

Kataraktlı Olgularda Serum Vitamin B₁₂ ve Folik Asit Düzeyleri

Serum Vitamin B₁₂ and Folic Acid Levels in Cataract

Hasan Basri ÇAKMAK,¹ Ayşe Gül KOÇAK ALTINTAŞ,² Gülin GÖRKEM LEVENT,³ Şaban ŞİMŞEK⁴

ÖZ

Amaç: Kortikal kataraktlı olgular (KK) ile arka subkapsüler kataraktlı (ASK) olgularda vitamin B₁₂ ve folik asit serum düzeylerinin karşılaştırılması.

Gereç ve Yöntem: Katarakt ameliyatı yapılması amacıyla Ankara Atatürk Araştırma ve Eğitim Hastanesi I. Göz Hastalıkları Kliniği'nde incelenen hastalardan kortikal kesafeti olan 35 olgu ve arka subkapsüler kesafeti olan 31 olgu olmak üzere toplam 66 olgu çalışmaya alındı. Tüm olgularda ameliyat öncesi vitamin B₁₂ ve folik asit serum düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle çalışıldı.

Bulgular: Ortalama folik asit düzeyi kortikal kesafetli olgularda 5.4±4.5 ng/ml, arka subkapsüler kesafetli olgularda ise 10.3±4.9 ng/ml olarak ölçüldü. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0.001). Ortalama vitamin B₁₂ düzeyi kortikal kesafetli olgularda 249±109 pg/ml, arka subkapsüler kesafetli olgularda ise 285±195 pg/ml olarak ölçüldü. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.352).

Sonuç: Oksidatif stres sonucunda oluşan DNA hasarının düzeltilmesinde folik asit merkezi bir rol oynamaktadır. Kortikal kesafetlerin gelişiminde, folik asit seviyelerindeki düşüklüğün oksidatif strese bağlı DNA hasarında artışa neden olarak katarakt gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Arka subkapsüler kataraktlı olgularda ise folik asit seviyelerinde anlamlı bir azalmanın izlenmemesi nedeniyle, katarakt gelişiminde oksidatif strese bağlı DNA hasarından daha farklı bir mekanizmanın var olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Folik asit, vitamin B₁₂, katarakt.

ABSTRACT

Purpose: To compare serum vitamin B₁₂ and folic acid levels of patients with cortical cataract those of the patients with posterior subcapsular cataract.

Materials and Methods: Thirty five cases with cortical cataract and thirty one cases with posterior subcapsular cataract were enrolled in this study. Serum levels of vitamin B₁₂ and folic acid were measured.

Results: Mean serum folic acid values were 5.4±4.5 ng/ml in cases with cortical cataract and 10.3±4.9 ng/ml in cases with posterior subcapsular cataract. Difference between two groups was significant (p=0.001). Mean serum vitamin B₁₂ values were 249±109 pg/ml in cases with cortical cataract and 285±195 pg/ml in cases with posterior subcapsular cataract. The difference between two groups was not significant (p=0.352).

Conclusions: Folic acid has an important function in repair process of damaged DNA. Relatively low levels of folic acid values could aggravate DNA damage caused by oxidative stress and could enhance cortical cataract development. Folic acid values were not excessively low in cases with posterior subcapsular cataract. Therefore, development of posterior subcapsular cataract may be caused by another mechanism other than DNA damage caused by oxidative stress.

Key Words: Folic acid, vitamin B₁₂, cataract.

Glo-Kat 2006;1:107-110

Geliş Tarihi : 06/03/2006

Kabul Tarihi : 02/05/2006

Received : March 06, 2006

Accepted: May 02, 2006

- 1- S.B. Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Göz Kliniği, Ankara, Uzm. Dr.
- 2- S.B. Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Göz Kliniği, Ankara, Doç. Dr.
- 3- S.B. Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Göz Kliniği, Ankara, Asist. Dr.
- 4- S.B. Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Göz Kliniği Şefi, Ankara, Doç. Dr.

- 1- M.D. S. B. Atatürk Research and Training Hospital 1 st Eye Clinic Ankara / TURKEY
ÇAKMAK HB., hasanbasri cakmak@yahoo.com
- 2- M.D. Associate Professor, S. B. Atatürk Research and Training Hospital 1 st Eye Clinic Ankara / TURKEY
ALTINTAŞ A.G., aysegulkalkintas@hotmail.com
- 3- M.D. S. B. Atatürk Research and Training Hospital 1 st Eye Clinic Ankara / TURKEY
LEVENT GG.,
- 4- M.D. Associate Professor, S. B. Atatürk Research and Training Hospital 1 st Eye Clinic Ankara / TURKEY
ŞİMŞEK Ş., drsimsek@yahoo.com

Correspondence: M. D. Hasan Basri ÇAKMAK
S. B. Atatürk Research and Training Hospital 1 st Eye Clinic Ankara / TURKEY

GİRİŞ

Ameliyat ile katarakt tedavisi, son yıllarda teknolojik ilerlemelerle birlikte mükemmel sonuçlar verir bir şekle kavuşmasına rağmen, hastalığın medikal bir yöntemle tedavi edilmesine yönelik araştırmalar devam etmekte, pratik uygulamalarda kullanılabilecek kabul edilmiş bir tedavi modalitesi ise halen geliştirilememiş bulunmaktadır.

Medikal bir yöntemle tedavisinin yapılabilmesi için kataraktın oluşum patofizyolojisinin aydınlatılmasına yönelik incelemeler devam etmektedir. Daha önceki çalışmalar oksidatif stresin katarakt oluşumunda başlatıcı bir faktör olabileceğini göstermiştir.¹ Ultraviyole A ve ultraviyole B lens dokusunda reaktif oksijen moleküllerinin oluşmasına neden olmaktadır.² Antioksidasyon yapan katalaz, superoksit dismutaz ve glutation peroksidaz reaktif oksijen moleküllerini redükte etmektedirler. Fakat ultraviyole ışınları bu enzimleri inhibe ederek oksidatif hasarın artmasına neden olmaktadır.³ Oksidatif hasar ise özellikle lens membranını, hücresel proteinleri ve hücre DNA'sını hedef almaktadır.⁴ Ultraviyole ışığının veya daha genel anlamda radyasyonun DNA üzerindeki negatif etkisi bilinmektedir.⁵ Ultraviyole ışınları lens epitel hücrelerinde DNA hasarına neden olmaktadır.⁶ Oluşan DNA hasarları onarılamadığında artan hücresel hasar lens epitel hücrelerinde apoptozise neden olarak katarakt gelişimine katkıda bulunmaktadır.⁷⁻⁹ DNA hasarının onarımında folik asitin kritik bir rolü vardır ve bu nedenle folik asit eksikliği DNA hasarının onarımında yetersizliğe neden olabilir. Bu yetersizliğin katarakt oluşumuna bir katkısının olup olmadığı ise kesin olarak bilinmemektedir.

Değişik katarakt tiplerinin oluşumunda diyetin ve vitaminlerin rollerinin araştırıldığı çalışmalarda kortikal kataraktlı olgular ile arka subkapsüler kataraktlı olgular arasında farklar bildirilmiştir.¹⁰⁻¹² Yaptığımız araştırmada folik asit ve vitamin B₁₂ serum düzeylerinin değişik kataraktlı olgularda ne olduğu ve katarakt tipleri arasında bir fark olup olmadığına yönelik bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda serum folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyine etki edebilecek bir risk faktörü saptanmayan kortikal kataraktlı olgular (KK) ile arka subkapsüler kataraktlı (ASK) olgularda folik asit ve vitamin B₁₂ düzeyleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastane'si Göz Hastalıkları 1. Kliniği'nde 01.01.2005 ve 01.03.2005 tarihleri arasında katarakt teşhisi konulan yirmi yaş üstü hastalar dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan olgularda tıbbi anamnez sırasında yaş, meslek, sigara içme alışkanlığı, alkol kullanım alışkanlığı, kullanılan sistemik ilaçlar, hastanın sahip olduğu diğer sistemik hastalıklar ayrıntılı olarak sorgulanmıştır. Alkol kullanma alışkanlığı olan olgular, halen sigara kullanmakta olan olgular, sigara kullanımını bırakma tarihinden sonra bir

yıl geçmemiş olan olgular, malabsorpsiyon teşhisi veya şüphesi olan olgular, gebeler, diyabetik olgular, folik asit ve/veya vitamin B₁₂ düzeyleri üzerine etki edebilecek herhangi bir ilacı son altı ay içerisinde kullanmış olan olgular çalışmaya alınmamıştır.

Preoperatif ayrıntılı bir oftalmolojik muayene yapılarak hastaların görme muayeneleri, biyomikroskopik muayeneleri, applanasyon tonometresi kullanılarak göziçi basınç ölçümleri ve fundus muayeneleri yapılmıştır. Bu işlem sırasında özellikle kataraktın türü dikkatle muayene edilerek saf arka subkapsüler katarakt ve arka kortikal kesafetleri olan olgular çalışmaya alınmış; matür kataraktlar, nükleer kataraktlar ve mikst tip kataraktlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Ameliyat öncesinde biyokimyasal, serolojik ve hematolojik incelemeler için rutin olarak hastaların periferik venlerden kan örnekleri alınmaktadır. Alınan bu kan örneklerinden Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi biyokimya laboratuvarlarında serum folat ve vitamin B₁₂ düzeyleri çalışılmıştır. Vitamin B₁₂ serum düzeylerinin normal alt sınırı ilgili laboratuvarca 190 pg/ml ve folik asit serum düzeylerinin normal alt sınırı 3 ng/ml olarak kabul edilmiştir.

Hastaların bilgileri Microsoft Excell hesap tablosu şeklinde toplandıktan sonra veriler Minitab 14 istatistik programı kullanılarak analiz edilmiş ve gruplar arasındaki yaş, vitamin B₁₂ ve folik asit değerlerinin karşılaştırılmasında Student-t testi kullanılırken; gruplar arasında cinsiyet, folik asit eksikliği ve vitamin B₁₂ eksikliği yönünden karşılaştırma yapılırken "Fisher's Exact Test" kullanılmıştır.

BULGULAR

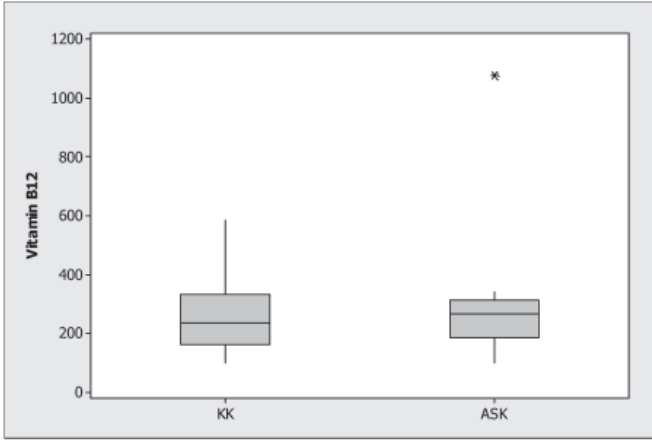
Çalışma kapsamına 31'i ASK ve 35'i KK olmak üzere toplam 66 olgu alındı. Olguların ortalama yaşı 66.2 ± 10.5 yıldır. ASK olgularının ortalama yaşı 59.8 ± 11.1 yıl iken, KK olgularının ortalama yaşı 69.1 ± 8.2 yıldır ve her iki grup arasında anlamlı fark vardı ($p=0.001$).

Folik asit değerleri ile yaş arasındaki korelasyon 0.014 iken vitamin B₁₂ değerleri ile yaş arasındaki korelasyon 0.022 olarak hesaplandı. Bu korelasyon değerleri folik asit ve vitamin B₁₂ değerlerinin yaş ile korelasyonun çok zayıf olduğu göstermektedir.

Olguların 34'ü bayan ve 32'si erkekti. ASK olgularının 17'si bayan ve 14'ü erkek iken, KK olgularının 17'si bayan ve 18'i erkekti. Her iki grup arasında cinsiyet yönünden anlamlı bir fark yoktu ($p=0.85$).

Vitamin B₁₂ düzeyleri KK olgularında (ortalama 249 ± 109 pg/ml) ASK olgularından (ortalama 285 ± 195 pg/ml) daha düşük olmasına rağmen her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.352$). Grafik 1'de her iki grupta vitamin B₁₂ düzeylerinin dağılımı gösterilmektedir.

Çalıştığımız laboratuvar tarafından vitamin B₁₂ eksikliği için 200 pg/ml düzeyi normal değerlerin alt sınırı olarak



Grafik 1: Kortikal Katarakt (KK) ve Arka Subkapsüler Katarakt (ASK) Olgularında Vitamin B₁₂ Düzeyleri (pg/ml). (* işaretli değerler normal dağılımın dışında kalan ölçümleri göstermektedir)

kabul edilmiştir. KK olgularının %17'sinde (6/35) ve ASK olgularının %9.6'sında (3/31) vitamin B₁₂ değerleri normal değerlerin altındaydı. Her iki grup arasında vitamin B₁₂ eksikliği açısından istatistiksel anlamlı bir fark yoktu (p=0.22).

Folik asit düzeyleri KK olgularında (ortalama 5.4±4.5 ng/ml) ASK olgularından (ortalama 10.3±4.9 ng/ml) daha düşüktü ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.352). Grafik 2'de her iki grupta folik asit düzeylerinin dağılımı gösterilmektedir.

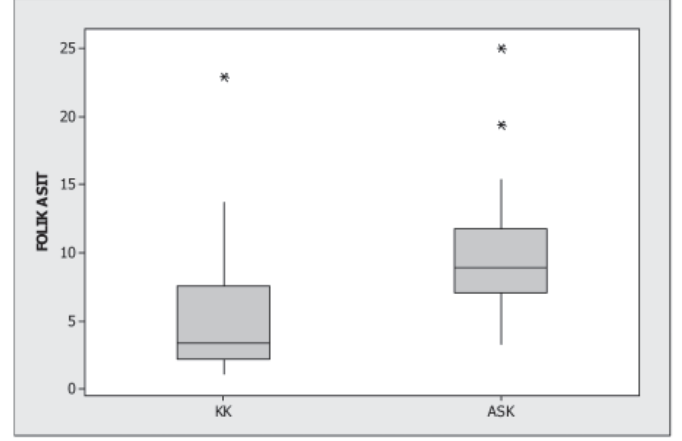
Folik asit eksikliği için 3 ng/ml düzeyi normal değerin alt sınırı olup KK olgularının %22'sinde (8/35) ve ASK olgularının %6.5'inde (2/29) folik asit değerleri normal değerlerin altındaydı. Her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.03).

TARTIŞMA

Son yıllarda özellikle genetik ve hücre biyolojisindeki hızlı gelişmelerin yardımıyla birlikte katarakt oluşumundaki biyokimyasal süreçler daha fazla aydınlatılmaya başlanmış bulunmaktadır. Ultraviyole ışığının veya daha genel anlamda radyasyonun hücreler üzerindeki etkileri özellikle kanser oluşumundaki etkileri nedeniyle ilk başta dikkatleri çekmiş olmasına rağmen yaşlanma sürecine olan etkileri de artık daha yaygın olarak çalışılmaktadır.⁵

Ultraviyole ışınlarının genel olarak hücre üzerindeki etkisi iki ana grup altında incelenebilir. İlk olarak hücre DNA'sı üzerine etkisi nedeniyle ultraviyole ışınları DNA hasarına neden olmaktadır. Belli oranda oluşan hasar DNA onarım prosesi ile onarabilmekteyse de bazen onarılamaz boyuttaki ani hasarların ortaya çıkması veya devamlı olarak DNA hasarına neden olan bir etkene maruz kalmanın kümülatif etkisi hücrenin korunma mekanizmalarının potansiyelinin aşılmasına ve dolayısıyla hücre fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilmektedir.

Ultraviyole ışınlarının ikinci bir etkisi ise hücrede oksidatif hasara ya direkt bir etki ile neden olmaları veya ok-



Grafik 2: Kortikal Katarakt (KK) ve Arka Subkapsüler Katarakt (ASK) Olgularında Folik Asit Düzeyleri (ng/ml). (* işaretli değerler normal dağılımın dışında kalan ölçümleri göstermektedir)

sidatif hasarı önleyici mekanizmaların etkinliklerini azaltarak indirekt olarak hücre fonksiyonlarını bozmaktır.⁷⁻¹⁰

Ultraviyole ışınları lens epitel hücreleri gibi doğumdan itibaren ultraviyole ışınlarına maruz kalan bir hücre grubunun ya fonksiyonlarını bozarak veya hücrelerin apoptoza gidişlerini artırarak katarakt gelişimine neden olabilmektedir. Kleiman ve arkadaşlarının kataraktlı olgularda insan lens epitel hücrelerinde DNA kırıklarının varlıklarını göstermişlerdir.¹³ Hayvan deneylerinde DNA hasarı ve bu hasarın onarımını bildiren Huang ve ark.¹⁴ çalışmaları ve yine hayvan deneyleri ile ultraviyole A ve B'nin lens epitel hücreleri üzerindeki etkilerini gösteren Rogers ve ark.'nın¹⁵ çalışmaları katarakt oluşumunda DNA hasarının önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.

Ultraviyole ışınlarına gözdeki dokulardan sadece lens hücreleri maruz kalmamaktadır. Konjunktiva, kornea, iris ve retinadaki hücreler de yoğun bir şekilde ultraviyole ışınlarına maruz kalmaktadır. Ultraviyole ışınlarının lens hücreleri üzerindeki etkileri ile katarakta neden olurken, retinada etkileri nedeniyle senil maküla dejenerasyonu oluşumunda da rol oynayabilecekleri bildirilmiştir.^{16,17}

Vitamin B₁₂ insan vücudunda iki aktif formda bulunmaktadır: metilkobalamin ve adenosilkobalamin. Siyanokobalamin dokularda aktif bir rol oynayabilmek için metilkobalamine dönüştürülmek zorundadır. Metilkobalamin homosisteinin metionine dönüştürülmesinde zorunlu bir faktördür. Vitamin B₁₂ eksikliğinde kan dolaşımındaki N-metiltetrahidrofolat metil transferi reaksiyonu ile diğer tetrafolatlara dönüştürülemez ve hücreler tarafından kullanılamamakta ve bunun sonucunda ise folik asit eksikliği oluşmaktadır.

Folik asit hidroksimetil ve formil gruplarının taşınmasında rol oynamaktadır. Folik asitin vücuttaki en önemli kullanımı DNA yapımında kullanılan purin ve timin sentezindeki temel fonksiyonudur. Bu nedenle folik asit hücresel genlerin replikasyonu için gereklidir. Bu sebepten dolayı folik asitin büyümeyi iletme etkisi vardır ve folik asitin diyetle yeterince bulunmadığı durumlarda büyüme

çok yavaş olmaktadır. Olgularımızın hiçbirisinde folik asit alımının azlığına bağlı olabileceği düşünülen gelişim geriliği bulgu ve anemnezi saptanmamıştır.

Folik asit eksikliğinde daire, boğaz ağrısı gibi gastroentestinal rahatsızlıklar ve megaloblastik anemi gelişmektedir. Folik asit eksikliği folik asit alım yetersizliklerinde (Alkolizm, narkotik ajanların kullanımı, çay tost dietleri, aşırı kola patates çipsi tüketimi), folik asit ihtiyacının arttığı durumlarda (kronik hemolitik anemiler, hızlı büyümenin olduğu çocukluk çağları, hamilelik), malabsorpsiyonda (tropikal sprue, gluten enteropatisi) ve ilaç kullanımlarında (azothiopurine, merkaptopurine, 5 flouourasil gibi DNA sentez inhibitörleri veya metatroksat, pyrimetamine gibi folat antagonistleri) görülebilmektedir. Hiçbir olgumuzda folik asit eksikliğine neden olabilecek bu tür bir risk faktörü saptamadık.

Folik asit DNA sentezinde ve DNA hasarlarının tamirinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Deoksiuridine monofosfatın timidine monofosfata çevrilmesi folik asite ihtiyaç duymaktadır. Folik asit eksikliğinde deoksiuridine monofosfat timidine monofosfata dönüştürülemedikçe ve deoksiuridine monofosfat deoksiuridine tirifosfat haline gelmekte ve timidin yerine DNA yapısına urasil yerleştirilmektedir. Normal DNA onarım mekanizmaları DNA içerisine yerleştirilen urasili uzaklaştırabilmektedir. Fakat folik asit eksikliğinin devam etmesi durumunda artan miktarda urasil DNA yapısına yerleşmekte ve sonuçta double strand kırıkları oluşmakta bu da kromosomal hasara neden olmaktadır. Artan DNA hasarı ise p53 aracılığı ile apoptosise neden olmaktadır.¹⁸

Ultraviyole ışınları lens epitel hücrelerinde DNA hasarına neden olmaktadır. Oluşan DNA hasarlarının tamir mekanizmaları da folik asite ihtiyaç duymaktadır.^{19,20} Folik asitin yetersizliğinin olduğu durumlarda başka faktörlerle de oluşturulan DNA hasarları da onarılamamakta ve hücre hasarı artarak katarakt gelişimine zemin hazırlamaktadır. Bu patofizyolojik mekanizmalar katarakt gelişimi üzerine diyetin etkilerini araştıran çalışmalarca da desteklenmektedir. Multivitaminlerin, B grubu vitaminlerin ve vitamin A'nın uzun dönemli kullanımlarının nükleer ve kortikal katarakt prevalansının azalttığı ve kortikal katarakt oluşumunda folik asit ve vitamin B₁₂ kullanımlarının koruyucu bir etkilerinin olduğu bildirilmektedir.¹⁰⁻¹²

Çalışmamızda KK'lı olgularda ortalama vitamin B₁₂ düzeyi ASK'lı olgulara oranla daha düşük olmasına rağmen her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bunun aksine folik düzeyleri KK'lı olgularda anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Her iki grup arasında vitamin B₁₂ düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmaması, KK ve ASK katarakt oluşumunda vitamin B₁₂ düzeylerinin anlamlı bir etkisinin olmadığı ve buna bağlı olarak folik asit düzeylerindeki her iki grup arasındaki farkın da yetersiz folik asit miktarından daha ziyade KK olgularında artmış folik asit kullanımına bağlı olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Ultraviyole ışınları nedeniyle DNA hasarının KK oluşumunda daha öncelikli ve önemli

bir etken olduğu, ASK gelişiminde ise DNA hasarından ziyade daha farklı etkenlerin rol oynadığı düşünülebilir.

Sonuç olarak folik asidin oksidatif stres sonucu oluşan DNA hasarının düzeltilmesinde önemli bir rolü olduğu, folik asit eksikliğine bağlı olarak bu işlevin yeterince fonksiyon görememesinin kortikal kesafet oluşmasında bir risk faktörü olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

İleri çalışmalarda farklı katarakt tiplerinde ön kama-ra sıvısındaki vitamin ve folik asit düzeylerinin incelenmesinin katarakt patofizyolojisinin açıklamasına ışık tutabileceğine inanmaktayız.

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Varma SD, Chand D, Sharma YR et al.: Oxidative stress on lens and cataract formation: Role of light and oxygen. *Curr Eye Res.* 1984;3:35-57.
2. Linetsky MK, James HL, Ortwerth BJ: Generation of superoxide anion by UVA irradiation of human lens. *Exp Eye Res.* 1996;6:67-74.
3. Ceykova J, Supek S, Crkovska J, et al.: Changes of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in corneal endothelium after UVB rays. *Histochemical and biochemical study. Histol Histopathol.* 2000;15:1043-1050.
4. Worgul BV, David J, Odrich S, et al.: Evidence of genotoxic damage in human cataractous lenses. *Mutagenesis.* 1991;6:495-499.
5. Izzotti A: DNA damage and alterations of gene expression in chronic degenerative diseases. *Acta Biochim Pol.* 2003;50:145-154.
6. Andley UP, Song Z, Mitchell DL: DNA repair and survival in human lens epithelial cells with extended life span. *Curr Eye Res.* 1999;18:224-230.
7. Michael R, Vrensen GF, van Marle J, et al.: Apoptosis in the rat lens after in vivo threshold dose ultraviolet irradiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:2681-2687.
8. Reddy VN, Giblin FJ, Lin LR, et al.: The effects of aqueous humor ascorbate on ultraviolet B induced DNA damage in lens epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:344-350.
9. Li WC, Kuszak JR, Dunn K, Wang RR et al.: Lens epithelial cell apoptosis appears to be a common cellular basis for non congenital cataract development in humans and animals. *J Cell Biol.* 1995;130:169-181.
10. Taylor A, Jacques PF, Chylack LT, et al.: Long-term intake of vitamins and carotenoids and odds of early age related cortical and posterior subcapsular lens opacities. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:540-549.
11. Mares-Perlman JA, Brady WE, Klein BEK, et al.: Diet and nuclear opacities. *American Journal of Epidemiology.* 1995;141:322-334.
12. Kuzniarz M, Mitchell P, Cumming RC, Flood VM: Use of vitamin supplements and cataract: The Blue Mountains Eye Study. *American Journal of Ophthalmology.* 2001;132:19-26.
13. Kleiman NJ, Spector A: DNA single strand breaks in human lens epithelial cells from patients with cataract. *Curr Eye Res.* 1993;12:423-431.
14. Huang LL, Hess JL, Bunce GE: DNA damage, repair, and replication in selenite induced cataract in rat lens. *Curr Eye Res.* 1990;9:1041-1050.
15. Rogers CS, Chan LM, Sims YS et al.: The effects of sub solar levels of UV-A and UV-B on rabbit corneal and lens epithelial cells. *Exp. Eye Res.* 2004;78:1007-1014.
16. Singh NP, Penn PE, Pendergrass WR, et al.: White light mediated DNA strand breaks in lens epithelial cells. *Exp Eye Res.* 2002;75:555-560.
17. Patton WP, Chakravarthy U, Davies RJ, et al.: Comet assay of UV induced DNA damage in retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:3268-3275.
18. Duthie SJ, Hawdon A: DNA instability (strand breakage, uracil misincorporation, and defective repair) is increased by folic acid depletion in human lymphocytes in vitro. *The FASEB Journal.* 1998;12:1491-1497.
19. Courtremanche C, Huang AC, Elson-Schwab I, et al.: Folate deficiency and ionizing radiation cause DNA breaks in primary human lymphocytes: a comparison. *The FASEB Journal.* 2004;18:209-211.
20. Tsuda S, Kosaka Y, Matsusaka N, Sasaki YF: Detection of pyrimethamine induced DNA damage in mouse embryo and maternal organs by modified alkaline single cell gel electrophoresis assay. *Mutation research.* 1998;415:69-77.