

Aus der Augenklinik und Poliklinik
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Immunoproteomische Untersuchung von Tränenflüssigkeit und Serum von Patienten
mit früher, intermediärer und fortgeschrittener AMD, sowie Patienten mit treatment-
naiver neovaskulärer AMD (TEAM)**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Lia Fee Kempf
aus Heidelberg

Mainz, 2025

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Philipp Drees

1. Gutachter: PD Dr. med. Christina Korb, MD

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Haralampos Gouveris

Tag der Promotion: 06. November 2025

Nachnutzungslizenz: Namensnennung, keine Bearbeitungen (CC-BY-ND-4.0)

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	4
Abbildungsverzeichnis.....	5
Abkürzungsverzeichnis.....	6
1 Einleitung.....	9
2 Literaturdiskussion.....	11
2.1 Die Erkrankung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD).....	11
2.1.1 Definition.....	11
2.1.2 Klassifikation.....	11
2.1.3 Epidemiologie.....	12
2.1.4 Ätiologie.....	12
2.1.5 Pathogenese.....	14
2.1.6 Symptomatik.....	18
2.1.7 Diagnostik.....	19
2.1.8 Therapie.....	21
2.1.9 Prognose.....	26
2.2 Tränenfilm.....	27
3 Material und Methoden.....	29
3.1 Studienaufbau und Ziele der Studie.....	29
3.2 Rekrutierung der Patienten.....	29
3.2.1 Einschlusskriterien.....	30
3.2.2 Ausschlusskriterien.....	30
3.3 Studienproben.....	30
3.3.1 Anamnese und augenärztliche Untersuchung.....	30
3.3.2 Blutentnahme.....	31
3.3.3 Schirmer-Test.....	31
3.4 Laborarbeiten.....	32
3.4.1 Probenvorbereitung.....	32
3.4.2 IgG-Aufreinigung mit NAbTM Spin Columns, 1 mL.....	32
3.4.3 Immunpräzipitation.....	33
3.4.4 In-Lösung Verdau und Aufreinigung von Peptiden.....	35
3.4.5 Massenspektrometrische Analyse.....	35
4 Ergebnisse.....	38
4.1 Frühe AMD vs gesunde Kontrollproben.....	38
4.2 Intermediäre AMD vs gesunde Kontrollproben.....	41
4.3 Fortgeschrittene AMD vs gesunde Kontrollproben.....	44
4.4 Neovaskuläre AMD Typ 1 vs gesunde Kontrollproben.....	47
4.5 Neovaskuläre AMD Typ 2 vs gesunde Kontrollproben.....	50
5 Diskussion.....	56

6	Fazit	78
	Literaturverzeichnis	80
	Danksagung	89
	Lebenslauf.....	90

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Immunpräzipitation.....	34
Tabelle 2: Frühe AMD vs gesunde Kontrollproben	38
Tabelle 3: Intermediäre AMD vs gesunde Kontrollproben.....	41
Tabelle 4: Fortgeschrittene AMD vs gesunde Kontrollproben	44
Tabelle 5: Neovaskuläre AMD Typ 1 vs gesunde Kontrollproben	48
Tabelle 6: Neovaskuläre AMD Typ 2 vs gesunde Kontrollproben	51

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Frühe AMD vs gesunde Kontrollproben	39
Abbildung 2: String frühe AMD	40
Abbildung 3: Intermediäre AMD.....	42
Abbildung 4: String intermediäre AMD.....	43
Abbildung 5: Fortgeschrittene AMD	45
Abbildung 6: String fortgeschrittene AMD	46
Abbildung 7: Neovaskuläre AMD Typ 1	48
Abbildung 8: String neovaskuläre AMD Typ 1	49
Abbildung 9: Neovaskuläre AMD Typ 2.....	51
Abbildung 10: String neovaskuläre AMD Typ 2.....	52

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
aCL	Anticardiolipin-Antikörper
ADP	Adenosindiphosphat
ALDOC	Aldolase C
ALK001	Modifizierte Form von Vitamin A
AMD	altersbedingte Makuladegeneration
aPL	Antiphospholipid-Autoantikörper
AREDS	Age-related Eye Disease Study
ARMS2	age-related maculopathy susceptibility 2
AT1-Rezeptor	Angiotensin-II-Rezeptor Typ 1 Rezeptor
ATP	Adenosintriphosphat
BCA	Bicinchoninsäure
BCL	B-cell lymphoma
BCVA	Bestkorrigierte Sehschärfe
BRB	Blut-Retina-Schranke
CEP	Carboxyethylpyrrol
CFD	Komplementfaktors D
CFH	Komplementfaktor H
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
cm	Zentimeter
CML	Carboxymethyllysin
CNTF	ziliare neurotrophe Faktor
CNV	choroidale Neovaskularisation
CRP	C-reaktives Protein
Cu	Kupfer
DA	disc area
Da	Dalton
DAMPs	danger-associated molecular patterns
DHA	Docosahexaensäure
DHA	Docosahexaensäure
EPA	Eicosatetraensäure
EQ-5D	Euroqol 5 Dimension-Fragebogen
fAAb	Autoantikörper
Fab	Antigen-bindendes Fragment
Fc	Ristallisierbares Fragment
FDA	US-amerikanischen Food and Drug Administration
Fe	Eisen
g	Gramm
GDP	Guanosindiphosphat
GFAP	glial fibrillary acidic protein
G-Protein	Guaninnucleotide-bindendes Protein
GTP	Guanosintriphosphat
HIF-1	Hypoxie-induzierbaren Faktors 1

HRQoL	Gesundheitsbezogene Lebensqualität
HTRA1	high temperature requirement factor A1
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL-12	Interleukin 12
IL-1 β	Interleukin 1 beta
IL-6	Interleukin 6
IL-8	Interleukin 8
IOL	Intraokularlinse
IVOM	Intravitreale operative Medikamentengabe
JAK2	Janus-Tyrosin-Kinase
K	Kappa
kDA	Kilodalton
KI	Künstliche Intelligenz
kV	Kilovolt
LA	Lupus Antikoagulans
LF	Lactoferrin
LHS	Londoner Handicap-Skala
LLQ	Fragebogen zu niedriger Luminanz
LLVA	Sehschärfe bei niedriger Luminanz
m ²	Quadratmeter
MASP	Mannan-bindenden Lektin-Serin-Protease
MASP-2	Mannanbindende Lektin-assoziierte Serinprotease 2
MCP-1	makrophage chemoattractant protein
mg	Milligramm
Mg	Magnesium
min	Minute
miRNA	Micro Ribonukleinsäure
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMP-2	Metalloproteinase 2
MMP-9	Metalloproteinase 9
MT1A	Metallothionein 1A
mtDNA	Mitochondriale Desoxyribonukleinsäure
mTOR	mechanistisches Zielmolekül von Rapamycin
MTP-131	Mitochondria Targeting Peptide-131
Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	ATP-getriebene Natrium-Kalium-Pumpe
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NADH	Nicotinamidadenindinucleotid
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
ng/mmol	Nanogramm pro Millimol
nm	Nanometer
OCT	Optische Kohärenztomographie
ODD	Optischer Durchmesser; optic disc diameter
pack-years	Rauchkonsum eines Jahres, gerechnet von einer Packung Zigaretten (20 Stück) pro Tag
PAR1	Protease-aktivierte Rezeptoren

PBM	Photobiomodulation
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDT	Photodynamische Therapie
PEDF	Pigment epithelium-derived factor
PHP-Test	Preferential Hyperacuity Perimeter- Test
pH-Wert	Potential des Wasserstoffs, lateinisch: pondus hydrogenii
PKM2	Pyruvatkinase M2
PLTP	Phospholipid-Transferprotein
PPI	Protein-Protein-Interaktions-Netzwerke
ppm	Parts per million
PRN	Pro-Re-Nata-Strategie
PS	Phosphatidylserin
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RPE	Retinales Pigmentepithel
rRNA	ribosomale RNA
S100A6	S100 Calcium-bindendes Protein A6
SDD	subretinale Drusenoid-Ablagerungen
SDF-1	stromal cell-derived factor 1
sHSP	Kleine Hitzeschockproteine
	soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment
SNARE-Protein	receptor- protein
TGF-1	transformierende Wachstumsfaktor
TLP	thermische Laserphotokoagulation
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor alpha
tRNA	Transfer-RNA
TSP-1	Thrombospondin-1
T-Zellen	Lymphozyten
VEGF/R	Vascular Endothelial Growth Factor/ Rezeptor
VF-14	Visuelle Funktionsindex 14
α	Alpha
β	Beta
ω	Ohm

1 Einleitung

Die Erkrankung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) stellt eine der größten Herausforderungen der modernen Ophthalmologie dar. Als führende Ursache für irreversible Sehverluste bei älteren Menschen über 50 Jahren in den Industrieländern und als einer der Hauptgründe für schwere Sehbehinderungen weltweit, stellt sie eine erhebliche Belastung für den Erhalt der Selbstständigkeit sowie der Lebensqualität der Patienten dar. Mit zunehmender Lebenserwartung und einer älter werdenden Bevölkerung steigen die Fallzahlen dieser Krankheit an und dementsprechend fordert die AMD eine kontinuierliche und tiefgreifende Erforschung ihrer Therapieansätze und Präventionsmöglichkeiten.

Die Bedeutung dieser Doktorarbeit wird neben der steigenden Prävalenz der AMD durch die begrenzten Behandlungsoptionen, insbesondere für die trockene Form der AMD, unterstrichen. Aktuelle Therapieansätze können lediglich das Fortschreiten der feuchten AMD verlangsamen, erfordern oft eine jahrelange Therapie durch wiederholte intravitreale Injektionen und bieten keine Heilung. Trotz der erheblichen Fortschritte in der medizinischen Forschung fordert dieser unbefriedigende Zustand dringend innovative Forschungsansätze, die das Verständnis der Krankheitsmechanismen vertiefen und somit neue therapeutische sowie präventive Ansätze hervorbringen.

Die AMD ist eine chronische, fortschreitende Degeneration der zentralen Netzhautregion der Makula und zeichnet sich durch den Verlust des scharfen, zentralen Sehvermögens aus, verursacht durch strukturelle und funktionelle Anomalien der Photorezeptoren und des retinalen Pigmentepithels. Die Ätiologie der AMD ist komplex und multifaktoriell, wobei das Alter, genetische Prädispositionen, Umweltfaktoren und Lebensstilentscheidungen wie Rauchen und Ernährung eine entscheidende Rolle spielen. Die Pathogenese der AMD ist ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren, welche die Photorezeptoren, das retinale Pigmentepithel, die Bruch'sche Membran und die Choriokapillaris betreffen und zu Prozessen wie Ausbildung von Drusen und Neovaskularisierung führen. Oxidativer Stress, die Fehlfunktion der Gliazellen und weitere genetisch bedingte Faktoren tragen zur Komplexität der Erkrankung bei.

Der Aufbau dieser Doktorarbeit, als klinische, prospektive Studie konzipiert, zielt darauf ab, durch die Analyse des Immunoproteoms retinaler Antigene in Tränenflüssigkeit und Serum neue Erkenntnisse in der Grundlagenforschung der AMD zu gewinnen. Es wurden immunologische Profile von Patienten mit früher, intermediärer, fortgeschrittener und exsudativer nichttherapierter AMD Typ 1 und Typ 2 mit gesunden Kontrollprobanden verglichen. Dadurch sollen neue Erkenntnisse hinsichtlich der komplexen molekularen Mechanismen gewonnen werden, indem neue Zielstrukturen und Moleküle analysiert werden. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, einen Beitrag zur Entwicklung diagnostischer Marker und therapeutische Targets zu identifizieren sowie neue Einblicke in die komplexe Pathogenese der Erkrankung zu erlangen. Die Identifizierung neuer Biomarker soll idealerweise nicht nur die Diagnostik verfeinern, sondern auch die Grundlage für innovative neue Behandlungsansätze bilden.

Die momentane Studienlage beschäftigt sich bereits intensiv mit Biomarkern, um die Pathologie der AMD besser zu verstehen und neue Möglichkeiten in der Diagnostik und Therapie zu gewinnen. In diesen Studien wurden nur selten nichttherapierte Probanden mit einer exsudativen AMD eingeschlossen. Ebenfalls kaum vorhanden sind Studien, die alle AMD-Untergruppen zusammen im Vergleich mit gesunden Kontrollprobanden erforscht haben. Außerdem wurden die Erkenntnisse meist nur durch Proben aus dem Blutserum und

selten durch Tränenflüssigkeit gewonnen. Diese Doktorarbeit beachtet all diese Kriterien und trägt somit zu einem weiteren, wertvollen Beitrag zur medizinischen Forschung bei.

2 Literaturdiskussion

2.1 Die Erkrankung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD)

2.1.1 Definition

Die Erkrankung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) betrifft typischerweise Personen jenseits des 50 Lebensjahres, fortgeschrittene Formen treten meist erst ab 75 Jahren auf. Es ist eine häufig vorkommende, chronische Augenerkrankung der Makula, die degenerativ voranschreitet. Das Hauptsymptom ist der Verlust des zentralen Sehvermögens, das durch Anomalien der Photorezeptoren und oder des Pigmentepithels der Netzhaut verursacht wird.(1) Hierbei verschlechtern sich die Struktur und Funktion der Makula, was bis zur Erblindung führen kann. Charakteristisch ist die Ansammlung von extrazellulären Ablagerungen, so genannter Drusen.(2) Bisher existiert keine Heilung, jedoch werden mehrere Therapieansätze erforscht, die überwiegend die feuchte Form der AMD durch intravitreale Injektionen beinhaltet. Diese sind allerdings nicht zufriedenstellend wirksam, da sie nur die Progression der Erkrankung abmildern, aber zu keiner Heilung führen. (3)

2.1.2 Klassifikation

Es gibt verschiedene Klassifikationssysteme der AMD. Zum einen wird die trockene AMD von der feuchten AMD unterschieden. Die trockene Form ist bei der frühen, intermediären und späten, die wiederum als geographische Atrophie bezeichnet wird, AMD vertreten. Auch wird die trockene Form als nicht exudative Form bezeichnet und macht ungefähr 90% aller AMD-Formen aus.(4) Die feuchte AMD, die sich durch Neovaskularisierungen auszeichnet, beinhaltet den okkulten (Typ 1), den klassischen (Typ 2) Typ, die retinale angiomatöse Proliferation (Typ 3) oder polypoidale choroidale Vaskulopathie (<https://augeninfo.de/leit/leit21.pdf>).

Die Beckman-Klassifikation, die sich auf den klinischen Phänotyp konzentriert, definiert die unterschiedlichen AMD-Formen aufgrund der Drusengröße und Pigmentanomalien. Sie bezieht sich auf die Stelle innerhalb von 2 Scheibendurchmessern um das Zentrum der Makula im Auge. Diese Klassifikation teilt bei einer Drusengröße über 63 µm die frühe und bei einer Drusengröße über 125 µm die intermediäre Form der AMD ein. Die Kriterien der intermediären AMD kann auch nur oder bei zusätzlichen Pigmentanomalien erfüllt sein. Wenn die Drusen kleiner als 63 µm sind, wird dies als normale Altersveränderung abgetan.(5)

Die frühe und intermediäre AMD kann also durch Hypo- und/oder Hyperpigmentierung des retinalen Pigmentepithels der Netzhaut und der Größe der Drusen unterschieden werden. Die späte Form der AMD lässt sich einmal in die trockene Form, die geographische Atrophie, und die feuchte Form, die neovaskuläre AMD unterteilen.(3) Die geographische Atrophie stellt sich als gut abgrenzbarer Bereich mit verminderter Netzhautdicke dar, die als relative Farbveränderung wahrgenommen wird. Um die Makulaatrophie herum kann entweder eine Hypo- oder Hyperpigmentierung vorliegen.(1) Die feuchte AMD wird auch als choroidale Neovaskularisation, abgekürzt CNV, bezeichnet und weist unterschiedliche Formen auf.(6) Die bekannten Unterformen sind einmal der okkulte Typ, auch Typ 1 genannt und der klassische Typ, auch Typ 2 bezeichnet. Eine seltene Form der neovaskulären AMD ist der Typ 3. Diese verschiedenen Typen weisen eine unterschiedliche anatomische Lage der

Gefäßsprossung und der Bildgebung in der Diagnostik auf, auf diese noch im späteren eingegangen wird.(2)

Bei anderen Klassifikationen wird neben der Größe der Drusen auch der Charakter interpretiert, der als hart oder weich festgelegt ist. Harte Drusen sind häufiger vorhanden, meistens rund, weiß-gelblich, nicht altersabhängig und stellen kein Risiko für Neovaskularisationen dar. Im Gegenteil dazu sind weiche Drusen unscharf begrenzt, altersbedingt und zeigen ein höheres Risiko für die Entwicklung einer feuchten AMD.(1) Verkalkte Drusen stellen sich durch den Kalziumgehalt als weiß oder glänzend dar. Die Lage und Größe der Drusen wird in den Kategorien C-0 bis C-2 eingeteilt, wobei C-0 [1/24 Durchmesser des Sehnervenkopfes, optischer Durchmesser (ODD)], C-1 (1/12 ODD) und C-2 (1/6 ODD) (entsprechend entsprechen 63, 125 bzw. 250 µm) entspricht. Generell sind harte Drusen mit einem Durchmesser <63 µm am häufigsten in allen Altersgruppen und Geschlechtern vertreten.(7)

Weitere Unterteilungsmerkmale bieten die Lage, die Anzahl und die Fläche der Drusen oder Hyperpigmentierung sowie Hypopigmentierung. Bei der späten AMD gelten Einteilungen in serös, drusenoide, fibrovaskuläre und hämorrhagische Ablösungen der retinalen Pigmentepithels oder subretinale Pigmentepithel, subretinale und intraretinale Neovaskularisation oder foveal-sparing und foveal-involvierende geographische Atrophie. (8)

2.1.3 Epidemiologie

Bei globaler Betrachtung wird die Zahl der Erkrankten im Jahr 2020 auf 196 Millionen Personen geschätzt. Die Prävalenz jeglicher Form der AMD beträgt weltweit 8,69%, hierbei beträgt die frühe AMD 8,0% und die späte AMD 0,4%. Auffällig ist, dass die frühe AMD häufiger bei europäischer Abstammung als bei asiatischer Abstammung auftritt. Bei afrikanischer Abstammung ist jedoch jegliche Form der AMD seltener vertreten. (9) Die prozentuale Prävalenzverteilung der verschiedenen Abstammungen beträgt bei Europäern 12,3%, bei Hispanoamerikanern 10,4%, bei Afrikanern 7,5% und bei Asiaten 7,4%.(3)

Männer und Frauen sind gleichermaßen in der Prävalenz betroffen. Die AMD führte bei den Betroffenen im Jahr 2020 zu 2,1 Millionen Blinden (Sehschärfe < 3/60) oder zu einer mittelschweren bis schweren Sehbehinderung (Sehschärfe < 3-6/60). Sie gilt als vierthäufigste Ursache für Erblindung weltweit nach dem Grauen Star, der Unterkorrektur von Brechungsfehlern und dem Glaukom.(9) In den Industrieländern ist die AMD allerdings die führende Ursache für Sehbehinderungen.(3) Weltweit betrachtet ist sie für 9% aller Erblindungen und in Deutschland zu 50% aller Erblindungen und hochgradiger Sehbehinderungen verantwortlich.(10) Interessant ist, dass die feuchte Form der AMD für 90% der durch die Erkrankung verursachten Erblindungen oder schweren Sehverluste verantwortlich ist, obwohl nur 10-15% der Betroffenen eine feuchte AMD entwickeln.(6)

2.1.4 Ätiologie

Wie das Krankheitsbild der AMD schon aus seinem Namen schließen lässt, ist das Alter neben einer positiven Familienanamnese der stärkste Risikofaktor. Zu den bekannten Risikogenen für eine Entwicklung der AMD zählen CFH, CFI und TIMP3.(3) Weitere wichtige Gene, die an der Entstehung der Erkrankung beteiligt sind, sind C3, C2, ARMS2, FB, CFHR4, CFHR5 und F13B. Besonders der CFH-Polymorphismus begünstigt in fast 60% der Fälle eine AMD.(11) Das CFH Gen ist auf Chromosom 1 bei 1q31.3 lokalisiert und exprimiert

die hochtemperaturabhängige Serinpeptidase 1. Die nun veränderte CFH-Aktivität führt zur Komplementsystemaktivierungen, die wiederum zu Entzündungsreaktionen im subretinalen Gewebe führen. Auch in Drusen wurden Komponenten des Komplementsystems als Bestandteile gefunden.(4) Ein anderes wichtiges Beispiel ist der Polymorphismus des Komplementfaktors H, der den alternativen Weg des Komplementsystems hemmt. Auch dieser gehört mit zu den bekanntesten Mutationen, die mit einer AMD assoziiert werden.(12) Auch eine Korrelation bei der Entwicklung der AMD bilden die Varianten von Cholesterin-bezogenen Genen wie beispielsweise CETP, ABCA1, ABCG1, LPC, und APOE.(7) Selbstverständlich gibt es noch viele weitere Gene, die bei dem Krankheitsbild neben typischen Stoffwechselwegen auch andere Mechanismen wie die Kollagensynthese, den Lipidstoffwechsel oder Cholesterintransport, die Rezeptor-vermittelte Endozytose, die endodermale Zelldifferenzierung und die Organisation der extrazellulären Matrix beeinflussen.(3) Die familiäre Prädisposition äußert sich dadurch, dass Geschwister von AMD Erkrankten ein drei- bis sechsfach höheres Risiko als die Allgemeinbevölkerung hat ebenfalls zu erkranken.(4) Sowohl diese erhöhte Prävalenz bei Genotypen, die spezifische AMD-Gene tragen, als auch das Alter sind nicht veränderbare Risikofaktoren, die in der Therapie nicht veränderbar sind.

Andere Risikofaktoren sind jedoch beeinflussbar, wie der Body-Mass-Index, der Tabakkonsum, die Blutfette und Cholesterinwerte.(3) Der wichtigste veränderbare Faktor stellt der Tabakkonsum dar, deshalb ist es wichtig den Patienten darüber aufzuklären und ihn intrinsisch zu motivieren in Nikotinkarenz zu leben. Denn aktive Raucher seit über 40 Jahren haben ein zwei- bis viermal höheres Risiko als Nichtraucher im gleichen Alter eine AMD zu entwickeln.(4) Auch bei der Ernährung nehmen Mikronährstoffe und Fischkonsum eine Rolle ein. Nicht zu vernachlässigen sind auch okuläre Faktoren, zu denen die Irisfarbe, die Dichte, Refraktionsfehler und möglicherweise der Katarakt sowie dessen Operation vor allem in frühem Alter gehören.(1) Des Weiteren gelten Sonnenlichtexposition, Hautkrebs in der Vorgeschichte, Bildungsgrad auch als zu berücksichtigende Faktoren. Andere medizinisch-prädestinierende Erkrankungen sind Hypertonie, Diabetes, Arthritiden und weitere kardiovaskuläre Erkrankungen. Auch eine frühe Medikamenteneinnahme und Nahrungsergänzungsmittel können als Risikofaktoren für eine Entwicklung zur AMD angesehen werden.(8) Ebenfalls sind viele weitere, teils unerforschte Umweltfaktoren an der Entstehung der AMD beteiligt.(13)

In einer Metaanalyse wurden viele Risikofaktoren in ihrer Assoziation mit der AMD bewertet und es zeigte sich, dass das Alter, aktive Raucher, frühere Kataraktoperation und die familiäre Vorbelastung in mehreren Genpolymorphismen am stärksten mit der AMD in Verbindung stehen. Moderate Assoziationen stellen die Risikofaktoren höherer Body-Mass-Index, kardiovaskuläre Erkrankungen, Bluthochdruck und ein höheres Plasma-Fibrinogen da. All diese Faktoren sind ebenfalls mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen verbunden, daher spielen auch Gefäßerkrankungen, einschließlich Herzinfarkt, Schlaganfall und Angina pectoris eine Rolle für die Entwicklung einer späten AMD.(14)

Es gibt aber auch protektive Faktoren in der Ernährung, die einer Erkrankung der AMD vorbeugen oder das Risiko verringern können. Dazu zählen mehrfach ungesättigten ω -3-Fettsäuren, da diese durch entzündungshemmende und antithrombotische Prozesse sowie antioxidative Wirkungen, indem die Photorezeptoren selektiv vor oxidativem Stress geschützt werden, die Funktion und den Erhalt der Sehschärfe unterstützen. Vor allem Docosahexaensäure (DHA) und Eicosatetraensäure (EPA) inhibieren die Produktion von proinflammatorischem IL-1 β und TNF- α durch Monozyten und die Produktion von IL-6 und

IL-8 durch Endothelzellen. Des Weiteren hemmen sie die Proliferation, Migration und Permeabilität vaskulärer Endothelzellen, wodurch die Gefäßsprossung der feuchten AMD unterbunden wird.(15)

2.1.5 Pathogenese

Der betroffene Bereich bei der AMD ist die Makula, auch der gelbe Fleck genannt. Diese gehört zum zentralen Nervensystem und ermöglicht scharfes, klares und geradliniges Sehen, da die Dichte der Photorezeptoren an dieser Stelle sehr hoch ist. Charakteristischerweise sterben zuerst die Stäbchen bevor die Zapfen bei der trockenen AMD zu Grunde gehen.(16)

Bei der trockenen AMD reichern sich in der Makula extrazelluläre Ablagerungen innerhalb der inneren kollagenen Schicht der trilaminären Bruch'schen Membran an. Diese befinden sich entweder basal laminar, zwischen der Plasmamembran der retinale Pigmentepithel-Zelle oder basal linear, außerhalb der Basallamina des retinalen Pigmentepithels, auch als Lamina densa bezeichnet.(2) Diese Ablagerungen entwickeln sich über viele Jahre hinweg zu Drusen, was ein komplexer und multifaktorieller Prozess ist. Die Ablagerungen zwischen dem retinalen Pigmentepithel und der inneren kollagenen Schicht der Bruch'schen Membran werden durch lokale Entzündungsreaktionen und Immunreaktionen beeinflusst. Durch Analysen von Drusen fand man neben Resten des retinalen Pigmentepithels auch viele Immunzellen wie dendritische Zellfortsätze, Immunglobuline, Klasse-II-Antigene und Komponenten des Komplementsystems.(17) Des Weiteren enthalten Drusen unter anderem auch Mucopolysaccharide, Kohlenhydrat-Makromoleküle und Zink. Zink reguliert Enzyme, die am oxidativen Stress beteiligt sind und so ein früher und entscheidender Marker für Drusen sein könnte.(7) Interessant ist auch, dass in Drusen fehlgefaltete Proteine gefunden wurden, die bei neurodegenerativen Erkrankungen, wie beispielsweise Alzheimer eine Rolle spielen.(16) Drusen können auch Lipide, Amyloide und andere zelluläre Komponente enthalten und verdicken damit die kollagenen Schichten der Bruch'schen Membran. Hierbei kommt es zu Verkalkungen, Degeneration von Elastin und Kollagen-, Lipid- und Proteinakkumulationen. Durch diese entstandene Barriere wird der Austausch von Flüssigkeit und Nährstoffen zwischen der Aderhaut und der äußeren Netzhaut eingeschränkt, was zu Minderversorgung und Ischämie führen kann.(1)

In dieser Entwicklung stellt man eine Fehlfunktion des retinalen Pigmentepithels fest, dessen Aufgabe es ist, zelluläre Ablagerungen abzubauen.(1) Das retinale Pigmentepithel erfüllt viele weitere metabolische und unterstützende Funktionen. Es ist neben der Phagozytose von apikalen Photorezeptor-Außensegmenten, auch der Blut-Retina-Schranke als Barrierefunktion etabliert und beteiligt sich am Sehzyklus. (17) Es ist ein hochaktives Gewebe und unterstützt die neuronale Netzhaut, indem es neben anderen Funktionen auch Sauerstoffradikale wie ROS auffängt und so den oxidativen Stress reduziert.(18) Als Alterungsprozess lässt die effiziente Phagozytose deutlich nach und es kommt zu Ablagerungen, die mit voranschreitendem Volumen zum Verlust von Zellen des retinalen Pigmentepithel führen und so den Verlauf weiter beschleunigen.(11) Eine andere Pathologie des retinalen Pigmentepithels im Alter ist eine Ansammlung von Restkörpern, darunter auch Lipofuscin, das normalerweise von der Choriocapillaris abgebaut wird. Die Choriocapillaris ist bei der Erkrankung der AMD verdünnt, daher wird die Eliminierung gestört und fördert so die Drusenbildung. Auch zu den begünstigenden Faktoren der Drusenentstehung gehören

Veränderungen in der Permeabilität der Bruch'schen Membran, die ebenfalls durch die Fehlfunktion des retinalen Pigmentepithels bedingt ist.(4)

Auch ein pathologisches Merkmal der AMD stellen subretinale Drusenoid-Ablagerungen (SDD) dar. Diese beeinträchtigen die Stäbchenfunktion, da sie als Indikator für Zellverlust der äußeren Netzhaut und für Photorezeptoranomalien stehen. Bei einem Viertel der Betroffenen von intermediärer AMD sind SDD vorhanden und sind durch die Dunkeladaptation signifikant bestimmbar.(19) Diese drusenartige Ablagerungen im subretinalen Raum werden auch als retikuläre Pseudodrusen bezeichnet.(20)

Bei der geographischen Atrophie führen die erheblichen Drusenablagerungen zu erschwertem Sauerstoff- und Nährstofftransport sowie Abtransport von Abfallprodukten zwischen der Choriocapillaris und dem retinalen Pigmentepithel, wodurch letztendlich die Zellen zugrunde gehen.(18) Außerdem lassen sich eine fokale Ablösung des retinalen Pigmentepithels und eine Atrophie der äußeren Netzhaut feststellen. Zu Beginn sind abgrenzbare atrophische Flecke des retinalen Pigmentepithel im perifokalen Bereich da, die sich immer weiter vergrößern bis sie jeweils zusammenwachsen.(4) Das Stadium der geographischen Atrophie ist durch den Verlust der Choriocapillaris, des retinalen Pigmentepithels und der Photorezeptoren erreicht und führt zu irreversiblen Sehverlust.(16)

Bei der Exudation gibt es verschiedene Möglichkeiten. Eines davon ist die Leckage, hierbei ist die Blut-Augen-Schranke nicht intakt und es werden Flüssigkeit, Serum und deren Bestandteile freigesetzt. Mit der Fluorescein-Angiographie wird die Leckage mit einer Hyperfluoreszenz außerhalb der Gefäßgrenzen nachgewiesen. Im Verlauf kann eine intraretinale oder subretinale Flüssigkeit entstehen, verursacht durch eine Störung oder einen Verlust der Pumpfunktion des retinalen Pigmentepithels. Die intraretinale Flüssigkeit kann auch durch intraretinale Neovaskularisation oder durch erhöhte Diffusion aufgrund von Anomalien der äußeren Begrenzungsmembran entspringen. Als harte Exudate werden auch Lipide bezeichnet, dessen Lipoproteine durch eine chronische Gefäßleckage entspringen und zu Gewebeablagerungen führen. Des Weiteren gibt es subretinales hyperreflektives exsudatives Material, das sich in oder unter der Netzhaut ablagert. Bei der Farbfundusfotografie ist es gut einsehbar und im OCT erkennt man es mit einem einheitlich erhöhtem Reflexionsvermögen.(2)

Bei der feuchten AMD entstehen die Neovaskularisierung hauptsächlich durch Hypoxie oder Ischämie. Diese führen zur Expression des Hypoxie-induzierbaren Faktors 1 (HIF-1), der eine Ausschüttung von Wachstumshormonen wie VEGF, Integrine und Proteinase bewirkt, um das unterversorgte Gewebe durch Gefäßsprossung wieder mit Nährstoffen und Sauerstoff versorgen zu können.(13) Ein zentrales Element in der Angiogenese nimmt das Zytokin VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor-A, ein. Die Funktion von VEGF ist durch Bindung an seinen extrazellulären Tyrosinkinase-Rezeptor, der durch Signalkaskaden zu unterschiedlicher Expression von Genen führt, die Angiogenese und die Gefäßdurchlässigkeit zu fördern. Diese Prozesse führen zur Migration von Endothelzellen, Gefäßsprossung, zum Flüssigkeitsaustritt sowie Blutungen bei der feuchten AMD. Bestätigend dafür, wurde bei AMD-Betroffenen eine erhöhte Konzentrationen von VEGF-A im Glaskörper analysiert und wird von mehreren Antikörpertherapeutika zur Inhibition der Gefäßsprossung bei der feuchten AMD als Behandlungsform eingesetzt.(6)

Beim Typ 1 der feuchten AMD wachsen Gefäße von der Choriocapillaris in den subretinalen Pigmentepithel-Raum hinein. Hierbei spielen auch Fibroblasten, Myofibroblasten und

Makrophagen am Krankheitsprozess eine Rolle, indem sie zu fibrotischem Gewebe führen können. Der Typ 2 hingegen hat charakteristischerweise Neovaskularisationen aus der Aderhaut, welche durch die Bruch'sche Membran und das retinale Pigmentepithel bis in den subretinalen Raum verlaufen und dort überwiegend vorhanden sind. Beim Typ 3 wachsen die Gefäße typischerweise aus dem tiefen Kapillarplexus der Netzhaut in Richtung der äußeren Netzhaut.(2) Häufig bluten die Neovaskularisierungen der feuchten AMD, da die neuen Gefäße äußerst instabil sind. Als Folge entstehen dichte Narben in der Makula, die das Sehen in diesem Bereich nicht mehr ermöglichen. Daher bildet die feuchte AMD die Hauptursachen für Sehverlust im Vergleich zu allen Formen und Stadien der AMD.(17)

Zusätzlich werden die pro-angiogenen Faktoren durch lokale Entzündungen und Immunreaktionen gefördert. Viele Immunzellen wie Neutrophile, Makrophagen und Mastzellen setzen VEGF und PEDF (Pigment epithelium-derived factor) frei, die zur Gefäßsprossung führen und so eine feuchte AMD bewirken können.(17) Auch fördernd auf die Angiogenese wirken die Metalloproteinasen 2 und 9 (MMP-2 und MMP-9). Diese Proteine bauen aufgrund ihrer sauren Eigenschaften die extrazelluläre Matrix ab und verändern so die Mikroumgebung, was zur Gefäßsprossung führt. Auch eine wichtige Rolle spielt Thrombospondin-1 (TSP-1), das zu den antiangiogenen Faktoren gehört. Dieses Glykoprotein ist neben Thrombozyten Alpha-Granula in Endothelzellen, Monozyten, Makrophagen und retinalem Pigmentepithel zu finden. Seine Expression ist bei der feuchten AMD signifikant verringert und durch seine Unterfunktion die Gefäßsprossung zu hemmen, fördert dies die Neovaskularisation. (13)

Das Komplementsystem spielt ebenfalls eine wichtige Rolle in der AMD-Pathologie. Im Auge sind die Komponenten nur in geringen Mengen im Vergleich zu anderen Körperkompartimenten vorhanden, am stärksten vertreten sind sie in der Mikroglia und im retinalen Pigmentepithel. In Drusen wurden C3, C5, C9, Komplementfaktor F und Komplementfaktor H identifiziert, das auf eine Überaktivierung und erhöhten Umsatz des Komplementsystem schließen lässt. Auch der Polymorphismus im CFH-Gen, der als Risikofaktor für die Entstehung der AMD gilt, zeigt die Bedeutung des Komplementsystem an der Pathologie.(18)

Natürlich spielen auch weitere Alterungsprozesse eine Rolle, wie zum Beispiel eine veränderte Zusammensetzung der Bruch'schen Membran, wodurch Flüssigkeit und Nährstoffe vermindert transportiert werden können. Auch die Aderhautgefäße verkleinern ihre Gefäßwand und Struktur, sodass die Entstehung einer Hypoxie noch wahrscheinlicher wird. Diese Unterversorgung von Gewebe bewirkt eine Ausschüttung von vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren, was die Angiogenese anregt.(11) Weitere Veränderungen im Alter sind spontane Mutationen in der nuklearen und mitochondrialen DNA, die zu einer mitochondrialen Dysfunktion und zu einer Abnahme der DNA-Reparaturmechanismen führt. Auch ein Verlust der zellulären Proteinhomöostase, veränderte Zellsignalübertragung und Akkumulation von Lipofuszin kann im Alter beim Krankheitsbild der AMD von Bedeutung sein.(21) Schädigungen der mtDNA der Mitochondrien im retinalen Pigmentepithel wurde bei Betroffenen mit AMD signifikant festgestellt. Der Grund hierfür stellt sich hauptsächlich aus dem altersbedingten Rückgang der mitochondrialen Funktion und oxidativem Stress durch Sauerstoffradikale dar. Zusätzlich erhöht wiederum das altersbedingt zunehmende Pigment Lipofuszin den Spiegel an reaktiven Sauerstoffradikalen.(18)

Der Risikofaktor von Tabakkonsum beeinträchtigt mehrere Mechanismen, insbesondere oxidative Schäden, die zu einer geringeren Durchblutung in der Aderhaut führen. Viele

weitere Erkrankungen, die eine Entstehung der AMD begünstigen, wird auch durch das Rauchen gefördert. Raucher haben ein zwei- bis vierfach erhöhtes Risiko an AMD zu erkranken, erst nach 20 Jahren Abstinenz ist ihre Risikoeinschätzung mit Nichtrauchern identisch.(11)

Oxidativer Stress nimmt eine sehr wichtige Position in der Pathologie ein. Da sowohl die Retina als auch das retinale Pigmentepithel hohe metabolische Prozesse für die Aufrechterhaltung ihrer Funktion benötigen, sind sie extrem anfällig für Schäden durch oxidativen Stress. DNA-Schäden erfolgen durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), wie beispielsweise Wasserstoffperoxid, Superoxid-Anionen, freie Hydroxyl-Radikale und Hydroperoxyl-Radikale. Diese fördern den Abbau von Lipiden und führen so zur Ablösung des äußeren Segments der Photorezeptoren, die wie schon beschrieben in Drusen analysiert werden konnten. Auch UV-Strahlung führt zu reaktiven Sauerstoffspezies, vor allem weißes helles Licht, insbesondere UVA. Oxidativer Stress exprimiert proinflammatorischer Zytokine, wie IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, und TNF- α , die je nach Ausprägung zur Hemmung oder Entwicklung der AMD beitragen. Erhöhte Serumspiegel von Interleukin-6 (IL-6) fördert das Auftreten und Fortschreiten der AMD, aber erhöhte Serumspiegel von Interleukin-8 (IL-8) zeigten jedoch eine protektive Wirkung, indem sie die Entwicklung der AMD vermindern.(13) Oxidativer Stress führt letztendlich zum Zelltod des retinalen Pigmentepithel, die Ähnlichkeiten mit Nekrosen aufweisen wie der Zellschwellung und Verlust der Zellmembranintegrität. Weitere Prozesse die im Krankheitsbild der AMD eine Rolle spielen ist neben der Nekrose die Apoptose, Pyroptose und Autophagie.(18) Die Autophagie beschreibt den zellulären Abbau durch das Autophagosom, eine Doppelvesikelstruktur, und anschließender Fusion mit einem Lysosom. Durch gestörte Autophagie-Prozesse im retinalen Pigmentepithel kommt es zu Anhäufungen von Autophagosomen, die bei der AMD vermehrt nachgewiesen wurden. Faktoren, welche die Autophagie beeinflussen, sind Entzündung, oxidativer Stress und Hypoxie.(13)

Weitere Ansatzmöglichkeiten zur Pathologie der AMD sind Kristalline. Die α A- und α B-Kristalline gehören zu der Familie der kleine Hitzeschockproteine (sHSP), die unter anderem an der Apoptose beteiligt sind und fehlgefaltete Proteine überarbeiten. Bei Patienten mit fortgeschrittener AMD wurde eine signifikante Zunahme der Expression von α B-Kristallin in kultivierten retinalen Pigmentepithel festgestellt. α B-Kristallin fungiert als Chaperon für VEGF, das bei der feuchten AMD eine zentrale Rolle einnimmt.(18) Auch die retinalen Mikroglia weisen bei der AMD zelluläre Veränderungen auf und sind an der Entstehung von proinflammatorischen Zytokinen und Komponenten des Komplementsystems beteiligt. Man fand heraus, dass Mikroglia in der Netzhaut wie Stammzellen ruhen und einen potenziellen Therapieansatz zur Regeneration retinaler Neuronen bieten könnte. Es bedarf jedoch weiterer Forschung um diesen Ansatz weiter zu bestätigen.(13)

Die Pathogenese spielt sich in den Photorezeptoren, dem retinalen Pigmentepithel, der Bruch'schen Membran und den Choriokapillaren ab, die funktionell eine Einheit bilden. Zu deren Prozessen gehört die Lipofuszinogenese, Drusogenese, Entzündung und Neovaskularisierung, die an der Entwicklung und der Entstehung der AMD beteiligt sind.(17) Diese oben erwähnten Abläufe und Prozesse greifen teilweise ineinander und beeinflussen sich gegenseitig, sodass eine Abgrenzung erschwert und die Komplexität des Ganzen erhöht ist.(18) Nicht zu vernachlässigen sind die vaskulären Entzündungen und Dysregulationen, mitochondriale Schädigung und die Seneszenz der RPE-Zellen.(21) Zusammenfassend zeigt sich, dass sehr viele Faktoren an der Entstehung der AMD beteiligt sind. Darunter zählt zum Beispiel der VEGF, der oxidativer Stress, die Dysfunktion der Gliazellen und vieles

Weiteres.(13) Auch wichtige Prozesse sind die Regulierung des Lipidstoffwechsels und - transports, Entzündung, Umbau der extrazellulären Matrix, Zelladhäsion, Zelltoxizität, Zelltod und Angiogenese, Autophagie sowie eine Kombination und Interaktion all dieser Wege.(22)

Trotz all dieser bisher erforschten Erkenntnisse bleibt die Pathologie der AMD noch unklar aufgrund der Komplexität des visuellen Systems, der multifaktorielle Krankheitsnatur und die bisher immer noch teils ungeklärten Alterungsprozesse.(11) Auch die Vielzahl an komplexen Interaktionen von metabolischen, funktionellen, genetischen und in der Umwelt begründeten Faktoren können trotz intensiver Grundlagenforschung noch nicht ausreichend geklärt werden.(17)

2.1.6 Symptomatik

Da die Erkrankung der AMD viele verschiedene Formen hat, präsentieren sich die klinischen Symptome je nach Stadium anders.(23) Die frühe AMD ist in den meisten Fällen asymptomatisch, die intermediäre Form oligosymptomatisch und die späte AMD am schwerwiegendsten.(10)

Zu Beginn stellen sich die Beschwerden als verzerrtes Sehen oder zentrale Gesichtsfelddefekte dar, die meist als unbewegliche, zentral gelegene graue Flecken vom Patienten beschrieben werden. Fortschreitend haben die Betroffenen immer mehr Probleme beim Lesen und Erkennen von Gegenständen und Gesichtern, wodurch die Fähigkeit zum Autofahren teilweise nicht mehr gewährleistet ist.(10) Die räumliche Orientierung bleibt jedoch durch das intakte periphere Sehen erhalten.(10)

Bei der feuchten AMD reichen die Beschwerden von einer Sehverzerrung oder Unschärfe des zentralen Sehens, insbesondere des Nahsehens, bis zu einem Skotom oder nur vage Sehbeschwerden.(12) Bei der exsudativen AMD hat man den schnellsten Sehverlust zu beklagen, der schon innerhalb von Tagen auftreten kann. Durchschnittlich verliert die Sehschärfe dabei drei Zeilen (15 Buchstaben) innerhalb von zwei Jahren.(10) Wenn es zu einer Sehbehinderung kommt gibt es verschiedene Hilfsmittel um die Selbstständigkeit so weit wie möglich aufrecht zu erhalten. Hierzu gehören Handlupen, geschlossene Fernsehgeräte oder barrierefreie Apps, Zeitschriften in Großdruck oder im schwerwiegendsten Fall Vermittlung von Sozialdiensten.(12)

Typische klinische Hinweise bei einem über 55 Jahre alten Patienten, die auf eine AMD hinweisen, sind eine fortschreitende oder plötzliche Sehverschlechterung, die sich durch optische Korrekturhilfen nicht bessern lässt, ein zentraler Gesichtsfelddefekt, Metamorphopsie, Mikropsie sowie Makropsie oder Schwierigkeiten bei der klinischen Intervention im Alter. (11) Bei AMD Patienten kann man als klinischen Endpunkt die bestkorrigierte Sehschärfe (BCVA), die Sehschärfe bei niedriger Luminanz (LLVA), Fragebogen zu niedriger Luminanz (LLQ) und die Stäbcheninterceptionszeit, die alle jeweils im Vergleich zu gesunden Augen erniedrigt sind, bestimmen.(19)

Die Betroffenen haben meist eine starke Beeinträchtigung der Lebensqualität, da sowohl körperliche, soziale als auch emotionale Probleme entstehen. Ohne zusätzliche Unterstützung wird die Bewältigung des Alltags immer schwieriger für die Erkrankten, daher kommt es zu einer erhöhten Inanspruchnahme von Gesundheitsressourcen, was wiederum zu einer hohen gesellschaftlichen Kostenbelastung führt.(11) Als bester Prädiktor der Lebensqualität dient die Sehschärfe bei AMD-Betroffenen, andere wichtige Werte sind die AMD-Klassifikation und der Umstand kein Auto mehr fahren zu können. Es können

unterschiedliche Fragebögen und Messinstrumente eingesetzt werden wie der visuelle Funktionsindex 14 (VF-14), die gesundheitsbezogene Lebensqualität (HRQoL) , die Londoner Handicap-Skala (LHS) und der Euroqol 5 Dimension-Fragebogen (EQ-5D) sowie der EQ-5D-VIS, der Sehstörungen mehr wertet und auch mit der visuellen Lebensqualität korreliert.(24)

Diese Einschränkungen wie sein Hobby nicht mehr nachgehen zu können oder nicht mehr selbstständig mobil zu sein, können auch zu psychischen Belastungen wie Ängsten und Depressionen führen. Die Ergebnisse mehrerer Studien über einen Zusammenhang zwischen AMD und Depression sowie Angst sind inkohärent. In einer Studie wurde kein Zusammenhang zwischen Depressionen und AMD, aber ein Zusammenhang zwischen AMD und geringer Ängstlichkeit festgestellt.(25) Übereinkommend zeigte sich jedoch, dass die Sehschärfe mit Depressionen verbunden sei. Betroffene nehmen im Durchschnitt mehr Anxiolytika ein, haben einen niedrigeren sozioökonomischen Status und waren seltener erwerbstätig.(25)

2.1.7 Diagnostik

Die Diagnose AMD kann mit der klinischen Untersuchung gestellt werden, wobei Drusen das früheste sichtbare klinische Zeichen darstellen.(1) Hierbei sind die Fundusuntersuchung mit erweiterten Pupillen und die Visusmessung bei der Diagnostik unerlässlich. Der Augenhintergrund kann direkt Hinweise auf sichtbare Drusen, deren Größe und das damit verbundene AMD-Stadium, geben.(11)

Die Farbfundusfotografie, zeigt ein farbiges zwei-dimensionales und hochauflösendes Bild der Netzhaut. Dadurch sind die wichtigsten Charakteristika der AMD, wie die Drusen, Pigmentveränderungen, geografische Atrophie und neovaskuläre Erscheinungen direkt erkennbar. Daher ist diese Bildgebung der Goldstandard für die Diagnose der frühen AMD und der geografischen Atrophie.(5, 20)

Trotzdem können Zusatzuntersuchungen wie die optische Kohärenztomographie (OCT) sehr sinnvoll sein, da das OCT hochauflösende Scans der Netzhautschichten darstellt, wodurch Drusen mit Ultrastruktur und in ihrer Lage exakt abgebildet werden.(1) Bei der intermediären AMD stellen sich Drusen im OCT als Erhebungen des retinalen Pigmentepithels dar. Bei der geografischen Atrophie sind in den atrophischen Regionen der Verlust der Photorezeptorbänder und des retinalen Pigmentepithels erkennbar.(4) Bei dem Vorschreiten der intermediären AMD zur geographischen Atrophie wurde eine signifikante Ausdünnung der äußeren Kernschicht, des retinalen Pigmentepithels und des inneren sowie des äußeren Photorezeptor-Segmentschicht beobachtet.(26) Auch bei der feuchten AMD kann die optische Kohärenztomographie dazu dienen, intraretinale von subretinaler Flüssigkeit zu unterscheiden und retinale Pigmentepithelabhebungen darzustellen. (1) Beim Vorschreiten der trockenen AMD zur feuchten Form wird eine Ausdünnung und veränderte Erscheinung der Aderhaut beobachtet.(26) Somit dient dieses nichtinvasive bildgebende Verfahren, das ein Querschnittsbild der Netzhaut darstellt, für die Diagnostik aller Formen der AMD.(5, 12) Im Gegensatz zur Fundusfotographie erkennt das OCT noch genauer größere Drusen, Hyperpigmentierung und die geografischer Atrophie.(20)

Ein typisches Diagnostikwerkzeug in der Praxis ist das Amsler-Gitter oder die M-Karten. Diese können Metamorphopsien erkennen, bei denen ein geradliniges Gitter auf schwarzem Hintergrund an manchen Stellen verzogen oder wellig wirkt. Besser als der Amsler Test ist

der Preferential Hyperacuity Perimeter- Test (PHP-Test). Hierbei bestimmt der Patient bei einer gepunkteten, geraden Linie die abweichenden Punkte. Die erkannten Verzerrungen werden durch automatische Aufzeichnungen zu einer Makulakarte analysiert. Allerdings ist dieses Verfahren sehr teuer und wird im Gegensatz zum Amsler-Gitter eher selten benutzt.(11)

Eine weitere Zusatzuntersuchung ist die Fundusautofluoreszenz, bei der morphologische Veränderungen sichtbar gemacht werden, die mit dem Stoffwechsel von Lipofuszin zusammenhängen. Hierbei findet man bei der geographischen Atrophie sehr geringe Fluoreszenzsignale aufgrund des Verlusts von Lipofuszin und des retinalen Pigmentepithels, was sich als dunkel darstellt.(1) Diese Bildgebung beruht auf der Emission von Licht durch Moleküle des retinalen Pigmentepithels. Eine erhöhte Autofluoreszenz entspricht einer erhöhten Lipofuszin Konzentration und falls diese in der Umgebung einer geographischen Atrophie vermehrt vorkommt, korreliert dies mit einem erhöhten Risiko des Fortschreitens der AMD Erkrankung. Die Muster von abnormaler Autofluoreszenz lässt sich in keine, fokal erhöht, gebändert, fleckig und diffus einteilen.(4) Diese invasive Bildgebung wird mit Kontrastmittelinjektion durchgeführt und gilt als Goldstandard für den Nachweis von choroidalen Neovaskularisation.(20)

Für die feuchte AMD eignet sich die Fluoreszenzangiographie, da diese Neovaskularisation in ihrer Lage und Zusammensetzung bestätigen können. Der klassische Typ wird durch eine frühe und gut definierte Hyperfluoreszenz mit Leckage in der Spätphase dargestellt. Auch eine Fluoreszeinsammlung im subretinalen Raum kann sichtbar sein, da der klassische Typ unter dem retinalen Pigmentepithel entspringt, durchzieht und letztendlich darüber wächst. Die Fluoreszenzangiographie des okkulten Typs zeigt oft unscharfe Regionen mit Multipunktatleakagen, die topographisch einer Region mit erhöhtem retinalen Pigmentepithel entsprechen, da die Gefäßsprossung unterhalb des retinalen Pigmentepithels liegt.(2, 4) Das angiografische Fluoreszenzmuster beim okkulten Typ ist entweder eine fibrovaskuläre Pigmentepithelabhebung oder eine späte Leckage aus einer unbestimmten Quelle.(1) Der Typ 3 der feuchten AMD ist durch eine intraretinale Leckage in der Fluorescein-Angiographie bestimmbar.(2) Ein in einigen Fällen noch genaueres Verfahren bietet die Indocyaningrün-Angiographie. Diese kann durch seine Farbstoffeigenschaften die Durchblutung noch besser aufzeigen als die Fluorescein-Angiographie. Daher ist diese Methode von Vorteil, wenn die feuchte AMD unklar ist oder nur schlecht klassifiziert werden kann aufgrund einer zusätzlichen überlagernden Blutung, Exsudat oder einer Pigmentüberlagerung.(1)

Selten werden Gentests, wegen ihrem hohen Kostenfaktor und ihrer Belanglosigkeit bei der Therapiewahl, durchgeführt. Hierbei wird eine Speichelprobe als genetisches Material verwendet und auf die häufigsten genetischen Biomarker für die AMD, die bereits weiter oben schon aufgeführt wurden, überprüft.(11)

Für diagnostische Erneuerungen werden momentan KI, künstliche Intelligenz, erprobt, um Patienten mit AMD zu identifizieren und deren Risiko, des ein bis zwei Jahres Voranschreitens der Erkrankung, vorherzusagen. Die KI hat einen maschinellen Lernalgorithmus, der auf bildgebenden und demografischen Faktoren der Age-related Eye Disease Study (AREDS) basiert. Bei der Klassifikation wurde eine Genauigkeit von 99,2% und bei dem Risiko eines Fortschreitens zur späten AMD innerhalb von 1 oder 2 Jahren wurde eine Genauigkeit von 67,15-86,36% erreicht. Dieses Screening- und Vorhersagemodul ist nun sowohl für die klinische Erprobung als auch den Einsatz in der Telemedizin bereit.(27)

2.1.8 Therapie

Die Therapie ist je nach Form der AMD unterschiedlich in der Wirkungsweise, dem Angriffspunkt und dem Wirkungsgrad. Allerdings ist keine Therapieform gegenwärtig in der Lage, die Erkrankung zu heilen oder den Krankheitsverlauf rückläufig zu beeinflussen. Das Ziel ist es, einen weiteren Sehverlust und ein Voranschreiten der AMD zu vermeiden. Für die trockene Form existiert noch keine in Europa zugelassene Behandlung, die meisten Therapieansätze beschäftigen sich mit der feuchten AMD.(17)

Bei der frühen AMD stehen als therapeutischer Angriffspunkt die modifizierbaren Risikofaktoren im Mittelpunkt. Diese sollen identifiziert und im Lebensstil verändert werden. Vorteilhaft ist eine ausgewogene und gesunde Ernährung mit Antioxidantien, insbesondere durch Aufnahme von Obst und Gemüse und Fisch mit ungesättigten Omega-3-Fettsäuren.(11) Als Nahrungsergänzungsmittel zeichneten sich Docosahexaensäure (DHA) und Eicosatetraensäure (EPA) in der Dosis von 1 g/Tag mit einer 50-prozentigen bzw. 60-prozentigen Verringerung des Risikos einer frühen AMD aus. Auch das Risiko an einer neovaskulären AMD zu erkranken wird dadurch signifikant reduziert.(15) Erkrankungen wie Hypertonie, Adipositas und Atherosklerose, welche die Entstehung der AMD begünstigen, sollten behandelt, gut eingestellt oder im Idealfall geheilt werden. Falls der Patient aktiver Raucher ist, sollte dieser dringlichst über die Auswirkungen des Tabakkonsums aufgeklärt und intrinsisch zu einer Nikotinkarenz motiviert werden.(11)

Die Therapie der intermediären AMD konzentriert sich neben der Beseitigung oder Reduzierung der Risikofaktoren, wobei hier die Nikotinkarenz im Vordergrund steht, auf die Einnahme von Antioxidantien als Nahrungsergänzungsmittel. Zu den einzunehmenden Antioxidantien gehören Vitamin E, Vitamin C, Beta-Carotin, wobei als Beta-Carotinersatz Lutein und Zeaxanthin verwendet werden kann, Zink und Kupfer.(11) In der "Age-Related Eye Disease Study (AREDS) 1 und 2" wurde gezeigt, dass bei über 55 jährigen Betroffenen durch Nahrungsergänzungsmittel wie Antioxidantien und Mikronährstoffen die Weiterentwicklung der fortgeschrittenen AMD über einen Zeitraum von 5 Jahren um 28% reduziert wird.(13) Die AREDS-Vitamine werden in folgenden Dosierungen empfohlen: 80 mg Zink, 2 mg Kupferoxid, 2 mg Zeaxanthin und 10 mg Lutein, 400 mg Vitamin C und 400 IE Vitamin E.(28) Die retinalen Carotinoide, zu denen Lutein, Zeaxanthin und Meso-Zeaxanthin gehören, wirken antioxidativ und verringern die Entwicklung einer AMD. Diese können nicht im Körper synthetisiert werden, sondern müssen daher mit der Nahrung zugeführt werden. (16) Auch eine erhöhte Nahrungszufuhr, die reich an langkettigen Omega-3-Fettsäuren sind, verringert das Voranschreiten der Krankheit. Zur Überprüfung des Krankheitsverlaufs, sollten halbjährig Nachkontrollen stattfinden, falls jedoch eine plötzliche Sehverschlechterung festgestellt wird, soll sofort der Augenarzt aufgesucht werden.(11)

Die Behandlung der geographischen Atrophie kennzeichnet sich durch Dokumentation, Beobachtung und Überwachung im halbjährigen Rhythmus aus. Zur Selbstkontrolle der Betroffenen von Veränderungen im zentralen Gesichtsfeld bietet sich gut das Amsler-Gitter an.(4) In der Studie namens MAHALO wurde Lampalizumab für die bilaterale geographische Atrophie ohne Neovaskularisierung erprobt. Lampalizumab ist ein humanisiertes Fab-Fragment, das die Bindung des Komplementfaktors D (CFD) an C3bB hemmt. Das CFD leitet den alternativen Weg des Komplementsystems ein und der CFD-Spiegel ist bei Patienten mit AMD erhöht. Diese Phase II Studie zeigte bei monatlichen intravitrealen Injektionen von 10 mg Lampalizumab im Vergleich zu der Placebogruppe eine statistisch signifikante Reduktion der geographischen Atrophie um 20,4% nach 18 Monaten. Die randomisierte, doppel-maskierte, placebokontrollierte Studie (TOGA) überprüft, ob niedrig

dosiertes oral eingenommenes Doxycyclin (20-40 mg/Tag), ein Tetracyclin, das entzündungshemmend wirkt, das Voranschreiten der geographischen Atrophie verlangsamen kann. Andere Studien beschäftigen sich mit der Wirkung von Statinen, mitochondrialer Schutzstoff (MTP-131) und subretinaler Transplantation von humanen embryonalen Stammzellen bei geographischer Atrophie. (23)

Andere Therapieansätze für die geographische Atrophie, die sich noch in der Forschung befinden, befassen sich mit dem Sehzyklus, mitochondrialen Prozessen, dem Komplementsystem und der Photobiomodulation (PBM). Bei dieser werden durch einen Laser mit Wellenlänge 500-1000 nm die mitochondriale Energieerzeugung, -Dichte und -Aktivität sowie die RNA- und Proteinsynthese gesteigert.(28) Für die Sehfunktion wird ALK001, eine modifizierte Form von Vitamin A, die langsamer dimerisiert, und Emixostat, welches die Isomerohydrolase RPE65 hemmt und somit Vitamin A länger im Auge behält, erprobt. Bei den mitochondrialen Abläufen wird subkutanes Elamipretid und intravitreales Risuteganib noch getestet.(20) Elamipretid ist ein SS-31, ein Mitochondria Targeting Peptide-131 (MTP-131), das in der inneren Mitochondrienmembran ROS abfängt und so vor dem oxidativen Zelltod schützt.(21) Risuteganib unterdrückt die Zelladhäsion, Migration, Entzündung und fördert die Zytoprotektion des retinalen Pigmentepithel und die mitochondrialen Funktion.(28) Ein weiterer Behandlungsansatz bietet der ziliare neurotrophe Faktor (CNTF), der für die Neuroprotektion von Stäbchen- und Zapfenphotorezeptoren und das Überleben des retinalen Pigmentepithels steht. Dieser wird mit NT501-Implantaten kontrolliert und stetig in den Glaskörperraum verabreicht.(21) Einen weiteren Ansatzpunkt bietet das Amyloid beta, das bei der Spaltung von Amyloid-Vorläuferproteinen entsteht. Diese kurze Peptidkette erhöht die VEGF-Expression im retinalen Pigmentepithel und ist als extrazelluläre Ablagerung, in den Drusen bei AMD-Patienten zu finden. RN6G ist ein humanisierter, bispezifischer IgG2a-Antikörper und bindet auf den C-Terminus der beiden Hauptformen von Amyloid beta. Ein noch in Phase II befindlicher humanisierter monoklonaler IgG1-Antikörper von aktiven klinischen Studien ist GSK933776, der das N-terminale Ende von Amyloid beta bindet.(23) MRZ-99030, der sich ebenfalls noch in der Forschung befindet, hemmt die Amyloid- β -Aggregation und verhindert so die pro-inflammatorische, pro-angiogene und neurotoxische Eigenschaften von Amyloid- β .(21) In einer anderen Studie zeigt sich, dass die Augen der Patienten, die an AMD erkrankt sind, mehr Cadmiumgehalt in der Netzhaut und im retinalen Pigmentepithel enthält als bei gesunden Probanden. Der Cadmiumgehalt wird begünstigt durch Nikotin und durch Alterungsprozesse. Hier wäre ein spekulativer Ansatz, Schwermetalle im Auge einzusetzen, um das Cadmium zu absorbieren. Ein weiterer medizinischer Therapieansatz bietet das Melatonin, da dieses Hydroxylradikale abfängt und so den oxidativen Stress verringert, der dem retinalen Pigmentepithel ansonsten schadet. Im Alter reduziert sich das Melatonin, was eine Rolle bei der Dysfunktion des retinalen Pigmentepithels sein könnte. In Studien zeigte sich eine verzögerte Makuladegeneration bei Einnahme von 3 mg Melatonin pro Tag.(11) Ein anderer Ansatzpunkt beschäftigt sich mit dem Nährstoff- und Sauerstofftransport sowie dem Abtransport von Abfallprodukten aus der Aderhaut. Bei AMD Betroffenen ist die Aderhautdicke deutlich verringert. MC-1101 ist ein Vasodilatator, der die Durchblutung der Aderhaut erhöht und so den Transport verbessert.(28) Ein weiteres Forschungsgebiet ist die Genterapie. Hierbei wird das Komplementsystem, genauer gesagt der Membranangriffskomplex, blockiert, wodurch die daraus resultierende Zellyse verhindert wird. Als einmalige intravitreale Injektion wird HRM59 verabreicht, um die Zellen zu erhalten. Während bei trockener AMD HMR-1001, wird bei neovaskuläre AMD HMR-1002 eingesetzt. Es gibt auch stammzellbasierte Behandlungsmöglichkeiten, bei denen humane embryonale

Stammzelllinien bei einem chirurgisches Verfahren transplantiert werden.(28) Beim Komplementsystem befinden sich noch unterschiedliche Inhibitoren, wie Avacincaptad Pegol und Eculizumab gegen C5 und APL-2 und Pegcetacoplan gegen C3, in der Forschung oder sind in einigen Ländern bereits zugelassen. Da die trockene Form etwa 85% der AMD-Erkrankten betrifft, ist die weitere Forschung in diesem Gebiet unerlässlich.(20, 28)

Bei der feuchten AMD gibt es sehr viele Behandlungsoptionen. Eine davon ist die Photodynamische Therapie (PDT). Hierbei wird der Photosensibilisator Verteporfin intravenös mit der Dosis von 6 mg/m² verabreicht und mit einem Laser, der eine niedrige Energie bei 689 nm hat und sichtbares rotes Licht erzeugt, aktiviert. Dabei entstehen Radikale, welche die Endothelzellen der Gefäße direkt schädigen, und so die Neovaskularisation hindern. Die Gefäßsprossung der feuchten AMD reagiert selektiv auf den Farbstoff, wodurch hier zielgenau behandelt werden kann.(4) Dies stellt nur eine palliative Therapie dar, da weder die Gefäßsprossung noch deren Blutung verhindert wird und eine VEGF Stimulation, die kontraproduktiv für die Behandlung ist, auslösen kann. In diesem Fall kann eine Kombinationstherapie mit Anti-VEGF Antikörpern durchgeführt werden.(17) Die thermische Laserphotokoagulation (TLP) hingegen entfernt extrafoveale Gefäße mit Hilfe eines Argonlasers. Diese Methode ist kostengünstig und einfach durchzuführen.(17) Jedoch nimmt die Photokoagulation immer weiter ab, da einige Risiken auftreten können. Bekannt sind eine hohe Rezidivrate, ein möglicher Sehkraftverlust und nur eine begrenzte Verbesserung der Sehkraft. In sehr ausgesuchten Fällen eignet sich das Verfahren bei sehr kleinen Läsionen außerhalb der zentralen Makula.(4)

Ein anderer Angriffspunkt bei der Therapie der feuchten AMD ist die Angiogenese zu blockieren, hierbei werden eine Vielzahl von anti-angiogenen Wirkstoffen benutzt. Der Therapieeffekt spiegelt sich in einer Rückbildung der Gefäßsprossung und einem verbesserten Sehvermögen wieder. Tatsächlich ist bei der feuchten AMD diese Behandlungsmethode die am häufigsten Durchgeführte und stellt den Goldstandard der Therapie der exsudativen AMD dar.(23) Ohne Antikörpertherapeutika, die gegen die Angiogenese gerichtet sind, würden zwischen 79% und 90% der betroffenen Augen mit feuchter AMD erblinden.(12) Bisher sind von der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) fünf Anti-VEGF-Wirkstoffe zugelassen, dazu zählen Pegaptanib (Macugen®), Ranibizumab (Lucentis®), Aflibercept (Eylea®), Brolucizumab (Beovu®) und Faricimab (Vabysmo®), die im weiteren Verlauf noch erläutert werden. Durch die Anti-VEGF-Therapien wurde die Sehkraft und Lebensqualität von Millionen von betroffenen Menschen weltweit verbessert.(22) Hierbei überwiegen die Antikörpertherapeutika, welche als intravitreale Injektionen verabreicht werden. Die innere Begrenzungsmembran der Netzhaut, lässt jedoch nur Stoffe unter 150 kDa durchdiffundieren, andernfalls werden sie durch rezeptorvermittelte Transzytose befördert.(23) Zu den Nebenwirkungen der intravitrealen Anti-VEGF-Mittel gehören subkonjunktivale Blutungen, Unwohlsein, Trübungen aufgrund von Blasen in der Spritze oder durch das Medikament selbst verursacht und selten treten schwerwiegende Komplikationen wie Glaskörperblutungen oder Endophthalmitis auf.(12) Es wurden Hinweise gefunden, dass eine weitere Nebenwirkung bei mehrfachen intravitrealen Injektionen die chronischen Erhöhung des Augeninnendrucks darstellt.(23) Es gibt vier verschiedene Dosierungsschemata für die Anti-VEGF-Behandlung bei intravitrealen Injektionen. Eines davon ist ein festes Schema mit Injektionen im monatlichen oder zweimonatlichen Abstand zueinander. Die Pro-Re-Nata-Strategie (PRN) ist ein individuelles Schema bei der Nachbehandlung und zeichnet sich durch monatliche Evaluierungsbesuche aus. Dadurch entsteht eine geringere Anzahl von Injektionen, die aber einer hohen Anzahl

aus Arztbesuchen gegenübersteht. Das Behandlungs- und Verlängerungsschema (Treat-and-Extend) kombiniert jede Injektion mit einem Besuchstermin und kann so individuell die Intervalle je nach Behandlungserfolg verlängern. Dieser Ansatz ist sehr beliebt, da er sowohl mit einer geringen Anzahl der Injektionen und gleichzeitig einer geringen Anzahl der Besuche einhergeht. Das Beobachtungs- und Planungsschema (Treat-and-Observe) sieht zuerst dreimalig Injektionen und danach Kontrollbesuche im einmonatigen Abstand vor. Das Behandlungsintervall verkürzt sich um 2 Wochen, wenn Anzeichen eines Rezidivs auftreten.(4)

Eines der zugelassenen Medikamente ist Macugen. Dieses Pegaptanib-Natrium ist ein RNA-Oligonukleotid, das an eine Isoform des VEGF, das VEGF165, mit hoher Affinität bindet und so den Wachstumsfaktor blockiert. Durch eine randomisierte Doppelblindstudie wurde ein statistisch signifikanter und klinisch bedeutsamer Nutzen mit der Dosierung 0,3 mg/Auge einmalig alle 6 Wochen festgestellt. Es ist für alle Subtypen der neovaskulären AMD geeignet und wird intravitreal verabreicht.(17) Dies war der erste von der Food and Drug Administration (FDA) zugelassene intravitreale Anti-VEGF-Wirkstoff, allerdings wird dieses Medikament kaum noch benutzt, da er durch neuere Antikörper ersetzt wurde.(12) Im Jahr 2006 wurde Ranibizumab, ein rekombinantes humanisiertes monoklonales IgG1-Fab-Fragment, von der FDA für die Behandlung der feuchten AMD zugelassen.(4) Ranibizumab (Lucentis®) ist ein humanisiertes Antigen-bindendes Fragment gegen VEGF-A, dessen Bindung eine hohe Affinität erzielt.(23) Appliziert wird Ranibizumab als monatliche intravitreale Injektion mit der Dosierung von 0,5mg/0,05 ml und kann aufgrund seiner kleinen Größe in alle Netzhautschichten diffundieren. Das Medikament erzielt Verbesserungen der Sehschärfe und eine geringere Leckage.(17) 2011 erhielt Aflibercept von der FDA seine Zulassung als intravitreale Injektion.(13) Aflibercept (Eylea®) ist ein Fusionsprotein, das aus ligandenbindenden Elementen des humanen VEGF-Rezeptors 1 und 2 und dem Bereich des humanen Immunglobulin-G1-Fragments besteht.(4) Er bindet alle VEGF-A- und VEGF-B-Isoformen mit einer höheren Affinität als deren natürliche Rezeptoren und blockiert auch den Plazenta-Wachstumsfaktor 1 (PGF1). Im Jahr 2019 wurde von der FDA Brolucizumab, ein einkettiges Antikörperfragment, für intravitreale Injektionen für die feuchte AMD zugelassen. Durch Studien zeigte sich, dass Brolucizumab (Beovu®) Aflibercept in Bezug auf die Sehschärfe nicht unterlegen war und sogar im Abstand von 12 Wochen verabreicht werden kann.(6) Zuletzt wurde Faricimab (Vabysmo®) für die Behandlung der feuchten AMD zugelassen. Faricimab ist ein vollständig humaner monoklonaler 150-kDa-Antikörper, der bispezifischer alle VEGF-A-Isoformen und Angiopoietin-2 bindet. Vabysmo zeigt ein sicheres Wirkungsprofil mit verlängerten Verabreichungsabständen.(29)

Des Weiteren gibt es sehr viele weitere Therapieansätze, die sich noch teils in der Forschung und Weiterentwicklung befinden oder schon als Off-Label Behandlung ohne Zulassung in der Klinik Verwendung finden. Ein schon lange verwendeter Wirkstoff ist Bevacizumab, dessen Handelsname Avastin lautet und ein Anti-VEGF-spezifischer rekombinanter humanisierter muriner monoklonaler Antikörper ist.(17) Dieser IgG1-Antikörper hemmt die Funktion aller biologisch aktiven Isoformen von VEGF-A.(23) Angewendet kann Bevacizumab intravitreal mit 1-1,25 mg. Da dieser keine Zulassung für ophthalmologische neovaskuläre Erkrankungen hat, wird er als Off-Label-Behandlung durchgeführt, weil er die Sehschärfe verbessert, die Makuladicke und die angiographischen Leckage bei den meisten Patienten verringert.(17) Der Antrag auf Zulassung bei der US Food and Drug Administration, abgekürzt FDA, wurde damals 2005 eingereicht und seither hat Bevacicumab durch Off-Label-Therapie seine Sicherheit und Wirksamkeit bewiesen.(6)

Eine Metaanalyse mit mehreren Studienauswertungen zeigte, dass Bevacizumab bei Patienten mit feuchter AMD dem zugelassenen Angiogenesehemmer Ranibizumab nicht unterlegen ist.(4) Pegpleranib hingegen, Handelsname Fovista, ist ein Aptamer, das an PDGF bindet und diesen hemmt. Damit wird die Perizytdichte verringert, wodurch diese Membran dann empfänglicher für Anti-VEGF-Wirkstoffe wird.(4) Ein anderer Ansatzpunkt ist Retaane (Anecortave Acetat), das ein synthetisches Cortison, welches jedoch keine Glucocorticoid Aktivität besitzt, beschreibt. Das Steroid hemmt die okuläre Proteolyse, indem es die die Proteolyse für Migration von Gefäßendothelzellen blockiert. Das Anecortave Acetat wird als Depot-Suspension in einer Dosis von 15 mg als extraokuläre Injektion angewendet. Diese Verabreichung wird alle sechs Monate durchgeführt, da der Wirkstoff langsam freigesetzt wird. Hier ist leider auch noch keine Zulassung beschlossen.(17) Ein weiteres Anti-VEGF-Molekül ist Abicipar pegol (AGN-150998). Es wurde auf Basis von Ankyrin-Repeat-Proteinen entwickelt, bindet an VEGF-A und hat eine längere intraokulare Halbwertszeit als Ranibizumab. Der Antrag auf Zulassung für Abicipar pegol ist 2020 bei der FDA eingereicht worden.(6) Es werden noch weitere Anti-VEGF-Therapeutika erprobt, wie Sirna-027 und Cand5, die beide an der mRNA von VEGF wirken.(17) Ein anderer Ansatz bietet Volociximab, ein IgG4-Antikörper, der aus 82% menschlicher und nur 18% muriner Anteile besteht. Dieser chimäre Antikörper bindet an $\alpha 5\beta 1$ -Integrine und so dessen Verbindung mit Fibronectin inhibiert. Durch diese Regulierung überwiegen die proapoptischen Faktoren, die zum Untergang der Endothelzelle der Neovaskularisation führt.(23)

Ein sich in der Forschung befindender Wirkstoff ist Sonepcizumab, ein humanisierter, muriner IgG1 κ -Antikörper, der an Sphingosin-1-phosphat bindet. Die Hemmung dieses Lipids, welches als extrazellulärer Botenstoff für viele physiologische Prozesse dient, führt zu antiangiogenen, antiinflammatorischen und antifibrotischen Effekten. Bei der feuchten AMD wird so die Neovaskularisierung unterdrückt und das Bindegewebswachstums reguliert. Momentan befindet sich Sonepcizumab in Phase II bei klinischen Studien.(23) LFG316 dagegen, ein vollständig humanes IgG1, hemmt den Komplementfaktor C5. OMS721 ist ein humanisiertes IgG-Molekül gegen MASP-2 (mannanbindende Lektin-assoziierte Serinprotease 2) und inhibiert C3b-Bildung und das Komplementsystem. Dieser Antikörper befindet sich in Phase II bei klinischen Studien.(23) Auch ein interessantes Gebiet für die Therapie der AMD bietet die Immunmodulation mit immunsuppressiven Antikörpern. Beispielsweise Adalimumab, ein IgG1 κ -Antikörper, der TNF-A hemmt oder Infliximab, ein chimärer murin-humaner IgG1 κ -Antikörper, der TNF-A sowohl in seiner monomeren als auch trimeren Form bindet.(23) Ein anderer intravitrealer Anti-Wachstumsfaktor, der sich noch in Phase 3 befindet, ist Conbercept. Dieser ist eine Kombination aus der zweiten Ig-Domäne von VEGFR1 und der dritten und vierten Ig-Domäne von VEGFR2 mit dem Fc-Bereich IgG1.(6)

Es gibt auch chirurgische Möglichkeiten zur Behandlung der feuchten AMD, die jedoch sehr selten genutzt werden. Die submakuläre Chirurgie kann abnorme subretinale Neovaskularisationen und auch große submakuläre Blutungen operieren. Allerdings ist es mit einem hohen Risiko an Komplikationen wie Kataraktprogression und Netzhautablösung verbunden und zeigt nur geringe Behandlungserfolge.(12) Die noch experimentelle Makulatranslokationschirurgie verlagert die Makula in einen weniger betroffenen Bereich der Netzhaut bei Patienten mit subfovealer AMD. Anwendung findet die Methode bei Betroffenen mit großen submakulären Hämorrhagien oder selten bei Nonrespondern der Anti-VEGF-Behandlung. Bei diesem Eingriff sind schwerwiegende Risiken wie Netzhautablösung,

proliferative Vitreoretinopathie und Diplopie möglich.(4) Eine andere chirurgische Option ist die autologe RPE-Transplantation. Bei dieser Operation wird gesundes retinales Pigmentepithel in der Peripherie entnommen und in den subretinalen Raum an der erkrankten Stelle der Makula eingesetzt. RPE-Zellen können auch aus Stammzellen oder aus somatischen Zellen, die durch Differenzierung oder Zellreprogrammierung beeinflusst werden, erzeugt werden.(13)

Für eine optimale Therapie und Versorgung ist die Vermittlung des Krankheitswissen und ein gesunder Lebensstil, zu dem Ernährung, Nikotinkarenz und körperliche Aktivität gehören, entscheidend. Andere Möglichkeiten wie Hilfe in der Orientierung, Mobilität, Einnahme von Medikamenten, Nahrungsergänzungsmitteln und Einhaltung von Terminen sowie eine psychologische und sozioökonomische Beratung wären vorteilhaft.(30) Leider gibt es mehrere Problemstellen in der Versorgungsstruktur wie zum Beispiel die Finanzierung, das Patientenverständnis, der Zugang zur ophthalmologischen Versorgung, Zeitmangel, schlechte Vergütung oder Fachwissensmangel der Ärzte. Weitere Barrieren sind mangelndes Bewusstsein, sozioökonomische Benachteiligung, Kosten, Arbeitskräfteangebot und Probleme in der Compliance sowie Adhärenz.(30)

2.1.9 Prognose

Durch die immer älter werdende Bevölkerung wird die Erkrankung der AMD weltweit eine immer wichtigere Rolle einnehmen und in ihrer Prävalenz steigen.(11) In Europa wird die Zahl der AMD Erkrankten vom Jahr 2015 von 67 auf 77 Millionen im Jahr 2050 geschätzt, wobei die späte AMD um 15%, also von 400 000 im Jahr 2015 auf 700 000 im Jahr 2050 ansteigen wird.(31) Auch die verbesserte Diagnostik zur Feststellung der AMD könnte sich in steigenden Prävalenzzahlen auswirken. Trotz steigender Prävalenz, stagniert die Anzahl der Fälle von Blindheit oder schwerer Sehbehinderung in den letzten Jahren und geht tendenziell sogar zurück, was vermutlich auf die wirksamen Behandlungen für die aggressivste Form, der feuchten AMD, zurückzuführen ist.(10)

Um das Fortschreiten der AMD in Risikokategorien klassifizieren zu können dient die Age-Related Eye Disease Study 9-Step Severity Scale, welche auch als 9-stufige AREDS-Schweregradskala bezeichnet wird. Dieses basiert auf der Größe der Drusenflächen und Hyper- oder Hypopigmentierungen am Fundus. Beispielsweise ist bei der AREDS Skala Stufe 3 eine Drusenfläche von 0,056 Scheibendurchmesser, Stufe 6 eine Drusenfläche von mehr als 0,5 Scheibendurchmesser oder eine Drusenfläche größer als 0,028 DA (disc area) mit eindeutigen Hyper oder Hypopigmentierung und Stufe 9 bezeichnet eine nicht zentrale geographische Atrophie.(32) Es wurden signifikante Zusammenhänge bei der Progression von zwei bis drei Stufen in der AREDS AMD-Skala von 1-9 (1 steht für ein geringes und 9 für ein hohes Risiko) gefunden, womit sich das Risiko für das Voranschreiten der AMD zu einer neovaskulären AMD, geographischen Atrophie oder einem Verlust der Sehschärfe erhöht.(33) Für den Krankheitsverlauf entscheidend sind zahlreiche größere (>125 µm) Drusen und vor allem Hyper- oder Hypopigmentierung, da diese der Hauptrisikofaktor für das Voranschreiten des Krankheitsprozesses zu fortgeschrittenen Formen der AMD, sowohl der trockenen als auch feuchten Form ist.(17) Studien haben gezeigt, dass das Fortschreiten der intermediären zur späten AMD mit 28% innerhalb 5 Jahre wahrscheinlich ist und innerhalb von 5 Jahren zu 19% atrophische Bereiche entstehen.(10) Die im OCT erkennbaren Risikoveränderungen für ein Fortschreiten der AMD, wurden von der Studie über altersbedingte Augenkrankheiten (AREDS) erforscht. Darunter zählen Drusen

unterschiedlicher Größe und Pigmentveränderungen sowie intraretinale hyper-reflektierende Herde, heterogene interne Reflektivität innerhalb von Drusen, retikuläre Pseudodrusen und eine flache irreguläre große RPE-Erhebung.(5) Ein weiterer Prädiktor für die Entwicklung einer fortgeschrittenen AMD stellen die parafoveale Atrophie und subretinale Drusenoid-Ablagerungen (SDD) dar.(19) Natürlich ist das Voranschreiten der Erkrankung individuell stark verschieden. Bei der fortgeschrittenen AMD wird die geographische Atrophie als irreversibles Endstadium betrachtet, wohingegen die feuchte AMD als Komplikation gilt.(26) In einer Studie wurde untersucht, ob Probanden mit großen Drusen ohne Pigmentierung im Vergleich zu Probanden mit großen Drusen mit Pigmentierung Unterschiede in der Sehkraft besitzen und sich ein anderes Risiko des Voranschreitens der Krankheit ergibt. Hierbei zeigte sich, dass das Risiko der Probanden mit Pigmentanomalien eine fortgeschrittene AMD zu entwickeln mehr als doppelt so hoch ist. Die Sehfunktion ist neben den bekannte Risikofaktoren wie Fundusaussehen und das genetische Risiko auch als Vorhersagemodell für das Fortschreiten der AMD anzusehen.(34)

Unabdingbar ist eine möglichst frühzeitige Erkennung und Behandlung der AMD, um den Krankheitsverlauf positiv zu beeinflussen, um so ein gutes und funktionelles Sehvermögen zu behalten.(11) Auch eine Entwicklung und Charakterisierung von bildgebenden und systemischen Biomarkern sowie Funktionstest ist für die Diagnostik wichtig. Die Zukunft wird zeigen, ob sich neuere Methoden wie künstliche Intelligenz, Telemedizin oder Stammzelltherapien etablieren und weiterentwickeln.(22) Durch die Therapieoptionen bei der neovaskulären AMD änderte sich die Prognose von einer wahrscheinlichen Erblindung zu einer hohen Chance einer Sehverbesserung oder Stabilisierung nach zweijähriger Behandlung. Trotzdem verändert diese Behandlung nicht den Verlauf der Krankheit, sondern verzögert nur das Fortschreiten. Leider gibt es in Europa immer noch keine bewährte Behandlung für die trockene Form der AMD und für alle Formen existiert keine Prophylaxe für die AMD-Weiterentwicklung.(13)

2.2 Tränenfilm

Der Tränenfilm besteht aus mehreren Schichten, welche vielfältige Funktionen erbringen. Die äußerste Schicht besteht aus Lipiden, die von den Meibomschen Drüsen produziert werden, und die Oberflächenspannung reduzieren sowie die Verdunstung minimieren. Zuletzt folgt eine Muzinschicht, die von den Becherzellen sezerniert werden, und dazwischen befindet sich eine wässrige Schicht, welche von der Tränendrüse stammt.(35) Die Dicke der drei Schichten beträgt bis zu 6 µm. Der Tränenfilm besteht zu 98% aus Wasser, aber auch aus Elektrolyten, Glucose, Retinol und Harnstoff.(36) Des Weiteren befinden sich im Tränenfilm neben organischen Verbindungen wie Kohlenhydrate auch anorganische Salze, überwiegend Natrium und Kalium. Zu den 60% häufigsten Tränenproteinen zählen Lipocalin-1, Lactoferrin, Lysozym und das Prolaktin-induzierte Protein.(37)

Generell ist die Tränenflüssigkeit die Barriere des Auges zur Außenwelt und dient zum Schutz und zur Befeuchtung. Zum einen gilt der Schutz vor Krankheitserregern sowie Umwelteinflüssen, daher befinden sich mehrere Antiinfektiva wie Lysozym, IgA Antikörper, Lactoferrin, Lipocalin und β -Defensinen im Tränenfilm. Des Weiteren reguliert es die Wundheilung sowie Entzündungen und kann durch Antioxidantien wie Ascorbinsäure, Lactoferrin und Cystein freie Radikale abfangen und so vor oxidativem Stress schützen. Neben dem Komfort dient die Benetzung des Auges für eine optimale Brechkraft, um qualitativ hochwertiges Sehen zu ermöglichen.(35) Der Tränenfilm dient bei der Refraktion

als erste brechende Fläche und ist so für die optische Sehqualität unabdingbar. Bei einem instabilen Tränenfilm ist das Sehen durch viele Aspekte wie Kontrastempfindlichkeit, Lichtstreuung und Viskosität negativ beeinflusst. Faktoren wie Blinzeln, Augenlider, Emotionen, Temperatur, Feuchtigkeit und Luftströmung wirken sich ebenfalls auf den Tränenfilm aus.(38) Weitere Aufgaben des Tränenfilms ist die Ausschwemmung von Fremdkörpern. Auch verändert wird die Tränenzusammensetzung durch Tabakkonsum und Kontaktlinsen. Durch Kontaktlinsen wurden beispielsweise vermindertes Lysozym, erhöhte IL-6- und IL-8-Konzentrationen und weitere veränderte Tränenproteinprofilmuster festgestellt.

Es ist bereits bekannt, dass bestimmte Tränenproteine mit bestimmten Krankheit korrelieren.(39) Ein verändertes Tränenproteom kann bei vielen Augenerkrankungen nachgewiesen werden, darunter zählt abgesehen von der AMD beispielsweise auch das Glaukom, das trockene Auge, die diabetische Retinopathie, die Schilddrüsen-assoziierte Orbitopathie und der Keratokonus.(37)

3 Material und Methoden

3.1 Studienaufbau und Ziele der Studie

Das Format dieser Doktorarbeit entspricht einer klinischen, prospektiven Studie, die den Titel „Immunproteomische Untersuchung von Tränenflüssigkeit und Serum nichttherapierter Patienten mit früher, intermediärer und fortgeschrittener AMD, sowie Patienten mit neovaskulärer AMD“ trägt. Der Ethikantrag (Antragsnummer 2020-15188) wurde von der Kommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz genehmigt. Es handelt sich um eine kontrollierte, explorative, nicht-verblindete Beobachtungsstudie. Durchführungsort der monozentrischen Studie war die Augen- und Poliklinik Universitätsmedizin Mainz, Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz. Für dieses Forschungsvorhaben gilt die Augenklinik und Poliklinik Universitätsmedizin Mainz und Bayer Vital GmbH als Kostenträger. Als Forschungsfrage wurde die Hypothese entwickelt, dass die unterschiedlichen AMD-Patientengruppen immunologische Unterschiede, die mit dem Schweregrad der Erkrankung korrelieren, aufzeigen und die Identifikation neuer Zielstrukturen/-moleküle um neue Diagnose- und Therapieoptionen zu ermöglichen.

Deshalb wurde Grundlagenforschung zur Bestimmung immunproteomischer Unterschiede und zur Verteilung von Autoantikörpern in Serum- und Tränenproben von nicht-therapierten AMD-Patienten (treatment-naive) verschiedener Schweregrade im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden betrieben. Das wissenschaftliche Ziel ist die künftige Entwicklung von diagnostischen und therapeutischen Verfahren und der Gewinnung von Erkenntnissen über Pathogenese und Prognose über die AMD. Man erhofft sich retinale Antigene, korrespondierende Autoantikörper und eine Verteilung von Autoantikörper-Levels in Serum und Tränenflüssigkeit von Patienten mit früher, intermediärer und fortgeschrittener AMD, sowie Patienten mit neovaskulärer AMD (Typ I und Typ II) zu identifizieren. Zudem wird nach Autoantikörper-Mustern in Tränenflüssigkeit und Serum, die mit dem Schweregrad der AMD korrelieren, bei Patienten mit neovaskulärer AMD (Typ I und Typ II) gesucht. Dies würde eine Unterscheidung der einzelnen AMD-Subgruppen ermöglichen aufgrund von Antikörperrepertoires der Patienten. Die Ergebnisse werden zu einem besseren Verständnis der AMD auf molekularer Ebene beitragen, was wiederum unabdingbar für die Weiterentwicklung der Diagnose und Entwicklung neuer Therapieoptionen ist.

3.2 Rekrutierung der Patienten

Die Patientenrekrutierung erfolgte über die Poliklinik und IVOM-Sprechstunde der Augenklinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz und erfolgte in dem Zeitraum vom 03.11.2020 bis zum 10.08.2021. Insgesamt wurden 80 Patienten, darunter 15 gesunde Probanden und 65 Patienten pseudonymisiert gespeichert und ausgewertet. Eine Unterteilung in die verschiedenen AMD-Subformen fand statt. Es wurden für die frühe AMD 15 Patienten, die intermediäre AMD 15 Patienten und die fortgeschrittene AMD 15 Patienten rekrutiert. Die neovaskuläre AMD wurde nochmal separiert in Typ I und Typ II mit jeweils 10 Patienten. Als Kontrollgruppe wurden 15 gesunde Probanden hinzugenommen.

3.2.1 Einschlusskriterien

Als Einschlusskriterien dieser Studie galten einwilligungsfähige männliche sowie weibliche Studienteilnehmer im Alter von mindestens 50 Jahren mit den jeweiligen Diagnosekriterien für die jeweilige Unterform der AMD, die weiter oben ausführlich erklärt sind. Des Weiteren wurden nur Probanden eingeschlossen, die mindestens eine Sehschärfe von 20/400 Snellen-Äquivalent hatten.

3.2.2 Ausschlusskriterien

Von der Studie ausgeschlossen wurden nicht einwilligungsfähige Patienten, sowie Schwangere, sich in der Stillzeit Befindende oder Frauen in gebärfähigem Alter ohne Verhütung durch medizinisch anerkannte oder effektive Methoden. Weitere Ausschlusskriterien waren operative Eingriffe oder Laserbehandlungen in den letzten 3 Monaten und Patienten mit anderen VEGF-bedingten retinalen Erkrankungen, zu denen retinaler Venenverschluss, diabetische Retinopathie, diabetisches Makulaödem und myope CNV zählen. Auch nicht möglich war es Patienten mit Vorliegen einer akuten infektiösen oder inflammatorischen Erkrankung des vorderen Augenabschnitts wie eine inflammatorische Konjunktivitis oder aktive Blepharitis an der Studie teilzunehmen zu lassen. Außerdem durften keine Patienten aufgenommen werden, die in den letzten 3 Monaten mehr als dreimal am Tag befeuchtenden Augentropfen benutzten oder Kontaktlinsen getragen haben.

3.3 Studienproben

Der Studienablauf wurde nach einer gewissen Reihenfolge bei jedem Studienteilnehmer einmalig durchgeführt und dauert jeweils ungefähr 75 Minuten an. Nach ausführlicher Aufklärung über die Studie geben die Teilnehmer ihre schriftliche Einwilligung zu ihrer Teilnahme, die sie als Duplikat ausgedruckt ausgehändigt bekommen. Die Studienteilnahme ist freiwillig und enthält keinen Vorteil für den Patienten, sondern dient lediglich der Grundlagenforschung und so zum Allgemeinwohl. Das Aufklärungsformular enthält Angaben zur Studie, zum Datenschutz und zum Studienablauf.

Danach erfolgt zuerst eine ausführliche Anamnese, die durch einen standardisierten Fragebogen abgefragt wird. Als nächstes wird der Patient in einer der Kategorien (gesunde Kontrollprobanden, frühe, intermediäre, fortgeschrittene AMD oder Typ 1 oder Typ 2 der feuchten AMD) anhand von augenärztlichen Untersuchungen zugeordnet. Zusätzlich wird die Diagnose durch weitere Bildgebung spezifiziert und bestätigt. Eignet sich der Patient, wird er nun in die Studie eingeschlossen. Danach werden die Studienproben gesammelt, welche eine Blutentnahme mit zwei Serum Monovetten und ein beidseits durchgeführter Schirmertest zur nicht invasiven Gewinnung von Tränenflüssigkeit darstellt. Falls sich Befunde dieser Untersuchungen bereits in der Akte finden lassen, werden diese übernommen.

3.3.1 Anamnese und augenärztliche Untersuchung

Die ausführliche Anamnese wurde anhand eines standardisierten Fragebogens gegliedert durchgeführt. Zuerst wurden persönliche Patientendaten abgefragt wie Name, Alter, Geschlecht und Geburtsdatum. Als nächstes wurde die Klassifikation des Patienten

angekreuzt, hierbei standen sechs Gruppen zur Auswahl, nämlich frühe AMD, intermediäre AMD, späte AMD, neovaskuläre AMD Typ 1, neovaskuläre AMD Typ2 oder gesunde Probanden. An Untersuchungen wurden die Befunde der Fluoreszenzangiographie, der OCT und des Fundusfoto dokumentiert. Bei den verschiedenen AMD-Formen wurde festgehalten welches Auge betroffen ist oder ob es sich um einen beidseitigen Befund handelt. In der Augenanamnese wurden die Katarakt, das Glaukom und ein trockenes Auge abgefragt. Auch hier wurde erfragt welches Auge oder ob beide Augen betroffen sind und ein zusätzlicher Spalt für andere Erkrankungen freigelassen. An ehemaligen Operationen mit Datum und Augenseite wurden die Phakoemulsifikation mit IOL-Implantation, die Pars-Plana-Vitrektomie, die Trabekulektomie und eine Spalte für andere Operationen dokumentiert.

Außerdem wurden viele vaskuläre Risikoparameter erfragt. Hierzu zählen die Angina pectoris, arterielle Hyper- sowie Hypotonie, Hyperlipoproteinämie, ehemalige Thrombose, ehemaliger Herzinfarkt und Herzrhythmusstörungen. Ebenfalls gehört die Migräne, der Tinnitus, ein ehemaliger Hörsturz und die Einnahme von Sedativa dazu. Unter allgemeinen Risikofaktoren wurden Erkrankungen der Leber, Niere, Schilddrüse sowie Diabetes mellitus Typ 2, chronisch obstruktive Lungenerkrankungen, allergische Rhinitis, Bronchitis, Magengeschwür, Morbus Parkinson, benigne Prostatahyperplasie, Autoimmunerkrankungen sowie Depressionen erfragt. Auch der Raucherstatus wurde festgehalten mit den entsprechenden pack-years.

Die Sehschärfe wurde für jedes Auge getrennt mit Visus und Refraktion in der Nähe und Ferne bestimmt. Sehstörungen wurden ebenfalls dokumentiert. In der Spaltlampenuntersuchung wurde die Hornhaut, die Vorderkammer und die Linse jedes Auge betrachtet und befundet. Auch die Augenmedikation wurde festgehalten mit Beginn und der Applikationshäufigkeit. Andere Medikamente wie Anti-Hypertonika, Gerinnungshemmer, Lipidsenker, Antidiabetika oder Sonstige wurden ebenfalls abgefragt.

Als augenärztliche Untersuchungen wurde nach der Anamnese das Auge unter der Spaltlampe betrachtet und die Netzhaut nach medikamentöser Weitstellung der Pupille untersucht. An Bildgebung wurde die Fundusfotografie und die OCT durchgeführt. Bei AMD Patienten folgte noch eine Fluoreszenzangiografie und bei gesunden Probanden eine Refraktion und ein Sehtest.

3.3.2 Blutentnahme

Die venöse Blutentnahme wurde am sitzenden oder liegenden Studienteilnehmer mit Einmalhandschuhen durchgeführt. Nachdem eine geeignete Punktionsstelle bevorzugt in der Ellenbeuge am nicht dominanten Arm gefunden wurde, erfolgte die Desinfektion. Nach kurzem Warten nach Anlegen des Stauschlauchs, wurde in ungefähr 30 Grad die Vene mit einem Butterfly punktiert und zwei Serum Monovetten mit insgesamt 15 ml Volumen Blut abgenommen. Die zwei Blutröhrchen wurden bei Raumtemperatur mindestens 30 Minuten lang aufrecht stehen gelassen, bevor sie im Labor weiter verarbeitet wurden.

3.3.3 Schirmer-Test

Auch die Tränenflüssigkeit beider Augen mittels des Schirmer-Tests wurde bei den Studienteilnehmer ebenfalls mit Einmalhandschuhen entnommen. Zuerst wurden beide Augen mit jeweils einem Tropfen Lokalanästhesie Novesine® 0,4% Augentropfen mit dem

Wirkstoff Oxybuprocainhydrochlorid betäubt und fünf Minuten lang einwirken lassen. Nun erfolgte per sterilem Schirmer-Teststreifen nicht invasiv die Gewinnung von Tränenflüssigkeit. Dabei wurde ein langer Filterpapierstreifen aus Lackmuspapier, 5 mm breit und 35 mm lang, am sowohl linken als auch rechten äußeren, lateralen Unterlid in den Bindehautsack gelegt und verblieb dort maximal fünf Minuten lang. Danach wurde die Strecke abgelesen, welche die Tränenflüssigkeit im Papierstreifen zurückgelegt hat und dokumentiert. Die Schirmer Teststreifen wurden danach jeweils in ein markiertes Eppendorf Gefäß gelegt und im Labor weiterverarbeitet.

3.4 Laborarbeiten

3.4.1 Probenvorbereitung

Nach der Probengewinnung wurden diese im Labor der Experimentellen und Translationalen Ophthalmologie der Augenklinik an der Universitätsmedizin Mainz weiterverarbeitet und gelagert. Jeder Studienteilnehmer wurde pseudomisiert mit Hilfe von Identifikationsnummern und seine Daten werden für insgesamt 10 Jahre aufbewahrt.

Die Blutentnahmeröhrchen wurden nach 30 Minuten langen aufrechtem Stehen, in einer Zentrifuge bei 10 Grad 10 Minuten lang zentrifugiert, um die festen von den flüssigen Blutbestandteilen zu trennen. Im Anschluss wurde das Serum mit Einmalpipetten in vier Eppendorf Gefäße verteilt. Die zwei Schirmer Teststreifen wurden auch jeweils in ein Eppendorf Gefäß gelegt. Bei diesen Vorgängen wurden Einmalhandschuhe benutzt. Alle Proben, also pro Studienteilnehmer vier Serum Eppendorf Gefäße und jeweils ein Schirmertest links und rechts, wurden mit Identifizierungsnummern, also eine verschlüsselten Patienten-ID, im Programm Horus in einer Datenbank dokumentiert. Die Eppendorf Gefäße wurden in markierte Kryoboxen in einem Kühlschrank bei -20°C bis zur weiteren Analyse im Labor gelagert und wurden nach spätestens 6 Monaten in einen anderen Kühlschrank bei -80°C eingefroren.

3.4.2 IgG-Aufreinigung mit NAb™ Spin Columns, 1 mL

Verwendete Geräte, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien:

Zentrifuge (Heraeus Biofuge Primo R)	(Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)
Nab™ Protein G Spin Kit	(Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)
Phosphate Buffered Saline (PBS)	(Sigma Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland)

Zuerst wird die Säule und der Puffer auf Raumtemperatur equilibriert und die Mikrozentrifuge auf 1.000 x g eingestellt. Nachdem der Bodenverschluss abgebrochen wurde und der Deckel von der Spinsäule gelöst wurde, wird die Säule in ein 2 ml-Sammelgefäß eingesetzt. Insgesamt wird für zwei Minuten lang zentrifugiert und die Durchflussfraktion verworfen. Danach wurde die Säule durch Zugabe von 2 ml PBS zur Säule equilibriert und kurz gemischt. Die Säule wird erneut zentrifugiert und das Flow-Through verworfen. Dieser Schritt wird einmal wiederholt. Nun wird der Boden der Spinsäule mit der mitgelieferten Gummikappe verschlossen, 1500 µl Serumprobe (aus gepoolten Proben) und 500 µl PBS hinzugefügt und der obere Teil der Säule verschlossen. Die Säule wird für 10 Minuten lang

bei Raumtemperatur unter Rühren inkubiert. Danach wird der Deckel gelöst und die untere Kappe entfernt. Die Spinsäule wird in ein neues Sammelröhrchen eingefügt und zwei Minuten lang zentrifugiert. Anschließend wird die Säule in ein neues Sammelröhrchen transferiert und durch Zugabe von 2 ml PBS gewaschen. Dann wird kurz gemischt, um das Resin zu suspendieren, und erneut zwei Minuten lang zentrifugiert. Dieser Schritt wird dreimal wiederholt. Folgend wird 100 µl Neutralisationspuffer in drei Sammelgefäße hinzugefügt und die Spinsäule in eines der Gefäße gesetzt. Hiernach wird 1 ml IgG-Elutionspuffer zur Spinsäule gegeben, vorsichtig gemischt und zwei Minuten lang in das erste der drei Röhrchen mit Neutralisationspuffer zentrifugiert. Die gesammelte Lösung wird als erste Elutionsfraktion aufbewahrt und die Spinsäule wird in ein anderes Sammelgefäß überführt, welches Neutralisationspuffer enthält. Dieser Schritt wird zweimal wiederholt, um drei Fraktionen zu erhalten. Zur Regeneration der gebrauchten Säule, für die Lagerung oder Wiederverwendung wird 3 ml Elutionspuffer hinzugefügt und für 2 Minuten lang zentrifugiert. Dieser Vorgang wird dreimal wiederholt. Das Resin wird insgesamt viermal mit 2 ml PBS gewaschen, um den Elutionspuffer zu entfernen. Anschließend werden 3 ml PBS in die Säule hinzugefügt und die Säule bei 4 °C gelagert. Wichtig hierbei ist das Austrocknen des Resins zu verhindern.

3.4.3 Immunpräzipitation

ID	Sample Name	IgG	Retina-Lysat	Kommentar
KA1	Kontrolle A1	Keine	ja	Unspezifische Bindung an Beads
KA2	Kontrolle A2	Keine	ja	Unspezifische Bindung an Beads
KA3	Kontrolle A3	Keine	ja	Unspezifische Bindung an Beads
M1	Mock 1	Früh 1	Nein, PBS	Mock control
M2	Mock 2	Früh 2	Nein, PBS	Mock control
M3	Mock 3	Früh 3	Nein, PBS	Mock control
M4	Mock 4	Int 1	Nein, PBS	Mock control
M5	Mock 5	Int 2	Nein, PBS	Mock control
M6	Mock 6	Int 3	Nein, PBS	Mock control
M7	Mock 7	Fort 1	Nein, PBS	Mock control
M8	Mock 8	Fort 2	Nein, PBS	Mock control
M9	Mock 9	Fort 3	Nein, PBS	Mock control
M10	Mock 10	Neo1 1	Nein, PBS	Mock control
M11	Mock 11	Neo1 2	Nein, PBS	Mock control
M12	Mock 12	Neo1 3	Nein, PBS	Mock control
M13	Mock 13	Neo2 1	Nein, PBS	Mock control
M14	Mock 14	Neo2 2	Nein, PBS	Mock control
M15	Mock 15	Neo2 3	Nein, PBS	Mock control
M16	Mock 16	CTRL 1	Nein, PBS	Mock control
M17	Mock 17	CTRL 2	Nein, PBS	Mock control
M18	Mock 18	CTRL 3	Nein, PBS	Mock control
T1	Frühe AMD 1	Früh 1	ja	
T2	Frühe AMD 2	Früh 2	Ja	
T3	Frühe AMD 3	Früh 3	Ja	
T4	Intermediäre AMD 1	Int 1	Ja	
T5	Intermediäre AMD 2	Int 2	Ja	
T6	Intermediäre AMD 3	Int 3	Ja	

T7	Fortgeschrittene AMD 1	Fort 1	Ja	
T8	Fortgeschrittene AMD 2	Fort 2	Ja	
T9	Fortgeschrittene AMD 3	Fort 3	ja	
T10	Neovaskuläre AMD Typ I 1	Neo1 1	ja	
T11	Neovaskuläre AMD Typ I 2	Neo1 2	Ja	
T12	Neovaskuläre AMD Typ I 3	Neo1 3	Ja	
T13	Neovaskuläre AMD Typ II 1	Neo2 1	Ja	
T14	Neovaskuläre AMD Typ II 2	Neo2 2	Ja	
T15	Neovaskuläre AMD Typ II 3	Neo2 3	Ja	
T16	Gesunde Kontrolle 1	CTRL 1	Ja	
T17	Gesunde Kontrolle 2	CTRL 2	Ja	
T18	Gesunde Kontrolle 3	CTRL 3	ja	

Tabelle 1: Immunpräzipitation

Verwendete Materialien:

Pierce™ Protein A/G Magnetic Beads	(Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)
Phosphate Buffered Saline (PBS)	(Sigma Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland)
Dimethyl-Pimelindiimidat –dihydrochlorid	(Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Monoethanolamin/Ethanolamin –hydrochlorid	(Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Triethanolamin –hydrochlorid	(Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)
Glycin-HCl	(Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA)

Verwendete Chemikalien:

Bindepuffer:	Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7,4
Waschpuffer:	Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7,4
Elutionspuffer:	0,1M Glycin-HCl , pH 2,8
Crosslink Lösung A (200mL):	7,42g Triethanolamin in 200mL H ₂ O, pH 8,2
Crosslink Lösung B (200mL):	1,95g Monoethanolamin in 200ml H ₂ O, pH 8,2
DMP (5mL):	0,032g DMP (dimethyl pimelimidate dihydrochloride) in 5mL Triethanolamin

Zuerst wird die Bead-Lösung durch mehrmaliges Invertieren homogenisiert. Dann wird diese in jeweils 40 µl in Eppendorf-Tube überführt. Die Tubes werden in Magnetständer eingesetzt und die Storage Solution wird entfernt. Anschließend werden die Tubes aus den

Magnetständern entfernt und es werden je 500 µl Bindepuffer hinzugefügt. Die Beads werden durch mehrmaliges Invertieren in einen Bindepuffer homogenisiert. Nun werden die Tubes wieder in den Magnetständer eingesetzt und der Bindepuffer wird entfernt. Daraufhin wird sofort jeweils 100 µg IgG hinzugefügt. Die Beads werden durch Inversion resuspendiert. Anschließend werden die eTubes in ein end-over-end-Rotationsgerät eingesetzt und es wird eine langsame Rotation eingestellt. Die Inkubation erfolgt über eine Stunde bei 4°C. Danach werden die Tubes wieder in die Magnetständer eingesetzt und IgG-Lösung wird entfernt. Folgend wird je 500 µl Bindepuffer hinzugefügt, resuspendiert und danach der Bindepuffer entfernt. Nun wird je 500 µl Crosslink Lösung A hinzugefügt und anschließend resuspendiert. Nach dem Entfernen der Lösung wird je 500 µl DMP-Lösung hinzugefügt und erneut resuspendiert. Es wird 30 Minuten lang bei langsamem end-over-end mixing bei Raumtemperatur inkubiert. Nun wird die DMP-Lösung entfernt, je 500 µl Crosslink Lösung A hinzugefügt und erneut resuspendiert. Nachdem die Lösung entfernt wurde, werden je 500 µl Crosslinking Lösung B hinzugefügt und erneut resuspendiert. Es wird wieder eine Inkubation für 30 Minuten bei langsamem end-over-end mixing bei Raumtemperatur durchgeführt. Nach dem Entfernen der Lösung wird je 500 µl Crosslink Elutionspuffer hinzugefügt und erneut resuspendiert. Nun wird wieder die Lösung entfernt und je 500 µl Bindepuffer hinzugefügt, erneut resuspendiert und dieser Vorgang einmal wiederholt. Nachdem die Lösung entfernt wurde, wird je 4 mg Retina-Protein bzw. Bindepuffer (Mock) hinzugefügt und erneut resuspendiert. Es erfolgt eine Inkubation bei 4°C über Nacht. Danach wird das Retina-Lysat entfernt und in ein neues Eppendorf-Tube überführt (= ‚Non-bound‘). Folgend wird je 500 µl PBS hinzugefügt und erneut resuspendiert für insgesamt dreimal. Nach dem Entfernen der Lösung wird je 300 µl Elutionspuffer hinzugefügt und vorsichtig gemischt. Die Elutionsfraktion wird nun in ein anderes Sammelgefäß überführt, welches 30 µl Neutralisationspuffer enthält. Dieser Schritt wird zweimal wiederholt. Anschließend werden alle 3 Elutionsfraktionen gepoolt und das Bicinchoninsäure (BCA) Assay durchgeführt.

3.4.4 In-Lösung Verdau und Aufreinigung von Peptiden

Von jeder Probe wurden 10 µg Protein entnommen und mit einem Vakuumkonzentrator bei 30 °C getrocknet. Anschließend wurden die Proteinfractionen in 20 µl 10 mM Ammoniumbicarbonat (ABC) gelöst und 10 Minuten lang auf Eis inkubiert. In einem nächsten Schritt wurden 6 µl einer 100 mM Dithiothreitol (DTT)-Lösung in 10 mM ABC zugegeben und 30 min bei 56 °C inkubiert. Im Anschluss erfolgte die Zugabe von 6 µl einer 200 mM Iodoacetamid (IAA)-Lösung in ABC (10 mM) für eine weitere 30-minütige Inkubation bei Raumtemperatur im Dunkeln. Die reduzierten und alkylierten Proteine wurden über Nacht mit einer Trypsinlösung (Promega, Madison, USA) in einem Probenverhältnis von 1:20 bei 37 °C verdaut. Am darauffolgenden Tag wurde die Verdauung mit 10 µl 0,1% (v/v) Ameisensäure gestoppt. Die Proben wurden anschließend bei 30 °C im Vakuumkonzentrator getrocknet und bei -20 °C gelagert. Vor der LC-MS/MS-Analyse wurden die tryptischen Peptide durch SOLAµ™ HRP SPE-Zentrifugationsplatten (Thermo Fisher Scientific, Rockford, USA) nach dem Protokoll des Herstellers gereinigt.

3.4.5 Massenspektrometrische Analyse

Das verwendete Nano-LC-System bestand aus einem EASY-nLC 1200-System (Thermo Scientific, Rockford, USA) mit einer Acclaim PepMap RSLC, 75 µm × 50 cm, nanoViper-Analysesäule (Thermo Scientific, Rockford, USA). Das Lösungsmittel A bestand aus LC-MS-

Wasser mit 0,1% (v/v) Ameisensäure und das Lösungsmittel B aus LC-MS-Acetonitril mit 20% (v/v) Wasser und 0,1% (v/v) Ameisensäure. Die Durchlaufzeit des resultierenden Gradienten pro Probe betrug insgesamt 90 min. 0-60 min: 5% - 30% B, 60-70 min: 30-100% B, 70-90 min: 100% B. Das LC-System war direkt mit dem ESI-LTQ-Orbitrap-XL-MS-System gekoppelt. Kontinuierliche Massenspektraldaten wurden mit einem ESI-LTQ-Orbitrap-XL-MS (Thermo Scientific, Bremen, Deutschland) erfasst. Die allgemeinen massenspektrometrischen Bedingungen waren wie folgt: Positiv-Ionen-Elektronenspray-Ionisationsmodus, Sprühspannung auf 2,15 kV eingestellt, beheizte Kapillartemperatur auf 220 °C eingestellt. Das System wurde im datenabhängigen Aufnahmemodus verwendet, der ein automatisches Umschalten zwischen MS- und MS/MS-Modus ermöglicht. Im MS-Modus war die Option „Lock Mass“ aktiviert. Die interne Rekalibrierung wurde in Echtzeit über Polydimethylcyclsiloxan (PCM)-Ionen (m/z 445.120025) erfasst. Die LTQ-Orbitrap wurde in einem datenabhängigen Erfassungsmodus betrieben, um automatisch zwischen Orbitrap-MS- und LTQ-MS/MS-Erfassung zu wechseln. Survey Full Scan MS-Spektren (von m/z 300 bis 2000) wurden im Orbitrap mit einer Auflösung von 60.000 bei m/z 400 und einer automatischen Verstärkungskontrolle (AGC) von $1,0 \times 10^6$ Ionen aufgenommen. Die sieben intensivsten Vorläuferionen wurden nacheinander für die Fragmentierung im LTQ mit einer kollisionsinduzierten Dissoziationsfragmentierung (CID) isoliert, wobei die normalisierte Kollisionsenergie (NCE) auf 35% mit einer Aktivierungszeit von 30 m/s mit einer Wiederholungszahl von 2 und einer dynamischen Ausschlussdauer von 210 s eingestellt wurde. Die resultierenden Fragmentionen wurden im LTQ aufgenommen.

Die Analyse der erfassten Massenspektrometrie-Spektren wurde mit dem MaxQuant-Rechenprogramm (Version 2.0.1.0) und der darin enthaltenen Andromeda-Suchmaschine zur Peptid- und Proteinidentifizierung durchgeführt. Die Tandem-Massenspektrometrie-Spektren wurden mit der SwissProt-Datenbank wie folgt abgeglichen: *Homo sapiens*, *Sus scrofa domesticus*. Die Standardeinstellungen lauten: Peptidmassentoleranz von ± 30 ppm, Fragmentmassentoleranz von $\pm 0,5$ Da, mit ≥ 6 Aminosäureresten und nur „einzigartigen Peptiden“, die zu einem Protein gehören. Um eine bestimmte Anzahl von zufälligen Peak-Übereinstimmungen zu begrenzen, wurde eine Target-Decoy-basierte Falschentdeckungsrate (FDR) für die Peptid- und Proteinidentifizierung auf 0,01 festgelegt. Die Carbamidomethylierung von Cystein wurde als feste Modifikation definiert. Die N-terminale Acetylierung des Proteins und die Oxidation von Methionin wurde als variable Modifikationen festgelegt.

Die generierten „proteingroups.txt“-Daten aus der MaxQuant-Analyse wurde für die anschließende statistische Analyse mit der Perseus-Software (Version 1.6.14.0) verwendet. Zuerst wurden die LFQ-Intensitäten \log_2 -transformiert, und die Ergebnisse wurden gefiltert, um nur Peptide mit 100% gültigen Messwerten in mindestens einer der Studiengruppen einzuschließen. Anschließend wurden fehlende Werte anhand einer Normalverteilung mit Standardeinstellungen (Breite: 0,2, Abwärtsverschiebung: 1,8) imputiert, um eine statistische Analyse zu ermöglichen. Signifikant differentiell exprimierte Proteine wurden durch einen Student's two-sample t-Test mit $p < 0,05$ identifiziert. Es wurde eine unüberwachte hierarchische Clustering-Analyse nach dem Euklidischen Abstand durchgeführt (Verknüpfung = Durchschnitt; Vorverarbeitung mit k-means), um eine Heatmap der unterschiedlich exprimierten Proteine zu erstellen. Die Gennamen der signifikant unterschiedlich exprimierten Proteine in jeder Gruppe wurden für die funktionelle Annotation und die Analyse der Signalwege mit der Ingenuity Pathway Analysis Software (v01-04, IPA; Ingenuity QIAGEN Redwood City, CA, USA) verwendet. Die IPA-Analyse entschlüsselte die

Protein-Protein-Interaktions-Netzwerke (PPI) und annotierte die Proteine entsprechend ihrer subzellulären Lokalisierung, identifizierte die signifikant betroffenen kanonischen Pfade, die wichtigsten biologischen Funktionen und die vorhergesagten Upstream-Regulatoren, die mit den Proteinen in Verbindung stehen. Diese wurden mit einem p-Wert dargestellt, der unter Verwendung der Korrektur für Mehrfachtests berechnet wurde, und die Signifikanzschwelle wurde auf $-\log(p\text{-Wert}) > 1,3$ festgelegt. Das IPA Upstream Regulator Analytic Tool wurde verwendet, um die Bandbreite der Moleküle zu identifizieren, und um die erwarteten kausalen Effekte zwischen Upstream-Regulatoren und gezielten Proteinexpressionsänderungen, die in experimentellen Datensätzen beobachtet wurden, zu klären. Der Überlappungs-P-Wert misst, ob es eine statistisch signifikante Überlappung zwischen dem Datensatz und den Proteinen gibt, die von einem Regulator reguliert werden. Er wird mit dem exakten Test von Fisher berechnet, und die Signifikanzschwelle wird auf p-Werte $< 0,01$ festgelegt. (40, 41)

4 Ergebnisse

4.1 Frühe AMD vs gesunde Kontrollproben

Proteinnamen	Gennamen	Frühe AMD vs Gesunde Kontrolle
Clusterin	CLU	Herunterreguliert
DnaJ homolog subfamily A member 3, mitochondrial	DNAJA3	Herunterreguliert
Hepatoma-derived growth factor-related protein 3	HDGFRP3	Herunterreguliert
Heat shock 70 kDa protein 12A	HSPA12A	Herunterreguliert
Myosin-10	MYH10	Herunterreguliert
26S protease regulatory subunit 6A	PSMC3	Herunterreguliert
SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2	SH3BGRL2	Herunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 7	SRSF7	Herunterreguliert
Syntaxin-binding protein 1	STXBP1	Herunterreguliert
Tropomodulin-2	TMOD2	Herunterreguliert
Triosephosphate isomerase	TPI1	Herunterreguliert
COP9 signalosome complex subunit 7a	COPS7A	Hochreguliert
Citrate synthase, mitochondrial	CS	Hochreguliert
Stress-70 protein, mitochondrial	HSPA9	Hochreguliert
Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit beta, mitochondrial	IDH3B	Hochreguliert
Lactotransferrin	LTF	Hochreguliert
Metaxin-2	MTX2	Hochreguliert
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2	PSMD2	Hochreguliert
Ras-related protein Rab-3A	RAB3A	Hochreguliert
Ras-related protein Rab-5B	RAB5B	Hochreguliert
60S ribosomal protein L23	RPL23	Hochreguliert
60S ribosomal protein L7a	RPL7A	Hochreguliert
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	SYNCRIP	Hochreguliert
14-3-3 protein epsilon	YWHAE	Hochreguliert
14-3-3 protein theta	YWHAQ	Hochreguliert

Tabelle 2: Frühe AMD vs gesunde Kontrollproben

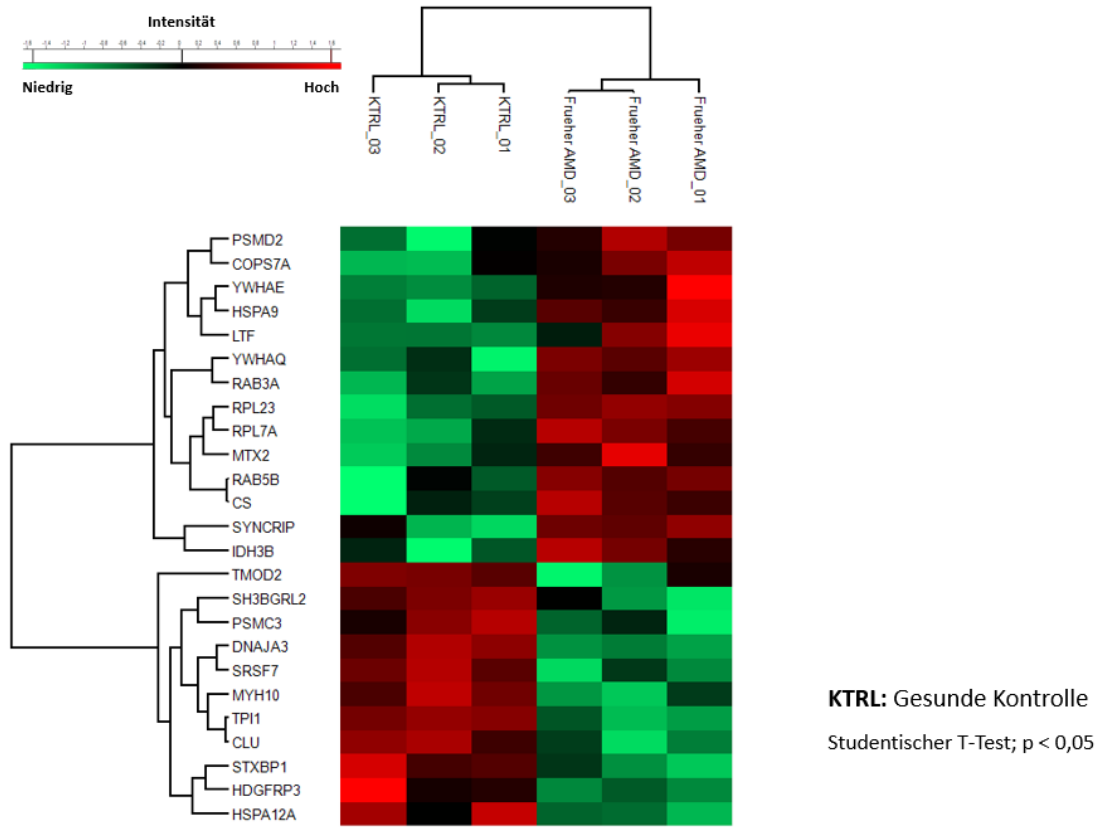


Abbildung 1: Frühe AMD vs gesunde Kontrollproben

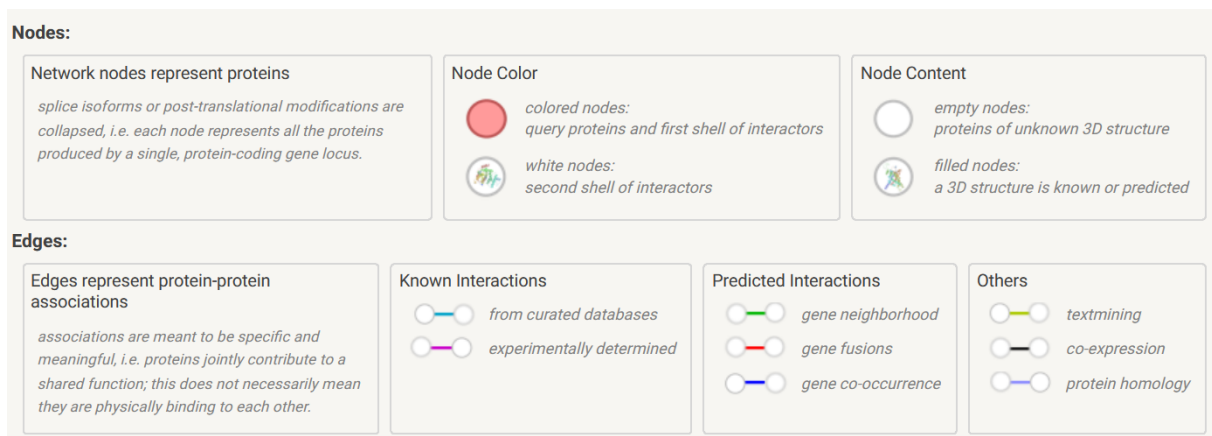
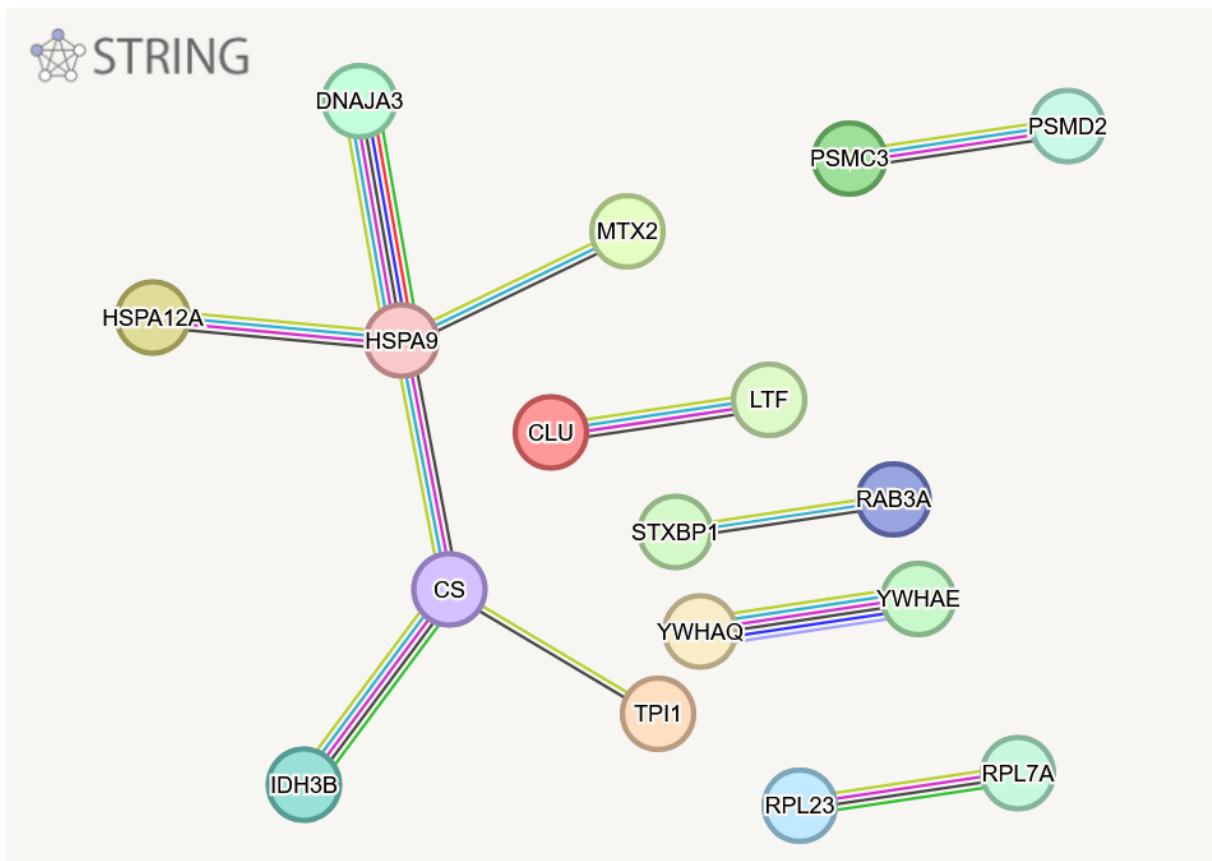


Abbildung 2: String frühe AMD

Auf diesen Abbildungen werden die retinalen Antigene präsentiert, die man signifikant erhöht oder erniedrigt bei Patienten mit früher AMD im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden entdeckt hat. Das String Programm erstellte eine Abbildung, indem die einzelnen Antigene in verschiedenen Zusammenhängen zueinanderstehen.

Herunterreguliert waren 11 Proteine, dazu gehört Clusterin (CLU), mitochondrial DnaJ homolog subfamily A member 3 (DNAJA3), Hepatoma-derived growth factor-related protein 3 (HDGFRP3), Heat shock 70 kDa protein 12A (HSPA12A), Myosin-10 (MYH10), 26S protease regulatory subunit 6A (PSMC3), SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2 (SH3BGRL2), Serine/arginine-rich splicing factor 7 (SRSF7), Syntaxin-binding protein 1 (STXBP1), Tropomodulin-2 (TMOD2) und Triosephosphate isomerase (TPI1).

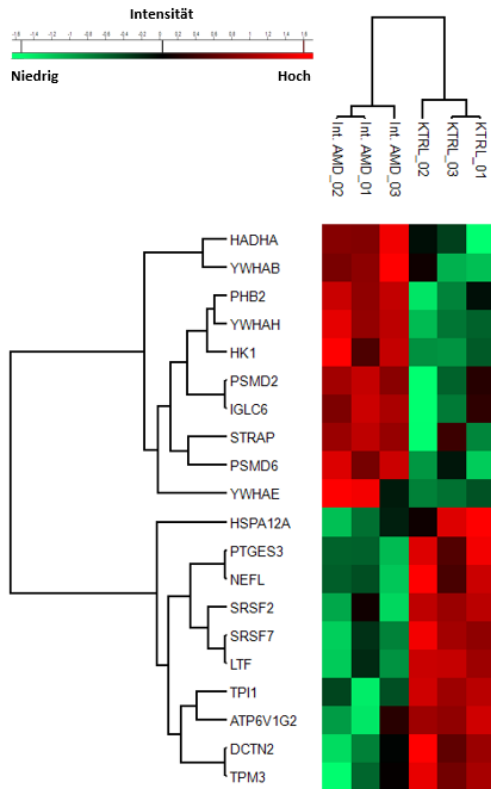
Zu den insgesamt 14 hochregulierten Proteinen zählen COP9 signalosome complex subunit 7a (COPS7A), mitochondrial Citrate synthase (CS), mitochondrial Stress-70 protein (HSPA9), mitochondrial Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit beta (IDH3B), Lactotransferrin (LTF), Metaxin-2 (MTX2), 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 (PSMD2), Ras-related protein Rab-3a (RAB3A), Ras-related protein Rab-5B (RAB5B), 60S ribosomal protein L23 (RPL23), 60S ribosomal protein L7a (RPL7A), Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q (SYNCRIP), 14-3-3 protein epsilon (YWHAE), 14-3-3 protein theta (YWHAQ).

Das String Programm stellt eine Abbildung dar, um die verschiedenen Zusammenhänge der Proteine untereinander zu veranschaulichen. Hierbei haben die meisten Verbindungen DNAJA3, HSPA9, HDPA12A, MTX2, CS, IDH3B und TPI1 zueinander. Zusätzlich gibt es mehrere zusammengehörige Paare, dazu gehören PSMC3 und PSMD2, CLU und LTF, STXBP1 und RAB3A, YXHAQ und YWHAE sowie RPL23 und RPL7A.

4.2 Intermediäre AMD vs gesunde Kontrollproben

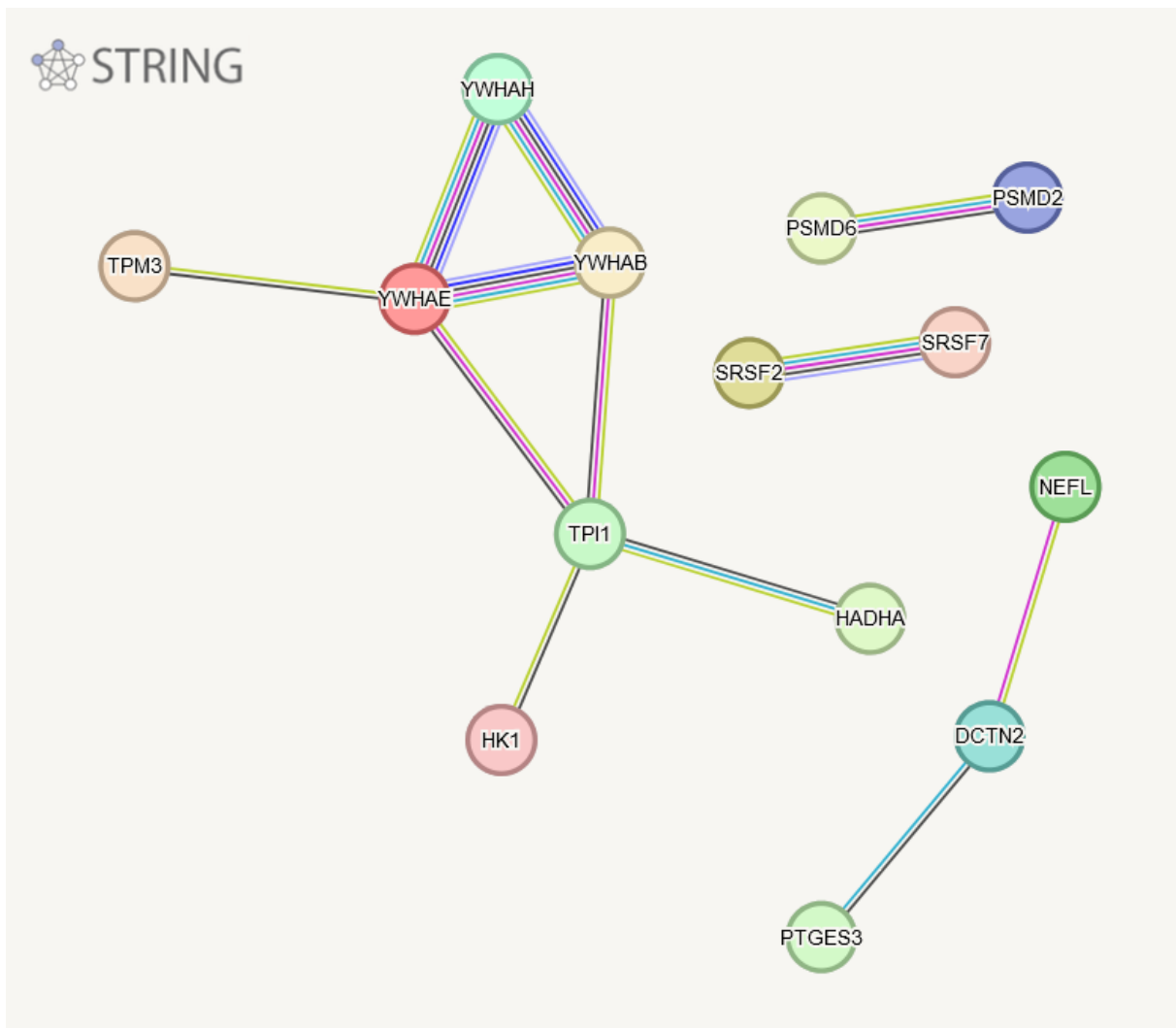
Proteinnamen	Gennamen	Intermediäre AMD vs Gesunde Kontrolle
Tropomyosin alpha-3 chain	TPM3	Herrunterreguliert
V-type proton ATPase subunit G 2	ATP6V1G2	Herrunterreguliert
Lactotransferrin	LTF	Herrunterreguliert
Neurofilament light polypeptide	NEFL	Herrunterreguliert
Triosephosphate isomerase	TPI1	Herrunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 2	SRSF2	Herrunterreguliert
Dynactin subunit 2	DCTN2	Herrunterreguliert
Prostaglandin E synthase 3	PTGES3	Herrunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 7	SRSF7	Herrunterreguliert
Heat shock 70 kDa protein 12A	HSPA12A	Hochreguliert
Ig lambda-6 chain C region	IGLC6	Hochreguliert
Hexokinase-1	HK1	Hochreguliert
14-3-3 protein beta/alpha	YWHAH	Hochreguliert
14-3-3 protein epsilon	YWHAE	Hochreguliert
14-3-3 protein eta	YWHAH	Hochreguliert
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2	PSMD2	Hochreguliert
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6	PSMD6	Hochreguliert
enoyl-CoA hydratase	HADHA	Hochreguliert
Prohibitin-2	PHB2	Hochreguliert
Serine-threonine kinase receptor-associated protein	STRAP	Hochreguliert

Tabelle 3: Intermediäre AMD vs gesunde Kontrollproben



Int. AMD: Intermediärer AMD
KTRL: Gesunde Kontrolle
 Studentischer T-Test; $p < 0,05$

Abbildung 3: Intermediäre AMD



Nodes:

<p>Network nodes represent proteins</p> <p><i>splice isoforms or post-translational modifications are collapsed, i.e. each node represents all the proteins produced by a single, protein-coding gene locus.</i></p>	<p>Node Color</p> <ul style="list-style-type: none"> colored nodes: query proteins and first shell of interactors white nodes: second shell of interactors 	<p>Node Content</p> <ul style="list-style-type: none"> empty nodes: proteins of unknown 3D structure filled nodes: a 3D structure is known or predicted
---	---	--

Edges:

<p>Edges represent protein-protein associations</p> <p><i>associations are meant to be specific and meaningful, i.e. proteins jointly contribute to a shared function; this does not necessarily mean they are physically binding to each other.</i></p>	<p>Known Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> from curated databases experimentally determined 	<p>Predicted Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> gene neighborhood gene fusions gene co-occurrence 	<p>Others</p> <ul style="list-style-type: none"> textmining co-expression protein homology
---	--	---	---

Abbildung 4: String intermediäre AMD

Diese Abbildungen präsentieren die retinalen Antigene bei Patienten mit intermediärer AMD im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden.

Es sind 9 Proteine herunterreguliert. Zu diesen gehören Tropomyosin alpha-3 chain (TPM3), V-type proton ATPase subunit G 2 (ATP6V1G2), Lactotransferrin (LTF), Neurofilament light polypeptide (NEFL), Triosephosphate isomerase (TPI1), Serine/arginine-rich splicing factor 2 (SRSF2), Dynactin subunit 2 (DCTN2), Prostaglandin E synthase 3 (PTGES3) und Serine/arginine-rich splicing factor 7 (SRSF7).

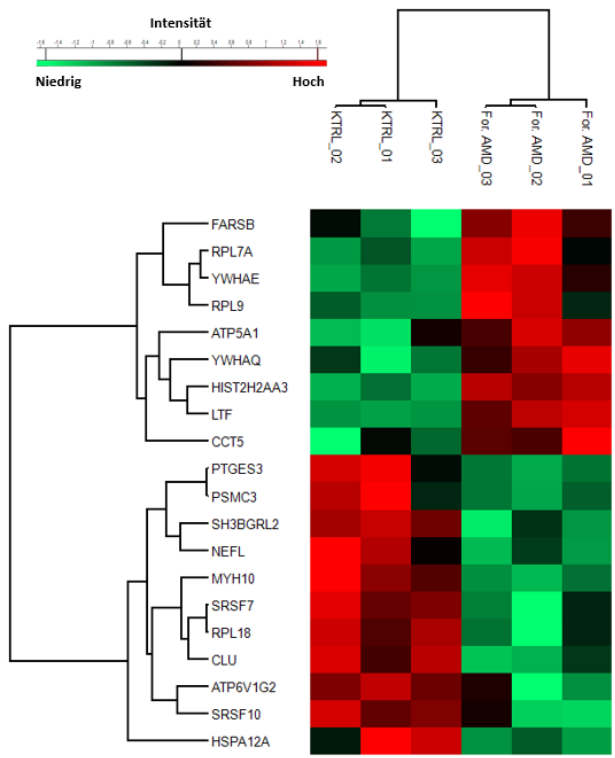
Andere 11 Proteine sind hochreguliert, hierzu zählen Heat shock 70 kDa protein 12A (HSPA12A), Ig lambda-6 chain C region (IGLC6), Hexokinase-1 (HK1), 14-3-3 protein beta/alpha (YWHAB), 14-3-3 protein epsilon (YWHAE), 14-3-3 protein eta (YWHAH), 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 (PSMD2), 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6 (PSMD6), enoyl-CoA hydratase (HADHA), Prohibitin-2 (PHB2) und Serine-threonine kinase receptor-associated protein (STRAP).

Das String Programm zeigt die häufigsten Zusammenhänge zwischen YWHAH, YWHAE, YWHAB, TPM3, TPI1, HK1 und HADHA. Zu dritt stehen NEFL, DCTN2 und PTGES3 zusammen. Als zweier Paare sind PSMD6 und PSMD2, sowie SRSF2 und SRSF7 miteinander verbunden.

4.3 Fortgeschrittene AMD vs gesunde Kontrollproben

Proteinnamen	Gennamen	Fortgeschrittene AMD vs Gesunde Kontrolle
Heat shock 70 kDa protein 12A	HSPA12A	Herrunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 10	SRSF10	Herrunterreguliert
V-type proton ATPase subunit G 2	ATP6V1G2	Herrunterreguliert
Neurofilament light polypeptide	NEFL	Herrunterreguliert
Clusterin	CLU	Herrunterreguliert
26S protease regulatory subunit 6A	PSMC3	Herrunterreguliert
Myosin-10	MYH10	Herrunterreguliert
60S ribosomal protein L18	RPL18	Herrunterreguliert
Prostaglandin E synthase 3	PTGES3	Herrunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 7	SRSF7	Herrunterreguliert
SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2	SH3BGRL2	Herrunterreguliert
Lactotransferrin	LTF	Hochreguliert
Histone H2A type 2-A	HIST2H2AA3	Hochreguliert
14-3-3 protein theta	YWHAQ	Hochreguliert
60S ribosomal protein L9	RPL9	Hochreguliert
T-complex protein 1 subunit epsilon	CCT5	Hochreguliert
14-3-3 protein epsilon	YWHAE	Hochreguliert
60S ribosomal protein L7a	RPL7A	Hochreguliert
ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	ATP5A1	Hochreguliert
Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit	FARSB	Hochreguliert

Tabelle 4: Fortgeschrittene AMD vs gesunde Kontrollproben

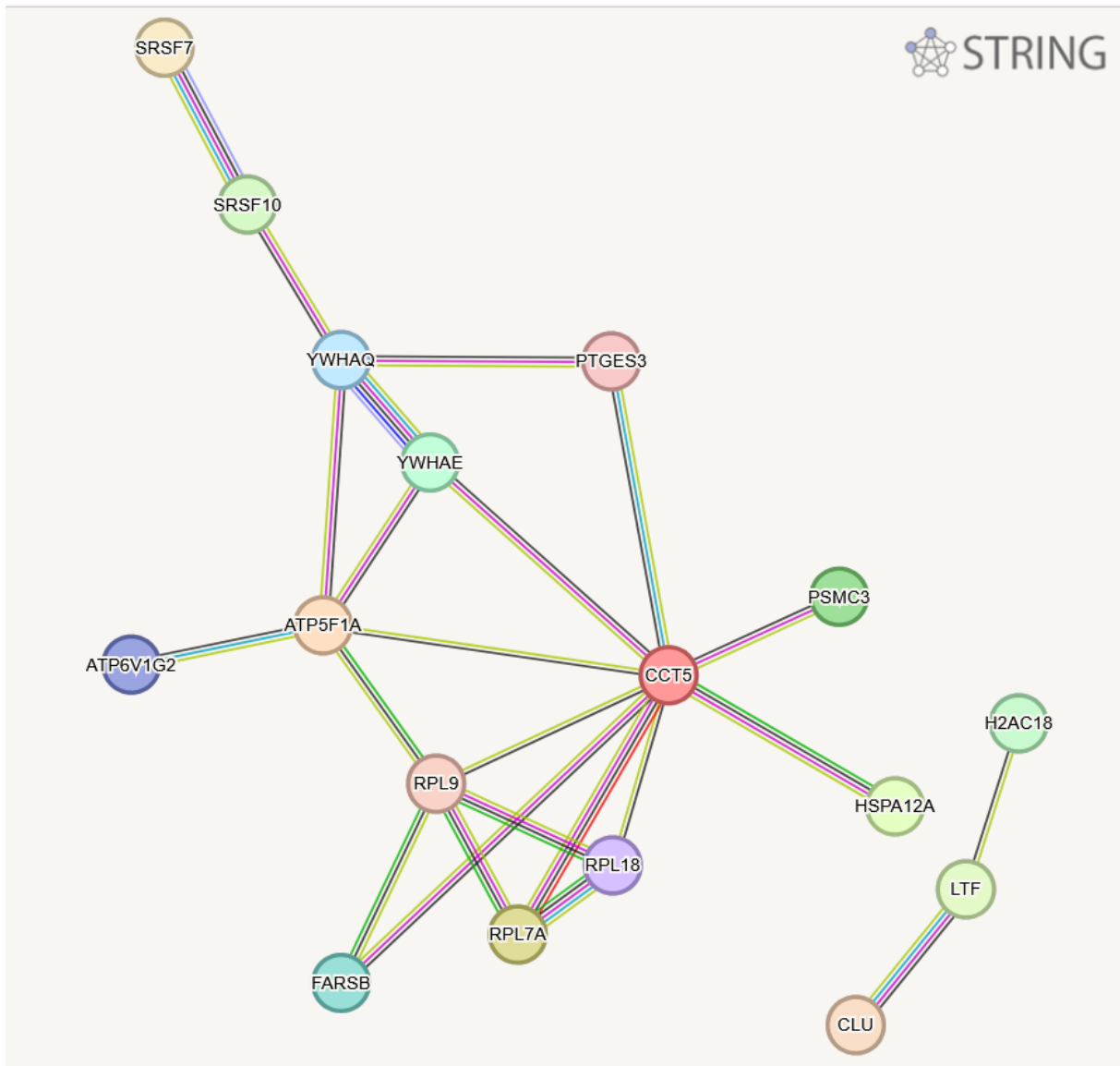


For. AMD: Fortgeschrittener AMD

KTRRL: Gesunde Kontrolle

Studentischer T-Test; $p < 0,05$

Abbildung 5: Fortgeschrittene AMD



Nodes:

<p>Network nodes represent proteins</p> <p><i>splice isoforms or post-translational modifications are collapsed, i.e. each node represents all the proteins produced by a single, protein-coding gene locus.</i></p>	<p>Node Color</p> <ul style="list-style-type: none"> colored nodes: query proteins and first shell of interactors white nodes: second shell of interactors 	<p>Node Content</p> <ul style="list-style-type: none"> empty nodes: proteins of unknown 3D structure filled nodes: a 3D structure is known or predicted
---	---	--

Edges:

<p>Edges represent protein-protein associations</p> <p><i>associations are meant to be specific and meaningful, i.e. proteins jointly contribute to a shared function; this does not necessarily mean they are physically binding to each other.</i></p>	<p>Known Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> from curated databases experimentally determined 	<p>Predicted Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> gene neighborhood gene fusions gene co-occurrence 	<p>Others</p> <ul style="list-style-type: none"> textmining co-expression protein homology
---	--	---	---

Abbildung 6: String fortgeschrittene AMD

Diese Abbildungen zeigen die hoch- oder herunterregulierten retinalen Antigene und deren Zusammenhang bei Patienten mit fortgeschrittener AMD im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden.

11 Proteine sind herunterreguliert, dazu gehören Heat shock 70 kDa protein 12A (HSPA12A), Serine/arginine-rich splicing factor 10 (SRSF10), V-type proton ATPase subunit G 2 (ATP6V1G2), Neurofilament light polypeptide (NEFL), Clusterin (CLU), 26S protease regulatory subunit 6A (PSMC3), Myosin-10 (MYH10), 60S ribosomal protein L18 (RPL18), Prostaglandin E synthase 3 (PTGES3), Serine/arginine-rich splicing factor 7 (SRSF7) und SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2 (SH3BGRL2).

Hochreguliert sind folgende 9 Proteine, Lactotransferrin (LTF), Histone H2A type 2-A (HIST2H2AA3), 14-3-3 protein theta (YWHAQ), 60S ribosomal protein L9 (RPL9), T-complex protein 1 subunit epsilon (CCT5), 14-3-3 protein epsilon (YWHAE), 60S ribosomal protein L7a (RPL7A), mitochondrial ATP synthase subunit alpha (ATP5A1) und Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit (FARSB).

Das String Programm stellt ein zentrales Element der zusammenhängenden Proteine dar. Zu diesem gehören SRSF7, SRSF10, YWHAQ, YWHAE, PTGES3, ATP6V1G2, ATP5F1A, PSMC3, CCT5, HSPA12A, RPL9, RPL18, RPL7A und FARSB. Als dreier Verbindung stehen RPL18, LTF und CLU.

4.4 Neovaskuläre AMD Typ 1 vs gesunde Kontrollproben

Proteinnamen	Gennamen	Neovaskuläre AMD Typ 1 vs Gesunde Kontrolle
NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	NDUFS3	Herrunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 10	SRSF10	Herrunterreguliert
Vimentin	VIM	Herrunterreguliert
Ferritin heavy chain;Ferritin heavy chain, N-terminally processed	FTH1	Herrunterreguliert
Keratin, type II cytoskeletal 1	KRT1	Herrunterreguliert
Keratin, type I cytoskeletal 10	KRT10	Herrunterreguliert
Cytochrome b-c1 complex subunit 7	UQCRB	Herrunterreguliert
NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2, mitochondrial	NDUFV2	Herrunterreguliert
Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	SDHB	Herrunterreguliert
Coatomer subunit beta	COPB2	Herrunterreguliert
40S ribosomal protein S18	RPS18	Herrunterreguliert
S-arrestin	SAG	Herrunterreguliert
Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1	SPTAN1	Herrunterreguliert
ER membrane protein complex subunit 2	EMC2	Herrunterreguliert
Splicing factor 3B subunit 3	SF3B3	Herrunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 7	SRSF7	Herrunterreguliert
DnaJ homolog subfamily A member 3, mitochondrial	DNAJA3	Herrunterreguliert
Splicing factor 3B subunit 6	SF3B6	Herrunterreguliert
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 12	PSMD12	Hochreguliert
Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit beta, mitochondrial	SUCLA2	Hochreguliert
Tubulin beta-4A chain	TUBB4A	Hochreguliert
Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha	GNAO1	Hochreguliert

Ras-related protein Rab-5B	RAB5B	Hochreguliert
14-3-3 protein epsilon	YWHAE	Hochreguliert
Tubulin alpha-1B chain	TUBA1B	Hochreguliert
ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	ATP5A1	Hochreguliert
ATP-dependent 6-phosphofruktokinase, muscle type	PFKM	Hochreguliert
Metaxin-2	MTX2	Hochreguliert

Tabelle 5: Neovaskuläre AMD Typ 1 vs gesunde Kontrollproben

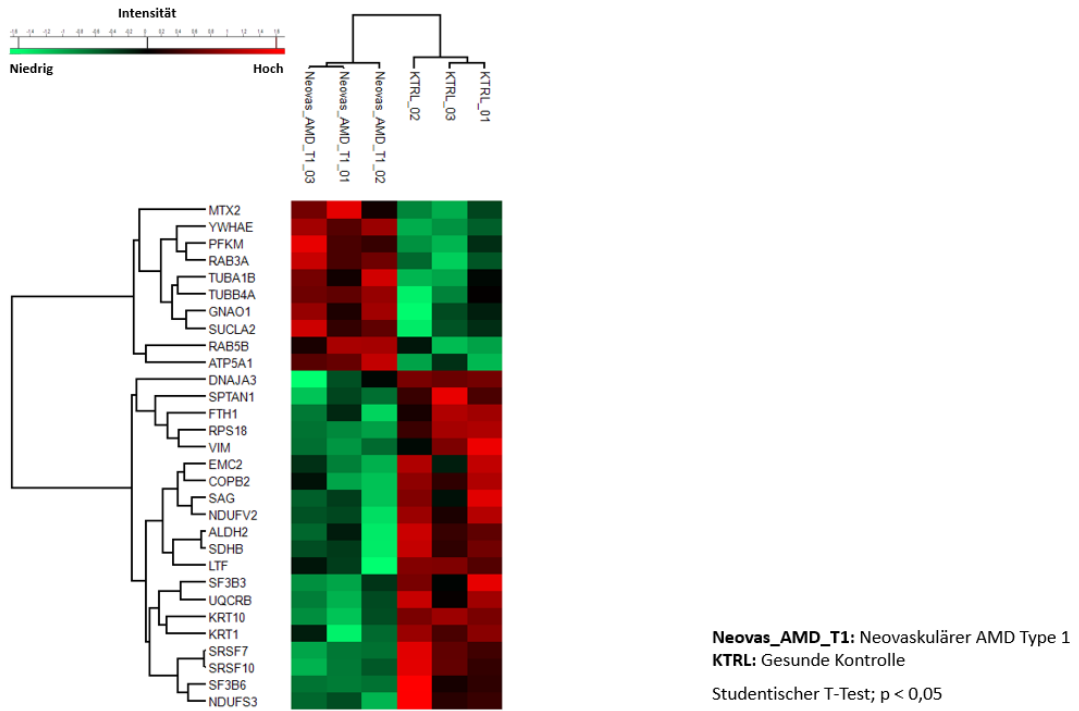
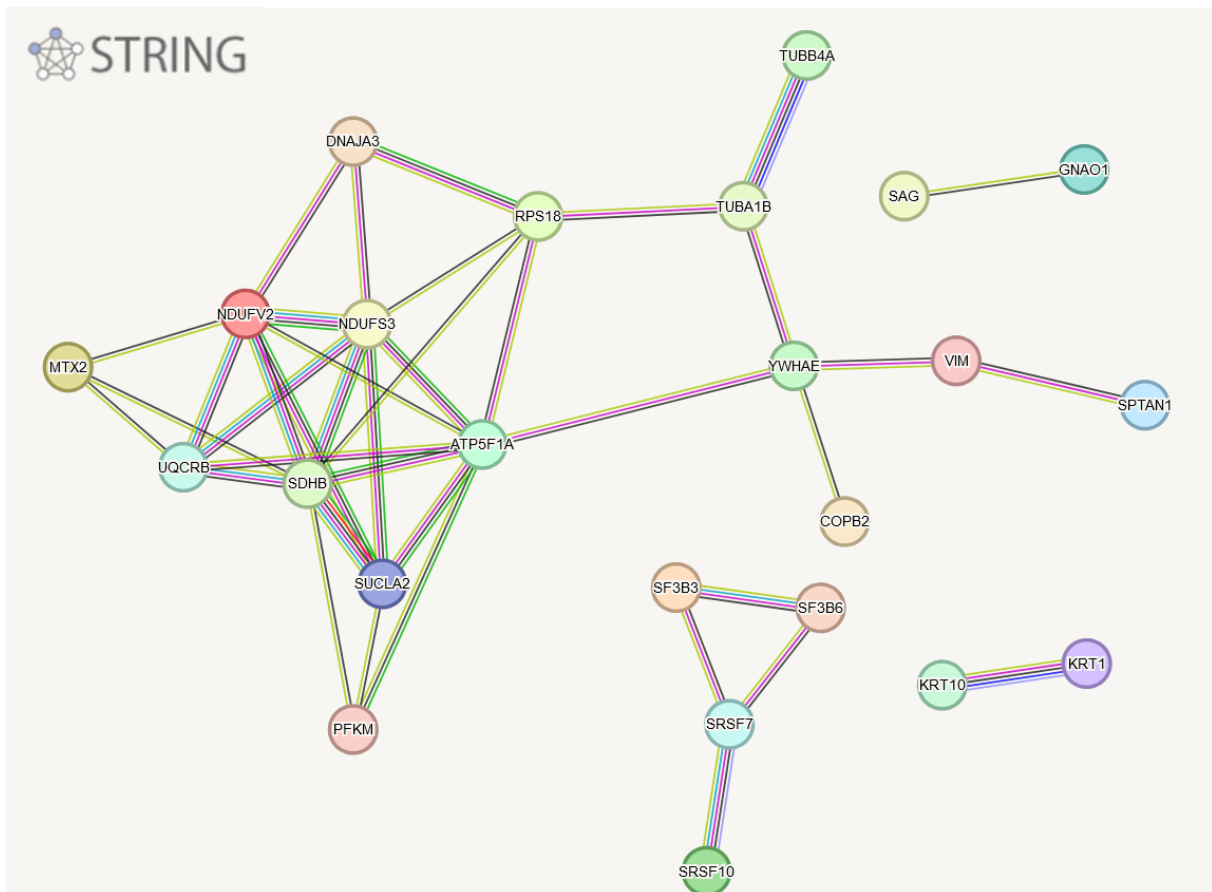


Abbildung 7: Neovaskuläre AMD Typ 1



Nodes:

<p>Network nodes represent proteins</p> <p><i>splice isoforms or post-translational modifications are collapsed, i.e. each node represents all the proteins produced by a single, protein-coding gene locus.</i></p>	<p>Node Color</p> <ul style="list-style-type: none"> ● <i>colored nodes: query proteins and first shell of interactors</i> ● <i>white nodes: second shell of interactors</i> 	<p>Node Content</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>empty nodes: proteins of unknown 3D structure</i> ● <i>filled nodes: a 3D structure is known or predicted</i>
--	---	--

Edges:

<p>Edges represent protein-protein associations</p> <p><i>associations are meant to be specific and meaningful, i.e. proteins jointly contribute to a shared function; this does not necessarily mean they are physically binding to each other.</i></p>	<p>Known Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> — <i>from curated databases</i> — <i>experimentally determined</i> 	<p>Predicted Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> — <i>gene neighborhood</i> — <i>gene fusions</i> — <i>gene co-occurrence</i> 	<p>Others</p> <ul style="list-style-type: none"> — <i>textmining</i> — <i>co-expression</i> — <i>protein homology</i>
--	---	---	--

Abbildung 8: String neovaskuläre AMD Typ 1

Die Ergebnisse bei Patienten mit exsudativer AMD im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden präsentieren in ihren Abbildungen deutlich mehr retinale Antigene, die hoch- oder herunterreguliert sind und deren Zusammenhänge zueinander.

Insgesamt sind 18 Proteine herunterreguliert: mitochondrial NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3 (NDUFS3), Serine/arginine-rich splicing factor 10 (SRSF10), Vimentin (VIM), Ferritin heavy chain; Ferritin heavy chain, N-terminally processed (FTH1), Keratin, type II cytoskeletal 1 (KRT1), Keratin, type I cytoskeletal 10 (KRT10), Cytochrome b-c1 complex subunit 7 (UQCRB), mitochondrial NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2 (NDUFV2), mitochondrial Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit (SDHB), Coatomer subunit beta (COPB2), 40S ribosomal protein S18 (RPS18), S-arrestin (SAG), Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1 (SPTAN1), ER

membrane protein complex subunit 2 (EMC2), Splicing factor 3B subunit 3 (SF3B3), Serine/arginine-rich splicing factor 7 (SRSF7), mitochondrial DnaJ homolog subfamily A member 3 (DNAJA3), Splicing factor 3B subunit 6 (SF3B6) und 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 12 (PSMD12).

9 Proteine waren hochreguliert, dazu zählen mitochondrial Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit beta (SUCLA2), Tubulin beta-4A chain (TUBB4A), Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha (GNAO1), Ras-related protein Rab-5B (RAB5B), 14-3-3 protein epsilon (YWHAE), Tubulin alpha-1B chain (TUBA1B), mitochondrial ATP synthase subunit alpha (ATP5A1), muscle type ATP-dependent 6-phosphofruktokinase (PFKM) und Metaxin-2 (MTX2)

Das String Programm stellt viele Verknüpfungen zwischen DNAJA3, RPS18, NDUFV2, NDUFS3, MTX2, ATP5F1A, UQCRB, SDHB, SUCLA2, PFKM, TUBB4A, TUBA1B, YWHAE, COPB2, VIM und SPTAN1. Als vierer Konstellation stehen SF3B3, SF3B8, SRSF7 und SRSF10 in Verbindung. Als Paar sind SAG und GNAO1 sowie KRT10 und KRT1 zusammenstehend.

4.5 Neovaskuläre AMD Typ 2 vs gesunde Kontrollproben

Proteinnamen	Gennamen	Neovaskuläre AMD Typ 2 vs Gesunde Kontrolle
Tropomyosin alpha-3 chain	TPM3	Herrunterreguliert
Protein arginine N-methyltransferase 5	PRMT5	Herrunterreguliert
Serine/arginine-rich splicing factor 10	SRSF10	Herrunterreguliert
V-type proton ATPase subunit G 2	ATP6V1G2	Herrunterreguliert
Tubulin beta chain	TUBB	Herrunterreguliert
Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDOA	Herrunterreguliert
Clathrin light chain B	CLTB	Herrunterreguliert
Clusterin;Clusterin beta chain;Clusterin alpha chain	CLU	Herrunterreguliert
Keratin, type I cytoskeletal 10	KRT10	Herrunterreguliert
Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	SDHB	Herrunterreguliert
60S ribosomal protein L22	RPL22	Herrunterreguliert
Coatomer subunit beta	COPB2	Herrunterreguliert
60S ribosomal protein L5	RPL5	Herrunterreguliert
Cytochrome c oxidase subunit 2	MT-CO2	Herrunterreguliert
Histone H4	HIST1H4A	Herrunterreguliert
Lamin-B2	LMNB2	Herrunterreguliert
60S ribosomal protein L18	RPL18	Herrunterreguliert
Dynactin subunit 2	DCTN2	Herrunterreguliert
Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1	SPTAN1	Herrunterreguliert
60S ribosomal protein L3	RPL3	Herrunterreguliert
Prohibitin-2	PHB2	Herrunterreguliert
SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2	SH3BGRL2	Herrunterreguliert

Tubulin alpha chain-like 3	TUBAL3	Hochreguliert
Vesicle-trafficking protein SEC22b	SEC22B	Hochreguliert
L-lactate dehydrogenase B chain	LDHB	Hochreguliert
Tubulin beta-4A chain	TUBB4A	Hochreguliert
Histone H2A type 2-A	HIST2H2AA 3	Hochreguliert
Heat shock protein HSP 90-beta	HSP90AB1	Hochreguliert
Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha	GNAO1	Hochreguliert
Histone H1.4	HIST1H1E	Hochreguliert
Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1	SLC2A1	Hochreguliert
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	ATP1A3	Hochreguliert
Aspartate--tRNA ligase, cytoplasmic	DARS	Hochreguliert
Nucleosome assembly protein 1-like 1	NAP1L1	Hochreguliert
Tubulin alpha-1B chain	TUBA1B	Hochreguliert
ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	ATP5A1	Hochreguliert
ATP-dependent 6-phosphofructokinase, platelet type	PFKP	Hochreguliert
Tubulin beta-3 chain	TUBB3	Hochreguliert
Poly(rC)-binding protein 2	PCBP2	Hochreguliert
Creatine kinase B-type	CKB	Hochreguliert
ATP-dependent 6-phosphofructokinase, muscle type	PFKM	Hochreguliert
Endophilin-A1	SH3GL2	Hochreguliert

Tabelle 6: Neovaskuläre AMD Typ 2 vs gesunde Kontrollproben

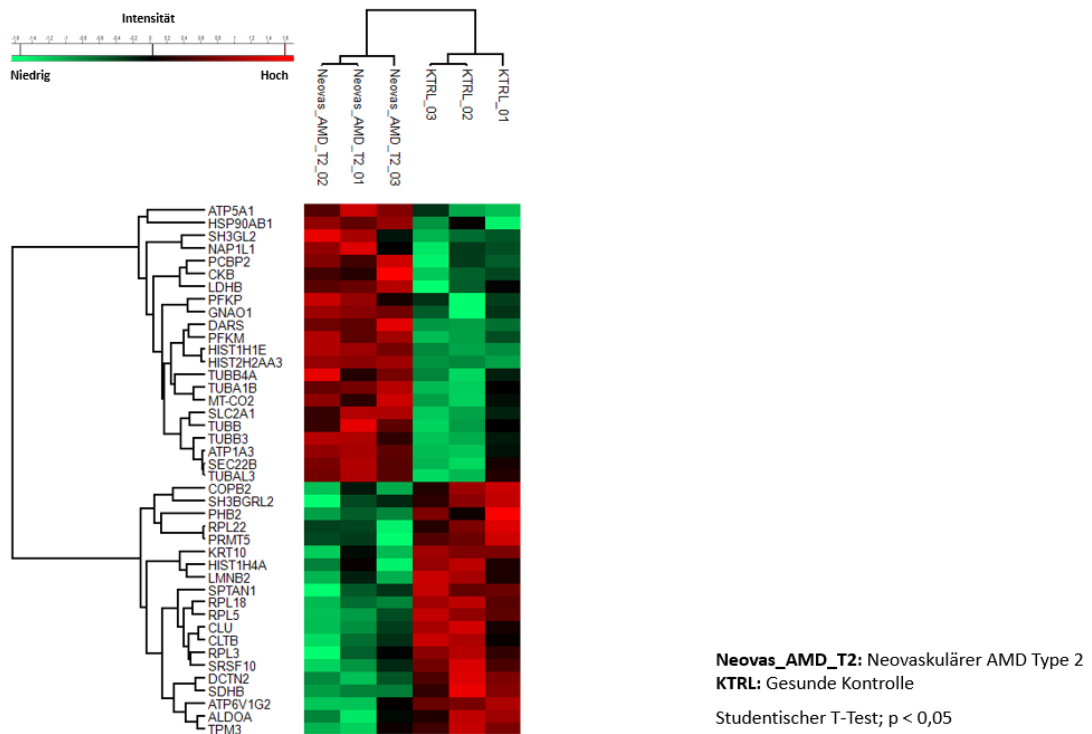
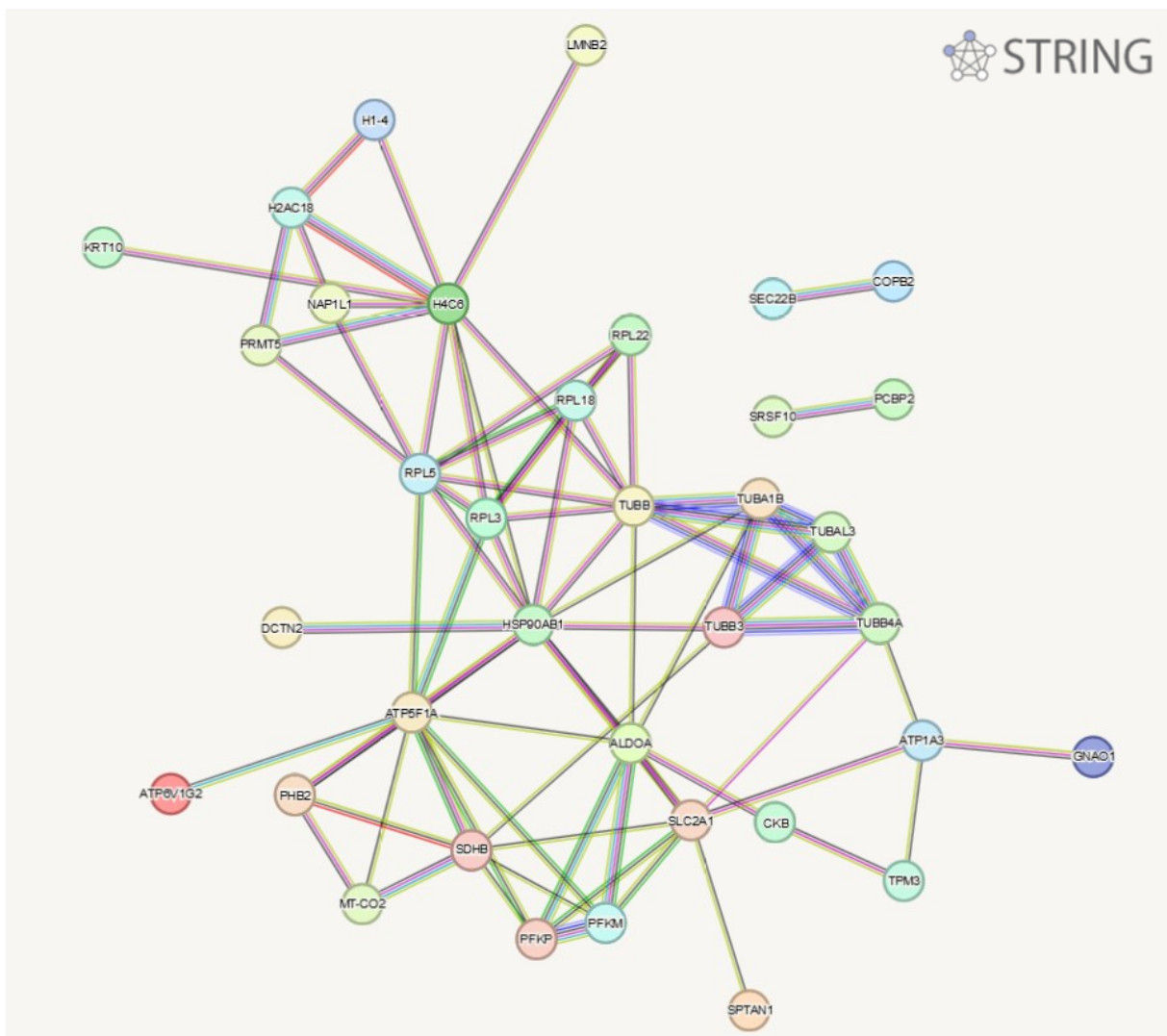


Abbildung 9: Neovaskuläre AMD Typ 2



Nodes:

<p>Network nodes represent proteins</p> <p><i>splice isoforms or post-translational modifications are collapsed, i.e. each node represents all the proteins produced by a single, protein-coding gene locus.</i></p>	<p>Node Color</p> <ul style="list-style-type: none"> ● <i>colored nodes: query proteins and first shell of interactors</i> ● <i>white nodes: second shell of interactors</i> 	<p>Node Content</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>empty nodes: proteins of unknown 3D structure</i> ● <i>filled nodes: a 3D structure is known or predicted</i>
--	---	--

Edges:

<p>Edges represent protein-protein associations</p> <p><i>associations are meant to be specific and meaningful, i.e. proteins jointly contribute to a shared function; this does not necessarily mean they are physically binding to each other.</i></p>	<p>Known Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> — <i>from curated databases</i> — <i>experimentally determined</i> 	<p>Predicted Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> — <i>gene neighborhood</i> — <i>gene fusions</i> — <i>gene co-occurrence</i> 	<p>Others</p> <ul style="list-style-type: none"> — <i>textmining</i> — <i>co-expression</i> — <i>protein homology</i>
--	---	---	--

Abbildung 10: String neovaskuläre AMD Typ 2

Auf diesen Abbildungen werden die retinalen Antigene dargestellt, welche man signifikant erhöht oder erniedrigt bei Patienten mit exsudativer AMD Typ 2 im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden entdeckt hat. Das String Programm erstellte eine Abbildung, indem die einzelnen Antigene in verschiedenen Zusammenhängen zueinanderstehen.

Herunterreguliert wurden 22 Proteine festgestellt: Tropomyosin alpha-3 chain (TPM3), Protein arginine N-methyltransferase 5 (PRMT5), Serine/arginine-rich splicing factor 10 (SRSF10), V-type proton ATPase subunit G 2 (ATP6V1G2), Tubulin beta chain (TUBB), Fructose-bisphosphate aldolase A (ALDOA), Clathrin light chain B (CLTB), Clusterin beta and alpha chain (CLU), type I cytoskeletal 10 Keratin (KRT10), mitochondrial Succinate dehydrogenase ubiquinone iron-sulfur subunit (SDHB), 60S ribosomal protein L22 (RPL22), Coatomer subunit beta (COPB2), 60S ribosomal protein L5 (RPL5), Cytochrome c oxidase subunit 2 (MT-CO2), Histone H4 (HIST1H4A), Lamin-B2 (LMNB2), 60S ribosomal protein L18 (RPL18), Dynactin subunit 2 (DCTN2), non-erythrocytic 1 Spectrin alpha chain (SPTAN1), 60S ribosomal protein L3 (RPL3), Prohibitin-2 (PHB2), SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2 (SH3BGRL2) und Tubulin alpha chain-like 3 (TUBAL3).

19 Proteine waren hochreguliert: Vesicle-trafficking protein SEC22b (SEC22B), L-lactate dehydrogenase B chain (LDHB), Tubulin beta-4A chain (TUBB4A), Histone H2A type 2-A (HIST2H2AA3), Heat shock protein HSP 90-beta (HSP90AB1), Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha (GNAO1), Histone H1.4 (HIST1H1E), facilitated glucose transporter member 1 Solute carrier family 2 (SLC2A1), Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3 (ATP1A3), cytoplasmic Aspartate-tRNA ligase (DARS), Nucleosome assembly protein 1-like 1 (NAP1L1), Tubulin alpha-1B chain (TUBA1B), mitochondrial ATP synthase subunit alpha (ATP5A1), platelet type ATP-dependent 6-phosphofructokinase (PFKP), Tubulin beta-3 chain (TUBB3), Poly(rC)-binding protein 2 (PCBP2), Creatine kinase B-type (CKB), muscle type ATP-dependent 6-phosphofructokinase (PFKM) und Endophilin-A1 (SH3GL2).

Das String Programm hat ein großes Abbild der verbundenen Proteine dargestellt. Als zentrales zusammenhängendes Geflecht sind folgende Proteine verbunden: LMNB2, H1-4, H2AC18, KRT10, PRMT5, NAP1L1, H4C8, RPL22, RPL18, RPL5, RPL3, TUBB, TUBA1B, TUBAL3, TUBB3, TUBB4A, HSP90AB1, DCTN2, ATP6V1Q2, ATP5F1A, PHB2, MT-CO2, SDHB, ALDOA, PFKP, PFKM, SLC2A1, SPTAN1, CKB, TPM3, ATP1A3 und GNAD1. Als zweier-Paar sind SEC22B und COPB2 sowie SRSF10 und PCBP2 miteinander verbunden.

STRING Version 12.0 Database - References:

When using STRING, please consult (and cite) the following references:

Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, Nastou K, Mehryary F, Hachilif R, Annika GL, Fang T, Doncheva NT, Pyysalo S, Bork P[‡], Jensen LJ[‡], von Mering C[‡].

The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest.

Nucleic Acids Res. 2023 Jan 6;51(D1):D638-646.

Szklarczyk D^{*}, Gable AL^{*}, Nastou KC, Lyon D, Kirsch R, Pyysalo S, Doncheva NT, Legeay M, Fang T, Bork P[‡], Jensen LJ[‡], von Mering C[‡].

The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets.

Nucleic Acids Res. 2021 Jan 8;49(D1):D605-12.

Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, Junge A, Wyder S, Huerta-Cepas J, Simonovic M,

Doncheva NT, Morris JH, Bork P[‡], Jensen LJ[‡], von Mering C[‡].

STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets.

Nucleic Acids Res. 2019 Jan; 47:D607-613.

Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, Kuhn M, Wyder S, Simonovic M, Santos A, Doncheva NT, Roth A, Bork P[‡], Jensen LJ[‡], von Mering C[‡].

The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible.

Nucleic Acids Res. 2017 Jan; 45:D362-68.

Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, Forslund K, Heller D, Huerta-Cepas J, Simonovic M, Roth A, Santos A, Tsafou KP, Kuhn M, Bork P[‡], Jensen LJ[‡], von Mering C[‡].

STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life.

Nucleic Acids Res. 2015 Jan; 43:D447-52.

Franceschini A, Lin J, von Mering C, Jensen LJ[‡].

SVD-phy: improved prediction of protein functional associations through singular value decomposition of phylogenetic profiles.

Bioinformatics. 2015 Nov; btv696.

Franceschini A*, Szklarczyk D*, Frankild S*, Kuhn M, Simonovic M, Roth A, Lin J, Minguéz P, Bork P[‡], von Mering C[‡], Jensen LJ[‡].

STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration.

Nucleic Acids Res. 2013 Jan; 41:D808-15.

Szklarczyk D*, Franceschini A*, Kuhn M*, Simonovic M, Roth A, Minguéz P, Doerks T, Stark M, Muller J, Bork P[‡], Jensen LJ[‡], von Mering C[‡].

The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored.

Nucleic Acids Res. 2011 Jan; 39:D561-8.

Jensen LJ*, Kuhn M*, Stark M, Chaffron S, Creevey C, Muller J, Doerks T, Julien P, Roth A, Simonovic M, Bork P[‡], von Mering C[‡].

STRING 8--a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms.

Nucleic Acids Res. 2009 Jan; 37:D412-6.

von Mering C*, Jensen LJ*, Kuhn M, Chaffron S, Doerks T, Krueger B, Snel B, Bork P[‡].

STRING 7--recent developments in the integration and prediction of protein interactions.

Nucleic Acids Res. 2007 Jan; 35:D358-62.

von Mering C, Jensen LJ, Snel B, Hooper SD, Krupp M, Foglierini M, Jouffre N, Huynen MA, Bork P[‡].

STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms.

Nucleic Acids Res. 2005 Jan; 33:D433-7.

von Mering C, Huynen M, Jaeggi D, Schmidt S, Bork P[‡], Snel B.

STRING: a database of predicted functional associations between proteins.

Nucleic Acids Res. 2003 Jan; 31:258-61.

Snel B[‡], Lehmann G, Bork P, Huynen MA.

STRING: a web-server to retrieve and display the repeatedly occurring neighbourhood of a gene.

Nucleic Acids Res. 2000 Sep 15;28(18):3442-4

5 Diskussion

Es wurden insgesamt 92 retinale Antigene als potenzielle Biomarker für die verschiedenen AMD Unterformen identifiziert. Manche Proteine wurden nur in einer Gruppe oder in mehreren AMD Gruppierungen gleichzeitig festgestellt. Hierbei können aufgrund der Proteinverteilung neue Einblicke in die AMD Pathologie ermittelt werden und zu neuen weiteren Studien beitragen.

Bei der frühen AMD wurde im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden 3 Proteine signifikant verringert und 7 Proteine signifikant erhöht erkannt, ohne dass diese Proteine in weiteren AMD Gruppen erfasst wurden. Zu den herunterregulierten Proteinen zählen Hepatoma-derived growth factor-related protein 3 (HDGFRP3), Syntaxin-binding protein 1 (STXBP1) und Tropomodulin (TMOD2). Hepatoma-derived growth factor-related protein 3 (HDGFRP3) ist am Wachstum und der Bildung von Endothelzellen und deren Migration mitbeteiligt. Es ist ein neurotropher Faktor, der für die Angiogenese eine Rolle spielt. Zusätzlich stimuliert er das Wachstum von glatten Gefäßmuskelzellen, Fibroblasten und Hepatomazellen und wurde bei Leberzellkarzinomen hochreguliert festgestellt.(42) Syntaxin-binding protein 1 (STXBP1) wirkt bei der Freisetzung synaptischer Vesikel bei und ist ein bekannter Faktor bei neurologischen Entwicklungsstörungen, geistiger Behinderung und Epilepsie in der neurologischen Forschung. (43) Tropomodulin (TMOD2) hat eine zentrale regulatorische Rolle bei der Aktinfilamentbildung und -polymerisation, die sich auf die dendritischen Spikes auswirken. Bei Knockout-Mäusen kam es zu einem Anstieg der Neuritenlänge, eine Zunahme der Synapsen-Dichte sowie einer Abnahme der Länge und der Anzahl der dendritischen Verzweigungen.(44) Hochreguliert waren COP9 signalosome complex subunit 7a (COPS7A), mitochondriale Citrat-Synthase (CS), mitochondriale Stress-70 Protein (HSPA9), mitochondriale Isocitrat Dehydrogenase subunit beta (IDH3B), Ras-related protein Rab-3A (RAB3A), 60S ribosomal protein L23 (RPL23) und Heterogenous nuclear ribonucleoprotein Q (SYNCRIP). COP9 signalosome complex subunit 7a (COPS7A) ist an der Regulierung der Genexpression, der Transkription und intrazellulären Signalübertragung beteiligt.(45) Die mitochondriale Citrat-Synthase (CS) katalysiert die Umwandlung von Oxalacetat und Acetyl Coenzym A in Citrat und Coenzym A im mitochondrialen Tricarbonsäure-Zyklus. Dieser stellt bei aeroben Bedingungen die Hauptquelle zur Energiebereitstellung dar. Die Regulierung der CS erfolgt durch Citrat, ATP und NADH.(46) Das mitochondriale Stress-70 Protein (HSPA9) ist an der Verarbeitung von zytosolischen und sekretorischen Proteinen beteiligt. Es ist mitverantwortlich für die Faltung der neusynthetisierten Proteinen und deren Zusammenbau.(47) Die mitochondriale Isocitrat Dehydrogenase subunit beta (IDH3B) nimmt eine unterstützende Rolle bei der Bildung der IDH-Aktivität und eine regulatorische Rolle bei der Bestimmung optimaler pH-Werte ein. Die Isocitratdehydrogenase katalysiert die oxidative Decarboxylierung von Isocitrat zu α -Ketoglutarat im Tricarbonsäurezyklus, wobei entweder NADH oder NADPH entsteht. (48) Ras-related protein Rab-3A (RAB3A) ist als ein wichtiger Regulator des intrazellulären vesikulären Transports bekannt und steht in Verbindung zu der akrosomalen Exozytose in Spermien und kann laut Studien als Biomarker für die Fruchtbarkeit beim Mann angesehen werden.(49) 60S ribosomal protein L23 (RPL23) ist ein negativer Regulator der zellulären Apoptose, also führt eine Überexpression zu einer abnormen Apoptoseresistenz. Zusätzlich wurde er als potenzieller, prognostischer Biomarker und neues therapeutisches Ziel bei Patienten mit myelodysplastischem Syndrom entdeckt.(50) Heterogenous nuclear ribonucleoprotein Q (SYNCRIP) ist am Vorgang der mRNA-Translation, der prä-mRNA-Spleißen involviert und stärkt die mRNA-Stabilität.(51)

Es wurden 8 retinale Antigene bei der intermediären AMD im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden identifiziert, die nicht in anderen AMD Gruppen ebenfalls erfasst wurden. Signifikant herunterreguliert war als einziges Protein Serine/arginine-rich splicing factor 2 (SRSF2). Dieser ist bekannt als Vermittler der Genomstabilität, des prä-mRNA-Spleißens, des mRNA-Kernexport und der Translationskontrolle. Bei viralen Infektionen reguliert es die virale Genexpression auf der transkriptionellen und post-transkriptionellen Ebene.(52) Als signifikant hochreguliert wurden 7 Proteine entdeckt. Diese sind Ig lambda-6 chain C region (IGLC6), Hexokinase-1 (HK1), 14-3-3 protein beta/alpha (YWHAB), 14-3-3 protein eta (YWHAH), 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6 (PSMD6), Enoyl-CoA-Hydratase (HADHA) und Serine-threonine kinase receptor-associated protein (STRAP). Ig lambda-6 chain C region (IGLC6) wurde ebenfalls bei zentralem Venenverschluss als hochreguliertes Protein unter vielen anderen entdeckt, das mit der bestkorrigierte Sehschärfe und dem Schweregrad des Makulaödems als zentrale Netzhautdicke korrelierte.(53) Hexokinase-1 (HK1) katalysiert die Phosphorylierung von Glukose zu Glukose-6-phosphat in der Glykolyse und wird ubiquitär, auch in der Netzhaut von den Photorezeptoren exprimiert. Eine HK1-Mutation wurde als mögliche Ursache für eine dominante Netzhautdystrophie, die mit der Retinitis pigmentosa assoziiert ist, entdeckt. (54) Ebenfalls wurden Anti-HK1-Autoantikörper bei Patienten mit diabetischem Makulaödem als Marker erforscht, der jedoch den Ausbruch der Erkrankung nicht vorherzusagen kann.(55) 14-3-3 protein beta/alpha (YWHAB) bewirkt eine Veränderung in der Expression verschiedener Ionenkanalproteine, wie der Na⁺-K⁺-ATPase, dem Na⁺-H⁺-Austauscher und von CFTR beim Steinbutt, daher ist er ein wichtiger molekularer Marker für dessen osmosensorische Regulation. Generell sind 14-3-3-Proteine an vielen zellulären Prozessen und Interaktionen beteiligt, wie die Signaltransduktion, Zellzykluskontrolle, Apoptose, Stressreaktion und bösartige Transformation.(56) 14-3-3 protein eta (YWHAH) wurde ebenfalls signifikant hochreguliert festgestellt. Die 14-3-3-Proteine können auch als Adaptoren, welche die enzymatische Aktivität, Struktur und Stabilität von Proteinen modulieren, fungieren und sind an sehr vielen Zellvorgängen beteiligt.(57) 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 6 (PSMD6) ist an der Regulierung des Zellzyklus, der Protein-Qualitätskontrolle, der Differenzierung und zahlreicher Signal-Transduktionswege beteiligt. Bei einem PSMD6 Polymorphismus wurde eine Assoziation für ein erhöhtes Risiko an der diabetischen Retinopathie zu erkranken gefunden.(58) Enoyl-CoA-Hydratase (HADHA) katalysiert den zweiten Schritt des physiologisch wichtigen Beta-Oxidationsweges des Fettsäurestoffwechsels. Dieses Enzym erleichtert die Addition eines Wassermoleküls an die Doppelbindung eines trans-2-Enoyl-CoA-Thioesters, was zur Bildung eines β -Hydroxyacyl-CoA-Thioesters führt.(59) Serine-threonine kinase receptor-associated protein (STRAP) spielt eine Rolle bei der Zellproliferation, Zellzyklus, Zelldifferenzierung und Apoptose, indem es mit vielen redoxsensitiven Signalproteinen interagiert.(60)

Als einzig vorkommende Proteine bei der fortgeschrittene AMD im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden wurden 3 Proteine signifikant hochreguliert aufgedeckt. Zu diesen gehören 60S ribosomal protein L9 (RPL9), T-complex protein 1 subunit epsilon (CCT5) und Phenylalanine-tRNA ligase beta subunit (FARSB). 60S ribosomal protein L9 (RPL9) ist an der Verarbeitung von prä-rRNA beteiligt, die sich auf die Zellproliferation und Apoptose auswirkt.(61) T-complex protein 1 subunit epsilon (CCT5) ist mit für die ATP-abhängige Faltung neu synthetisierter Proteine verantwortlich, wobei jede CCT-Untereinheit unterschiedliche Substraterkennungs- und ATP-Hydrolyse-Eigenschaften haben kann.(62) Phenylalanine-tRNA ligase beta subunit (FARSB) aktiviert den mTOR-Komplex 1 -Signalweg und reguliert so das Zellwachstum und die Zellproliferation. FARSB ist bereits bei dem

hepatocellulärem Karzinom für das Fortschreiten und eine schlechtere Prognose bekannt.(63)

Bei der exsudativen AMD Typ 1 wurden im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden 11 retinale Antigene als signifikant herunterreguliert und 2 retinale Antigene als signifikant hochreguliert identifiziert. Herunterreguliert waren Mitochondrial NADH dehydrogenase ironsulfur protein 3 (NDUFS3), Vimentin (VIM), Ferritin heavy chain, N terminally processed (FTH1), Keratin, type II cytoskeletal 1 (KRT1), Cytochrome b-c1 complex subunit 7 (UQCRB), Mitochondrial NADH dehydrogenase flavoprotein 2 (NDUFV2), 40S ribosomal protein S18 (RPS18), S-arrestin (SAG), ER membrane protein complex subunit 2 (EMC2), Splicing factor 3B subunit 3 (SF3B3) und Splicing factor 3B subunit 6 (SF3B6). Mitochondrial NADH dehydrogenase ironsulfur protein 3 (NDUFS3) ist Teil der mitochondrialen Atmungskette, am Prozess der oxidativen Phosphorylierung und somit am intrazellulären Energiestoffwechsel beteiligt. Sie wird mit Nekrose, Hyperplasie, Entzündungen und kognitiven Erkrankungen in Verbindung gebracht. Eine Studie zeigte, dass chronischer Stress und Atherosklerose zu einer geringeren Expression führen.(64) Vimentin (VIM) ist an vielen zellulären Prozessen beteiligt, die sich auf die Zellmorphologie, Migration, Gewebereparatur, Fibrose, Angiogenese und Tumorentstehung auswirkt.(65) Eine Studie entdeckte in dem retinalen Pigmentepithel von AMD-Proben eine Zunahme von Vimentin und eine Abnahme von E-Cadherin.(66) Eine andere Studie untersuchte die Vimentinverteilung in der Netzhaut bei gesunden Augen, normalen Augen älterer Personen und Augen von Personen mit altersbedingter Makuladegeneration und kam zu dem Ergebnis, dass die Variation der GFAP- und Vimentin-Expression in retinalen Makroglia durch zunehmendes Alter beeinflusst wird, wobei eine ähnliche Verteilung der Vimentinreaktivität in den Netzhäuten der einzelnen Gruppen zu beobachten war, aber eine ausgeprägtere GFAP Expression bei AMD-Augen bestand.(67) Des Weiteren führt oxidativer Stress, der ebenfalls zu der AMD Pathologie gehört, zu einer Vimentin Hochregulierung und zu einer Herunterregulierung von E-Cadherin.(68) Ferritin heavy chain, N terminally processed (FTH1) ist ein Ferroptose-Inhibitor. In einer Studie wurde die Ferroptose als AMD Pathologie an Mäusen untersucht. Hierbei wurde der aus dem Pigmentepithel stammende Faktor, ein wichtiger endogener Schutzfaktor für das retinale Pigmentepithel, untersucht. Dieser stimuliert die Expression von Glutathionperoxidase 4 und wurde bei trockener AMD herunterreguliert festgestellt.(69) Keratin, type II cytoskeletal 1 (KRT1) ist an mehreren wichtigen zellulären Funktionen beteiligt, wie der Bildung von Intermediärfilamenten, dem Zellwachstum, der Zellproliferation, Apoptose aber auch der Tumorentstehung.(70) Cytochrome b-c1 complex subunit 7 (UQCRB) ist an der mitochondrialen Atmungskette beteiligt. Außerdem ist er ein entscheidender Vermittler der Hypoxie-induzierten Tumorangiogenese, indem er die VEGFR2-Signalübertragung reguliert, über die mitochondriale ROS-Produktion in Endothelzellen.(71) Mitochondrial NADH dehydrogenase flavoprotein 2 (NDUFV2) ist eine Untereinheit des mitochondrialen Komplexes I und ist mit dem Auftreten der diabetischen Retinopathie signifikant assoziiert.(72) 40S ribosomal protein S18 (RPS18) ist ein Strukturmolekül der 40S ribosomalen Untereinheit in eukaryotischen Zellen. RPS18 und andere ribosomale Proteine können in verschiedenen Organismen variable Aktivitäten einnehmen, die jedoch eine untergeordnete Rolle spielt.(73) S-arrestin (SAG) ist ein retinales Protein und eine häufige Ursache für autoimmune Netzhautdegenerationen und für Autoimmun-Uveitis, da bei beiden Erkrankungen in Serumproben Antikörper gegen S-Arrestin nachgewiesen wurden.(74) ER membrane protein complex subunit 2 (EMC2) ist für die Verankerung der Untereinheiten des Komplexes verantwortlich und somit für die Stabilität, um die Funktion der Membranproteinbiogenese

durchführen zu können.(75) Splicing factor 3B subunit 3 (SF3B3) ist an der DNA-Reparatur und der RNA-Transkription mitbeteiligt.(76) Splicing factor 3B subunit 6 (SF3B6) wird eine allosterische Rolle zugeschrieben, die sich möglicherweise auf das alternative Spleißen auswirkt.(77) Signifikant hochreguliert waren 26 S proteasome non-ATPase regulatory subunit 12 (PSMD12) und Mitochondrial Succinyl-CoA ligase subunit beta (SUCLA2). 26 S proteasome non-ATPase regulatory subunit 12 (PSMD12) ist eine Untereinheit mit katalytischer Aktivität, die für die Funktion des Proteasekomplexes essenziell ist. Generell besteht die Aufgabe darin, den Proteinumsatz und die Zellteilung zu regulieren. Bei Mutationen können autoinflammatorische Erkrankungen, neurologische Entwicklungsstörungen und Uveitiden entstehen.(78, 79) Mitochondrial Succinyl-CoA ligase subunit beta (SUCLA2) ist ein Enzym im Citrat-Zyklus, welches die Umwandlung von Succinyl-CoA und ADP oder GDP in Succinat und ATP oder GTP katalysiert. Des Weiteren steuert es das Redox-Gleichgewicht, indem es die Translation von zytosolischen ROS eliminierenden Proteinen fördert. Eine Studie zeigte ebenfalls, dass eine positive Korrelation mit der Metastasierung von Krebszellen besteht.(80)

Bei der exsudativen AMD Typ 2 wurden im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden 10 retinale Antigene als signifikant herunterreguliert und 14 retinale Antigene als signifikant hochreguliert festgestellt. Zu den herunterregulierten Proteinen zählen Protein arginine N-methyltransferase 5 (PRMT5), Tubulin beta chain (TUBB), Fructose-biphosphate aldolase A (ALDOA), Clathrin light chain B (CLTB), 60S ribosomal protein L22 (RPL22), 60S ribosomal protein L5 (RPL5), Cytochrome c oxidase subunit 2 (MT-CO2), Histone H4 (HIST1H4A), Lamin-B2 (LMNB2) und 60S ribosomal protein L3 (RPL3). Protein arginine N-methyltransferase 5 (PRMT5) ist ein epigenetisches Enzym, das für die Methylierung von Histonen zur Regulierung proangiogenen und proinflammatorischen Transkriptionsaktivitäten bekannt ist. Daher spielt er eine Rolle bei dem Zellzyklus, der Tumorphiliferation und der okulären Angiogenese. PRMT5 wird vermehrt im retinalen Pigmentepithel und in der Aderhaut bei Neovaskularisation exprimiert und gilt als ein neues therapeutisches Ziel für die neovaskuläre altersbedingten Makuladegeneration.(81) Tubulin beta chain (TUBB) ist an vielen zellulären Prozessen, wie dem intrazellulären Transport, der Zellteilung und der Zellmotilität beteiligt.(82) In einer Studie wurden periphere Blutentnahmen von Patienten mit exsudativer AMD mit gesunden Kontrollpersonen verglichen. Hierbei wurde eine signifikante Überexpression von β -III-Tubulin Nestin und GFP in den Zellen von AMD-Patienten entdeckt.(83) Des Weiteren wurde ein signifikant niedriger SDF-1, Stroma Zell abgeleiteter Faktor, Plasmaspiegel bei exsudativen AMD-Patienten festgestellt. SDF-1 wird vermehrt exprimiert bei Gewebeschäden, wie einer Ischämie, toxische Schäden oder Bestrahlung.(83) Fructose-biphosphate aldolase A (ALDOA) katalysiert Fructose-1,6-Bisphosphat zu Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Dihydroxyacetonphosphat während der Glykolyse. Außerdem wird ALDOA eine Rolle bei der Regulierung der Zellform, Zellmotilität, Zellproliferation, die Organisation des Aktinzytoskeletts und der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen zugeschrieben.(84) Clathrin light chain B (CLTB) ist am Prozess des intrazellulären Transports, dem axonalen Transport und der synaptische Neurotransmission beteiligt.(85) 60S ribosomal protein L22 (RPL22) ist Bestandteil der eukaryotischen ribosomalen Untereinheit 60S und ist im Zellkern lokalisiert, wo es sich in Nukleoli anreichert. RPL22 kann sowohl mit zellulären als auch mit viralen RNA interagieren.(86) 60S ribosomal protein L5 (RPL5) spielt eine Rolle für die räumlichen Positionierung und die Verdichtung der Chromosomenstellen für rDNA-Arrays im Nukleolus und ist an der rRNA-Transkription und -Verarbeitung beteiligt.(87) Cytochrome c oxidase subunit 2 (MT-CO2) ist im Komplex IV der mitochondrialen Atmungskette lokalisiert, und auch für den Elektronentransportprozess

verantwortlich. Mutationen zeigten eine Konformationsänderung und einem Rückgang der Aktivität und somit zu einer Störung des intrazellulären Energiestoffwechsels und einer mitochondrialen Dysfunktion.(88) Histone H4 (HIST1H4A) ein eine Untereinheit der Histone, welche die Kern-DNA komprimieren, die DNA-Transkription, -Replikation, -Reparatur und die Chromatinpackung regulieren. Epigenetische Veränderung, die Histonmodifikation, sind als AMD-Pathologie bereits bekannt.(89) In einer Studie wurden in apoptotischen retinalen Ganglienzellen verringerte Werte der Histon-H4-Acetylierung gefunden.(89) Lamin-B2 (LMNB2) ist ein Baustein der Kernlamina, ein filamentöses Geflecht, das die nukleoplasmatische Seite der inneren Kernmembran auskleidet. Es nimmt eine Rolle bei der Synaptogenese und der Zellularität der Netzhaut, insbesondere bei den Stäbchen- und Zapfenphotorezeptoren, ein.(90) 60S ribosomal protein L3 (RPL3) ist an der Bildung von frühen Prä-60S-Partikeln beteiligt und koordiniert die Affinität und Funktion von Translationsdehnungsfaktoren, indem RPL3 die Aufnahme geladener tRNAs und die Bindung des Elongationsfaktors 2 organisiert.(91) Hochreguliert waren Tubulin alpha chain-like 3 (TUBAL3), Vesicle-trafficking protein SEC22b (SEC22B), L-lactate dehydrogenase B chain (LDHB), Heat shock protein HSP 90-beta (HSP90AB1), Histone H1.4 (HIST1H1E), Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1 (SLC2A1), Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3 (ATP1A3), Cytoplasmic aspartate-tRNA ligase (DARS), Nukleosom-assembly-protein 1-like 1 (NAP1L1), Platelet type ATP-dependent 6-phosphofruktokinase (PFKP), Tubulin beta-3 chain (TUBB3), Poly(rC)-binding protein 2 (PCBP2), Creatine kinase B-type (CKB) und Endophilin-A1 (SH3GL2). Tubulin alpha chain-like 3 (TUBAL3) wurde bisher als prognostischer Marker für die krebspezifischen Überlebensrate bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem Rektumkarzinom und bei der Hautalterung beim Menschen, wobei TUBAL3 eine geschlechterspezifisch unterschiedliche Regulierung mit dem Alter hatte.(92, 93) Vesicle-trafficking protein SEC22b (SEC22B) ist ein SNARE-Protein, das an der Membranfusion des Vesikeltransports beteiligt ist. Des Weiteren spielt es eine Rolle bei der Autophagie, der Neurodegeneration und bei Krebserkrankungen sowie Infektionskrankheiten.(94) In einer Studie wurde SEC22B bereits als mögliches therapeutisches Ziel für AMD Patienten untersucht, da es in seiner Funktion bei der Autophagie eine wichtige Position bei der AMD-Pathologie einnimmt.(95) L-lactate dehydrogenase B chain (LDHB) ist an der aeroben Glykolyse beteiligt, indem es Laktat mit NAD als Kofaktor in Pyruvat umgewandelt. Die LDHB Expression ist vermehrt in der inneren Netzhaut lokalisiert sowie im retinalen Pigmentepithel und in Müllerzellen. Ein Glukose-Mangel wird mit degenerativen Netzhauterkrankungen wie der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) in Verbindung gebracht.(96) Heat shock protein HSP 90-beta (HSP90AB1) gehört zur Familie der Chaperone, welche die ordnungsgemäße Proteinfaltung unterstützen und die Proteinstabilität aufrechterhalten. HSP90AB1 ist neben der Stabilisierung auch an dem Transport aller Arten von Proteinen beteiligt, daher gehört es zu den Proteinen mit dem universellsten Einfluss auf biologische Funktionen und ist deshalb für das Überleben der Zelle unerlässlich.(97) Die Verringerung der Expression von HSP90AB1, verbesserte das Überleben der Zapfen, das bei der Retinitis pigmentosa erforscht wurde und die Hemmung von HSP90AB1 verbesserte den mitochondrialen Stoffwechsel der Skelettmuskulatur in einem Diabetes-Mausmodell.(98) Histone H1.4 (HIST1H1E) gehört zu den Linker-Histonen, welche für die Chromatinstruktur verantwortlich ist und eine wichtige Rolle bei der Genomstabilität, DNA-Replikation und DNA-Reparatur spielt. Mutationen zeigten Neuroentwicklungsstörungen, kraniofaziale Merkmale, Hypotonie sowie Autismus und Verhaltensstörungen.(99) Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1 (SLC2A1) ist für den Glukosetransport verantwortlich und reguliert so die Bioverfügbarkeit

von Glukose im retinalen Pigmentepithel. Bei Hypoxie, eine bekannte AMD Pathologie, wird SLC2A1 hochreguliert. Eine Studie untersuchte den möglichen Zusammenhang zwischen Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) und SLC2A1 und AMD. Jedoch wurde kein allgemeiner Zusammenhang zwischen SLC2A1 SNPs und AMD nachgewiesen.(100) Eine andere Studie zeigte, dass SLC2A1 in Serumproben bei AMD-Patienten signifikant hypomethyliert war.(101) Natrium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3 (ATP1A3) ist die katalytische Untereinheit der Na⁺/K⁺-ATPase-Pumpe. Mutationen von ATP1A3 sind für ein breites phänotypisches Spektrum neurologischer Störungen verantwortlich, wie die alternierende Hemiplegie des Kindesalters, der schnell einsetzender Dystonie-Parkinsonismus und das CAPOS-Syndrom (zerebelläre Ataxie, Areflexie, Pes cavus, Optikusatrophie und sensorineurale Schwerhörigkeit).(102) Cytoplasmic aspartate-tRNA ligase (DARS) wurde bei der Alzheimer Erkrankung bei erhöhter Expression als schlechter prognostischer Marker identifiziert. DARS-Mutationen können zu Hypomyelinisierung, motorischen Anomalien und kognitiven Beeinträchtigungen führen.(103) Nukleosome-assembly-protein 1-like 1 (NAP1L1) wird ubiquitär exprimiert und ist an der DNA-Replikation, der Modulation der Chromatinbildung und der Regulierung der Zellproliferation sowie Zellmigration beteiligt.(104) Platelet type ATP-dependent 6-phosphofruktokinase (PFKP) ist eines der Schlüsselenzyme bei der Glykolyse. PFKP reguliert die Zellproliferation, Apoptose, Autophagie, Zellmigration und Metastasierung durch Glykolyse und glykolyseunabhängige Funktionen. Bei bestimmten Krebsarten ist PFKP stark exprimiert und kann als prognostischer Marker verwendet werden.(105) Tubulin beta-3 chain (TUBB3) ist eine Komponente der neuronalen Mikrotubuli und wird von Neuronen exprimiert. TUBB3 spielt eine Rolle bei der dynamischen Instabilität der Mikrotubuli und wird bei bestimmten Tumoren überexprimiert, bei denen es ein Marker für eine schlechte Prognose bedeutet.(106) Poly(rC)-binding protein 2 (PCBP2) ist ein RNA-bindendes Protein und ein Eisenchaperon mit verschiedenen zellulären Funktionen. Darunter zählt die RNA-Stabilität, Proteinstabilität, Immunität, Mikro-RNA-Verarbeitung, Eisenhomöostase, Verhinderung der stressinduzierten Apoptose, Zellwachstum und Tumorwachstum. Die AMD und neurodegenerative Erkrankungen werden in ihrer Pathologie mit Eisenüberschuss assoziiert. Eine Studie untersuchte vor allem die Eisen-induzierten RPE-Degeneration bei geografischer Atrophie im Zusammenhang mit PCBP2.(107) Creatine kinase B-type (CKB) wurde bereits in einer Studie als hyper-methyliertes Gen mit geringer Expression als AMD-Risikogen und potenzielle Biomarker identifiziert.(108) Eine andere Studie untersuchte die CKB bezüglich der AMD Pathologie, da die CKB Expression im AMD-Netzhautgewebe im Vergleich zu normalem Gewebe signifikant verändert ist. Sie ist aber sind zu dem Ergebnis erlangt, dass CKB wahrscheinlich keinen großen Risikofaktor für die Entwicklung der AMD darstellt.(109) Endophilin-A1 (SH3GL2) ist an der Autophagosomenbildung, der Membrandynamik, der Aktinpolymerisation und am synaptischen Vesikel-Recycling beteiligt.(110)

Es gab 2 retinale Antigene, die sowohl bei der frühen AMD als auch bei der intermediären AMD als signifikant erfasst wurden. Diese sind Triosephosphate isomerase (TPI1), die in beiden Formen herunterreguliert gefunden wurde und 26S proteasome non ATPase regulatory subunit 2 (PSMD2), welche in beiden Formen hochreguliert war. Triosephosphate isomerase (TPI1) ist ein glykolytisches Enzym, das verschiedene Aktivitäten aufweisen kann, abhängig von ihrer subzellulären Lokalisierung. TPI1 spielt eine Rolle bei der Regulierung von Zellwachstum und Zelldifferenzierung, aber auch bei der Chaperon-vermittelte Autophagie in Lysosomen. In einer Studie war TPI1 in vorzeitig seneszenten RPE-19-Zellen vermehrt akkumuliert.(111) Eine andere Studie zeigte bei der Triosephosphat-Isomerase eine signifikant unterschiedliche Expression in AMD-Patientenplasma.(112) 26S proteasome

non ATPase regulatory subunit 2 (PSMD2) ist ein onkogenes Protein für verschiedene Krebsarten, das den mTOR-Signalweg aktiviert und so die Autophagie hemmt. Eine Überexpression von PSMD2 ist positiv korreliert mit Zellproliferation, Invasion und Metastasierung.(113)

Bei der frühen AMD und der fortgeschrittenen AMD wurden 2 retinale Antigene, jeweils als signifikant herunterreguliert und ebenfalls 2 retinale Antigene in beiden Gruppen als signifikant hochreguliert identifiziert. Herunterreguliert waren Myosin-10 (MYH10) und 26S protease regulatory subunit 6A (PSMC3). Myosin-10 (MYH10) ist an der Zellmigration, Invasion und der Produktion der extrazellulären Matrix beteiligt. MYH10 wurde bei der diabetischen Retinopathie bereits als potenzieller Biomarker identifiziert.(114) 26S protease regulatory subunit 6A (PSMC3) ist für die Erkennung, Entfaltung und die Translokation von Substraten in das Proteasom verantwortlich, das generell für die Proteinhomeostase und die Signalübertragung verantwortlich ist. Eine pathologische Variante von PSMC3 führt zu schwerer kongenitaler Taubheit, früh einsetzendem Katarakt und verschiedenen neurologischen Merkmalen.(115) Hochreguliert waren 60S ribosomal protein L7a (RPL7A) und 14-3-3 protein theta (YWHAQ). 60S ribosomal protein L7a (RPL7A) ist ein Teil der großen ribosomalen Untereinheit 60S und hat wichtige Funktionen beim Ribosomenaufbau und der prä-rRNA-Verarbeitung.(116) 14-3-3 protein theta (YWHAQ) ist an vielen regulatorischen Prozessen, wie mitogener Signaltransduktion, Apoptose, Zellwachstum, Entartung und die Kontrolle des Zellzyklus beteiligt.(117)

In der frühen AMD und der exsudativen AMD Typ 1 wurde ein gemeinsames retinales Antigen als signifikant herunterreguliert und 2 retinale Antigene als signifikant hochreguliert in jeweils beiden Gruppen gefunden. Das herunterregulierte Antigen lautet Mitochondrial DnaJ homolog subfamily A member 3 (DNAJA3). Es ist ein mitochondriales Co-Chaperon, das an der Faltung, dem Zusammenbau, der Translokation und dem Abbau von Proteinen während des Zellwachstums und der Entwicklung beteiligt ist. Es spielt bei vielen zellulären Prozessen eine Rolle, wie bei der Proliferation, der Apoptose und fungiert als Tumorsuppressor, der an der Entwicklung und dem Überleben von Lymphozyten beteiligt ist.(118) Hochreguliert waren Metaxin-2 (MTX2) und Ras-related protein Rab-5B (RAB5B). Metaxin-2 (MTX2) bindet an die zytosolische Seite der äußeren Mitochondrienmembran und ist an der TNF-induzierten Nekroptose und Apoptose beteiligt.(119) Ras-related protein Rab-5B (RAB5B) ist ein kleines monomeres G-Protein, das die frühe Endozytose reguliert und Signalwege steuert, die mit dem Zellwachstum, Überleben und Apoptose zusammenhängen. Eine Dysregulation der Rab5B-Proteinexpression wurde mit der Entwicklung verschiedener Krebsarten und Neurodegeneration assoziiert.(120)

Bei der intermediären AMD und der fortgeschrittenen AMD wurden 2 retinale Antigene identifiziert, die in beiden Gruppen signifikant herunterreguliert waren. Diese waren Neurofilament light polypeptide (NEFL) und Prostaglandin E synthase 3 (PTGES3). Neurofilament light polypeptide (NEFL) verleiht strukturelle Stabilität der Neuronen und ist in den Dendriten, dem neuronalen Stroma sowie in Axonen vertreten. Bei entzündlichen neurodegenerativen oder traumatischen Veränderungen steigt die Freisetzung von NEFL stark an. NEFL wurde bereits als Biomarker bei Multipler Sklerose, Alzheimer-Krankheit, frontotemporaler Demenz, ALS, atypischen Parkinson-Erkrankungen und traumatischer Hirnverletzung beschrieben.(121) Prostaglandin E synthase 3 (PTGES3) ist an vielen zellulären Prozessen wie der humoralen Immunantwort, dem Immunglobulinkomplex, dem mitochondrialen Proteinkomplex und der ATPase-Aktivität beteiligt. In einer Studie wurde PTGES als Biomarker in Verbindung mit Immunwerten bei diabetischer Retinopathie

assoziiert. Des Weiteren spielt PTGES auch eine wichtige Rolle bei anderen Autoimmunkrankheiten, wie der Colitis ulcerosa oder der rheumatoiden Arthritis.(122)

Bei der intermediären AMD und der exsudativen AMD Typ 2 wurden 2 retinale Antigene jeweils als signifikant herunterreguliert erkannt. Zu diesen zählen Tropomyosin alpha-3 chain (TPM3) und Dynactin subunit 2 (DCTN2). Tropomyosin alpha-3 chain (TPM3) ist einer der Hauptregulatoren der Muskelkontraktibilität, und ist an der Stabilisierung und Modulation der Funktionen von Aktinfilamenten beteiligt. Eine Studie zeigte, dass durch Angiotensin II vermittelter oxidativer Stress TPMS signifikant hochreguliert wurde.(123) Dynactin subunit 2 (DCTN2) wurde bei Krebserkrankungen bereits genauer untersucht. Eine hohe DCTN2 Expression bedeutet eine schlechte Prognose für Patienten mit Tumoren, da es die Tumorprogression und Tumormetastasierung fördert. Des Weiteren hat DCTN2 bei verschiedenen Krebsarten eine immunsuppressive Rolle.(124) Ein weiteres retinales Antigen, Prohibitin-2 (PHB2), war bei der frühen AMD signifikant hochreguliert und bei der exsudativen AMD Typ 2 signifikant herunterreguliert. Prohibitin-2 (PHB2) befindet sich hauptsächlich in der inneren Membran der Mitochondrien und ist an der mitochondrialen Biogenese, dem Energiestoffwechsel und dem Zelltod mitbeteiligt. Eine Studie liefert das Ergebnis, dass bei Mäusen die Ausschaltung von PHB2 im Photorezeptor zu einer fortschreitenden Degeneration der Netzhaut führt.(125)

Es wurden 2 retinale Antigene bei der fortgeschrittenen AMD und der exsudativen AMD Typ 2 gefunden. 60S ribosomal protein L18 (RPL18) war signifikant in beiden Gruppen herunterreguliert und Histone H2A type 2-A (HIST2H2AA3) war signifikant in beiden Gruppen hochreguliert. 60S ribosomal protein L18 (RPL18) ist an vielen zellulären Prozessen wie dem Zellzyklus, dem zelluläre Stoffwechsel, der Signaltransduktion und der Entwicklung involviert. Ein Mangel an RPL18 fördert die Seneszenz und RPL18 beeinflusst die Zellzyklusprogression in menschlichen Krebszellen.(126) Histone H2A type 2-A (HIST2H2AA3) gehört zu den Histonproteine, welche vermehrt in der S-Phase synthetisiert werden, um die neu replizierte DNA zu verpacken. HIST2H2AA3 ist am terminalen Differenzierungsprozess beteiligt.(127)

Bei der exsudativen AMD Typ 1 und 2 gab es sowohl 4 retinale Antigene, die in beiden Gruppen signifikant herunterreguliert waren, als auch 4 retinale Antigene, die in beiden Gruppen signifikant hochreguliert waren. Herunterreguliert waren Keratin, type I cytoskeletal 10 (KRT10), Mitochondrial Succinat dehydrogenase iron-sulfur subunit (SDHB), Coatomer subunit beta (COPB2) und Non-erythrocytic 1 Spectrin alpha chain (SPTAN1). Keratin, type I cytoskeletal 10 (KRT10) war bei Genexpressionsanalysen des Aderhautmelanoms signifikant herabreguliert. Außerdem ist KRT10 mit Medikamentenresistenz in der Krebstherapie assoziiert.(128) Mitochondrial Succinat dehydrogenase iron-sulfur subunit (SDHB) gehört zu dem mitochondrialen Atmungskettenkomplex und ist an dem System der oxidativen Phosphorylierung beteiligt. Es besteht aus vier Untereinheiten: SDHA, SDHB, SDHC und SDHD, wobei SDHA und SDHB als katalytische Untereinheiten, und SDHC und SDHD als Verankerungskomplexe in der inneren mitochondrialen Membran dienen. Eine heterozygote SDHA-Mutationen führt zu Optikusatrophie und neurologischen Beeinträchtigungen.(129) Coatomer subunit beta (COPB2) spielt bei vielen zellulären Prozessen eine Rolle. Es kann als Onkogen wirken, indem es die Zellproliferation, den Zellzyklus und die Apoptose beeinflusst.(130) COPB2 wurde in einer Studie als Risikoloci für die neovaskuläre altersbedingte Makuladegeneration identifiziert.(131) Non-erythrocytic 1 Spectrin alpha chain (SPTAN1) ist ein Membrangerüstprotein, welches bei der Aufrechterhaltung der Integrität von myelinisierten Axonen, der axonalen Entwicklung und

der Synaptogenese von Bedeutung ist. SPTAN1-Varianten führen zu neurologischen Entwicklungsstörungen wie Entwicklungsverzögerungen, geistiger Behinderung, Epilepsie, hereditärer Ataxie oder hereditärer spastischer Paraplegie.(132) Hochreguliert waren Tubulin beta-4A chain (TUBB4A), Guanine nucleotide-binding protein (Go) subunit alpha (GNAO1), Tubulin alpha-1B chain (TUBA1B) und ATP-depent 6 phosphofruktokinase muscle typ (PFKM). Tubulin beta-4A chain (TUBB4A) ist ein Zytoskelettprotein, das an der Regulierung der Mikrotubuli-Dynamik mitwirkt und daher für die zelluläre Organisation und Funktion der Zelle wichtig ist. TUBB4A ist ein wichtiger Regulator der zellulären Migration sowohl während der Entwicklung als auch bei der metastatischen Invasion und ist bei manchen Krebsarten stark exprimiert.(133) In der Fuchs'schen endothelialen Hornhautdystrophie wurden in den Hornhautendothelzellen eine erhöhte TUBB4A-Proteinexpression festgestellt.(133) Guanine nucleotide-binding protein (Go) subunit alpha (GNAO1) ist Teil eines Membranproteins, das an der Signaltransduktion beteiligt ist und dessen Aufgaben die hemmende Signalübertragung vieler Neurotransmitter, die Hemmung der Adenylatzyklase und die Verhinderung der Freisetzung von Neurotransmittern auf der synaptischen Ebene sind. GNAO1-Mutationen sind gekennzeichnet durch Epilepsie, Bewegungsstörungen und Entwicklungsstörungen.(134) Eine Studie zeigte auch, dass bei GNAO1 Mutationen die visuelle Funktion häufig beeinträchtigt ist, dies bezieht sich auf die Wahrnehmung von Entfernung, Tiefe und Volumen.(134) Tubulin alpha-1B chain (TUBA1B) ist ein Gap Junction Protein, das an der Bildung von Mikrotubuli beteiligt ist und daher eine Rolle bei der Regulierung der Zellmitose, der Signaltransduktion, des Transports und der Motilität einnimmt. Die TUBA1B Expression war deutlich erhöht bei Patienten mit Adenokarzinom der Lunge und korreliert mit einem kürzeren Gesamtüberleben. Auch bei Mantelzell-Lymphomen und dem hepatozellulärem Karzinom ist TUBA1B mit einer schlechten Prognose assoziiert.(135) ATP-depent 6 phosphofruktokinase muscle typ (PFKM) ist ein Enzym der Glykolyse und wurde beim hepatozellulären Karzinom hochreguliert festgestellt, was Auswirkungen auf die Karzinogenese, Proliferation und Metastasierung hatte. Eine höhere Expression von PFKM wurde ebenfalls bei dem Adenokarzinom der Lunge identifiziert.(136)

Es wurden 2 retinale Antigene festgestellt, die sowohl in der frühen AMD, der intermediären AMD und der fortgeschrittenen AMD, also nur bei der trockenen AMD, identifiziert wurden. Das ist einmal Heat shock 70 kDa protein 12A (HSPA12A), das bei der frühen AMD und der fortgeschrittenen AMD signifikant herunterreguliert und bei der intermediären AMD signifikant hochreguliert war. Heat shock 70 kDa protein 12A (HSPA12A) ist ein Mitglied der Familie der Hitzeschockproteine. HSPA12A kann Transkriptionsfaktoren binden und ihre Kerntranslokation durchführen. Außerdem ist HSPA12A für den Schutz des Gehirns und für die Entwicklung der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung verantwortlich.(137) Das andere retinale Antigen ist Lactotransferrin (LTF), das sich genau gegenteilig verhält. Bei der frühen AMD und der fortgeschrittenen AMD ist es signifikant hochreguliert und bei der intermediären AMD signifikant herunterreguliert. Lactotransferrin (LTF) ist ein Glykoprotein, das sich in den meisten Schleimhautsekreten findet. LTF wirkt entzündungshemmend, antibakteriell, antiviral und antitumoral. Des Weiteren reguliert LTF die Eisenhomöostase und reduziert oxidativen Schäden, indem LTF reaktive Sauerstoffspezies moduliert. In einem Maus Modell, das die feuchte Form der AMD nachahmt, hemmt LTF choroidale Neovaskularisation.(36) In einer Studie wurde eine Herunterregulierung von LTF bei AMD beobachtet.(36)

Bei der frühen AMD, der fortgeschrittenen AMD und der exsudative AMD Typ 2 waren zwei retinale Antigene, Clusterin (CLU) und SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2 (SH3BGRL2), in allen Gruppen jeweils signifikant herunterreguliert. Clusterin (CLU) ist ein

sekretorisches Glykoprotein, ein extrazelluläres Chaperon, das bei Netzhautzellen des retinalen Pigmentepithels die ROS-Produktion bei oxidativem Stress reduziert, die Apoptose verhindert und so für ein längeres Überleben von Netzhautzellen stellt.(138) Zusätzlich führt eine Unterdrückung der Expression von Clusterin zu einer Verringerung der Angiogenese. Clusterin wurde bereits in Drusen von AMD betroffenen Netzhäuten gefunden. In einer Studie wurde das Kammerwasserproteom bei AMD-Patienten untersucht, wobei Clusterin eine unterschiedliche Expression zwischen trockener AMD und feuchter AMD aufwies und so als potenzielle Biomarker für die Unterscheidung der AMD betrachtet werden kann.(139) SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 2 (SH3BGRL2) ist bisher nur gering erforscht. SH3BGRL2 wurde signifikant herunterreguliert bei mehreren Krebsarten wie dem Mammakarzinom, dem klarzelligem Nierenzellkarzinom und bei dem Glioblastom identifiziert. Bei dem Kaposi-Sarkom unterdrückt SH3BGR die Zellmigration und die Angiogenese.(140)

Es gab ein retinales Antigen, V-type proton ATPase subunit G 2 (ATP6V1G2), das sowohl in der intermediären AMD, der fortgeschrittenen AMD und der exsudativen AMD Typ 2 signifikant herunterreguliert identifiziert wurde. V-type proton ATPase subunit G 2 (ATP6V1G2) wurde unter anderem als prognostisches Gen, welches mit der oxidativen Phosphorylierung und dem mitochondrialen Stoffwechsel assoziiert ist, bei Patienten mit Aderhautmelanom identifiziert, um eine Konstruktion für ein Risikomodell zu erstellen. ATP6V1G2 war mit einer besseren Prognose und Überleben von Patienten mit Aderhautmelanom verbunden. Bei Gliom-Patienten wurde ATP6V1G2 mit der Ferroptose in Verbindung gebracht.(141)

Die fortgeschrittene AMD und die exsudative AMD Typ 1 und Typ 2 hatten ein signifikant herunterreguliertes retinales Antigen, Serine/arginine-rich splicing factor 10 (SRSF10), und ein signifikant hochreguliertes retinales Antigen, Mitochondrial ATP synthase subunit alpha (ATP5A1), jeweils gemeinsam. Serine/arginine-rich splicing factor 10 (SRSF10) steuert das alternative Spleißen spezifischer Transkripte und ist daher an zellulären Prozessen wie der Apoptose, der Mitose, der DNA-Reparatur und der Zellzykluskontrolle beteiligt. Außerdem ist SRSF10 für die embryonale Entwicklung und für neurologische Prozesse wichtig. Eine Überexpression von SRSF10 hat funktionelle Konsequenzen bei einigen Krebserkrankungen und ist bei der viralen Replikation von Bedeutung.(142) Mitochondrial ATP synthase subunit alpha (ATP5A1) ist eine Untereinheit der mitochondrialen ATP-Synthase, die an der ATP-Synthese und dem gekoppelten Protonentransport in den Mitochondrien beteiligt ist und diese katalysiert. Dies stellt die Hauptenergiequelle für intrazelluläre metabolische Wege dar. Des Weiteren ist ATP5A1 auch mit zellulärer Apoptose, der angeborenen Immunreaktion, der Tumorentstehung und der Angiogenese assoziiert. In einer Studie wurde das ATP5A1-Gen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der diabetischen Retinopathie zugeschrieben.(72)

Bei der frühen AMD, der intermediären AMD, der fortgeschrittenen AMD und der exsudativen AMD Typ 1 war jeweils ein retinales Antigen in allen Gruppen signifikant hochreguliert und signifikant herunterreguliert. Hochreguliert war 14-3-3 protein epsilon (YWHAE) und herunterreguliert war Serine/arginine-rich splicing factor 7 (SRSF7). 14-3-3 protein epsilon (YWHAE) wird in der inneren Netzhaut, vermehrt in den Stäbchenphotorezeptoren, exprimiert. Die 14-3-3-Proteine können auch als Adaptoren, welche die enzymatische Aktivität, Struktur und Stabilität von Proteinen modulieren, fungieren und sind an sehr vielen Zellvorgängen beteiligt.(57) Serine/arginine-rich splicing factor 7 (SRSF7) ist ein essenzielles RNA-bindendes Protein, das die Aufnahme von zirkadianen und krankheitsrelevanten alternativen Spleißereignissen reguliert. SRSF7 moduliert die alternative Polyadenylierung,

den mRNA-Export und fördert die Translation von nicht gespleißten viralen Transkripten. Des Weiteren wurde es als Onkogen identifiziert, dass bei verschiedenen Krebsarten überexprimiert wird.(143)

Bei Betrachtung aller retinalen Antigene, kommen zugehörige Proteingruppen gehäuft vor. Zum einen sind dies vermehrt Splicing Proteine wie SRSF2, SRSF7, SRSF10, SF3B3 und SF3B6. Diese sind nur signifikant herunterreguliert in den AMD-Untergruppen festgestellt worden. Dadurch können wichtige Rückschlüsse auf die AMD Pathologie gezogen werden und diese könnten sich als potenzieller Biomarker darstellen. Generell sind die Splicing Proteine für die Translationskontrolle und Genomstabilität zuständig, indem sie das prä-mRNA-Spleißen und den mRNA-Export regulieren und so in wichtige zelluläre Prozesse wie der Apoptose, der Mitose, der DNA-Reparatur und der Zellzykluskontrolle eingreifen.(142, 143) Eine andere Proteingruppe sind die 26S Proteasom regulatorischen Untereinheiten wie PSMD2, PSMD6, PSMD12 und PSMC3. Diese sind bis auf PSMC3, welches signifikant herunterreguliert ist, signifikant hochreguliert in verschiedenen AMD Gruppen. Auch diese Proteine, welche für die Proteinqualitätskontrolle und die Proteinhomöostase verantwortlich sind, spielen eine wichtige Rolle bei vielen Signal-Transduktionswegen wie der Autophagie, der Zellproliferation, dem Zellzyklus und der Metastasierung, welche bei der AMD Pathologie wichtig sind. Die 14-3-3 Proteine stellen eine weitere Familie da, die vermehrt festgestellt wurde. Alle (YWHAB, YWHAE, YWHAH und YWHAQ) sind signifikant hochreguliert in allen AMD Gruppen bis auf die exsudative AMD Typ 2 identifiziert worden. Diese sind ebenfalls an AMD-Pathologie Prozessen mitbeteiligt wie Signaltransduktion, Zellzyklus, Zellwachstum, Apoptose und bösartige Transformation. Eine weitere verwandte Proteingruppe sind die Tubuline wie TUBB, TUBB3, TUBB4A, TUBA1B und TUBAL3. Diese retinalen Antigene kommen nur bei der exsudativen AMD Typ 1 und 2 vor, dies unterstreicht deren Bedeutung bei der Pathologie der feuchten AMD. Bis auf TUBB sind die Proteine signifikant hochreguliert. Tubuline sind Zytoskelettproteine, regulieren die Dynamik der Mikrotubuli und sind somit am intrazellulären Transport, der Zellteilung und der Zellmotilität beteiligt. Diese Prozesse könnten daher entscheidend für die Ätiologie der feuchten AMD sein. Ebenfalls eine sehr große Gruppe stellen die 60S ribosomalen Proteine wie RPL3, RPL5, RPL7A, RPL9, RPL18, RPL22 und RPL23 dar. Diese wurden in einigen AMD Gruppen signifikant hoch- oder herunterreguliert festgestellt. Generell sind sie für die Transkription und die Verarbeitung von rRNA zuständig, und greifen so in wichtige zelluläre Prozesse wie der Zellproliferation, dem Zellzyklus, dem zellulären Stoffwechsel und der Apoptose ein, die ebenfalls bei der AMD Pathologie von Bedeutung sind.

Die AMD Pathologie ist äußerst komplex und noch nicht vollständig erforscht. Es zeigt sich eine Abnahme der Autophagiekapazität, eine erhöhte ROS-Produktion und mitochondriale DNA-Schäden. Diese induzieren eine vermehrte Entzündungsaktivierung und eine erhöhte Proteinaggregation in den RPE-Zellen, welche eine hohe Phagozytoserate aufweisen. Zusätzlich dazu führt chronischer oxidativer Stress und zelluläre Seneszenz frühzeitig zur Degeneration der RPE-Zellen.(144) In einer Studie bei AMD-Patienten mit vorzeitig seneszenten retinalem Pigmentepithelzellen im Vergleich zu den Kontrollzellen ergab sich eine Anhäufung von großen Fragmenten mehrerer typischer zytosolischer Proteine. Diese Proteine sind die GAPDH, Triosephosphat-Isomerase und M2-Typ-Pyruvat-Kinase, welche für die Chaperon-vermittelte Autophagie in Lysosomen verantwortlich sind.(111)

Eine Studie setzte sich daher ebenfalls genauer mit den Prozessen der AMD-Pathologie auseinander. Diese zeigte, dass bei oxidativem Stress Erythropoietin, JAK2 und BCL-xL und Caspasen induziert und Prohibitin beeinflusst sind. Vimentin und Crystallin werden als

protektiver Schutzmechanismus assoziiert. Als potenzielle therapeutische Ziele wurden Ubiquitin, Erythropoietin, Vitronectin, Kristallin, Stickstoffmonoxid und Prohibitin genannt.(145)

Eine neue Theorie besagt, dass die Blut-Retina-Schranke (BRB) bei trockener AMD nicht wie angenommen dicht ist, sondern kleine Leckagen und Dysfunktionen hat, wodurch retinatxische Plasmaproteine hindurch kommen und eine Makuladegeneration bewirken. Diese Hypothese würde auch unterstützen, dass bei 20% der trockenen AMD Patienten subretinale oder intraretinale Flüssigkeit ohne choroidaler Gefäßspaltung beobachtet wurde.(146) Solche Undichtigkeiten von Schranken wie die Blut-Hirn oder Rückenmark-Schranke sind bei Schrankeamyotropher Lateralsklerose, Parkinson-Krankheit und beim Morbus Huntington bekannt. Serumproteine, die aufgrund ihrer Größe nicht durch die BRB eindringen können, wie Albumin und der Komplementkomponente 9 (C9) wurden in erhöhten Konzentrationen bei trockenen AMD-Patienten gefunden. Weitere signifikant identifizierte Proteine sind Fibrinogen und ein IgG Anstieg um das 2,8 fache. Nicht signifikant wurde ein erhöhter Eisenspiegel und vermehrte Anti-Membranangriffskomplexe-Antikörper festgestellt. Lokalisiert werden Albumin und IgG in den äußeren Photorezeptorsegmenten und dem Membranangriffskomplex in der äußeren plexiformen Schicht. Der Befund dieser Proteine spricht wieder für eine Undichtigkeit der Blut-Retina-Schranke, daher könnten neue Therapiemethoden für die trockene AMD erforscht werden, die auf die BRB abzielen.(146)

Die Blut-Retina-Schranke besteht aus den tight junctions der Endothelzellen des Gefäßsystems und dem retinalen Pigmentepithel. Um die autoimmune Beteiligung bei der AMD-Pathogenese zu unterstützen, muss eine Gefäßschädigung oder Infektion stattgefunden haben um die Blut-Retina-Schranke angreifbar zu machen. Dann können retinale Antigene freigelegt sein und Immunzellen sowie andere Proteine können leichter eindringen. Als pathogene Krankheitserreger werden Chlamydia pneumoniae-, Cytomegalovirus-IgG-Antikörpertiter und Anti-C. pneumoniae-Antikörper mit der AMD assoziiert, die ein Risiko einer AMD Erkrankung erhöhen. Erhöhte retinale Autoantikörper werden bei 94% der Patienten mit AMD im Frühstadium und 83% der Patienten mit AMD im Spätstadium festgestellt. Es ist jedoch noch nicht geklärt, ob die Autoantikörper als Auslöser im frühem Stadium oder für das Voranschreiten der AMD verantwortlich ist.(147)

In einer anderen Studie wurde die Metallhomöostase im Tränenfilm von trockenen AMD Patienten mit gesunden Kontrollprobanden untersucht. Signifikant erhöht waren Metallothionein 1A (MT1A) und S100 Calcium-bindendes Protein A6 (S100A6). MT1A dient der Entgiftung, Schutz vor oxidativem Stress und Neuroprotektion. Signifikant vermindert wurden Lactoferrin (LF), Eisen (Fe), Magnesium (Mg) und Kupfer (Cu), welches für den Sehzyklus wichtig ist, festgestellt. Laktoferrin wirkt antibakteriell, antiviral, antitumoral und immunmodulierend. Eisen ist ein redoxaktives Metall, das vor oxidativem Stress und vor Neurodegeneration schützt. Magnesium dient der Funktion der Zellmembran, der Herstellung von Nukleinsäuren und zum Energiestoffwechsel. Bei Betrachtung der MT1A, Na und Mg in Kombination konnte man sogar die Erkrankung der AMD bis zu 73% voraussagen.(36)

In einer weiteren Studie wurden Komplementfaktor-H-Autoantikörper-Titer zwischen AMD Patienten, gleichaltrigen Kontrollpersonen und gesunden Blutspendern untersucht. Ergebnis war ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. AMD Patienten haben eine verringerte Prävalenz von Faktor-H-Autoantikörpern. Es zeigte sich, dass die Prävalenz von Faktor-H-Autoantikörpern mit dem Alter zunimmt, aber das Geschlecht keinen Einfluss zeigte. Beim CFH Gen, welches für den Komplementfaktor H kodiert, ist die Sequenzvariante

(c.1277TC; p.Tyr402His, rs1061170) mit einer höheren Wahrscheinlichkeit verbunden eine AMD zu entwickeln. Eine Deletion der Komplementfaktor-H-verwandten Proteine 1 und 3 und der damit einhergehenden niedrigen Expression geht mit einer geringeren Prävalenz der AMD einher.(148)

Bei Patienten mit AMD wird Phosphatidylserin (PS) in der inneren und äußeren Körnerschicht der Netzhaut stärker exprimiert als bei gesunden Probanden. PS interagiert mit dem Komplementfaktor H, Komplement C4 und Annexin V um je nachdem eine Apoptose, Nekrose oder Zellaktivierung einzuleiten. Ein erhöhtes Anti-PS-Verhältnis geht mit einem erhöhten Risiko einher eine fortgeschrittene, feuchte AMD zu entwickeln. Im Serum wurden je nach Stadium der AMD korrelierende erhöhte IgM Autoantikörper gefunden. Bei der trockenen AMD handelt es sich um β 2-Mikroglobulin, Leberzytosol Typ 1 (LC1), Myosin, PCNA und RPLP0. Die feuchte AMD hat zusätzlich noch Kollagen III, Kollagen IV, Cytochrom C, Elastin, Hämocyanin, Heparansulfat und PM/Scl-100 Autoantikörper. Als signifikant erhöhte IgG Autoantikörper wurden bei der trockenen AMD β 2-Mikroglobulin, zyklische Nukleotidphosphodiesterase (CNPase), Fibronectin, Heparan-Sulfat und ribosomales Phosphoprotein P0 (RPLP0) im Serum festgestellt. Bei der feuchten AMD wurden noch mehr erhöhte IgG Autoantikörper gefunden. Diese sind β 2-Mikroglobulin, Heparan-Sulfat, RPLP0, Cardiolipin, Cytochrom C, Phosphatidylserin (PS), dsRNA, Elastin, Insulin, JO-1, proliferierendes Zellkernantigen (PCNA), U1-snRNP-68 und U1-snRNP-BB'. Des Weiteren wurden die IgG/IgM-Verhältnisse untersucht, bei denen sich bei der trockenen AMD erhöhte Antikörper für Anti-PS, Anti-Fab D1.3 und Anti-JO-1 und bei der feuchten AMD erhöhte Antikörper gegen PS, Insulin, JO-1 und Ro-52 (SSA) zeigten. Als prädiktive Biomarker stellte sich für die trockene AMD das Anti-Fab D1.3 und bei der feuchten AMD das Anti-PS-IgG/IgM Verhältnis als genaueste Vorhersage dar. Um das Voranschreiten der Erkrankung von einer trockenen zu einer feuchten AMD zu beurteilen, eignet sich das Anti-Ro-52 (SSA)-Verhältnis. Dies ist ein Autoantikörper gegen Ribonukleoprotein und ist bereits als Marker bei dem systemischen Lupus erythematoses und des Sjögren-Syndroms etabliert.(149)

Bei Blutanalysen wurden in einer anderen Studie erhöhte Anti-Enolase- und Anti-40-kDa-Autoantikörper bei der intermediären AMD und erhöhte Anti-30-kDa Autoantikörperspiegeln bei geografischer Atrophie festgestellt. Außerdem trat das Anti-Pyruvatkinase-Isoenzym M2 IgG bei Patienten mit AMD in den früheren Stadien auf und könnte ein prädiktiver Marker für das Voranschreiten der Erkrankung sein. Im Tränenfilm ergab sich ein positiver Zusammenhang zwischen der AMD und dem transformierenden Wachstumsfaktor beta B1 (TGF- β B1) und dem mitochondrialen Pyruvatträger 1 (MPC-1), welche beide proinflammatorischen Zytokine sind.(20)

Als serologische Biomarker der AMD gelten Autoantikörper (AAbs), Komplementproteine und Zytokine/Chemokine. Zu diesen gehören das C-reaktive Protein (CRP), Komplementproteine, Tumor-Nekrose-Faktor- α -Rezeptor 2, Interleukin-6 und lösliches vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1. Auch eine Rolle bei dem Entzündungsprozess spielen Chemokine (MCP-1) und vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF). Bei den entzündlichen Zytokinen IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-13 und IL-17 wurde ein erhöhter Plasmaspiegel bei AMD Patienten festgestellt. Von besonderer Bedeutung ist das IL-17, da es die Degeneration von Photorezeptorzellen und der RPE-Schicht sowie eine Angiogenese bewirkt. Chemokine wie CCL2 (MCP-1) und CX3CL1 (C-X3-C-Motiv-Chemokin-Ligand 1) fördern eine Migration von Leukozyten, die ebenfalls zu einer Degeneration und Neovaskularisation führen. Autoantikörper entstehen bereits 3-15 Jahre bevor es überhaupt

zu Symptomen einer AMD kommt. Ihre Angriffspunkte sind Zellkerne, Nukleoli und Kernmembranen in den äußeren und inneren Körnerschicht. Diese Anti-Retina-Aabs treten daher vermehrt bei früher AMD auf. Es wurden schon viele AAbs festgestellt, darunter Aabs gegen Elastin, Heparansulfat, Fibronectin, Kollagen III und IV, $\alpha\beta$ -Kristallin, α -Actinin, Amyloid, C1q-Protein, Chondroitin, Histon H2A und H2B, Laminin, Vimentin, Vitronectin, Aldolase C und Pyruvatkinase M2, zyklische Nukleotidphosphodiesterase, Phosphatidylserin (PS) und proliferating cell nuclear Antigen, glial fibrillary acidic protein (GFAP) und α -Enolase. Signifikant erhöht waren Anti-PS-IgGs bei der fortgeschrittenen und feuchten AMD. Ebenfalls bei beiden Formen der fortgeschrittenen AMD waren Autoantikörper gegen Retinol-bindendes Protein 3 (RBP3, 120-kDa), Retinol-bindendes Protein 1 (RLBP1, 36-kDa), Aldolase C (39-kDa) und glial fibrillary acidic protein (GFAP, 52-kDa) vorhanden. Sowohl bei feuchter als auch bei der trockenen AMD waren Autoantikörper gegen Pyruvatkinase M2 (60-62-kDa) vorhanden. Bei der früher AMD überwiegen Autoantikörper gegen Hitzeschockproteine wie HSPA8, HSPA9, HSPB4 (auch bekannt als α -Kristallin), Annexin A5 und S100 Calcium-bindendes Protein A9 (S100-A9, Calgranulin B). Die Age-related Eye Disease Study (AREDS) stellte AAbs gegen α -Enolase bei 46% der Patienten mit geografischer Atrophie (GA), aber nur 29% der Patienten mit feuchter AMD fest. Des Weiteren werden AAbs gegen α -Enolase mit anderen Erkrankungen wie krebsbedingter Retinopathie (CAR), Autoimmunretinopathie, Krebs, Alzheimer-Krankheit, und rheumatoider Arthritis assoziiert. Generell zeigte sich, dass Anti-40-kDa- und 42-kDa-Aabs bei der intermediärer AMD, Anti-30-kDa-Aabs vor allem bei der geographischen Atrophie und Anti-32-kDa-, 35-kDa- und 60-kDa-Aabs häufiger bei der feuchten AMD überwiegend auftraten. Wie schon in der Krankheitsentwicklung der AMD berichtet, nimmt das Komplementsystem eine wichtige Rolle ein. Vor allem sind die komplementbezogenen Proteine C3a, C5a, C5, C5b-9, Komplementfaktor H (CFH), CD35 und CD46 an der Pathologie involviert. Hierbei sind erhöhte Werte von C3a, Bb und C5a mit einem hohen Risiko für fortgeschrittene AMD verbunden.(150)

In einer anderen Studie wurden signifikante Proteinunterschiede bei AMD Patienten festgestellt. Hochreguliert waren die Retinaldehydrogenase 1, Alpha-Enolase und das ABCB1. Vermindert festgestellt wurden Annexin A1 und A4, Aldo-keto reductase family 1 member A1, Glutathione S-transferase P, Allograft inflammatory factor 1, Cytospin-A, Short stature homeobox protein 2.(37)

Eine weitere Studie beschäftigte sich mit potenziellen Serumbiomarker für die AMD. Hierbei wurden das Phospholipid-Transferprotein (PLTP) und die Mannan-bindenden Lektin-Serin-Protease (MASP)-1 identifiziert. Beide Marker waren im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden signifikant erhöht. PLTP spielt eine Rolle beim Lipidstoffwechsel und bei Entzündungen, MASP aktiviert das Komplementsystem und ist verstärkt exprimiert bei oxidativem Stress, all diese Vorgänge sind bei der Pathogenese der AMD vorhanden. PLTP wies eine stärkere Unterscheidungskraft als MASP zwischen AMD Patienten und gesunden Kontrollprobanden auf, jedoch konnte keiner der beiden wirksam zwischen früher und später AMD differenzieren. Positiv stellte sich heraus, dass beide Marker weder von Alter, Geschlecht, Rauchen noch von Erkrankungen wie Diabetes, Bluthochdruck, Krebs beeinflusst wurden.(151)

Als weitere potenzielle Plasmabiomarker für AMD Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden wurde in einer anderen Studie ebenfalls geforscht. Es waren sowohl die frühe AMD als auch über 95% Therapie naive feuchte AMD vertreten. Signifikant unterschieden sich Vinculin, Protein S100A9 und S100A8, Triosephosphat-Isomerase,

Protein Z-abhängiger Proteaseinhibitor, C-X-C-Motiv-Chemokin 7 und Tenascin X bei der AMD Kohorte. Protein S100A9 und 8 spielen eine Rolle bei Entzündungen und der Apoptose. Vinulin ist ein 117-kDa großes Plasmaprotein, das bei oxidativem Stress und der Angiogenese erhöht ist. Es war bei AMD Patienten bis zu 5,3-fach erhöht und konnte diese mit einer Genauigkeit von 88% zu gesunden Kontrollprobanden unterscheiden. Außerdem wird es nicht von Alter, Raucherstatus, kardiovaskulären Erkrankungen und Krebs beeinflusst.(112)

In einer weiteren Studie wurden Proteine aus dem Tränenfilm von neovaskulären, allerdings nicht treatment naiven, AMD-Patienten mit gesunden Kontrollprobanden verglichen. Hierbei stellten sich als signifikant erhöhte Proteine Retinal Dehydrogenase, ATP-dependent Translocase ABCB1 und Alpha-Enolase heraus. Signifikant verringert wurden Annexin A1, Annexin A4, Aldo-Keto Reductase family 1 member A1, Uncharacterized Protein C11orf98, Glutathione S-transferase P, Allograft inflammatory factor 1, Cytospin-A or Elongation factor 2 und Short stature homeobox protein 2 festgestellt. Das herabgesetzte Glutathion-S-Transferase P, ein Antioxidans, welches Sauerstoff-Radikale abfängt, verstärkt in der Pathogenese die Rolle des oxidativen Stresses. Ebenfalls am oxidativen Stress beteiligt und vermindert ist das Aldoketo-Reduktase-Familie 1 Mitglied A1 (AKR1A1). Auch an Redox-Reaktionen mitwirkend ist das Protein Retinale Dehydrogenase 1 (RALDH1), welches für den Sehzyklus essenziell ist. Annexin spielt eine Rolle bei Autophagieprozessen und bei der Bildung des Zytoskeletts, der Zellmembran und bei der Zellsignalisierung bei Entzündungen.(152)

Ebenfalls das Tränenproteom betreffend erforschte eine andere Studie Biomarker von sowohl feuchten als auch trockenen AMD Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden. Als potentielle Biomarker für die trockene und feuchte AMD stellten sich Shotin-1, Histatin-3, Fidgetin-ähnliches Protein 1, SRC-Kinase-Signalinhibitor, Morbus Basedow-Träger Protein, zytoplasmatisches Aktin 1, Prolaktin-induzierbares Protein 1 und S100-A7A-Protein heraus, welche hochreguliert waren. All diese Proteine spielen in der Pathogenese der AMD eine Rolle, wie beispielsweise der Autophagie, Entzündung und dem oxidativen Stress.(153)

In einer anderen Studie wurden Proben von Blut und Tränenflüssigkeit von AMD Patienten und gesunden Kontrollprobanden auf Antikörper und deren sezernierenden B-Zellen analysiert. Als Ergebnis zeigte sich bei AMD Patienten ein signifikant erhöhter IgA-Titer in Serum und Tränenflüssigkeit, wobei IgM und IgG nicht signifikant erhöht waren. IgA stellt den häufigsten Antikörper-Isotyp in Schleimhautsekreten dar, um bei eindringenden Krankheitserregern das alternative Komplementsystem zu aktivieren, welches bei der Ätiologie der AMD beteiligt ist. Zusätzlich zeigte sich eine erhöhte Konzentration von zirkulierenden Plasmablasten, die von den Antikörper sezernierenden B-Zellen eine seltene Subpopulation darstellt. Beide Parameter korrelierten positiv mit dem Schweregrad der AMD, wobei das fortgeschrittene Stadium höhere Werte als die frühe Form der AMD aufwies. Somit ist eine überreaktive IgA-Bildung von Plasmablasten in der AMD-Pathogenese ein weiterer Faktor.(154)

In einer weiteren Studie wurden neue, potenzielle Biomarker, die im Serum und Urin gemessen wurden, erforscht. Zu diesen gehören der transformierende Wachstumsfaktor (TGF)-1, makrophage chemoattractant protein (MCP)-1 und C3a der Komplementkaskade. Alle zählen zu den proinflammatorischen Zytokinen. Hierbei wurde ein Zusammenhang zwischen erhöhtem TGF-1 und MCP-1 nach Anpassung an Alter, Nierenfunktion und

Medikation gegen Hypertonie zu der Erkrankung der AMD festgestellt. Festgestellt wurde auch ein erhöhter MCP-1-Spiegel im Urin für die frühe AMD und geographische Atrophie, zusätzlich war generell ein erhöhter TGF-1-Spiegel im Urin feststellbar. Auch statistisch signifikant war bei einem Anstieg des TGF-1-Spiegel im Urin um 10 ng/mmol eine 24%ige erhöhte Wahrscheinlichkeit zur Entwicklung einer frühen AMD. Des Weiteren wurde der Allelstatus der Y402H-Variante des CFH Gens miteinbezogen und festgestellt, dass mindestens Allel (C) signifikant mit einem erhöhten MCP-1-Zytokinpiegeln im Urin korreliert.(155)

Antiretinale Autoantikörper (Aabs) sind von vielen Faktoren abhängig, darunter zählt das Rauchverhalten, das Alter sowie das Immunsystem. Auch das Geschlecht, Hormone und chronische Erkrankungen wie rheumatoide Arthritis haben einen Einfluss. Man erhofft sich antiretinale Autoantikörper als Biomarker ausfindig zu machen, welche jeweils für die verschiedenen AMD Subgruppen korrelieren. Unklar ist jedoch, ob die retinalen Autoantigene die Erkrankung der AMD verursachen oder ob sie aufgrund der Netzhautschädigung und anderen Krankheitsprozessen hervorgehen. Zu diesen Aabs zählen Anti-Aldolase C, Anti-Pyruvatkinase-Isoform M2, Antiretinaldehyd-bindendes Protein 1, Anti-Retinol-bindendes Protein 3, Anti-Glia Fibrillary Acidic Protein (GFAP), Anti- α -Enolase und Anti-Carboxyethylpyrrol (CEP). Spezifische Aabs werden auch in anderen Erkrankungen wie in der Onkologie, Alzheimer-Krankheit und Autoimmunkrankheiten wie rheumatoider Arthritis in Verbindung gebracht und erforscht. Antiretinale Autoantikörper traten bei der intermediären und späten AMD zu 58% und bei gesunden Probanden zu 54% auf. Generell waren 51% der intermediären, 32% der späten AMD und nur 19% der gesunden Probanden seropositiv auf mindestens ein retinales Antigen. Die Anti-Enolase-Autoantikörper trafen deutlich häufiger bei Patienten mit intermediärer AMD und geografischer Atrophie mit über 40% als bei der feuchten AMD sowie gesunden Probanden bis zu 29%. Bei der intermediären AMD wurden vermehrt Anti-40-kDa (10%) und 42-kDa (16%) Autoantikörper und bei der geographischen Atrophie wurden hauptsächlich Anti-30-kDa-AAbs (23%) identifiziert. Bei der neovaskulären AMD waren Anti-32-kDa (12%), 35-kDa (21%) und 60-kDa (8%) AAbs häufiger vertreten. (156)

Es wurden signifikant erhöhte Autoantikörpertiter im Serum von Patienten mit AMD im Vergleich zu Kontrollpersonen gefunden. Durch die Immunzytochemie wurden spezifische Autoantikörper gegen die Aderhaut, die Bruch-Membran, das retinale Pigmentepithel, die äußere Körnerschicht der Photorezeptoren sowie die innere Körnerschicht und die retinale Ganglienzellschicht identifiziert. Allerdings ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen der trockenen und feuchten AMD Gruppe. (157)

Des Weiteren wurde das Profil retinaler Autoantikörper bei Patienten mit früher AMD und Kontrollpersonen der Blue Mountains Eye Study verglichen. Außerdem wurden die Autoantikörper aller Isotypen bei Patienten mit früher AMD zu Studienbeginn nach einmal 5 und 10 Jahren bei entwickelter fortgeschrittener AMD überprüft, wobei jedoch kein Zusammenhang gefunden wurde. Bei Patienten mit früher AMD waren überwiegend Autoantikörper gegen Polypeptidantigene zwischen 20-35 kDa und 50-60 kDa und mehrere IgG-Subklassen im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht. Zu den gefundenen Autoantikörpern konnten wenige zugeordnet werden, darunter Aabs gegen retinale Astrozyten, ein Neurofilamentprotein (68 kDa), Carboxy-Ethylpyrrol-Protein-Addukte und mehrere andere retinale Proteine. Allerdings wurden auch bei 25% der Kontrollgruppe ähnliche Autoantikörper festgestellt. Autoantikörper bei gesunden Personen bezeichnet man als natürlich vorkommende oder natürliche Autoantikörper. Diese werden ohne Stimulation

von Antigenen gebildet und gehören zum angeborenen und nicht erworbenen Immunsystem. Da es sich um dieselben Isotypen und Antigene der Autoantikörper handelt, könnte es sich bei den Patienten mit früher AMD nur um eine verstärkte natürliche Autoantikörperreaktion handeln, wodurch die autoimmune Komponente der Erkrankung der AMD in Frage gestellt wird. (158)

Im Augengewebe vom AMD Patienten wurden erhöhte Carboxyethylpyrrol (CEP)-Proteinaddukte festgestellt, die durch vermehrten oxidativen Stress entstehen und akkumulieren. Des Weiteren war die mittlere Konzentration der Anti-CEP-Immunreaktivität 1,5-mal höher als bei gesunden Kontrollprobanden und die Anti-CEP-Autoantikörpern hatten einen 2,3-fach signifikant höheren Titer. Generell wiesen 53% der AMD Patienten und 21% der Kontrollpersonen einen hohen Anti-CEP-Autoantikörper-Titer auf. Einen erhöhten Antigen- als auch Autoantikörperspiegel zeigten 92% der AMD Patienten. (159)

Es wurden als Biomarker Carboxymethyllysin (CML), Carboxyethylpyrrol (CEP) und Pentosidin für die AMD Subgruppen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden untersucht. Dabei wurden 54% höhere CML, 64% höhere Pentosidin und 86% höhere CEP Werte bei AMD Erkrankten festgestellt. Bei fortgeschrittener AMD waren 9% mehr CML und 17% höheres Pentosidin in Vergleich zu früher und intermediärer AMD vorhanden. Die Autoantikörper-Titer gegen CEP, CML und Pentosidin waren jedoch nicht signifikant bis zu 11% erhöht, wobei der CEP Autoantikörper-Titer am höchsten war. CML und Pentosidin sind fortgeschrittene Glykationsendprodukte, wobei CML eine Lysinmodifikation und Pentosidin eine fluoreszierende Lysin-Arginin-Vernetzung ist. Carboxyethylpyrrol (CEP) dagegen ist ein oxidatives Produkt von Docosahexaenoat-haltigen Lipiden. Alle drei sind in der Bruch-Membran angereichert und stimulieren die Angiogenese. Bei AMD-Patienten mit Hypertonie oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen wurden signifikant höhere Pentosidinwerte und CEP-Addukte beobachtet. Die jeweiligen Biomarker allein können von 78% bis 88% Genauigkeit zwischen AMD-Patienten und gesunden Kontrollpersonen unterscheiden. Bei Verwendung aller Drei erhält man den besten prognostischen Ansatz. (160)

Es wurden bei Patienten mit AMD signifikant erhöhte CEP-Immunreaktivitätswerte und Anti-CEP Autoantikörpertiter festgestellt. Bei Probanden, bei denen beide Werte erhöht waren, betrug die AMD-Rate 92%. CEP entsteht durch oxidativen Stress bei der Oxidation von freien Radikalen mit Docosahexaensäure (DHA), diese mehrfach ungesättigte Fettsäure macht den größten Lipidanteil in den Photorezeptor-Außensegmenten aus. Der Plasmabiomarker CEP kann zu 76% eine Unterscheidung zwischen AMD Erkrankten und Kontrollpersonen treffen, bei Hinzunahme von genomischen Markern steigt die Unterscheidungsgenauigkeit auf etwa 80%. Als weitere potenzielle Biomarker wurden A2E Carboxymethyllysin (CML) und Pentosidin in Erwägung gezogen. A2E ist Teil des Lipofuszin im RPE und als Ablagerungen auf der Bruch'schen Membran, das im Alter stetig zunimmt und die Angiogenese fördert, indem es die VEGF-Expression steigert. CML und Pentosidin wurden ebenfalls signifikant erhöht im Serum von Patienten mit AMD im Vergleich zu Kontrollpersonen identifiziert. Als präventive Therapie sind wie bereits erwähnt Omega-3 Fettsäurepräparate etabliert. Allerdings ist DHA eine Omega-3 Fettsäuren und die Vorstufe von CEP. DHA verhindert durch ihre Stoffwechselprodukte die Apoptose und schützt vor oxidativem Stress und Entzündungen, allerdings durch ihren Zusammenhang mit CEP wirft es einige ungeklärte Fragen auf.(161)

In einer anderen Studie wurden Autoantigene gegen retinale Proteine im Serum von Patienten mit trockener AMD, Patienten mit feuchter AMD und gesunden Kontrollprobanden

untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass bei Patienten mit feuchter AMD eine signifikant höhere Reaktivität gegen Retinol-bindendes Protein 3 und Aldolase C (ALDOC) im Vergleich der anderen beiden Gruppen besteht. Sowohl bei der feuchten als auch bei der trockenen AMD wurden vermehrt Autoantikörper gegen Pyruvatkinase M2 (PKM2) identifiziert. Die Anti-PKM2-IgG-Antikörper Titer korrelierten mit dem Stadium der AMD, dabei hatten feuchte AMD Patienten die höchste und gesunde Kontrollpersonen die niedrigste Konzentration. Daraus lässt sich schließen, dass Anti-PKM2-IgG ein zuverlässiger Biomarker oder Prädiktor der AMD sein könnte. Gleichzeitig wurden bei Mäusen untersucht, dass die ALDOC und PKM2 Expression durch Alterung abnimmt. Rbp3 und RLBP1 gehen aus dem Retinoid-Stoffwechsel hervor und sind bekannt als auslösendes Antigen der Autoimmun-Uveitis. PKM2 ist mit dem Glukosestoffwechsel wie ALDOC assoziiert, zusätzlich spielt es eine Rolle bei der Zellproliferation und wird auch von Tumorgewebe sezerniert. Ebenfalls wurden bei Patienten mit diabetischer Retinopathie Anti-Aldolase-Autoantikörper festgestellt.(162)

In einer weiteren Studie wurden fünf Autoantikörper im Serum von Patienten mit neovaskulärer AMD über 5 Jahre hinweg während Anti-VEGF-Behandlung und dem weiteren Krankheitsverlauf analysiert. Die Autoantikörper richten sich gegen den Angiotensin-II-Rezeptor Typ 1 (AT1-Rezeptor), Protease-aktivierte Rezeptoren (PAR1), vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) -A, VEGF-B und den VEGF-Rezeptor, die alle am Prozess der Angiogenese mitwirken. Leider ergaben weder die einzelnen Autoantikörper noch deren Zusammenschluss statistisch signifikante Resultate, die klinische Aktivitätsparameter für das Voranschreiten der AMD auf den Fünfjahresverlauf erlauben. Weder konnten Rückschlüsse auf die Anzahl der Anti-VEGF-Injektionen noch die Entwicklung von subretinaler oder intraretinaler Flüssigkeit sowie Fibrosen gemacht werden. Da es bekannt ist, dass diese Behandlungsform den systemischen VEGF-Spiegel kurzzeitig reduziert, wurden die Messungen immer erst vier Wochen nach der Injektion durchgeführt. Andere Studien untersuchten ein erhöhtes Verhältnis von IgG/IgM zu Phosphatidylserin, das positiv mit den Subgruppen der AMD korrelierte. Weitere Biomarker für die AMD Erkrankung stellen Vitronectin, Fibronectin, Anti-enolase-Autoantikörper, die sogar mit verschiedenen Krankheitsstadien entsprachen, GFAP, Carboxyethylpyrrol, Cellular Retinaldehyde Binding Protein und Retinol Binding Protein-3 dar.(163)

Die IgG Antikörpermuster gegen retinale Antigene in Serum von Patienten mit feuchter AMD zu gesunden Kontrollpersonen wurden ebenfalls in einer anderen Studie verglichen. Als Ergebnis stellten sich statistisch signifikante unterschiedliche Antikörperprofile zwischen den beiden Gruppen dar. Bei den Patienten mit feuchter AMD gab es sowohl Hochregulierungen als auch Herabregulierungen in der Antigen-Antikörper-Reaktivität. Hochreguliert waren die Molekulargewichtsbereiche 14, 46, 52, 64 und 82 kDa, dabei wurde 46 kDa als α -Enolase und 52 kDa als glial fibrillary acidic protein (GFAP) identifiziert. Antikörper gegen α -Enolase war bei 67% und Antikörper gegen GFAP bei 44% der AMD-Patienten erhöht. α -Enolase stellt ein glykolytisches Enzym dar, dass zur Hitzeschockproteinfamilie gehört und an Autoimmunprozessen beteiligt ist. Des Weiteren wurden erhöhte Antikörper gegen α -Enolase bei Patienten mit rheumatoider Arthritis, primärer membranöser Nephropathie, Lupus erythematodes, Krebs-assoziiertes Retinopathie und Autoimmunretinopathie beobachtet. GFAP stellt das Intermediärfilament in Astrozyten dar und wird in Kombination mit Vimentin bei Verletzungen oder Stress vermehrt gebildet, was bereits bei Multipler Sklerose und Lupus erythematodes bekannt ist. Herabreguliert waren die Molekulargewichtsbereiche 18, 24, 36 und 174 kDa, wobei 18 kDa als α B-Crystallin identifiziert wurde. α B-Crystallin-Antikörper waren jedoch nur bei 15% der AMD-Patienten vermindert. Sie sind auch

Hitzeschockproteine, dienen als molekulare Chaperone und werden vor allem in der Linse exprimiert. α -Crystallin steht in Verbindung mit den Erkrankungen Katarakt und Multipler Sklerose.(164)

Des Weiteren wurde die GFAP-Expression in der Netzhaut von Patienten mit geografischer Atrophie, Patienten mit Drusen und sowohl gleichaltrige als auch junge Kontrollpersonen verglichen. Das Glial fibrillary acidic Protein (GFAP) wird von den Astrozyten gebildet, das neben den Müllerzellen zu den Makrogliazellen in der Netzhaut gehören. Beide übernehmen wichtige Funktionen für die Netzhaut und Müllerzellen sind zu der Blut-Retina-Schranke als auch den Photorezeptoren benachbart. Es zeigte sich eine signifikante Hochregulierung der GFAP-Immunreaktivität wurde sowohl bei gleichaltrigen Kontrollpersonen zu jungen Kontrollpersonen als auch Patienten mit Drusen zu Kontrollpersonen. Außerdem wurde bei der Patientengruppe mit geografischer Atrophie sowohl zu den Patienten mit Drusen als auch zu den Kontrollpersonen signifikant hochmoduliertes GFAP beschrieben. Dabei ließ sich bei Patienten mit Drusen die signifikant erhöhte GFAP-Expression auf die Astrozyten in der inneren Netzhaut und bei Patienten mit geographischer Atrophie auf die Müllerzellen in der äußeren Netzhaut unterscheiden.(165)

Als Ergänzung zur Age-Related Eye Disease Study (AREDS) wurde in einer weiteren Studie neben den Risikofaktoren den Zusammenhang zwischen CRP-Werten und der AMD untersucht mit der Hypothese, ob erhöhte CRP-Werte mit einem erhöhten AMD-Risiko verbunden sind. CRP ist ein Marker für systemische Entzündungen und stellt einen Risikofaktor für kardiovaskuläre und periphere arterielle Erkrankungen dar, die ebenfalls mit der Pathologie der AMD, wie schon beschrieben, in Verbindung stehen. Konkret zählen darunter die koronare Herzkrankheit, der Schlaganfall und Alzheimer. Es stellte sich heraus, dass Patienten mit fortgeschrittener AMD signifikant höhere CRP-Spiegel als Kontrollprobanden hatten. Auch innerhalb der Subgruppen der AMD war ein mit Zunahme des Krankheitsstadium ein positiv korrelierter CRP-Wert zu beobachten. Die höheren CRP-Werte hingen mit der AMD unabhängig von anderen Risikofaktoren wie Tabakkonsum oder BMI signifikant zusammen. Auch statistisch signifikant war ein zunehmendem CRP-Spiegel mit einem höheren Erkrankungsrisiko verbunden.(166)

Es wurden Antiphospholipid-Autoantikörper (aPL), Lupus Antikoagulans (LA) und Anticardiolipin-Antikörper (aCL) von IgG- oder IgM-Isotyp im Serum von Patienten mit trockener AMD, Patienten mit feuchter AMD und gesunden Kontrollpersonen verglichen. Durch die Risikofaktoren wie Rauchen und Hyperlipidämie der AMD kommt es zu Endothelschädigungen, welche Antigene in der Phospholipid-Doppelschichten freilegen und es hierbei zu diesen Autoantikörpern kommen kann. Hierbei stellte sich heraus, dass die mittlere aCL-IgG-Konzentration bei Patienten mit feuchter AMD im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen signifikant erhöht war in Form eines 17 fach höheren Titers. Von Anticardiolipin-Antikörper (aCL) ist bereits bekannt, dass sie ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre und zerebrovaskuläre Erkrankungen wie Atherosklerose und Schlaganfälle darstellen, da sie Entzündungen und Ischämien stimulieren. Antiphospholipid-Autoantikörper (aPL) fördern Entzündungen, die hauptsächlich gegen Membranen gerichtet sind und stehen in Verbindung mit Demenz und Hirnatrophie. Auch bei feuchter AMD sind erhöhte Plasmaspiegel von Homocystein bekannt.(167)

In einer weiteren Studie wurden Patienten mit AMD und Kontrollpersonen hinsichtlich proteomischen und genomischen AMD-Biomarkern untersucht. Zu den AMD-Risikopolymorphismen gehören age-related maculopathy susceptibility 2 (ARMS2), high

temperature requirement factor A1 (HTRA1), Komplementfaktor H (CFH) und Komplement C3. Diese Risikoallele wurden mit CEP-Adduktspiegel und Autoantikörperspiegel im Plasma verglichen. Carboxyethylpyrrol (CEP) entsteht durch oxidativen Stress als Proteinmodifikation aus Docosahexaenoat und ist Bestandteil der Drusen, sowie Mitspieler bei der Neovaskularisation. Im Plasma von allen Unterformen der AMD Patienten wurden erhöhte CEP-Addukte und CEP-Autoantikörper gefunden, allerdings ohne signifikanten Unterschied zueinander. Die mittleren CEP Autoantikörper-Titer weisen jedoch leichte Unterschiede auf. Erhöhte Werte wurden bei männlichen Kontrollspendern, Kontrollpersonen mit Diabetes oder kardiovaskulären Erkrankungen und bei AMD Patienten mit Hypertonie oder Hyperlipidämie, vermehrt bei Frauen, festgestellt. Signifikant niedrigere Werte wurden bei Afroamerikanern mit AMD bewiesen. Generell waren die mittleren CEP-Adduktspiegel und Autoantikörperspiegel bei AMD-Patienten um 30 bis 60% vermehrt im Vergleich zu Kontrollpersonen. Bei AMD Betroffenen mit positiven ARMS2- und HTRA1-Risikoallele hatten die höchste Wahrscheinlichkeit für erhöhte CEP-Marker. Es wurde eine Sensitivität von bis zu 80% bei der Unterscheidung von AMD Erkrankten und Kontrollpersonen mit Hilfe der CEP-Plasma-Biomarker zusammen mit den genomischen Markern erreicht. Beide Biomarker in Kombination erzielten die besten Ergebnisse und ergeben ein potenzielles Frühwarnsystem für die Beurteilung. (168)

In einer anderen Studie namens Age-Related Maculopathy Ancillary (ARMA) wurden Patienten mit früher AMD mit gesunden Kontrollpersonen verglichen. Hierbei wurden fünf Makula-Antigene mit stärkerer Autoreaktivität signifikant identifiziert. Diese sind HSPA8, HSPA9, HSPB4, welche zur Gruppe der Hitzeschockproteine gehören, Annexin A5 und Protein S100-A9, das auch unter dem Namen Calgranulin B bekannt ist. All diese spezifischen Aabs, die sich hochreguliert exprimiert zeigten, sind an Prozessen in der Autophagie, der Immunmodulation, der Apoptose und dem Schutz vor oxidativem Stress involviert. Daher lässt es den Rückschluss auf eine aktive Beteiligung an der Entwicklung und Voranschreiten der AMD zu. Jedoch besteht ein Konzept der unterschiedlichen "AAb-Signaturen", da Patienten mit AMD individuelle Aabs aufweisen. Aabs gegen HSPA8 sind bereits bei der Pathogenese der Krebs-assoziierten Retinopathie und der Autoimmunhepatitis bekannt. HSPB4, auch als Alpha-Crystallin-A-Kette bekannt, wird beim Morbus Parkinson als Inhibitor der krankheitsverursachenden Proteinaggregation erfolgreich eingesetzt. Annexin A5 spielt bei Autoimmunerkrankungen wie dem Antiphospholipid-Syndrom, der rheumatoide Arthritis, Lupus, Typ-1-Diabetes und Autoimmun-Myochariditis eine wichtige Rolle.(169)

Es gibt einige Erkenntnisse, dass die AMD eine Autoimmunerkrankung sein könnte, da sich viele Parallelen dazu finden. Die Autoimmunität ist zum einen aufgrund der Vielzahl an mehreren Autoantikörpern im Serum der AMD Erkrankten und zum anderen wegen spezifischer antiretinale Autoantikörper möglich. Einige davon sind auch bei anderen Autoimmunerkrankungen zu finden, daher besteht immer noch die Frage, ob diese als Ursache angesehen werden können oder nur durch die Pathologie durch andere Faktoren bei der AMD ausgelöst werden. Weitere Möglichkeiten die Autoimmunreaktion bei der AMD zu erklären sind oxidativer Stress, da es zu Gewebeverletzungen und sogenannte schadensassoziierte molekulare Muster (DAMPs) kommt, welche das Immunsystem aktivieren, und Virusinfektionen, durch die eine autospezifische Immunität entsteht, welches okuläres Gewebe angreift. Auch T-Zellen stellen eine Bedeutung in der Pathologie der AMD dar. Es wurden vermehrte CD8+ T Zellen durch Fluoreszenzmikroskopie in der Aderhaut bei der AMD festgestellt. Unterstützend dazu sind in der Tränenflüssigkeit von AMD Patienten

erhöhte Chemokine, CXCL10 und CXCL11, die chemotaktisch auf CXCR3+ T-Zellen wirken. Zusätzlich ist auch der IL-17-Spiegel im Blut und der Anteil von CD56+ und CD28-Gedächtnis-T-Zellen bei AMD Erkrankten erhöht. Im Serum von AMD Patienten wurden als erhöhte retinale Antikörper glial fibrilläre Protein (GFAP) und α -Enolase festgestellt. Als antiretinale IgG- und IgM-Autoantikörper wurden folgende mit der CNV assoziiert: Phosphatidylserin (PS), JO-1, U1-snRNP-68, Elastin, Cytochrom C, PM/scl-100, Kollagen III und erhöhte Anti-CEP-Autoantikörpern. CEP steht für Carboxyethylpyrrol, das bei der Oxidation von Lipiden entsteht aufgrund von oxidativem Stress, und zu RPE-Läsionen und zur Degeneration von Photorezeptoren führen kann. Es besteht ein enger Zusammenhang, da bei einem Titer über dem Mittelwert 92% der Gemessenen eine AMD vorliegt.(170)

Um weitere Biomarker für die Erkrankung der AMD zu finden, wurde eine miRNA-Mikroarray-Studie durchgeführt, die zeigte, dass viele zirkulierende miRNAs bei der AMD im Vergleich zu Kontrollprobanden unterschiedlich exprimiert wurden. Dabei gibt es sowohl Hochregulierungen als auch Niederregulierungen. Mikro-RNAs (miRNAs) sind ein aus wenigen Nukleotiden bestehender nicht kodierende RNA-Strang, der je nach Zielgen deren Expression posttranskriptiv regulieren kann. Daher greifen sie in verschiedene biologische Wirkungen wie Zellproliferation, Apoptose, Tod und Zelldifferenzierung ein. Der am stärksten betroffene Pfad, der mit der AMD korrelierte, ist der Zellzyklus. Als Ergebnis stellte sich eine signifikant erhöhte Expression von miR-27a-3p, miR-29b-3p und miR-195-5p um das Zweifache bis Vierfache dar. Diese drei miRNAs hatten eine Sensitivität von 0,825 und eine Spezifität von 0,728 und stellen sich daher als potenzielle diagnostische Biomarker für die AMD da. Des Weiteren waren miR-25-3p, miR-28-5p, miR-152, miR-559 hochreguliert. Im Gegensatz dazu waren miR-23a, miR-328 und miR-584-5p bei AMD Patienten herunterreguliert. Als signifikanten Unterschied zwischen der feuchten und trockenen AMD zeigte nur miR-27a eine erhöhte Konzentration bei der feuchten AMD und könnte ein potenzieller Biomarker für das Voranschreiten der AMD darstellen. Des Weiteren identifizierte man bei der feuchten AMD erhöhte miR-146a im Glaskörper und erniedrigte miR-301-3p, miR-361-5p und miR-424-5p Konzentrationen zu Kontrollpersonen. Bei der trockenen AMD beobachtete man signifikant höher exprimierte miR-661 und miR3121. (171)

In einer anderen Studie wurden auch zirkulierende microRNAs (miRNA), die mit der Erkrankung der AMS assoziiert ist, bei Patienten mit sowohl trockener als auch feuchter AMD als auch gesunden Kontrollprobanden untersucht. Hierbei zeigten AMD-Patienten ein anderes miRNA-Profil im Vergleich zu den Kontrollprobanden auf, wobei sich hochregulierte sowie herunterregulierte MicroRNA zeigte. Diese sind nicht kodierende Bereiche, welche Auswirkung auf die Expression mehrerer Gene haben und diese regulieren. Bei der feuchten AMD waren miR-874, miR-132, miR-410, miR27b, miR-146a, miR-126 und miR-25 erhöht, während bei der trockenen AMD miR-374a, miR-19a, miR-19b, miR-296-5p und miR-486-5p hochreguliert waren. Bei beiden Formen der AMD waren vermehrt miR-195, miR-486-5p, miR-16, miR-374a, miR-32-3p, miR-451, und miR-223 vorhanden. Als Resultat zeigten sich miR-126, miR-410 und miR-19a als potenzielle diagnostische Biomarker, da diese signifikant mit dem Krankheitsprozess der AMD korrelieren. MiR-126 ist in den Signalweg des Wachstumsfaktor VEGF integriert und trägt so ebenfalls zur Gefäßsprossung bei der feuchten AMD bei. Außerdem spielt miR-126 eine Rolle bei der Zellproliferation, Migration und Apoptose. Auch miR-19a greift in die Apoptose, Angiogenese, Zellproliferation und Differenzierung ein.(172)

All diese Studien zeigen die Komplexität und Vielschichtigkeit der Erkrankung der AMD. Die einzelnen Studienergebnisse bestätigen oder widersprechen sich zum Teil aufgrund

unterschiedlicher Studienbedingungen und Studienkriterien. Hier wird deutlich, dass das Gebiet der AMD Erkrankung noch nicht vollständig erschlossen ist, trotz intensiver Forschung und Bemühungen die Pathologie der AMD besser zu ergründen. Einzelne Proteine kommen gehäuft in verschiedenen Studien vor, was die Wahrscheinlichkeit für einen potenziellen Biomarker hervorhebt. Es werden jedoch weitere Ergebnisse und Studien von Nöten sein, um diese zu bestätigen. Die 60S ribosomalen Proteine wurden bereits in anderen Studien identifiziert.(149) Generell sind sie für die Transkription und die Verarbeitung von rRNA zuständig und greifen in wichtige zelluläre Prozesse wie der Zellproliferation, dem Zellzyklus, dem zellulären Stoffwechsel und der Apoptose ein, die ebenfalls bei der AMD-Pathologie von Bedeutung sind.(116, 126) Ebenfalls in weiteren Studien zur Pathologie der AMD ist Vimentin beschrieben.(66, 67, 145) Es spielt eine Rolle bei der Zellmorphologie, Migration, Gewebereparatur, Fibrose, Angiogenese und Tumorentstehung. Des Weiteren hat es Auswirkungen auf degenerative Prozesse sowie dem Alterungsprozess im retinalen Gewebe.(65, 67) Darüber hinaus ist Prohibitin in AMD-Studien vorbeschrieben.(145) Es ist in der inneren Membran der Mitochondrien lokalisiert und ist an der mitochondrialen Biogenese, dem Energiestoffwechsel, degenerativen Prozessen und dem Zelltod mitbeteiligt.(125) Ebenfalls wurde Lactotransferrin schon in anderen Studien erwähnt.(36) Es ist ein Glykoprotein welches entzündungshemmend, antibakteriell, antiviral und antitumoral wirkt. Lactotransferrin reguliert die Eisenhomöostase und reduziert oxidative Schäden. In Studien zeigte sich eine hemmende Wirkung auf die Neovaskularisation der AMD Erkrankten.(36) Auch bereits bekannte Proteine, die in der AMD Pathologie identifiziert wurden sind Histone, welche für die Chromatinstruktur verantwortlich sind und eine wichtige Rolle bei der Genomstabilität, DNA-Transkription, -Replikation, und -Reparatur spielen.(89, 150) Ebenfalls in der Forschung bereits festgestellt ist Triosephosphateisomerase, welches bei der Regulierung von Zellwachstum und Zelldifferenzierung, aber auch bei der Chaperon-vermittelten Autophagie in Lysosomen von Bedeutung ist.(111, 112) Die AMD ist in ihrer Pathologie abhängig ihrer Untergruppe verschieden in zellulären Prozessen wie der Angiogenese, Zellproliferation, DNA-Reparatur und Zellzykluskontrolle. Auch wichtige Faktoren sind Autophagie, Apoptose, Signaltransduktion und bösartige Transformation. Auch wenn einige retinale Antigene sich in anderen Studien wiederfinden sind auch teils noch bisher unentdeckte potenzielle Biomarker in dieser Doktorarbeit identifiziert worden. Diese neuen Entdeckungen müssen durch weiterführende Studien weiter erforscht werden. In der Zukunft könnten dadurch die AMD Pathologien der einzelnen Untergruppen auf molekularer Ebene erschlossen werden, was zu besseren Diagnostikmöglichkeiten, neuen Therapieansätzen und eventuell auch Heilungsmöglichkeiten führen könnte. Die Entdeckungen unterstreichen die Notwendigkeit weiterführender Forschung, welche die Grundlage für die angeführten möglichen Fortschritte bildet.

6 Fazit

Die vorliegende Doktorarbeit konzentrierte sich auf die Analyse retinaler Antigene in Serum und Tränenflüssigkeit verschiedener AMD-Untergruppen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden, um neue Erkenntnisse für potenzielle Biomarker zur Früherkennung, Diagnostik und Therapiemöglichkeiten der AMD zu erlangen.

Durch die Identifizierung spezifischer Proteine, die in verschiedenen Stadien der AMD signifikant herauf- oder herunterreguliert sind, eröffnet sich ein neues Verständnis für die molekularen Mechanismen der AMD-Pathologie in ihren verschiedenen Untergruppen. Insgesamt wurden 92 retinale Antigene identifiziert, die als potenzielle Biomarker für die unterschiedlichen Unterformen der AMD dienen könnten und potenziell zur Entwicklung zielgerichteter Diagnose- und Therapieansätze beitragen. Es ist bedeutend und beachtenswert, dass einige Proteine ausschließlich in spezifischen AMD-Gruppen hoch- oder herunterreguliert waren, was auf ihre mögliche Rolle in der spezifischen Pathologie dieser Unterformen hindeutet. Andere retinale Antigene wurden hingegen in mehreren AMD-Untergruppen signifikant festgestellt. Die Identifikation spezifischer Proteine, die in verschiedenen Stadien der AMD unterschiedlich reguliert sind, unterstreicht die Notwendigkeit einer differenzierten Betrachtung der Pathogenese, um gezielte Therapien entwickeln zu können. Die signifikante Veränderung in der Expression bestimmter retinaler Antigene verdeutlicht das Potenzial dieser Proteine als diagnostische Marker. Die Identifizierung spezifischer Proteine, die in verschiedenen Stadien der AMD signifikant reguliert sind, bietet eine wertvolle Grundlage für die Entwicklung von Biomarker-basierten Screening-Tools sowie zielgerichteten Therapien.

Die Verteilung und Regulation dieser Proteine geben Aufschluss über die komplexe Natur der AMD und ihre unterschiedlichen Auswirkungen auf die zelluläre Ebene. Bei Betrachtung aller retinalen Antigene kommen zugehörige Proteingruppen gehäuft vor. Zum einen sind dies vermehrt Splicing Proteine, 26S Proteasom regulatorische Untereinheiten, 14-3-3 Proteine, Tubuline und 60S ribosomale Proteine. Diese greifen in viele wichtige zelluläre Prozesse der AMD Pathologie, wie der Zellzykluskontrolle, der Zellproliferation, der Zellmotilität und der Signaltransduktion ein. Weitere wichtige Aufgaben dieser Proteinfamilien, die ebenfalls an der AMD Pathologie beteiligt sind, sind die Apoptose, die Autophagie, die DNA-Reparatur und der zelluläre Stoffwechsel.

Aus diesen Ergebnissen können mehrere wertvolle Ansätze für weiterführende Forschungen geschlossen werden, um die genauen Mechanismen der Proteinregulation in den betroffenen Augengeweben aufzudecken. Die Entwicklung spezifischer Inhibitoren oder Modulatoren, die gezielt auf Proteine bei AMD-Patienten abzielen, könnte neue, therapeutische Potenziale eröffnen. Des Weiteren könnte die frühzeitige Erkennung von Veränderungen in den Proteinprofilen als diagnostisches Mittel dienen, um das Risiko einer AMD-Progression besser einschätzen zu können. Diese zukünftigen Möglichkeiten könnten die Behandlung der AMD revolutionieren. Weitere Studien sind notwendig, um die funktionellen Auswirkungen der identifizierten Proteine auf die AMD-Pathologie zu verstehen. Zudem ist eine Ausweitung auf eine größere, vielfältigere Population notwendig, um die Anwendbarkeit und Effektivität der Forschungsergebnisse universell zu gewährleisten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass diese Doktorarbeit einen weiteren Beitrag zum Verständnis der molekularen Grundlagen der AMD leistet und wichtige Ansatzpunkte für die weitere Identifizierung von Biomarkern für die Früherkennung, Diagnostik und Therapie der AMD darstellt. Die notwendige weitere Forschung, insbesondere in Bezug auf die klinische

Anwendung der festgestellten Biomarker, bleibt jedoch eine wesentliche Herausforderung für die zukünftige ophthalmologische Forschung.

Literaturverzeichnis

1. Gheorghe A, Mahdi L, Musat O. AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION. *Rom J Ophthalmol*. 2015;59(2):74-7.
 2. Spaide RF, Jaffe GJ, Sarraf D, Freund KB, Sadda SR, Staurenghi G, et al. Consensus Nomenclature for Reporting Neovascular Age-Related Macular Degeneration Data: Consensus on Neovascular Age-Related Macular Degeneration Nomenclature Study Group. *Ophthalmology*. 2020;127(5):616-36.
 3. DeAngelis MM, Owen LA, Morrison MA, Morgan DJ, Li M, Shakoor A, et al. Genetics of age-related macular degeneration (AMD). *Hum Mol Genet*. 2017;26(R1):R45-r50.
 4. Al-Zamil WM, Yassin SA. Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clin Interv Aging*. 2017;12:1313-30.
 5. Guymer R, Wu Z. Age-related macular degeneration (AMD): More than meets the eye. The role of multimodal imaging in today's management of AMD-A review. *Clin Exp Ophthalmol*. 2020;48(7):983-95.
 6. Samanta A, Aziz AA, Jhingan M, Singh SR, Khanani AM, Chhablani J. Emerging Therapies in Neovascular Age-Related Macular Degeneration in 2020. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2020;9(3):250-9.
 7. Zhang X, Sivaprasad S. Drusen and pachydrusen: the definition, pathogenesis, and clinical significance. *Eye (Lond)*. 2021;35(1):121-33.
 8. Ferris FL, 3rd, Wilkinson CP, Bird A, Chakravarthy U, Chew E, Csaky K, et al. Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2013;120(4):844-51.
 9. Jonas JB, Cheung CMG, Panda-Jonas S. Updates on the Epidemiology of Age-Related Macular Degeneration. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2017;6(6):493-7.
 10. Stahl A. The Diagnosis and Treatment of Age-Related Macular Degeneration. *Dtsch Arztebl Int*. 2020;117(29-30):513-20.
 11. García-Layana A, Cabrera-López F, García-Arumí J, Arias-Barquet L, Ruiz-Moreno JM. Early and intermediate age-related macular degeneration: update and clinical review. *Clin Interv Aging*. 2017;12:1579-87.
 12. Hobbs SD, Pierce K. Wet Age-related Macular Degeneration (Wet AMD). *StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*
- Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
13. Hernández-Zimbrón LF, Zamora-Alvarado R, Ochoa-De la Paz L, Velez-Montoya R, Zenteno E, Gullias-Cañizo R, et al. Age-Related Macular Degeneration: New Paradigms for Treatment and Management of AMD. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:8374647.
 14. Chakravarthy U, Wong TY, Fletcher A, Piau E, Evans C, Zlateva G, et al. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol*. 2010;10:31.
 15. Zhong Y, Wang K, Jiang L, Wang J, Zhang X, Xu J, et al. Dietary fatty acid intake, plasma fatty acid levels, and the risk of age-related macular degeneration (AMD): a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Nutr*. 2021;60(6):3013-27.
 16. Ma HH, Liutkevičienė R. Age-Related Macular Degeneration: What Do We Know So Far? *Acta Med Litu*. 2021;28(1):36-47.
 17. Nowak JZ. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy. *Pharmacol Rep*. 2006;58(3):353-63.
 18. Somasundaran S, Constable IJ, Mellough CB, Carvalho LS. Retinal pigment epithelium and age-related macular degeneration: A review of major disease mechanisms. *Clin Exp Ophthalmol*. 2020;48(8):1043-56.
 19. Grewal MK, Chandra S, Gurudas S, Rasheed R, Sen P, Menon D, et al. Functional clinical endpoints and their correlations in eyes with AMD with and without subretinal drusenoid deposits-a pilot study. *Eye (Lond)*. 2021.
 20. Fang V, Gomez-Caraballo M, Lad EM. Biomarkers for Nonexudative Age-Related Macular Degeneration and Relevance for Clinical Trials: A Systematic Review. *Mol Diagn Ther*. 2021.

21. Nashine S. Potential Therapeutic Candidates for Age-Related Macular Degeneration (AMD). *Cells*. 2021;10(9).
22. Miller JW, D'Anieri LL, Husain D, Miller JB, Vavvas DG. Age-Related Macular Degeneration (AMD): A View to the Future. *J Clin Med*. 2021;10(5).
23. Volz C, Pauly D. Antibody therapies and their challenges in the treatment of age-related macular degeneration. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;95(Pt B):158-72.
24. De Sousa Peixoto R, Krstic L, Hill SCL, Foss AJE. Predicting quality of life in AMD patients-insights on the new NICE classification and on a bolt-on vision dimension for the EQ-5D. *Eye (Lond)*. 2021.
25. Rezapour J, Schuster AK, Nickels S, Korb CA, Elbaz H, Peto T, et al. Prevalence and new onset of depression and anxiety among participants with AMD in a European cohort. *Sci Rep*. 2020;10(1):4816.
26. Vogl WD, Bogunović H, Waldstein SM, Riedl S, Schmidt-Erfurth U. Spatio-temporal alterations in retinal and choroidal layers in the progression of age-related macular degeneration (AMD) in optical coherence tomography. *Sci Rep*. 2021;11(1):5743.
27. Bhuiyan A, Wong TY, Ting DSW, Govindaiah A, Souied EH, Smith RT. Artificial Intelligence to Stratify Severity of Age-Related Macular Degeneration (AMD) and Predict Risk of Progression to Late AMD. *Transl Vis Sci Technol*. 2020;9(2):25.
28. Kim JB, Lad EM. Therapeutic Options Under Development for Nonneovascular Age-Related Macular Degeneration and Geographic Atrophy. *Drugs Aging*. 2021;38(1):17-27.
29. Panos GD, Lakshmanan A, Dadoukis P, Ripa M, Motta L, Amoaku WM. Faricimab: Transforming the Future of Macular Diseases Treatment - A Comprehensive Review of Clinical Studies. *Drug Des Devel Ther*. 2023;17:2861-73.
30. Jalbert I, Rahardjo D, Yashadhana A, Liew G, Gopinath B. A qualitative exploration of Australian eyecare professional perspectives on Age-Related Macular Degeneration (AMD) care. *PLoS One*. 2020;15(2):e0228858.
31. Li JQ, Welchowski T, Schmid M, Mauschitz MM, Holz FG, Finger RP. Prevalence and incidence of age-related macular degeneration in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Br J Ophthalmol*. 2020;104(8):1077-84.
32. Ying GS, Maguire MG, Alexander J, Martin RW, Antoszyk AN. Description of the Age-Related Eye Disease Study 9-step severity scale applied to participants in the Complications of Age-related Macular Degeneration Prevention Trial. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(9):1147-51.
33. Vitale S, Agrón E, Clemons TE, Keenan TDL, Domalpally A, Danis RP, Jr., et al. Association of 2-Year Progression Along the AREDS AMD Scale and Development of Late Age-Related Macular Degeneration or Loss of Visual Acuity: AREDS Report 41. *JAMA Ophthalmol*. 2020;138(6):610-7.
34. Schneck ME, Lott LA, Haegerstrom-Portnoy G, Hewlett S, Gauer BM, Zaidi A. Visual Function in Eyes with Intermediate AMD with and without Retinal Pigment Abnormalities. *Optom Vis Sci*. 2021;98(1):64-72.
35. Pflugfelder SC, Stern ME. Biological functions of tear film. *Exp Eye Res*. 2020;197:108115.
36. Valencia E, García M, Fernández-Vega B, Pereiro R, Lobo L, González-Iglesias H. Targeted Analysis of Tears Revealed Specific Altered Metal Homeostasis in Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2022;63(4):10.
37. Winiarczyk M, Biela K, Michalak K, Winiarczyk D, Mackiewicz J. Changes in Tear Proteomic Profile in Ocular Diseases. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(20).
38. Koh S, Tung CI, Inoue Y, Jhanji V. Effects of tear film dynamics on quality of vision. *Br J Ophthalmol*. 2018;102(12):1615-20.
39. von Thun Und Hohenstein-Blaul N, Funke S, Grus FH. Tears as a source of biomarkers for ocular and systemic diseases. *Exp Eye Res*. 2013;117:126-37.
40. Perumal N, Yurugi H, Dahm K, Rajalingam K, Grus FH, Pfeiffer N, et al. Proteome landscape and interactome of voltage-gated potassium channel 1.6 (Kv1.6) of the murine ophthalmic artery and neuroretina. *Int J Biol Macromol*. 2024;257(Pt 1):128464.

41. Perumal N, Herfurth A, Pfeiffer N, Manicam C. Short-Term Omega-3 Supplementation Modulates Novel Neurovascular and Fatty Acid Metabolic Proteome Changes in the Retina and Ophthalmic Artery of Mice with Targeted Cyp2c44 Gene Deletion. *Cells*. 2022;11(21).
42. LeBlanc ME, Wang W, Caberoy NB, Chen X, Guo F, Alvarado G, et al. Hepatoma-derived growth factor-related protein-3 is a novel angiogenic factor. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127904.
43. Xian J, Parthasarathy S, Ruggiero SM, Balagura G, Fitch E, Helbig K, et al. Assessing the landscape of STXBP1-related disorders in 534 individuals. *Brain*. 2022;145(5):1668-83.
44. Kuruba B, Starks N, Josten MR, Naveh O, Wayman G, Mikhaylova M, et al. Effects of Tropomodulin 2 on Dendritic Spine Reorganization and Dynamics. *Biomolecules*. 2023;13(8).
45. Wang Y, Devereux W, Stewart TM, Casero RA, Jr. Polyamine-modulated factor 1 binds to the human homologue of the 7a subunit of the Arabidopsis COP9 signalosome: implications in gene expression. *Biochem J*. 2002;366(Pt 1):79-86.
46. Nishio K, Mizushima T. Structural and biochemical characterization of mitochondrial citrate synthase 4 from Arabidopsis thaliana. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*. 2020;76(Pt 3):109-15.
47. Otterson GA, Flynn GC, Kratzke RA, Coxon A, Johnston PG, Kaye FJ. Stch encodes the 'ATPase core' of a microsomal stress 70 protein. *Embo j*. 1994;13(5):1216-25.
48. Kim YO, Koh HJ, Kim SH, Jo SH, Huh JW, Jeong KS, et al. Identification and functional characterization of a novel, tissue-specific NAD(+)-dependent isocitrate dehydrogenase beta subunit isoform. *J Biol Chem*. 1999;274(52):36866-75.
49. Bae JW, Kim SH, Kim DH, Ha JJ, Yi JK, Hwang S, et al. Ras-related proteins (Rab) are key proteins related to male fertility following a unique activation mechanism. *Reprod Biol*. 2019;19(4):356-62.
50. Qi Y, Li X, Chang C, Xu F, He Q, Zhao Y, et al. Ribosomal protein L23 negatively regulates cellular apoptosis via the RPL23/Miz-1/c-Myc circuit in higher-risk myelodysplastic syndrome. *Sci Rep*. 2017;7(1):2323.
51. Vincendeau M, Nagel D, Brenke JK, Brack-Werner R, Hadian K. Heterogenous nuclear ribonucleoprotein Q increases protein expression from HIV-1 Rev-dependent transcripts. *Virology*. 2013;10:151.
52. Wang Z, Liu Q, Lu J, Fan P, Xie W, Qiu W, et al. Serine/Arginine-rich Splicing Factor 2 Modulates Herpes Simplex Virus Type 1 Replication via Regulating Viral Gene Transcriptional Activity and Pre-mRNA Splicing. *J Biol Chem*. 2016;291(51):26377-87.
53. Cehofski LJ, Kojima K, Kusada N, Rasmussen M, Muttuvelu DV, Grauslund J, et al. Macular Edema in Central Retinal Vein Occlusion Correlates With Aqueous Fibrinogen Alpha Chain. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2023;64(2):23.
54. Sullivan LS, Koboldt DC, Bowne SJ, Lang S, Blanton SH, Cadena E, et al. A dominant mutation in hexokinase 1 (HK1) causes retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(11):7147-58.
55. Šimčíková D, Ivančinová J, Veith M, Dusová J, Matušková V, Němčanský J, et al. Serum autoantibodies against hexokinase 1 manifest secondary to diabetic macular edema onset. *Diabetes Res Clin Pract*. 2024;212:111721.
56. Liu Z, Zhang J, Ma A, Wang X, Sun Z, Cui W, et al. Molecular characterization, expression analysis of 14-3-3 beta/alpha and the effect of RNA interference on ion transporter protein Na(+)-K(+)-ATPase, Na(+)-H(+)-exchanger and CFTR in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2020;246-247:110458.
57. Inamdar SM, Lankford CK, Laird JG, Novbatova G, Tatro N, Whitmore SS, et al. Analysis of 14-3-3 isoforms expressed in photoreceptors. *Exp Eye Res*. 2018;170:108-16.
58. Hsiao YT, Shen FC, Weng SW, Wang PW, Chen YJ, Lee JJ. Multiple Single Nucleotide Polymorphism Testing Improves the Prediction of Diabetic Retinopathy Risk with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Pers Med*. 2021;11(8).
59. Agnihotri G, Liu HW. Enoyl-CoA hydratase. reaction, mechanism, and inhibition. *Bioorg Med Chem*. 2003;11(1):9-20.

60. Manoharan R, Seong HA, Ha H. Dual Roles of Serine-Threonine Kinase Receptor-Associated Protein (STRAP) in Redox-Sensitive Signaling Pathways Related to Cancer Development. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:5241524.
61. Lezzerini M, Penzo M, O'Donohue MF, Marques Dos Santos Vieira C, Saby M, Elfrink HL, et al. Ribosomal protein gene RPL9 variants can differentially impair ribosome function and cellular metabolism. *Nucleic Acids Res*. 2020;48(2):770-87.
62. Anand A, Gautam G, Yadav S, Ramalingam K, Kumar Haldar A, Goyal N. Epsilon subunit of T-complex protein-1 from *Leishmania donovani*: A tetrameric chaperonin. *Gene*. 2024;926:148637.
63. Wang Y, Wang G, Hu S, Yin C, Zhao P, Zhou X, et al. FARSB Facilitates Hepatocellular Carcinoma Progression by Activating the mTORC1 Signaling Pathway. *Int J Mol Sci*. 2023;24(23).
64. Yang Y, Li JH, Yao BC, Chen QL, Jiang N, Wang LQ, et al. NDUFB11 and NDUFS3 play a role in atherosclerosis and chronic stress. *Aging (Albany NY)*. 2023;15(16):8026-43.
65. Ridge KM, Eriksson JE, Pekny M, Goldman RD. Roles of vimentin in health and disease. *Genes Dev*. 2022;36(7-8):391-407.
66. Ghosh S, Shang P, Terasaki H, Stepicheva N, Hose S, Yazdankhah M, et al. A Role for β A3/A1-Crystallin in Type 2 EMT of RPE Cells Occurring in Dry Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(4):Amd104-AMD13.
67. Madigan MC, Penfold PL, Provis JM, Balind TK, Billson FA. Intermediate filament expression in human retinal macroglia. Histopathologic changes associated with age-related macular degeneration. *Retina*. 1994;14(1):65-74.
68. Chen L, Zhu Y, Zhou J, Wu R, Yang N, Bao Q, et al. Luteolin Alleviates Epithelial-Mesenchymal Transformation Induced by Oxidative Injury in ARPE-19 Cell via Nrf2 and AKT/GSK-3 β Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:2265725.
69. Xiang W, Li L, Zhao Q, Zeng Y, Shi J, Chen Z, et al. PEDF protects retinal pigment epithelium from ferroptosis and ameliorates dry AMD-like pathology in a murine model. *Geroscience*. 2024;46(2):2697-714.
70. Ogunnigbagbe O, Bunick CG, Kaur K. Keratin 1 as a cell-surface receptor in cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2022;1877(1):188664.
71. Jung HJ, Kim Y, Chang J, Kang SW, Kim JH, Kwon HJ. Mitochondrial UQCRB regulates VEGFR2 signaling in endothelial cells. *J Mol Med (Berl)*. 2013;91(9):1117-28.
72. Xu W, Liang Y, Zhuang Y, Yuan Z. Identification of miRNA-mRNA Regulatory Networks Associated with Diabetic Retinopathy using Bioinformatics Analysis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2023;23(13):1628-36.
73. Costa GCA, Silva FAA, Torquato RJS, Silva Vaz I, Parizi LF, Tanaka AS. Evaluation of the biological function of ribosomal protein S18 from cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Ticks Tick Borne Dis*. 2024;15(4):102333.
74. Velez G, Roybal CN, Colgan D, Tsang SH, Bassuk AG, Mahajan VB. Precision Medicine: Personalized Proteomics for the Diagnosis and Treatment of Idiopathic Inflammatory Disease. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(4):444-8.
75. Pleiner T, Hazu M, Tomaleri GP, Januszyk K, Oania RS, Sweredoski MJ, et al. WNK1 is an assembly factor for the human ER membrane protein complex. *Mol Cell*. 2021;81(13):2693-704.e12.
76. Metselaar PI, Hos C, Welting O, Bosch JA, Kraneveld AD, de Jonge WJ, et al. Ambiguity about Splicing Factor 3b Subunit 3 (SF3B3) and Sin3A Associated Protein 130 (SAP130). *Cells*. 2021;10(3).
77. Yazhini A, Sandhya S, Srinivasan N. Rewards of divergence in sequences, 3-D structures and dynamics of yeast and human spliceosome SF3b complexes. *Curr Res Struct Biol*. 2021;3:133-45.
78. Dubiel W, Ferrell K, Dumdey R, Standera S, Prehn S, Rechsteiner M. Molecular cloning and expression of subunit 12: a non-MCP and non-ATPase subunit of the 26 S protease. *FEBS Lett*. 1995;363(1-2):97-100.
79. Yan K, Zhang J, Lee PY, Tao P, Wang J, Wang S, et al. Haploinsufficiency of PSMD12 Causes Proteasome Dysfunction and Subclinical Autoinflammation. *Arthritis Rheumatol*. 2022;74(6):1083-90.

80. Boese AC, Kang J, Hwang JS, Kim J, Eun K, Malin CM, et al. Succinyl-CoA ligase ADP-forming subunit beta promotes stress granule assembly to regulate redox and drive cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(23):e2217332120.
81. Muniyandi A, Martin M, Sishtla K, Motolani A, Sun M, Jensen NR, et al. PRMT5 is a therapeutic target in choroidal neovascularization. *Sci Rep*. 2023;13(1):1747.
82. McKenna ED, Sarbanes SL, Cummings SW, Roll-Mecak A. The Tubulin Code, from Molecules to Health and Disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2023;39:331-61.
83. Machalińska A, Kłos P, Safranow K, Dziedziejko V, Rudnicki M, Paczkowska E, et al. Neural stem/progenitor cells circulating in peripheral blood of patients with neovascular form of AMD: a novel view on pathophysiology. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011;249(12):1785-94.
84. Sobanski T, Suraweera A, Burgess JT, Richard I, Cheong CM, Dave K, et al. The fructose-bisphosphate, Aldolase A (ALDOA), facilitates DNA-PKcs and ATM kinase activity to regulate DNA double-strand break repair. *Sci Rep*. 2023;13(1):15171.
85. Stamm S, Casper D, Hanson V, Helfman DM. Regulation of the neuron-specific exon of clathrin light chain B. *Brain Res Mol Brain Res*. 1999;64(1):108-18.
86. Houmani JL, Ruf IK. Clusters of basic amino acids contribute to RNA binding and nucleolar localization of ribosomal protein L22. *PLoS One*. 2009;4(4):e5306.
87. Matsumori H, Watanabe K, Tachiwana H, Fujita T, Ito Y, Tokunaga M, et al. Ribosomal protein L5 facilitates rDNA-bundled condensate and nucleolar assembly. *Life Sci Alliance*. 2022;5(7).
88. Danyu L, Yanran L, Xiuna J, Ying C, Sudan P, Tianen Z, et al. α -Synuclein induced mitochondrial dysfunction via cytochrome c oxidase subunit 2 in SH-SY5Y cells. *Exp Cell Res*. 2019;378(1):57-65.
89. Yang C, Ge L, Yu X, Lazarovici P, Zheng W. Artemisinin Confers Cytoprotection toward Hydrogen Peroxide-Induced Cell Apoptosis in Retinal Pigment Epithelial Cells in Correlation with the Increased Acetylation of Histone H4 at Lysine 8. *Molecules*. 2024;29(8).
90. Razafsky D, Ward C, Potter C, Zhu W, Xue Y, Kefalov VJ, et al. Lamin B1 and lamin B2 are long-lived proteins with distinct functions in retinal development. *Mol Biol Cell*. 2016;27(12):1928-37.
91. García-Gómez JJ, Fernández-Pevida A, Lebaron S, Rosado IV, Tollervey D, Kressler D, et al. Final pre-40S maturation depends on the functional integrity of the 60S subunit ribosomal protein L3. *PLoS Genet*. 2014;10(3):e1004205.
92. Cai H, Lin Y, Wu Y, Wang Y, Li S, Zhang Y, et al. The prognostic model and immune landscape based on cancer-associated fibroblast features for patients with locally advanced rectal cancer. *Heliyon*. 2024;10(7):e28673.
93. Makrantonaki E, Brink TC, Zampeli V, Elewa RM, Mlody B, Hossini AM, et al. Identification of biomarkers of human skin ageing in both genders. Wnt signalling - a label of skin ageing? *PLoS One*. 2012;7(11):e50393.
94. Sun W, Tian BX, Wang SH, Liu PJ, Wang YC. The function of SEC22B and its role in human diseases. *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2020;77(8):303-12.
95. Blasiak J, Kaarniranta K. Secretory autophagy: a turn key for understanding AMD pathology and developing new therapeutic targets? *Expert Opin Ther Targets*. 2022;26(10):883-95.
96. Rajala A, Bhat MA, Teel K, Gopinadhan Nair GK, Purcell L, Rajala RVS. The function of lactate dehydrogenase A in retinal neurons: implications to retinal degenerative diseases. *PNAS Nexus*. 2023;2(3):pgad038.
97. Haase M, Fitze G. HSP90AB1: Helping the good and the bad. *Gene*. 2016;575(2 Pt 1):171-86.
98. Xue Y, Zhou Y, Cepko CL. Txnip deletions and missense alleles prolong the survival of cones in a retinitis pigmentosa mouse model. *bioRxiv*. 2024.
99. Zhao W, Zhang Y, Lv T, He J, Zhu B. A case report of a novel HIST1H1E mutation and a review of the bibliography to evaluate the genotype-phenotype correlations. *Mol Genet Genomic Med*. 2023;11(12):e2273.

100. Baas DC, Ho L, Tanck MW, Fritsche LG, Merriam JE, van het Slot R, et al. Multicenter cohort association study of SLC2A1 single nucleotide polymorphisms and age-related macular degeneration. *Mol Vis*. 2012;18:657-74.
101. Xu Z, Ruan Z, Huang X, Liu Q, Li Z, Zhou X, et al. Identification of aberrantly methylated differentially expressed genes in age-related macular degeneration. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(14):e15083.
102. Carecchio M, Zorzi G, Ragona F, Zibordi F, Nardocci N. ATP1A3-related disorders: An update. *Eur J Paediatr Neurol*. 2018;22(2):257-63.
103. Lian P, Cai X, Wang C, Liu K, Yang X, Wu Y, et al. Identification of metabolism-related subtypes and feature genes in Alzheimer's disease. *J Transl Med*. 2023;21(1):628.
104. Peng N, Zhang Y, Zhang X, Wu HY, Nakamura F. NAP1L1 is a novel microtubule-associated protein. *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2023;80(9-10):382-92.
105. Wang H, Penalosa T, Manea AJ, Gao X. PFKP: More than phosphofructokinase. *Adv Cancer Res*. 2023;160:1-15.
106. Puri D, Barry BJ, Engle EC. TUBB3 and KIF21A in neurodevelopment and disease. *Front Neurosci*. 2023;17:1226181.
107. Gelfand BD, Wright CB, Kim Y, Yasuma T, Yasuma R, Li S, et al. Iron Toxicity in the Retina Requires Alu RNA and the NLRP3 Inflammasome. *Cell Rep*. 2015;11(11):1686-93.
108. Shen Y, Li M, Liu K, Xu X, Zhu S, Wang N, et al. Integrated bioinformatics analysis of aberrantly-methylated differentially-expressed genes and pathways in age-related macular degeneration. *BMC Ophthalmol*. 2020;20(1):119.
109. Haines JL, Schnetz-Boutaud N, Schmidt S, Scott WK, Agarwal A, Postel EA, et al. Functional candidate genes in age-related macular degeneration: significant association with VEGF, VLDLR, and LRP6. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(1):329-35.
110. Yang Y, Chen J, Guo Z, Deng S, Du X, Zhu S, et al. Endophilin A1 Promotes Actin Polymerization in Dendritic Spines Required for Synaptic Potentiation. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:177.
111. Liao WL, Turko IV. Accumulation of large protein fragments in prematurely senescent ARPE-19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(10):4992-7.
112. Kim HJ, Woo SJ, Suh EJ, Ahn J, Park JH, Hong HK, et al. Identification of vinculin as a potential plasma marker for age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(11):7166-76.
113. Liu Y, Wu M, Xu S, Niu X, Liu W, Miao C, et al. PSMD2 contributes to the progression of esophageal squamous cell carcinoma by repressing autophagy. *Cell Biosci*. 2023;13(1):67.
114. Wang S, Xia K, Zhu X, Liu Y, Sun L, Zhu Q. Separation of high-purity plasma extracellular vesicles for investigating proteomic signatures in diabetic retinopathy. *J Chromatogr A*. 2024;1718:464700.
115. Kröll-Hermi A, Ebstein F, Stoetzel C, Geoffroy V, Schaefer E, Scheidecker S, et al. Proteasome subunit PSMC3 variants cause neurosensory syndrome combining deafness and cataract due to proteotoxic stress. *EMBO Mol Med*. 2020;12(7):e11861.
116. Jiang Q, Wu G, Yang L, Lu YP, Liu XX, Han F, et al. Elucidation of the FKBP25-60S Ribosomal Protein L7a Stress Response Signaling During Ischemic Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2018;47(5):2018-30.
117. Schuster TB, Costina V, Findeisen P, Neumaier M, Ahmad-Nejad P. Identification and functional characterization of 14-3-3 in TLR2 signaling. *J Proteome Res*. 2011;10(10):4661-70.
118. Sayson SL, Fan JN, Ku CL, Lo JF, Chou SH. DNAJA3 regulates B cell development and immune function. *Biomed J*. 2024;47(2):100628.
119. Jo Y, Kim B, Shin DY. AREL1 E3 ubiquitin ligase inhibits TNF-induced necroptosis via the ubiquitination of MTX2. *Exp Ther Med*. 2021;22(5):1195.
120. Kashyap D, Koirala S, Saini V, Bagde PH, Samanta S, Kar P, et al. Prediction of Rab5B inhibitors through integrative in silico techniques. *Mol Divers*. 2023.
121. Gaetani L, Blennow K, Calabresi P, Di Filippo M, Parnetti L, Zetterberg H. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(8):870-81.

122. Zhang Y, Zhu W, Wang J, Zuo Y. Identification of biomarkers associated with immune scores in diabetic retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1228843.
123. Perumal N, Straßburger L, Herzog DP, Müller MB, Pfeiffer N, Grus FH, et al. Bioenergetic shift and actin cytoskeleton remodelling as acute vascular adaptive mechanisms to angiotensin II in murine retina and ophthalmic artery. *Redox Biol*. 2020;34:101597.
124. Xu S, Xing J, Li K, Qiao L, Zhang C, Ren Y, et al. Pan-cancer analysis of DCTN2 and its tumour-promoting role in HCC by modulating the AKT pathway. *J Cell Mol Med*. 2024;28(11):e18450.
125. Zuo H, Han W, Wu K, Yang H, Song H, Zhang Z, et al. Prohibitin 2 deficiency in photoreceptors leads to progressive retinal degeneration and facilitated Müller glia engulfing microglia debris. *Exp Eye Res*. 2024;244:109935.
126. Luan Y, Tang N, Yang J, Liu S, Cheng C, Wang Y, et al. Deficiency of ribosomal proteins reshapes the transcriptional and translational landscape in human cells. *Nucleic Acids Res*. 2022;50(12):6601-17.
127. Lyons SM, Cunningham CH, Welch JD, Groh B, Guo AY, Wei B, et al. A subset of replication-dependent histone mRNAs are expressed as polyadenylated RNAs in terminally differentiated tissues. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(19):9190-205.
128. Hou F, Huang QM, Hu DN, Jonas JB, Wei WB. Immune oppression array elucidating immune escape and survival mechanisms in uveal melanoma. *Int J Ophthalmol*. 2016;9(12):1701-12.
129. Zehavi Y, Saada A, Jabaly-Habib H, Dessau M, Shaag A, Elpeleg O, et al. A novel de novo heterozygous pathogenic variant in the SDHA gene results in childhood onset bilateral optic atrophy and cognitive impairment. *Metab Brain Dis*. 2021;36(4):581-8.
130. Mi Y, Sun C, Wei B, Sun F, Guo Y, Hu Q, et al. Coatomer subunit beta 2 (COPB2), identified by label-free quantitative proteomics, regulates cell proliferation and apoptosis in human prostate carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;495(1):473-80.
131. Chang FY, Huang CH, Yang CH, Chang JT, Yang CM, Ho TC, et al. Genetics in neovascular age-related macular degeneration susceptibility and treatment response to anti-VEGF intravitreal injection: A case series study. *Clin Exp Ophthalmol*. 2024.
132. Morsy H, Benkirane M, Cali E, Rocca C, Zhelcheska K, Cipriani V, et al. Expanding SPTAN1 monoallelic variant associated disorders: From epileptic encephalopathy to pure spastic paraplegia and ataxia. *Genet Med*. 2023;25(1):76-89.
133. Yan J, Mehta S, Patel K, Dhupar N, Little N, Ong Tone S. Transcription factor 4 promotes increased corneal endothelial cellular migration by altering microtubules in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Sci Rep*. 2024;14(1):10276.
134. Gambardella ML, Pede E, Orazi L, Leone S, Quintiliani M, Amorelli GM, et al. Visual Function in Children with GNAO1-Related Encephalopathy. *Genes (Basel)*. 2023;14(3).
135. Pang XL, Du HF, Nie F, Yang XG, Xu Y. Tubulin Alpha-1b as a Potential Biomarker for Lung Adenocarcinoma Diagnosis and Prognosis. *Technol Cancer Res Treat*. 2023;22:15330338231178391.
136. Zhou Y, Lin F, Wan T, Chen A, Wang H, Jiang B, et al. ZEB1 enhances Warburg effect to facilitate tumorigenesis and metastasis of HCC by transcriptionally activating PFKM. *Theranostics*. 2021;11(12):5926-38.
137. Liu J, Du S, Kong Q, Zhang X, Jiang S, Cao X, et al. HSPA12A attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury through inhibiting caspase-11-mediated hepatocyte pyroptosis via PGC-1 α -dependent acyl-coyl hydrolase expression. *Cell Death Differ*. 2020;27(9):2651-67.
138. Kim JH, Kim JH, Jun HO, Yu YS, Min BH, Park KH, et al. Protective effect of clusterin from oxidative stress-induced apoptosis in human retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(1):561-6.
139. Rinsky B, Beykin G, Grunin M, Amer R, Khateb S, Tiosano L, et al. Analysis of the Aqueous Humor Proteome in Patients With Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2021;62(10):18.

140. Nie Z, Cai S, Wei Z, Li Y, Bian L, Wang C, et al. SH3BGRL2 functions as a crucial tumor suppressor in glioblastoma tumorigenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021;547:148-54.
141. Zhan Z, Lin K, Wang T. Construction of oxidative phosphorylation-related prognostic risk score model in uveal melanoma. *BMC Ophthalmol.* 2024;24(1):204.
142. Shkreta L, Delannoy A, Salvetti A, Chabot B. SRSF10: an atypical splicing regulator with critical roles in stress response, organ development, and viral replication. *Rna.* 2021;27(11):1302-17.
143. Königs V, de Oliveira Freitas Machado C, Arnold B, Blümel N, Solovyeva A, Löbber S, et al. SRSF7 maintains its homeostasis through the expression of Split-ORFs and nuclear body assembly. *Nat Struct Mol Biol.* 2020;27(3):260-73.
144. Kaarniranta K, Blasiak J, Liton P, Boulton M, Klionsky DJ, Sinha D. Autophagy in age-related macular degeneration. *Autophagy.* 2023;19(2):388-400.
145. Sripathi SR, He W, Prigge CL, Sylvester O, Um JY, Powell FL, et al. Interactome Mapping Guided by Tissue-Specific Phosphorylation in Age-Related Macular Degeneration. *Int J Sci Eng Res.* 2017;8(2):680-99.
146. Schultz H, Song Y, Baumann BH, Kapphahn RJ, Montezuma SR, Ferrington DA, et al. Increased serum proteins in non-exudative AMD retinas. *Exp Eye Res.* 2019;186:107686.
147. Morohoshi K, Goodwin AM, Ohbayashi M, Ono SJ. Autoimmunity in retinal degeneration: autoimmune retinopathy and age-related macular degeneration. *J Autoimmun.* 2009;33(3-4):247-54.
148. Dhillon B, Wright AF, Tufail A, Pappworth I, Hayward C, Moore I, et al. Complement factor h autoantibodies and age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(11):5858-63.
149. Morohoshi K, Patel N, Ohbayashi M, Chong V, Grossniklaus HE, Bird AC, et al. Serum autoantibody biomarkers for age-related macular degeneration and possible regulators of neovascularization. *Exp Mol Pathol.* 2012;92(1):64-73.
150. Adamus G. Can innate and autoimmune reactivity forecast early and advance stages of age-related macular degeneration? *Autoimmun Rev.* 2017;16(3):231-6.
151. Kim HJ, Ahn SJ, Woo SJ, Hong HK, Suh EJ, Ahn J, et al. Proteomics-based identification and validation of novel plasma biomarkers phospholipid transfer protein and mannan-binding lectin serine protease-1 in age-related macular degeneration. *Sci Rep.* 2016;6:32548.
152. Winiarczyk M, Winiarczyk D, Michalak K, Kaarniranta K, Adaszek Ł, Winiarczyk S, et al. Dysregulated Tear Film Proteins in Macular Edema Due to the Neovascular Age-Related Macular Degeneration Are Involved in the Regulation of Protein Clearance, Inflammation, and Neovascularization. *J Clin Med.* 2021;10(14).
153. Winiarczyk M, Kaarniranta K, Winiarczyk S, Adaszek Ł, Winiarczyk D, Mackiewicz J. Tear film proteome in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2018;256(6):1127-39.
154. Yu H, Yuan L, Yang Y, Ma S, Peng L, Wang Y, et al. Increased serum IgA concentration and plasmablast frequency in patients with age-related macular degeneration. *Immunobiology.* 2016;221(5):650-6.
155. Guymer RH, Tao LW, Goh JK, Liew D, Ischenko O, Robman LD, et al. Identification of urinary biomarkers for age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(7):4639-44.
156. Adamus G, Chew EY, Ferris FL, Klein ML. Prevalence of anti-retinal autoantibodies in different stages of Age-related macular degeneration. *BMC Ophthalmol.* 2014;14:154.
157. Patel N, Ohbayashi M, Nugent AK, Ramchand K, Toda M, Chau KY, et al. Circulating anti-retinal antibodies as immune markers in age-related macular degeneration. *Immunology.* 2005;115(3):422-30.
158. Cherepanoff S, Mitchell P, Wang JJ, Gillies MC. Retinal autoantibody profile in early age-related macular degeneration: preliminary findings from the Blue Mountains Eye Study. *Clin Exp Ophthalmol.* 2006;34(6):590-5.

159. Gu X, Meer SG, Miyagi M, Rayborn ME, Hollyfield JG, Crabb JW, et al. Carboxyethylpyrrole protein adducts and autoantibodies, biomarkers for age-related macular degeneration. *J Biol Chem*. 2003;278(43):42027-35.
160. Ni J, Yuan X, Gu J, Yue X, Gu X, Nagaraj RH, et al. Plasma protein pentosidine and carboxymethyllysine, biomarkers for age-related macular degeneration. *Mol Cell Proteomics*. 2009;8(8):1921-33.
161. Ardeljan D, Tuo J, Chan CC. Carboxyethylpyrrole plasma biomarkers in age-related macular degeneration. *Drugs Future*. 2011;36(9):712-8.
162. Morohoshi K, Ohbayashi M, Patel N, Chong V, Bird AC, Ono SJ. Identification of anti-retinal antibodies in patients with age-related macular degeneration. *Exp Mol Pathol*. 2012;93(2):193-9.
163. Prasuhn M, Hillers C, Rommel F, Riemekasten G, Heidecke H, Nassar K, et al. Specific Autoantibodies in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: Evaluation of Morphological and Functional Progression over Five Years. *J Pers Med*. 2021;11(11).
164. Joachim SC, Bruns K, Lackner KJ, Pfeiffer N, Grus FH. Analysis of IgG antibody patterns against retinal antigens and antibodies to alpha-crystallin, GFAP, and alpha-enolase in sera of patients with "wet" age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;245(5):619-26.
165. Wu KH, Madigan MC, Billson FA, Penfold PL. Differential expression of GFAP in early v late AMD: a quantitative analysis. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(9):1159-66.
166. Seddon JM, Gensler G, Milton RC, Klein ML, Rifai N. Association between C-reactive protein and age-related macular degeneration. *Jama*. 2004;291(6):704-10.
167. Özkan B, Karabaş LV, Altıntaş Ö, Tamer GS, Yüksel N, Çağlar Y. Plasma antiphospholipid antibody levels in age-related macular degeneration. *Can J Ophthalmol*. 2012;47(3):264-8.
168. Gu J, Pauer GJ, Yue X, Narendra U, Sturgill GM, Bena J, et al. Assessing susceptibility to age-related macular degeneration with proteomic and genomic biomarkers. *Mol Cell Proteomics*. 2009;8(6):1338-49.
169. Iannaccone A, Giorgianni F, New DD, Hollingsworth TJ, Umfress A, Alhatem AH, et al. Circulating Autoantibodies in Age-Related Macular Degeneration Recognize Human Macular Tissue Antigens Implicated in Autophagy, Immunomodulation, and Protection from Oxidative Stress and Apoptosis. *PLoS One*. 2015;10(12):e0145323.
170. Camelo S. Potential Sources and Roles of Adaptive Immunity in Age-Related Macular Degeneration: Shall We Rename AMD into Autoimmune Macular Disease? *Autoimmune Dis*. 2014;2014:532487.
171. Ren C, Liu Q, Wei Q, Cai W, He M, Du Y, et al. Circulating miRNAs as Potential Biomarkers of Age-Related Macular Degeneration. *Cell Physiol Biochem*. 2017;41(4):1413-23.
172. ElShelmani H, Wride MA, Saad T, Rani S, Kelly DJ, Keegan D. Identification of Novel Serum MicroRNAs in Age-Related Macular Degeneration. *Transl Vis Sci Technol*. 2020;9(4):28.

Danksagung

Zuerst möchte ich mich ganz herzlichst bei PD Dr. Korb für das Thema der Doktorarbeit, Ihre stetige Betreuung und Begleitung über die gesamte Zeit hinweg bedanken.

Des Weiteren bedanke ich mich bei einigen Assistenzärzten und Assistenzärztinnen und weiteren Mitarbeitern an der Augenklinik in Mainz.

Ein großer Dank geht an meinen Ehemann und meine Eltern sowie meiner Familie, durch deren Unterstützung, Verständnis und Großzügigkeit ich die Doktorarbeit während dem Studium und Beruf durchführen konnte.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Lia Fee Kempf
Geburtsdaten: 09.03.1997, in Heidelberg

Berufs- und Schulausbildung

Seit 15.07.2024	Assistenzärztin, Augenklinik im Klinikum Ludwigshafen
Mai 2024	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung: Note sehr gut
Mai 2023 - April 2024	Praktisches Jahr am Klinikum der Stadt Ludwigshafen
April 2023	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung: Note befriedigend
Oktober 2019 - Juli 2022	Studium Klinik Humanmedizin am Universitätsklinikum in Mainz
August 2019	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung: Note gut
Oktober 2017 - August 2017	Studium Vorklinik Humanmedizin an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
September 2015 - Juli 2017	Ausbildung zu Medizinischen Fachangestellten Gesamtnote 1,5
September 2007 - Juni 2015	Kurfalz-Gymnasium, Mannheim Abitur 2015 Durchschnittsnote: 1,6
September 2006 - Juli 2007	Montessori-Grundschule, Heidelberg
September 2004 - Juli 2006	Theodor-Heuss-Grundschule, Oftersheim

Praktika

August 2021 - September 2021	Famulatur: orthopädische Praxis, Mannheim
Februar 2021 - März 2021	Famulatur: Universitäts-Augenklinik, Mainz
August 2020 - September 2023	Famulatur: WS-Chirurgie GRN-Klinik, Schwetzingen
Februar 2020 - März 2020	Famulatur: Hausarztpraxis Dr. med Krautter, Eppelheim
Juli, August 2015, August 2017	Krankenpflegepraktikum, GRN-Klinik, Schwetzingen