

Die Genetik der komplexen AMD

Heidi Stöhr

Institut für Humangenetik der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Zusammenfassung

Die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) ist eine multifaktorielle Erkrankung, die sowohl von Umweltfaktoren als auch einer starken genetischen Komponente geprägt wird. Über die pathophysiologischen Mechanismen, die zu den Netzhautschädigungen der AMD führen, ist wenig bekannt. Eine ansteigende Prävalenz und die damit verbundene sozioökonomische Belastung für die westlichen Industriestaaten erklärt das wachsende Interesse an der Aufklärung der genetischen Ursachen dieser häufigen Alterskrankheit. Bei der Suche nach den prädisponierenden Genen für die AMD wurden in den vergangenen Jahren verschiedene Strategien angewandt. Dazu gehören genomweite genetische Kopplungsanalysen und Untersuchungen zur Assoziation bestimmter Genvarianten mit dem AMD-Phänotyp in Fall-/Kontroll- oder Familienstudien. Bekannte Makuladystrophie-Gene sowie Gene, die aufgrund ihrer Expression oder Funktion mit der Ätiologie der AMD in Zusammenhang gebracht werden konnten, sind hierbei als Kandidatengene von besonderem Interesse. Die bisherigen Ergebnisse deuten jedoch an, dass keines der bisher untersuchten Gene für sich alleine eine herausragende Rolle bei der AMD spielt. Da die Beteiligung mehrerer prädisponierender Gene mit zum Teil geringen Beiträgen zum Erkrankungsrisiko als wahrscheinlich gilt, wird eine Ausweitung von Assoziationsstudien auf sehr grosse Probandenzahlen notwendig sein, um vorhandene moderate Einflüsse nachweisen zu können.

Schlüsselwörter

multifaktorielle Erkrankung, genetische Disposition, Kandidatengene, Kopplungsanalysen, Assoziationsstudien

Summary

Age-related macular degeneration (AMD) is a multifactorial disease with a variable clinical phenotype and is caused by the combined effect of environmental factors and a strong genetic component. The pathophysiological mechanisms leading to the retinal defects in AMD patients are largely unknown. The increasing prevalence of AMD in the industrialized countries is expected to have an enormous socio-economical impact within the next 15-20 years. This explains the growing interest to gain novel insight into the etiology of AMD but also to identify the genetic determinants. Different strategies are being used to identify genes contributing to AMD susceptibility including genome-wide genetic linkage analyses and association studies in case-control cohorts. Known macular dystrophy genes as well as genes whose expression or functional properties suggest a possible involvement in AMD pathogenesis are regarded prime candidate genes. Current data indicate that none of the genes analyzed so far represent a major risk factor. Based on the assumption that several genes are likely to influence the disease development with a variable risk contribution, future studies with large numbers of individuals will be needed to provide the statistical

power for detecting moderate or even mild effects.

Key words

Multifactorial disease, genetic disposition, candidate genes, linkage analysis, association studies

Einleitung

In den letzten Jahren haben sich die Forschungsanstrengungen sehr stark auf die sogenannten Alterserkrankungen konzentriert. Im Vordergrund steht hierbei die Aufklärung der Krankheitsursachen und damit verbunden die Entwicklung innovativer Therapiemöglichkeiten. Das zunehmende Interesse hängt unter anderem mit der zunehmenden demographischen Verschiebung der Altersstrukturen in den westlichen Industrienationen zusammen. Im Jahre 2000 lebten in den Ländern der Europäischen Union (EU) 61 Millionen Menschen im Alter von 65 Jahren oder älter und in den nächsten 15 Jahren muss davon ausgegangen werden, dass der Anteil der „sehr Alten“ (80 Jahre und darüber) um fast 50% zunehmen wird. Unter diesen Voraussetzungen ist zu erwarten, dass die Zahl der Fälle an chronischen Erkrankungen des Stoffwechsel-, Herz-Kreislauf- und Nervensystems ebenfalls dramatisch ansteigen wird, womit erhebliche gesundheits- und sozialökonomische Belastungen auf die Industrienationen zukommen werden.

Zu den häufigen Alterserkrankungen zählt auch die altersbedingte Makula-

degeneration (AMD), welche die häufigste Ursache für gesetzlich anerkannte Blindheit darstellt. Unter dem Begriff „AMD“ werden die mit zunehmendem Alter auftretenden, pathologischen Veränderungen der Makula zusammengefasst. Frühe Stadien der AMD gehen meist mit der Entstehung von weichen Drusen im oder unterhalb des retinalen Pigmentepithels (RPE) einher. Diese gelblichen Ablagerungen führen jedoch selten zu wesentlichen Funktionseinbußen der Netzhaut. Bei der späten AMD werden zwei Verlaufsformen unterschieden. Die atrophische oder „trockene“ Form der AMD ist durch den Untergang von RPE- und Sinneszellen in scharf abgegrenzten Bereichen der Makula gekennzeichnet, was mit einem langsam fortschreitenden, jedoch erheblichen Verlust der zentralen Sehschärfe verbunden ist. Die exsudative oder „feuchte“ AMD wird durch die Bildung von neuen, abnormen Blutgefäßen verursacht, die aus der Choriokapillaris in den subretinalen Raum hineinwuchern. Diese Blutgefäße neigen dazu, Exsudate in das umliegende Zellgewebe abzusondern, wodurch es zu Vernarbungen der Makula kommt und schwere Netzhautschädigungen eintreten. Die feuchte Form der AMD ist für etwa 90% aller durch AMD verursachten Erblindungen im Sinne des Gesetzes verantwortlich.

Unter Berücksichtigung der frühen und späten Manifestationsformen, ergibt sich eine Prävalenz der AMD von etwa 20% für die Altersgruppe zwischen 65 und 74 Jahren und 35% für die 75- bis 84-Jährigen. Spätstadien mit erheblichem Visusverlust finden sich bei etwa 1% der Personen im Alter von 65 bis 74 Jahren und nehmen auf etwa 5% im Alter zwischen 75 und 84 Jahren zu (Schick et al. 2001). Somit sind in der EU heute bereits mehr als 12 Millionen Menschen an der AMD erkrankt. Prävalenzstudien in verschiedenen Bevölkerungsgruppen haben allerdings ergeben, dass die Häufigkeiten in unterschiedlichen ethnischen Populationen zum Teil erheblich variieren können (Klein et al. 1999).

Die AMD ist eine multifaktorielle Erkrankung

Die Mechanismen, die zu den Netzhautveränderungen bei der AMD führen sind bisher nicht verstanden. Es wird angenommen, dass es sich um eine multifaktorielle Erkrankung handelt, deren Entstehung und Verlauf von exogenen Faktoren im Zusammenspiel mit individuellen genetischen Veranlagungen abhängen. Ähnlich komplexe Vorgänge werden auch für andere Alterskrankheiten, wie z.B. Morbus Alzheimer oder Altersdiabetes verantwortlich gemacht.

Epidemiologische Populations-, Fall-/Kontroll- sowie Kohortenstudien hatten zunächst das Ziel, den Beitrag der nicht-genetischen Komponenten zu klären. Untersucht wurden hauptsächlich Faktoren, die das kardiovaskuläre System (z.B. Bluthochdruck, Cholesterinspiegel, Hormone, Alkohol- und Zigarettenkonsum) sowie oxidative Prozesse im Auge (z. B. Licht, exo- und endogene Antioxidantien) beeinflussen. Bisher konnte jedoch nur das Zigarettenrauchen als eindeutiger Risikofaktor identifiziert werden (Evans 2001).

Ein familiäres Vorkommen von „AMD-ähnlichen Erscheinungen“ wurde bereits im 19. Jahrhundert von den beiden Ärzten Hutchinson und Tay festgestellt. Einige Jahrzehnte später wurde die genetische Komponente der AMD dann durch zahlreiche Familien- und Zwillingsstudien bestätigt. So wurden signifikant höhere Konkordanzraten bei monozygotischen im Vergleich zu dizygotischen Zwillingen beobachtet (z. B. Meyers et al. 1995). Außerdem hat sich gezeigt, dass für Verwandte von AMD-Patienten ein mehrfach höheres Risiko besteht, ebenfalls zu erkranken (Seddon et al. 1997).

Ansätze zur Aufklärung der genetischen Disposition bei der AMD

In den letzten Jahren mehren sich die Arbeiten zur Aufklärung der genetischen Disposition bei der AMD. Im Gegensatz zur steigenden Zahl identifizierter Gene, die erblichen Netzhautdegenerationen zugrunde liegen (<http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet/>),

gestaltet sich die Suche nach den genetischen Faktoren der AMD schwierig. Das liegt vor allem daran, dass die Vererbung der AMD vermutlich nicht den einfachen Mendelschen Regeln monogener Erkrankungen folgt. Wahrscheinlich unterliegen dem komplexen Vererbungsmuster Einflüsse mehrerer Gene, welche zudem noch durch äußere Faktoren modifiziert werden. Unklar ist, ob es ein Schlüsselgen gibt, welches einen wesentlichen Einfluss auf die Pathogenese der AMD ausübt, wie die Daten der Beaver Dam Eye Study aufgrund einer Segregationsanalyse bei AMD-Geschwisterpaaren vermuten lassen (Heiba et al. 1994). Weiterhin problematisch für traditionelle genetische Untersuchungsansätze bei der AMD ist das späte Auftreten der Krankheitssymptome sowie ein auffallend heterogenes Krankheitsbild. Dennoch wurden in den letzten Jahren eine Reihe genetischer Untersuchungen zur AMD-Prädisposition durchgeführt, die im folgenden im Überblick dargestellt werden.

Ein Ansatz zur Bestimmung prädisponierender Gene ergibt sich über Kopplungsanalysen in Familien mit mehreren betroffenen AMD-Patienten. Unklar ist im Einzelfall welche Parameter in Bezug auf Erbgang oder Penetranz anzuwenden sind. Einen Ausweg bietet die Nutzung von parameterfreien Methoden. Modellberechnungen haben allerdings gezeigt, dass der Effekt eines potentiellen Risikoallels eine kritische unbekannte Größe darstellt. In einer ersten genomweiten Kopplungsanalyse wurden etwa 400, über das gesamte menschliche Genom verstreute, polymorphe DNA Marker in insgesamt 452 Geschwisterpaaren aus 391 AMD-Familien typisiert. Zwar konnte eine schwache Kopplung zu den chromosomalen Regionen 1q31 und 17q25 (Weeks et al. 2001) gefunden werden, doch steht eine Reproduktion dieser Daten in unabhängigen Studien noch aus.

Eine weitere Strategie, um AMD-relevante genetische Faktoren zu identifizieren, ist die Analyse möglicher Zusammenhänge von bereits bekannten Genen mit der AMD. Hierbei kommen

Tab 1 Genetische Analysen von Genen mit pathophysiologischer Relevanz zur AMD

Studie	Genlocus	Relevanz zur AMD	Patienten/ Kontrollen	AMD- Phänotyp	Nur in AMD identifizierte Varianten	Polymorphismen assoziiert mit AMD
Sauer et al., 2001	G protein-coupled receptor-75	Netzhaut- und Gehirn- spezifische Expression	535/252	E und A	-4 G>A, N78K, P99L, S108T, T135P, Q234X	nein
Ruiz et al., 2001	Lecithin retinol acyltransferase	Generierung des Sehpig- ments im RPE; Ursache für retinale Dystrophien	93/94	k.A.	keine	nein
Kuehn et al., 2001	Interphotorezeptor- matrix proteoglycan-2	Teil der extrazellulären Matrix in der Retina	92/92	k.A.	keine	nein
Friedman et al., 2002	Opticin	Augen-spezifisch/ kartiert z. Suszeptibilitätslocus 1q	45/55	E und A	R229C	nein
Zurdel et al., 2002	Cystatin C	Regulation proteolytischer Prozesse im RPE	167/517	E	k.A.	Kspl Polymorphismus im 5' Bereich
Kimura et al., 2000	Manganese superoxide dismutase	antioxidatives Schutzsystem	102/140	E	k.A.	V6A im Signalpeptid
	Epoxide hydrolase				k.A.	Y113H (H139R nicht assoziiert)
	Cytochrome P-450				k.A.	nein
	Glutathione S-transferase				k.A.	nein
Ikeda et al., 2001	Paraoxonase	antioxidatives Schutzsystem	72/140	E	k.A.	M54L und E192R
Hamdi et al., 2002	Angiotensin-converting enzyme	Regulation von Blutdruck, Zellproliferation und Zelltod	173/189	E und A	k.A.	Alu Insertion im Intron 16

E und A=exsudative und atrophische AMD
k.A.=keine Angaben
Referenzen auf Anfrage vom Autor erhältlich

in erster Linie solche Gene in Betracht, die aufgrund ihrer Expression in der Netzhaut bzw. ihrer bekannten funktionellen Eigenschaften eine Rolle bei der Ätiologie der AMD vermuten lassen. Dazu gehören auch diejenigen Gene, deren pathologisches Potential aufgrund einer bekannten Beteiligung an einer monogenen Netzhauterkrankung bereits erkennbar ist. Das Ziel eines solchen Ansatzes ist es, durch den Vergleich einer Patienten- mit einer Kontrollgruppe, eine (oder mehrere) mit der AMD assoziierte Genvarianten zu identifizieren. Solche Assoziationsanalysen stellen eine sensitive Methode dar, mit deren Hilfe auch Risikoallele mit moderatem Beitrag zur Pathogenese der AMD zu bestimmen sein sollten.

Da über die pathophysiologischen Mechanismen der AMD-Entwicklung nur wenig bekannt ist, stützt sich die Auswahl von funktionell relevanten Kandidatengenen gegenwärtig auf hypothetische Reaktionswege für den Krankheitsprozess. Der ursächliche Defekt könnte hierbei lokal in den verschiedenen Zelltypen und -schichten der Netzhaut liegen oder als Folge von Immunsystemdefizienzen, von Mangelernährung oder kardiovaskulären Störungen aufgefasst werden.

Ein zunehmendes Unvermögen des retinalen Abwehrsystems auf äussere Faktoren wie z.B. oxidativen Stress zu reagieren, könnte ebenfalls eine zentrale Rolle spielen. Obwohl unter diesen Annahmen eine sehr große Zahl an möglichen Kandidaten in Frage kommt, haben sich die genetischen Analysen bis heute auf wenige, ausgewählte Gene beschränkt (Tabelle 1). So wurden beispielsweise bei einer großen Studie mit 535 Patienten und 252 Kontrollen im Netzhaut- und Gehirn-spezifischen G-Protein-gekoppelten Rezeptor-75 bei fünf Patienten fünf verschiedene Sequenzvarianten gefunden. Bei der direkten Analyse dreier weiterer im Auge aktiver Gene, konnte in einer kleinen Kohorte bei einem einzigen Patienten eine Sequenzvariante im Opticin-Gen nachgewiesen werden. Welche Bedeutung diese seltenen, jedoch ausschließlich bei AMD-Patienten entdeckten Varianten für die Pathogenese der AMD haben könnte, ist bisher nicht geklärt.

Bei weiteren sieben Genen wurden die Allelfrequenzen bekannter Polymorphismen in AMD-Patienten und Kontrollen miteinander verglichen. Diese Gene sind Teil des oxidativen Schutzsystems der Zelle, wirken auf den Blutkreislauf oder sind an der Re-

gulation von Cysteinproteasen im RPE beteiligt. Obwohl in einigen Fällen (Cystatin C, Mangansuperoxid-Dismutase, mikrosomale Epoxidhydrolase, Paraoxonase, Angiotensin-konvertierendes Enzym) Allelvarianten beschrieben werden, die mit der AMD assoziiert sein könnten (Tabelle 1), ist die jeweilige Größe des Patienten- und Kontrollkollektivs zu gering, um eine statistisch abgesicherte Aussage treffen zu können.

Eine wichtige Gruppe von Kandidatengenen umfasst solche, die ursächlich mit erblichen Makulopathien assoziiert sind, die klinische Gemeinsamkeiten mit dem Krankheitsbild der AMD aufweisen. Hierzu gehören Manifestationen wie das Auftreten von Drusen-ähnlichen Ablagerungen oder pathologische Gefäßneubildungen. Ergebnisse direkter Mutationsanalysen wurden bisher von vier Makulopathie-Genen veröffentlicht (Tab. 2).

Dazu gehören

- das TIMP3-Gen, welches die autosomal dominante Sorsby Fundusdystrophie auslöst,
- das VMD2-Gen, das für den autosomal dominanten Morbus Best verantwortlich ist,

Tab 2 Genetische Analysen bekannter Makuladystrophie-Gene

Studie	Genlocus	Makuladystrophien	Patienten/ Kontrollen	AMD- Phänotyp	Nur in AMD identifizierte Varianten	Polymor- phismen assoziiert mit AMD
De La Paz et al., 1997 Felbor et al., 1997	tissue inhibitor of metalloproteases-3 (TIMP3)	Sorsby Fundusdystrophie	38 AMD Familien 143/keine	E und A E und A	keine genetische Kopplung -270 G→C	k.A. nein
Allikmets et al., 1999 Kramer et al., 2000 Lotery et al., 2000 Akimoto et al., 2001 Seddon et al., 2001	vitelliform macula dystrophy-2 (VMD2)	Morbus Best	259/196 200/140 321/192 85/105 259/196	k.A. E und A E und A E und A E und A	T216I, L567F 933C→T (V311V) R105C, K149Stop, V275I, E119Q 9C→T (I3I) T216I, L567F	nein nein nein nein k.A.
Ayyagari et al., 2001	elongation of very long chain fatty acids-4 (ELOVL4)	Morbus Stargardt-ähnliche Makuladystrophie	778/551	E und A	IVS4-32 G→A, 765A→T (A255A)	nein
Stone et al., 1999 Guymer et al., 2002	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein-1 (EFEMP1)	Doyne Honigwabens-Dystrophie	494/477 54 AMD Familien	k.A.	R345W* (nicht mit AMD)	k.A.

E und A = exsudative und atrophische AMD

k.A. = keine Angaben

*R345W ist ursächliche Mutation bei Doyne Honigwabens-Dystrophie;

Referenzen auf Anfrage vom Autor erhältlich

- das ELOVL4-Gen, welches mit einer autosomal dominanten Form einer Morbus Stargardt-ähnlichen Makulopathie assoziiert ist sowie

- das EFEMP1-Gen, das der autosomal dominanten Doyne Honigwabens-Dystrophie zugrundeliegt.

Bei TIMP3, VMD2 und ELOVL4 konnten in wenigen Patienten Sequenzveränderungen gefunden werden, die bei den Kontrollen nicht auftraten. Diese Sequenzvarianten liegen entweder außerhalb kodierender Bereiche oder stellen stille Veränderungen, bzw. *missense* und *nonsense* Mutationen dar. Ob diese seltenen Varianten einen Einfluss auf die Funktion der jeweiligen Gene/Proteine und damit den Entstehungsprozess bei der AMD haben, ist nicht bekannt. Für die Doyne Honigwabens-Dystrophie wurde eine nicht-konservative *missense* Mutation, R345W, im EFEMP1-Gen beschrieben. Analysen von AMD-Patienten und Familien zeigten, dass diese Sequenzveränderung nicht mit der AMD assoziiert ist. Damit bleibt zusammenfassend festzuhalten, dass die genetischen Untersuchungen der oben genannten Makulopathie-Gene bei grossen AMD-Patientenkollektiven bisher keinen Hinweis auf eine massgebliche Beteiligung an der Entwicklung der AMD-Erkrankung ergeben haben.

Die Rolle des ABCA4-Gens bei der AMD

Mit ihren Arbeiten über den Netzhautspezifischen ABC (ATP binding cassette) Transporter, ABCA4, der bei 16% der 167 untersuchten AMD-Patienten Mutationen aufwies, erbrachten Allikmets und Kollegen, 1997 erstmals einen wichtigen Hinweis, dass ein Makulopathie-Gen ursächlich auch mit altersabhängigen, genetisch komplexen Formen der Makuladegeneration assoziiert sein kann. Zuvor hatten die Autoren das ABCA4 Gen als Ursache für den rezessiv vererbten, juvenilen Morbus Stargardt (STGD1) beschrieben. Mittlerweile ist bekannt, dass Mutationen im ABCA4-Gen auch für rezessive Zapfen-Stäbchen-Dystrophien und eine inverse Retinitis Pigmentosa (RP19) verantwortlich sind. Daraus ergab sich die attraktive Vorstellung einer umgekehrten Korrelation zwischen einer ABCA4-Restaktivität und dem Schweregrad der Netzhauterkrankung. Sind beide ABCA4-Allele durch Mutationen funktionell inaktiviert, entstehen die schweren Netzhautschädigungen einer inversen RP. Ist eine Restaktivität des ABCA4-Transporters durch zwei moderate/milde Mutationen wenigstens teilweise erhalten, entwickeln sich Zapfen-Stäbchen-Dystrophien oder STGD1. Ist jedoch die ABCA4-Funktion nur minimal beeinträchtigt, z.B. aufgrund einer milden oder moderaten Mutation in nur einem Allel, könnte dies zu einer sehr späten Manifestation in Form einer AMD-Erkrankung führen.

Eine eindeutige Beweisführung, die die Rolle des ABCA4 in der Pathogenese der AMD klären könnte, steht noch aus. International wurde eine Vielzahl von genetischen Analysen initiiert, die jedoch zu widersprüchlichen Ergebnissen führten (Tabelle 3). Die Resultate der ursprünglichen Studie konnten in unabhängigen Untersuchungen bisher nicht bestätigt werden. Sicherlich stellt die genetische Untersuchung des ABCA4-Gens sowie die Interpretation einer ABCA4-Sequenzvariation in jedem Fall eine Herausforderung dar. Zum einen hat sich bei Mutationsanalysen von STGD1-Patienten gezeigt, dass die Detektionsrate mit ca. 60% verhältnismässig niedrig ist. Darüber hinaus wurde ersichtlich, dass die ABCA4-Sequenz auffallend polymorph ist, mit geschätzten 350-400 natürlich vorkommenden Varianten. Die allelische Diversität geht soweit, dass nur sehr schwer Personen zu identifizieren sind, die identische ABCA4-Sequenzen besitzen (Webster et al. 2001). Schliesslich werden Assoziationsuntersuchungen durch das Vorkommen häufiger, populationspezifischer Allele erschwert, wie z. B. die 2588 G>C Transversion in der europäischen Bevölkerung (Maugeri et al. 2002).

Um eine statistische Signifikanz bei den Untersuchungsergebnissen zu erhalten, wurde ein internationales Konsortium aus 15 verschiedenen Zentren gegründet und die am häufigsten bei AMD gefundenen Allele, G1961E

Tab 3 Genetische Analysen des ABCA4-Gens

Studie	Ethn. Gruppe	ABCA4-Analyse	Patienten (E/A/STGD1)	Kontrollen	Identifizierte ABCA4 Varianten	AMD assoziierte Allele	Fre.-AMD	Fre.-Kontr.	Ko-segr.
Allikmets et al. 1997 Bernstein et al., 2002	K/A	50 Exone	33/134/98 Geschwister	220 AB	18	13	16%	0.45%	19/33
Stone et al., 1998	k.A.	50 Exone	109/73/215	96 AB	147	keine			
De La Paz et al., 1999	k.A.	Selekt. Exone	53 sporadisch 159 familiär	56 AB	11	keine			1/4
Souied et al., 2000	K	50 Exone	52/0/0 Geschwister	90 AB	6	2	5.7%	0.0%	2/6
Fuse et al., 2000	J	26 Exone	0/25/0	40 AB	6	keine			
Kuroiwa et al., 2000	J	10 Exone	70/10/0	100 GK	8	keine			
Rivera et al., 2000	K	50 Exone	100/100/144	153 GK 67 AB	127	keine			
Shroyer et al., 2001	K	50 Exone	23 Familien	100 k.A.	37	18			15/23
Baum et al., 2003	C	15 Exone	140; Form k.A./18	95 GK	8	keine			
Allikmets u.d. internat. ABCR S.C., 2000	K	G1961E D2177N	685/533/0	605 GK 653 AB			3.36%	0.95%	
Guymet et al., 2001	S und andere	G1961E D2177N	222/322/0	689 AB 44 S			2.2%	2.0%	

K=Kaukasier
C=Chinesen
k.A.=keine Angabe

A=Afrikaner
S=Somalier
Kontr.=Kontrollen

J=Japaner
AB=allgemeine Bevölkerung
GK=gleichaltrige Kontrollen

Fre.=Frequenz
Ko-segr.=Kosegregation
E/A/STGD1=exsudative/atrophische AMD/M. Stargardt

Referenzen auf Anfrage vom Autor erhältlich

und D2177N (Allikmets et al. 1997), in 1218 AMD-Patienten und 1258 Kontrollen untersucht. Es wurde eine signifikant höhere Frequenz der beiden Allele in der Patientengruppe festgestellt (Tabelle 3). Dieser Befund konnte in einer unabhängigen, jedoch kleineren Studie, nicht bestätigt werden (Guymet et al. 2001). Hier wurde außerdem eine sehr hohe Häufigkeit des G1961E-Allels in der Bevölkerung von Somalia beschrieben (>10%), ohne dass das AMD-Risiko in dieser Population erhöht wäre.

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen einer Sequenzvariante und der Erkrankung zu demonstrieren, wird in Segregationsstudien das gehäufte Auftreten des veränderten Allels mit dem Phänotyp untersucht. So wurde in einigen Studien die Vererbung bestimmter ABCA4-Allele in Familien überprüft. Dabei wurden beispielsweise die Großeltern von STGD1-Patienten, von denen jeweils ein Elternteil heterozygoter Träger eines mutierten ABCA4-Allels ist, auf Symptome von AMD getestet. Alternativ wurden die Geschwister von AMD-Patienten mit einer ABCA4-Mutation untersucht. In keiner der bisherigen Studien konnten eindeutige Genotyp-Phänotyp-Korrelationen gefunden werden (Tabelle 3).

In neueren Arbeiten wurde versucht, die Pathogenität einer ABCA4-Sequenzvariante mit Hilfe von Tiermodellen sowie durch *in vitro* Analysen abzuschätzen. Der ABCA4-Transporter ist eine wichtige Komponente der Scheibchenmembranen in den Außensegmenten der Photorezeptoren und ist für den Transport von Retinoiden der Photorezeptor-Sehkaskade (*all-trans*-Retinal und Phosphatidylethanolamin) verantwortlich. In *Abca4*-knockout-Mäusen wurden neben einer verzögerten Dunkeladaptation eine Reihe von pathologischen Netzhautveränderungen gefunden, wozu die erhöhte Ablagerung des Fluorophors A2-E, dem Hauptbestandteil des Lipofusins im RPE gehört (Weng et al. 1999). Dies wird als eine wichtige Gemeinsamkeit zwischen STGD1 und AMD angesehen. Interessant ist auch der Befund, dass Mäuse mit nur einer funktionellen *Abca4*-Genkopie einen Phänotyp entwickeln, der dem der homozygoten *Abca4*-knockout-Maus sehr ähnlich ist. Bei den heterozygoten Tieren ist der Krankheitsverlauf jedoch sehr langsam und tritt erst in höherem Alter auf (Mata et al. 2000). Dies ist sehr gut mit der Vorstellung vereinbar, dass heterozygote Träger einer STGD1-Mutation eine genetische Disposition für die AMD besitzen.

Elegante biochemische Experimente haben inzwischen gezeigt, dass natürlich vorkommende ABCA4-Varianten einen messbaren physiologischen Effekt besitzen, wobei definierte Schritte des Substrattransports in der Membran unterschiedlich stark betroffen sein können (z. B. Bindung des Retinals, ATP-Hydrolyse) (Sun et al. 2000). Diese Analysen erlauben auch geringe ABCA4-Funktionsunterschiede zu messen. Dies konnte sehr eindrucksvoll beispielsweise bei der ursprünglich als Polymorphismus deklarierten R943Q-Veränderung gezeigt werden (Suarez et al. 2002).

Die Weiterentwicklung und Verbesserung von funktionellen Tests werden in Zukunft ein wichtiges Werkzeug zur Bestimmung der ABCA4-Funktion sein, um somit Effekte von ABCA4-Sequenzvarianten zu bestimmen. Damit könnte auch die Frage der Relevanz des einfachen Genotyp-Phänotyp-Korrelationsmodells für ABCA4-Mutationen geklärt werden.

Die Untersuchung von Apolipoprotein E-Polymorphismen
AMD und Morbus Alzheimer sind beides komplexe neurodegenerative Erkrankungen, deren Symptome meist im späten Lebensalter auftreten. Gemeinsam ist ihnen auch die pathologi-

Tabelle 4 Assoziation von Polymorphismen im Apolipoprotein E-Gen mit AMD

Studie	Ethn. Gruppe	Pat.	AMD-Phänotyp	Kontrollen	Allelfrequenz in % Patienten/Kontrollen			Assoziation mit AMD
					ε2	ε3	ε4	
Klaver et al., 1998	K	88	E	901 AB	12.5/9.0	80.6/75.3	8.6/15.6	ε4: protektives Allel ε2: Risikoallel
Souied et al., 1998	K	116	E	168 GK	9.9/6.2	82.8/78.9	7.3/14.9	ε4: protektives Allel
Pang et al., 2000	C	98	E und A	133 AB	9.7/9.4	84.7/83.1	5.6/7.5	keine
Schmidt et al., 2000	K	102 sporadisch 129 familiär	E und A	372 AB	10.4/8.1 7.4/8.1	74.3/77.3 83.7/77.3	15.4/14.6 8.9/14.6	keine ε4: protektives Allel
Simonelli et al., 2001	K	87	E und A	1287 AB	9.8/6.1	87.3/83.4	2.9/10.5	ε4: protektives Allel ε2: Risikoallel
Schmidt et al., 2002	K	617	E und A	1216 AB	9.1/8.5	82.7/75.9	8.3/15.6	ε4: protektives Allel ε2: Risikoallel bei Männern

K=Kaukasier
AB=allgemeine Bevölkerung
E/A=exsudative/atrophische AMD
Referenzen auf Anfrage vom Autor erhältlich

C=Chinesen
GK=gleichaltrige Kontrollen

sche Ablagerung von proteinhaltigem Material, was schließlich den Untergang von Zellen nachsichzieht. Bei Morbus Alzheimer ist ein Apolipoprotein E (ApoE)-Genpolymorphismus mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko assoziiert. Das ApoE ist ein wichtiges Lipoprotein des Nervensystems, welches den Transport und die Verteilung von Lipiden und Cholesterin reguliert und dabei für die Instandhaltung und Reparatur von neuronalen Zellmembranen verantwortlich ist. Nach der Leber ist die menschliche Netzhaut der Ort mit der höchsten ApoE-Produktion im Körper, was auf eine wichtige Rolle des ApoE in diesem Gewebe hinweist. Einen möglichen Beitrag von ApoE-Genvarianten bei der AMD wurde bisher in sechs Studien analysiert (Tabelle 4). Mit Ausnahme einer Untersuchung in der chinesischen Bevölkerung (98 Probanden) zeigen die Ergebnisse einen protektiven Effekt des ε4 Allels von ApoE. Dies scheint reziprok zu der Situation bei Morbus Alzheimer, wo das ε4-Allel eindeutig mit einem erhöhten Risiko für diese Erkrankung verbunden ist. Um die Rolle von ApoE bei der AMD zu klären, wurden kürzlich die Daten aus vier unabhängigen Fall-/Kontroll-Studien zusammengefasst. Die Auswertung der ApoE-Genotypen bei 617 AMD-Patienten und 1260 Kontrollen zeigte eine signifikant niedrigere Frequenz des ε4 Allels in der AMD-Gruppe (Tabelle 4). Diese Beobachtung wurde unabhängig vom Alter, Geschlecht und AMD-Manifestationsform (atrophisch oder exsudativ) gemacht. Umgekehrt zeigte sich, dass das ε2 Allel bei AMD-Patienten einen Risikofaktor darstellt,

allerdings nur bei Männern. Erhöhte Frequenzen des ε2 Allels bei AMD-Patienten wurden bereits in früheren Studien festgestellt, der Unterschied war hier jedoch statistisch nicht abgesichert. Eine endgültige Abklärung der möglicherweise geschlechtsspezifischen Assoziation des ε2 Allels mit der AMD bedarf einer Bestätigung in ähnlich grossen Untersuchungen.

Zukunftsansichten für genetische Analysen bei der AMD

Trotz zahlreicher Studien zur genetischen Disposition bei der AMD, konnten in den letzten Jahren nur sehr begrenzte Fortschritte erzielt werden. Bemerkenswert ist eine oft sehr geringe Probandenzahlen bei vielen der bisher durchgeführten Studien (Tabelle 1-4). Nur in wenigen Fällen konnten die Daten statistisch abgesichert werden. Die Ergebnisse müssen daher sehr zurückhaltend interpretiert werden. Eine weitere Problematik zeigt sich in der heterogenen Zusammensetzung der untersuchten Patientengruppen. Da nicht bekannt ist, ob spezifische Gene die unterschiedlichen, klinischen Manifestationsformen der AMD beeinflussen, könnte eine solche klinische Heterogenität bei den AMD-Phänotypen das Erkennen möglicher Assoziationen erschweren oder gänzlich unmöglich machen. Ein wesentliches Kriterium für zukünftige Studien muss daher sein, zahlenmässig adäquate und klinisch klar definierte Patienten- und Kontroll-Gruppen einzubeziehen. Richtungsweisend sind hier sicherlich die internationalen Studien in den ABCA4- und ApoE-Genen.

Nach der fast vollständigen Fertigstellung der Sequenzierung des menschlichen Genoms und der Verfügbarkeit von Hochdurchsatz-Technologien zur individuellen Genotypisierung ist die Hoffnung verbunden, die genetischen Faktoren der AMD durch systematische Untersuchungen einer sehr großen Zahl von Kandidatengenen aufzuspüren (z.B. mit Hilfe von *single nucleotide polymorphism*, SNP, Analysen). Alternativ dazu werden heute hochauflösende Expressionsprofile der alternden Netzhaut erstellt (Yoshida et al. 2002). Diese sollen zeigen, ob und aufgrund welcher zellulärer Prozesse die alternde Netzhaut für pathogene Veränderungen anfällig ist. Auf der Basis eines solchen Wissens scheint die Zukunftsvision einer gezielten therapeutischen Intervention zur Behandlung der ursächlichen Defekte der AMD näher zu rücken.

Literatur

- Allikmets R, Shroyer NF, Singh N, Seddon JM, Lewis RA, Bernstein PS, Peiffer A, Zabriskie NA, Li Y, Hutchinson A, Dean M, Lupski JR, Leppert M (1997) Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration. *Science* 277: 1805-1807.
- Evans JR (2001) Risk factors for age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 20: 227-253.
- Guymer RH, Heon E, Lotery AJ, Munier FL, Schorderet DF, Baird PN, McNeil RJ, Haines H, Sheffield VC, Stone EM. (2001) Variation of codons 1961 and 2177 of the Stargardt disease gene is not associated with age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 119: 745-751.
- Klein R, Klein BE, Cruickshanks KJ. (1999) The prevalence of age-related maculopathy by geographic region and ethnicity. *Prog Retin Eye Res* 18: 371-389.

Mata NL, Tzekov RT, Liu X, Weng J, Birch DG, Travis GH (2001) Delayed dark-adaptation and lipofuscin accumulation in *abcr*^{+/-} mice: implications for involvement of ABCR in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42: 1685-1690.

Maugeri A, Flothmann K, Hemmrich N, Ingvast S, Jorge P, Paloma E, Patel R et al. (2002) The ABCA4 2588G>C Stargardt mutation: single origin and increasing frequency from South-West to North-East Europe. *Eur J Hum Genet* 10: 197-203.

Meyers SM, Greene T, Gutman FA (1995) A twin study of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 120: 757-766.

Schick JH, SK Iyengar, RC Elston, BA Fijal, BE Klein, R Klein (2001) The genetic epidemiology of age-related maculopathy. *IJHG* 1: 11-24.

Seddon JM, Ajani UA, Mitchell BD (1997) Familial aggregation of age-related maculopathy. *Am J Ophthalmol* 123: 199-206.

Heiba IM, Elston RC, Klein BE, Klein R. (1994) Sibling correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Genet Epidemiol* 11: 51-67.

Suarez T, Biswas SB, Biswas EE (2002) Biochemical defects in retina-specific human ATP binding cassette transporter nucleotide binding do-

main 1 mutants associated with macular degeneration. *J Biol Chem* 277: 21759-21767.

Sun H, Smallwood PM, Nathans J (2000) Biochemical defects in ABCR protein variants associated with human retinopathies. *Nat Genet* 26: 242-246.

Webster AR, Heon E, Lotery AJ, Vandenberg K, Casavant TL, Oh KT, Beck G, Fishman GA, Lam BL, Levin A, Heckenlively JR, Jacobson SG, Weleber RG, Sheffield VC, Stone EM (2001) An analysis of allelic variation in the ABCA4 gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42: 1179-1189.

Weeks DE, Conley YP, Tsai HJ, Mah TS, Rosenfeld PJ, Paul TO, Eller AW, Morse LS, Dailey JP, Ferrell RE, Gorin MB. (2001) Age-related maculopathy: an expanded genome-wide scan with evidence of susceptibility loci within the 1q31 and 17q25 regions. *Am J Ophthalmol* 132: 682-692.

Weng J, Mata NL, Azarian SM, Tzekov RT, Birch DG, Travis GH (1999) Insights into the function of Rim protein in photoreceptors and etiology of Stargardt's disease from the phenotype in *abcr* knockout mice. *Cell* 98: 13-23.

Yoshida S, Yashar BM, Hirianna S, Swaroop A (2002) Microarray analysis of gene expression in the aging human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43: 2554-2560.

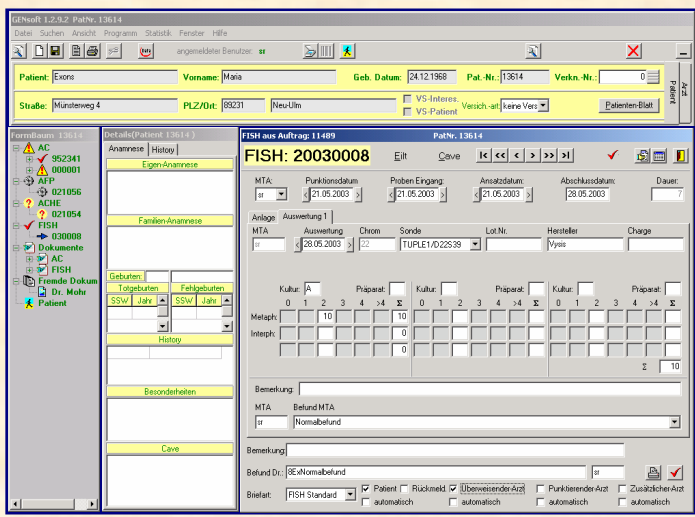
Korrespondenzadresse

Dr. Heidi Stöhr
 Institut für Humangenetik
 Julius-Maximilians-Universität Würzburg
 Am Hubland, Biozentrum
 97074 Würzburg
 Tel. 0931-8884090
 heidi.stoehr@mail.uni-wuerzburg.de

Anzeige

GENsoft - Software für genetische Untersuchungen

- Blut
- AFP
- NB
- DNA
- GW
- CVS



- AC
- ACHE
- QF
- Vater
- FISH
- GB

- einfache Bedienung
- vollständige Übersicht
- Verwaltung von Patienten & Familien
- Dokumentation
- Befundmanagement
- flexible Briefherstellung
- uvm.

Unverbindliches Infomaterial oder Referenzen unter:
 exons Software GmbH
 Adenauerstr. 13/1
 89233 Neu-Ulm
 Tel: 0731-96884-38 Fax: 0731-96884-77
 Url: www.exons.de Email: info@exons.de

