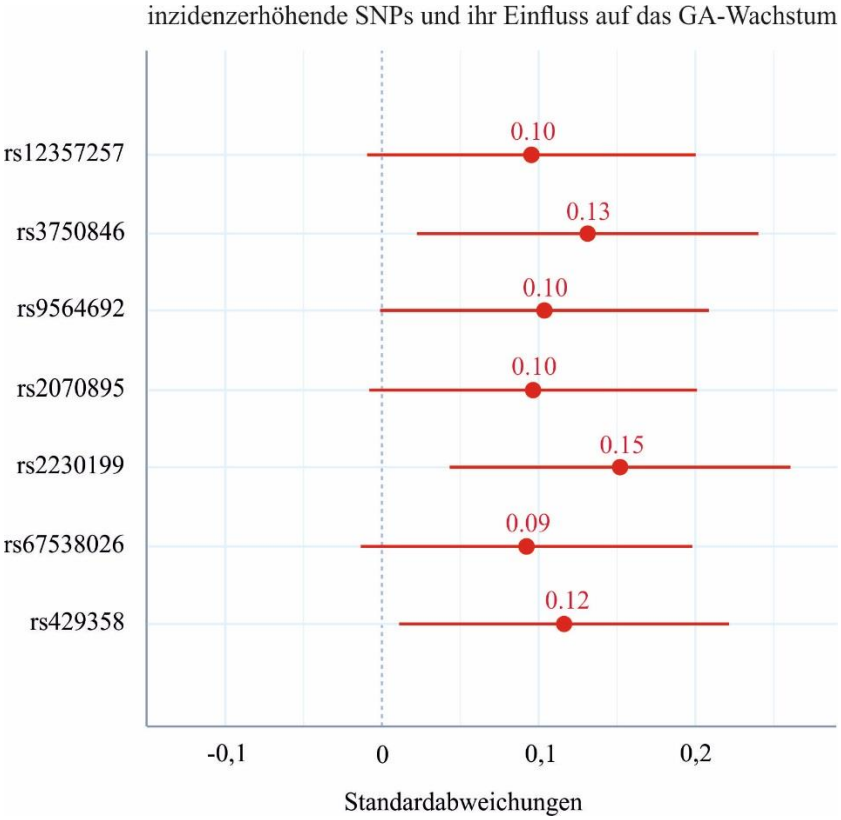

Abbildung 30: grafische Darstellung des Einflusses der AMD-assoziierten SNPs mit einem P-Wert < 0,1 in Standardabweichungen

4 – Diskussion

Das Wachstum der geographischen Atrophie ist variabel und unterliegt zahlreichen, teilweise ungeklärten Einflussfaktoren. Die mittlere √Wachstumsrate der 349 Patienten dieser Arbeit betrug 0,316mm/Jahr (SD = 0,28, min = 0,01mm/Jahr, max = 2,73mm/Jahr), wobei insbesondere Patienten mit multifokaler GA ein gesteigertes Wachstum aufwiesen (0,372mm/Jahr im Vergleich zu 0,268mm/Jahr bei unifokalen GAs, P-Wert = 7,17e-06) und dieses signifikant mit der Anzahl GA-Herde korrelierte (P-Wert = 2,94e-07). Außerdem wiesen Patienten mit einem bilateralen Krankheitsgeschehen ein schnelleres Wachstum auf, wenngleich der wachstumssteigernde Effekt hier geringere Dimensionen einnimmt (0,320mm/Jahr bei einer beidseitigen Erkrankung gegenüber 0,310mm/Jahr, P-Wert = 0,008). Einige Publikationen legen nahe, dass die initiale GA-Größe einen starken Steuerfaktor darstellt,(Olcay et al., 2015; Yehoshua et al., 2011) dieser jedoch durch die Verwendung der Wurzel eliminiert werden kann.(Feuer et al., 2013) Da die Untersuchung der Progressionsrate der geographischen Atrophie noch ein relativ junges Forschungsgebiet ist und das Ziehen der Wurzel erst vor einigen Jahren etabliert wurde, liegen bisher nur wenige Publikationen vor, die diese Vorgehensweise anwenden. Dennoch lässt sich die √Wachstumsrate der vorliegenden Arbeit gut in die Reihe existierender, vergleichbarer Literatur einordnen, die Werte von 0,26 bis 0,43mm/Jahr veröffentlichten.(Grassmann et al., 2015; Grunwald et al., 2015; Lindner et al., 2015; Yehoshua et al., 2011) Abweichungen erklären sich teilweise durch die unterschiedlich zusammengesetzten und unterschiedlich großen Stichproben (siehe **Tabelle 6**). Neben der initialen GA-Größe existieren einige weitere Einflussgrößen, deren Auftretenshäufigkeiten in der jeweiligen Kohorte die durchschnittliche Wachstumsgeschwindigkeit in die eine oder andere Richtung ablenken können. Zu ihnen zählen Bilateralität und Multifokalität, welche in der vorliegenden Arbeit beide statistisch positiv mit der Wachstumsgeschwindigkeit korrelieren und auch in den meisten anderen Arbeiten Signifikanzniveau erreichten.(Fleckenstein et al., 2011; Grunwald et al., 2015; Schmitz-Valckenberg et al., 2016) In einer der vergleichbaren Studien wiesen zusätzlich Zeichen einer feuchten AMD, ein größerer Abstand zwischen Atrophieherd und Fovea centralis und die Therapie mittels VEGF-A-Antikörpern (Bevacizumab beziehungsweise Ranibizumab) signifikante P-Werte sowie einen wachstumssteigernden Effekt auf.(Grunwald et al., 2015) Ihr Einfluss lässt sich teilweise allerdings nicht mit den anderen Studien vergleichen, da die Faktoren nicht erhoben wurden. Insbesondere die Therapie mittels VEGF-A-Antikörpern in der Studie von Grunwald *et al.* scheint einen starken wachstumssteigernden Effekt aufzuweisen

(durchschnittliche Wachstumsrate 0,37mm/Jahr unter Bevacizumab- und 0,49mm/Jahr unter Ranibizumabtherapie), der einen Vergleich mit der vorliegenden Arbeit erschwert, da keine Vergleichsgruppe ohne Antikörperinjektionen im Studiendesign vorgesehen war.

Tabelle 6: Übersicht verschiedener Studien zur Progressionsanalyse

Quelle	**AREDS**	**Yehoshua et al. (2011)**	**Grassmann et al. (2015)**	**Lindner et al. (2015)**	**Grunwald et al. (2015)**
Wachstumsrate [mm/Jahr]	0,316	0,28	0,30	0,26	0,43
Patientenanzahl	349	64	388	151	194
Aufnahmetechnik	CFP	SDOCT	FAF	FAF	CFP
Anteil bilateral [%]	59,0	39	40,7	49,9	30,1
Anteil multifokal [%]	57,2	73	NA	NA	NA
Anteil mit feuchter AMD [%]	35,0	NA	NA	NA	71,7
Anti-VEGF-A-Therapie	Nein	Nein	Nein	Nein	Ja

Tabelle 6: Die Spalten der Tabelle beinhalten die Daten der im Fließtext erwähnten Studien, wobei unter „AREDS“ die Daten der vorliegenden Arbeit angezeigt sind und für die anderen Arbeiten das entsprechende Kürzel angegeben wurde; CFP = Farbfunduskopie, SDOCT = Spectral Domain Optical Coherence Tomography, FAF = Fundus Autofluoreszenz, NA = keine Angaben in Publikation.

Es fällt auf, dass die Studien unterschiedliche Aufnahmetechniken verwendeten. Um einen diesbezüglichen Fehler auszuschließen, verglich die GAP-Studie (*Geographic Atrophy Progression*) die gemessenen GA-Größen und Wachstumsraten aus Farbfunduskopie- (CFP) und Fundus Autofluoreszenz-Aufnahmen (FAF) miteinander. (Schmitz-Valckenberg et al., 2016) Zwar wurde festgestellt, dass die Flächen geographischer Atrophien in FAF-Aufnahmen im Schnitt kleiner gemessen wurden, hieraus jedoch kein Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit resultierte. Demnach sind Progressionsgeschwindigkeiten aus FAF- und CFP-Aufnahmen vergleichbar, und vermutlich auch von SDOCT-Messungen (*Spectral Domain Optical Coherence Tomography*) keine abweichenden Ergebnisse zu erwarten.

Weiterhin können bei der Umrechnung von Pixeln in Millimeter Abweichungen entstehen. Die vergleichbaren Studien wählten entweder eine voreingestellte Ausschnittgröße von 6x6mm,(Yehoshua et al., 2011) ein vollautomatisches Aufnahmegerät wie das *Spectralis HRA+OCT* der Firma *Heidelberg Engineering*(Grassmann et al., 2015; Lindner et al., 2015) oder den Abstand zwischen dem Zentrum der Fovea Centralis und dem Zentrum des optischen Nervs (4,5mm).(Grunwald et al., 2015) Der für die vorliegende Arbeit gewählte vertikale Durchmesser des optischen Nervs als Umrechnungsfaktor ist ein neuartiger Ansatz der weitgehend geeignet zu sein scheint, da sich die hieraus errechnete mittlere Wachstumsrate von 0,316mm/Jahr gut mit denen der vergleichbaren Arbeiten deckt. Dennoch ist er als Hilfsmittel

nur begrenzt genau und könnte Schwankungen einzelner Patientendaten begünstigen, da insbesondere bei Glaukomen abweichende Messergebnisse entstehen.(Hoffmann et al., 2007)
Als starker Einflussfaktor auf die Progressionsgeschwindigkeit konnte in dieser Studie zusätzlich die Bildqualität ausgemacht werden, welche in den anderen, oben genannten Studien während der Datensammlung nicht beachtet wurde. Patienten mit vielen Bildern schlechter Qualität schienen ein im Schnitt stärkeres Wachstum aufzuweisen, was auf unterschiedliche Ursachen zurückgeführt werden kann: Einerseits könnte die schlechte Bildqualität zu falschen Messungen geführt haben, da der Übergang von gesunder zu erkrankter Netzhaut in unscharfen oder von Lichtreflexen überlagerten Arealen oftmals nicht exakt nachvollziehbar ist. Somit könnten Atrophien in Aufnahmen mit schlechter Qualität im Durchschnitt größer gemessen worden sein, und hieraus eine größere Wachstumsgeschwindigkeit resultieren. Außerdem bedingen Ödeme der Netzhaut, wie sie bei einer feuchten AMD auftreten, eine aufnahmebedingte Unschärfe in Farbfunduskopien, die als schlechte Qualität gewertet werden kann. Zwar erreichte die CNV keinen statistisch signifikanten Einfluss in der vorliegenden Arbeit, dennoch wurden intra- und subretinale Flüssigkeitsansammlungen in anderen Arbeiten als wachstumsfördernd beschrieben.(Grunwald et al., 2015) Auf den CFP-Aufnahmen sind jedoch lediglich Blutungen und Vernarbungen sicher zu erkennen, während Ödeme der Netzhaut, die ebenfalls als Diagnosekriterium einer CNV gelten, nicht sicher erkannt werden können.
Mit Hilfe der mittleren √Wachstumsgeschwindigkeit von 0,316mm/Jahr, die sich offenbar gut mit den Ergebnissen anderer Studien deckt, und unter Berücksichtigung der bekannten, einflussreichen Cofaktoren Bilateralität und Multifokalität, könnten in Zukunft exaktere Aussagen zum Fortschreiten der Erkrankung der Patienten getroffen werden. Unter Zuhilfenahme der Lokalisation der geographischen Atrophie, die ausschlaggebend für das Ausmaß und den Zeitpunkt der Sehstörung eines Patienten ist, lässt sich womöglich eingrenzen, ob und zu welchem Zeitpunkt ein Patient mit Einschränkungen zu rechnen hat. Dies kann Betroffenen ausreichend Zeit geben, um Vorbereitungen zur Inanspruchnahme von Hilfeleistungen bei Erblindung zu treffen.
Trotz der genannten Einflussfaktoren lassen sich nicht alle Unterschiede der √Wachstumsrate erklären. Dies legt nahe, dass neben den aus Aufnahmen des Augenhintergrunds ersichtlichen Einflussfaktoren noch andere, vermutlich stärkere Steuergrößen existieren, die das Fortschreiten der Erkrankung maßgeblich beeinflussen. Eine Möglichkeit stellt hierbei die Genetik dar.

Neben der Einschätzung des Gesamtanteils der Genetik an der Progressionsgeschwindigkeit der AMD (in der vorliegenden Arbeit auf 20% geschätzt, allerdings mit einem hohen Standardfehler von 0,37) war es von Interesse, die 52 von Fritsche *et al.* identifizierten inzidenzerhöhenden SNPs auf ihren Einfluss auf die Progression der geographischen Atrophie zu untersuchen (siehe **Tabelle 5**). Den niedrigsten P-Wert zeigte die Variante rs2230199 in der Nähe des für den Komplementfaktor C3 kodierenden Bereichs (P-Wert = 0,006, Steigung = 0,233). Außerdem erreichte die Variante rs3750846 bei ARMS2/HTRA1 (P-Wert = 0,018, Steigung = 0,169) und der mit dem Fettstoffwechsel assoziierte SNP rs429358 bei APOE (P-Wert = 0,031, Steigung = 0,273) statistische Signifikanz.

Der genetische Anteil an der Inzidenz der Erkrankung ist relativ gut erforscht und reicht je nach Studie von 15% bis 65%,(Fritsche et al., 2013, 2016; Hall et al., 2015) wobei die aktuellste und bis dato auch größte dahingehende Arbeit von Fritsche *et al.* einen Anteil von 46,7% verzeichnete.(Fritsche et al., 2016) Bisher lässt sich in der Literatur keine Einschätzung des Anteils der Genetik an der Variabilität der Progressionsgeschwindigkeit der geographischen Atrophie finden. Auch anhand des für diese Arbeit vorliegenden Datenmaterials gelang es nicht, eine diesbezügliche statistisch signifikante Aussage zu treffen. Dennoch impliziert der geschätzte Einfluss von etwa 20% (Standardfehler = 0,37) eine nicht zu vernachlässigende Größe, die weiterer Untersuchung bedarf. In Anlehnung an den genetischen Anteil an der Inzidenz der Erkrankung und unter Berücksichtigung des eher geringen Einflusses der restlichen Cofaktoren auf die Progressionsgeschwindigkeit lässt sich vermuten, dass der tatsächliche genetische Anteil höher liegt als 20%. Genauere Ergebnisse lassen sich jedoch nur unter Verwendung einer deutlich größeren Stichprobe erzielen.

Die wenigen genetischen Studien zur Progression der AMD untersuchten lediglich ausgewählte, zuvor mit der Inzidenz assoziierte Allele. Daher ist es bisher auch nicht möglich neue Stoffwechselwege und Einflussfaktoren zu identifizieren, sondern lediglich zu überprüfen, ob sich die Effekte einiger Allele auf die Inzidenz der AMD auch bei der Progression der Erkrankung nachweisen lassen. Erste Hinweise darauf, dass die inzidenzerhöhenden Faktoren nicht einfach mit denen gleichzusetzen sind, welche das Wachstum beeinflussen, liefern die P-Werte und Einflussgrößen selbst: Die drei in der vorliegenden Arbeit signifikant mit der Progression assoziierten Varianten wiesen ähnliche Einflüsse und P-Werte auf, obwohl sie während ihrer Assoziation mit der Inzidenz der Erkrankung stark unterschiedliche Werte erreichten. Die Variante rs429358 – APO E verzeichnete in der Arbeit von Fritsche *et al.* ein OR (*Odds Ratio*) von 0,70 und einen P-Wert von $2{,}4 \times 10^{-42}$; rs2230199 – C3 war etwas stärker assoziiert mit einer OR von 1,43 und einem P-Wert von $3{,}8 \times 10^{-69}$ und

rs3750846 – ARMS2/HTRA1 war der SNP mit der größten Effektstärke, der mit der AMD in Verbindung gebracht wurde (OR = 2,81, P-Wert = $6{,}5x10^{-735}$).(Fritsche et al., 2016) Im Gegenzug erreichten die von Fritsche *et al.* identifizierten SNPs mit dem zweit- und drittniedrigsten P-Wert (rs10922109 – CFH und rs116503776 – C2/CFB/SKIV2L [ist im AREDS-Datensatz als rs429608 vermerkt]) keine Signifikanz in der Analyse der vorliegenden Studie. Diese scheinbar wahllose Übereinstimmung und der geringe Anteil von drei aus 52 SNPs legen nahe, dass sich Genetik und Cofaktoren in einem Punkt gleichen: Es müssen unterschiedliche Einflüsse auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit und das Fortschreiten vorliegen.

Der Einfluss eines fehlregulierten Komplementsystems auf die Entstehung von Drusen und die Inzidenz der Erkrankung konnte in zahlreichen Studien nachgewiesen werden und gilt als weitgehend gesichert. (Despriet et al., 2009; Fritsche et al., 2016; Johnson et al., 2001; Maller et al., 2007) Daher ist naheliegend, dass sich einige Arbeiten mit dem Zusammenhang zwischen inzidenzerhöhenden Genvarianten des Komplementsystems und der Progression der AMD beschäftigten. Caire *et al.* konnte CFH und CFB mit der Progression in Verbindung bringen,(Caire et al., 2014) während Joachim *et al.* CFH und ARMS2 (nicht aus der Reihe der Komplementfaktoren, jedoch ein starker inzidenzerhöhender Faktor) identifizierten.(Joachim et al., 2013) Andere Arbeiten kamen wiederum zu dem Schluss, dass keine dieser Varianten einen Einfluss auf die GA-Progression aufweisen.(M. L. Klein et al., 2010; Scholl et al., 2009) Auch in der vorliegenden Arbeit erreichten weder Varianten des Komplementfaktors H noch des Komplementfaktors B statistische Signifikanz, allerdings wies rs2230199 in der Nähe des Komplementfaktor C3 einen P-Wert von 0,006 auf (Steigung = 0,233) und erzielte somit den niedrigsten P-Wert aller gemessenen Varianten. Weitere mit dem Komplementsystem assoziierte Varianten, welche lediglich P-Werte um 0,2 und kleiner erreichten, sind rs11080055 bei TMEM97/VTN und rs2746394 in der Nähe von C2/CFB/SKIV2L. Eine Beteiligung des Komplementsystems am Verlauf der Erkrankung kann daher nicht ausgeschlossen werden, benötigt allerdings unbedingt weitere Abklärung.

Während sich zunehmend Studien mit dem Einfluss des Komplementsystems beschäftigen, sind die Wechselwirkungen zwischen der Progression der geographischen Atrophie und dem Fettstoffwechsel weitgehend unerforscht. In der vorliegenden Arbeit wiesen neben rs429358 bei APOE zusätzlich die nicht signifikant assoziierten Varianten rs2070895 und rs2043085 des Genlocus LIPC und rs5817082 der CETP-Region einen schwachen Einfluss auf. Zwei weitere Studien untersuchten den Einfluss von Varianten des Apolipoproteins E auf die Progression der geographischen Atrophie, konnten jedoch keinen Effekt nachweisen. (Grassmann et al., 2015;

M. L. Klein et al., 2010) Neben einem genomweiten Ansatz zur Untersuchung weiterer mit dem Fettstoffwechsel assoziierter Genvarianten wäre es womöglich hilfreich, die Höhe der Blutfettwerte eines Patienten mit der Progressionsrate seiner geographischen Atrophie in Verbindung zu bringen. Besonderes Augenmerk könnte man hierbei auf die im internistischen Labor häufig bestimmten Werte für die LDL- und HDL-Konzentrationen legen, da diese über den APO-E-Rezeptor ihre zelluläre Aufnahme regeln und zudem kostengünstig zu bestimmen sind. Zwar konnte in zwei bisherigen Studien weder die Einnahme von Statinen, noch die Höhe des Gesamtcholesterins oder der HDL-Konzentration im Serum eines Patienten mit der Entstehung einer Spätform der AMD in Verbindung gebracht werden, (Cougnard-Grégoire et al., 2014; Ronald Klein et al., 2014) eine Bewertung des Einflusses auf die Progression der geographischen Atrophie steht jedoch aus.

Alle genannten Studien zur Progression der AMD basierten auf Stichprobengrößen von 150 Patienten oder weniger und dienten somit lediglich einer ersten Einschätzung ausgesuchter genetischer Einflussfaktoren. Mittels der im Vergleich großen Stichprobe der vorliegenden Arbeit konnten zwar exaktere Aussagen bezüglich wachstumsfördernder Genvarianten getroffen werden, jedoch bleibt aufgrund der großen Varianz des Phänotyps weiterhin eine nicht zu vernachlässigende Unsicherheit. Zudem ist zu bedenken, dass die P-Werte aufgrund des nicht durchgeführten Adjustierens für multiples Testen lediglich einer Unterteilung in stark und schwach, nicht jedoch in sicher oder sicher nicht assoziierte Genvarianten dienen kann. Zusammenfassend verdeutlichen die Widersprüche aus dem Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit der Literatur in erster Linie die Notwendigkeit einer genomweiten Untersuchung mit einer großen Stichprobe, um zukünftig verlässliche Aussagen über den Einfluss von Genvarianten des Komplementsystems und weiterer Stoffwechselwege auf die Progression der Erkrankung treffen zu können.

Rückblickend lassen sich einige Kritikpunkte am Design der vorliegenden Arbeit erkennen, wobei insbesondere zwei hervorstechen: Am offensichtlichsten ist die Anzahl der Patienten, die zwar für die Untersuchung der Cofaktoren genügt und verdeutlicht, dass die Ausmessung farbfunduskopischer Aufnahmen eine wirksame Methode zur Progressionsanalyse darstellt, allerdings die Möglichkeiten der anschließenden genetischen Untersuchungen limitiert, da insbesondere seltene Allele in einer Stichprobe diesen Umfangs unterrepräsentiert sind. In einem späteren genomweiten Ansatz, dessen Ziel es sein sollte möglichst viele und damit auch seltene Genvarianten auf ihren Einfluss zu untersuchen, ist eine große Stichprobe unerlässlich. Fritsche *et al.* betonen in der Publikation zu ihrer genomweiten Assoziationsstudie, deren identifizierten SNPs in der vorliegenden Arbeit auf ihren Einfluss auf die Progression der AMD

untersucht wurden, ebenfalls die Notwendigkeit sehr großer Stichproben, da die in ihrer Arbeit interessantesten Allele lediglich mit einer Häufigkeit von 0,01-1,0% auftraten.(Fritsche et al., 2016) Empfohlen werden beispielsweise auf der Homepage der BOLT-REML-Software Patientenkollektive für genetische Assoziationsstudien von 5.000 Probanden und mehr, um relevante Ergebnisse zu erzielen. Neben dieser allgemeinen Empfehlung findet man weiterhin den Hinweis, dass sich der Standardfehler (SE) einer Heritabilitätsberechnung mittels GCTA in erster Annäherung aus der Formel $SE = 300/N$ (mit N = Stichprobengröße) errechnet,(Visscher et al., 2014) was wiederum nahelegt, dass ein Patientenkollektiv von 349 Patienten nicht für eine zuverlässige Berechnung der Gesamtheritabilität ausreicht.

Greift man, wie für die vorliegende Arbeit, lediglich auf AREDS-Patienten zurück, ist die Anzahl Patienten von Beginn an begrenzt. Mittels einer größer angelegten Eigenerhebung oder der Zusammenführung von Patienten aus mehreren Studien kann dieses Problem gelöst werden. Allerdings steigt damit auch der Aufwand, insbesondere in Bezug auf die Erhebung des Bildmaterials und die anschließende manuelle Ausmessung der geographischen Atrophien. Da für die vorliegende Arbeit jeweils alle verfügbaren Bilder ausgemessen und in die Berechnung einer mittleren Wachstumsrate eines Patienten einbezogen wurden stellte sich die Frage, ob eine aus lediglich zwei, drei beziehungsweise vier Aufnahmen ermittelte Wachstumsrate ähnliche Ergebnisse erzielen würde. Hierbei zeigte sich, dass die alternativ berechneten Wachstumsraten der 92 für diese Analyse verwendeten Patienten meist kleiner waren als die Ergebnisse aus der aufwändigeren Berechnung mittels Mittelwert (durchschnittliche Abweichung von 16,0%, 13,6% bzw. 14,7% zu der aus acht oder mehr Aufnahmen berechneten Wachstumsrate). Die Häufung der Werte entlang der Diagonalen durch den Ursprung des Streudiagramms (**Abbildung 29**) impliziert jedoch, dass auch bei der Ausmessung einer geringeren Anzahl *Follow-up*-Bilder verwertbare Wachstumsraten resultieren können. Allerdings gilt zu beachten, dass sich ein Messfehler bei der Verwendung von lediglich zwei Aufnahmen deutlich drastischer auswirkt als unter Einbezug von mehreren Bildern und daher unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse die Verwendung von mindestens drei Bildern zu empfehlen ist. Der direkte Vergleich der Wachstumsraten aus drei beziehungsweise vier Aufnahmen (**Abbildung 30**) zeigte zudem, dass der Einbezug eines weiteren Bilds einen zu vernachlässigenden Effekt mit sich bringt (durchschnittliche Abweichung 7,2%). Eine wie zum Teil in der vorliegenden Studie durchgeführte Berechnung von Wachstumsraten aus acht Bildern und mehr birgt demzufolge vermutlich keine Vorteile.

Auch das verwendete Bildmaterial könnte das Ergebnis der Studie beeinflusst haben. Mehr als 150 Patienten konnten nicht in die Analyse aufgenommen werden, da ihre Aufnahmen eine

mangelnde Qualität aufwiesen, während für weitere Patienten mit grenzwertig guter Bildqualität womöglich ungenaue Progressionsraten errechnet wurden. Dies spiegelt sich auch in der signifikant mit dem GA-Wachstum assoziierten Bildqualität wider, deren Einfluss unter Verwendung eines anderen oder aktuelleren Aufnahmegeräts zumindest verringert werden könnte. Da die aufnahmebedingte Unschärfe mit hoher Wahrscheinlichkeit auch mit den technisch weniger weit entwickelten Aufnahmegeräten der 90er-Jahre zusammenhängt, könnten modernere Apparate bessere Bilder für zukünftige Messungen liefern. Darüber hinaus könnte die Verwendung von Fundus Autofluoreszenzaufnahmen oder die Zuhilfenahme von SDOC-Tomographie die exakte Ausmessung geographischer Atrophien erleichtern, da hier der Übergang vom gesunden zum erkrankten Epithel schärfer abgrenzbar ist. Moderne Geräte wie beispielsweise der *Spectralis Bluepeak* der Firma *Heidelberg Engineering* würden das Ergebnis der Messung zudem automatisch in metrischer Einheit angeben, wodurch auf die manuelle Umrechnung von Pixeln in Millimeter verzichtet werden könnte.

Trotz der diskutierten Kritikpunkte scheint der Versuchsaufbau eine wirkungsvolle, wenn auch optimierbare Methode darzustellen, um Wachstumsraten zu ermitteln und die Einflüsse von Cofaktoren und Genvarianten zu untersuchen. Weiterhin verdeutlichen die Ergebnisse, dass zukünftige genomweite Assoziationsstudien zur Progression der AMD mit einer deutlich größeren Stichprobe helfen können, Wissen zur Pathogenese zu vertiefen, neue Aspekte der Erkrankung aufzuzeigen und den Umgang mit ihr zu verändern.

5 – Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Gesamteinfluss der Genetik auf die Progression der geographischen Atrophie im Zuge der altersabhängigen Makuladegeneration zu messen. Darüber hinaus wurden 52 Genvarianten, welche in einer früheren Studie von Fritsche *et al.* (2016) mit den Spätformen der Erkrankung in Zusammenhang gebracht wurden, auf ihren Einfluss auf die Wachstumsgeschwindigkeit untersucht. Anhand der in dieser Analyse signifikant mit der Progression assoziierten Varianten und den ihnen zuordenbaren Genloci wurden anschließend Prozesse diskutiert, welche für die Progression der atrophen Form der altersabhängigen Makuladegeneration von Bedeutung sind.

Basis der Studie waren die veröffentlichten Datensätze des AREDS-Forschungsteams, welche über die *Database of Genotypes and Phenotypes* erhältlich sind. Unter den von ihnen veröffentlichten Farbfunduskopieaufnahmen befanden sich 2.697 Bilder von Patienten mit geographischer Atrophie und vollständig sequenziertem Genom, deren Atrophiefläche ausgemessen werden konnte. Hieraus errechnete sich eine für jeden Patienten individuelle Wachstumsrate. Um sich anderer Einflüsse gewahr zu werden, wurden verschiedene Cofaktoren erhoben und in die Analysen mittels GCTA-Software einbezogen. Zu den aus den Aufnahmen ersichtlichen Faktoren zählen die Fokalität und Fleckzahl, Zeichen einer feuchten AMD, Infiltration des Sehnervs, der AMD-Status des zweiten Auges, die Anzahl und Qualität der Aufnahmen und die Fläche der geographischen Atrophie zu Beginn der Untersuchungen. Von AREDS erhobene Daten, die in die Berechnungen miteinbezogen wurden, umfassen Alter und Geschlecht des Patienten, den Drusenstatus und die AREDS-GA-Kategorie.

Der Datensatz zur Heritabilitätsberechnung umfasste letztendlich Wachstumsraten, Cofaktoren und Genetik von 349 Patienten zwischen 55 und 81 Jahren, wovon 206 Probanden unter einer geographischen Atrophie in beiden Augen litt und 122 zusätzlich zur atrophischen AMD Zeichen einer Neovaskularisation aufwies. Im Schnitt wuchsen die geographischen Atrophien mit einer Geschwindigkeit von 0,316mm/Jahr (SD = 0,28), wobei insbesondere Patienten mit multifokaler GA (0,372mm/Jahr, P-Wert = 7,17e-06) ein beschleunigtes Wachstum aufwiesen, welches weiterhin signifikant mit der Anzahl Atrophieherde korrelierte (P-Wert = 2,94e-07). Auch bei Patienten mit bilateraler GA konnte eine etwas erhöhte Wachstumsgeschwindigkeit nachgewiesen werden (0,320mm/Jahr, P-Wert = 0,008).

Zur Berechnung der Heritabilität kamen die GCTA-Software und das Programm BOLT-REML zur Anwendung. Die Ergebnisse wiesen einen relativ großen Standardfehler auf, dennoch konnte der genetische Anteil an der Progressionsgeschwindigkeit mit Werten um 0,2

(SD = 0,37, P-Wert = 0,29) zumindest andeutungsweise geschätzt werden. Aufgrund des geringen Einflusses der Cofaktoren auf das GA-Wachstum und unter Berücksichtigung des meist höher eingeschätzten genetischen Anteils an der Inzidenz der Erkrankung, wurde die Vermutung aufgestellt, dass der tatsächliche genetische Anteil an der Progression höher liegt als die errechneten 20%.

Weiterhin wurden die 52 AMD-assoziierten Genvarianten auf ihren Einfluss auf die Progression der AMD untersucht. Insgesamt drei der 52 getesteten SNPs erreichten einen statistisch signifikanten P-Wert kleiner als 0,05: rs2230199 in der Nähe des Komplementfaktors C3 (P = 0,006, Steigung = 0,233), rs3750846 bei ARMS2/HTRA1 (P = 0,018, Steigung = 0,169) und rs429358 bei APOE (P = 0,031, Steigung = 0,273). Anhand dieser und unter Berücksichtigung weiterer SNPs, welche das Signifikanzniveau von 0,05 nicht erreichten, wurde der umstrittene Verdacht einer Beteiligung des Komplementsystems an der Progression der geographischen Atrophie erhärtet und Anregungen zur weiteren Untersuchung des Einflusses des Fettstoffwechsels gegeben.

Der dieser Arbeit zugrundeliegende Datensatz wurde für eine weitere, gepoolte Analyse aus insgesamt vier Einzelstudien verwendet. Diese unter anderem auf den Erkenntnissen der vorliegenden Arbeit basierende Publikation konnte, unter Berücksichtigung von insgesamt 935 Patienten, weitere Einblicke in die Heritabilität der altersabhängigen Makuladegeneration ermöglichen.(siehe Grassmann et al., 2019, doi:10.1001/jamaophthalmol.2019.1318)

Letztendlich wurde festgehalten, dass hauptsächlich die geringe Patientenanzahl für den großen Standardfehler der Heritabilitätsberechnungen verantwortlich ist und zukünftige Studien mit einer größeren Stichprobe erforderlich sein werden, um aussagefähigere Ergebnisse zu erhalten. Zudem legt die weiterhin ungeklärte Restvarianz des GA-Wachstums (in der vorliegenden Arbeit 80%) nahe, dass noch zahlreiche unbekannte genetische Einflussgrößen existieren. Um diese zu identifizieren ist ein genomweiter Ansatz nötig, der mittels einer größeren Stichprobe auch seltene Allele einbeziehen kann.

6 – Anhang

Anhang 1: die genetische Korrelationsmatrix der vorliegenden Arbeit, auf deren Basis die Berechnungen zur Heritabilität durchgeführt wurden.

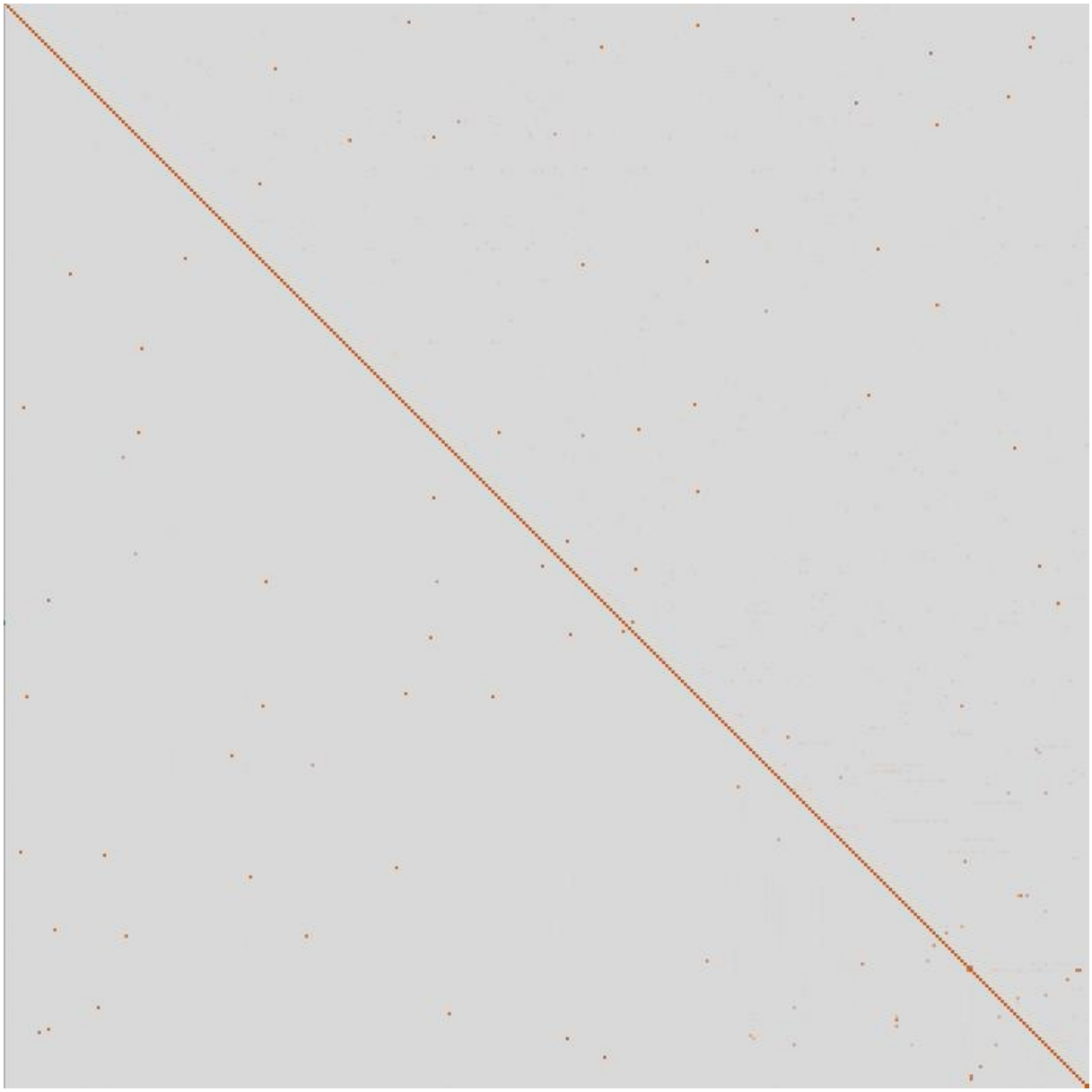

Abbildung 31: Korrelationsmatrix der vorliegenden Arbeit. Sowohl auf der Ordinate als auch auf der Abszisse sind die Patienten verzeichnet, deren genetische Übereinstimmung in der Matrix farblich dargestellt ist. Grau = kein Verwandtschaftsgrad erkennbar, Orange = geringe Korrelation, Rot = starke genetische Übereinstimmung. Für eine ausführliche Erläuterung der Abbildung siehe Seite 15. N = 349

Anhang 2: die individuellen Wachstumsraten aller 349 zur Progressionsanalyse untersuchten Patienten (**Tabelle 7**)

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm²]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
10204448	10,131	0,103	1	2	1	unilateral
10353879	4,433	0,103	9	4	1	bilateral
10693105	0,992	0,073	8,6	11	1	bilateral
11284426	15,762	0,225	3,2	6	2,5	bilateral
11451301	1,551	0,154	8	8	1,2	bilateral
11565582	5,856	0,016	2	2	1	unilateral
12123078	3,287	0,027	8,1	7	1	bilateral
12422002	6,783	0,430	4	6	1	unilateral
12438845	1,434	0,347	8	9	1,25	bilateral
12763080	2,219	0,574	1	2	6	unilateral
13573831	21,002	0,328	4,5	5	1,5	bilateral
13787009	14,367	0,182	11	20	1,18	bilateral
14528450	1,008	0,020	2,1	2	1	unilateral
14688009	5,301	0,370	4,1	10	2,7	bilateral
15640082	1,496	0,454	9,4	15	2,07	bilateral
16313608	0,693	1,431	1	2	1	unilateral
16816174	9,687	0,145	2,1	2	1	unilateral
17533163	22,197	0,042	7,1	4	1	unilateral
17755223	5,448	0,078	10,9	13	1	bilateral
18175803	2,524	0,067	1,5	2	1	unilateral
18790853	5,907	0,421	9,1	17	2,15	bilateral
18896139	12,644	0,076	6,8	4	1,5	bilateral
18897333	1,380	0,390	5,1	8	1,77	bilateral
20319726	12,195	0,300	10,1	9	1,29	bilateral
20977369	13,114	0,295	6,8	8	1,42	bilateral
21505363	13,913	0,147	6,1	10	1	bilateral
21551939	19,125	0,313	9,1	15	1,21	bilateral
21715891	8,691	0,176	1,5	3	1	unilateral
21721436	1,255	0,543	6,1	5	2,8	unilateral
22192862	3,781	0,114	6,9	7	1	unilateral
23561709	12,898	0,029	1,9	3	1	unilateral
23723624	48,690	0,007	3,4	4	1	bilateral
23870696	0,633	0,316	3,3	2	1	unilateral
24368581	2,137	0,557	4,1	4	1,17	bilateral
24519131	5,247	0,238	3,2	4	1	bilateral
24546675	11,603	0,244	12,1	16	1,3	bilateral
24719994	12,862	0,162	2	4	1	bilateral
24941584	35,025	0,370	0,7	2	1	unilateral
24986099	0,912	0,121	3,1	7	1	bilateral
25366680	3,351	0,028	10,9	12	1,5	bilateral
25624671	1,867	0,715	5	10	3,2	bilateral
25724782	0,841	0,629	1,2	2	1	unilateral
26021214	8,991	0,346	4,3	9	1,8	bilateral

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm^2]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
26115189	7,016	0,567	11,1	12	1,28	bilateral
26558494	1,902	0,165	7	3	1	unilateral
26835101	10,489	0,181	6	5	1,17	bilateral
27114794	9,019	0,327	7,1	7	1	unilateral
27505161	7,551	0,264	6,4	14	1,23	bilateral
28095139	3,752	0,253	9,4	19	1,83	bilateral
28525337	1,166	0,052	4	4	1,25	unilateral
29278111	17,630	0,151	2	3	1	unilateral
30131360	0,961	0,102	3,4	5	1	bilateral
30212884	2,166	0,080	4	3	1	unilateral
30601679	2,069	0,010	10	9	1	unilateral
31495084	3,473	0,379	2,6	7	1	bilateral
32034270	20,438	0,144	6,7	5	1,6	unilateral
33488992	0,475	0,155	4,1	4	1,5	unilateral
33759349	3,163	0,699	2,9	7	9	bilateral
34271172	21,829	0,118	11,2	8	1,25	unilateral
34349717	6,376	0,121	11	22	1	bilateral
34736289	5,266	0,043	0,9	2	1	unilateral
34851944	24,280	0,439	8,1	5	1	unilateral
35368422	28,752	0,206	9	16	1,15	bilateral
35423920	3,406	0,227	3,8	9	1	bilateral
36135815	0,924	0,144	3	4	1	unilateral
36145303	3,230	0,075	10,8	13	1	bilateral
36168182	6,316	0,017	4,2	4	1	unilateral
36473955	0,248	0,040	5,1	11	1,1	bilateral
36533593	1,075	0,265	7	8	2	bilateral
36880727	21,518	0,036	6	6	1	unilateral
36940634	6,057	0,275	2,2	3	1	unilateral
37443850	5,664	0,393	10,1	22	1,36	bilateral
37452061	10,890	0,166	2,1	4	1	bilateral
37601190	8,903	0,621	10	8	1,25	bilateral
37605112	1,464	0,169	2,9	3	1	unilateral
38128121	4,189	0,379	6,1	11	1	bilateral
38978468	1,537	0,204	7,2	5	1,13	bilateral
39007165	13,754	0,306	6,6	6	3	unilateral
39529494	51,888	0,157	3,9	3	1	unilateral
40294971	0,860	0,012	2	3	1	unilateral
40724567	22,958	0,216	8,1	3	1	unilateral
40811682	8,248	0,198	6,2	6	1	unilateral
40862485	24,366	0,345	3,9	8	1	bilateral
40971139	1,270	0,578	3	4	4	unilateral
41759012	2,015	0,389	4,8	4	1	unilateral
42237774	0,434	0,469	7,2	5	1	unilateral
42806544	0,228	0,048	9	9	1,17	bilateral
43247279	1,322	0,485	9,1	20	1,65	bilateral
43752367	2,056	0,357	6,2	3	1,67	unilateral

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm^2]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
44743629	5,492	0,243	2,8	4	1,67	bilateral
44895738	1,678	0,337	4,1	3	1	unilateral
45302131	6,061	0,030	2,9	6	1,5	bilateral
45423131	1,926	0,110	3	6	1	bilateral
45720130	0,505	0,898	3,1	3	1	unilateral
45765931	0,524	0,414	4	4	1,5	unilateral
46287867	22,672	0,249	4	8	1,1	bilateral
46578981	3,325	0,680	5	8	3,38	bilateral
47307555	0,079	0,944	6	5	1,2	unilateral
47786976	0,347	0,091	4,9	2	1	unilateral
47822725	21,093	0,364	4,1	9	3,73	bilateral
47934655	4,518	0,405	5,2	6	1	unilateral
48797693	11,094	0,384	4	5	1	unilateral
49406445	4,269	0,452	7	10	1	bilateral
49701543	2,653	0,117	10	10	1,6	unilateral
49774239	1,665	0,096	1,7	4	5	bilateral
50776115	3,169	0,226	7,5	5	1,5	bilateral
51047077	0,282	0,074	3,4	2	1	unilateral
51279635	15,806	0,120	4,3	5	1	unilateral
51507016	3,837	0,132	7,2	9	1	unilateral
51623078	1,071	0,465	7,1	15	1,19	bilateral
53471100	2,856	0,479	3,1	8	6,88	bilateral
53482868	20,955	0,072	8,5	7	1	unilateral
53687929	17,561	0,089	7,1	6	1	unilateral
54208946	8,198	0,345	11,2	22	1,45	bilateral
54231016	0,985	0,060	2	2	1	unilateral
55399880	0,179	0,491	3,3	3	1,33	unilateral
56360459	30,978	0,332	2	3	1	unilateral
56654418	3,397	0,167	9,2	9	1,78	unilateral
56715212	0,911	0,191	5,6	5	2,4	unilateral
56810759	1,710	0,380	6,7	11	3,37	bilateral
57121573	0,079	0,018	2,1	3	1	unilateral
57166951	2,406	0,332	7,1	5	1	bilateral
57196866	7,093	0,379	7,8	14	1	bilateral
57602015	2,644	0,481	11	15	2,63	bilateral
57831775	2,634	0,122	10,2	10	1	unilateral
57926908	4,602	0,579	1	2	1	unilateral
58002224	2,445	0,392	11,6	23	1,3	bilateral
59048434	2,727	0,280	6,1	7	1	unilateral
59508156	9,204	0,688	7	9	4,35	bilateral
59650334	37,949	0,867	0,7	2	1	unilateral
59674052	6,754	0,413	4,6	9	4,3	bilateral
59752079	20,776	0,080	2,8	3	1	unilateral
59842788	2,331	0,081	3,2	6	1	bilateral
60154990	1,659	0,476	0,9	2	1	unilateral
60598497	3,958	0,517	7,9	11	2	bilateral

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm^2]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
62216355	1,795	0,288	9	14	2,06	bilateral
63582781	2,091	0,459	7,1	4	2,25	unilateral
63703407	1,839	0,302	1,1	3	1,25	bilateral
64257620	4,023	0,052	10,5	9	1,89	unilateral
64352774	0,823	0,098	3,7	3	1,33	unilateral
64372221	22,015	0,319	2,9	6	1	bilateral
64375025	11,420	0,541	2	2	1	unilateral
64557659	3,522	0,438	11,3	12	1,38	bilateral
64690472	4,991	0,319	7	9	1,2	bilateral
64847106	14,965	0,638	0,4	2	1	unilateral
65531556	21,557	0,113	5	5	1,5	bilateral
65577987	1,262	0,395	12,2	16	2,67	bilateral
66273307	3,570	0,219	8,4	21	1,3	bilateral
66578811	13,548	0,075	6	5	1,2	unilateral
66612746	1,544	0,493	7,9	6	1	unilateral
66774223	0,762	0,038	3	3	1	unilateral
66821885	1,334	0,159	8,5	18	1	bilateral
67214260	6,088	0,211	2,3	5	2	bilateral
67406212	3,620	0,095	9	15	1,42	bilateral
68415052	7,049	0,323	4	10	1	bilateral
68484337	3,930	0,102	6,2	12	1,58	bilateral
68558345	26,673	0,469	4,3	7	1	bilateral
69567646	10,989	0,174	3	2	1	unilateral
70572060	1,094	0,550	5,9	4	1,25	unilateral
70866070	0,501	0,504	2	2	1	unilateral
70900409	2,499	0,108	1	2	1	unilateral
72047340	6,708	0,647	2	3	2	unilateral
72567291	14,802	0,277	8,3	16	1	bilateral
72616732	1,531	0,143	1,3	3	2	unilateral
72884000	3,689	0,237	7	5	2,75	bilateral
73572759	12,235	0,229	9,9	18	1,81	bilateral
74145759	11,660	0,146	0,9	2	1	unilateral
74891485	1,547	0,200	2,8	4	1	unilateral
74919071	24,502	0,237	7,9	5	1,4	unilateral
75269002	11,498	0,472	9	7	1	unilateral
76468201	34,996	0,083	10,1	9	1	bilateral
76517966	20,668	0,352	6	8	1	bilateral
76713327	4,184	0,187	11	19	1,65	bilateral
76959105	1,188	0,189	4,4	8	3,47	bilateral
77190050	1,585	0,209	5	7	1,17	bilateral
77241314	29,058	0,332	8,1	12	1,06	bilateral
78080780	9,282	0,194	9,9	13	1,2	bilateral
78302683	6,058	0,255	2,9	4	1	bilateral
78354639	4,854	0,245	4,9	8	1	bilateral
79156999	1,104	0,295	8,2	6	4	bilateral
80173941	4,023	0,568	4,1	9	3,88	bilateral

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm²]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
80362035	1,531	0,499	9,2	10	1,38	bilateral
80421596	5,371	0,268	5,4	5	4,33	bilateral
80685339	13,757	0,396	5,1	8	2,63	bilateral
81638142	12,993	0,109	7	6	1	unilateral
81835688	1,813	0,059	3,9	5	1	unilateral
82148424	1,495	0,064	1,4	3	2	unilateral
82218808	3,026	0,182	10,5	18	1,5	bilateral
82375182	12,503	0,140	2	5	3,92	bilateral
82970819	3,048	0,351	6,2	7	1,29	unilateral
83236911	3,028	0,345	4,4	4	3,33	bilateral
83512816	0,176	1,283	1,9	2	3,5	unilateral
83540399	1,814	0,492	5,7	8	1,1	bilateral
83684274	2,566	0,270	7,9	13	2,15	bilateral
83957155	12,001	0,176	6,9	5	1	bilateral
85112639	11,101	0,547	7,4	9	1,33	bilateral
86314549	9,911	0,242	8	5	1	bilateral
86481008	7,188	0,416	11,2	13	2,11	bilateral
87096550	3,635	0,162	4,6	5	1,5	bilateral
87337009	1,850	0,308	2,8	4	3	unilateral
87433651	13,245	0,139	9,1	14	1	bilateral
87686422	7,520	0,305	3,8	3	2	bilateral
87756948	9,319	0,401	9,3	16	2,02	bilateral
88668407	9,715	1,186	2,3	3	2	unilateral
88695005	14,479	0,332	6,3	11	1	bilateral
89069738	4,878	0,464	3,8	11	1,37	bilateral
89074324	0,406	0,441	1	2	1	unilateral
89446596	5,112	0,593	8,9	5	1	bilateral
89475718	8,136	0,469	4,5	11	1,8	bilateral
89664963	13,801	0,140	7	9	1	bilateral
89676827	0,760	0,673	1	3	2	bilateral
90091976	3,779	0,178	10,2	8	1	unilateral
90229910	13,924	1,816	1	2	1	unilateral
91087384	27,562	0,071	9,6	12	1	bilateral
91217239	2,324	0,306	0,7	2	2	unilateral
91636610	2,117	0,196	8,5	6	1	unilateral
92222329	0,465	0,302	11,9	10	3,5	bilateral
92341112	0,282	0,045	7,1	5	1	unilateral
92478701	5,808	0,317	3,7	6	1	bilateral
92506292	2,347	0,054	4,9	4	1	unilateral
92855977	0,639	0,014	1,1	2	1	unilateral
93433790	19,837	0,480	6,4	8	1,29	bilateral
93717245	4,751	0,774	2	3	2	bilateral
93824071	2,695	0,476	1	2	1	unilateral
93877219	20,007	0,361	6,7	14	1,35	bilateral
95211157	1,235	0,251	12,2	23	1,14	bilateral
95582316	40,318	0,040	7,1	3	1	bilateral

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm²]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
96442278	2,720	0,189	8,1	5	3,6	unilateral
96595500	5,187	0,604	6,5	4	1	unilateral
96682445	4,720	0,591	5,6	12	6,17	bilateral
96789159	0,235	0,027	3,9	3	1	unilateral
97356459	3,640	0,303	6	8	3,63	bilateral
98495846	23,781	0,058	4,9	4	1	bilateral
98573606	8,010	0,448	4,7	3	3,75	bilateral
99596834	4,930	0,158	3,1	3	1	unilateral
M1030605	1,629	0,808	2	2	2	unilateral
M1053324	5,931	0,461	9,3	9	2,54	bilateral
M1161837	0,916	0,110	3	4	1,5	bilateral
M1259013	6,452	0,952	0,9	3	4	bilateral
M1302587	6,057	0,350	2	4	5,5	bilateral
M1383653	3,998	0,556	1,6	2	2,5	unilateral
M1506843	3,895	0,457	3	5	3,83	bilateral
M1899370	10,112	0,504	9	15	2,56	bilateral
M2028556	0,562	0,047	1	2	1	unilateral
M2102674	8,369	0,302	8	14	1,57	bilateral
M2116187	5,156	0,306	12	11	1	bilateral
M2190793	9,532	0,354	2	3	1,33	unilateral
M2217862	8,883	0,231	3,8	5	1,13	bilateral
M2273504	3,063	0,392	6	7	2,14	unilateral
M2298572	2,675	0,127	9,1	8	1	unilateral
M2393064	5,240	0,118	4,1	6	7,1	bilateral
M2796888	2,615	0,859	2	3	3,75	bilateral
M2869918	3,842	0,214	2,1	3	1	unilateral
M3001285	19,884	0,306	10,1	4	1	unilateral
M3010765	1,319	0,158	1,8	3	2	unilateral
M3124430	3,232	0,345	8	8	1,13	unilateral
M3185614	1,082	0,377	4,9	5	1,25	bilateral
M3204799	4,632	0,390	3	3	2	unilateral
M3442107	1,808	0,209	8,3	15	1,14	bilateral
M3590573	31,256	0,499	1,9	3	1	unilateral
M3641143	1,334	0,056	1,9	3	2	unilateral
M3689476	2,579	0,090	4,1	4	1,17	bilateral
M3754542	17,005	0,144	4,4	3	1	unilateral
M3767822	0,906	0,081	7	10	1,25	bilateral
M3772262	3,868	0,844	2,9	5	1,83	bilateral
M3841393	18,729	0,082	9,1	9	1	unilateral
M4051040	32,586	0,341	4	8	2,5	bilateral
M4095141	5,916	0,156	3,8	5	1	unilateral
M4216767	3,238	0,110	7	9	1,1	bilateral
M4235630	4,368	0,101	7,1	5	1,4	unilateral
M4239167	1,738	0,163	10	13	1,29	bilateral
M4341170	7,576	0,257	11,5	20	1,59	bilateral
M4408596	0,656	0,301	5,8	8	2,9	bilateral

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm^2]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
M4451176	0,630	0,556	8,9	19	4,43	bilateral
M4556141	8,367	0,361	7,8	13	1,57	bilateral
M4584482	7,290	0,343	9,1	12	1,44	bilateral
M4834807	1,277	0,339	7,1	10	4,98	bilateral
M4860098	1,504	0,173	2	5	2,08	bilateral
M4946800	7,199	0,058	4,1	3	1	bilateral
M5025422	7,337	0,381	2,8	8	1	bilateral
M5058790	3,760	0,182	8	10	1	bilateral
M5059408	2,314	0,219	3,1	7	1,67	bilateral
M5075960	6,610	1,318	1	3	4	bilateral
M5079936	3,894	0,201	5,8	10	1,13	bilateral
M5181791	31,523	0,094	1	2	1	unilateral
M5326452	0,701	0,512	1,6	3	4,33	unilateral
M5332772	3,302	0,353	7	13	1	bilateral
M5433547	1,989	0,248	9,9	21	2,3	bilateral
M5448091	0,684	0,621	4	5	1,25	bilateral
M5547022	5,212	0,183	4,3	8	1,1	bilateral
M5565536	0,270	0,118	10,1	10	1,67	bilateral
M5570158	16,040	0,621	3,8	7	1	bilateral
M5581755	22,808	0,326	3	4	1	unilateral
M5585832	4,709	0,287	2	4	3,75	bilateral
M5674160	3,312	0,176	4,2	7	1	bilateral
M5780438	36,849	0,114	5,2	3	1,5	bilateral
M6012904	2,541	0,341	9	20	1,6	bilateral
M6023036	9,125	0,262	8,9	10	1,56	bilateral
M6238038	10,518	0,160	3	5	3	bilateral
M6372053	16,362	0,234	5,9	3	1	unilateral
M6372224	2,811	0,507	3,1	5	4,17	bilateral
M6416921	2,654	0,196	9,7	22	1	bilateral
M6442593	1,438	0,173	3,9	9	1,25	bilateral
M6495395	1,808	0,096	2,2	3	3,25	bilateral
M6640635	19,720	0,175	3,2	7	1	bilateral
M6680415	1,769	2,734	0,9	4	2,5	bilateral
M6742358	5,676	1,228	2,1	2	1	unilateral
M6746656	4,606	0,245	5,1	5	1,6	unilateral
M6792353	17,191	1,170	1	2	1	unilateral
M6819173	7,803	0,409	4	4	1	unilateral
M6832070	2,419	0,084	6	4	1,5	unilateral
M6938471	0,204	0,101	6,1	7	1,4	bilateral
M6950520	1,808	0,100	9	17	1,47	bilateral
M7103798	10,133	0,395	8,5	12	1	bilateral
M7111981	7,630	0,673	9,2	12	1	bilateral
M7222281	3,460	0,158	1	2	1,5	unilateral
M7541162	16,130	0,474	2,5	4	5,25	bilateral
M7711643	17,182	0,329	1	2	1	unilateral
M7718352	2,153	0,548	8	7	1,29	unilateral

Patienten-ID	GA-Größe zu Beginn [mm^2]	√Wachstums-rate [mm/Jahr]	Untersuchungs-zeitraum [Jahre]	Bildanzahl	Mittlere Anzahl GA-Herde	Uni-/Bilateralität
M7910113	1,008	0,101	9,9	11	2,48	bilateral
M7924976	2,811	0,124	10,3	15	1,1	bilateral
M7997860	0,903	0,207	5	4	1	unilateral
M8134757	1,638	0,213	2,9	4	2,83	bilateral
M8150462	9,681	0,372	8,8	6	2	bilateral
M8154643	10,223	0,647	2,1	5	1	bilateral
M8202040	1,561	0,497	3,8	5	2,75	bilateral
M8222998	1,163	0,121	3,8	3	3,33	unilateral
M8237570	0,194	0,984	2	2	1,5	unilateral
M8396106	1,291	0,370	1,8	5	1,58	bilateral
M8633634	18,773	0,474	1,3	2	1	unilateral
M8659058	2,284	0,022	1,9	2	1	unilateral
M8687906	3,006	0,116	4	5	1,4	unilateral
M8780445	0,137	0,234	3	3	1,67	unilateral
M8800255	3,017	0,270	7,8	13	1	bilateral
M8820652	2,159	0,285	3,3	8	8,13	bilateral
M8831610	0,700	0,159	6,9	5	1	bilateral
M8848162	1,254	0,254	1,8	5	2	bilateral
M8859993	3,248	0,300	11	11	1,14	bilateral
M9003275	12,329	0,398	9,2	5	1,4	unilateral
M9108262	6,383	0,326	7	16	2,13	bilateral
M9166758	0,980	0,298	2,8	3	1,67	unilateral
M9177515	8,752	0,062	0,9	3	1	bilateral
M9365294	15,149	0,167	3,3	2	1	unilateral
M9395501	2,247	0,224	8,4	11	1,15	bilateral
M9433164	1,526	0,067	8,2	10	1,14	bilateral
M9552692	12,005	0,474	2,9	6	1	bilateral
M9623850	0,699	0,606	4,1	8	2,13	bilateral
M9633366	5,917	0,441	10,2	18	2,13	bilateral
M9694272	0,548	0,276	12,1	15	1,5	bilateral

Tabelle 7: Die individuellen Wachstumsraten der 349 in die Progressionsanalyse einbezogenen Patienten. Die Spalte „mittlere Anzahl GA-Herde“ verzeichnet die durchschnittliche Anzahl atropher Areale, gemittelt über alle Aufnahmen eines Patienten.

7 – Abkürzungsverzeichnis

AMD	– Altersabhängige Makuladegeneration
APOE	– Apolipoprotein E
AREDS	– Age-Related Eye Disease Study
ARMS2	– Age-related Maculopathy Susceptibility 2
C3	– Komplementfaktor 3
CFP	– Color Fundus Photography
CNV	– Choroidale Neovaskularisation
DA	– Disc Area
dbGaP	– Database of Gentoypes and Phenotypes
FAF	– Fundus Autofluoreszenz
GA	– Geographische Atrophie
GAP	– Geographic Atrophy Progression (Study)
GCTA	– Genome-wide Complex Trait Analysis
N	– Stichprobenzahl
NA	– keine Angabe
NCBI	– National Center for Biotechnology Information
NEI	– National Eye Institute
OR	– Odds Ratio
R	– Programmiersprache für Statistik
RPE	– Retinales Pigmentepithel
RS	– Reference SNP
RS/LS	– Right Side/Left Side
SD	– Standardabweichung
SDOCT	– Spectral Domain Optical Coherence Tomography
SE	– Standardfehler
SNP	– Single Nucleotide Polymorphism
UCSC	– University of California, Santa Cruz (Genome Browser Gateway)
VEGF	– Vascular Endothelial Growth Factor

8 – Literaturverzeichnis

Age-Related Eye Disease Study 2 Research Group. (2013). Lutein + zeaxanthin and omega-3 fatty acids for age-related macular degeneration: the Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) randomized clinical trial. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, *309*(19), 2005–2015. https://doi.org/10.1001/jama.2013.4997

Age-Related Eye Disease Study Research Group. (1999). The Age-Related Eye Disease Study (AREDS): design implications. AREDS report no. 1. *Controlled Clinical Trials*, *20*(6), 573–600. https://doi.org/10.1001/archopht.123.11.1570.A

Age-Related Eye Disease Study Research Group. (2001). A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, *119*(10), 1417–36. https://doi.org/10.1001/archopht.119.10.1417

Beatty, S., Boulton, M., Henson, D., Koh, H. H., & Murray, I. J. (1999). Macular pigment and age related macular degeneration. *The British Journal of Ophthalmology*, *83*(7), 867–77. https://doi.org/10.1136/bjo.83.7.867

Bressler, S. B., Muñoz, B., Solomon, S. D., West, S. K., & Salisbury Eye Evaluation (SEE) Study Team. (2008). Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Salisbury Eye Evaluation (SEE) Project. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, *126*(2), 241–245. https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2007.53

Caire, J., Recalde, S., Velazquez-Villoria, A., Garcia-Garcia, L., Reiter, N., Anter, J., … Spanish Multicenter Group on AMD. (2014). Growth of geographic atrophy on fundus autofluorescence and polymorphisms of CFH, CFB, C3, FHR1-3, and ARMS2 in age-related macular degeneration. *JAMA Ophthalmology*, *132*(5), 528–34. https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2013.8175

Chiras, D., Kitsos, G., Petersen, M. B., Skalidakis, I., & Kroupis, C. (2015). Oxidative stress in dry age-related macular degeneration and exfoliation syndrome. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, *52*(1), 12–27. https://doi.org/10.3109/10408363.2014.968703

Clemons, T. E., Milton, R. C., Klein, R., Seddon, J. M., Ferris, F. L., & Age-Related Eye Disease Study Research Group. (2005). Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology*, *112*(4), 533–9.

https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2004.10.047

Congdon, N., O'Colmain, B., Klaver, C. C. W., Klein, R., Muñoz, B., Friedman, D. S., … Mitchell, P. (2004). Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Archives of Ophthalmology*, *122*(4), 477–485. https://doi.org/10.1001/archopht.122.4.477

Cougnard-Grégoire, A., Delyfer, M.-N., Korobelnik, J.-F., Rougier, M.-B., Le Goff, M., Dartigues, J.-F., … Delcourt, C. (2014). Elevated high-density lipoprotein cholesterol and age-related macular degeneration: the Alienor study. *PloS One*, *9*(3), e90973. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090973

Despriet, D. D. G., van Duijn, C. M., Oostra, B. a, Uitterlinden, A. G., Hofman, A., Wright, A. F., … Klaver, C. C. W. (2009). Complement component C3 and risk of age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, *116*(3), 474-480.e2. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.09.055

Dobi, E. T., Puliafito, C. A., & Destro, M. (1989). A New Model of Experimental Choroidal Neovascularization in the Rat. *Archives of Ophthalmology*, *107*(2), 264–269. https://doi.org/10.1001/archopht.1989.01070010270035

Ferris, F. L., Fine, S. L., & Hyman, L. (1984). Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, *102*(11), 1640–2. https://doi.org/10.1001/archopht.1984.01040031330019

Feuer, W. J., Yehoshua, Z., Gregori, G., Penha, F. M., Chew, E. Y., Ferris, F. L., … Rosenfeld, P. J. (2013). Square root transformation of geographic atrophy area measurements to eliminate dependence of growth rates on baseline lesion measurements: a reanalysis of age-related eye disease study report no. 26. *JAMA Ophthalmology*, *131*(1), 110–1. https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2013.572

Fleckenstein, M., Schmitz-Valckenberg, S., Adrion, C., Visvalingam, S., Göbel, A. P., Mössner, A., … FAM Study Group. (2011). Progression of age-related geographic atrophy: role of the fellow eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *52*(9), 6552–7. https://doi.org/10.1167/iovs.11-7298

Fritsche, L. G., Chen, W., Schu, M., Yaspan, B. L., Yu, Y., Thorleifsson, G., … AMD Gene Consortium. (2013). Seven new loci associated with age-related macular degeneration. *Nature Genetics*, *45*(4), 433–9, 439e1-2. https://doi.org/10.1038/ng.2578

Fritsche, L. G., Igl, W., Bailey, J. N. C., Grassmann, F., Sengupta, S., Bragg-Gresham, J. L., … Heid, I. M. (2016). A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nature Genetics*,

48(2), 134–43. https://doi.org/10.1038/ng.3448

Grassmann, F., Fleckenstein, M., Chew, E. Y., Strunz, T., Schmitz-Valckenberg, S., Göbel, A. P., … Weber, B. H. F. (2015). Clinical and genetic factors associated with progression of geographic atrophy lesions in age-related macular degeneration. *PloS One*, *10*(5), e0126636. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126636

Grassmann, F., Harsch, S., Brandl, C., Kiel, C., Nürnberg, P., Toliat, M. R., … Weber, B. H. F. (2019). Assessment of Novel Genome-Wide Significant Gene Loci and Lesion Growth in Geographic Atrophy Secondary to Age-Related Macular Degeneration. *JAMA Ophthalmology*, *137*(8), 867–876. https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2019.1318

Grunwald, J. E., Pistilli, M., Ying, G.-S., Maguire, M. G., Daniel, E., Martin, D. F., & Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatments Trials Research Group. (2015). Growth of geographic atrophy in the comparison of age-related macular degeneration treatments trials. *Ophthalmology*, *122*(4), 809–16. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.11.007

Hageman, G. S., Anderson, D. H., Johnson, L. V, Hancox, L. S., Taiber, A. J., Hardisty, L. I., … Allikmets, R. (2005). A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(20), 7227–32. https://doi.org/10.1073/pnas.0501536102

Hall, J. B., Cooke Bailey, J. N., Hoffman, J. D., Pericak-Vance, M. A., Scott, W. K., Kovach, J. L., … Bush, W. S. (2015). Estimating cumulative pathway effects on risk for age-related macular degeneration using mixed linear models. *BMC Bioinformatics*, *16*(1), 329. https://doi.org/10.1186/s12859-015-0760-4

Hoffmann, E. M., Zangwill, L. M., Crowston, J. G., & Weinreb, R. N. (2007). Optic disk size and glaucoma. *Survey of Ophthalmology*, *52*(1), 32–49. https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2006.10.002

Holz, F. G., Sadda, S. R., Busbee, B., Chew, E. Y., Mitchell, P., Tufail, A., … Bressler, N. M. (2018). Efficacy and safety of lampalizumab for geographic atrophy due to age-related macular degeneration: Chroma and spectri phase 3 randomized clinical trials. *JAMA Ophthalmology*, *136*(6), 666–677. https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2018.1544

Honda, S., Nishimura, Naka, Nagai, Fujihara, & Uenishi. (2012). Comparison of the effect between pegaptanib and ranibizumab on exudative age-related macular degeneration with small lesion size. *Clinical Ophthalmology*, 365. https://doi.org/10.2147/OPTH.S30310

Jager, R. D., Mieler, W. F., & Miller, J. W. (2008). Age-related macular degeneration. *The New*

England Journal of Medicine, *358*(24), 2606–17. https://doi.org/10.1056/NEJMra0801537

Joachim, N., Mitchell, P., Kifley, A., Rochtchina, E., Hong, T., & Wang, J. J. (2013). Incidence and progression of geographic atrophy: observations from a population-based cohort. *Ophthalmology*, *120*(10), 2042–50. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2013.03.029

Johnson, L. V, Leitner, W. P., Staples, M. K., & Anderson, D. H. (2001). Complement activation and inflammatory processes in Drusen formation and age related macular degeneration. *Experimental Eye Research*, *73*(6), 887–96. https://doi.org/10.1006/exer.2001.1094

Jorkasky, J. (2014). Attitudinal Survey of Minority Populations on Eye and Vision Health and Research. Retrieved July 13, 2017, from http://www.arvo.org/AEVRsurvey/

Klein, M. L., Ferris, F. L., Francis, P. J., Lindblad, A. S., Chew, E. Y., Hamon, S. C., & Ott, J. (2010). Progression of geographic atrophy and genotype in age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, *117*(8), 1554--9, 1559.e1. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2009.12.012

Klein, R. J., Zeiss, C., Chew, E. Y., Tsai, J., Sackler, R. S., Haynes, C., … Hoh, J. (2005). Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science (New York, N.Y.)*, *308*(5720), 385–9. https://doi.org/10.1126/science.1109557

Klein, R, Klein, B. E., Jensen, S. C., & Meuer, S. M. (1997). The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, *104*(1), 7–21. https://doi.org/10.1016/S0161-6420(02)01146-6

Klein, Ronald, Klein, B. E. K., Knudtson, M. D., Wong, T. Y., Cotch, M. F., Liu, K., … Jacobs, D. R. (2006). Prevalence of age-related macular degeneration in 4 racial/ethnic groups in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ophthalmology*, *113*(3), 373–80. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2005.12.013

Klein, Ronald, Myers, C. E., Buitendijk, G. H. S., Rochtchina, E., Gao, X., de Jong, P. T. V. M., … Wang, J. J. (2014). Lipids, lipid genes, and incident age-related macular degeneration: the three continent age-related macular degeneration consortium. *American Journal of Ophthalmology*, *158*(3), 513–24.e3. https://doi.org/10.1016/j.ajo.2014.05.027

Korb, C. A., Kottler, U. B., Wolfram, C., Hoehn, R., Schulz, A., Zwiener, I., … Mirshahi, A. (2014). Prevalence of age-related macular degeneration in a large European cohort: results from the population-based Gutenberg Health Study. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv Fur Klinische Und Experimentelle Ophthalmologie*, *252*(9), 1403–11. https://doi.org/10.1007/s00417-014-

2591-9

Lim, L. S., Mitchell, P., Seddon, J. M., Holz, F. G., & Wong, T. Y. (2012). Age-related macular degeneration. *Lancet (London, England)*, *379*(9827), 1728–38. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60282-7

Lindblad, A. S., Lloyd, P. C., Clemons, T. E., Gensler, G. R., Ferris, F. L., Klein, M. L., … Age-Related Eye Disease Study Research Group. (2009). Change in area of geographic atrophy in the Age-Related Eye Disease Study: AREDS report number 26. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, *127*(9), 1168–74. https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2009.198

Lindner, M., Lambertus, S., Bax, N., Mauschitz, M., Kersten, E., Schmid, M., … Fleckenstein, M. (2015). Comparison of geographic atrophy progression in late-onset Stargardt disease and AMD. https://doi.org/10.3205/15amd21

Maller, J. B., Fagerness, J. A., Reynolds, R. C., Neale, B. M., Daly, M. J., & Seddon, J. M. (2007). Variation in complement factor 3 is associated with risk of age-related macular degeneration. *Nature Genetics*, *39*(10), 1200–1. https://doi.org/10.1038/ng2131

Mitchell, J., & Bradley, C. (2006). Quality of life in age-related macular degeneration: a review of the literature. *Health and Quality of Life Outcomes*, *4*(1), 97. https://doi.org/10.1186/1477-7525-4-97

Mullins, R. F., Russell, S. R., Anderson, D. H., & Hageman, G. S. (2000). Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *14*(7), 835–46. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10783137

Olcay, K., Çakır, A., Sönmez, M., Düzgün, E., & Yıldırım, Y. (2015). Analysing the Progression Rates of Macular Lesions with Autofluorescence Imaging Modes in Dry Age-Related Macular Degeneration. *Türk Oftalmoloji Dergisi*, *45*(6), 235–238. https://doi.org/10.4274/tjo.93276

Quigley, H. A., Brown, A. E., Morrison, J. D., & Drance, S. M. (1990). The size and shape of the optic disc in normal human eyes. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, *108*(1), 51–7. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2297333

Sarangarajan, R., & Apte, S. P. (2005). Melanin aggregation and polymerization: Possible implications in age-related macular degeneration. *Ophthalmic Research*. https://doi.org/10.1159/000085533

Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., … Cardona, A. (2012, July). Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*. https://doi.org/10.1038/nmeth.2019

Schmitz-Valckenberg, S., Sahel, J.-A., Danis, R., Fleckenstein, M., Jaffe, G. J., Wolf, S., … Holz, F. G. (2016). Natural History of Geographic Atrophy Progression Secondary to Age-Related Macular Degeneration (Geographic Atrophy Progression Study). *Ophthalmology*, *123*(2), 361–8. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2015.09.036

Scholl, H. P. N., Fleckenstein, M., Fritsche, L. G., Schmitz-Valckenberg, S., Göbel, A., Adrion, C., … Weber, B. H. F. (2009). CFH, C3 and ARMS2 are significant risk loci for susceptibility but not for disease progression of geographic atrophy due to AMD. *PloS One*, *4*(10), e7418. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007418

Shen, W. Y., Yu, M. J., Barry, C. J., Constable, I. J., & Rakoczy, P. E. (1998). Expression of cell adhesion molecules and vascular endothelial growth factor in experimental choroidal neovascularisation in the rat. *The British Journal of Ophthalmology*, *82*(9), 1063–71. https://doi.org/10.1136/bjo.82.9.1063

Sir Stewart Duke-Elder. (1957). Research and the Prevention of Blindness. Retrieved May 16, 2017, from https://archive.org/stream/researchpreventi00orat/researchpreventi00orat_djvu.txt

Smith, W., Assink, J., Klein, R., Mitchell, P., Klaver, C. C., Klein, B. E., … de Jong, P. T. (2001). Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology*, *108*(4), 697–704. https://doi.org/10.1016/s0161-6420(00)00580-7

Tanvetyanon, T., & Bepler, G. (2008). Beta-carotene in multivitamins and the possible risk of lung cancer among smokers versus former smokers. *Cancer*, *113*(1), 150–157. https://doi.org/10.1002/cncr.23527

Taskintuna, I., Elsayed, M. E. A. A., & Schatz, P. (2016). Update on clinical trials in dry Age-related macular degeneration. *Middle East African Journal of Ophthalmology*, *23*(1), 13. https://doi.org/10.4103/0974-9233.173134

Tasman, W., & Jaeger, E. A. (2006). *Duane's Ophthalmology - Chapter 4: Anatomy of the Visual Sensory System*. Lippincott Williams & Wilkins.

Tryka, K. A., Hao, L., Sturcke, A., Jin, Y., Wang, Z. Y., Ziyabari, L., … Feolo, M. (2014). NCBI's Database of Genotypes and Phenotypes: dbGaP. *Nucleic Acids Research*, *42*(Database issue), D975--9. https://doi.org/10.1093/nar/gkt1211

van Wijngaarden, P., Coster, D. J., & Williams, K. A. (2005). Inhibitors of ocular

neovascularization: promises and potential problems. *JAMA*, *293*(12), 1509–13. https://doi.org/10.1001/jama.293.12.1509

VanNewkirk, M. R., Nanjan, M. B., Wang, J. J., Mitchell, P., Taylor, H. R., & McCarty, C. A. (2000). The prevalence of age-related maculopathy: the visual impairment project. *Ophthalmology*, *107*(8), 1593–600. https://doi.org/10.1016/s0161-6420(00)00175-5

Visscher, P. M., Hemani, G., Vinkhuyzen, A. A. E., Chen, G.-B., Lee, S. H., Wray, N. R., … Yang, J. (2014). Statistical power to detect genetic (co)variance of complex traits using SNP data in unrelated samples. *PLoS Genetics*, *10*(4), e1004269. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004269

Wong, W. L., Su, X., Li, X., Cheung, C. M. G., Klein, R., Cheng, C.-Y., & Wong, T. Y. (2014). Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Global Health*, *2*(2), e106-16. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70145-1

Yang, J., Benyamin, B., McEvoy, B. P., Gordon, S., Henders, A. K., Nyholt, D. R., … Visscher, P. M. (2010). Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height. *Nature Genetics*, *42*(7), 565–9. https://doi.org/10.1038/ng.608

Yang, J., Lee, S. H., Goddard, M. E., & Visscher, P. M. (2011). GCTA: a tool for genome-wide complex trait analysis. *American Journal of Human Genetics*, *88*(1), 76–82. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.11.011

Yaspan, B. L., Williams, D. F., Holz, F. G., Regillo, C. D., Li, Z., Dressen, A., … MAHALO Study Investigators. (2017). Targeting factor D of the alternative complement pathway reduces geographic atrophy progression secondary to age-related macular degeneration. *Science Translational Medicine*, *9*(395), 1–14. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf1443

Yehoshua, Z., Rosenfeld, P. J., Gregori, G., Feuer, W. J., Falcão, M., Lujan, B. J., & Puliafito, C. (2011). Progression of geographic atrophy in age-related macular degeneration imaged with spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*, *118*(4), 679–86. https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.08.018

Sebastian Harsch

Arzt für Humanmedizin

Persönliche Daten

Anschrift	In der Gebhardsösch 67, 78467 Konstanz
Geboren am, in	8. August 1994, Konstanz
Familienstand	Ledig
Nationalität	Deutsch

Schulische Bildung

10/2013-12/2019	Studium der Humanmedizin, Universität Regensburg
11/2019	3. Staatsexamen („sehr gut“)
10/2018	2. Staatsexamen („gut“ [87,7%])
8/2015	1. Staatsexamen/Physikum („sehr gut“, davon schriftlich „gut“ [88,6%], mündlich „sehr gut“)
5/2013	Test für medizinische Studiengänge TMS (Prozentrang 97)
9/2012-8/2013	Ausbildung zum Rettungssanitäter, DRK Pfalzgrafenweiler (2,3)
3/2012	Abitur am Alexander-von-Humboldt Gymnasium, Konstanz (1,9)

Beruflicher Werdegang

11/2018-10/2019	Praktisches Jahr des Medizinstudiums
	1. Tertial: Pädiatrie, Prof. Melter, Klinikum St. Hedwig Regensburg
	2. Tertial: Allgemein- und Viszeralchirurgie, Prof. Öfner-Velano, Universitätsklinikum Innsbruck
	3. Tertial: Innere Medizin, Prof. Tilg/Prof. Bauer, Universitätsklinikum Innsbruck
2/2017-7/2020	Promotionsarbeit, Institut für Humangenetik Regensburg, Prof. Dr. Bernhard Weber
	„Untersuchungen zur genetischen Assoziation bei der Progression der geographischen Atrophie, eine Spätform der altersabhängigen Makuladegeneration“
11/2015-7/2016	Hakenhalter, Evangelisches Krankenhaus Regensburg (nebenberuflich)
1/2014-10/2015	Sitzwache, Universitätsklinikum Regensburg (nebenberuflich)
9/2013-4/2018	Rettungssanitäter, Malteser Konstanz (nebenberuflich)
9/2012-8/2013	Rettungshelfer, Malteser Konstanz (Bundesfreiwilligendienst)

Famulaturen

2/2018	Palliativmedizin, Dr. Braun, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg
9/2017	Schwerpunktpraxis Endokrinologie, Dr. Delfs, Konstanz
8/2016	Allgemeinmedizin, Dr. Schlägel, Konstanz
2/2016	Allgemein- und Viszeralchirurgie, Prof. Glatzle, Klinikum Konstanz

Sprachkenntnisse

Englisch	fließend in Wort und Schrift