

Aus der
Klinik für Augenheilkunde
Direktor: Prof. Dr. med. Berthold Seitz, F.E.B.O
und dem
Forschungsbereich Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Juniorprofessorin Frau Dr. rer. med. Rima Obeid
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar, Deutschland

Homocystein und esRAGE bei Pseudoexfoliation und altersbedingter Makuladegeneration

*Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät*

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2012

vorgelegt von:
Kouris Ninios
geboren am 28. Juni 1981
in Cholargos, Attiki, Griechenland

meiner Familie

Inhaltsverzeichnis:

| | |
|--|----|
| 1 Zusammenfassung | 6 |
| 2 Abstract | 6 |
| 3 Einleitung | 8 |
| 3.1 Altersabhängige Makuladegeneration | 8 |
| 3.1.1 Definition | 8 |
| 3.1.2 Prävalenz | 8 |
| 3.1.3 Risikofaktoren | 9 |
| 3.1.4 Drusen | 9 |
| 3.1.5 Veränderungen des retinalen Pigmentepithels | 10 |
| 3.1.6 Choroidale Neovaskularisation | 13 |
| 3.1.7 Fluoreszenzangiographie | 15 |
| 3.1.8 Therapie der feuchten altersabhängigen Makuladegeneration | 16 |
| 3.2 Altersbedingte Katarakt | 18 |
| 3.2.1 Definition | 19 |
| 3.2.2 Assoziationen | 19 |
| 3.2.3 Prävalenz und Risikofaktoren | 20 |
| 3.2.4 Morphologie der altersbedingten Katarakt | 21 |
| 3.3 Pseudoexfoliation | 25 |
| 3.3.1 Definition | 25 |
| 3.3.2 Pathogenese | 25 |
| 3.3.3 Manifestation des Pseudoexfoliationsglaukoms | 26 |
| 3.3.4 Therapie des Pseudoexfoliationsglaukoms | 27 |
| 3.4 Assoziation zwischen Homocystein, esRAGE und Augenerkrankungen | 27 |
| 3.5 Fragestellung | 28 |
| 4 Patienten, Material und Methodik | 29 |
| 4.1 Patienten, Material / Proben | 29 |
| 4.1.1 Probandenrekrutierung, Probengewinnung, Datenerhebung | 29 |
| 4.1.2 Ein- / Ausschlusskriterien für Patienten | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2 Methodik | 30 |
| 4.2.1 Klinische Methodik | 30 |
| 4.2.2 Laborchemische Methodik | 31 |
| 4.2.3 Statistik | 31 |
| 5 Ergebnisse | 32 |
| 5.1 Homocystein-Stoffwechsel, esRAGE und Allgemeinerkrankungen bei Pseudoexfoliation und altersabhängiger Makuladegeneration | 32 |
| 5.2 Die Rolle der arteriellen Hypertonie | 35 |
| 5.3 Die Rolle des esRAGE | 37 |
| 6 Diskussion | 40 |
| 6.1 Homocystein | 40 |
| 6.1.1 Definition | 40 |
| 6.1.2 Metabolismus des Homocysteins | 41 |
| 6.1.3 Referenzwerte der Homocystein-Konzentration im Blut | 45 |
| 6.1.4 Genetisch bedingte Hyperhomocysteinämie | 45 |
| 6.1.5 Hyperhomocysteinämie aufgrund von Vitaminmangel | 46 |
| 6.1.6 Erkrankungen assoziiert mit Hyperhomocysteinämie | 46 |
| 6.1.7 Beeinflussung des Homocysteinmetabolismus durch Medikamente und Lifestyle | 46 |
| 6.1.8 Hyperhomocysteinämie als unabhängiger Risikofaktor | 48 |
| 6.1.9 S-Adenosylmethionin | 48 |
| 6.1.10 S-Adenosylhomocysteine | 49 |
| 6.2 Fолат | 49 |
| 6.2.1 Fолатquellen in der Nahrung | 51 |
| 6.2.2 Biochemie des Fолата | 52 |
| 6.2.3 Fолат und Neuralrohrdefekte | 53 |
| 6.3 Vitamin B12 | 54 |
| 6.3.1 Struktur des Vitamins B12 | 55 |
| 6.3.2 Vitamin B12-Quellen in der Nahrung | 55 |
| 6.3.3 Intestinale Absorption und Bioverfügbarkeit des Vitamins B12 | 56 |
| 6.3.4 Plasmareferenzbereich, tägliche Aufnahme und Speicherung | 56 |

| | |
|--|----|
| 6.3.5 Biochemie des Vitamins B12 | 57 |
| 6.4 Vitamin B6 | 59 |
| 6.4.1 Struktur des Vitamins B6 | 59 |
| 6.4.2 Vitamin B6-Quellen in der Nahrung | 60 |
| 6.4.3 Absorption und Bioverfügbarkeit des Vitamins B6 | 60 |
| 6.4.4 Plasmareferenzbereich, tägliche Aufnahme und Speicherung | 60 |
| 6.4.5 Biochemie des Vitamins B6 | 61 |
| 6.5 RAGE/esRAGE | 61 |
| 6.6 Assoziation zwischen Homocysteinmetabolismus, altersbedingter Makuladegeneration und Pseudoexfoliation | 62 |
| 6.7 esRAGE, Homocystein und Augenerkrankungen | 63 |
| 6.8 Limitationen | 64 |
| 6.9 Schlussfolgerung | 65 |
| 7 Literaturverzeichnis | 66 |
| 8 Abkürzungsverzeichnis | 88 |
| 9 Publikation | 90 |
| 10 Dank | 91 |
| 11 Lebenslauf | 92 |

1 Zusammenfassung

Ziel: Wir untersuchten die Assoziation des Homocystein (Hcy)-Metabolismus im Blut und des „*extracellular soluble receptor for advanced glycated end products*“ (esRAGE) im Kammerwasser bei Patienten mit Pseudoexfoliation (PEX) und altersbedingter Makuladegeneration (AMD).

Patienten und Methoden: Kontrollen waren 48 Patienten mit Katarakt (mittleres Alter $69 \pm 8,7$ Jahre). Wir untersuchten 22 Patienten mit PEX (mittleres Alter $74 \pm 8,4$ Jahre), 38 mit trockener (mittleres Alter $74 \pm 7,9$ Jahre) und 31 mit feuchter AMD (mittleres Alter $77 \pm 6,7$ Jahre). Hcy, seine Stoffwechselprodukte und Vitamin B-Marker wurden im Blut von allen Patienten gemessen. esRAGE wurde im Kammerwasser von 89 Patienten bestimmt. Die Anamnese einer arteriellen Hypertonie, einer koronaren Erkrankung, eines Diabetes mellitus oder eines Schlaganfalls wurde bei allen Patienten erhoben.

Ergebnisse: Hcy im Serum und esRAGE im Kammerwasser unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant. Arterielle Hypertonie war mit einer erhöhten Hcy-Konzentration im Blut assoziiert. Bei den Kontrollen zeigte sich eine negative Korrelation zwischen Hcy im Serum und esRAGE im Kammerwasser ($r = -0,483$; $p = 0,006$).

Schlussfolgerung: Eine signifikante Assoziation von Hcy und esRAGE mit PEX und AMD konnte in unserer Studie nicht nachgewiesen werden. Weitere Studien sind notwendig, um die Rolle der B-Vitamine bei altersbedingten Augenerkrankungen herauszukristallisieren.

2 Abstract

Purpose: We investigated the association of homocysteine (Hcy) metabolism in blood and extracellular soluble receptor for advanced glycated end products (esRAGE) in aqueous humor in patients with pseudoexfoliation (PEX) and age-related macular degeneration (AMD).

Patients and Methods: Controls were 48 patients with cataract (mean age 69 ± 8.7 years). We examined 22 patients with PEX (mean age 74 ± 8.4 years), 38 with dry (mean age 74 ± 7.9 years) and 31 with wet AMD (mean age 77 ± 6.7 years). Hcy, its metabolic products and vitamin B markers were measured in blood of all patients. esRAGE was measured in aqueous humor of 89 patients. History of arterial hypertension, coronary heart disease, diabetes mellitus or stroke was taken in all patients.

Results: Hcy in plasma and esRAGE in aqueous humor did not differ significantly between the groups. Arterial hypertension was related with higher Hcy levels in plasma. Controls showed a significant negative correlation between plasma Hcy and aqueous humor esRAGE ($r = -0.483$, $p = 0.006$).

Conclusions: In this study, no significant association between Hcy, esRAGE and PEX or AMD was found. Futher studies are needed to investigate the role of B vitamins in age-related ocular diseases.

3 EINLEITUNG

3.1 Altersabhängige Makuladegeneration (AMD)

3.1.1 Definition

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist eine stark visusbeeinträchtigende Erkrankung, die aus pathophysiologischer Sicht von der altersphysiologischen (und nicht visusbedrohenden) Involution der Makulastrukturen unterschieden werden sollte (Naumann 1997). Die AMD wurde schon vor über 100 Jahren beschrieben (Haab 1885). Die zwei Hauptformen der AMD sind die trockene und die feuchte AMD. Die trockene AMD ist durch Drusen und Veränderungen des retinalen Pigmentepithels (RPE) charakterisiert, die im Endstadium zu Narben und zu einer geographischen Atrophie führen. Die feuchte AMD ist zusätzlich durch retinales Ödem, Blutungen und Exsudate, als Folge einer choroidalen Neovaskularisation (CNV) charakterisiert (Kanski 2007, Klein et al. 1991).

3.1.2 Prävalenz

Erst 1980 wurde AMD in den USA als eine signifikante Erblindungsursache erkannt (Leibowitz et al. 1980). Seit 2004 wird AMD als die häufigste Ursache für einen irreversiblen Sehverlust bei Personen über 50 Jahre in den Industriestaaten betrachtet (Bressler 2004). Dies wird bei 90% der Patienten durch die feuchte AMD verursacht (AREDS 2001).

Die Prävalenz der AMD nimmt mit dem Alter zu. Epidemiologische Untersuchungen beziffern die Prävalenz der Frühstadien der AMD auf ca. 2-16% in der Altersgruppe zwischen 54 und 64 Jahre, und auf bis zu 40% bei über 85-Jährigen (Bressler 1989, Klein et al. 1992, Mitchell 1993, Vingerling et al. 1995).

Die Spätstadien der AMD kommen heute selten vor. Nur ein geringer Anteil der betroffenen Augen mit einer AMD im Frühstadium schreitet im Spätstadium mir irreversibler Visusminderung fort. Die Visusminderung im Spätstadium wird am häufigsten durch die neovaskulären Formen der AMD verursacht (Sunness et al. 1999).

3.1.3 Risikofaktoren

Die bisher bestätigten Risikofaktoren für eine AMD sind: Alter (Hauptrisikofaktor), weiche Drusen, Rasse (Kaukasier sind am häufigsten betroffen), Familienanamnese und Katarakt (besonders die Kerntrübung). Eine Kataraktextraktion kann bei einigen Patienten mit vorher bestehenden Hochrisikomerkmalen wie konfluierenden weichen Drusen zu einer Progression der Makulaerkrankung führen. Es ist aber schwierig, eine direkte Verbindung zwischen der Operation und dem Fortschreiten der AMD zu beweisen. Bei vielen Patienten mit Katarakten, die so fortgeschritten sind, dass sie operiert werden müssen, besteht häufig gleichzeitig eine fortgeschrittene Makulaerkrankung (Tomany et al. 2004). Außerdem erwiesen sich Risikofaktoren für eine kardiovaskuläre Erkrankung auch als Risikofaktoren für eine AMD. Solche Risikofaktoren sind Rauchen, Fettleibigkeit, arterielle Hypertonie, oxidativer Stress und diätetische Fetteinnahme. Andere Risikofaktoren sind Polymorphismen des Komplement-Faktors H und Sonnenexposition. Die Signifikanz einer erhöhten Plasmakonzentration von C-reaktivem-Protein (CRP), Fibrinogen und Homocystein (Hcy) wird kontrovers diskutiert (Chakravarthy et al. 2010, Teper et al. 2010).

3.1.4 Drusen

Einzelne kleine und harte Drusen sind in nahezu allen Augen von über 45-Jährigen nachweisbar und werden als eine lediglich umschriebene Dysfunktion des RPEs angesehen. Sie sollten daher nicht mit einer AMD gleichgesetzt werden. Andererseits spricht das Auftreten von vielen harten Drusen, von weichen oder konfluierenden Drusen (Abb. 1) sowie von damit assoziierten Veränderungen des RPEs für eine AMD (Bressler 1989). Die Drusen bestehen aus Ablagerungen von Lipofuszin zwischen der Basalmembran des RPEs und der inneren kollagenen Schicht der Bruch-Membran. Eine Verdickung des inneren Anteils der Bruch-Membran wird durch die exzessive Produktion von basalmembran-ähnlichem Material durch das RPE verstärkt (Naumann 1997). Atherosklerose der Choriokapillaris kann eine Rolle bei diesen Veränderungen spielen (Friedmann 2000). Funduskopisch erscheinen die Drusen als gelbliche Ablagerungen unter dem RPE und sind typischerweise symmetrisch an beiden hinteren Polen verteilt. Sie können in der Anzahl, Größe, Form, im Grad der Prominenz und im Ausmaß der assoziierten RPE-Veränderungen variieren. Bei einigen Patienten sind die Drusen auf die Fovea begrenzt, während sie bei anderen die Fovea umgeben und diese selbst aussparen. Die Drusen werden klassifiziert in kleine harte Drusen

($< 63 \mu\text{m}$), die rund, diskret und meistens harmlos sind, und in große weiche Drusen ($\geq 63 \mu\text{m}$), die unscharfe Ränder haben. Selten sind die Drusen vor dem 45. Lebensjahr klinisch sichtbar. Sie sind im Alter von 45-60 Jahren nicht selten und danach fast immer zu finden. Mit fortschreitendem Alter nehmen sie an Größe und Zahl zu. Nach dem 70. Lebensjahr kommen große oder weiche Drusen mit einer Prävalenz von 26% und konfluierende Drusen mit einer Prävalenz von 17% vor (Bressler et al. 1989).

Abb. 1: Konfluierende weiche Drusen bei trockener AMD



3.1.5 Veränderungen des retinalen Pigmentepithels (RPE)

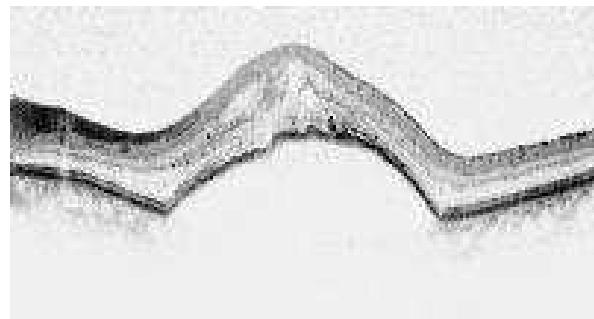
Die AMD ist durch Atrophie, Abhebung oder Risse des RPEs charakterisiert. Die RPE-Atrophie (Abb. 2) kann mit einer Atrophie der Photorezeptoren und der Choriokapillaris kombiniert sein. Gelegentlich kann dieser Atrophie die Rückbildung einer Abhebung des RPE folgen. Eine Therapie ist nicht möglich, aber vergrößernde Sehhilfen können vielen Patienten mit schwerem Sehverlust helfen (Kanski 2007).

Abb. 2: Fortgeschrittene Atrophie des retinalen Pigmentepithels



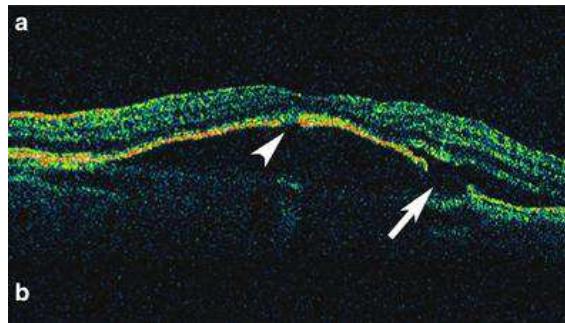
Eine RPE-Abhebung (Abb. 3) wird wahrscheinlich durch die Reduktion der hydraulischen Leitfähigkeit der verdickten Bruch-Membran verursacht, welche die Bewegung der Flüssigkeit vom RPE in die Choroidea verhindert. Sollte dies mit einer CNV kombiniert sein, klassifiziert man diese Veränderung als feuchte AMD. Dieser RPE-Abhebung können eine spontane Rückbildung, eine bleibende Veränderung oder eine geographische Atrophie, sowie eine Abhebung der sensorischen Retina und ein RPE-Riss folgen (Kanski 2007).

Abb. 3: Abhebung des retinalen Pigmentepithels in der optischen Kohärenztomographie (OCT)



Ein Riss des RPE (Abb. 4) kann an der Verbindung von anliegendem und abgehobenem RPE entstehen, wenn der tangentiale Zug so stark wird, dass das abgehobene Gewebe einreißt. Risse können spontan beobachtet werden oder sich nach einer Laserphotokoagulation einer CNV in Augen mit einer RPE-Abhebung entwickeln. Die Prognose eines subfovealen Risses ist schlecht. RPE-Abhebungen, die Risse zeigen, haben eine besonders schlechte Prognose und führen oft zu einem signifikanten Sehverlust. Nur wenige Augen behalten trotz eines RPE-Risses eine gute Sehschärfe, wenn die Fovea nicht beteiligt ist (Kanski 2007).

Abb. 4: Abhebung des retinalen Pigmentepithels (Pfeilkopf) und Riss (Pfeil) in der optischen Kohärenztomographie (OCT) (Smith 2009)



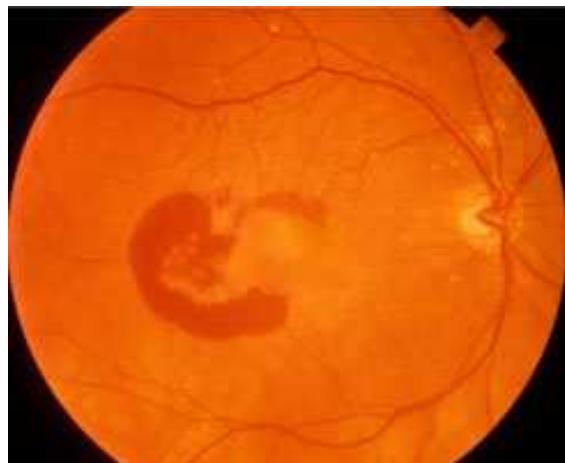
3.1.6 Choroidale Neovaskularisation (CNV)

Die zwei Hauptformen der Neovaskularisation bei der feuchten AMD sind die CNV und die retinale angiomatöse Proliferation (RAP). Sobald CNVs auftreten, finden sich histologisch oft Makrophagen, Riesenzellen, Fibroblasten und Lymphozyten, alles Bestandteile des klassischen Granulationsgewebes, im Bereich der Bruch-Membran und entlang ihrer choroidalen Oberfläche (Naumann 1997). Die hämodynamische Funktion der Choriokapillaris bei AMD wurde durch Doppler-Untersuchungen geprüft (Ciulla et al. 2002, Friedmann et al. 1995, Grunwald et al. 1998). Die artherosklerotische Ischämie der Choriokapillaris erhöht die lokale Konzentration von VEGF (*vascular endothelial growth factor*), so dass die CNV durch die kalzifizierte, durchgebrochene Bruch-Membran wächst. Dies wird auf ein Ungleichgewicht zwischen VEGF, der das Gefäßwachstum stimuliert, und PEDF (*pigment epithelium derived factor*), der das Wachstum supprimiert, zurückgeführt (Grossniklaus et al. 1998, Lafaut 2000, Naumann 1997).

Es gibt drei Basiswachstumsmuster der CNV: sub-RPE oder okkult (Typ 1), subretinal oder klassisch (Typ 2) und die Kombination von beiden. Der Sehverlust bei einer CNV wird zuerst durch den Austritt von Blut und Serum unter die Retina (subretinale Flüssigkeit), in die Retina (Makulaödem) und unter das RPE (Pigmentepithelabhebung) verursacht. Die Prognose einer

unbehandelten CNV ist häufig ungünstig. Die Ruptur eines Blutgefäßes innerhalb der CNV führt zunächst zu einer hämorrhagischen Pigmentepithelabhebung (Abb. 5). Sollte das Blut das RPE durchbrechen, verteilt sich das Blut durch die Retina im Glaskörperraum und es kommt zu einer Glaskörperblutung. Bei persistierenden retinalen Hämorrhagien wird das Blut organisiert, es wachsen neue Gefäße aus der Choroidea ein und es bildet sich eine fibrös disziforme Narbe in der Fovea, die zu einem permanenten Verlust des zentralen Sehens führt. Außerdem kann sich eine massive Exsudation in einigen Augen mit einer disziformen Narbe als Folge einer chronischen Leckage aus einer CNV entwickeln (Grossniklaus et al. 1998, Lafaut 2000, Naumann 1997).

Abb. 5: Hämorrhagische Pigmentepithelabhebung durch choroidale Neovaskularisation



Etwa 15% aller neovaskulären AMD-Veränderungen lassen sich als RAP klassifizieren. In diesem Fall hat die Neovaskularisation ihren Ursprung in den retinalen Gefäßen und nicht in der Choriokapillaris. Wie die CNV ist RAP mit Ödemen sowie subretinalen und intraretinalen Blutungen vergesellschaftet. Die Prognose bei RAP ist im Vergleich zur CNV schlechter (Yannuzzi et al. 2001, Kanski 2007).

3.1.7 Fluoreszenzangiographie

Entscheidend für die Diagnose und die Klassifikation der AMD ist die Fluoreszenzangiographie (FLA). Bei der trockenen AMD findet keine Farbstofffleckage statt. Die Drusen und die Veränderungen des RPEs können im Verlauf des Angiogramms eine Hyperfluoreszenz (Abb. 6) zeigen. Die Größe der Befunde bleibt jedoch im Zeitverlauf stabil. Bei der feuchten AMD findet eine Farbstofffleckage durch die anomalen choroidalen Gefäße statt (Abb. 7). Sie ist durch ein frühes spitzenartiges Füllungsmuster der Hyperfluoreszenz charakterisiert, das an Größe und Intensität im Zeitverlauf zunimmt (Dithmar und Holz 2008).

Abb. 6: Fluoreszenzangiographie bei der trockenen altersbedingten Makuladegeneration

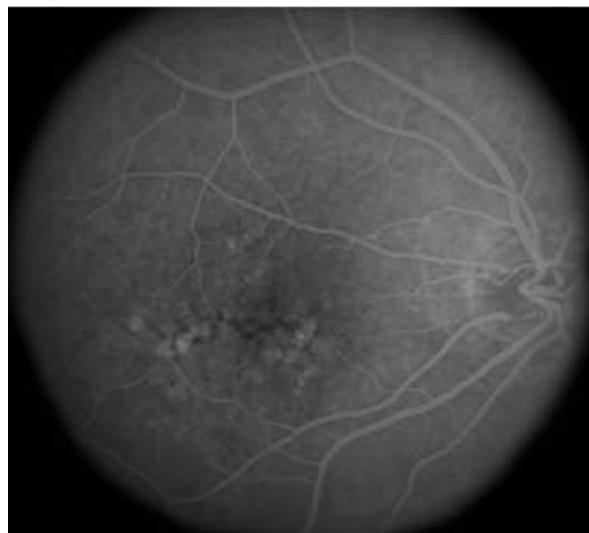


Abb. 7: Fluoreszenzangiographie bei choroidaler Neovaskularisation im Rahmen einer feuchten altersbedingten Makuladegeneration



3.1.8 Therapie der feuchten altersabhängigen Makuladegeneration (AMD)

Obwohl die AMD schon 1885 von Haab beschrieben wurde, wurden therapeutische Maßnahmen erst seit 1970 in der Literatur vorgestellt. Bisher existieren zahlreiche Therapieoptionen bei Neovaskularisationen, die die Prognose verbessern können. Allerdings kann die Therapie einen schweren Sehverlust durch Narbenbildung oft nicht verhindern. Die erste Therapie bei AMD war die gezielte Laserkoagulation. Die ersten Studien zeigten, dass die gezielte Argon-Laserkoagulation die Rezidive einer feuchten AMD reduzieren kann (*The Moorfields Macular Study Group 1982*). Diese Therapie wird heute allerdings nicht mehr verwendet, da sie viele Nachteile mit sich bringt. Die Laserherde schädigen das RPE sowie die Netzhaut, was zum irreversiblen Sehverlust führen kann, insbesondere dann, wenn die Lasertherapie in der Fovea angewendet wurde (Freund et al. 1993).

Die photodynamische Therapie (PDT) mit Verteporfin wurde 1999 vorgestellt. Dann erfuhr sie in den USA und Europa eine rasche Verbreitung (TAP-Studie 1999). Der Photosensibilisator Verteporfin wird vorwiegend vom neovaskulären Gewebe aufgenommen. Verteporfin wird intravenös injiziert und anschließend mit einem Diodenlaser aktiviert,

dessen Licht mit der Wellenlänge des Absorptionsmaximums des Photosensibilisators (689 nm) korrespondiert. Der Hauptvorteil der PDT besteht in der Möglichkeit, pathologisches Gewebe weitgehend selektiv zu schädigen. Dies ist einerseits durch die bevorzugte Lokalisation des Photosensibilisators in der Neovaskularisation und andererseits durch eine gezielte Laserbehandlung des Zielgewebes bedingt. Die Neovaskularisation wird bei PDT mit einem Energieniveau behandelt, das weit unter demjenigen liegt, das für eine thermale Destruktion mit dem Argonlaser erforderlich ist. PDT wird bei CNV und RAP durchgeführt. Allerdings zeigt PDT bei der nicht-klassischen oder minimalklassischen CNV eine geringere Effektivität, sodass sie heute fast nur noch bei der überwiegend klassischen CNV benutzt wird (Azab et al. 2005).

Die Neovaskularisation bei der feuchten AMD wurde mit Inflammation und Produktion von VEGF in Verbindung gebracht. Um ein Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern, wurden verschiedene Anti-VEGF-Medikamente entwickelt. Das erste Anti-VEGF-Medikament war Pegaptanib und wurde in der VISION-Studie untersucht (Gragoudas et al. 2004). Patienten, die mit diesem Medikament behandelt wurden, zeigten viel bessere Visusergebnisse im Vergleich zur Kontrollgruppe. Nach kurzer Zeit wurden noch zwei wirksamere Anti-VEGF-Medikamente untersucht: Bevacizumab und Ranibizumab. Beide Medikamente zeigen eine vergleichbare Effektivität. Bevacizumab ist für die Chemotherapie der metastasierenden kolorektalen Karzinome zugelassen, für die Anwendung im Auge aber nicht.

Trotz der großen Fortschritte in der Therapie der feuchten AMD zeigt keine Behandlung einen sicheren, rezidivfreien Effekt. Mehrere therapeutische Möglichkeiten werden in verschiedenen Formen kombiniert, um einen besseren Effekt zu erreichen. Bisher hat sich keine Kombination als Goldstandard erwiesen. Eine Therapie, die gute Ergebnisse in einer “*Single-center*”-Studie zeigte, war die Kombination von Bevacizumab, PDT und Dexamethason (Augustin 2007).

Eine invasivere Option für die Therapie der feuchten AMD ist die Makulachirurgie. Eine subfoveale Blutung kann durch eine Gasinjektion in den Glaskörperraum und Bauchlagerung des Patienten verlagert werden. Dieses Verfahren kann mit Injektion eines fibrinolytischen Wirkstoffes (*tissue plasminogen activator*: tPA) kombiniert werden. Es ist allerdings fraglich, ob das tPA-Molekül klein genug ist, um die Blut-Retina-Schranke zu passieren und die subfoveale Blutung zu erreichen. Bei der submakulären Chirurgie wird die CNV durch eine

kleine exzentrische Retinotomie mechanisch entfernt. Die Visusprognose ist bei diesem Verfahren durch einen unvermeidbaren Verlust von RPE, das die CNV umschließt, eingeschränkt. Eine andere chirurgische Technik, die Makulatranslokation, hat das Ziel, die Fovea von der CNV wegzuverlagern. Die Indikationen sind noch immer in der Entwicklung, das Verfahren ist sehr komplex und es besteht ein hohes Risiko für proliferative Vitreoretinopathie und Netzhautablösung. Mit der Entwicklung der Anti-VEGF-Medikamente ließ der Enthusiasmus für diese Technik extrem nach (Scheider et al 1999, Kanski 2007).

3.2 Altersbedingte Katarakt

3.2.1 Definition

Die Augenlinse ist eine bikonvexe, avaskuläre, transparente Struktur, die von einer Kapsel umschlossen wird. Die Linsenkapsel ist bei der Akkommodation für die Verformung der Linsensubstanz verantwortlich und in der Äquatorzone am dicksten und am hinteren Linsenpol am dünnsten. Die Linse spannt vom Ziliarkörper aus einen Ring von Zonulafasern, die in der Äquatorregion inserieren. Ein einschichtiges Epithel begrenzt nur die anteriore und die äquatoriale Linsenkapsel. Zellen in der Äquatorregion können sich teilen. Die neu gebildeten Epithelzellen strecken sich und bilden Fasern, die ihre Organellen verlieren und so die Linsentransparenz optimieren (Varma 1991, Tasman et al. 1990). Die Linsensubstanz kann als Kern, der das zentrale Herz darstellt, und umgebender Rinde betrachtet werden. Neue Linsenfasern werden während des ganzen Lebens kontinuierlich subkapsulär abgelagert. Dies führt dazu, dass ältere Fasern in immer tiefere Bereiche innerhalb der Linsensubstanz eindringen (Lovicu et al. 2004). Die Linse wächst während des ganzen Lebens in ihren anteroposterioren und in ihren äquatorialen Dimensionen (Augusteyn 2007). Die normale Linse ist transparent. Die Hauptproteine der Linse sind klein und hoch konzentriert. Somit bleibt das Zytoplasma homogen und transparent (Delaye et al. 1983). Eine Vergrößerung der Proteine oder eine Lockerung ihrer Verbindungen durch Hydratation verursacht Linsentrübungen (Bendek 1971, Philipson 1973). Jede Trübung in der Linsenkapsel oder -substanz wird, unabhängig von ihren Auswirkungen auf das Sehen, als Katarakt bezeichnet (Naumann 1997).

3.2.2 Assoziationen

Am häufigsten tritt die Katarakt altersbedingt auf. Altersbedingt ist jede Katarakt, die nach dem 60. Lebensjahr ohne andere bestätigte Ursache in Erscheinung tritt. Eine Katarakt kann vor dem 60. Lebensjahr (präsenile Katarakt) bei systemischen Erkrankungen vorkommen (Naumann 1997). Die häufigsten systemischen Erkrankungen, die mit einer Katarakt assoziiert sind, sind der Diabetes mellitus (Klein et al. 1995), die myotonische Dystrophie (Louprasad AC et al. 2010), die atopische Dermatitis (Bair et al. 2011) und die Neurofibromatose Typ 2 (Sachdeva et al. 2010).

Eine sekundäre Katarakt (*Cataracta complicata*) entwickelt sich als Folge anderer okulärer Erkrankungen. Die chronische Uveitis anterior kann anteriore und posteriore subkapsuläre Katarakte verursachen (Grajewski et al. 2011). Das akute Winkelblockglaukom kann zu kleinen, anterioren, subkapsulären und kapsulären Trübungen im Pupillengebiet führen (Glaukomflecken). Die hohe Myopie ist mit einer posterioren subkapsulären Katarakt und dem frühen Beginn einer Kernkatarakt assoziiert. Hereditäre Fundusdystrophien wie die Retinitis pigmentosa, die kongenitale Leber-Amaurose, die Atrophia gyrata und das Stickler-Syndrom können mit einer posterioren subkapsulären Katarakt assoziiert sein. Ein Trauma stellt die häufigste Ursache für eine unilaterale Katarakt bei jungen Menschen dar. Folgendes kann verantwortlich dafür sein: Eine direkte perforierende Verletzung der Linse mit Ruptur der Linsenkapsel führen zu einer rapiden Hydratation der Linse und einer maturen *Cataracta posttraumatica*. Eine Prellung kann einen Abdruck des Irispigments auf der vorderen Linsenkapsel (Vossius-Ring) oder eine blumenartige Rindentrübung (Kontusionsrosette) erzeugen. Elektrischer Schock und Blitzschlag produzieren ringförmige Vakuolen in der mittleren Peripherie der Linse. Dann bilden sich staubartige Trübungen im Linsenepithel, grauweiße Streaks und später eine anteriore subkapsuläre Katarakt (Frauenfelder et al. 1972, Long 1963, Hanna et al. 1972). Die Strahlentherapie okulärer Tumoren kann auch zu einer Katarakt führen. Infrarotstrahlung, wenn sie intensiv ist, verursacht eine posteriore subkapsuläre Katarakt. Sie kann aber auch selten eine echte Exfoliation oder lamelläre Delamination der vorderen Linsenkapsel, bei welcher der oberflächliche Anteil der verdickten Kapsel von der tieferen Schicht abgesplittet wird und in die Vorderkammer ragt, verursachen. Im Gegensatz hierzu wird bei der Pseudoexfoliation (PEX) fibrilläres Material

auf der anterioren Linsenoberfläche und anderen okulären Strukturen abgelagert (Naumann 1997).

Eine sekundäre Katarakt kann auch durch Medikamente induziert werden. Lokale und systemische Steroide sind initial mit posterioren und später auch mit anterioren subkapsulären Linsentrübungen assoziiert (West et al. 1995, Livingston et al. 1995, Harding 1991).

Amiodaron führt bei ungefähr 50% der Patienten, die hohe Dosen erhalten, zu anterioren subkapsulären Linsenablagerungen. Gold, das zur Behandlung der rheumatoïden Arthritis verwendet wird, verursacht bei ungefähr 50% der Patienten, die länger als 3 Jahre behandelt werden, harmlose anteriore Kapselablagerungen. Allopurinol erhöht bei älteren Patienten das Risiko der Kataraktbildung (Kansi 2007).

Die Katarakt kann außerdem kongenital (*Cataracta congenita*) auftreten. Dies wird bei ungefähr 3 von 10.000 Lebendgeburten beobachtet. Bei zwei Dritteln der Patienten ist der Befund bilateral. Die isolierten hereditären Katarakte werden am häufigsten autosomal dominant vererbt, können aber auch autosomal rezessiv oder X-chromosomal sein. Andere Ursachen der kongenitalen Katarakte sind Chromosomenanomalien, wie das Down-Syndrom (Trisomie 21), das Patau-Syndrom (Trisomie 13) und das Edward-Syndrom (Trisomie 18) sowie Skelettsyndrome, wie das Hallermann-Streiff-Francois-Syndrom und das Nance-Horan-Syndrom. Metabolische Ursachen für kongenitale Katarakte sind die Galaktosämie, der Galaktokinase-Mangel, das Lowe-(okulozerebrorenale) Syndrom, der Hypoparathyroidismus, der Pseudohypoparathyroidismus und die Mannosidose. Intrauterine Infektionen durch Toxoplasma gondii, Rubella-Virus, CMV, HSV und VZV können auch kongenitale Katarakte verursachen (Kanski 2007). In dieser Arbeit soll nur die altersbedingte Katarakt weiterdiskutiert werden.

3.2.3 Prävalenz und Risikofaktoren

Laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sind 1990 durch Katarakt ungefähr 16 Millionen Menschen erblindet. Dies sind 41,8% der Erblindungsfälle in diesem Jahr. Aktuell sind ca. 25 Millionen Menschen infolge einer Katarakt blind (Johnson et al. 2012). Im Jahr 2020 werden aufgrund einer Katarakt ca. 54 Millionen Menschen erblindet (Thylefors et al. 1995). Momentan leiden ca. 25% der Bevölkerung über dem 65. Lebensjahr und 50% über

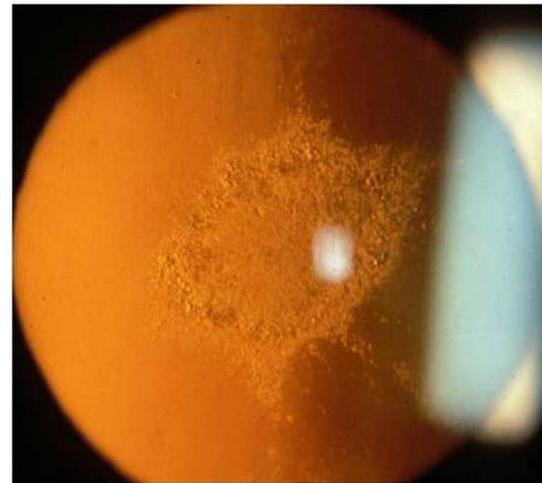
dem 80. Lebensjahr unter einer Katarakt mit deutlicher Visusminderung (Minassian et al. 2000).

Wenn es gelänge, die Kataraktmanifestation um 10 Jahre nach hinten zu verschieben, könnte die jährliche Zahl der Kataraktoperationen um etwa 45% reduziert werden (West et al. 1995, Livingston et al. 1995). Die Entwicklung der Katarakt ist mit der Expositionszeit im Sonnenlicht und ultravioletter B-Strahlung (UVB) assoziiert (Dolin 1994). Schwere Diarrhoe verursacht eine Azidose und eine höhere Ureakonzentration im Plasma. Das kann auch mit einer Katarakt assoziiert sein. Es wurde berichtet, dass sich ca. 38% der Katarakte in Indien aufgrund der lebenslang schweren Diarrhoe-Episoden manifestieren (West et al. 1995, Livingston et al. 1995, Harding 1991). Auch oxidativer Stress ist mit der Progression der Katarakte assoziiert. Die antioxidativen Vitamine A, C und E können die Linse vor oxidativem Stress schützen (West et al. 1995, Livingston et al. 1995, Harding 1991, Sarma et al. 1994). Eine Verbindung zwischen antioxidantienarmer Ernährung und erhöhtem Kataraktrisiko in Indien wurde diskutiert (Harding 1991, Sarma et al. 1994). Eine Kernkatarakt ist mit Nikotin- und Alkoholabusus verbunden (West et al. 1995, Livingston et al. 1995, Harding 1991). Östrogenmangel kann bei älteren Frauen zu einer leicht häufigeren Kataraktmanifestation führen (Klein et al. 1994). Rezessive Gene wurden mit einer kortikalen und nuklearen, altersbedingten Katarakt assoziiert (Heida et al. 1995). Eine Assoziation zwischen der altersbedingten Katarakt ohne andere Augenerkrankung und Hcy im Plasma ist bisher nicht bekannt.

3.2.4 Morphologie der altersbedingten Katarakt

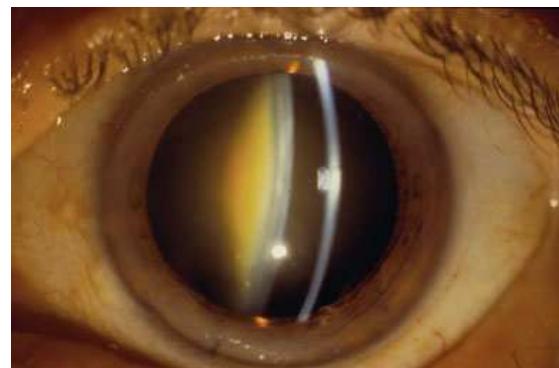
Die altersbedingte Katarakt wird je nach Lokalisation und Morphologie der Linsentrübungen klassifiziert. Die anteriore subkapsuläre Katarakt liegt direkt unter der Linsenkapsel und ist mit einer fibrösen Pseudometaplasie des Linsenepithels assoziiert. Die posteriore subkapsuläre Katarakt (Abb. 8) liegt direkt vor der posterioren Kapsel und beeinträchtigt das Sehvermögen mehr im Vergleich zu anderen Kataraktformen. Der Nahvisus ist meistens stärker als der Fernvisus vermindert (Kanski 2007).

Abb. 8: Posteriore subkapsuläre Katarakt



Die Kernkatarakt (Abb. 9) beginnt mit einer Verstärkung der normalen Alterungsvorgänge im Linsenkern. Sie ist auch häufig mit einer Myopie assoziiert. Eine Kernsklerose ist im Frühstadium durch eine gelbliche Farbe gekennzeichnet, die infolge der Ablagerung von Urochrom-Pigmenten entsteht. Später erscheint der Kern braun (*Cataracta brunescens*) (Naumann 1997).

Abb. 9: Kernkatarakt



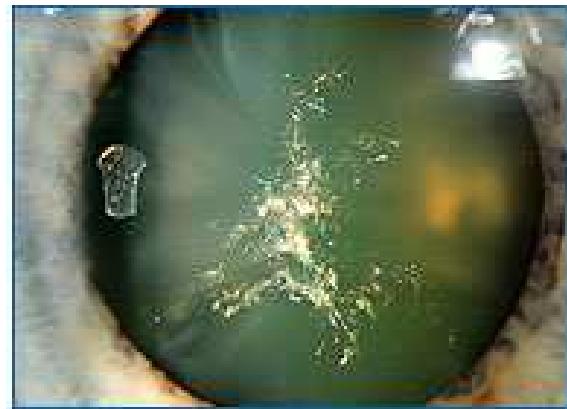
Bei der kortikalen Katarakt (Abb. 10) beginnen die Trübungen zunächst als Spalten und Vakuolen zwischen den Linsenfasern als Folge der Hydrierung der Rinde. Die sich anschließende Trübung führt zu typischen keilförmigen oder radiären speichenartigen Trübungen, häufig zuerst im inferonasalen Quadranten (Naumann 1997).

Abb. 10: Kortikale Katarakt



Die Christbaumkatarakt (Abb. 11) ist selten und durch beeindruckende, polychromatische, nadelförmige Ablagerungen in der tiefen Rinde und im Kern charakterisiert. Diese Ablagerungen können einzeln oder mit anderen Trübungen assoziiert sein (Naumann 1997).

Abb. 11: Christbaumkatarakt



Bei einer maturen Katarakt (Abb. 12) ist die Linse vollständig getrübt. Eine hypermature Katarakt hat eine geschrumpfte und faltenreiche Kapsel, da Wasser aus der Linse ausgetreten ist. Eine *Cataracta Morgagnia* ist eine hypermature Katarakt, bei der durch die vollständige Verflüssigung der Rinde der extrem harte Kern nach unten sinkt (Naumann 1997).

Abb 12: Mature Katarakt



Die Therapie der Katarakt ist operativ.

3.3 Pseudoexfoliation (PEX)

3.3.1 Definition

Die PEX wurde zuerst 1917 in Finnland von Lindberg beschrieben (Tarkkanen et al. 2002). Sie ist ein grauweißes, fibrillogranuläres, extrazelluläres Matrixmaterial, das dem Amyloid P gleicht. Sie setzt sich aus Elastin und Basalmembranmaterial zusammen (Roth et al. 1980). Das PEX-Material ist homogen, eosinophil und positiv für eine periodische „Säure-Schiff-Analyse“ (Naumann 1997).

Die PEX wird bei Frauen häufiger beobachtet. Ihre Prävalenz liegt bei 10-20% der Bevölkerung über dem 60. Lebensjahr und 40% über dem 80. Lebensjahr (Ringfold 1996, Jonasson et al 2003). Sie wurde bei den meisten Ethnologien nachgewiesen (Forsius 1988), dennoch kommt sie in Skandinavien häufiger vor (Aström et al. 2007) und ist mit einem Genort auf Chromosom 2p16 assoziiert (Thorleifsson et al. 2007).

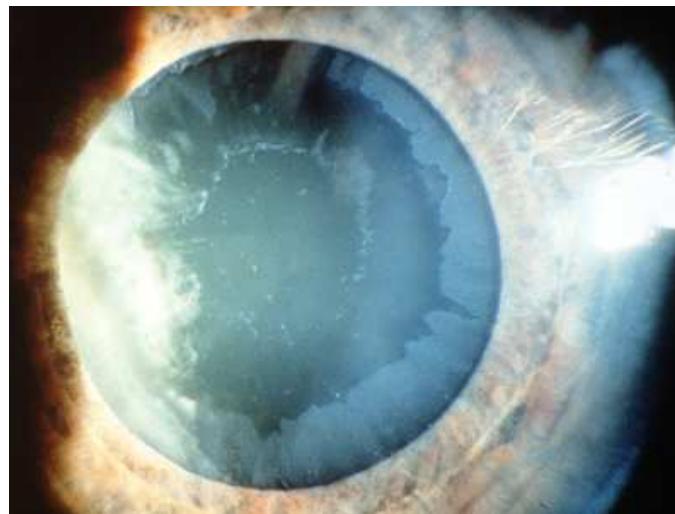
Das PEX-Syndrom ist eine systemische Erkrankung. PEX-Ablagerungen wurden außer im Auge auch in der Haut, in Lunge, Gallenblase, Leber, Blase, den Hirnhäuten, den Nieren und am Myokardium beschrieben (Schlotzer-Schrehardt et al. 1992; Streeten et al. 1992). Eine Assoziation zwischen den Augen- und systemischen Erkrankungen ist bisher unklar. Eine simultane Manifestation der PEX am Auge und eines abdominalen Aortaaneurysmas wurde allerdings bereits beschrieben (Schumacher et al. 2001). Außerdem wurde es berichtet, dass Patienten mit PEX ein höheres Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen haben sollen (Mitchell et al. 1997).

3.3.2 Pathogenese

Die PEX wird von anomalen Basalmembranen der alternden Epithelzellen des Trabekelwerks, der äquatorialen Linsenkapsel, der Iris und des Ziliarkörpers produziert (Roth et al. 1980). Das Material am Auge ist ähnlich demjenigen in den anderen Organen. Dies kann mit einer systemischen Störung des Bindegewebemetabolismus zusammenhängen (Schlotzer-Schrehardt et al. 1992).

Im Auge wird PEX auf der vorderen Linsenkapsel (Abb. 12), dem Hornhautendothel, dem Ziliarkörper, der Iris, dem Trabekelwerk, den Zonulafasern, dem vorderen Glaskörper und der Bindehaut abgelagert (Price et al. 1987, Prince et al. 1986, Farrar et al. 1993).

Abb. 12: Pseudoexfoliation auf der vorderen Linsenkapsel



Die Ablagerungen auf dem Trabekelwerk können eine sekundäre Blockade sowie eine Endothelfunktionsstörung des Trabekelwerks verursachen (Morrison et al. 1988). Diese führen zum Pseudoexfoliationsglaukom (PEX-Glaukom) (Naumann et al. 2000, Wirbelauer et al. 1998).

Weiterhin verursachen Ablagerung von PEX in der Endothelschicht der Hornhaut einen Endothelzellverlust sowie eine Dekompensation der Hornhaut (Naumann et al. 2000, Wirbelauer et al. 1998).

3.3.3 Manifestation des Pseudoexfoliationsglaukoms (PEX-Glaukom)

PEX ist die häufigste bestätigte Ursache für ein sekundäres Offenwinkelglaukom (Ritch 1994). 15-20% der Patienten mit Offenwinkelglaukom weisen PEX auf. Das PEX-Glaukom wird meistens in der siebten Lebensdekade beobachtet. PEX führt in 5% der Augen nach 5 Jahren und in 15% der Augen nach 10 Jahren zu einem Glaukom (Henry et al. 1987). Die okuläre Hypertension führt bei PEX doppelt so häufig zu einem Glaukom (Leske et al. 2003).

Das PEX-Syndrom ist bei 46-76% der Patienten unilateral. Das Partnerauge weist nach 5 bis 10 Jahren PEX bei 30-43% der skandinavischen Patienten auf. Der Ausdruck „unilaterales“ PEX-Syndrom kann irreführend sein, da die Mehrheit der klinisch scheinbar nicht involvierten Partneraugen tatsächlich PEX-Ablagerungen aufweisen können. Auch wenn klinisch sichtbare PEX-Ablagerungen nur in einem Auge festgestellt werden können, so dürften wohl grundsätzlich beide Augen trotz „asymmetrischer klinischer Ausprägung“ in den PEX-Prozess involviert sein (Naumann 1997).

3.3.4 Therapie des Pseudoexfoliations-Glaukoms

Sie entspricht im Wesentlichen der des primären Offenwinkelglaukoms. Häufig spricht das PEX-Glaukom jedoch schlecht auf die medikamentöse und chirurgische Therapie an (Kanski 2007).

3.4 Assoziation zwischen Homocystein (Hcy), esRAGE and Augenerkrankungen

Retinale Gefäßverschlüsse (Paoli et al. 1998) sowie die nicht-arteriitische anteriore ischämische Optikusneuropathie (Pianka et al. 2000) sind häufig mit erhöhten Hcy-Konzentrationen im Blut assoziiert. Außerdem wurden bisher bei Patienten mit Hyperhomocysteinämie bandförmige Keratopathie, Mikrophthalmus, Strabismus, Atrophie und Hypoplasie des *N. opticus* sowie retinale Degenerationen beschrieben (Cross et al. 1973; Al-Essa et al. 2000).

Vessani et al. (2003) beschrieben eine Assoziation der Hyperhomocysteinämie mit der PEX. Yap et al. (1998) zeigten einen Zusammenhang zwischen Homocystinurie und Luxation der Linse. Diese Patienten konnten von einer strengen Diät und B-Vitaminsubstitution profitieren. Die Linsenektopie war oft mit einem akuten Pupillarblockglaukom verbunden (Liebmann et al. 1996; Harrison et al. 1998). Moore et al. (2001) zeigten, dass eine Hyperhomocysteinämie durch Stimulation des N-methyl-D-Aspartat-Rezeptors toxisch auf die retinalen Ganglienzellen wirken kann. So könnte die Hyperhomocysteinämie eine Rolle in der Pathophysiologie der glaukomatösen Optikusatrophie spielen. Vessani et al. (2003) fanden jedoch keine Assoziation zwischen Hyperhomocysteinämie und Normaldruckglaukom.

Für die feuchte, aber nicht für die trockene AMD, konnte eine Assoziation mit erhöhten Hcy-Konzentrationen im Blut gefunden werden (Aixer-Siegel et al. 2004). Seddon et al. (2006) zeigten eine leichte Hyperhomocysteinämie bei Patienten mit fortgeschrittener AMD. Coral et al. (2006) zeigten reduzierte Thiolwerte bei diesen Patienten. Kamburoglu et al. (2006) zeigten neben Hyperhomocysteinämie niedrige B12-Blutwerte bei AMD. Nowak et al. (2005) hatten dieselben Befunde, konnten aber keine Folaterhöhung im Blut bei Patienten mit feuchter AMD nachweisen.

Koyama et al. (2005) zeigten, dass der *extracellular soluble receptor for advanced glycated end products* (esRAGE) ein potenzieller protektiver Faktor für das metabolische Syndrom und die Arteriosklerose ist. Jedoch ist eine Assoziation zwischen esRAGE, Katarakt, PEX-Syndrom und AMD bisher nicht beschrieben.

3.5 Fragestellung

Die Hyperhomocysteinämie wurde bisher mit mehreren Augenerkrankungen assoziiert, jedoch wird ihre Rolle bei PEX und AMD kontrovers diskutiert. Hcy wird bei diesen Erkrankungen nicht routinemäßig gemessen. Manche Autoren argumentieren, dass ein solcher Screening-Test keine klinische Bedeutung hätte (Backhouse et al. 2000; Lahey et al. 2003; Di Crecchio et al. 2004). Die Rolle des esRAGE bei diesen Augenerkrankungen ist bisher nicht klar.

Unser Ziel bestand darin, eine mögliche Assoziation des Hcy-Metabolismus im Blut und des esRAGE im Kammerwasser mit der PEX und der AMD zu untersuchen.

4 Patienten, Material und Methodik

4.1 Patienten, Material / Proben

4.1.1 Patientenrekrutierung, Probengewinnung, Datenerhebung

Es handelt sich um eine retrospektive „*Single-center*“-Studie. Die Patienten wurden an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes rekrutiert. Die Proben wurden über einen Zeitraum von 2 Jahren (Januar 2008 - Dezember 2010) gesammelt.

Insgesamt nahmen 138 Patienten an der Studie teil (n = 138). Als Kontrollen wurden die Patienten mit Katarakt verwendet (n=47). Wir untersuchten Patienten mit PEX mit oder ohne Glaukom (n=22), trockener (n=38) und feuchter AMD (n=31). Alle Patienten, die an der Studie teilnahmen, erklärten sich schriftlich mit den Untersuchungen, den Behandlungen und der Datenerhebung einverstanden.

Alle Patienten wurden wegen ihrer Augenerkrankung operiert (s. unten). Während der Operationen wurden bei 89 Patienten jeweils 1,5 ml vom Kammerwasser gewonnen.

Am Tag der Operation wurde bei allen Patienten eine Blutentnahme für die folgenden Fragestellungen durchgeführt (jeweils in Monovette® der Fa. Sarstedt):

- 4,7 ml Blut auf Lithium-Heparin zur Untersuchung von Kreatinin.
- 2,7 ml Blut auf EDTA zur Bestimmung von S-Adenosylhomocystein (SAH) und S-Adenosylmethionin (SAM).
- 4,7 ml Blut in einer trockenen Monovette zur Untersuchung von Hcy, Cystathionin (Cys), Methylmalonsäure (MMA), Vitamin B12 (Kobalamin), Holo-Transcobalamin (HoloTC), Amyloid-β (I-42) und Folat.

4.1.2 Ein- /Ausschlusskriterien für Patienten

Einschlusskriterien waren die folgenden augenärztlichen Diagnosen: Katarakt, trockene oder feuchte AMD und PEX.

Ausschlusskriterien waren ein anamnestischer Hirn- oder Myokardinfarkt innerhalb der letzten drei Monate sowie die regelmäßige Einnahme von Folat, Vitamin B6 und Vitamin B12. Patienten mit einer bekannten Niereninsuffizienz oder Zeichen einer Nierenunterfunktion (Kreatinin > 200 µmol/l) wurden ausgeschlossen.

4.2 Methodik

4.2.1 Klinische Methodik

Die augenärztlichen Diagnosen wurden ambulant oder stationär an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes gesichert. Die Indikationsfeststellung und die Operationen am Auge wurden unabhängig von der Studie durchgeführt. Bei allen Operationen wurde eine Parazentese der Vorderkammer standardmäßig durchgeführt, sodass eine zusätzliche Parazentese wegen der Studie nicht erforderlich war.

Die Operationen waren entweder eine Kataraktoperation (Phakoemulsifikation mit Implantation einer Hinterkapsellinse oder extrakapsuläre Kataraktextraktion), eine Glaukomoperation (Trabekulektomie mit Mitomycin C oder Trabekulotomie) oder eine intravitreale Injektion mit Anti-VEGF-Medikamenten (Bevacizumab oder Ranibizumab bei feuchter AMD).

PEX mit oder ohne Glaukom wurde biomikroskopisch an der Spaltlampe, tonometrisch (Tonometrie nach Goldmann), funduskopisch bzw. mittels Schwellenperimetrie (Gerät: 30II Octopus) und bildgebender Darstellung der Papille mit dem Heidelberg Retina Tomograph III untersucht. Diese Patienten wurden aufgrund des Glaukoms oder einer begleitenden Katarakt operiert.

Die Diagnose einer trockenen oder feuchten AMD wurde biomikroskopisch an der Spaltlampe, funduskopisch sowie fluoreszenzangiographisch erhoben. Die Patienten mit trockener AMD wurden aufgrund einer begleitenden Katarakt operiert. Die Patienten mit feuchter AMD wurden aufgrund ihrer Erkrankung oder einer begleitender Katarakt operiert.

Die Kontrollen der Studie hatten aufgrund ihrer Katarakt eine Sehschärfe von $\leq 0,6$. Eine Kataraktoperation wurde bei diesen Patienten durchgeführt. Eine PEX oder eine AMD wurde bei den Kontrollen biomikroskopisch an der Spaltlampe und funduskopisch ausgeschlossen. Die Anamnese einer arteriellen Hypertonie, einer koronaren Erkrankung, eines Diabetes mellitus oder eines Schlaganfalls wurde bei allen Patienten erhoben. Alter und Geschlecht wurden notiert.

4.2.2 Laborchemische Methodik

Im Forschungsbereich für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin im Universitätsklinikum des Saarlandes wurden die folgenden Metaboliten im Blut gemessen: Kreatinin, SAH, SAM, Hcy, Cys, MMA, Vitamin B12 (Kobalamin), HoloTC, Amyloid- β (I-42) und Folat. Der SAM/SAH-Ratio wurde bei jedem Patient bestimmt. Im Kammerwasser wurde esRAGE gemessen (*B-Bridge esRAGE Elisa Kit*).

4.2.3 Statistik

Die statistische Auswertung wurde mit SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Der Vergleich der Mittelwerte mehrerer Gruppen erfolgte mit dem ANOVA-Test und den post-hoc Tamhane-Tests. Für Tests, die Normalverteilung erfordern, wurden die Daten logarithmisch transformiert. Um die Mediane zwischen zwei Gruppen zu vergleichen, wurde der Mann-Whitney-Test herangezogen. Korrelationen zwischen verschiedenen Variablen wurden mit dem Spearman-Test überprüft. Mit der Backward Regression-Analyse wurde nach unabhängigen Variablen gesucht, die in dieser Population eine Vorhersage des DemTect-Scores und der SAM/SAH-Quotienten erlauben. Als signifikant wurden p-Werte unter 0,05 erachtet.

5 Ergebnisse

5.1 Homocystein-Stoffwechsel, esRAGE und Allgemeinerkrankungen bei Pseudoexfoliation und altersabhängiger Makuladegeneration

Die Gruppen der Studie in Assoziation mit dem Alter, dem Geschlecht, den Kreatinin-Konzentrationen im Blut und den Allgemeinerkrankungen sind in Tabelle 1 dargestellt. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Kreatinin-Konzentrationen, Geschlecht, arterieller Hypertonie, kongonarer Erkrankung, Diabetes mellitus und Schlaganfällen zwischen den Gruppen. Die Kontrollen waren signifikant jünger als die Patienten mit AMD.

Die Konzentration der Metaboliten im Blut und des esRAGE im Kammerwasser sind in Tabelle 2 gezeigt. Hcy war in allen Gruppen leicht erhöht. Jedoch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Die Konzentration von esRAGE war auch zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Bei PEX war MMA im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöht. Im Gegensatz dazu war Folat signifikant niedriger im Vergleich zu den anderen Gruppen. Dies war nicht mit höherem Hcy oder niedrigerem Kobalamin und holoTC assoziiert.

Bei den Kontrollen fanden wir eine signifikante negative Korrelation zwischen Hcy im Blut und esRAGE im Kammerwasser ($r = -0.483, p = 0.006$). Diese Korrelation wurde auch bei der trockenen AMD gefunden ($r = -0.418, p = 0.038$). Hier bestand weiterhin eine positive Korrelation zwischen esRAGE und Folat ($r = 0.544, p = 0.005$) sowie zwischen esRAGE und SAM/SAH-Ratio ($r = 0.437, p = 0.033$).

Bei der feuchten AMD und PEX zeigten sich keine signifikanten Korrelationen zwischen esRAGE im Kammerwasser und den Metaboliten im Blut.

Tabelle 1: Alter, Kreatinin, Geschlecht und Allgemeinerkrankungen

| | Kontrollen | Trockene AMD | Feuchte AMD | PEX |
|-------------------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------|
| n | 47 | 38 | 31 | 22 |
| Alter (Jahre) | $69 \pm 8,7^{\text{a,b}}$ | $74 \pm 7,9^{\text{a}}$ | $77 \pm 6,7^{\text{b}}$ | $74 \pm 8,4$ |
| Kreatinin (µmol/L) | $76,2 \pm 17,2$ | $86,4 \pm 24,6$ | $82,3 \pm 17,6$ | 90 ± 34 |
| Männer, n (%) | 23 (49%) | 10 (26%) | 16 (52%) | 9 (41%) |
| Arterielle Hypertonie, n (%) | 26 (55%) | 23 (61%) | 18 (58%) | 11 (50%) |
| Koronare Erkrankung, n (%) | 7 (15%) | 8 (21%) | 4 (13%) | 4 (18%) |
| Diabetes mellitus, n (%) | 6 (13%) | 10 (26%) | 4 (13%) | 4 (18%) |
| Z. n. Schlaganfall, n (%) | 1 (2%) | 3 (8%) | 1 (3%) | 0 |

Die Gruppen mit demselben Buchstaben waren signifikant unterschiedlich (ANOVA, $p < 0,05$).

Tabelle 2: Metaboliten im Blut und esRAGE im Kammerwasser

| | Kontrollen | Trockene AMD | Feuchte AMD | PEX | P (ANOVA) |
|--|------------------------|--------------|-------------|------------------------|-----------|
| Amyloid-β (I-42) (ng/L) | 16,3 ± 18,4 | 15,6 ± 34,5 | 17,4 ± 28,3 | 12,4 ± 6,1 | 0,378 |
| Hcy (μ mol/L) | 16,1 ± 6,1 | 17,0 ± 7 | 15,0 ± 5,2 | 17,6 ± 3,6 | 0,148 |
| Cys (nmol/L) | 293 ± 248 | 335 ± 205 | 328 ± 517 | 340 ± 148 | 0,648 |
| MMA (nmol/L) | 255 ± 101 ^a | 349 ± 189 | 268 ± 106 | 347 ± 138 ^a | 0,001 |
| HoloTC (pmol/L) | 55 ± 27 | 52 ± 31 | 56 ± 19 | 48 ± 19 | 0,047 |
| Kobalamin (pmol/L) | 278 ± 98 | 232 ± 76,7 | 236 ± 64,5 | 263 ± 101 | 0,533 |
| Folat (nmol/L) | 23,2 ± 151 | 26,3 ± 28,3 | 26,2 ± 20,6 | 18,0 ± 14,6 | 0,408 |
| SAH (nmol/L) | 28,3 ± 9,4 | 26,8 ± 11,6 | 26,9 ± 14,6 | 32,9 ± 16,9 | 0,481 |
| SAM (nmol/L) | 115 ± 33 | 117 ± 26 | 124 ± 27 | 123 ± 24 | 0,398 |
| SAM/SAH-Ratio | 4,3 ± 1,2 | 4,6 ± 1,3 | 5,0 ± 1,6 | 4,0 ± 1,3 | 0,087 |
| esRAGE im Kammerwasser (ng/L) | 78,0 ± 64,8 | 64,0 ± 58,6 | 86,6 ± 49,8 | 89,9 ± 56,3 | 0,942 |

^aDie Gruppen sind signifikant unterschiedlich.

5.2 Die Rolle der arteriellen Hypertonie

Die Assoziation zwischen arterieller Hypertonie, Hcy, esRAGE, Amyloid- β (I-42), Kreatinin und Alter bei den Kontrollen, AMD und PEX wurde untersucht (Tabelle 3). Bei den Kontrollen war die arterielle Hypertonie mit signifikant höherem Hcy assoziiert. Dies bestand auch bei den Patienten mit trockener AMD. Bei den anderen Augenerkrankungen bestand keine signifikante Assoziation zwischen Hcy und arterieller Hypertonie. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen arterieller Hypertonie, β -Amyloid (I-42) und esRAGE bestand nicht. Die Patienten mit trockener und feuchter AMD ohne arterielle Hypertonie und die Patienten mit PEX mit arterieller Hypertonie waren im Vergleich zu den Kontrollen älter. Hcy war bei den Patienten mit PEX ohne arterielle Hypertonie grenzwertig ($p=0,06$) erhöht.

Tabelle 3: Arterielle Hypertonie, Hcy, esRAGE und Amyloid-β (I-42) bei den Kontrollen, PEX und AMD.

| | n | Hcy (μ mol/L) | erRAGE (ng/L) | Amyloid-β (I-42) (ng/L) | Kreatinin (mmol/L) | Alter (Jahre) |
|----------------------------|----|-----------------------------|------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Kontrollen | | | | | | |
| mit arterieller Hypertonie | 26 | 16,8 \pm 6,4 | 68,5 \pm 59,4 | 19,2 \pm 22,3 | 73,9 \pm 17,2 ^a | 70 \pm 8 ^b |
| ohne arterielle Hypertonie | 21 | 12,8 \pm 4,6 [†] | 84,2 \pm 74 | 14,6 \pm 15 | 74,8 \pm 17,7 | 66 \pm 9 ^{c,d} |
| p | | 0,018 | 0,729 | 0,623 | 0,939 | 0,151 |
| Trockene AMD | | | | | | |
| mit arterieller Hypertonie | 23 | 17,7 \pm 7,8 | 46,4 \pm 43,7 | 17,3 \pm 43,1 | 92,1 \pm 22,5 ^a | 73 \pm 8 |
| ohne arterielle Hypertonie | 15 | 13,4 \pm 4,1 | 97,9 \pm 64,3 | 13,2 \pm 4,9 | 69 \pm 21,9 | 76 \pm 8 ^c |
| p | | 0,033 | 0,057 | 0,638 | 0,009 | 0,087 |
| Feuchte AMD | | | | | | |
| mit arterieller Hypertonie | 18 | 14,3 \pm 5,6 | 83,5 \pm 47 | 19,5 \pm 35,1 | 85,1 \pm 20,7 | 79 \pm 6 |
| ohne arterielle Hypertonie | 13 | 12,7 \pm 3 | 46 \pm 53,3 | 14,6 \pm 10,7 | 75 \pm 9,8 | 75 \pm 7 ^d |
| p | | 0,351 | 0,191 | 0,299 | 0,131 | 0,345 |
| PEX | | | | | | |
| mit arterieller Hypertonie | 11 | 17,6 \pm 3,5 | 67,5 \pm 58,9 | 11,8 \pm 0,8 | 92,7 \pm 45,3 | 77 \pm 6 ^b |
| ohne arterielle Hypertonie | 11 | 17,2 \pm 3,9 [†] | 118,7 \pm 6,8 | 13,2 \pm 9,1 | 80,5 \pm 21,6 | 71 \pm 10 |
| p | | 0,777 | 0,295 | 0,819 | 0,476 | 0,199 |

Die P-Werte innerhalb der Gruppen (mit oder ohne arterielle Hypertonie) sind durch Mann-Whitney-Test kalkuliert. Die Gruppen mit demselben Buchstabe waren signifikant ($p < 0,05$) unterschiedlich. [†] $p = 0,06$.

5.3 Die Rolle des esRAGE

Die Assoziation zwischen esRAGE im Kammerwasser, Alter, Metaboliten im Blut und Augenerkrankung wurde untersucht. 89 Patienten wurden in zwei Gruppen, je nach esRAGE-Konzentration im Kammerwasser, aufgeteilt. Die eine Gruppe (n=44) hatte eine esRAGE-Konzentration unter dem Gesamtmittelwert der Studie (81.2 ng/L) und die andere (n=45) über den Gesamtmittelwert. Die Assoziation zwischen esRAGE, Alter und Metaboliten im Blut ist in Tabelle 4 gezeigt. Die Assoziation zwischen esRAGE und Augenerkrankung ist in Tabelle 5 dargestellt.

Die höhere esRAGE-Konzentration war mit signifikant niedrigeren Konzentrationen von Amyloid- β (I-42) und Hcy und höheren Konzentrationen von Kobalamin und Folat assoziiert. Außerdem zeigte sich bei diesen Patienten eine Tendenz ($p=0,088$) zu einer höheren SAM-Konzentration.

Zwischen den Augenerkrankungen und den esRAGE-Konzentrationen bestand keine signifikante Verbindung.

Tabelle 4: Alter und Metaboliten im Blut bei Patienten mit esRAGE unter oder über dem Gesamtmittelwert der Studie (81,2 ng/L).

| | Patienten mit esRAGE < Mittelwert (n=44) | Patienten mit esRAGE > Mittelwert (n=45) | P (ANOVA) |
|-----------------------------------|--|--|--------------|
| Alter (Jahre) | 75 ± 8 | 73,4 ± 8,4 | 0,396 |
| Amyloid-β (I-42) (ng/L) | 23,3 ± 36,4 | 20,4 ± 18,8 | 0,029 |
| Hey (μ mol/L) | 17,8 ± 6,4 | 14,7 ± 5,2 | 0,007 |
| Cys (nmol/L) | 381 ± 243 | 400 ± 383 | 0,831 |
| MMA (nmol/L) | 323 ± 191 | 295 ± 128 | 0,750 |
| HoloTC (pmol/L) | 50,1 ± 19,9 | 57,2 ± 30,5 | 0,545 |
| Kobalamin (pmol/L) | 223 ± 85 | 272 ± 91 | 0,022 |
| Folat (nmol/L) | 21,9 ± 13,5 | 31,3 ± 21 | 0,034 |
| SAH (nmol/L) | 30,5 ± 12,1 | 29,2 ± 13 | 0,498 |
| SAM (nmol/L) | 117 ± 31 | 128 ± 31 | 0,088 |
| SAM/SAH-Ratio | 4,3 ± 1,6 | 4,7 ± 1,3 | 0,164 |

Tabelle 5: Augenerkrankungen bei Patienten mit esRAGE-Konzentrationen unter oder über dem Gesamtmittelwert der Studie (81,2 ng/L).

| | Patienten mit esRAGE < Mittelwert (n=44) | Patienten mit esRAGE > Mittelwert (n=45) | P (Chi-square-Test) |
|-------------------------|--|--|------------------------|
| Kontrollen (n) | 16 | 16 | |
| Trockene AMD (n) | 14 | 11 | >0,05 |
| Feuchte AMD (n) | 10 | 11 | |
| PEX (n) | 4 | 7 | |

6 Diskussion

6.1 Homocystein (Hcy)

6.1.1 Definition

Hcy ist eine endogene schwefelhaltige Aminosäure, die nicht über die Nahrung aufgenommen wird. Es kommt ausschließlich als Zwischenprodukt im Stoffwechsel der essenziellen Aminosäure Methionin vor (Miner et al. 1997). Methionin spielt als Methylgruppendonator eine unentbehrliche Rolle. Hcy ist ein kleines Molekül (sein Molekulargewicht beträgt 135 Dalton), dessen Wasserlöslichkeit sehr gering ist. Cys ist ein Nebenprodukt im Metabolismus von Hcy. Es entsteht in einer Vitamin B6-abhängigen Reaktion durch Kondensation von Serin an Hcy (Stanger 2004). Die chemischen Strukturen von Hcy, Methionin und Cys sind in Abb. 13 gezeigt.

Abb.13: Homocystein, Methionin und Cystathionin



Homocystein: HS-CH₂-CH₂-CH(NH₂) COOH

Methionin: CH₃-S-CH₂-CH₂-CH(NH₂) COOH

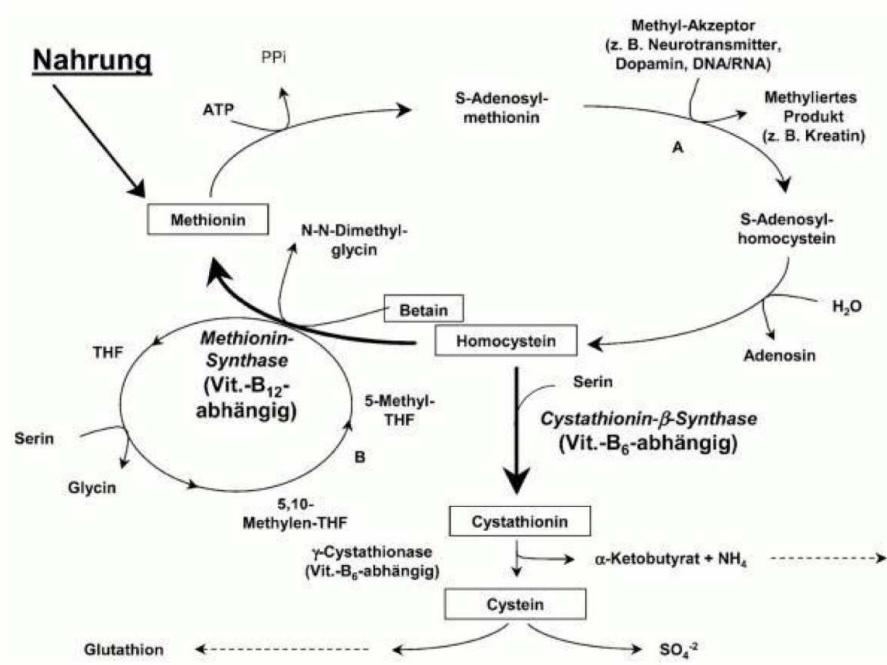
Cystathionin: HOOC-CH(NH₂)CH-S-CH₂-CH₂-CH(NH₂) COOH

6.1.2 Metabolismus des Homocysteins

Die physiologische Bedeutung von Hcy erklärt sich durch seine zentrale Position zwischen miteinander verbundenen Stoffwechselwegen. Der Metabolismus des Hcy ist in Abb. 14 gezeigt. Methionin ist die einzige bekannte Hcy-Quelle beim Menschen. Methionin wird hauptsächlich durch Nahrungsproteine bereitgestellt. In Anwesenheit von Adenosyltriphosphat (ATP) wird Methionin zu SAM aktiviert. SAM ist ein Methylgruppendonor in vielen Reaktionen der Zelle. Dabei wird SAM zu SAH umgewandelt, das wiederum zu Hcy hydrolysiert wird. Dies ist der einzige Stoffwechselweg zur Hcy-Produktion im Körper. Hcy wird über Cys zu Cystein verstoffwechselt, remethyliert zu Methionin oder über die SAH-Hydrolase zu SAH umgewandelt. Besonders dann, wenn die Hcy-Konzentration erhöht ist, wird Hcy über die SAH-Hydrolase metabolisiert. Der Abbau von Hcy über den Remethylierungsweg wird von dem Enzym Methioninsynthase (MS) katalysiert. Für diese Reaktion wird Kobalamin als Kofaktor benötigt. Eine durch 5-Methyltetrahydrofolat (5-MTHF) bereitgestellte Methylgruppe wird auf die MS übertragen, welche diese dann unter Bildung von Methionin auf Hcy überträgt (Stanger 2004; Carmel et al. 2001).

Der Hcy-Abbau über den Transsulfurationsweg wird über die Cystathionin-beta-Synthase (CBS) katalysiert, welches Vitamin B6 (Pyridoxalphosphat) als Kofaktor benötigt. Das entstandene Ketobutyrat mit α -Cys wird mithilfe der Cystathioninase in Cystein umgewandelt, einem weiteren Vitamin B6-abhängigen Enzym. Cystein kann weiterhin zu Glutathion, der Hauptdeterminante im antioxidativen Stoffwechsel des Menschen, umgewandelt werden. Weiterhin spielt Hcy zusammen mit 5-MTHF eine Schlüsselrolle im Ein-Kohlenstoff-Stoffwechsel. Sowohl Hcy als auch 5-MTHF sind Substrate für die Produktion von Tetrahydrofolat (THF) und Methionin. THF ist die aktive Form des Folats, welches für die Synthese von Purinen wichtig ist, die als DNA-Bausteine benötigt werden (Stanger 2004; Carmel et al. 2001).

Abb.14: Homocysteinmetabolismus und dazugehörige Enzyme (Stanger et al. 2003).



THF = Tetrahydrofolat, A = Methyltransferase, B = 5,10-Methylen-THF-Transferase

Der Hcy-Abbau über den Transsulfurationsweg wird vermehrt bei Methioninüberschuss und zum Beispiel nach dem Essen aktiviert. Auf der anderen Seite wird in Situationen, die mit einem relativen Mangel an Methionin in Zellen verbunden sind, wie z. B. beim Fasten, Hcy eher zu Methionin remethyliert. Ein suffizienter Hcy-Metabolismus hängt ab von der Verfügbarkeit von Vitamin B6, Vitamin B12 und Folat (Carmel et al. 2001; Jacobsen 1998; Temple et al. 2000), sowie von einigen Schlüsselenzymen (Miner et al. 1997).

Unter normalen physiologischen Bedingungen ist der Hcy-Metabolismus streng reguliert: SAM verstärkt wohl den Abbau über den Transsulfurationsweg (Selhub et al. 1992). Im Falle von Folatmangel ist 5-MTHF nicht ausreichend verfügbar. Dies erhöht den Hcy-Spiegel. Im Gegensatz dazu kann bei Überschuss an 5-MTHF die Produktion von SAM gesteigert sein. Das entstandene SAM kann die Produktion von 5-MTHF aus 5,10-Methyltetrahydrofolat über das Enzym Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) inhibieren, um die Produktion von 5-MTHF herunterzuregulieren (Carmel et al. 2001). Im Gegensatz zum Folatmangel ist ein leichter Vitamin B12-Mangel mit geringfügigem Hcy-Spiegelanstieg assoziiert, besonders dann, wenn der Hcy-Abbau über den Transsulfurationsweg nicht von dem Vitamin B12-Mangel betroffen ist (Selhub et al. 1992).

SAM ist der Hauptmethylgruppendonator in vielen biochemischen Reaktionen des Menschen: in der Synthese von Phospholipiden, Nukleinsäuren, Aminosäuren, Neurotransmittern etc. Die Konzentrationen von SAM und SAH sind streng reguliert. Steigt der SAH/SAM-Ratio an, wird die DNA-Methylierung inhibiert, was die Genexpression beeinträchtigt (Medina et al. 2001). Die Methioninsynthasereduktase (MSR) ist ein weiteres wichtiges Enzym, welches für die Reduktionsreaktivierung von Methylkobalamin verantwortlich ist und dafür sorgt, dass die aktive Form des Koenzyms Vitamin B12 vorliegt (Gaughan et al. 2001).

Nur kleine Mengen Hcy zirkulieren im Plasma als freie Thiol-Form. Der Hauptanteil liegt als Disulfidkomplex vor, in dem Hcy an SH-Gruppen bindet. Diese Komplexe werden von schwefelhaltigen Aminosäuren, die Teile von Plasmaproteinen sind (v. a. Albumin) bereitgestellt (Ueland et al. 1996). Es bilden sich sowohl gemischte Disulfide, wie z. B. mit Cystein, als auch symmetrische Disulfide mit Hcy (Homocystin) (Ueland et al. 1996). Freies Hcy ist unstabil und bei neutralem pH sehr schlecht löslich (Gutormsen et al. 1993). Daher ist die *in vivo* Konzentrationen des freien Hcy extrem niedrig (nur 1-2% der Konzentration des Hcy, ca. 0,1-0,2 µmol/l bei normaler Plasmakonzentration von < 12 µmol/l) (Refsum et al.

1998). Für die quantitative Messung des Hcy sind bestimmten Reduktionsmittel erforderlich. Dadurch wird Hcy aus den Disulfiden gelöst. Die Tabelle 6 zeigt die prozentuale Verteilung der Hcy-Hauptformen.

Tabelle 6: Bestandteile des Homocysteins im Plasma

| 1. Reduziert: | | |
|--|--------|--|
| Homocystein (frei, nicht proteingebunden) | 1-2% | $-\text{OOC-CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ NH_3^+ |
| 2. Oxidiert: | | |
| Homo-Disulfide (Homocystein) | 5-10% | NH_3^+ $-\text{OOC-CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$ $-\text{OOC-CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$ NH_3^+ |
| Gemischte Disulfide | | |
| Proteingebundenes Homocystein | 80-90% | $-\text{OOC-CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-S-Albumin}$ NH_3^+ |
| Cystein-Homocystein | 5-10% | NH_3^+ $-\text{OOC-CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$ $-\text{OOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$ NH_3^+ |

6.1.3 Referenzwerte der Homocystein-Konzentrationen im Blut

Früher wurde eine Hcy-Konzentration von 16 µmol/l als physiologische Obergrenze angegeben (Malinow 1994). Dieser Grenzwert wurde jedoch stetig nach unten korrigiert, sodass heute die Obergrenze bei 10-12 µmol/l liegt. Konzentrationen zwischen 16-30 µmol/l werden als mild-moderate, zwischen 31-100 µmol/l als intermediate und Konzentrationen über 100 µmol/l als schwere Hyperhomocysteinämie bezeichnet (Jacobsen 1998). Die Hcy-Konzentrationen sind alters- und geschlechtsspezifisch verteilt. Im Alter nimmt die Nierenfunktion physiologischerweise ab. Dies resultiert in einer noch höheren Hcy-Konzentration (Herrmann et al. 1999, Norlund et al. 1998). Bei Neugeborenen liegt die Hcy-Konzentration im Nabelschnurblut zwischen 3,49-4,49 µmol/l (Malinow et al. 1998). Bei Kindern bis 12 Jahre wurden Konzentrationen von 3,5-9,8 µmol/l gemessen (Vilaseca et al. 1997). Nach der Pubertät steigen die Werte stark an, wobei Männer stets höhere Konzentrationen haben als Frauen. Bei 40- bis 45-Jährigen zeigt sich zwischen Männern und Frauen eine Differenz von etwa 2 µmol/l (Fukagawa et al. 2000). Während einer unkomplizierten Schwangerschaft nimmt Hcy um bis zu 20-60% ab (Walker et al. 1999; Kang et al. 1986; Andersson et al. 1992; Murphy et al. 2002). Nach der Geburt steigt Hcy wieder an und erreicht rasch wieder die Ausgangswerte (Infante-Rivard et al. 2002). In der Postmenopause steigen die Hcy-Konzentrationen an (Hak et al. 2000).

6.1.4 Genetisch bedingte Hyperhomocysteinämie

Die Hyperhomocysteinämie wird autosomal-rezessiv vererbt und wird in eine milde und eine schwere Form klassifiziert. Heterozygote zeigen eine milde Hyperhomocysteinämie. Hier besteht ein leichter Mangel an der CBS, MTHFR oder MS (Scriver et al. 2001). Die Hcy-Konzentration im Blut ist zwei- bis vierfach höher im Vergleich zu Gesunden. Die Patienten mit CBS-Mangel können mit hoch dosiertem Vitamin B6 in Kombination mit Folat therapiert werden. Leider existiert keine Therapie beim MTHFR-Mangel, so dass die Prognose für diese Patienten deutlich schlechter ist (Mudd et al. 1972).

MTHFR kann durch verschiedene Punktmutationen verändert werden. Jedoch besteht eine Restaktivität des Enzyms. Durch die Punktmutation C677T (Valin anstelle von Alanin wird eingebaut) wird eine thermolabile Variante der MTHFR produziert. Die Bindungsstelle für 5-MTHF ist hier verändert, so dass die katalytische Wirkung des Enzyms vermindert ist. Bei

einem begleitenden 5-MTHF-Mangel manifestiert sich eine milde Hyperhomocysteinämie. Im Gegensatz dazu führt eine erhöhte Folatkonzentration im Blut zu keiner Hyperhomocysteinämie (Harmon et al. 1996). Die Prävalenz der Erkrankung liegt zwischen 5-18% und ist von Population und der ethnologischen Abstammung abhängig (Brattström et al. 1998; Molloy et al 1997).

Die schwere Form der Hyperhomocysteinämie kommt bei Homozygoten vor und ist mit einem schweren Mangel an CBS oder MTHFR verbunden. Ihre Inzidenz wird mit 1:200.000-1:344.000 angegeben (Stanger 2004). Klinisch stehen mentale Retardierung, Skelettmisbildungen, Atherosklerose, arterielle und venöse Thrombosen bereits im 2. und 3. Lebensjahrzehnt im Vordergrund (Carson et al. 1962; Rees et al. 1993).

6.1.5 Hyperhomocysteinämie aufgrund von Vitaminmangel

Ein Mangel an Folat, Vitamin B6 oder Vitamin B12 führt zu Hyperhomocysteinämie. Eine Substitution der Vitamine kann die Hcy-Konzentration im Blut regulieren (Brattström et al. 1988; Kang et al. 1987; Stabler et al. 1993)

6.1.6 Erkrankungen assoziiert mit Hyperhomocysteinämie

Mehrere systemische Erkrankungen wie Niereninsuffizienz, Hypothyreose, perniziöse Anämie und maligne Tumoren sind mit der Hyperhomocysteinämie assoziiert (Robinson et al. 1996; Lien et al. 2000; Guttormsen et al. 1998).

6.1.7 Beeinflussung des Homocystein-Metabolismus durch Medikamente und *Lifestyle*

Mehrere Wirkstoffe können als direkte oder indirekte Antagonisten von Kofaktoren und Enzymen des Hcy-Metabolismus wirken. Außerdem können sie Disulfidaustauschreaktionen und Resorptionsstörungen verursachen. Tabelle 7 zeigt einen Überblick der Assoziationen zwischen Hcy-Metabolismus, gängigen Medikamenten und Lebensgewohnheiten.

Tabelle 7: Homocysteinmetabolismus, Medikamente und Lifestyle

| Beeinflussung durch Medikamente | | | |
|---------------------------------|----|--|---|
| Medikament | ↑↓ | Mechanismus | Referenz |
| Theophyllin, Kaffeinkonsum | ↑ | Vitamin B6 Antagonismus | Ubbink et al. 1996 Grubben et al 2000 |
| Lachgas | ↑ | Inaktivierung der MS | Danishpajoooh et al. 2001 |
| Methotrexat | ↑ | Kompetitive Inhibition von Folat | Guttormsen et al. 1998 |
| Fibrate | ↑ | PPAR-Aktivierung, abnehmende Nierenleistung | Jonkers et al. 1999 |
| Niacin | ↑ | Vitamin B6-Antagonist | Garg et al. 1999 |
| L-Dopa | ↑ | Substrat für SAM-abhängige Methylierung | Zoccolella et al. 2007 |
| Antiepileptika | ↑ | Erniedrigung von Folat und Vitamin B6 | Attilakos et al. 2006 |
| N-Acetylcystein | ↓ | Spaltung von Disulfidbrücken | Scholze et al. 2004 |
| Protonenpumpenhemmer | ↑ | Erhöhung des Magen-pH führt zu Mangel an Vitamin B12 | Schenk et al. 1996 |
| Östrogen und Progesteron | ↓ | Hormonwirkung | Mijatovic et al. 1998 |
| Orale Kontrazeptiva | ↑ | Folatabnahme | Durand et al. 2001 |
| Tamoxifen | ↓ | Partieller Agonist am Östrogenrezeptor | Cattaneo 2001 |
| Metformin | ↑ | Hemmung der Sekretion von Intrinsic Factor | Carlsen 1997 |
| Beeinflussung durch Lifestyle | | | |
| Rauchen | ↑ | Interferenz mit Cobalamin, Pyridoxin und Folat; Radikalbildung | Piyathilake et al. 1994 |
| Alkoholkonsum | ↑ | Generelle Malnutrition, Blockade der Methylierungsreaktionen | Schneede et al. 2000; Trimble et al. 1993 |
| Vegetarische Diät | ↑ | Vitamin B12-Mangel | Herrmann et al. 2001 |

6.1.8 Hyperhomocysteinämie als unabhängiger Risikofaktor

Die Hyperhomocysteinämie gilt als unabhängiger Risikofaktor für atherosklerotische Erkrankungen, arterielle und venöse Thrombosen (Herrmann et al. 1999; Welch et al. 1998; de Bree et al. 2005).

6.1.9 S-Adenosylmethionin (SAM)

SAM ist die aktivierte Form des Methionins (Cantoni 1951). Durch Transmethylierung wird es zu SAH umgewandelt (De la Haba et al. 1959). SAM ist der universellste Methylgruppendonor im menschlichen Metabolismus (Chiang et al. 1996). Es ist am Umsatz verschiedenster Hormone (z.B. Noradrenalin und Adrenalin), Neurotransmitter und Nukleinsäuren beteiligt. Etwa 1000 Methylierungsreaktionen mit Beteiligung des SAMs sind bekannt (Chiang et al. 1996).

Vor allem sind Zellwachstum und Zelldifferenzierung mit Methylierungen von Proteinen eng verbunden. Diese Schlüsselfunktion zeigt, dass eine mangelnde Verfügbarkeit von SAM Auswirkungen auf viele Zellfunktionen hat. Hypomethylierungen der DNA sind Merkmale von maligne entarteten Zellen (Feinberg et al. 1995 und 2002). SAM spielt weiterhin eine wichtige Rolle bei der Zellmembranensynthese. Aus Phosphatidylethanolamin und drei CH₃-Gruppen (von SAM bereitgestellt) wird Phosphatidylcholin produziert. Diese Phosphoglyzeride haben besonders im Nervengewebe einen hohen Umsatz. Beim Gesunden werden täglich ca. 6-8 g SAM produziert, woraus etwa 800 mg freie Methylgruppen gebildet werden (Matsubara et al. 1992).

Im Hcy-Metabolismus übernimmt SAM wichtige Regulierungsfunktion. SAM agiert als allosterischer Hemmer für die Remethylierung des Hcy, indem es die MTHFR und somit die Synthese von 5-MTHF hemmt (Jencks et al. 1987). Außerdem wirkt SAM als positiv allosterischer Aktivator der CBS und aktiviert so die Transsulfurierung des Hcy (Finkelstein et al. 1975).

SAM wird therapeutisch in der Therapie der Psychose, Depression (Kagan et al. 1990) und Migräne (Friedel et al. 1989) eingesetzt. Bei Pavianen konnte SAM den alkoholtoxischen Leberschaden und den Glutathionmangel vermindern (Lieber et al. 1990). Sowohl oral als auch parenteral hat SAM jedoch eine schlechte Bioverfügbarkeit und kann wahrscheinlich

nicht in intakte Zellen aufgenommen werden, was den therapeutischen Einsatz limitiert (Ueland 1982).

6.1.10 S-Adenosylhomocysteine (SAH)

Chemisch entspricht SAH dem demethylierten SAM. Um den Methioninmetabolismus aufrechtzuerhalten, muss SAH abgebaut werden. Alle Zellen enthalten das Enzym SAH-Hydrolase, das SAH zu Hcy und Adenosin hydrolysiert. Diese Reaktion ist reversibel, und das Gleichgewicht befindet sich aufseiten des SAH (De la Haba et al. 1959). Das entstandene Adenosin wird über verschiedene Schritte in ATP umgewandelt und steht so erneut für die Methioninaktivierung zu SAM zur Verfügung. SAH ist als Vorläufer der Hyperhomocysteinämie erhöht. Es ist ein starker Inhibitor für die Aktivität der Methyltransferasen (Kerr 1972). Die Hyperhomocysteinämie führt zu einer erhöhten SAH-Konzentration und folglich zu einer gehemmten Methyltransferaseaktivität. SAH kann deren Aktivität um bis zu 50-70% reduzieren (Wang et al. 1997). Damit die SAM-abhängige Transmethylierung nicht vollständig blockiert wird, wird SAH zu Adenosin und Hcy umgewandelt. Die pharmakologische Blockierung der SAH-Hydrolase führt zur intrazellulären SAH-Erhöhung. Spezifische SAH-Hydrolaseinhibitoren hemmen die Methylierung von Proteinen, Phospholipiden, RNA und DNA (Chiang et al. 1996). Da vor allem Lymphozyten auf die Aktivierung durch Methylierung angewiesen sind (German et al. 1983), unterdrücken die SAH-Hydrolaseinhibitoren auch die Immunantwort durch selektive Hemmung der T-Zellproliferation und IL-2-Produktion (Wolos et al. 1993 a+b).

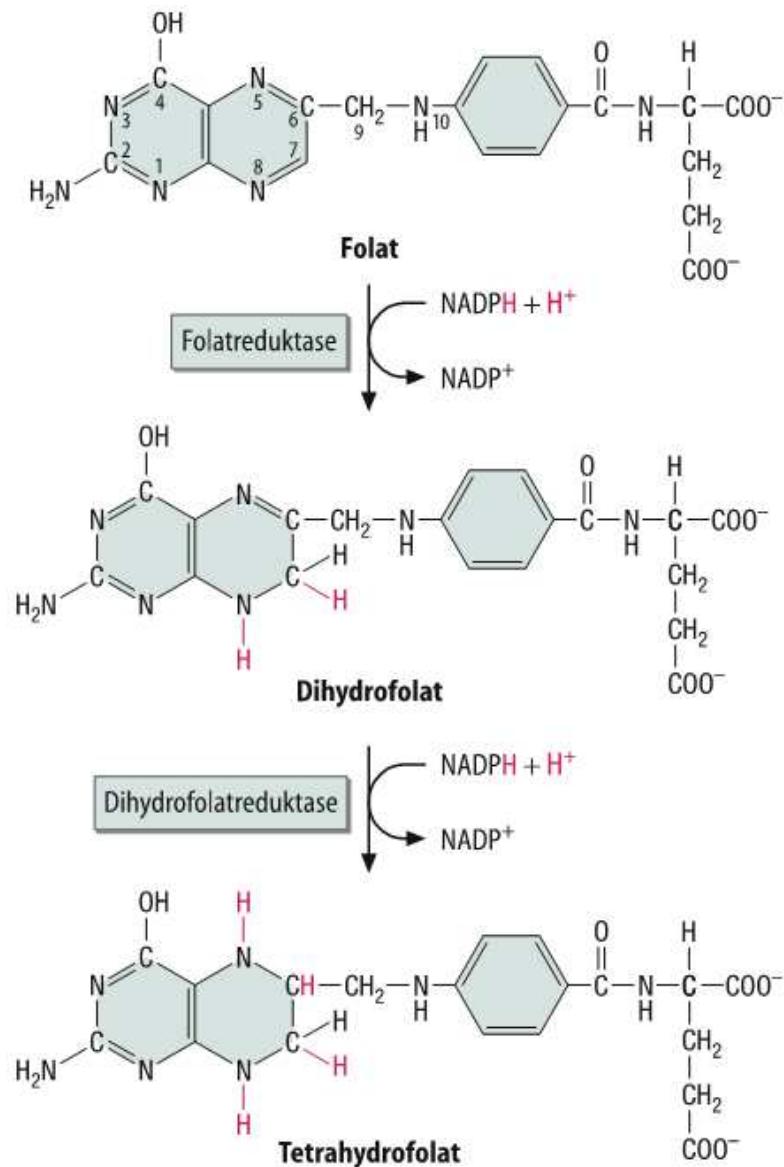
6.2 Folat

Folat gehört zur Gruppe der B-Vitamine. Es fungiert als Koenzym und spielt eine wichtige Rolle bei Ein-Kohlenstoffübertragungen. Somit ist Folat für die DNA-Biosynthese unerlässlich. Weiterhin wird Folat zur Remethylierung des Hcy zu Methionin benötigt (Donnelly 2001; Löffler 2007).

Unter dem Begriff Folat fasst man mehrere Derivate zusammen, die alle das gleiche chemische Grundskelett aufweisen. Folat ist ein kleines wasserlösliches Molekül, das aus einem Pteridinkern (2-Amino-4-hydroxypteridin), p-Aminobenzoësäure und L-Glutamat (mit 1 bis 9 Glutaminresten) aufgebaut ist. Als Folate bezeichnet man die Derivate, die sich vom

Grundskelett des Folats ableiten. THF ist die biologisch aktive Form des Folats. Es entsteht durch stufenweise Reduktion unter Verbrauch von zwei Molekülen NADPH. Als Zwischenprodukt entsteht 7,8-Dihydrofolat (Donnelly 2001; Löffler 2007). Der Metabolismus des Folats ist in Abb. 15 gezeigt.

Abb.15: Bildung von Tetrahydrofolat aus Folat



6.2.1 Folatquellen in der Nahrung

Folat kommt sowohl in tierischen als auch in pflanzlichen Produkten vor. Vor allem Leber, Pilze und grünes Gemüse sind reich an Folat. In der Nahrung findet sich Folat vor allem als Polyglutamat-Derivat von THF (Lucock 2000).

Die meisten Nahrungsfolate sind unstabil und können infolge von Hitze, Licht oder Metallionen schnell oxidiert werden. Daher ist wohl der Anteil der biologisch aktiven Form reduziert, wenn folatreiche Nahrung gekocht wird. Andererseits ist Folsäure ein hitzestabiles Molekül (Lucock 1995). Auf Grund dessen erwartet man von Nahrungsergänzungsmittel wie Vitaminpräparaten, die mit Folat angereichert sind, eine höhere (30 bis 80%) Folsäure-Bioverfügbarkeit als bei natürlich vorkommenden Folaten. Die Polyglutamatform, in der die Folate in der Nahrung hauptsächlich vorliegen, kann nicht resorbiert werden. In der Bürstensaummembran des Duodenum und Jejunum werden daher die Glutamylreste mithilfe von γ -Glutamylcarboxypeptidasen und lysosomalen Exopeptidasen abgespalten (Chandler et al. 1986). Das Folat liegt so als Monoglutamat vor und kann leicht mit Hilfe von Transportern resorbiert werden. Werden größere Mengen an Folsäure aufgenommen, wie es in der Frühschwangerschaft empfohlen wird, werden diese beinahe quantitativ resorbiert. Nach oraler Gabe ist die maximale Plasmakonzentration nach 1-2 Stunden erreicht. Intrazellulär werden die Monoglutamate mithilfe der γ -Glutamatsynthetase wieder zu Polyglutamaten konjugiert und können in dieser Form gespeichert und im intrazellulären Stoffwechsel umgesetzt werden (Steinberg et al. 1983; Lowe et al. 1993). So wird ein Gradient aufrechterhalten, der die Aufnahme von Monoglutamat in die Zelle begünstigt (Sierra et al. 1999).

Der intrazelluläre Folatpool besteht zu ca. 95% aus der Polyglutamatform. Dabei ist die Zellteilungsrate proportional zum intrazellulären Folatspeicher (Steinberg et al. 1983). Im Serum wird hauptsächlich 5-MTHF transportiert (ca. 80%), das unspezifisch an Albumin, α -Makroglobulin und Transferrin gebunden ist. Ein kleiner Teil wird sehr spezifisch mit einem folatbindenden Protein transportiert (Antony et al. 1985). Weiterhin liegt ein Drittel in ungebundener Form vor.

Die Folatausscheidung im Urin ist bei normaler, bedarfsadäquater Folatzufuhr gering. Aufgrund tubulärer Rückresorption in der Niere beträgt die Ausscheidung biologisch aktiver

Folatformen ca. 10 bis 20% der resorbierten Folatmonoglutamatmenge (Loew et al. 1987). Auch biologisch inaktive Abbauprodukte werden über den Urin ausgeschieden. Liegt die Folataufnahme unterhalb des Bedarfs, wird die Folatexkretion minimiert, während bei erheblicher Überschreitung der Bedarfsmenge die Rückresorptionskapazität der Niere überfordert wird und die Folatkonzentration im Urin in Abhängigkeit von der zugeführten Menge ansteigt (Williams et al. 1982). Die fäkale Folatausscheidung umfasst neben nicht resorbierten Nahrungsfolaten auch enteral synthetisierte Folatverbindungen, die nach allgemeiner Auffassung nicht wesentlich zur Folatbedarfsdeckung beitragen.

Der Plasmareferenzbereich für Folat liegt zwischen 5-25 ng/ml (11,5-57,4 nmol/l). Da in der Schwangerschaft ein erhöhter Bedarf an Ein-Kohlenstoffeinheiten, die von THF bereitgestellt werden, für die *De-novo*-Synthese von Purinen und Pyrimidinen besteht und eine klare Assoziation von Folatmangel und dem Auftreten von Neuralrohrdefekten (*neural tube defects* - NTD) nachgewiesen werden konnte, wird Frauen, die eine Schwangerschaft planen und Schwangeren in der Frühschwangerschaft die Einnahme von bis 400 bis zu 800 µg Folsäure täglich empfohlen. Die Leber ist wichtigstes Speicherorgan der Folate (van der Put et al. 2001).

6.2.2 Biochemie des Folats

In der Zelle fungiert 5-MTHF als Methylgruppendonor für die Remethylierung von Hcy zu Methionin und wird selbst zu THF. Methionin ist der Antrieb für die Synthese von SAM, dem wichtigsten Methylgruppendonor für DNA, RNA, Proteine und Phospholipide. Bei Folatmangel wird weniger Methionin produziert, was zu verminderten Konzentrationen von SAM führt. Mangel an SAM führt zu Hypomethylierung. THF, das nach Demethylierung von 5-MTHF entsteht, wird in mehreren Reaktionen als Substrat benutzt. THF kann in 10-Formyl-THF umgewandelt werden. Diese Reaktion wird durch das Enzym Methyltetrahydrofolatdehydrogenase (MTHFD) katalysiert. Die MTHFD katalysiert weiterhin die reversible Reaktion von 10-Formyl-THF zu 5,10-Methenyl-THF, und dieses erneut weiter zu 5,10-Methenyl-THF (Hum et al. 1988).

Der Folatmetabolismus stellt Ein-Kohlenstoffeinheiten zur Synthese von der Purine Adenin und Guanin zur Verfügung, die Bausteine der DNA sind. Ein weiterer DNA-Baustein ist das Pyrimidin Thymin, dessen Synthese durch die Thymidilatsynthase katalysiert wird. In dieser

Reaktion überträgt 5,10-Methylen-THF seine Methylengruppe auf dUMP. Es entstehen dTMP und Dihydrofolat (DHF). Durch die als Hilfsenzym wirkende Dihydrofolatreduktase wird DHF mithilfe von NADPH+H⁺ wieder in THF umgewandelt. THF kann unter Katalyse der Serin-Hydroxymethyl-Transferase einen -CH₂-OH-Rest des Serins aufnehmen und liegt nach Wasserabspaltung wieder als 5,10-Methylen-THF vor. Beide Enzyme benötigen Vitamin B6 als Koenzym. Hier wird deutlich, dass die Geschwindigkeit des Thymin-Stoffwechsels eng mit dem Folatstoffwechsel verknüpft ist (Löffler 2007).

Bei jeder Verminderung des Folatangebots bzw. der zur Verfügung stehenden Folate muss es zu einer Störung der Thymidinkukleotid-Biosynthese und damit der DNA-Replikation kommen. Mangel an Thymin führt nämlich zum fälschlichen Einbau von Uracil während der Replikation in die DNA (Blount et al. 1997). Uracil-Fehleinbau führt zu vermehrten Doppelstrangbrüchen und kann bei der notwendigen Basenexzisionsreparatur zur Induktion von Punktmutationen führen (Duthie et al. 1998; Melnyk et al. 1999; Kunz 1988). 5,10-Methylen-THF wird letztlich durch die MTHFR zu 5-MTHF reduziert.

6.2.3 Folat und Neuralrohrdefekte (NTD)

Die MTHFR spielt eine zentrale Rolle für die Folatverfügbarkeit und Hcy-Remethylierung. Wie bereits beschrieben, führt die C677T-Mutation der MTHFR zu einer verminderten Aktivität und somit zu einem niedrigeren Angebot an 5-MTHF und zu verminderter Remethylierung von Hcy (van der Put et al. 1995 und 1997). Die MS wird nicht nur für die Remethylierung von Hcy zu Methionin benötigt, sondern spielt auch eine Rolle bei der Produktion des Membranlipids Myelin, das die Myelinscheide aufbaut. Vor allem die homozygote Form der Mutation ist mit einem erhöhten Risiko für Neuralrohrdefekte (NTD) assoziiert. Verminderte Remethylierung des Hcy führt zu verminderter Methioninsynthese, was zur Minderung der Methylierung von DNA, RNA und Proteinen beiträgt. Der MTHFR 677 TT-Genotyp konnte mit genereller DNA-Hypomethylierung in Zusammenhang gebracht werden. Interessanterweise konnte bei Personen dieses Genotyps, die einen hohen Folatspiegel aufwiesen, nachgewiesen werden, dass der Hcy-Anstieg nicht so stark ausgeprägt war. Dies deutet auf präventive Effekte für Folatsubstitution seitens dieser Personen hin. Frauen dieses Genotyps, die zusätzlich einen erniedrigten Folatstatus aufweisen, haben ein zusätzlich erhöhtes Risiko, ein Kind mit NTD zu bekommen (van der Put et al. 2001).

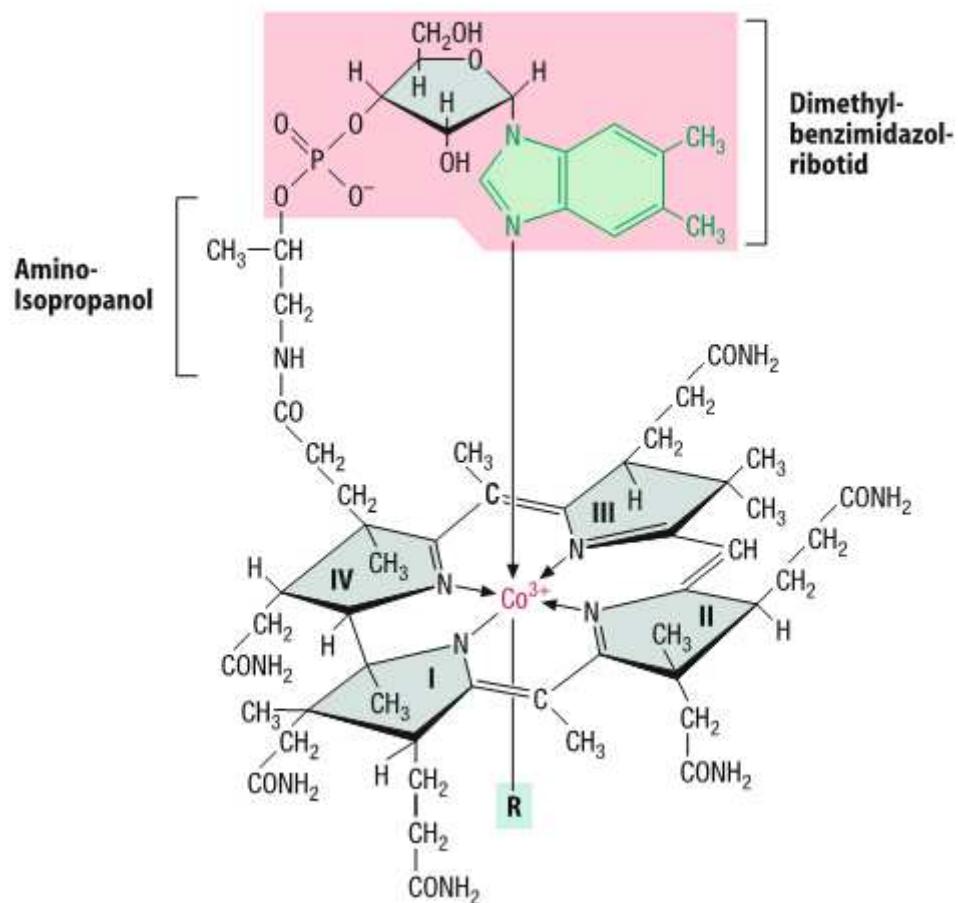
6.3 Vitamin B12

6.3.1 Struktur des Vitamins B12

Das Vitamin B12-Molekül hat eine einzigartige chemische Struktur (Abb. 16). Es ist aus einem Corrinringsystem aufgebaut, das dem Porphyrinkern des Häm-Moleküls gleicht, wobei die Corrinstruktur des Vitamin B12 nicht wie im Häm Eisen, sondern Kobalt als zentralen Stoff enthält. Daher wird Vitamin B12 auch als Kobalamin bezeichnet und ist das einzige biologisch wichtige Molekül, das Kobalt enthält. Kobalamin weist nur drei alpha-Methan-Brücken auf, während es im Häm vier sind (Löffler et al. 2007).

Cyanokobalamin ist ein synthetisches Derivat des Kobalamins. In dieser Form wird das Vitamin B12 in pharmazeutischen Präparaten verwendet. Cyanokobalamin ist ein hitze- und lichtstables Molekül, wird aber biologisch erst aktiv, wenn es *in vivo* in Hydroxykobalamin hydrolysiert werden kann (Löffler et al. 2007).

Abb.16: Struktur des Vitamins B12



6.3.2 Vitamin B12-Quellen in der Nahrung

Die einzige bekannte Quelle für Vitamin B12 ist die bakterielle Synthese. Pflanzen, Tiere und Menschen können kein Vitamin B12 produzieren. Für Tiere ist die Menge des Vitamins B12, das Bakterien in ihrem Kolon produzieren und sie aufnehmen, ausreichend. Menschen müssen Vitamin B12 über tierische Nahrungsmittel aufnehmen. Fleisch, Fisch, Leber, Niere, Eier und Milchprodukte sind geeignete Kobalamin-Lieferanten, in pflanzlichen Nahrungsmitteln hingegen ist kein Vitamin B12 enthalten (Herbert 1988). Veganer sind daher auf die unzureichende Produktion von Vitamin B12 angewiesen (Herbert 1994). Im Gegensatz zum Folsäure ist Vitamin B12 ein verhältnismäßig stabiles Molekül, das durch die Nahrungsmittelzubereitung kaum zerstört wird.

6.3.3 Intestinale Absorption und Bioverfügbarkeit des Vitamins B12

In der Nahrung liegt Vitamin B12 an Nahrungsproteine gebunden vor. Im Magen wird Vitamin B12 durch Peptidasen von den Proteinen gelöst, an Haptocorrin gebunden und ins Duodenum gebracht. Im Duodenum ist der pH-Wert neutral. Hier löst sich Haptocorrin mithilfe von Pankreasenzymen leichter vom Vitamin B12, sodass dieses an *intrinsic factor* (IF) binden kann. IF ist ein Glykoprotein, das von den Parietalzellen des Magens produziert wird. Der IF-Vitamin B12-Komplex kann im proximalen Ileum mithilfe eines rezeptorvermittelten Endozytoseprozesses in die Mukosazelle aufgenommen werden (Seetharam 1999).

In den Enterozyten wird Vitamin B12 an Transcobalamin II gebunden. Transcobalamin II ist ein Nicht-Glykoprotein, das von vielen Zelllinien produziert wird und Kobalamin zu allen DNA-produzierenden Zellen transportiert (Seetharam 1999). Nur 20% des Vitamins B12 sind im Serum an Transcobalamin II gebunden. Diesen Anteil bezeichnet man als HoloTC oder auch als aktives B12. Der Hauptanteil (80%) ist an Haptocorrin (Holo-HC genannt) gebunden und hat keine biologische Funktion. Es wird als zirkulierendes Speichern cobalamin charakterisiert, das den Speichergehalt der Leber anzeigt (Seetharam 1999).

Da HoloTC für den Transport von Vitamin B12 zu den Zellen zuständig ist, kann es als früher Indikator für eine negative Vitamin B12-Bilanz herangezogen werden und ist wohl ein besserer Marker für den Vitamin B12-Status als das Gesamt-Plasma-Vitamin B12. Es wurde darüber berichtet, dass sich Vitamin B12-Substitution zunächst in einem starken Anstieg an HoloTC bemerkbar macht und erst später ein geringerer Anstieg im HoloTC bemerkbar ist. (Lindenbaum et al. 1988; Savage et al. 1994).

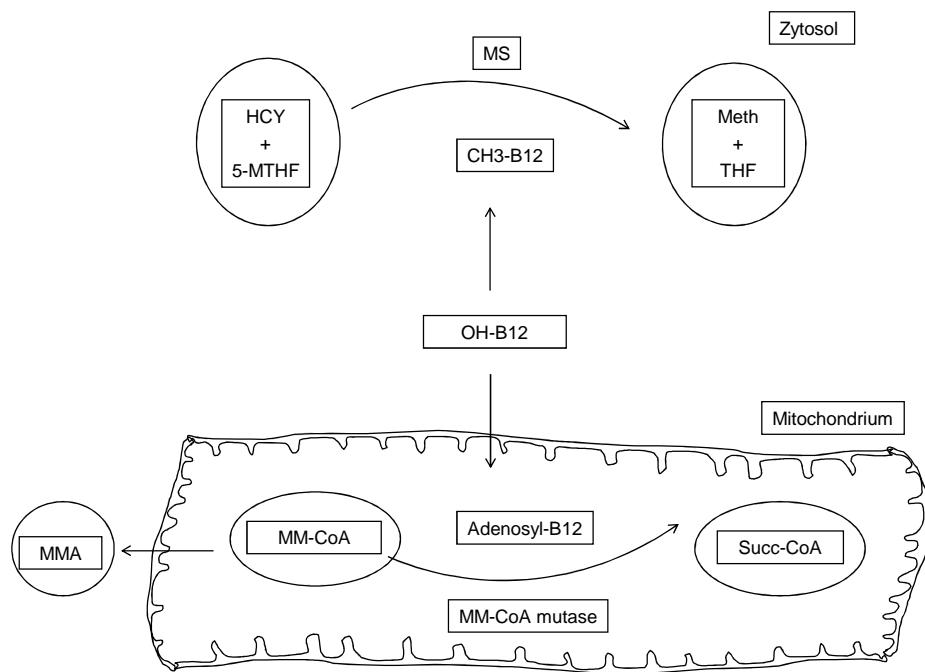
6.3.4 Plasmareferenzbereich, tägliche Aufnahme und Speicherung

Der Referenzbereich für die Plasmakonzentration des Vitamins B12 liegt bei 211-900 pg/ml (156-665 pmol/l). Die empfohlene tägliche Aufnahme liegt bei 3 µg für Erwachsene. Leber, Muskulatur und Niere sind Speicherorgane für Kobalamin. Über den Urin gehen täglich weniger als 1 µg verloren. Der Gesamtbestand an Kobalamin im Körper liegt bei 3 bis 5 mg (Löffler et al. 2007).

6.3.5 Biochemie des Vitamins B12

Beim Menschen spielt Kobalamin in nur zwei verschiedenen Derivaten als Koenzym eine Rolle (Abb. 17). Methylkobalamin und 5-Desoxyadenosylkobalamin sind Kofaktoren für das zytosolische Enzym MS und die mitochondriale Methylmalonyl-CoA-Mutase. Kobalamin determiniert die Aktivität der MS und somit die Remethylierungsgeschwindigkeit von Hcy zu Methionin. Dieser Schritt sorgt auch für die weitere Bereitstellung von aktiven Folaten. Bei der Remethylierung wird zunächst eine Methylgruppe von 5-MTHF auf Kobalamin übertragen. Es entsteht Methylkobalamin. Die Methylgruppe wird weiter auf Hcy übertragen. Es entstehen wieder Kobalamin und Methionin. Diese Abhängigkeit offenbart, dass Kobalaminmangel zu einem Hcy-Anstieg führt. Adenosylkobalamin ist ein Kofaktor der Methylmalonyl-CoA-Mutase in den Mitochondrien und somit an der Isomerisierungsreaktion von Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA beteiligt (Kräutler et al. 2005). Bei Kobalaminmangel ist diese Reaktion nicht möglich. Methylmalonyl-CoA wird dann alternativ zu MMA hydrolysiert. Der MMA-Plasmaspiegel gilt als sensitiver Marker für ein Kobalamindefizit und ist von diagnostischer Bedeutung (Cox et al. 1962). Als Kobalamin-Analoga werden dem Vitamin B12 strukturell ähnliche Moleküle bezeichnet, die biologisch inaktiv sind.

Abb.17: Vitamin B12-abhängige Reaktionen



HCY=Homocystein; 5-MTHF=5-Methyltetrahydrofolat; Meth=Methionin; MMA=Methylmalonsäure; MM-CoA=Methylmalonyl-CoA; MS=Methioninsynthase; Succ-CoA=Succinyl-CoA; THF=Tetrahydrofolat

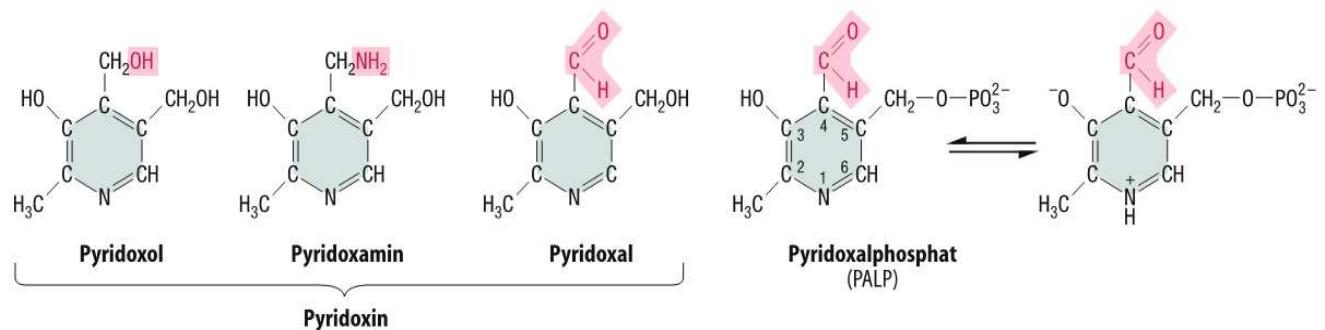
6.4 Vitamin B6

Vitamin B6 wird auch als Pyridoxin bezeichnet und fasst eine Gruppe von Verbindungen der 2-methyl-3-hydroxy-4,5-Pyridine mit biologischer Pyridoxinaktivität zusammen (Löffler 2007).

6.4.1 Struktur des Vitamins B6

Das Vitamin B6-Grundgerüst besteht aus einem Pyridinring. Die einzelnen Verbindungen unterscheiden sich nur durch Reste und sind leicht ineinander überführbar (Abb. 18). Wenn das Vitamin B6 als Alkohol vorliegt (-CH₂OH), bezeichnet man es als Pyridoxin, der Aldehyd heißt es Pyridoxal (-CHO) und das Amin Pyridoxamin (-CH₂NH₂). Die Phosphorsäureester Pyridoxin-5-Phosphat (PNP), Pyridoxal-5-phosphat (PLP) und Pyridoxamin-5-Phosphat (PMP) spielen im Körper auch eine Rolle. Vitamin B6 weist im Vergleich zum Folat eine bessere Stabilität auf. Durch Lagerung und Kochen gehen maximal 10-50% des Vitamins verloren (Löffler 2007).

Abb.18: Pyridoxol, Pyridoxamin und Pyridoxal sowie das Koenzym Pyridoxalphosphat



6.4.2 Vitamin B6-Quellen in der Nahrung

Besonders in Fleisch, Milch- und Vollkornprodukten, Kartoffeln und Gemüse ist Vitamin B6 enthalten (Löffler 2007).

6.4.3 Absorption und Bioverfügbarkeit des Vitamins B6

Trotz möglicherweise unterschiedlicher Kinetik werden die Vitamin B6-Verbindungen im gesamten Darm und vor allem im proximalen Dünndarm durch passive Resorption gut und effektiv aufgenommen. Die Bioverfügbarkeit liegt bei 75%. Vitamin B6 liegt als Kofaktor enzymgebunden vor. Der größte Teil ist an Glykogenphosphorylase gebunden (75-80%). Mehr als 90% des PLP im Plasma ist an Albumin gebunden. Hauptabbauprodukt des PLP ist die 4-Pyridoxinsäure (Löffler 2007).

6.4.4 Plasmareferenzbereich, tägliche Aufnahme und Speicherung

Der tägliche Bedarf an Vitamin B6 ist von der aufgenommenen Proteinmenge abhängig und beträgt 1,1-2,0 mg. Während einer Schwangerschaft kann der Bedarf auf 5 mg/d steigen, um den PLP-Spiegel aufrechtzuerhalten (Schuster et al. 1984). Im Plasma sollten der PLP-Spiegel über 20 nmol/l und das Gesamtvitamin B6 über 40 nmol/l liegen. Eigene Speicher gibt es

nicht. Das Vitamin ist als funktioneller Kofaktor meist enzymgebunden. Im menschlichen Körper hat Vitamin B6 eine Konzentration von etwa 1000 μmol (Löffler 2007).

6.4.5 Biochemie des Vitamins B6

Derzeit sind mehr als hundert enzymatische Reaktionen bekannt, die Vitamin B6 als Koenzym benötigen (Bender 1994). Beispiele sind die Synthese von Adrenalin, Noradrenalin, Niacin, Tyramin, Kollagen, Dopamin oder 5-Hydroxytryptamin. Im Hcy-Metabolismus ist PLP Koenzym für die Serin-Hydroxymethyltransferase, die γ -Cystathionase und die CBS. Bei Vitamin B6-Mangel ist Cys, das sich im Substrat der γ -Cystathionase befindet, im Serum bzw. im Urin erhöht. Schon bei geringen B6- Defiziten ist die Transsulfurierung vermindert (Ubbink et al. 1996). Im Tierversuch konnte unter Vitamin B6-Mangel eine Reduktion der Methioninbildung aus Serin um 81% und eine verminderte Verfügbarkeit von 5-MTHF als Substrat für die Remethylierung festgestellt werden. Weiterhin konnten ein reduzierter Proteinumsatz und ein geringeres Wachstum der Tiere festgestellt werden (Martinez et al. 2000).

6.5 RAGE/esRAGE

Unter Hyperglykämie wie bei Diabetes mellitus werden viele intrazelluläre und Plasmaproteine glykosyliert und chemisch reformiert, sodass „*advanced glycation end products*“ (AGE) produziert werden (Brownlee et al. 1988). AGE sind für die Perizyten und Endothelzellen toxisch (Sakurai et al. 2003). AGE spielen auch eine signifikante Rolle bei der Alzheimer-Krankheit durch die Glukolysierung von β -Amyloid und Protein Tau (Münch et al. 2003). Der AGE-Rezeptor (RAGE) ist ein Protein der zellulären Oberfläche. Er ist an Phagozyten, Endothelzellen, Gefäßen der glatten Muskeln und im Zentralnervensystem verortet (Brett et al. 1993).

„*Extracellular soluble RAGE*“ (esRAGE) ist eine Variante von RAGE, das die Effekte von AGE auf die Zellen neutralisiert (Sakurai et al. 2003). Dieses Molekül befindet sich in der extrazellulären Matrix sowie in der Blutzirkulation.

6.6 Assoziation zwischen Homocysteinmetabolismus, altersbedingter Makuladegeneration und Pseudoexfoliation

Die Assoziation zwischen Hyperhomocysteinämie und Augenerkrankungen ist bisher reichlich beschrieben. Allerdings wird die Assoziation zwischen AMD und Hyperhomocysteinämie kontrovers diskutiert (Rochtchina et al. 2007, Nowak et al. 2005, Heuberger et al. 2002, Seddon et al. 2006). Eine Studie, die Patienten mit AMD und Hyperhomocysteinämie untersuchte, beobachtete signifikant höhere Hcy-Konzentration bei Patienten mit fortgeschrittener AMD im Vergleich zu den Kontrollen (Seddon et al. 2006). Dieses Ergebnis wurde bei anderen Studien auch beobachtet (Rochtchina et al. 2007, Kamburoglu et al. 2006). Außerdem wurde es darüber berichtet, dass eine Therapie gegen Hyperhomocysteinämie das Risiko für AMD um ca. 35-40% reduzieren kann (Christen et al. 2009).

In unserer Studie wurde kein signifikanter Unterschied in der Blutkonzentration von Hcy zwischen den Kontrollen und den Patienten mit AMD festgestellt. Daten des „*Third National Health and Nutrition Examination Survey*“ unterstützen auch keine Assoziation zwischen AMD und Hcy (Heuberger et al. 2002). Das gleiche Ergebnis wurde auch in anderen Studien gezeigt (Wu et al. 2007).

Die kontroversen Ergebnisse bei den Studien, die die Assoziation zwischen Hcy und AMD untersuchten, können zeigen, dass die Hyperhomocysteinämie kein unabhängiger Risikofaktor für AMD ist. Das Risiko für AMD wird eher durch multiple Faktoren definiert.

Bei PEX war die MMA-Konzentration signifikant höher im Vergleich zu den Kontrollen. Es lag keine signifikante Assoziation zwischen PEX und Hyperhomocysteinämie vor. Bei den Patienten mit PEX ohne arterielle Hypertonie zeigte sich jedoch eine grenzwertige Assoziation ($p=0,06$) zwischen PEX und Hcy. In unserer Studie war die PEX-Gruppe relativ klein ($n=22$). Dies lässt eine mögliche Assoziation zwischen PEX und Hcy-Konzentration im Blut vermuten.

Das PEX-Syndrom wurde aufgrund der ähnlichen Pathogenese als okulare „Alzheimer-Erkrankung“ bezeichnet. Das Aminosäureprofil des PEX-Materials ist vergleichbar mit dem von Amyloid, elastischen Mikrofibrillen und nicht kollagenen Basalmembran-Komponenten,

nicht aber mit Kollagen. Es wurde vermutet, dass das PEX-Material eine Form von Amyloid ist (Roedl et al. 2007).

Histochemische und immunhistochemische Versuchsansätze bei PEX deuten auf eine komplexe, enzymatisch resistente Glykoprotein/Proteoglykan-Verbindung aus einem Proteinkern, umgeben von Polysaccharidketten, hin. Schon die lichtmikroskopischen Färbeeingenschaften des PEX-Materials lassen auf einen Reichtum an Polysacchariden schließen. Andere Studien zeigten, dass PEX-Material eine Mischung aus Glykokonjugaten mit α -Mannosyl-, β -Galactosyl-, N-Acetyl-D-Galactosaminyl- und N-Acetyl-Neuramininsäure-Resten enthält. Auch das HNK-1 Epitop, eine für adhäsive Glykoproteine typische Kohlenhydratgruppe, konnte im PEX-Material nachgewiesen werden. Dabei scheint sich die Kohlenhydratzusammensetzung des intra- und extraokulären PEX-Materials zu unterscheiden. Weiterhin scheint das PEX-Material Heparansulfat-, Chondroitinsulfat- und Dermatansulfat-Proteoglykan und Hyaluronsäure zu enthalten. Der Proteinanteil des PEX-Materials enthält zum einen Epitope der wichtigsten Basalmembran-Komponenten wie z.B. Laminin, Nidogen/Entactin, Fibronektin, zum anderen aber auch Epitope des elastischen Fasersystems, wie z.B. Fibrillin, MAGP (*microfibrillar associated factor*), gp 115 (*elastin associates glycoprotein*), α -Elastin, Vitronektin und Amyloid P, wogegen die Kollagene Typ I, II, III, IV, VI, und VIII offensichtlich fehlen (Naumann 1997).

Das PEX-Syndrom ist mit oxidativem Stress assoziiert. Nach Schlötzer-Schrehardt ist PEX mit reduzierten Niveaus von Antioxidantien wie Glutathion, sowie mit erhöhten Werten von Hcy im Kammerwasser und Serum assoziiert (Schlötzer-Schrehardt 2010). Roedl et al. zeigten auch bei Patienten mit PEX eine Hyperhomocysteinämie sowie einen Mangel von Vitamin B6, B12 und Folat (Roedl et al. 2007).

6.7 esRAGE, Homocystein und Augenerkrankungen

Unsere Studie zeigte, dass die Hcy-Konzentration im Plasma mit der esRAGE-Konzentration im Kammerwasser assoziieren kann. Diese negative Korrelation wurde bei den Kontrollen und den Patienten mit trockener AMD beobachtet. Bei der feuchten AMD wurde diese Assoziation nicht beobachtet. Das könnte für einen übermäßigen Verbrauch von esRAGE durch inflammatorische Faktoren und oxidativen Stress bei den Patienten mit feuchter AMD sprechen. Die Glutathionerschöpfung kann die Erhöhung des esRAGE-Niveaus bei Hyperhomocysteinämie verursachen (Hofmann et al. 2001). Andere Studien berichteten über

eine positive Korrelation zwischen Glutathion und esRAGE (Hernanz et al. 2007). Außerdem wurde eine positive Korrelation zwischen AGEs und Hcy bei Patienten mit Nierenerkrankung beobachtet (Franke et al. 2003).

Die Patienten mit höheren esRAGE-Niveaus hatten auch höhere Folat- und Kobalaminkonzentrationen im Blut. Das heißt, dass die B-Vitamine durch Erhöhung des esRAGE zellprotektiv sein können. Studien, die einen nützlichen Effekt von B-Vitamin-Therapie bei früheren AMD-Stadien zeigten, unterstützen unsere Ergebnisse (Christen et al. 2009).

Die Assoziation zwischen dem Hcy-Metabolismus und esRAGE soll weiter erforscht werden. Niedrige Hcy- sowie höhere Folat- und Kobalamin-Konzentrationen können mit höheren esRAGE-Konzentrationen im Kammerwasser assoziiert sein. Dies kann für das Auge durch Reduktion der AGEs protektiv sein. Patienten mit Diabetes mellitus und diabetischer Retinopathie zeigten höhere AGEs-Niveaus im Glaskörper im Vergleich zu den Kontrollen (Yokoi et al. 2003). Die Glykolisierung kann auch bei Patienten mit AMD nachgewiesen werden. RAGE-Niveaus waren bei Patienten mit AMD im *Post-mortem*-Gewebe erhöht (Yamada et al. 2006). Immunreaktive AGEs wurden in Drusen nachgewiesen und zeigten erhöhte Niveaus bei AMD-Patienten (Yamada et al. 2006, Glenn et al. 2009).

Hcy ist für die retinale Ganglienzellen toxisch (Moore et al. 2001). Außerdem erhöht Hcy die Apoptose von retinalen Neuronen, wenn das Glutamat auch erhöht ist. Eine *In vitro*-Studie in Netzhäuten von Ratten zeigte, dass toxische Hcy-Konzentrationen die äußere Körnerschicht, die innere Körnerschicht und die Ganglienzellschicht der Netzhaut beschädigen (Viktorov et al. 2009).

6.8 Limitationen

PEX, AMD und Katarakt können sich häufig gleichzeitig bei älteren Patienten manifestieren. Die meisten Patienten mit AMD und PEX haben auch eine Katarakt und viele Patienten mit PEX haben gleichzeitig eine AMD. Dies war die Limitation unserer Studie. Die Eingruppierung der Patienten fand nach der klinischen Hauptdiagnose statt, d.h. nach der Diagnose, die am meisten ausgeprägt war und die meisten klinischen Beschwerden verursachte. Patienten, die mehrere gleich schwere altersbedingte Erkrankungen hatten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Die Kataraktgruppe wurde als Kontrollgruppe

genommen, da eine Kammerwasserentnahme bei gesunden Probanden aus ethischen Gründen nicht möglich ist.

6.9 Schlussfolgerung

Zusammenfassend beobachteten wir keine signifikante Assoziation zwischen Hcy-Konzentration im Blut, PEX und AMD. Die arterielle Hypertonie korrelierte mit höherem Hcy. Höhere Konzentrationen von esRAGE im Kammerwasser wurden mit höheren Konzentrationen von Kobalamin und Folat sowie niedrigeren Konzentrationen von Hcy im Blut in Zusammenhang gebracht, was für eine protektive Rolle der B-Vitamine gegen glykosilierungsbedingte Augenerkrankungen sprechen kann.

7. Literaturverzeichnis

1. Age-Related Eye Disease Study Research Group (2001) A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Archives of Ophthalmology*. 119:1417-36.
2. Al-Essa MA, Ozand PT (2000) Atlas of common lysosomal and peroxisomal disorders - manual of metabolic diseases. *Ann Biol Clin (Paris)*. 58(6):767-8.
3. Andersson A, Hultberg B, Brattström L, Isaksson A (1992) Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 30(6):377-9.
4. Antony AC, Kane MA, Portillo RM, Elwood PC, Kolhouse JF (1985) Studies of the role of a particulate folate-binding protein in the uptake of 5-methyltetrahydrofolate by cultured human KB cells. *J Biol Chem*. 260(28):14911-7.
5. Aström S, Linden C (2007) Incidence and prevalence of pseudoexfoliation and open-angle glaucoma in northern Sweden: I. Baseline report. *Acta Ophthalmol Scand*. 85:828-31.
6. Attilakos A, Papakonstantinou E, Schulpis K, Voudris K, Katsarou E, Mastroyianni S, Garoufi A (2006) Early effect of sodium valproate and carbamazepine monotherapy on homocysteine metabolism in children with epilepsy. *Epilepsy Res*. 71(2-3):229-32.
7. Augusteyn RC (2007) Growth of the human eye lens. *Mol Vis*. 13:252-7.
8. Augustin AJ, Puls S, Offermann I (2007) Triple therapy for choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration: verteporfin PDT, bevacizumab, and dexamethasone. *Retina*. 27:113-40.
9. Axer-Siegel R, Bourla D, Ehrlich R, Dotan G, Benjamini Y, Gavendo S, Weinberger D, Sela BA (2004) Association of neovascular age-related macular degeneration and hyperhomocysteinemia. *Am J Ophthalmol*. 137(1):84-9.
10. Azab M, Boyer DS, Bressler NM, Bressler SB, Cihelkova I, Hao Y, Immonen I, Lim JI, Menchini U, Naor J, Potter MJ, Reaves A, Rosenfeld PJ, Slakter JS, Soucek P, Strong HA, Wenkstern A, Su XY, Yang YC; Visudyne in Minimally Classic Choroidal

Neovascularization Study Group (2005) Verteporfin therapy of subfoveal minimally classic choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: 2-year results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol.* 123:448-57.

11. Backhouse O, Parapia L, Mahomed I, Lee D (2000) Familial thrombophilia and retinal vein occlusion. *Eye (Lond).* 14(1):13-7.
12. Bair B, Dodd J, Heidelberg K, Krach K (2011) Cataracts in atopic dermatitis: a case presentation and review of the literature. *Arch Dermatol.* 147(5):585-8.
13. Bendek GB (1971) Theory of transparency of the eye. *Appl Opt.* 10:459-73.
14. Bender DA (1994) Novel functions of vitamin B6. *Proc Nutr Soc.* 53(3):625-30.
15. Blount BC, Mack MM, Wehr CM, MacGregor JT, Hiatt RA, Wang G, Wickramasinghe SN, Everson RB, Ames BN (1997) Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 94(7):3290-5.
16. Brattström L, Israelsson B, Lindgärde F, Hultberg B (1988) Higher total plasma homocysteine in vitamin B12 deficiency than in heterozygosity for homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Metabolism.* 37:175-8.
17. Brattström L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L (1998) Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation.* 98(23):2520-6.
18. Bressler NM, Bressler SB, West SK, Fine SL, Taylor HR (1989) The grading and prevalence of macular degeneration in Chesapeake Bay watermen. *Arch Ophthalmol.* 107:847-52.
19. Bressler NM (2004) Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. *JAMA.* 291:1900-1.
20. Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D, Nowyngrod R, Neeper M, Przysiecki C, Shaw A, Migheli A, Stern D (1993) Survey of the distribution of a newly

- characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *Am J Pathol.* 143(6):1699-712.
21. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H (1988) Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic vascular disease. *Diabetes Metab Rev.* 4:437-51.
22. Cantoni GL (1951) Activation of methionine for transmethylation. *J Biol Chem.* 189(2):745-54.
23. Carlsen SM, Følling I, Grill V, Bjerve KS, Schneede J, Refsum H (1997) Metformin increases total serum homocysteine levels in non-diabetic male patients with coronary heart disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 57(6):521-7.
24. Carmel R, Jacobsen DW (eds) (2001) Homocysteine in Health and Disease. 1st ed. Cambridge University Press, Cambridge.
25. Carmel R, Vassireddy H, Aurangzeb I, George K (2001) High serum cobalamin levels in the clinical setting-clinical associations and holo-transcobalamin changes. *Clin Lab Haematol.* 23:365-71.
26. Carson NA, Neill DW (1962) Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child.* 37:505-13.
27. Cattaneo M (2001) Does tamoxifen enhance endothelial function by lowering the plasma levels of homocysteine? *Circulation.* 104(24):146-7.
28. Chakravarthy U, Wong TY, Fletcher A, Piault E, Evans C, Zlateva G, Buggage R, Pleil A, Mitchell P (2010) Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol.* 13:10-31.
29. Chandler CJ, Wang TT, Halsted CH (1986) Pteroylpolyglutamate hydrolase from human jejunal brush borders. Purification and characterization. *J Biol Chem.* 261(2):928-33.
30. Chiang PK, Gordon RK, Tal J, Zeng GC, Doctor BP, Pardhasaradhi K, McCann PP (1996) S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J.* 10(4):471-80.

31. Christen WG, Glynn RJ, Chew EY, Albert CM, Manson JE (2009) Folic acid, pyridoxine, and cyanocobalamin combination treatment and age-related macular degeneration in women: the Women's Antioxidant and Folic Acid Cardiovascular Study. *Arch Intern Med.* 169:335-41.
32. Ciulla TA, Harris A, Kagemann L, Danis RP, Pratt LM, Chung HS, Weinberger D, Garzozi HJ (2002) Choroidal perfusion perturbations in non-neovascular age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 86:209-13.
33. Coral K, Raman R, Rathi S, Rajesh M, Sulochana KN, Angayarkanni N, Paul PG, Ramakrishnan S (2006) Plasma homocysteine and total thiol content in patients with exudative age-related macular degeneration. *Eye (Lond).* 20(2):203-7.
34. Cox EV, White AM (1962) Methylmalonic acid excretion: an index of vitamin-B12 deficiency. *Lancet.* 2(7261):853-6.
35. Cross HE, Jensen AD (1973) Ocular manifestations in the Marfan syndrome and homocystinuria. *Am J Ophthalmol.* 75(3):405-20.
36. Danishpajoooh IO, Gudi T, Chen Y, Kharitonov VG, Sharma VS, Boss GR (2001) Nitric oxide inhibits methionine synthase activity in vivo and disrupts carbon flow through the folate pathway. *J Biol Chem.* 276(29):27296-303.
37. De Bree A, van der Put NM, Mennen LI, Verschuren WM, Blom HJ, Galan P, Bates CJ, Herrmann W, Ullrich M, Dierkes J, Westphal S, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD, Dekker JM, Nijpels GN, Araújo F, Cunha-Ribeiro LM, Refsum H, Vollset S, Nygard O, Ueland PM (2005) Prevalences of hyperhomocysteinemia, unfavorable cholesterol profile and hypertension in European populations. *Eur J Clin Nutr.* 59(4):480-8.
38. De la Haba G, Cantoni GL (1959) The enzymatic synthesis of S-adenosyl-L-homocysteine from adenosine and homocysteine. *J Biol Chem.* 234(3):603-8.
39. Delaye M, Tardieu A (1983) Short range order of crystallin proteins accounts for eye lens transparency. *Nature.* 302:415-17.

40. Di Crecchio L, Parodi MB, Sanguinetti G, Iacono P, Ravalico G (2004) Hyperhomocysteinemia and the methylenetetrahydrofolate reductase 677C-T mutation in patients under 50 years of age affected by central retinal vein occlusion. *Ophthalmology*. 111(5):940-5.
41. Dithmar S, Holz FG (eds) (2008) *Fluoreszenzangiographie in der Augenheilkunde*. 1st ed. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
42. Dolin PJ (1994) Ultraviolet radiation and cataract: a review of the epidemiological evidence. *Br J Ophthalmol*. 78:478-82.
43. Donnelly JG (2001) Folic acid. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 38:183-223.
44. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D (2001) Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest*. 81(5):645-72.
45. Duthie SJ, Hawdon A (1998) DNA instability (strand breakage, uracil misincorporation, and defective repair) is increased by folic acid depletion in human lymphocytes in vitro. *FASEB J*. 12(14):1491-7.
46. Farrar SM, Shields MB (1993) Current concepts in pigmentary glaucoma. *Surv Ophthalmol*. 37:233-52.
47. Feinberg AP, Cui H, Ohlsson R (2002) DNA methylation and genomic imprinting: insights from cancer into epigenetic mechanisms. *Semin Cancer Biol*. 12(5):389-98.
48. Feinberg AP, Rainier S, DeBaun MR (1995) Genomic imprinting, DNA methylation, and cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 17:21-6.
49. Finkelstein JD, Kyle WE, Martin JL, Pick AM (1975) Activation of cystathionine synthase by adenosylmethionine and adenosylethionine. *Biochem Biophys Res Commun*. 66(1):81-7.
50. Forsius H (1988) Exfoliation syndrome in various ethnic populations. *Acta Ophthalmol*. 66:71-85.

51. Franke S, Muller A, Sommer M, Busch M, Kentsch-Engel R, Stein G (2003) Serum levels of total homocysteine, homocysteine metabolites and of advanced glycation end-products (AGEs) in patients after renal transplantation. *Clin Nephrol.* 59:88-97.
52. Frauenfelder FT, Hanna C (1972) Electric cataracts. I: Sequential changes, unusual and prognostic findings. *Arch Ophthalmol.* 87:179-83.
53. Freund KB, Yannuzzi LA, Sorenson JA (1993) Age-related macular degeneration and choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol.* 115:786-91.
54. Friedel HA, Goa KL, Benfield P (1989) S-adenosyl-L-methionine. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in liver dysfunction and affective disorders in relation to its physiological role in cell metabolism. *Drugs.* 38(3):389-416.
55. Friedman E, Krupsky S, Lane AM, Oak SS, Friedman ES, Egan K, Gragoudas ES (1995) Ocular blood flow velocity in age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 102:640-6.
56. Friedman E (2000) The role of the atherosclerotic process in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 130:658-63.
57. Fukagawa NK, Martin JM, Wurthmann A, Prue AH, Ebenstein D, O'Rourke B (2000) Sex-related differences in methionine metabolism and plasma homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr.* 72(1):22-9.
58. Garg R, Malinow M, Pettinger M, Upson B, Hunninghake D (1999) Niacin treatment increases plasma homocysteine levels. *Am Heart J.* 138:1082-7.
59. Gaughan DJ, Kluijtmans LA, Barbaux S, McMaster D, Young IS, Yarnell JW, Evans A, Whitehead AS (2001) The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. *Atherosclerosis.* 157(2):451-6.
60. German DC, Bloch CA, Kredich NM (1983) Measurements of S-adenosylmethionine and L-homocysteine metabolism in cultured human lymphoid cells. *J Biol Chem.* 258(18):10997-1003.

61. Glenn JV, Stitt AW (2009) The role of advanced glycation end products in retinal ageing and disease. *Biochim Biophys Acta*. 1790:1109-16.
62. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, Feinsod M, Guyer DR; VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization Clinical Trial Group (2004) Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 351:2805-16.
63. Grajewski RS, Zurek-Imhoff B, Roesel M, Heinz C, Heiligenhaus A (2011) Favourable outcome after cataract surgery with IOL implantation in uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Acta Ophthalmol*. doi: 10.1111/j.1755-3768.2011.02110.x.
64. Grossniklaus HE, Gass JD (1998) Clinicopathologic correlation of surgically excised type 1 and type 2 submacular choroidal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol* 126:59-69.
65. Grubben MJ, Boers GH, Blom HJ, Broekhuizen R, de Jong R, van Rijt L, de Ruijter E, Swinkels DW, Nagengast FM, Katan MB (2000) Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 71(2):480-4.
66. Grunwald JE, Hariprasad SM, DuPont J, Maguire MG, Fine SL, Brucker AJ, Maguire AM, Ho AC (1998) Foveolar choroidal blood flow in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 39:385-90.
67. Guttormsen AB, Mansoor AM, Fiskerstrand T, Ueland PM, Refsum H (1993) Kinetics of plasma homocysteine in healthy subjects after peroral homocysteine loading. *Clin Chem*. 39(7):1390-7.
68. Guttormsen AB, Ueland PM, Lønning PE, Mella O, Refsum H (1998) Kinetics of plasma total homocysteine in patients receiving high-dose methotrexate therapy. *Clin Chem*. 44(9):1987-9.
69. Haab O (1885) Erkrankungen der macula lutea. *Zentralbl Augenheilkd*. 9:384-91.
70. Hak AE, Polderman KH, Westendorp IC, Jakobs C, Hofman A, Witteman JC, Stehouwer CD (2000) Increased plasma homocysteine after menopause. *Atherosclerosis*. 149(1):163-8.

71. Hanna C, Frauenfelder FT (1972) Electric cataracts. II: Ultrastructural lens changes. *Arch Ophthalmol.* 87:184-91.
72. Harding JJ (ed) (1991) Cataract: Biochemistry, epidemiology and pharmacology. 1st ed. Chapman and Hall, London.
73. Harmon DL, Woodside JV, Yarnell JW, McMaster D, Young IS, McCrum EE, Gey KF, Whitehead AS, Evans AE (1996) The common 'thermolabile' variant of methylene tetrahydrofolate reductase is a major determinant of mild hyperhomocysteinaemia. *QJM.* 89(8):571-7.
74. Harrison DA, Mullaney PB, Mesfer SA, Awad AH, Dhindsa H (1998) Management of ophthalmic complications of homocystinuria. *Ophthalmology.* 105(10):1886-90.
75. Heida IM, Elston RC, Klein BEK, Klein R (1995) Evidence for a major gene for cortical cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 36:227-35.
76. Henry CJ, Krupin T, Schmitt M, Lauffer J, Miller E, Ewing MQ, Scheie HG (1987) Long-term follow-up of pseudoexfoliation and the development of elevated intraocular pressure. *Ophthalmology.* 94:545-52.
77. Herbert V (1994) Staging vitamin B-12 (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr.* 59:1213-22.
78. Herbert V (1988) Vitamin B-12: plant sources, requirements, and assay. *Am J Clin Nutr.* 48:852-8.
79. Hernanz A, De la FM, Navarro M, Frank A (2007) Plasma aminothiol compounds, but not serum tumor necrosis factor receptor II and soluble receptor for advanced glycation end products, are related to the cognitive impairment in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment patients. *Neuroimmunomodulation.* 14:163-7.
80. Herrmann W, Quast S, Ullrich M, Schultze H, Bodis M, Geisel J (1999) Hyperhomocysteinemia in high-aged subjects: relation of B-vitamins, folic acid, renal function and the methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Atherosclerosis.* 144(1):91-101.

81. Herrmann W, Schorr H, Purschwitz K, Rassoul F, Richter V (2001) Total homocysteine, vitamin B12 and total antioxidant status in vegetarians. *Clin Chem.* 47(6):1094-101.
82. Heuberger RA, Fisher AI, Jacques PF, Klein R, Klein BE, Palta M, Mares-Perlman JA (2002) Relation of blood homocysteine and its nutritional determinants to age-related maculopathy in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr.* 76:897-902.
83. Hofmann MA, Lalla E, Lu Y, Gleason MR, Wolf BM, Tanji N, Ferran LJ Jr, Kohl B, Rao V, Kisiel W, Stern DM, Schmidt AM (2001) Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Clin Invest.* 107:675-83.
84. Hum DW, Bell AW, Rozen R, MacKenzie RE (1988) Primary structure of a human trifunctional enzyme. Isolation of a cDNA encoding methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-methenyltetrahydro-folate cyclohydrolase-formyltetrahydrofolate synthetase. *J Biol Chem.* 263(31):15946-50.
85. Infante-Rivard C, Rivard GE, Yotov WV, Théôret Y (2002) Perinatal reference intervals for plasma homocysteine and factors influencing its concentration. *Clin Chem.* 48(7):1100-2.
86. Jacobsen DW (1998) Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem.* 44:1833-43.
87. Jencks DA, Mathews RG (1987) Allosteric inhibition of methylenetetrahydrofolate reductase by adenosylmethionine. Effects of adenosylmethionine and NADPH on the equilibrium between active and inactive forms of the enzyme and on the kinetics of approach to equilibrium. *J Biol Chem.* 262(6):2485-93.
88. Johnson GJ, Minassian DC, Weale RA, West SK (eds) (2012) The epidemiology of eye disease. 3nd ed. Arnold, London.
89. Jonasson F, Damji KF, Arnarsson A, Sverrisson T, Wang L, Sasaki H, Sasaki K (2003) Prevalence of open-angle glaucoma in Iceland: Reykjavik Eye Study. *Eye(Lond)* 17:747-53.
90. Jonkers IJ, de Man FH, Onkenhout W, van der Laarse A, Smelt AH (1999) Implication of fibrate therapy for homocysteine. *Lancet.* 354(9185):1208.

91. Kagan BL, Sultzer DL, Rosenlicht N, Gerner RH (1990) Oral S-adenosylmethionine in depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Psychiatry*. 147(5):591-5.
92. Kamburoglu G, Gumus K, Kadayifcilar S, Eldem B (2006) Plasma homocysteine, vitamin B12 and folate levels in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 244(5):565-9.
93. Kang SS, Wong PW, Norusis M (1987) Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism*. 36(5):458-62.
94. Kang SS, Wong PW, Zhou JM, Cook HY (1986) Total homocysteine in plasma and amniotic fluid of pregnant women. *Metabolism*. 35(10):889-91.
95. Kanski JJ (2007) *Klinische Ophthalmologie: Lehrbuch und Atlas*. 6th ed. Butterworth-Heinemann, Elsevier, München.
96. Kerr SJ (1972) Competing methyltransferase systems. *J Biol Chem*. 247(13):4248-52.
97. Klein BEK, Klein R, Ritter LL (1994) Is there evidence of an estrogen effect on age-related lens opacities? The Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol*. 112:85-91.
98. Klein BEK, Klein R, Wang Q, Moss SE (1995) Older onset diabetes and lens opacities. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2:49-55.
99. Klein R, Davis MD, Magli YL, Segal P, Klein BE, Hubbard L (1991) The Wisconsin age-related maculopathy grading system. *Ophthalmology*. 98:1128-34.
100. Klein R, Klein BE, Linton KL (1992) Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 99(6):933-43.
101. Koyama H, Shoji T, Yokoyama H, Motoyama K, Mori K, Fukumoto S, Emoto M, Shoji T, Tamei H, Matsuki H, Sakurai S, Yamamoto Y, Yonekura H, Watanabe T, Yamamoto H, Nishizawa Y (2005) Plasma level of endogenous secretory RAGE is associated with components of the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25(12):2587-93.

102. Kräutler B (2005) Vitamin B12: chemistry and biochemistry. *Biochem Soc Trans.* 33:806-10.
103. Kunz BA (1988) Mutagenesis and deoxyribonucleotide pool imbalance. *Mutat Res.* 200:133-47.
104. Tasman W, Jaeger EA (eds) (1990) *Clinical Ophthalmology*. Lippincott, Philadelphia.
105. Lafaut BA (2000) Clinicopathologic correlation of surgically removed submacular tissue. *Bull Soc Belge Ophthalmol.* 227:49-53.
106. Lahey JM, Kearney JJ, Tunc M (2003) Hypercoagulable states and central retinal vein occlusion. *Curr Opin Pulm Med.* 9(5):385-92.
107. Leibowitz HM, Krueger DE, Maunder LR, Milton RC, Kini MM, Kahn HA, Nickerson RJ, Pool J, Colton TL, Ganley JP, Loewenstein JI, Dawber TR (1980) The Framingham Eye Study monograph: an ophthalmological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration and visual acuity in a general population of 2631 adults 1973-75. *Surv Ophthalmol.* 24:335-610.
108. Leske MC, Heijl A, Hussein M, Bengtsson B, Hyman L, Komaroff E; Early Manifest Glaucoma Trial Group (2003) Factors for glaucoma progression and the effect of treatment. The early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol.* 121:48-56.
109. Lieber CS, Casini A, DeCarli LM, Kim CI, Lowe N, Sasaki R, Leo MA (1990) S-adenosyl-L-methionine attenuates alcohol-induced liver injury in the baboon. *Hepatology.* 11(2):165-72.
110. Liebmann JM, Ritch R (1996) Ultrasound biomicroscopy of the anterior segment. *J Am Optom Assoc.* 67(8):469-79.
111. Lien EA, Nedrebø BG, Varhaug JE, Nygård O, Aakvaag A, Ueland PM (2000) Plasma total homocysteine levels during short-term iatrogenic hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 85(3):1049-53.

112. Lindenbaum J, Heaton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Podell ER, Marcell PD, Stabler SP, Allen RH (1988) Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N Engl J Med.* 318(26):1720-8.
113. Livingston PM, Carson CA, Taylor HR (1995) The epidemiology of cataract: a review of the literature. *Ophthalmic Epidemiol.* 2:151-64.
114. Loew D, Eberhardt A, Heseker H, Kübler W (1987) Zur Plasmakinetik und Elimination der Folsäure. *Klin Wochenschr.* 65:520-24.
115. Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC (eds) (2007) Biochemie und Pathobiochemie. 8th ed. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
116. Long JC (1963) Electric cataract. *Am J Ophthalmol.* 56:108-33.
117. Louprasong AC, Light DJ, Diller RS (2010) Spider dystrophy as an ocular manifestation of myotonic dystrophy. *Optometry.* 81(4):188-93.
118. Lovicu FJ, Robinson ML (eds) (2004) Development of the ocular lens. Cambridge University Press, Cambridge.
119. Lowe KE, Osborne CB, Lin BF, Kim JS, Hsu JC, Shane B (1993) Regulation of folate and one-carbon metabolism in mammalian cells. II. Effect of folylpoly-gamma-glutamate synthetase substrate specificity and level on folate metabolism and folylpoly-gamma-glutamate specificity of metabolic cycles of one-carbon metabolism. *J Biol Chem.* 268(29):21665-73.
120. Lucock M (2000) Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol Genet Metab.* 71:121-38.
121. Lucock MD, Priestnall M, Daskalakis I, Schorah CJ, Wild J, Levene MI (1995) Nonenzymatic degradation and salvage of dietary folate: physicochemical factors likely to influence bioavailability. *Biochem Mol Med.* 55:43-53.
122. Macular Photocoagulation Study Group (1982) Argon laser photocoagulation for senile macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol.* 100:912-18.

123. Malinow MR, Rajkovic A, Duell PB, Hess DL, Upson BM (1998) The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocysteine suggests a potential role for maternal homocysteine in fetal metabolism. *Am J Obstet Gynecol.* 178(2):228-33.
124. Malinow MR (1994) Homocysteine and arterial occlusive diseases. *J Intern Med.* 236(6):603-17.
125. Martinez M, Cuskelly GJ, Williamson J, Toth JP, Gregory JF (2000) Vitamin B6 deficiency in rats reduces hepatic serine hydroxymethyltransferase and cystathionine beta-synthase activities and rates of in vivo protein turnover, homocysteine remethylation and transsulfuration. *J Nutr.* 130(5):1115-23.
126. Matsubara K, Neafsey EJ, Collins MA (1992) Novel S-adenosylmethionine-dependent indole-N-methylation of beta-carbolines in brain particulate fractions. *J Neurochem.* 59(2): 511-8.
127. Medina M, Urdiales JL, Amores-Sánchez MI (2001) Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions. *Eur J Biochem.* 268(14):3871-82.
128. Melnyk S, Pogribna M, Miller BJ, Basnakian AG, Pogribny IP, James SJ (1999) Uracil misincorporation, DNA strand breaks, and gene amplification are associated with tumorigenic cell transformation in folate deficient/repleted Chinese hamster ovary cells. *Cancer Lett.* 146(1):35-44.
129. Mijatovic V, Kenemans P, Netelenbos C, Jakobs C, Popp-Snijders C, Peters-Muller ER, van der Mooren MJ (1998) Postmenopausal oral 17-beta-estradiol continuously combined with dydrogesterone reduces fasting serum homocysteine levels. *Fertil Steril.* 69(5):876-82.
130. Minassian DC, Reidy A, Desai P, Farrow S, Vafidis G, Minassian A (2000) The deficit in cataract surgery in England and Wales and the escalating problem of visual impairment: epidemiological modeling of the population dynamics of cataract. *Br J Ophthalmol.* 84:4-8.
131. Miner SE, Evrovski J, Cole DE (1997) Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: an update. *Clin Biochem.* 30:189-201.

132. Mitchell P, Wang JJ, Smith W (1997) Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. *Am J Ophthalmol.* 124(5):685-7.
133. Mitchell RA (1993) Prevalence of age-related macular degeneration in persons aged 50 years and over resident in Australia. *J Epidemiol Community Health.* 47:42-5.
134. Molloy AM, Daly S, Mills JL, Kirke PN, Whitehead AS, Ramsbottom D, Conley MR, Weir DG, Scott JM (1997) Thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications for folate intake recommendations. *Lancet.* 349(9065):1591-3.
135. Moore P, El-Sherbeny A, Roon P, Schoenlein PV, Ganapathy V, Smith SB (2001) Apoptotic cell death in the mouse retinal ganglion cell layer is induced in vivo by the excitatory amino acid homocysteine. *Exp Eye Res.* 73(1):45-57.
136. Morrison JC, Green WR (1988) Light microscopy of the light exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol.* 66:5-27.
137. Mudd SH, Uhlendorf BW, Freeman JM, Finkelstein JD, Shih VE (1972) Homocystinuria associated with decreased methylenetetrahydrofolate reductase activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 46(2):905-12.
138. Münch G, Kuhla B, Lüth HJ, Arendt T, Robinson SR (2003) Anti-AGEing defences against Alzheimer's disease. *Biochem Soc Trans.* 31(6):1397-9.
139. Murphy MM, Scott JM, McPartlin JM, Fernandez-Ballart JD (2002) The pregnancy-related decrease in fasting plasma homocysteine is not explained by folic acid supplementation, hemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study. *Am J Clin Nutr.* 76:614-9.
140. Naumann GOH, Schlötzer-Schrehardt U (2000) Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation: a clinicopathologic study. *Ophthalmology.* 107:1111-24.
141. Naumann GOH (ed) (1997) *Pathologie des Auges.* 2nd ed. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.

142. Norlund L, Grubb A, Fex G, Leksell H, Nilsson JE, Schenck H, Hultberg B (1998) The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. *Clin Chem Lab Med.* 36(3):175-8.
143. Nowak M, Swietochowska E, Wielkoszyński T, Marek B, Kos-Kudła B, Szapska B, Kajdaniuk D, Głogowska-Szelág J, Siemińska L, Ostrowska Z, Kozioł H, Klimek J (2005) Homocysteine, vitamin B12, and folic acid in age-related macular degeneration. *Eur J Ophthalmol.* 15(6):764-7.
144. Paoli D, Pierro L (1998) Bilateral occlusion of the central retinal artery in a homocystinuric patient: the role of echography. *Ophthalmologica.* 212(1):95-8.
145. Philipson BT (1973) Changes in lens, related to reduction in transparency. *Exp. Eye Res.* 16:29-39.
146. Pianka P, Almog Y, Man O, Goldstein M, Sela BA, Loewenstein A (2000) Hyperhomocystinemia in patients with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy, central retinal artery occlusion, and central retinal vein occlusion. *Ophthalmology.* 107(8):1588-92.
147. Piyathilake CJ, Macaluso M, Hine RJ, Richards EW, Krumdieck CL (1994) Local and systemic effects of cigarette smoking on folate and vitamin B12. *Am J Clin Nutr.* 60(4):559-66.
148. Prince AM, Ritch R (1986) Clinical signs of the pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology.* 93:803-7.
149. Prince AM, Streeten BW, Ritch R, Dark AJ, Sperling M (1987) Preclinical diagnosis of pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol.* 105:1076-82.
150. Rees MM, Rodgers GM (1993) Homocystinemia: association of a metabolic disorder with vascular disease and thrombosis. *Thromb Res.* 71(5):337-59.
151. Refsum H, Ueland PM, Nygård O, Vollset SE (1998) Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med.* 49:31-62.
152. Ringvold A (1996) Epidemiology of glaucoma in northern Europe. *Eur J Ophthalmol.* 6:26-9.

153. Ritch R (1994) Exfoliation syndrome: clinical findings and occurrence in patients with occludable angles. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 92:845-944.
154. Robinson K, Gupta A, Dennis V, Arheart K, Chaudhary D, Green R, Vigo P, Mayer EL, Selhub J, Kutner M, Jacobsen DW (1996) Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation.* 94(11):2743-8.
155. Rochtchina E, Wang JJ, Flood VM, Mitchell P (2007) Elevated serum homocysteine, low serum vitamin B12, folate, and age-related macular degeneration: the Blue Mountains Eye Study. *Am J Ophthalmol.* 143:344-6.
156. Roedl JB, Bleich S, Reulbach U, Rejdak R, Naumann GO, Kruse FE, Schlötzer-Schrehardt U, Kornhuber J, Jünemann AG (2007) Vitamin deficiency and hyperhomocysteinemia in pseudoexfoliation glaucoma. *J Neural Transm.* 114(5):571-5.
157. Roth M, Epstein DL (1980) Exfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol.* 89:477-81.
158. Sachdeva R, Rothner DA, Traboulsi EI, Hayden BC, Rychwalski PJ (2010) Astrocytic hamartoma of the optic disc and multiple café-au-lait macules in a child with neurofibromatosis type 2. *Ophthalmic Genet.* 31(4):209-14.
159. Sakurai S, Yonekura H, Yamamoto Y, Watanabe T, Tanaka N, Li H, Rahman AK, Myint KM, Kim CH, Yamamoto H (2003) The AGE-RAGE system and diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 14:259-63.
160. Sarma U, Brunner E, Evans J, Wormald R (1994) Nutrition and the epidemiology of cataract and age-related maculopathy. *Eur J Clin Nutr.* 48:1-8.
161. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH (1994) Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med.* 96(3):239-46.
162. Scheider A, Gundisch O, Kampik A (1999) Surgical extraction of subfoveal choroidal new vessels and submacular haemorrhage in age-related macular degeneration: results of a prospective study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 237:10-15.

163. Schenk BE, Festen HP, Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Meuwissen SG (1996) Effect of short- and long-term treatment with omeprazole on the absorption and serum levels of cobalamin. *Aliment Pharmacol Ther.* 10(4):541-5.
164. Schlötzer-Schrehardt U (2010) Oxidative stress and pseudoexfoliation glaucoma. *Klin Monbl Augenheilkd.* 227(2):108-13.
165. Schlötzer-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GO, Volkholz H (1992) Pseudoexfolition syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder. *Arch Ophthalmol.* 110:1752-6.
166. Schneede J, Refsum H, Ueland PM (2000) Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. *Semin Thromb Hemost.* 26(3):263-79.
167. Scholze A, Rinder C, Beige J, Riezler R, Zidek W, Tepel M (2004) Acetylcysteine reduces plasma homocysteine concentration and improves pulse pressure and endothelial function in patients with end-stage renal failure. *Circulation.* 109(3):369-74.
168. Schumacher S, Schlötzer-Schrehardt U, Martus P, Lang W, Naumann GO (2001) Pseudoexfoliation syndrome and aneurysms of the abdominal aorta. *Lancet.* 357(9253):359-60.
169. Schuster K, Bailey LB, Mahan CS (1984) Effect of maternal pyridoxine X HCl supplementation on the vitamin B6 status of mother and infant and on pregnancy outcome. *J Nutr.* 114(5):977-88.
170. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B (eds) (2001) 8th ed. McGraw-Hill, New York.
171. Seddon JM, Gensler G, Klein ML, Milton RC (2006) C-reactive protein and homocysteine are associated with dietary and behavioral risk factors for age-related macular degeneration. *Nutrition.* 22(4):441-3.
172. Seetharam B (1999) Receptor-mediated endocytosis of cobalamin (vitamin B12). *Annu Rev Nutr.* 19:173-95.

173. Selhub J, Miller JW (1992) The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr.* 55:131-8.
174. Sierra EE, Goldman ID (1999) Recent advances in the understanding of the mechanism of membrane transport of folates and antifolates. *Semin Oncol.* 26(2 Suppl 6):11-23.
175. Smith BT, Kraus CL, Apte RS (2009) Retinal pigment epithelial tears in ranibizumab-treated eyes. *Retina.* 29(3):335-9.
176. Stabler SP, Lindenbaum J, Savage DG, Allen RH (1993) Elevation of serum cystathione levels in patients with cobalamin and folate deficiency. *Blood.* 81(12):3404-13.
177. Stanger O, Dierkes J, Fowler B, Geisel J, Herrmann W, Pietrzik K, Weger M (2003) Konsensuspapier der D.A.CH.-Liga Homocystein über den rationellen klinischen Umgang mit Homocystein, Folsäure und B-Vitaminen bei kardiovaskulären und thrombotischen Erkrankungen-Richtlinien und Empfehlungen. *J Kardiol.* 10:190-9.
178. Stanger O (ed) (2004) Homocystein: Grundlagen, Klinik, Therapie, Prävention. Verlag Wilhelm Maudrich, Wien-München-Bern.
179. Steinberg SE, Fonda S, Campbell CL, Hillmann RS (1983) Folate utilization in Friend erythroleukemia cells. *J Cell Physiol.* 114(2):252-6.
180. Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RC Jr, Keshgegian AA (1992) Pseudoexfoliative fibrillopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol.* 110:1757-62.
181. Sunness JS, Gonzalez-Baron J, Bressler NM, Hawkins B, Applegate CA (1999) The development of choroidal neovascularization in eyes with the geographic atrophy form of age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 106(5):910-9.
182. Tarkkanen A, Kivelä T, John G (2002) Lindberg and the discovery of exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand.* 80(2):151-4.

183. Temple ME, Luzier AB, Kazierad DJ (2000) Homocysteine as a risk factor for atherosclerosis. *Ann Pharmacother.* 34:57-65.
184. Teper SJ, Nowinska A, Pilat J, Palucha A, Wylegala E (2010) Involvement of genetic factors in the response to a variable-dosing ranibizumab treatment regimen for age-related macular degeneration. *Mol Vis.* 16:2598-604.
185. The Moorfields Macular Study Group (1982) Treatment of senile disciform macular degeneration: a single-blind randomised trial by argon laser photocoagulation. *Br J Ophthalmol.* 66:745-53.
186. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, Walters GB, Gudbjartsson DF, Stefansson H, Jonsson T, Jonasdottir A, Stefansdottir G, Masson G, Hardarson GA, Petursson H, Arnarsson A, Motallebipour M, Wallerman O, Wadelius C, Gulcher JR, Thorsteinsdottir U, Kong A, Jonasson F, Stefansson K (2007) Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science.* 317:1397-400.
187. Thylefors B, Negrel A-D, Pararajasegaram R, Dadzie KY (1995) Global Data on Blindness. *Bull World Health Organ.* 73:115-21.
188. Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Mitchell P, Vingerling JR, Klein BE, Smith W, De Jong PT (2004) Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology.* 111:1280-7.
189. Treatment of age-related macular degeneration with photodynamic therapy (TAP) Study Group (1999) Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: one-year results of 2 randomized clinical trials – TAP report. *Arch Ophthalmol.* 117:1329-45.
190. Ubbink JB, van der Merwe A, Delpot R, Allen RH, Stabler SP, Riezler R, Vermaak WJ (1996) The effect of a subnormal vitamin B-6 status on homocysteine metabolism. *J Clin Invest.* 98(1):177-84.
191. Ueland PM, Mansoor MA, Guttormsen AB, Müller F, Aukrust P, Refsum H, Svardal AM (1996) Reduced, oxidized and protein-bound forms of homocysteine and other

aminothiols in plasma comprise the redox thiol status - a possible element of the extracellular antioxidant defense system. *J Nutr.* 126:1281-4.

192. Ueland PM (1982) Pharmacological and biochemical aspects of S-adenosylhomocysteine and S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Pharmacol Rev.* 34(3):223-53.

193. Van der Put NM, Eskes TK, Blom HJ (1997) Is the common 677C->T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene a risk factor for neural tube defects? A meta-analysis. *QJM.* 90(2):111-5.

194. Van der Put NM, Steegers-Theunissen RP, Frosst P, Trijbels FJ, Eskes TK, van den Heuvel LP, Mariman EC, den Heyer M, Rozen R, Blom HJ (1995) Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. *Lancet.* 346(8982):1070-1.

195. Van der Put NM, van Straaten HW, Trijbels FJ, Blom HJ (2001) Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview. *Exp Biol Med (Maywood).* 226(4):243-70.

196. Varma SD (1991) Scientific basis for medical therapy of cataracts by antioxidants. *Am J Clin Nutr.* 53:335-45.

197. Vessani RM, Ritch R, Liebmann JM, Jofe M (2003) Plasma homocysteine is elevated in patients with exfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol.* 136(1):41-6.

198. Viktorov IV, Aleksandrova OP, Alekseeva NY (2006) Homocysteine toxicity in organotypic cultures of rat retina. *Bull Exp Biol Med.* 141:471-4.

199. Vilaseca MA, Moyano D, Ferrer I, Artuch R (1997) Total homocysteine in pediatric patients. *Clin Chem.* 43(4):690-2.

200. Vingerling JR, Dielemans I, Hofman A, Grobbee DE, Hijmering M, Kramer CF, de Jong PT (1995) The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. *Ophthalmology.* 102(2):205-10.

201. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR (1999) Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 180:660-4.

202. Wang H, Yoshizumi M, Lai K, Tsai JC, Perrella MA, Haber E, Lee ME (1997) Inhibition of growth and p21ras methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. *J Biol Chem.* 272(40):25380-5.
203. Welch GN, Loscalzo J (1998) Homocysteine and atherosclerosis. *N Engl J Med.* 338(15):1042-50.
204. West SK, Valmadrid ST (1995) Epidemiology of risk factors for age related cataract. *Surv Ophthalmol.* 39:323-34.
205. Williams WM, Huang KC (1982) Renal tubular transport of folic acid and methotrexate in the monkey. *Am J Physiol.* 242(5):484-90.
206. Wirbelauer C, Anders N, Pham DT, Wollensak J (1998) Corneal endothelial cell changes in pseudoexfoliation syndrome after cataract surgery. *Arch Ophthalmol.* 116:145-9.
207. Wolos JA, Frondorf KA, Davis GF, Jarvi ET, McCarthy JR, Bowlin TL (1993) Selective inhibition of T cell activation by an inhibitor of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase. *J Immunol.* 150:3264-73. a.
208. Wolos JA, Frondorf KA, Esser RE (1993) Immunosuppression mediated by an inhibitor of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase. Prevention and treatment of collagen-induced arthritis. *J Immunol.* 151(1):526-34. b.
209. Wu KH, Tan AG, Rochtchina E, Favaloro EJ, Williams A, Mitchell P, Wang JJ (2007) Circulating inflammatory markers and hemostatic factors in age-related maculopathy: a population-based case-control study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48:1983-8.
210. Yamada Y, Ishibashi K, Ishibashi K, Bhutto IA, Tian J, Lutty GA, Handa JT (2006) The expression of advanced glycation endproduct receptors in RPE cells associated with basal deposits in human maculas. *Exp Eye Res.* 82:840-8.
211. Yannuzzi LA, Negrão S, Iida T, Carvalho C, Rodriguez-Coleman H, Slakter J, Freund KB, Sorenson J, Orlock D, Borodoker N (2001) Retinal angiomatic proliferation in age-related macular degeneration. *Retina.* 21(5):416-34.

212. Yap S, Naughten E (1998) Homocystinuria due to cystathione beta-synthase deficiency in Ireland: 25 years' experience of a newborn screened and treated population with reference to clinical outcome and biochemical control. *J Inherit Metab Dis.* 21(7):738-47.
213. Yokoi M, Yamagishi SI, Takeuchi M, Ohgami K, Okamoto T, Saito W, Muramatsu M, Imaizumi T, Ohno S (2005) Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidant status in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 89:673-5.
214. Zoccolella S, Iliceto G, deMari M, Livrea P, Lamberti P (2007) Management of L-Dopa related hyperhomocysteinemia: catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibitors or B vitamins? Results from a review. *Clin Chem Lab Med.* 45(12):1607-13.

8. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------|--|
| 5-MTHF | 5-Methyltetrahydrofolat |
| AGE | <i>advanced glycation end products</i> |
| AMD | altersbedingte Makuladegeneration |
| ATP | Adenosyltriphosphat |
| CBS | Cystathionin-beta-Synthase |
| CNV | Choroidale Neovaskularisation |
| CRP | C-reaktives-Protein |
| Cys | Cystathionin |
| DHF | Dihydrofolat |
| esRAGE | <i>extracellular soluble receptor for advanced glycated end products</i> |
| FLA | Fluoreszenzangiographie |
| Hey | Homocystein |
| HoloTC | Holo-Transcobalamin |
| IF | <i>intrinsic factor</i> |
| MMA | Methylmalonsäure |
| MS | Methioninsynthase |
| MSR | Methioninsynthasereductase |
| MTHFD | Methyltetrahydrofolatdehydrogenase |
| MTHFR | Methylentetrahydrofolatreduktase |
| OCT | optische Kohärenztomographie |
| PDT | photodynamische Therapie |
| PEGF | <i>pigment epithelium derived factor</i> |
| PEX | Pseudoexfoliation |

| | |
|-------------|---|
| PLP | Pyridoxal-5-phosphat |
| PMP | Pyridoxamin-5-Phosphat |
| PNP | Pyridoxin-5-Phosphat |
| RAGE | <i>receptor for advanced glycation end products</i> |
| RAP | retinale angiomatöse Proliferation |
| RPE | Retinales Pigmentepithel |
| SAH | S-Adenosylhomocysteine |
| SAM | S-Adenosylmethionin |
| THF | Tetrahydrofolat |
| VEGF | <i>vascular endothelial growth factor</i> |

9. Publikation

Obeid R, Ninios K, Loew U, Gatzios Z, Hoffmann S, Seitz B, Herrmann W: "Extracellular soluble receptor for advanced glycation end products (esRAGE) in aqueous humour fluid in relation to plasma homocysteine in elderly people with age-related ocular diseases." Submitted to: Retina, 2011.

10. Dank

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Berthold Seitz, der sich als Doktorvater zur Verfügung stellte, und dessen jahrelange wissenschaftliche Tätigkeit auch und besonders in Bezug auf die Augenerkrankungen die Grundlage zu dieser Arbeit legte.

Frau Juniorprofessorin Rima Obeid bin ich zu besonderem Dank verpflichtet, da sie die Konzeption, Durchführung und wissenschaftliche Aufarbeitung dieser Arbeit betreute und mir mit Rat und Tat jederzeit hilfreich zur Seite stand. Insbesondere danke ich Frau Juniorprofessorin Rima Obeid für ihre entscheidende Unterstützung bei der laborchemischen Methodik und den statischen Auswertungen der Ergebnisse.

Bei Frau Oberärztin Frau Dr. med. Löw, die Texte dieser Arbeit korrigierte und mich ständig motivierte, möchte ich mich ganz herzlich bedanken.

Des Weiteren möchte ich allen Kollegen der Augenklinik des Universitätsklinikums des Saarlandes, die diese Arbeit unterstützten, ausdrücklich danken.

11. Lebenslauf

Personaldaten: Vor- u. Zuname: KOURIS NINIOS

Staatsangehörigkeit: griechisch

Geburtsdatum: 28.6.1981

Geburtsort: Cholargos, Attiki, Griechenland

Telephon: 015202747129

E-mail: kouris_ninios@yahoo.com

Studien und Diplome:

4/2012 Facharztprüfung im Bereich Augenheilkunde, Ärztekammer des Saarlandes

Facharzt für Augenheilkunde

7/2005 Bereich Medizin der Universität Kreta, Griechenland

Diplom der Medizin (mit der Note "sehr gut"). Studiendauer: 1999-2005

6/1999 1. Lyzeum zu Kalamata, Griechenland

Abschlusszeugnis (Apolyterion) Oberstufe Sekundärerziehung (mit der Note "ausgezeichnet")

Studiendauer: 1996-1999 Erhaltung der Ehrenauszeichnung "N. Politis" von der Stadt Kalamata und einer Geldprämie für seine ausgezeichneten Leistungen zwischen seinen Mitkandidaten an den allgemeinen Universitätszulassungsprüfungen im Jahre 1999.

Publikationen:

1. Ninios K, Jonescu-Cuypers CP, Seitz B (2011): Glaucoma with primary iris malformations. Axenfeld-Rieger syndromes, ICE syndromes (essential iris atrophy, Chandler's syndrome, Cogan-Reese syndrome), Aniridia. *Ophthalmologe* 108(6):585-93.
2. Milioti G, Löw U, Gatziuvas Z, Ninios K, Schirra F, Seitz B (2011): Early manifestation of a pseudoexfoliation syndrome after a corneal transplantation. *Klin Monbl Augenheilkd.* 228(3):249-51.
3. Papageorgiou E, Gatziuvas Z, Ninios K, Seitz B (2011): Acute unilateral loss of vision in a 38-year-old male patient. *Ophthalmologe* 10.1007/s00347-011-2454-2

Vorträge:

1. Ninios K, Schirra F, Seitz B (2011): Ergebnisse der perforierenden Excimerlaser-Keratoplastik bei Aphakie. *Rhein-Mainische Tagung*, Marburg
2. Ninios K, Käsmann-Kellner B, Seitz B (2011): Der ältere Glaukompatient: Differenzierung zwischen neurologisch bedingten und glaukomatösen Gesichtsfelddefekten. *Homburger augenärztliche Fortbildung*.
3. Ninios K, Jonescu-Cuypers CP, Seitz B (2010): Eine moderne Glaukomsprechstunde. *Fallberichte 1-4. Homburger augenärztliche Fortbildung*.
4. Ninios K, Hoffmann S, Schirra F, Seitz B (2007): Vier klare Transplantate 40 Jahre nach perforierender Keratoplastik. *Rhein-Mainische Tagung*, Frankfurt am Main.

Poster:

1. Ninios K, Schirra F, Loew U, Milioti G, Seitz B (2010): Seven corneal grafts without endothelial decompensation 20 to 43 years after penetrating keratoplasty. ARVO.
2. Ninios K, Löw U, Goebels S, Milioti G, Hoffmann S, Seitz B (2009): Langzeit-Ergebnisse der Bevacizumab-Therapie bei perifovealen retinalen Teleangiektasien. DOG-Kongress.
3. Ninios K, Hoffmann S, Schirra F, Seitz B (2008): Seven clear corneal grafts 20 to 43 years after penetrating keratoplasty. DOG-Kongress.

Berufserfahrung:

04.2007 – 10.2011: Assistenzarzt an der Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar.

18.07.2011 – 22.07.2011: Hospitation an der Glaukomsektion der Universitätsaugenklinik Freiburg.

06.2006 – 12.2006: Arzt in Weiterbildung an der Universitätsaugenklinik Tübingen. Stipendiat der Universität Tübingen.

2004 – 2005: Freiwilliges Praktikum während des letzten Studienjahres an der Klinik für Augenheilkunde, Universität Kreta, Griechenland.

