

Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego
Wydział Lekarski

Rozprawa doktorska

**Zachowanie się stężenia homocysteiny
w surowicy u pacjentów po przeszczepieniu nerki**

Lek. med. Dariusz Aksamit

Promotor: Prof. dr hab. med. Władysław Sułowicz

Kraków 2005

*Składam serdeczne podziękowania
Panu Prof. dr hab. med.*

Władysławowi Sułowiczowi

*za wyrozumiałość, życzliwość i pomoc
w trakcie powstawania niniejszej pracy*

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP.....	5
1.1 METABOLIZM HOMOCYSTEINY.....	5
1.1.1 Remetylacja homocysteiny.....	6
1.1.2 Transsulfuracja homocysteiny.....	9
1.1.3 Fizjologiczne mechanizmy regulujące przemiany homocysteiny.....	9
1.2 PATOGENEZA HIPERHOMOCYSTEINEMII.....	11
1.2.1 Defekt syntezy 5-MTHF.....	11
1.2.2 Zaburzenia remetylacji homocysteiny.....	12
1.2.3 Zaburzenia transsulfuracji homocysteiny.....	12
1.3 PRZYCZYNY HIPERHOMOCYSTEINEMII.....	13
1.3.1 Przyczyny fizjologiczne.....	15
1.3.2 Defekty enzymatyczne.....	16
1.3.3 Niewydolność nerek.....	19
1.3.4 Wpływ leków na poziom homocysteiny.....	21
1.3.4.1 Leki hipolipemiczne.....	24
1.3.4.2 Leki hipoglikemiczne.....	24
1.3.4.3 Leki hormonalne.....	25
1.3.4.4 Inne leki.....	26
1.4 PATOMECHANIZM DZIAŁANIA HOMOCYSTEINY.....	27
1.4.1 Mechanizm aterogennego działania homocysteiny.....	28
1.5 LECZENIE HIPERHOMOCYSTEINEMII.....	32
2. CELE PRACY.....	36
3. MATERIAŁ I METODYKA.....	37
4. WYNIKI.....	42
4.1 SZCZEGÓŁOWA CHARAKTERYSTYKA BADANYCH CHORYCH.....	43
4.2 STĘŻENIE HOMOCYSTEINY PRZED PRZESZCZEPIENIEM NERKI.....	44
4.3 STĘŻENIA HOMOCYSTEINY PO PRZESZCZEPIENIU NERKI.....	45
4.4 ZALEŻNOŚĆ STĘŻEŃ HOMOCYSTEINY OD PŁCI.....	52
4.5 HOMOCYSTEINA A LECZENIE IMMUNOSUPRESYJNE.....	55
4.6 HOMOCYSTEINA A FUNKCJA NERKI PRZESZCZEPIONEJ.....	61
4.7 OSTRA MARTWICA CEWEK NERKOWYCH (ATN) PO	

PRZESZCZEPNIENIU NERKI A STĘŻENIA HOMOCYSTEINY.....	69
4.8 STĘŻENIA HOMOCYSTEINY A WSKAŹNIK INTIMA-MEDIA.....	70
4.9 STĘŻENIA HOMOCYSTEINY A BMI.....	78
4.10 STĘŻENIA HOMOCYSTEINY A WIEK.....	80
4.11 STĘŻENIA HOMOCYSTEINY A WYBRANE WSKAŹNIKI LIPIDOWE.....	82
4.11.1 Stężenia homocysteiny a Lp(a).....	83
4.11.2 Stężenia homocysteiny a ApoB.....	85
4.11.3 Stężenia homocysteiny a lipidogram.....	87
4.12 STĘŻENIA HOMOCYSTEINY A KWAS FOLIOWY.....	95
5. DYSKUSJA.....	102
6. WNIOSKI.....	121
7. STRESZCZENIE.....	122
8. PIŚMIENNICTWO.....	130

1. WSTĘP

Przeszczepienie nerki jest najskuteczniejszym leczeniem pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek. Pozwala ono w znaczący sposób poprawić przeżycie tych chorych oraz polepszyć jakość ich życia. Od wykonanego po raz pierwszy w Polsce przeszczepu nerki w 1966 roku (na świecie w 1953 w Bostonie) liczba tych zabiegów stale się zwiększa. Dzięki znaczącemu rozwojowi transplantacji (zarówno technik operacyjnych jak i leczenia immunosupresyjnego) osiąga się coraz lepsze wyniki w przeżywalności chorych i przeszczepu. Obecnie 5 lat przeżywa około 90% chorych, z tego z czynną nerką około 70%. Pacjenci ci stanowią coraz większą grupę, która wymaga stałej specjalistycznej opieki. Obserwowanymi wśród nich głównymi przyczynami chorobowości i śmiertelności są powikłania związane z miażdżycą naczyń (m.in. choroba wieńcowa, udar mózgu, zwężenie naczyń obwodowych) [100].

1.1. Metabolizm homocysteiny.

Homocysteina (Hcy) jest siarkowym aminokwasem powstającym w wyniku demetylacji metioniny. W pierwszym etapie w wyniku działania adenozylotransferazy metioniny przez połączenie z ATP powstaje S-adenozylometionina (SAM), która w kolejnej reakcji demetylacji przekształca się w S-adenozylhomocysteinę (SAH). Biorcami grupy

metylowej w tej reakcji są związki, z których powstają m.in. DNA, RNA, katecholaminy, białka, kreatyna, karnityna, fosfolipidy. Następnym etapem jest hydroliza SAH i powstanie adenozyiny i homocysteiny. Metabolizm homocysteiny (Ryc. 1) odbywa się dwoma głównymi szlakami: remetylacji i transsulfuracji [117].

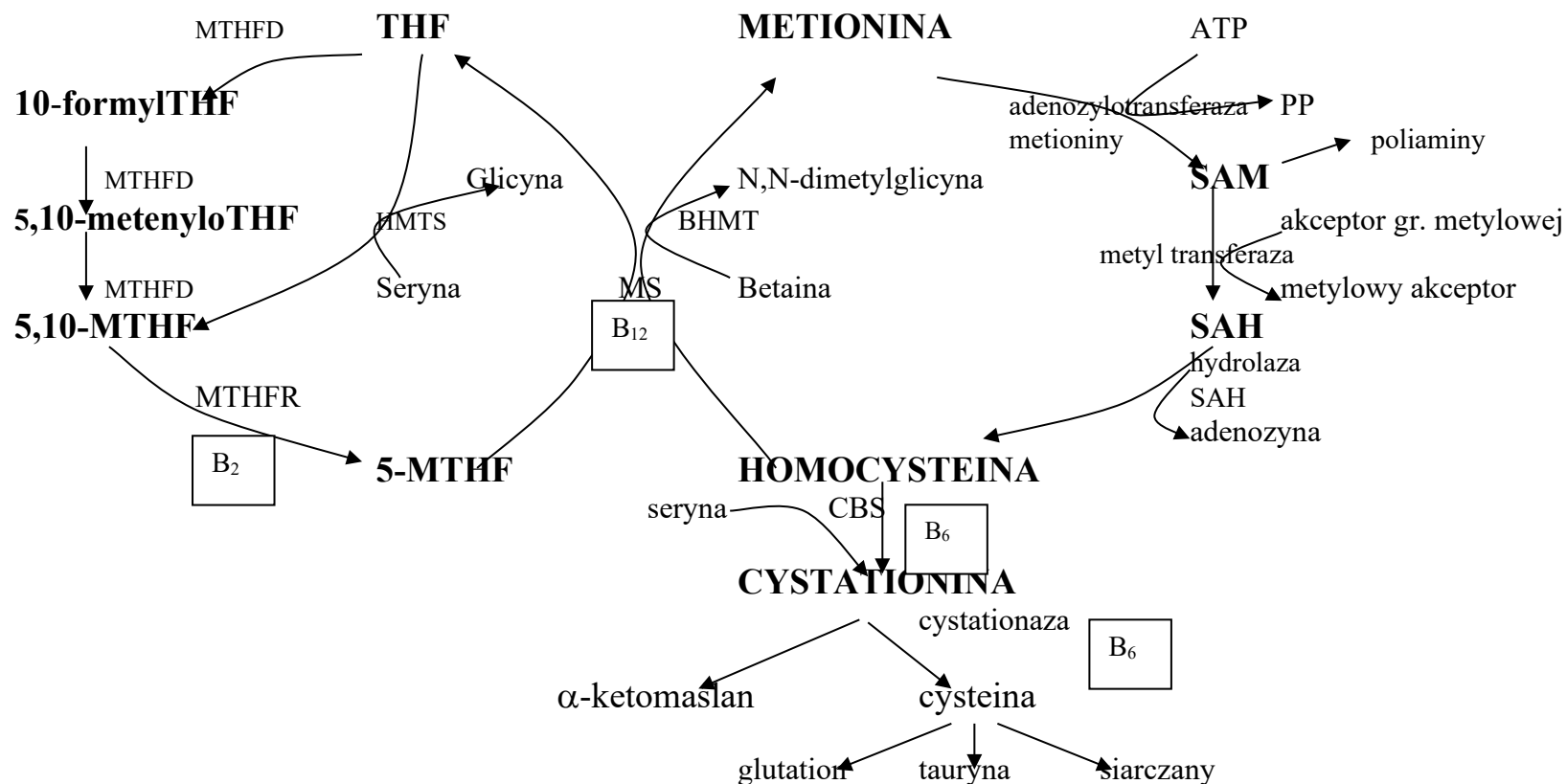
1.1.1. Remetylacja homocysteiny.

W reakcji remetylacji homocysteiny dochodzi do odtworzenia metioniny. Homocysteina otrzymuje grupę metylową od N-5-metylenotetrahydrofolianu (5-MTHF) lub betainy. Reakcja z 5-MTHF, katalizowana przez syntazę metioniny, odbywa się we wszystkich tkankach organizmu i wymaga obecności witaminy B₁₂, natomiast z betainą (metylotransferaza betaino-homocysteinowa BHMT) ma miejsce głównie w wątrobie i jest niezależna od witaminy B₁₂ [117].

Biorący udział w reakcji remetylacji 5-MTHF powstaje w przebiegu metabolizmu folianów dostarczanych w diecie jako poliglutaminiany (PG), z których w jelicie cienkim w wyniku dekoniugacji powstają monoglutaminiany. Związki te ulegają redukcji do dihydrofolianów, z których to tworzą się tetrahydrofoliany (THF). THF ulegają następnie przemianie do 5,10 di-metylenoteretrahydrofolianów (5,10-MTHF). Dzieje się to bądź w wyniku odwracalnej konwersji seryny, reakcji katalizowanej przez hydroksymetylotransferazę seryny (HMTS), wymagającej jako kofaktora witaminy B₆, z której powstaje glicyna i 5,10-MTHF lub w również odwracalnych przemianach kolejno do 10-formylotetrahydrofolianu, 5,10-di-metynotetrahydrofolianu, z którego to powstaje 5,10-MTHF. Te ostatnie reakcje są katalizowane przez

dehydrogenazę metylenotetrahydrofolianową. 5,10-MTHF ulega następnie nieodwracalnej redukcji do N-5-metylenotetrahydrofolianu. Reakcja ta katalizowana jest przez reduktazę metylenotetrahydrofolianową (MTHFR) przy udziale witaminy B₂ jako kofaktora. 5-MTHF następnie bierze udział w remetylacji homocysteiny do THF i metioniny co jest początkiem kolejnych cykli metabolicznych tych związków [12, 78, 79, 117].

Ryc. 1. Metabolizm homocysteiny [12, 78, 79, 117].



THF - tetrahydrofolian; **5-MTHF**- N-5-metylenotetrahydrofolian; **MTHFR** – reduktaza metylenotetrahydrofolianowa; **CBS** - β syntaza cystationiny; **MS** – syntaza metioniny; **SAM** – S adenozylometionina; **SAH** – S-adenozylhomocysteina; **BHMT** – metylotransferaza betaino homocysteinowa; **MTHFD** – dehydrogenaza metylenotetrahydrofolianowa; **HMTS** – hydrosymetylotransferaza seryny

1.1.2. Transsulfuracja homocysteiny.

Drugą drogą przemiany homocysteiny w organizmie ludzkim jest transsulfuracja. W pierwszym etapie dochodzi to sprzężenia Hcy z seryną i powstania cystationiny. Ta nieodwracalna reakcja jest katalizowana przez β -syntazę cystationiny (CBS) i wymaga jako kofaktora witaminy B₆. Następnie cystationina ulega hydrolizie do α -ketomaślanu i cysteiny w wyniku działania γ -cystationazy (enzym ten również wymaga witaminy B₆ jako kofaktora). Nadmiar cysteiny jest utleniany do tauryny, nieorganicznych siarczanów lub wydalany z moczem. Transsulfuracja jest znacznie efektywniejsza w usuwaniu z organizmu nadmiaru homocysteiny niż remetylacja [78].

1.1.3. Fizjologiczne mechanizmy regulujące przemiany homocysteiny.

Głównym czynnikiem wpływającym na przemiany homocysteiny drogą remetylacji bądź transsulfuracji jest podaż w diecie metioniny. Wraz z jej wzrostem zwiększa się rola transsulfuracji. Za koordynację tych dwóch szlaków metabolicznych odpowiedzialne są co najmniej dwa mechanizmy. Pierwszy związany jest z działaniem SAM. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że SAM jest inhibitorem MTHFR oraz aktywuje CBS. Wskutek tego działania dochodzi do zmniejszenia produkcji 5-MTHF, który jest substratem w remetylacji homocysteiny a przez to do zwiększenia (też przez aktywację CBS) roli transsulfuracji [117].

Drugim mechanizmem jest regulacja wewnątrzkomórkowego stężenia SAM. W wątrobie synteza SAM jest katalizowana przez dwa podobne immunologicznie enzymy, ale różniące się właściwościami. W

warunkach fizjologicznych aktywny jest tetramer o dużej masie cząsteczkowej i wysokim powinowactwie do metioniny. Natomiast w przypadku nadmiernej podaży metioniny dimer o niskiej masie cząsteczkowej i małym powinowactwie do metioniny. Ponadto SAM, który jest dawcą grupy metylowej, często jest wykorzystywany do tworzenia sarkozyny przez przeniesienie grupy metylowej do grupy aminowej glicyny z powstaniem równocześnie SAH. Reakcja ta jest katalizowana przez występującą w dużych ilościach w wątrobie N-metyltransferazę glicyny (GNMT). Enzym ten jest silnie hamowany przez 5-MTHF. I tak w sytuacji wysokiej podaży metioniny dochodzi do aktywacji syntazy SAM o niskiej masie cząsteczkowej. Wzrost stężenia SAM hamuje MTHFR a przez to obniża się synteza 5-MTHF co powoduje zwiększenie aktywności GNMT (efekt spadku stężenia jego inhibitora – 5MTHF). Ponadto wzrost poziomu SAM aktywuje CBS powodując zwiększenie katabolizmu homocysteiny. W tej sytuacji transsulfuracja jest głównym szlakiem metabolizmu homocysteiny, znacząco przewyższając remetylację. W przypadku niskiej podaży metioniny stężenia SAM jest niewystarczające do hamowania MTHFR. Powoduje to wzrost stężenia 5-MTHF, który hamuje GNMT a przez to przekształcenie SAM w SAH oraz bierze udział jako substrat w reakcji przemiany homocysteiny w metioninę. Ponadto poziom SAM jest zbyt niski by aktywować CBS. Efektem tej sytuacji jest wzrost znaczenia remetylacji kosztem transsulfuracji. Powoduje to zwiększenie syntezy *de novo* metioniny co kompensuje jej zmniejszoną podaż [8, 27, 117].

1.2. Patogeneza hiperhomocysteinemii.

Fizjologicznie niewielka ilość Hcy jest stwierdzana w surowicy. Jest to efekt jej komórkowego wydzielania jako mechanizmu uzupełniającego transsulfurację i mającego na celu utrzymanie niskiego poziomu wewnątrzkomórkowego Hcy, która jest aminokwasem potencjalnie cytotoksycznym [24]. W surowicy krwi homocysteina występuje w trzech frakcjach: zredukowanej (1-2% całkowitej), utlenionych równoważników (homocystyna, dwusiarczek cysteino-homocysteinowy) – 10-20% oraz związanej z białkami osocza (>80%). W populacji u około 95% badanych stężenie homocysteiny znajduje się w przedziale 10 do 15 $\mu\text{mol/l}$ (w osoczu) lub 13 do 18 $\mu\text{mol/l}$ (w surowicy krwi). W sytuacji zaburzeń metabolizmu homocysteiny prowadzących do jego nadmiaru dochodzi do wydzielania tego aminokwasu z komórek do krwi. Mechanizm ten chroni komórki lecz równocześnie umożliwia ewentualne toksyczne działanie Hcy na naczynia krwionośne. W patogenezie hiperhomocysteinemii główne znaczenie mają zaburzenia syntezy N-5-metylenotetrahydrofolianu, remetylacji i transsulfuracji homocysteiny [79, 117].

1.2.1. Defekt syntezy 5-MTHF.

Do zaburzenia powstawania 5-MTHF dochodzi najczęściej w wyniku zbyt małej podaży folianów w diecie lub w przypadku uszkodzenia reduktazy metylenotetrahydrofolianowej. W konsekwencji zahamowana zostaje reakcja syntezy metioniny z homocysteiny (remetylacja) a katabolizm Hcy odbywa się przez transsulfurację. Jednakże

szlak ten jest niewystarczający do eliminacji nadmiaru Hcy. Dzieje się tak z następujących powodów. Po pierwsze spadek stężenia metioniny powoduje obniżenie stężenia S-adenozylometioniny (SAM) w komórkach a po drugie obniżony poziom 5-MTHF prowadzi do pełnej aktywności GNMT, co skutkuje dalszym obniżaniem stężenia SAM przez jego przekształcanie w SAH a następnie w Hcy. W konsekwencji poziom SAM jest zbyt niski by aktywować w pełni CBS co powoduje, że transsulfuracja jest niewydolna by eliminować nadmiar homocysteiny. W rezultacie dochodzi do wzrostu stężenia Hcy w komórkach a następnie jej wydzielania do krwi i powodowania hiperhomocysteinemii [117].

1.2.2. Zaburzenia remetylacji homocysteiny.

Główną przyczyną zaburzeń remetylacji jest niedobór witaminy B₁₂ jako kofaktora reakcji katalizowanej przez syntazę metioniny. Prowadzi to do akumulacji 5-MTHF, który hamując GNMT zmniejsza degradację SAM w reakcji metylacji glicyny. Powoduje to spadek produkcji homocysteiny, natomiast stężenie SAM jest wystarczające do częściowej aktywacji CBS i reakcji transsulfuracji. W konsekwencji stężenie homocysteiny nie jest tak wysokie jak w przypadku zaburzeń syntezy 5-MTHF [62].

1.2.3. Zaburzenia transsulfuracji homocysteiny.

Do całkowitego zablokowania transsulfuracji Hcy dochodzi w wyniku homozygotycznego defektu CBS. W wyniku tego zaburzenia, jedyną drogą katabolizmu Hcy jest jej remetylacja do metioniny. W dalszym etapie dochodzi do stopniowego wzrostu stężenia wewnątrzkomórowego SAM. Jest ono kontynuowane aż do momentu, w którym SAM hamując MTHFR powoduje zmniejszenie poziomu 5-MTHF, który jest substratem w reakcji remetylacji. W konsekwencji oba szlaki katabolizmu homocysteiny są zahamowane i dochodzi do znacznej hiperhomocysteinemii [117].

Nieco inaczej sytuacja wygląda kiedy reakcja transsulfuracji jest tylko częściowo uszkodzona. Dzieje się tak najczęściej w przebiegu heterozygotycznego defektu CBS lub niedoborze witaminy B₆. Pozostająca aktywność transsulfuracji oraz pełna aktywność remetylacji są wystarczające do katabolizmu Hcy o ile jej podaż pod postacią prekursorów tj. metioniny jest niska. W przeciwnym wypadku dochodzi do zaburzenia równowagi na szlaku metabolicznym Hcy i w konsekwencji do hiperhomocysteinemii [117].

1.3. Przyczyny hiperhomocysteinemii.

Zaburzenia wewnątrzkomórkowego metabolizmu homocysteiny powodują patologiczny wzrost jej stężenia w surowicy. Wśród najważniejszych przyczyn takiej sytuacji wymienia się: niedobory enzymatyczne, witaminowe, styl życia, niewydolność nerek oraz stosowane leki (Tabela I).

Tabela I. Przyczyny hiperhomocysteinemii [79, 82].

Fizjologiczne:

- wiek
- płeć

Styl życia:

- używki: alkohol, tytoń, kawa,
- dieta (wpływ podaży w diecie metioniny oraz kwasu foliowego i witamin B₆ i B₁₂)

Niedobory witaminowe:

- kwas foliowy
- witamina B₆
- witamina B₁₂

Defekty enzymów biorących udział w metabolizmie Hcy:

- β-syntaza cystationiny
- syntaza metioniny
- 5 metylenotetrahydrofolianowa reduktaza

Choroby przewlekłe:

- upośledzenie funkcji nerek
- ciężka łuszczyca
- nowotwory złośliwe
- niedoczynność tarczycy
- toczeń układowy

Stosowane leki:

- hipolipemiczne
- przeciwcukrzycowe
- kortykosteroidy
- antyestrogenowe

- przeciwwreumatyczne
 - przeciwpadaczkowe
 - inne (cyklosporyna, teofilina, lewodopa, acetylocysteina)
-

1.3.1. Przyczyny fizjologiczne.

W badaniach nad różnymi grupami populacyjnymi zauważono, że u ludzi wraz z wiekiem zwiększa się stężenie homocysteiny w surowicy. Ponadto u kobiet w okresie premenopauzalnym obserwuje się niższy poziom Hcy niż u mężczyzn w tym samym wieku [63]. Ważnym elementem mającym wpływ na zachowanie się stężenia homocysteiny u ludzi jest styl życia. Zarówno palenie papierosów jak nadużywanie kofeiny podnosi jej poziom. Nie jest jasny wpływ alkoholu. U osób nadużywających alkohol obserwuje się podwyższone stężenie homocysteiny. Natomiast u osób umiarkowanie spożywających alkohol jest niższe niż u całkowitych abstynentów [78, 79]. W badaniach National Health and Nutrition Examination Survey III, przeprowadzonych w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej w latach 1988-1994 na dużej populacji mieszkańców (6545 osób) stwierdzono m.in., że mężczyźni mają średnio o 21,5% wyższy poziom homocysteiny niż kobiety a osoby powyżej 70 roku życia o 42% wyższy niż badani poniżej 30 roku życia. Ponadto stężenie homocysteiny w surowicy dodatnio korelowało z konsumpcją alkoholu wysokoprocentowego (piwo i wino nie wpływało na homocysteinemię) oraz paleniem papierosów [51].

Dieta a w szczególności zawartość w niej kwasu foliowego oraz witamin z grupy B ma podstawowy wpływ na przebieg metabolizmu homocysteiny (jako substrat oraz kofaktory reakcji chemicznych). Podawanie kwasu foliowego lub stosowanie diety z dużą jego zawartością powoduje obniżenie stężenia Hcy w surowicy. Zależność ta jest odwrotnie proporcjonalna. Podobny wpływ ma podaż witamin B₆ i B₁₂, choć lepsze efekty uzyskuje się podając te związki wraz z kwasem foliowym [21].

1.3.2. Defekty enzymatyczne.

Zaburzenia w funkcji enzymów biorących udział w szlakach metabolicznych Hcy powodują jej patologiczne nagromadzenie w organizmie [129]. Po raz pierwszy zostały opisane przez Carsona i Neilla już w 1962 roku i dotyczyły wrodzonej homocystynurii [22]. Przyczyną tej jednostki chorobowej jest homozygotyczna mutacja genu kodującego β -syntazę cystationiny (CBS) powodująca całkowity brak tego enzymu w ustroju. U takich osób dochodzi to wzrostu w surowicy stężenia homocysteiny (nawet do 400 μ mol/l) i metioniny oraz wydalanie Hcy z moczem. W obrazie klinicznym tych chorych dominują: zwężenie soczewki, upośledzenie umysłowe, osteoporoza oraz wczesne powikłania zakrzepowo – zatorowe. Częstość występowania wrodzonej homocystynurii ocenia się na 1:100000. Obecnie opisanych jest wiele różnych mutacji punktowych dotyczących genu kodującego CBS, z których większość powoduje znaczące obniżenie aktywności tego enzymu. Najczęściej spotykanymi są mutacje: 883T→C (1278T) i 919G→A. Znacznie częściej, bo oceniana na 0,5 do 1,5% całkowitej

populacji, występuje heterozygotyczna mutacja genu kodującego CBS. Może ona prowadzić przez obniżenie aktywności CBS do wzrostu stężenia homocysteiny u tych osób [82].

Podobnie wysoki poziom homocysteiny w surowicy jak u chorych z całkowitym brakiem CBS obserwuje się w homozygotycznym defekcie enzymu syntazy metioniny (MS). Tutaj również dochodzi do homocystynurii, natomiast w przeciwieństwie do wcześniej opisanego zaburzenia poziom metioniny u tych chorych jest niski [82].

W metabolizmie homocysteiny ważnym enzymem jest 5,10-di-metylenotetrahydrofolianowa reduktaza (MTHFR), katalizująca NADPH zależną przemianę 5,10 di-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylenotetrahydrofolianu. Ten ostatni związek jest donorem grupy metylowej w reakcji remetylacji homocysteiny w metioninę. W ciężkim niedoborze MTHFR (spadek aktywności do mniej niż 20%) dochodzi do hiperhomocysteinemii, homocystynurii oraz niskiego stężenia metioniny w surowicy. Klinicznie osoby te najczęściej prezentują zaburzenia neurologiczne, upośledzenie umysłowe oraz wczesne powikłania naczyniowe [130].

Najczęstszym zaburzeniem genetycznym MTHFR jest występowanie jej termolabilnej formy (tMTHFR). Po raz pierwszy została ona opisana w 1988 roku przez Kanga i wsp., którzy odkryli występowanie wariantu MTHFR charakteryzującego się obniżoną aktywnością oraz niestabilnością budowy po podgrzaniu do 46°C i występującą u osób z hiperhomocysteinemią [75]. Powstaje ona w wyniku punktowej mutacji C677T zlokalizowanej w 21 chromosomie, która prowadzi do zamiany

alaniny na walinę w łańcuchu proteinowym tego enzymu. W ogólnej populacji częstość występowania tMTHFR określana jest na około 10%. W wariancie homozygotycznym (TT) aktywność MTHFR spada do około 25 do 30%, natomiast w heterozygotycznym (CT) do 65% w stosunku do osób z prawidłowym typem enzymu (CC) [44, 149]. Występowanie termolabilnej formy MTHFR wiąże się z ryzykiem podwyższonego poziomu homocysteiny w surowicy szczególnie u osób z niskim poziomem kwasu foliowego, natomiast jej wpływ na powikłania zakrzepowo – zatorowe nie został potwierdzony [30]. Inaczej u chorych z terminalną niewydolnością nerek, u których w przebiegu choroby podstawowej stwierdza się około trzy razy wyższe stężenie homocysteiny w surowicy w stosunku do ogólnej populacji. U tych osób, występowanie termolabilnej formy MTHFR ma ważne znaczenie w występowaniu powikłań sercowo – naczyniowych. Fukasawa i wsp. opisują istotny wzrost częstości okluzji przetoki tętniczo – żyłnej u hemodializowanych chorych z wariantem homozygotycznym tMTHFR (TT) – 31,8% w stosunku do prawidłowej formy (CC) – 12,6% [50].

W 1998 roku opisano kolejną mutację w genie MTHFR (1298A→C), która prowadzi do zamiany aminokwasów: glutaminy przez alaninę. W homozygotycznym wariancie (1298CC) obserwuje się obniżenie aktywności MTHFR do 61% prawidłowej wartości, natomiast nie prowadzi to do hiperhomocysteinemii [82, 130].

Innymi opisywanymi zaburzeniami genetycznymi występującymi stosunkowo rzadko i dotyczącymi enzymów biorących udział w metabolizmie homocysteiny są mutacje: reduktazy syntazy metioniny (enzym ten jest niezbędny do powstania aktywnej formy syntazy metioniny), betaino – homocysteino metyltransferazy,

hydroksymetyltransferazy seryny (HMTS), dehydrogenazy metylenotetrahydrofolianowej, transkobalaminy [82].

1.3.3. Niewydolność nerek.

U prawie wszystkich chorych z przewlekłą niewydolnością nerek (PNN) stwierdza się podwyższony poziom homocysteiny w surowicy. Powód wystąpienia hiperhomocysteinemii u tych chorych nie jest dokładnie poznany. Poziom Hcy dodatnio koreluje z upośledzeniem funkcji nerek mierzonej stężeniem w surowicy kreatyniny, cystatyny C czy klirensiem kreatyniny i najwyższy jest u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek (SNN) [11, 63, 138, 139]. Szybko postępująca miażdżycą stanowi główny powód chorobowości i śmiertelności pacjentów z SNN [25, 26]. Objawia się ona już w okresie przeddializacyjnym jako upośledzenie wazodilatacyjnej funkcji endotelium [98]. Jedną z przyczyn miażdżycy jest hiperhomocysteinemia, którą stwierdza się u prawie wszystkich tych chorych [139], choć ostatnie badania Sulimana i wsp. oraz Wrone i wsp. starają się temu zaprzeczyć. Analizując chorych dializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek wyżej wymienieni autorzy zauważyli, że osoby z incydentami sercowo – naczyniowymi mieli niższy poziom Hcy (ale nadal powyżej normy) od tych, u których nie stwierdzano takich powikłań [125, 127, 149]. Wydaje się, że w grupie chorych z SNN istotniejszym wskaźnikiem predylekcyjnym występowania zaburzeń sercowo-naczyniowych jest stopień odżywienia tych pacjentów niż stężenie Hcy [72]. Natomiast wg Mezzano i wsp. za zwiększenie ryzyka powikłań sercowo – naczyniowych u tych chorych odpowiedzialny jest uogólniony proces

zapalany prowadzący do zwiększenia stresu oksydacyjnego i dysfunkcji komórek śródbłonna a nie podwyższony poziom Hcy [94].

Przyczynami hiperhomocysteinemii u pacjentów z PNN i SNN mogą być upośledzony metabolizm Hcy zarówno pozanerkowy jak i nerkowy, na który wpływ mogą mieć nagromadzone toksyny mocznicowe, a także zmniejszone usuwanie Hcy z moczem [12, 48, 85, 103, 105, 139]. Chorzy z PNN charakteryzują się obniżonym klirensiem Hcy po doustnym podaniu tego aminokwasu. Nie może to jednak tłumaczyć akumulacji Hcy ponieważ jego fizjologiczne wydalanie z moczem jest mniejsze niż 1% dobowej produkcji. Ponadto ważnymi czynnikami zaburzającymi przemianę Hcy mogą być niedobory witaminowe, zmiana ich metabolizmu lub/i podwyższone zapotrzebowanie. Suplementacja witaminowa u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek obniża ale nie normalizuje stężenia homocysteiny w surowicy [125, 126]. Występowanie u tych osób hiperhomocysteinemii łączy się z zaburzeniami stężenia wielu innych aminokwasów siarkowych lub ich metabolitów. Stwierdza się podwyższony poziom SAM, SAH, cystationiny, cysteiny, kwasu cysteinowosiarkowego, nieorganicznych siarczanów oraz obniżone w surowicy i mięśniach stężenie tauryny. Szczególnie istotnym wydaje się być wzrost S-adenozylometioniny, która jest inhibitorem remetylacji a równocześnie aktywuje CBS, katalizującą pierwszą reakcję transsulfuracji [104]. W badaniach Guldenera i wsp., którzy porównywali oba te szlaki u chorych ze SNN stwierdzono znaczące upośledzenie przemiany Hcy w metioninę (o około 30%) w stosunku do osób z prawidłową funkcją nerek. Natomiast reakcja transsulfuracji nie różniła się u obu tych grup [138]. Potwierdzeniem tej teorii mogą być badania Henninga i wsp., którzy oceniali pośrednie produkty przemiany homocysteiny u chorych z przewlekłą oraz schyłkową niewydolnością

nerek wymagających leczenia nerkozastępczego. Stwierdzili oni podwyższone stężenia produktów szlaku transsulfuracji natomiast remetylacji były prawidłowe. Może to być związane z wyższą aktywnością degradacji Hcy na pierwszej z tych dróg przy równoczesnej upośledzonej przemianie w metioninę [61]. Za przyczynę tych zaburzeń częściowo odpowiedzialne są niedobory witaminowe w zakresie witaminy B₁₂ i kwasu foliowego, które są kofaktorami reakcji biorących udział w remetylacji homocysteiny. Substytucja kwasu foliowego u chorych z niewydolnością nerek znacznie efektywniej obniża poziom Hcy niż suplementacja witaminy B₆ (kofaktor transsulfuracji). Innym zaburzeniem u osób z upośledzoną funkcją nerek jest obniżenie poziomu seryny, substratu w reakcji sprzężenia z Hcy i powstania cystationiny, katalizowanej przez β -syntazę cystationiny. Również jest to związane z wyższą aktywnością transsulfuracji u osób z hiperhomocysteinemią i zużyciem seryny. Podawanie jej jednak osobom z niewydolnością nerek nie powodowało obniżenia poziomu homocysteiny [53].

1.3.4. Wpływ leków na poziom homocysteiny.

Metabolizm homocysteiny związany różnymi szlakami: remetylacji i transsulfuracji, wymagający obecności wielu enzymów oraz kofaktorów reakcji, jest narażony na wpływ wielu czynników zewnętrznych, do których w głównej mierze należą leki. Mogą one prowadzić do zaburzeń przemian Hcy i powodować zwiększenie lub obniżenie jej poziomu w surowicy tych osób. Część z tych preparatów, których wpływ na poziom

homocysteiny udowodniono, jest powszechnie stosowana w praktyce klinicznej. Mechanizm działania tych leków jest zróżnicowany, często również nieznany (Tabela II).

Tabela II. Leki wpływające na poziom homocysteiny w surowicy [33].

Grupa/lek	Efekt działania na poziom Hcy	Mechanizm działania
Leki hipolipemiczne		
Fibraty	Wzrost	Nieznany, obniżenie GFR?
Kwas nikotynowy	Wzrost	Hamuje kinazę pirydoksalu, obniża poziom witaminy B ₆ , obniża aktywność CBS
Cholestyramina	Wzrost	Wpływa na wchłanianie witaminy B ₁₂
Statyny	Bez efektu	
Leki hipoglikemiczne		
Metformina	Wzrost	Wpływ na witaminę B ₁₂ , obniża sekrecję IF, wiąże wapń w jelicie cienkim
Insulina	Spadek	Wzrost aktywności MTHFR, obniżenie CBS
Leki hormonalne		
Estrogeny	Spadek	Mechanizm nieznany
Androgeny/testosteron	Wzrost	Wzrost syntezy kreatyniny
Leki antyestrogenowe		
Tamoksifen/Raloxifen	Spadek	Wzrost stężenia kwasu foliowego

Leki przeciwreumatyczne

Metotreksat	Wzrost	Inhibitor reduktazy dihydrofolanowej
Sulfasalazyna	Przejściowy wzrost	Mechanizm nieznany

Leki przeciwpadaczkowe

Fenytoina	Wzrost	Niedobór kwasu foliowego, obniżenie aktywności 5-MTHFR, MS, indukcja enzymów wątrobowych
Karbamazepina	Wzrost	Niedobór kwasu foliowego, możliwa indukcja enzymów wątrobowych
Kwas walproinowy	Bez efektu	

Inne leki

Cyklosporyna	Wzrost	Wpływ na obniżenie funkcji nerki, możliwy wpływ na zależną od kwasu foliowego remetylację
Teofilina	Wzrost	Inhibitor kinazy pirydoksalu
Lewodopa	Wzrost	Występuje jako substrat dla zależnej od SAM transmetylacji

1.3.4.1. Leki hipolipemiczne.

Leki obniżające poziom lipidów w surowicy odgrywają ważną rolę w leczeniu i prewencji choroby wieńcowej. Zauważono jednak, że część z tych preparatów wpływa na metabolizm Hcy powodując podwyższenie jej stężenia w surowicy. Należą do nich fibraty, cholestyramina i kwas nikotynowy. Efekt ten może w znaczący sposób obniżać korzyści płynące z działania hipolipemicznego tych leków, ponieważ hiperhomocysteinemia jest niezależnym czynnikiem rozwoju miażdżycy. Badania nad tym zagadnieniem są sprzeczne. Mechanizm działania fibratów na metabolizm homocysteiny nie jest dokładnie poznany. Cholestyramina natomiast pogarsza wchłanianie kobalaminy a kwas nikotynowy hamuje kinazę pirydoksalu prowadząc do obniżenia poziomu witaminy B₆, kofaktora CBS [31, 33, 52, 133].

W przeciwieństwie do wyżej wymienionych preparatów inhibitory reduktazy HMG-CoA nie wpływają na metabolizm homocysteiny a korzyści płynące z ich działania hipolipemicznego są jednoznacznie udowodnione [52, 95, 110].

1.3.4.2. Leki hipoglikemiczne.

Wśród preparatów stosowanych w leczeniu cukrzycy i mających wpływ na poziom homocysteiny należą: metformina oraz insulina.

Metformina jest lekiem z wyboru w leczeniu otyłych chorych z cukrzycą typu drugiego. W prospektywnych badaniach udowodniono, że w monoterapii obniża śmiertelność związaną z powikłaniami sercowo – naczyniowymi u tych chorych [137]. Z drugiej jednak strony metformina

powoduje zwiększenie stężenia homocysteiny w surowicy. Najprawdopodobniej dzieje się tak z dwóch powodów. Metformina zmienia florę bakteryjną przewodu pokarmowego prowadząc do eliminacji czynnika wewnętrznego (IF) niezbędnego do prawidłowego wchłaniania witaminy B₁₂ oraz wiąże wapń, który jest potrzebny do łączenia kompleksu witamina B₁₂ - IF przez receptor błonowy w jelicie cienkim [2, 33, 150].

Innym lekiem hipoglikemizującym mającym wpływ na metabolizm homocysteiny jest insulina. Zauważono, że u chorych z cukrzycą typu 1 poziom homocysteiny zależy od jakości leczenia. W dobrze wyrównanej cukrzycy obserwuje się niższy jej poziom, natomiast pogorszenie kontroli metabolicznej, prowadzi u tych pacjentów (również z cukrzycą typu drugiego) do wzrostu stężenia Hcy. W badaniach doświadczalnych na szczurach stwierdzono, że insulina obniża aktywność wątrobowej CBS oraz zwiększa wątrobowej MTHFR [29, 34, 46].

1.3.4.3. Leki hormonalne.

Płeć męska oraz okres pomenopauzalny u kobiet wiąże się z wyższym ryzykiem powikłań sercowo – naczyniowych. Jedną z rozważanych przyczyn takiej sytuacji, jest obserwowany u tych osób podwyższony poziom homocysteiny. Wouters i wsp. porównywali poziom homocysteiny na czczo oraz po obciążeniu doustnym metioniną u kobiet w okresie przed i pomenopauzalnym i stwierdzili statystycznie wyższy w drugiej grupie badanej [148]. Natomiast w badaniu *postmenopausal estrogen/progestin interventions* (PEPI) zauważono, że estrogenowa terapia zastępcza w okresie pomenopauzalnym obniża stężenie homocysteiny u kobiet z prawidłowym jej poziomem przed rozpoczęciem leczenia.

Mechanizm wpływu estrogenów na metabolizm homocysteiny nie jest znany [10]. W przeciwieństwie do hormonalnej terapii zastępczej leki antykoncepcyjne nie wpływają na poziom Hcy u młodych kobiet [58].

1.3.4.4. Inne leki.

Metotreksat jest stosowany w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów oraz niektórych nowotworów. Jego wpływ na metabolizm homocysteiny jest dobrze poznany. Jako inhibitor reduktazy dihydrofolianowej wiąże się z nią 10000 krotnie silniej niż kwas foliowy, którego jest antagonistą. Powoduje to tendencję do hiperhomocysteinemii u osób leczonych metotreksatem. Suplementacja kwasu foliowego zmniejsza toksyczność tego chemioterapeutyku oraz obniża poziom homocysteiny [113].

Kolejną grupą leków, która może prowadzić do wzrostu stężenia Hcy są preparaty przeciwpadaczkowe. Indukują one niedobór kwasu foliowego, który jest niezbędny w reakcji remetylacji homocysteiny i w konsekwencji prowadzi do akumulacji tego aminokwasu. Mechanizm działania tych leków nie jest dokładnie znany. Wydaje się, że mogą one obniżać aktywność 5-MTHFR lub/i indukować enzymy wątrobowe [33, 99].

Innymi znanymi lekami prowadzącymi do podwyższenia poziomu homocysteiny w surowicy są: cyklosporyna, lewodopa i teofilina [33, 36, 39].

1.4. Patomechanizm działania homocysteiny.

W 1969 roku McCully jako pierwszy opisał związek pomiędzy hiperhomocysteinemią a miażdżycą. Badając osoby z wrodzonym defektem enzymatycznym prowadzącym do znacznego wzrostu stężenia homocysteiny w surowicy (nawet ponad 30 razy w stosunku normy) zauważył, że głównym powodem ich śmiertelności i to w młodym wieku są powikłania naczyniowe [92]. Od tej pory aterogenne znaczenie hiperhomocysteinemii zostało potwierdzone w wielu badaniach. Obecnie hiperhomocysteinemia jest uznawana za niezależny czynnik rozwoju miażdżycy [15, 145]. Graham i wsp. w wieloośrodkowym europejskim badaniu stwierdzili, że jest ona porównywalna z paleniem tytoniu lub z hiperlipidemią, natomiast w połączeniu z nimi ryzyko wzrasta więcej niż wynikałoby z sumy poszczególnym czynników. Ponadto oceniając stężenia homocysteiny zauważono, że wzrost o każde $5\mu\text{mol/l}$ powyżej stężenia $10\mu\text{mol/l}$ w surowicy powoduje zwiększenie ryzyka choroby wieńcowej 1,3 krotnie u mężczyzn i 1,4 u kobiet [55]. W podobnych badaniach Boushey'a i wsp. było to odpowiednio 1,6 i 1,8 [20].

Wald i wsp., przedstawili pod koniec 2002 roku metaanalizę publikowanych badań dotyczących mutacji genu MTHFR powodujących wzrost homocysteiny oraz prospektywnych badań wpływu homocysteiny na ryzyko wystąpienia: choroby wieńcowej, zakrzepicy żył głębokich oraz udaru mózgowego. Potwierdzili oni wzrost ryzyka wystąpienia każdej z ocenianych chorób naczyniowych wraz ze zwiększeniem stężenia homocysteiny w surowicy. Ponadto analizując wyniki badań stwierdzili, iż obniżenie poziomu Hcy o $3\mu\text{mol/l}$ powoduje zmniejszenie ryzyka wystąpienia choroby wieńcowej od 11 do 20% (średnio 16%), zakrzepicy żył głębokich od 8 do 38% (średnio 25%) a udaru mózgu od 15 do 33%

(średnio 24%) [144]. Istotnym wydaje się również ocena homocysteiny u osób po przebytych powikłaniach naczyniowych. Retterstol i wsp. przedstawili 10 letnią obserwację chorych po zawale mięśnia sercowego, gdzie potwierdzono znaczenie homocysteiny jako czynnik zwiększonej śmiertelności zarówno sercowej jak i nie związanej z chorobą wieńcową [108].

1.4.1. Mechanizm aterogenego działania homocysteiny.

Patomechanizm powstawania miażdżycy u osób z hiperhomocysteinemią nie jest dokładnie poznany. Badania eksperymentalne sugerują, że hiperhomocysteinemia prowadzi do uszkodzenia komórek śródbłónka, zwiększa agregację płytek krwi, aktywuje krążące leukocyty, upośledza fibrynolizę działając jednocześnie prozakrzepowo (Tabela III) [122, 146, 147].

Tabela III. Patogeneza powstawania miażdżycy w hiperhomocysteinemii [64, 122, 146, 147].

Uszkodzenie komórek śródbłónka

Upośledzenie wazodilatoryjnej funkcji endotelium

Upośledzenie aktywności endogennego tkankowego aktywatora plazminogenu

Aktywacja proliferacji komórek mięśni gładkich

Aktywacja agregacji płytek

Wzrost syntezy tromboksanu A

Spadek syntezy prostacyklin

Zaburzenia w fibrynolizie

Aktywacja czynników krzepnięcia V, X i XII

Hamowanie antytrombiny III

Zwiększenie wiązania lipoproteiny (a) do włókniaka

Podwyższenie poziomu fibrynogenu

Do najważniejszych zaburzeń, które prowadzą do rozwoju miażdżycy należy upośledzenie funkcji śródbłónka. Charakteryzuje się ono nieprawidłową równowagą pomiędzy czynnikami rozszerzającymi i zwężającymi naczynia, związkami prozakrzepowymi i przeciwzakrzepowymi, przekąźnikami zapalnymi i przeciwzapalnymi, hamującymi i aktywującymi rozplam komórek mięśni gładkich naczyń. Jednym z najwcześniejszych objawów, które mogą świadczyć o trwających procesach aterogennych jest upośledzenie zależnej od endotelium funkcji wazodilatacyjnej manifestującej się nieprawidłowym tonusem naczyniowym. Najczęściej jest to związane z pogorszeniem biodostępności produkowanego przez śródbłonek przekąźnika jakim jest tlenek azotu (NO) [73, 88].

Tlenek azotu jest podstawowym endogennym czynnikiem przeciwmiażdżycowym powodującym zmniejszenie tonusu naczyniowego, hamowanie interakcji śródbłonek – leukocyty, ograniczającym aktywację płytek krwi i hamującym proliferację komórek mięśni gładkich naczyń. Obniżenie biodostępności NO może być związane ze spadkiem jego stężenia lub aktywności bądź zwiększoną jego degradacją [146].

W modelach doświadczalnych badających wpływ homocysteiny na śródbłonek stwierdzono zwiększony poziom asymetrycznej dimetylargininy (ADMA), która jest endogennym inhibitorem syntazy NO (NOS). Efekt ten zależny jest od dawki i czasu ekspozycji na Hcy a przyczyną wzrostu stężenia ADMA jest wywołane przez Hcy obniżenie aktywności dimetylaminohydrolazy dimetylargininy (DDAH), która jest odpowiedzialna za jej degradację. Mechanizmy te mogą częściowo wyjaśniać przyczyny upośledzenia zależnej od śródbłonka funkcji wazodilacyjnej [123, 124]. Podobne zaburzenia (wzrost stężenia ADMA) obserwuje się w innych niezależnych przyczynach rozwoju miażdżycy takich jak: hipercholesterolemia, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie tytoniu [28]. Inną drogą eliminacji ADMA (oprócz działania DDAH) jest wydalanie z moczem stąd upośledzenie funkcji nerek jest dodatkowym (obok wpływu hiperhomocysteinemii) powodem akumulacji ADMA [77]. U chorych z hipercholesterolemią wraz ze wzrostem stężenia homocysteiny powyżej normy, obserwuje się pogłębienie dysfunkcji wazodilacyjnej śródbłonka, pomimo, że poziom NO jest porównywalny w obu grupach [116]. Upośledzenie funkcji endotelium stwierdza się również u osób, u których przejściową hiperhomocysteinemię wywołuje się doustną podażą metioniny [74].

Innym patologicznym efektem hiperhomocysteinemii jest hamowanie hydrolazy S-adenozylohomocysteinowej (SAH) powodującym zmniejszenie stężenia tkankowej oraz krążącej adenozyiny. Wpływ na SAH obserwuje się zarówno w przewlekłej hiperhomocysteinemii jak również na modelu doświadczalnym ostrej hiperhomocysteinemii [23].

Homocysteina wpływa także na nasilenie degradacji NO. Dzieje się tak najprawdopodobniej przez tworzenie przez nią reaktywnych związków

tlenu takich jak nadtlenku wodoru oraz anionu nadtlenowego. W badaniach na szczurach upośledzenie relaksacyjnej funkcji śródbłónka związane było z tworzeniem w przebiegu hiperhomocysteinemii nadtlenku azotu i było odwracalne przez podanie antyoksydantów [41]. Ponadto Hcy, jak wykazały badania *in vivo* i *in vitro*, hamuje działanie komórkowych antyoksydantów. Należy do nich w głównej mierze peroksydaza glutationu, która odpowiedzialna jest za redukcję nadtlenku wodoru oraz peroksydowanych lipidów. Jest to główny enzym wewnątrzkomórkowy chroniący przed stresem oksydacyjnym [146, 147]. W środowisku zewnątrzkomórkowym głównym wymiataczem wolnych rodników jest dysmutaza nadtlenkowa. Jej stężenie koreluje dodatnio z poziomem homocysteiny. Efekt ten powstaje najprawdopodobniej wskutek ograniczenia możliwości wiązania tego enzymu z powierzchnią komórki endotelium, co jest spowodowane degradacją błonowego proteoglikanu jakim jest siarczan heparanu przez homocysteinę [151]. Ponadto powstające jony nadtlenkowe w hiperhomocysteinemii mogą dezaktywować aktywność biologiczną NO przez wchodzenie z nim w reakcję z tworzeniem nadtlenku azotu a także prowadzić do nadmiernej peroksydacji lipidów błony komórkowej oraz powstania utlenionych lipoprotein niskiej gęstości (LDL) [60]. Mechanizmy te uznawane są za istotne czynniki aterogenne.

Kolejnym ważnym efektem działania Hcy na endotelium jest aktywacja komórek śródbłónka prowadząca do ekspresji cytokin i adhezyn, które powodują przyciąganie i przywieranie krążących komórek zapalnych [69]. W badaniach Poddara i wsp. stwierdzono, że homocysteina indukuje mRNA do ekspresji prozapalnych cytokin: czynnika

chemotaktycznego monocytów (*monocyte chemoattractant protein-1* – MCP-1) oraz interleukiny 8 (IL-8) w hodowli ludzkich komórek śródbłónka aorty. Nie wpływała natomiast na wydzielanie innych cytokin tj. TNF- α , GM-CSF, IL-1 β , TGF- β [106]. Może odgrywać to znaczącą rolę we wczesnym etapie powstawania oraz dalszej progresji zmian miażdżycowych w naczyniu [112].

Aterogeny wpływ homocysteiny związany jest również z jej działaniem prozakrzepowym. Udowodniono, że Hcy pogarsza zdolność endotelium do hamowania agregacji płytek krwi oraz zmniejsza syntezę prostacykliny [54, 120]. Ponadto aktywuje niektóre czynniki krzepnięcia co może prowadzić do inicjacji kaskady krzepnięcia [111]. Hcy działa również na fibrynolizę. Upośledza przyleganie i aktywację na powierzchni komórki śródbłónka tkankowego aktywatora plazminogenu [59]. W badaniach na zwierzętach Hcy zwiększała syntezę działającego prozakrzepowo tromboksanu A₂ [40]. Natomiast u mężczyzn z chorobą wieńcową stężenia Hcy i fibrynogenu korelowały dodatnio ze sobą i były wyższe niż u zdrowej grupy kontrolnej [143].

1.5. Leczenie hiperhomocysteinemii.

Ponieważ hiperhomocysteinemia jest niezależnym czynnikiem rozwoju miażdżycy słusznym wydają się próby jej leczenia, pomimo, że nie udowodniono jednoznacznie korzystnego wpływu obniżenia poziomu homocysteiny na hamowanie aterogenezy. W badaniach rodzeństwa

chorych z przedwczesną miażdżycą istotne obniżenie homocysteiny w surowicy (podawano kwas foliowy oraz witaminę B₆) nie wpływało na poziom markerów funkcji śródbłónka oraz na białko ostrej fazy [142].

Obok diety ubogometioninowej, głównymi związkami, które stosuje się w terapii hiperhomocysteinemii są kwas foliowy oraz witaminy B₆ i B₁₂ (biorące udział w metabolizmie Hcy substrat oraz kofaktory reakcji) [7, 90].

Podając kwas foliowy, który jest niezbędny w reakcji remetylacji, możemy spodziewać się obniżenia poziomu homocysteiny o około 30% [32, 56]. W badaniach stwierdzono, że znacznie lepszy efekt uzyskuje się suplementując ten związek doustnie w formie farmaceutyku niż porównywalną dawką w diecie. Obniżenie stężenia Hcy ujemnie koreluje z poziomem kwasu foliowego w surowicy [109]. Najczęstszą stosowaną dawką dobową jest 5 do 15mg. Podając więcej (nawet 60mg na dobę) nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w stopniu obniżenia stężenia homocysteiny [128]. Nie jest natomiast pewne, czy dodając do tego leczenia witaminę B₁₂ uzyskamy dodatkowy efekt. Wg niektórych badaczy przy podaży około 0,5 mg na dobę możemy spodziewać się dalszego obniżenia poziomu homocysteiny od 7 do 15% [84, 136]. Nie potwierdziło tego otwarte randomizowane badanie Arnadottira i Hultberga [5].

Korzystny wpływ podaży witaminy B₆ na leczenie hiperhomocysteinemii nie jest jednoznacznie udowodniony. W przypadku obniżonego jej poziomu w surowicy, suplementacja nie obniżała stężenia homocysteiny [122]. Natomiast w sytuacji hiperhomocysteinemii wywołanej doustnym obciążeniem metioniną dawka 50mg witaminy B₆ redukowała stężenie homocysteiny o 22% [84].

W ostatnim czasie duże nadzieje w leczeniu hiperhomocysteinemii wiąże się z N-acetylocysteiną (NAC) oraz 5-metylenotetrahydrofolianem.

NAC jest związkiem siarkowym, stosowanym szeroko w medycynie (w przedawkowaniu acetaminofenu lub jako mukolityk). Podając go (doustnie lub dożylnie) zdrowym osobom, obserwowano znaczące obniżenie poziomu homocysteiny w ciągu jednej do dwóch godzin [141]. Również u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych hemodializami terapia NAC zmniejszała przeddializacyjny poziom Hcy [18]. Ewentualny korzystny wpływ N-acetylocysteiny wymaga jednak dalszych obserwacji. W opublikowanym pierwszym randomizowanym, kontrolowanym badaniu nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu homocysteiny u chorych hemodializowanych, którzy otrzymują i nie otrzymują przewlekle NAC [47].

5-MTHF jest substratem w reakcji remetylacji homocysteiny w metioninę. Podając zdrowym osobom syntetyczną formę L -5-MTHF (113 μ g) przez 24 tygodnie obserwowano korzystniejszy efekt w obniżeniu stężenia homocysteiny niż po podaniu równoważnej molowo dawki (100 μ g) kwasu foliowego (odpowiednio 14,6% i 9,3%). Przewaga L -5-MTHF polega również na tym, że w przeciwieństwie do kwasu foliowego nie maskuje hematologicznych wskaźników niedoboru witaminy B₁₂ [140].

Innym istotnym celem leczenia hiperhomocysteinemii jest redukcja jego aterogennego wpływu na naczynia. Jak opisano wcześniej homocysteina indukuje między innymi oksydację LDL, co odgrywa istotną rolę patogenezie miażdżycy. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że witamina C, która jest fizjologicznym antyoksydantem chroni LDL przed zależnym od Hcy utlenieniem [1].

Wydaje się, że u osób z SNN przeszczepienie nerki powinno skutecznie wyeliminować hiperhomocysteinemię. Leczenie to często

proceeds to normalization of creatinine levels in serum in these patients. However, in the studies conducted in the last time, the expected effect was not confirmed. Although a decrease in Hcy levels in relation to the baseline was achieved, however, in about 70% of the subjects, hyperhomocysteinemia ($>15\mu\text{mol/l}$) [19, 36, 39].

2. CELE PRACY

1. Ocena zachowania się poziomu homocysteiny u chorych po przeszczepieniu nerki w różnych okresach od momentu wykonania zabiegu.
2. Próba korelacji stwierdzanych stężeń homocysteiny ze stopniem wydolności przeszczepionej nerki i występowaniem ostrego odrzucania.
3. Próba oceny wpływu stosowanej immunosupresji na poziom homocysteiny.
4. Próba oceny wpływu hiperhomocysteinemii na rozwój miażdżycy u pacjentów po przeszczepieniu nerki.

3. MATERIAŁ I METODYKA

Badanie przeprowadzono u 51 chorych (17K, 34M) w wieku od 15 do 62 lat (średnio 38,1 lat), u których w okresie od 20.11.2000 roku do 13.08.2003 roku w I Katedrze Chirurgii Ogólnej i Klinice Chirurgii Gastroenterologicznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie wykonano przeszczepienie nerki ze zwłok. Po zabiegu pozostawali oni w kontroli Kliniki Nefrologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Wszyscy chorzy przed przeszczepieniem byli leczeni nerkozastępczo (w programie hemodializ - 46 osób, dializ otrzewnowych - 5 osób) (Tabela IV).

Tabela IV. Ogólna charakterystyka pacjentów włączonych do badania.

Metoda leczenia przed przeszczepieniem	n	PŁEĆ		WIEK
		MĘŻCZYŹNI	KOBIETY	x ± SD
HD	46	30 (65,2%)	16 (34,8%)	38,15 ± 10,87
DO	5	4 (80,0%)	1 (20,0%)	37,68 ± 13,40
HD +DO	51	34 (66,7%)	17 (33,3%)	38,11 ± 10,99

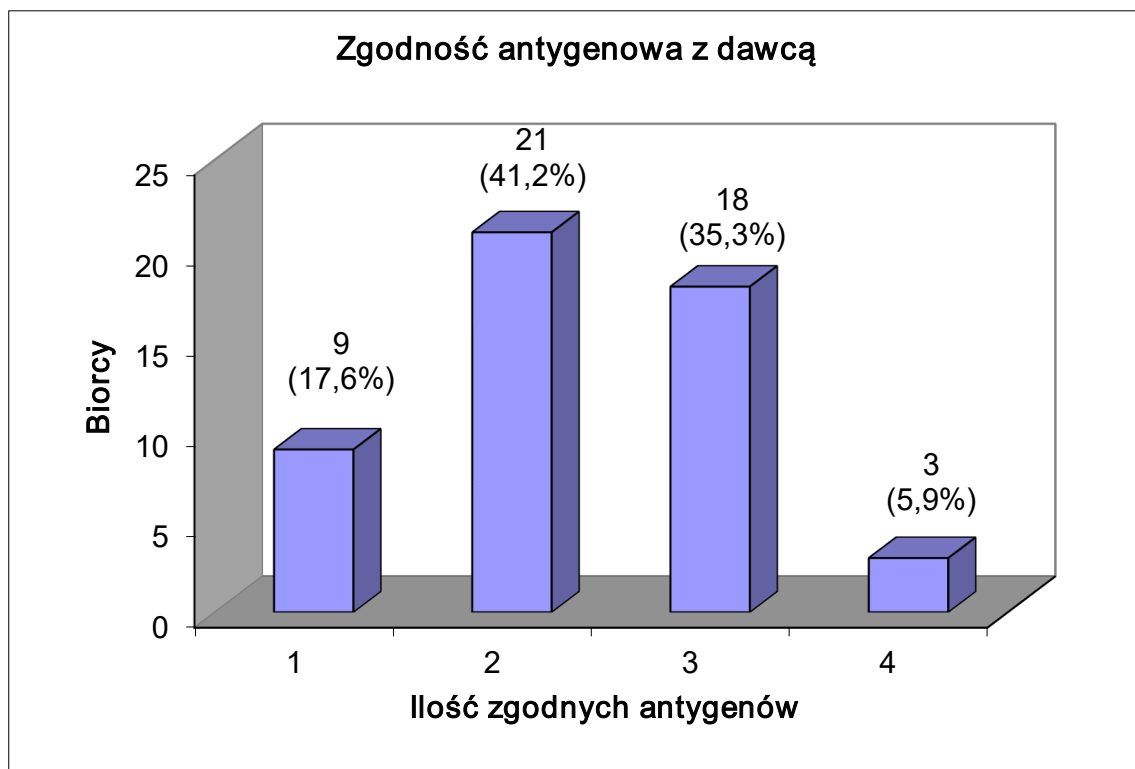
Pierwotną przyczyną schyłkowej niewydolności nerek u tych pacjentów były:

- kłębuszkowe zapalenia nerek – 30 chorych (58,9%),
- odmiedniczkowe zapalenie nerek – 6 osób (11,8%),
- nefropatia cukrzycowa – 3 osoby (5,9%),
- śródmiąższowe zapalenie nerek – 2 osoby (3,9%),
- nefropatia refluksova – 1 osoba (3,9%),
- obustronna nefrektomia – 1 osoba (3,9%),
- niewydolność nerek o nieustalonej przyczynie – 8 osób (15,7%).

Średni czas leczenia nerkozastępczego przed zabiegiem przeszczepienia nerki wynosił 38,4 miesiąca (najkrócej 5 a najdłużej 106 miesięcy). Dla 7 chorych był to drugi zabieg transplantacji nerki, dla pozostałych pierwszy.

Przed zabiegiem przeszczepienia nerki biorcy mieli oznaczoną zgodność antygenową z dawcą w zakresie antygenów HLA A, B oraz DR. Zgodność ta wynosiła od 1 do 4 antygenów (średnio 2) (Ryc. 2).

Całkowity czas niedokrwienia nerki przeszczepionej wynosił od 3 do 30 godzin (średnio 15,7).



Ryc. 2. Zgodność antygenowa biorców z dawcą.

Po zabiegu przeszczepienia nerki chorzy otrzymywali leczenie immunosupresyjne według następujących schematów:

- prednizon + cyklosporyna A + azatiopryna – 12 osób,
- prednizon + cyklosporyna A + mykofenolan mofetylu – 26 osób,
- prednizon + tacrolimus + mykofenolan mofetylu – 11 osób,
- prednizon + tacrolimus + azatiopryna – 2 osoby.

U 2 pacjentów leczonych schematem prednizon + cyklosporyna A + azatiopryna w trakcie obserwacji azatioprynę zmieniono na mykofenolan mofetylu (średnio po 16 miesiącach), natomiast u jednego chorego otrzymującego prednizon + cyklosporynę A + mykofenolan mofetylu po 16 miesiącach włączono schemat prednizon + rapamycyna.

U 29 badanych chorych (56,9%) po zabiegu przeszczepienia nerki wystąpiła ostra martwica cewek nerkowych (ATN). Pacjenci ci do powrotu funkcji nerki przeszczepionej wymagali wykonania od 4 do 28 hemodializ (średnio 14).

Poddano analizie następujące dane kliniczne oraz badania dodatkowe:

1. Wiek, płeć, wzrost, waga, przyczyna niewydolności nerek, czas trwania dializ przed przeszczepem, schemat immunosupresji.
2. Poziom homocysteiny w surowicy.
3. Badania lipidowe: cholesterol całkowity z frakcjami HDL i LDL, trójglicerydy, Apo-B, Lipoproteina (a).
4. Inne badania laboratoryjne: kwas foliowy w surowicy, kreatynina, klirens kreatyniny, glukoza we krwi.
5. Ultrasonograficzna ocena grubości intymy i medii tętnicy szyjnej wspólnej.

Krew do badań była pobierana u pacjentów bezpośrednio przed przeszczepieniem nerki oraz po 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 i 24 miesiącach. Wtedy to oznaczano następujące parametry biochemiczne:

- stężenie homocysteiny,
- poziom cholesterolu całkowitego z frakcjami HDL i LDL, trójglicerydy, Apo-B, Lipoproteinę (a) (Lp(a)),
- poziom kwasu foliowego, mocznika, kreatyniny, glukozy oraz klirens kreatyniny

Do czasu oznaczenia homocysteiny, kwasu foliowego, badań lipidowych materiał zamrażano i przechowywano w temperaturze -70°C . Pozostałe badania wykonywano bezpośrednio po pobraniu.

Oznaczenie homocysteiny było wykonane metodą chromatografii cieczowej wysokociśnieniowej HPLC w II Katedrze Chorób Wewnętrznych CM UJ w Krakowie. Surowice do tego badania uzyskiwano przez wirowanie krwi pobranej na EDTA (3500 obrotów na minutę, przez 15 minut w 4°C) w ciągu 30 minut od pobrania.

Oznaczenie Lp(a) i Apo-B zostało wykonane metodą nefelometryczną w Katedrze Diagnostyki Biochemicznej CM UJ w Krakowie.

Kwas foliowy był oznaczany w laboratorium Diagnostyka Medyczne Centrum Laboratoryjne w Krakowie.

Pozostałe badania biochemiczne były wykonywane w Katedrze Diagnostyki Biochemicznej CM UJ w Krakowie.

Badanie tętnic szyjnych wykonywano w Klinice Nefrologii w Krakowie w pierwszych 14 dniach po zabiegu przeszczepienia nerki oraz po 12 i 24 miesiącach.

Ponadto u wszystkich chorych oceniano wystąpienie powikłań sercowo – naczyniowych. Zaliczano do nich: nagłą śmierć sercową, zawał serca, niestabilną dusznicę bolesną, udar mózgu, powikłania zakrzepowo – zatorowe naczyń obwodowych.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Ze względu na brak rozkładu normalnego ($p < 0,05$ w teście Shapiro-Wilka we wszystkich badaniach) w analizie wykorzystano testy nieparametryczne.

4. WYNIKI

Pacjenci (51 osób) byli obserwowani od 6 do 24 miesięcy (średnio 21,2 miesiąca). Łączny czas obserwacji wyniósł 90 osobo-lat. W tym okresie:

- 2 pacjentów (po 6 i 12 miesiącach od zabiegu transplantacji) powróciło do leczenia nerkozastępczego z powodu terminalnej niewydolności nerki przeszczepionej. Przyczynami były odpowiednio: nefropatia BKV oraz przewlekłe odrzucanie.
- 1 pacjent zmarł nagle 13 miesięcy po przeszczepieniu nerki (przyczyna nieznana).
- pozostali chorzy pozostają w kontroli z funkcjonującą nerką przeszczepioną.

4.1. Szczegółowa charakterystyka badanych chorych.

Tabela V. Wiek, czas dializowania, czas niedokrwienia oraz zgodność antygenowa w całej badanej populacji.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
Wiek (lat)	38,10	10,99	39,00	15,60	62,10	16,80
Czas dializowania (m-ce)	38,43	27,61	31,00	5,00	106,00	33,00
Czas niedokrwienia (godz.)	15,70	5,04	16,00	3,00	30,00	7,00
Zgodność AB (ilość)	1,19	0,74	1,00	0,00	3,00	1,00
Zgodność DR (ilość)	1,09	0,41	1,00	0,00	2,00	0,00
Zgodność razem (ilość)	2,29	0,83	2,00	1,00	4,00	1,00

Tabela VI. Wiek, czas dializowania, czas niedokrwienia oraz zgodność antygenowa w badanej grupie mężczyzn.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
Wiek (lat)	38,98	10,98	39,08	15,67	62,08	16,83
Czas dializowania (m-ce)	40,03	29,41	31,00	5,00	106,00	37,00
Czas niedokrwienia (godz.)	16,31	4,68	16,00	8,50	30,00	8,00
Zgodność AB (ilość)	1,20	0,76	1,00	0,00	3,00	1,00
Zgodność DR (ilość)	1,03	0,38	1,00	0,00	2,00	0,00
Zgodność razem (ilość)	2,23	0,88	2,00	1,00	4,00	1,00

Tabela VII.

Wiek, czas dializowania, czas niedokrwienia oraz zgodność antygenowa w badanej grupie kobiet.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp między- kwarty- lowy
Wiek (lat)	36,19	11,12	38,67	16,58	55,08	16,21
Czas dializowania (m-ce)	34,94	23,74	30,50	6,00	91,00	32,50
Czas niedokrwienia (godz.)	14,38	5,71	14,00	3,00	24,00	8,00
Zgodność AB (ilość)	1,19	0,75	1,00	0,00	2,00	1,00
Zgodność DR (ilość)	1,25	0,45	1,00	1,00	2,00	0,50
Zgodność razem (ilość)	2,44	0,73	3,00	1,00	3,00	1,00

4.2. Stężenie homocysteiny przed przeszczepieniem nerki.

Stężenia homocysteiny bezpośrednio przed zabiegiem przeszczepienia nerki przedstawia tabela VIII. Chorych podzielono w zależności od płci oraz zakresu homocysteinemii.

Tabela VIII.

Wybrane zakresy stężenia homocysteiny przed zabiegiem przeszczepienia nerki w zależności od płci.

Hcy	n	x ± SD (μmol/l)		
		MĘŻCZYŹNI	KOBIETY	RAZEM
10-15μmol/l	7	13,6 ± 0,88 n = 5 (71,4%)	12,0 ± 2,55 n=2 (28,6%)	13,2 ± 1,38
15-30μmol/l	32	20,7 ± 3,88 n = 19 (59,4%)	22,0 ± 4,52 n=13 (40,6%)	21,1 ± 4,16
Powyżej 30μmol/l	12	47,4 ± 27,10 n=10 (83,3%)	51,7 ± 10,60 n=2 (16,7%)	48,1 ± 24,70
Powyżej 15μmol/l	44	29,1 ± 20,30 n = 29 (65,9%)	26,0 ± 11,60 n = 15 (34,1%)	28,5 ± 17,80
Wszyscy badani	51	27,5 ± 19,60 n = 34	24,3 ± 11,82 n = 17	26,4 ± 17,34

U 44 pacjentów (86,3% badanych) przed zabiegiem przeszczepienia nerki stwierdzono podwyższony poziom homocysteiny w surowicy (powyżej 15μmol/l). Wynosił on u nich średnio 28,5 μmol/l i był wyższy (o 11,9%) u mężczyzn niż u kobiet (odpowiednio 29,1 i 26 μmol/l).

4.3. Stężenia homocysteiny po przeszczepieniu nerki.

Zmiany stężenia Hcy w surowicy chorych po zabiegu przeszczepienia nerki (NTx) w stosunku do wartości przed transplantacją

przedstawiają tabele IX i X. W tabeli XI przedstawiono wybrane zakresy stężenia homocysteiny po zabiegu przeszczepienia nerki.

Tabela IX.

Stężenia homocysteiny w kolejnych badaniach w całej ocenianej grupie pacjentów (w $\mu\text{mol/l}$).

Okres badania	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
Przed NTx	26,44	17,34	21,80	10,20	116,80	12,20
3 m-ce po NTx	16,38	4,59	15,50	8,20	33,80	4,20
6 m-cy po NTx	17,59	5,60	16,10	9,30	35,20	5,50
9 m-cy po NTx	17,24	6,18	15,70	9,90	46,80	4,00
12 m-cy po NTx	17,17	6,69	15,60	10,10	45,40	4,80
15 m-cy po NTx	17,03	5,83	15,20	10,00	35,80	5,90
18 m-cy po NTx	17,19	5,90	15,40	9,10	41,20	4,00
21 m-cy po NTx	16,93	6,33	15,10	8,00	40,60	5,10
24 m-ce po NTx	16,88	7,48	15,00	9,90	49,70	6,30

Tabela X.

Stężenia homocysteiny w kolejnych badaniach u kobiet i mężczyzn.

Lp.	Okres badania	Średnie stężenie homocysteiny ($\mu\text{mol/l}$)		
		Cała grupa (n=51)	Kobiety (n=17)	Mężczyźni (n=34)
1	Przed NTx	26,4	24,3	27,5
2	3 m-ce po NTx	16,4	16,0	16,6
3	6 m-cy po NTx	17,6	16,9	18,0
4	9 m-cy po NTx	17,2	17,7	17,0
5	12 m-cy po NTx	17,2	18,0	16,8
6	15 m-cy po NTx	17,0	18,1	16,5
7	18 m-cy po NTx	17,2	17,2	17,2
8	21 m-cy po NTx	16,9	16,5	17,1
9	24 m-ce po NTx	16,9	16,5	17,0

Tabela XI.

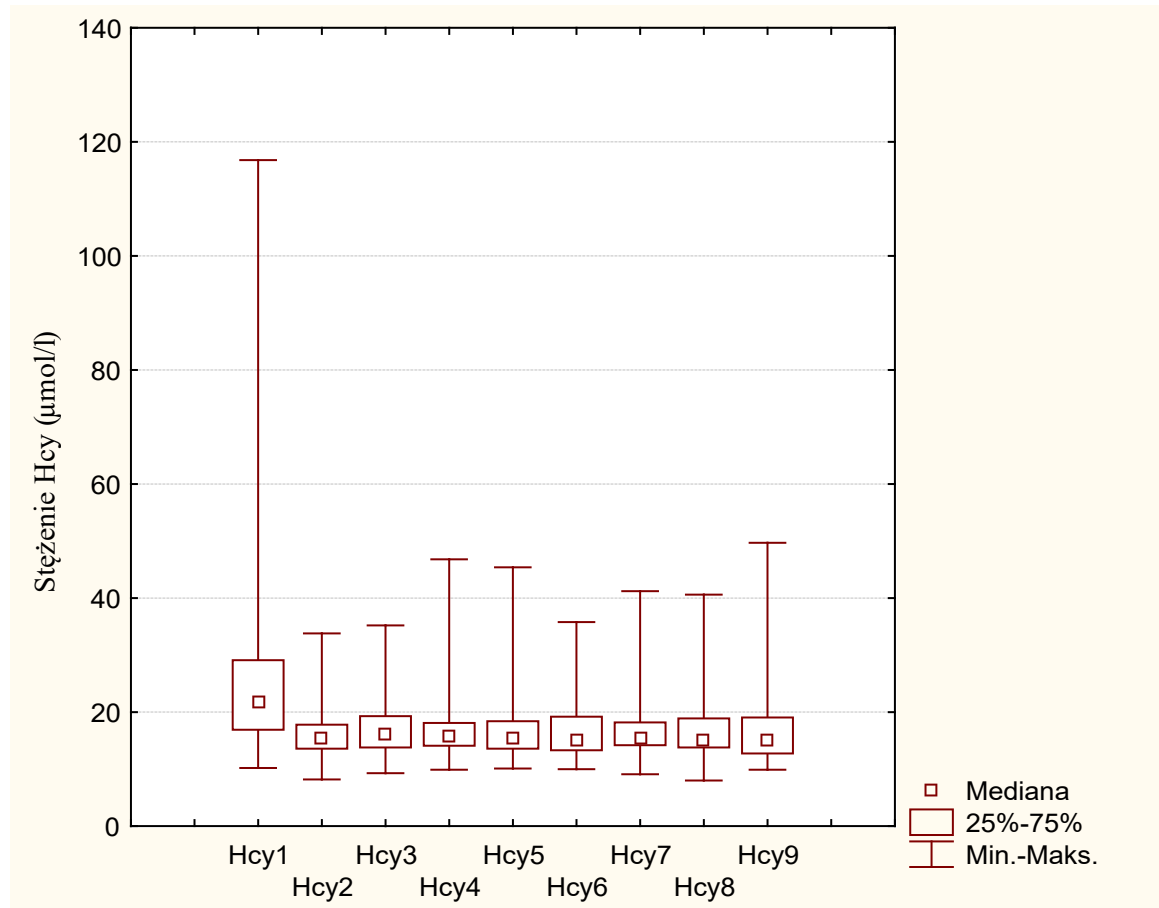
Wybrane zakresy średniego stężenia homocysteiny po zabiegu przeszczepienia nerki w zależności od płci.

Hcy	n	x ± SD (μmol/l)		
		MĘŻCZYŹNI	KOBIETY	RAZEM
10-15μmol/l	20	11,50 ± 3,70 n = 13 (65,0%)	12,80 ± 1,77 n=7 (35,0%)	13,08 ± 1,37
15-30μmol/l	29	17,95 ± 2,92 n = 20 (70,0%)	18,16 ± 4,79 n=9 (30,0%)	18,02 ± 3,41
Powyżej 30μmol/l	2	38,29 n = 1 (50,0%)	35,58 n=1 (50,0%)	36,93 ± 1,91
Powyżej 15μmol/l	31	18,92 ± 5,19 n = 21 (67,7%)	19,90 ± 7,12 n = 10 (32,3%)	19,24 ± 5,77
Wszyscy badani	51	17,00 ± 5,78 n = 34 (78,4%)	17,10 ± 6,51 n = 17 (21,6%)	17,10 ± 6,01

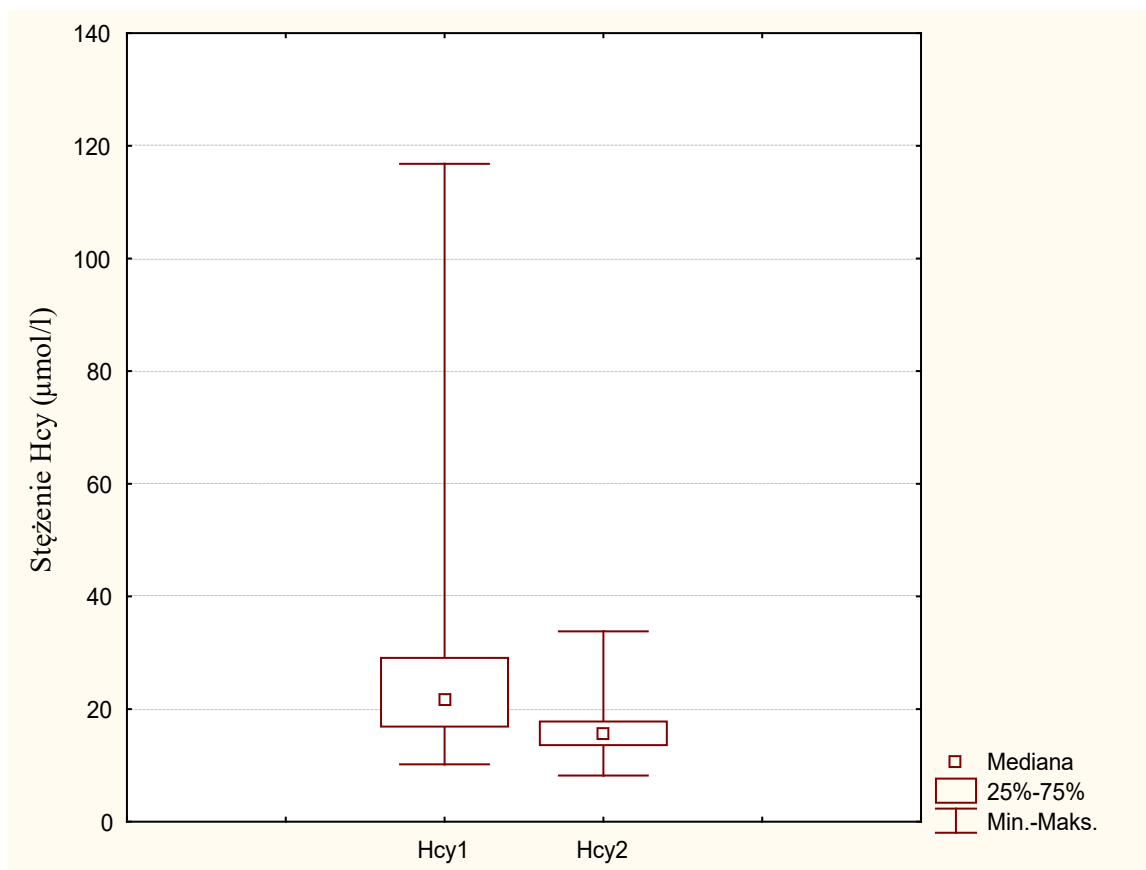
U 31 pacjentów (60,8% badanych) po przeszczepieniu nerki utrzymywało się podwyższone średnie stężenie homocysteiny (powyżej 15μmol/l). Wynosiło ono u nich średnio 19,2 μmol/l.

Po przeszczepieniu nerki stężenie homocysteiny (Hcy) zmieniało się znamienne statystycznie w stosunku do wartości wyjściowej (test ANOVA Friedmana $p < 0,00001$). Spadek stężenia Hcy był istotnie niższy we

wszystkich kolejnych ocenianych okresach (co 3 miesiące) po zabiegu NTx w stosunku do wartości przed przeszczepieniem (Ryc. 3, Ryc. 4).

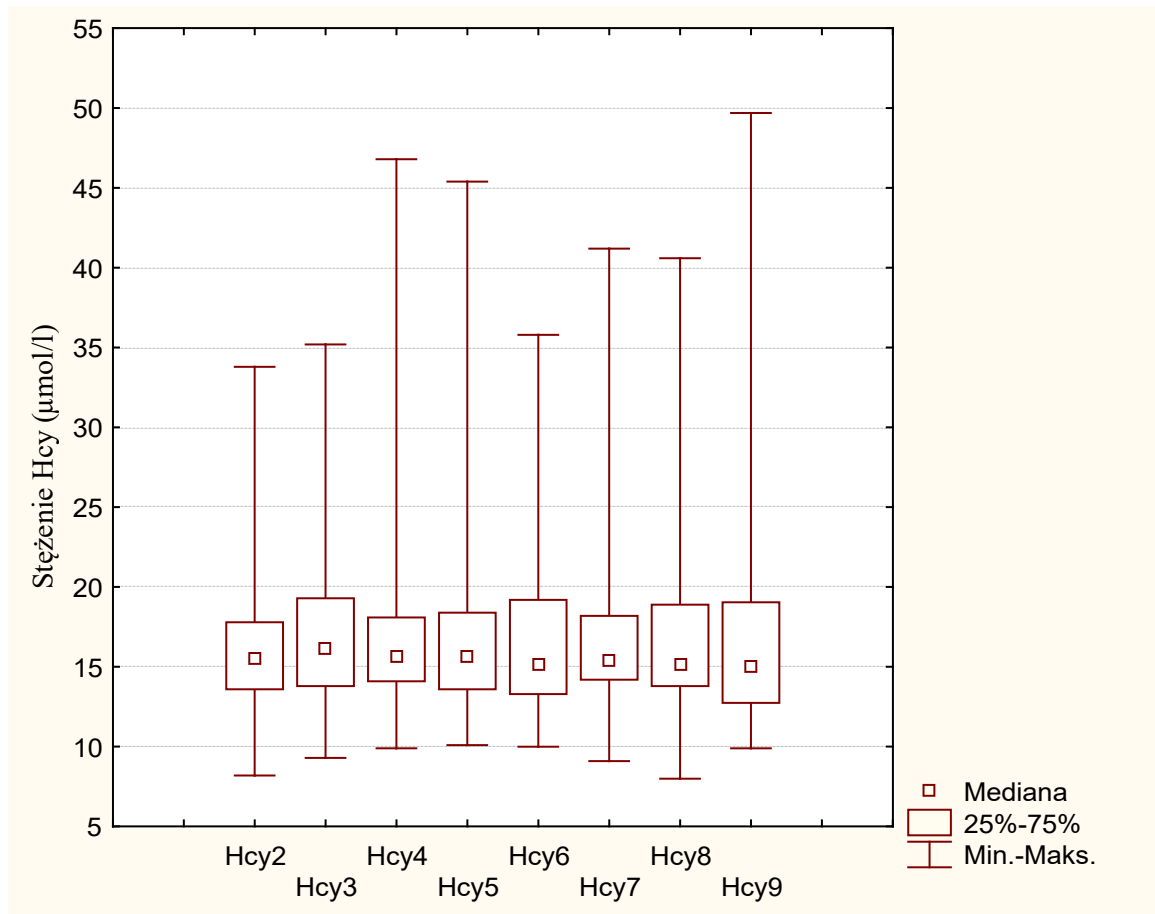


Ryc. 3. Zmiany stężenia homocysteiny w kolejnych badaniach (od Hcy1 do Hcy9) w całej obserwowanej populacji.



Ryc. 4. Znamiennej statystycznie spadek stężenia Hcy obserwowano pomiędzy badaniem przed przeszczepieniem nerki (Hcy1) i 3 miesiące po zabiegu (Hcy2) (w teście Wilcoxona $p < 0,000001$).

Natomiast w kolejnych okresach obserwacji nie stwierdzono znamiennej statystycznie zmian stężeń homocysteiny (test ANOVA Friedmana $p = 0,058$) (Ryc. 5).



Ryc. 5. Porównanie stężenia homocysteiny w kolejnych okresach (od Hcy2 do Hcy9) po zabiegu przeszczepienia nerki.

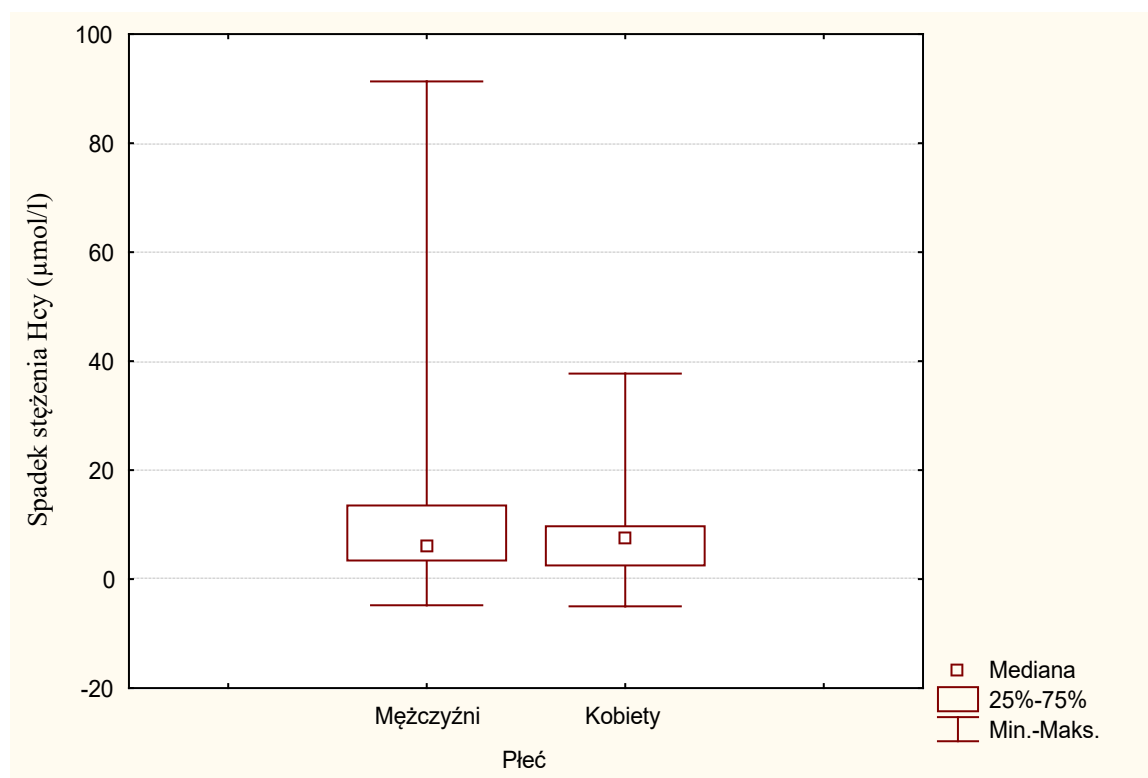
4.4. Zależność stężeń homocysteiny od płci.

Stężenia homocysteiny w kolejnych badaniach nie różniły się pomiędzy kobietami i mężczyznami (Tabela XII).

Tabela XII. Analiza statystyczna różnic stężeń homocysteiny u mężczyzn i kobiet w badanych okresach.

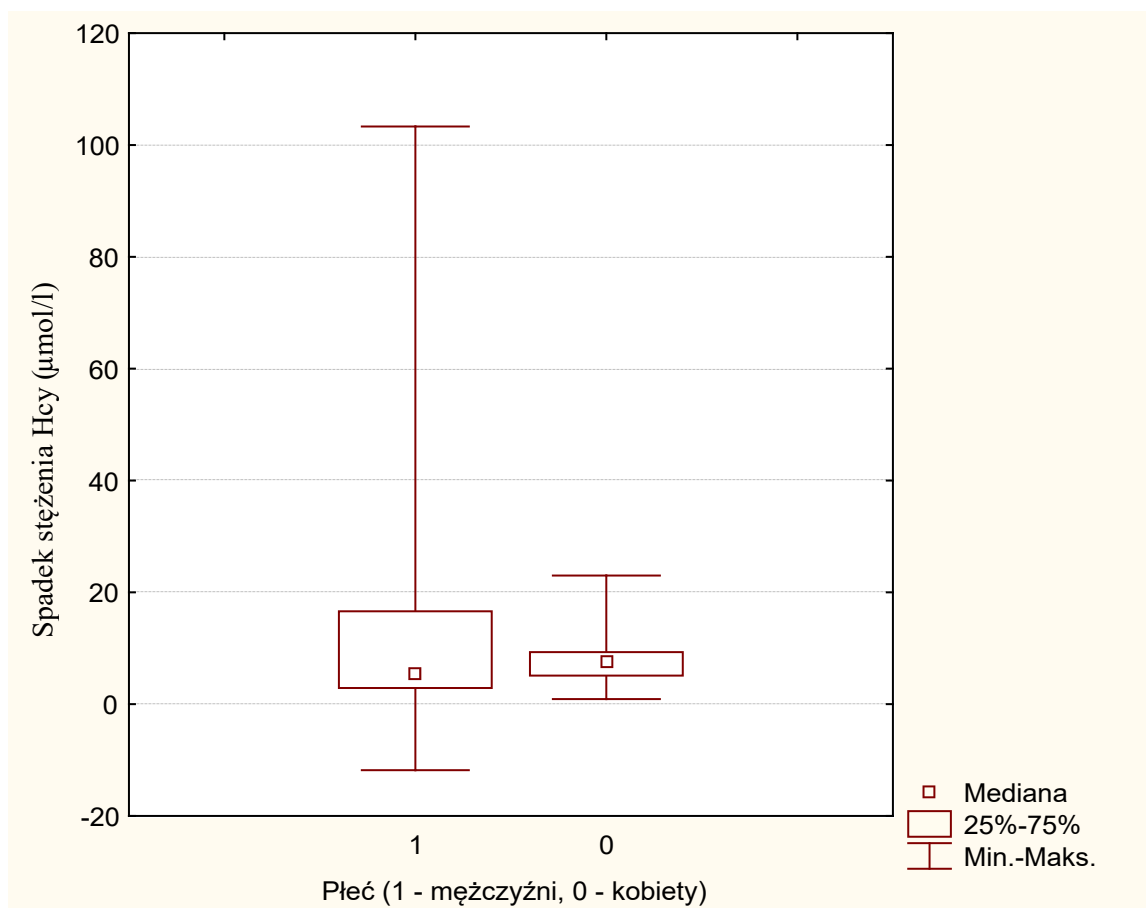
	U	Z	poziom p
Przed NTx	257,50	0,46	0,6479
3 m-ce po NTx	233,50	0,94	0,3452
6 m-cy po NTx	223,50	1,15	0,2514
9 m-cy po NTx	235,00	-0,58	0,5604
12 m-cy po NTx	253,00	0,04	0,9654
15 m-cy po NTx	180,50	-0,89	0,3709
18 m-cy po NTx	118,50	-0,56	0,5726
21 m-cy po NTx	119,00	0,55	0,5842
24 m-ce po NTx	108,50	0,47	0,6348

W teście Manna-Whitney'a nie stwierdzono różnic w spadku poziomu homocysteiny między badaniami przed przeszczepieniem nerki i 3 miesiące po zabiegu pomiędzy kobietami i mężczyznami ($p=0,90$).



Ryc. 6. Porównanie spadku stężeń Hcy u mężczyzn i kobiet między badaniami przed przeszczepieniem nerki i 3 miesiące po zabiegu.

Spadek stężenia homocysteiny w badaniach przed przeszczepieniem nerki i 24 miesiące po zabiegu również nie różniły się znacząco pomiędzy mężczyznami i kobietami ($p=0,68$) (Ryc. 7).



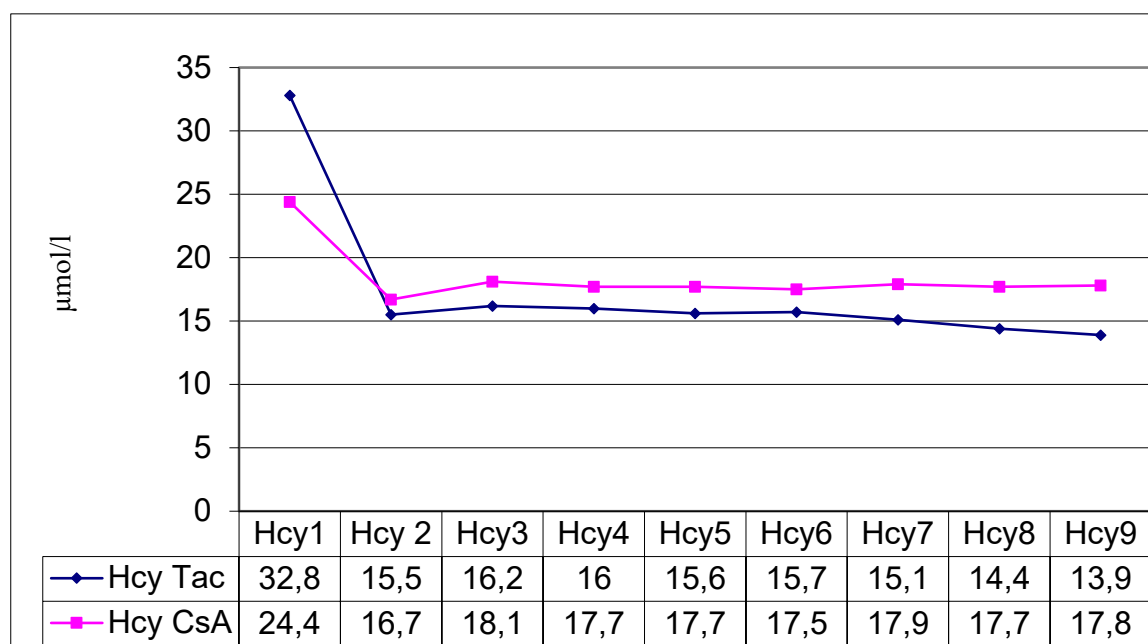
Ryc. 7. Porównanie spadku stężeń Hcy u mężczyzn i kobiet pomiędzy badaniami przed przeszczepieniem nerki i 24 miesiące po zabiegu.

W analizie korelacji nieparametrycznej Spearmana nie stwierdzono związku pomiędzy spadkiem poziomu homocysteiny (przed NTx – 3 miesiące po NTx) a czasem niedokrwienia ($R=0,09$, $p=0,49$), liczbą zgodnych antygenów HLA A i B ($R=0,07$, $p=0,63$) oraz DR ($R=0,09$, $p=0,51$) jak również wszystkich zgodnych antygenów HLA ($R=0,09$, $p=0,46$).

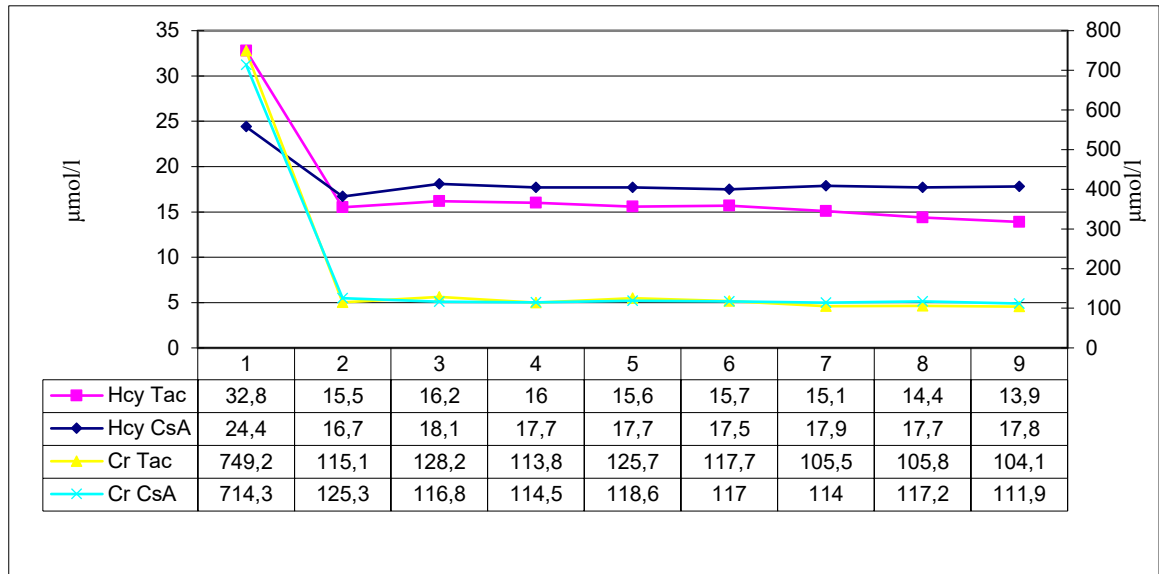
Również spadek poziomu homocysteiny (przed NTx – 24 miesiące po NTx) nie pozostawał w znamiennej statystycznie zależności z powyższymi zmiennymi (odpowiednio $R=-0,14$, $p=0,40$; $R=0,06$, $p=0,73$; $R=0,12$, $p=0,45$; $R=0,11$, $p=0,50$).

4.5. Homocysteina a leczenie immunosupresyjne.

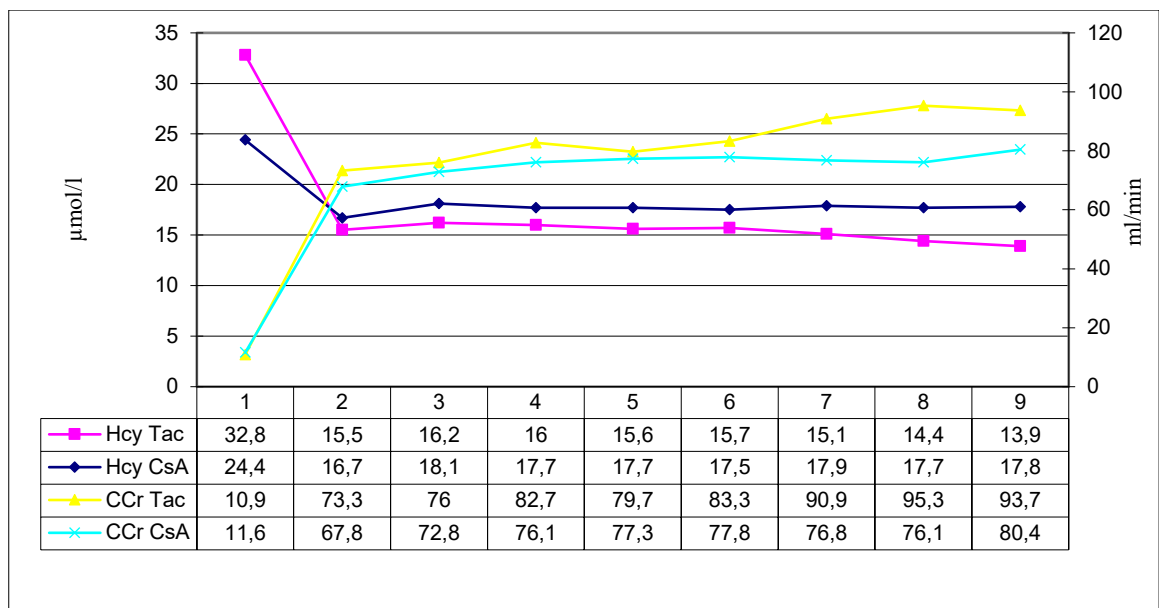
Zmiany stężenia homocysteiny w trakcie 24 miesięcznej obserwacji w zależności od stosowanej immunosupresji - porównanie grup pacjentów leczonych w schemacie z tacrolimusem (Tac) vs. z cyklosporyną A (CsA) przedstawiono na rycinie 8. Natomiast na rycinach 9 i 10 przedstawiono te same grupy ale z uwzględnieniem kolejno: poziomu kreatyniny oraz klirensu kreatyniny u tych chorych.



Ryc. 8. Zmiany stężenia homocysteiny w zależności od stosowanej immunosupresji.



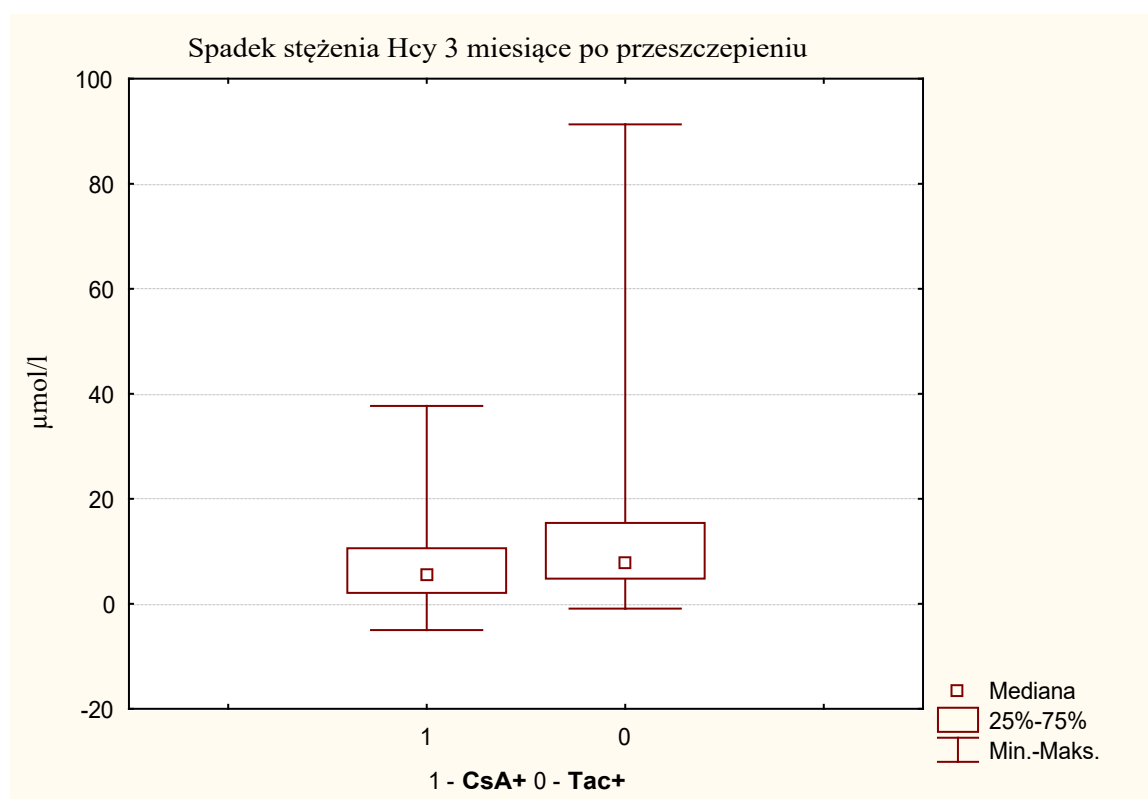
Ryc. 9. Porównanie zmian stężenia homocysteiny oraz kreatyniny (Cr) w grupach pacjentów leczonych CsA i Tac.



Ryc. 10. Porównanie zmian stężenia homocysteiny oraz klirensu kreatyniny (CCr) w grupach chorych leczonych CsA i Tac.

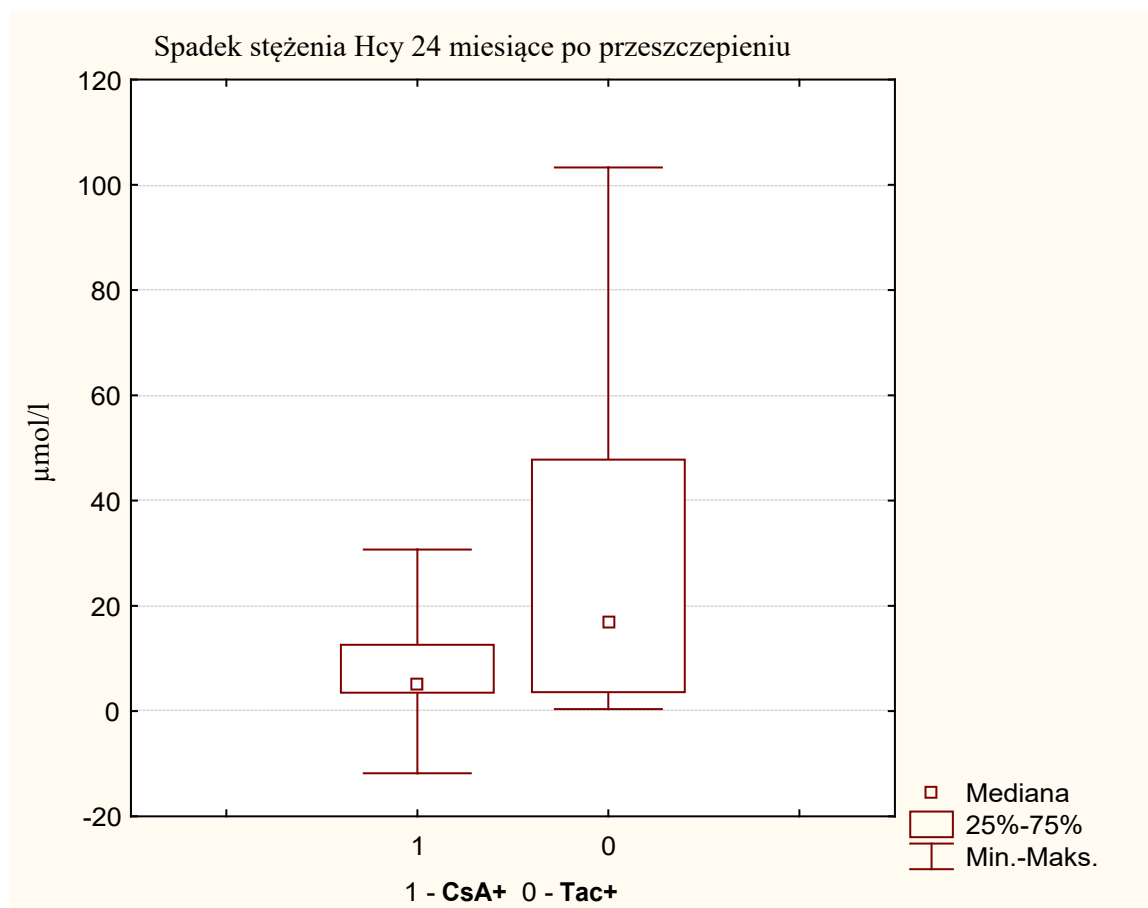
W obserwowanej grupie chorych nie stwierdzono zależności pomiędzy spadkiem stężenia homocysteiny a stosowanym leczeniem immunosupresyjnym.

Obniżenie stężenia homocysteiny (przed przeszczepieniem i 3 miesiące po zabiegu) nie różniło się statystycznie porównując chorych otrzymujących cyklosporynę A vs. tacrolimus w terapii immunosupresyjnej ($p=0,18$) (Ryc. 11).



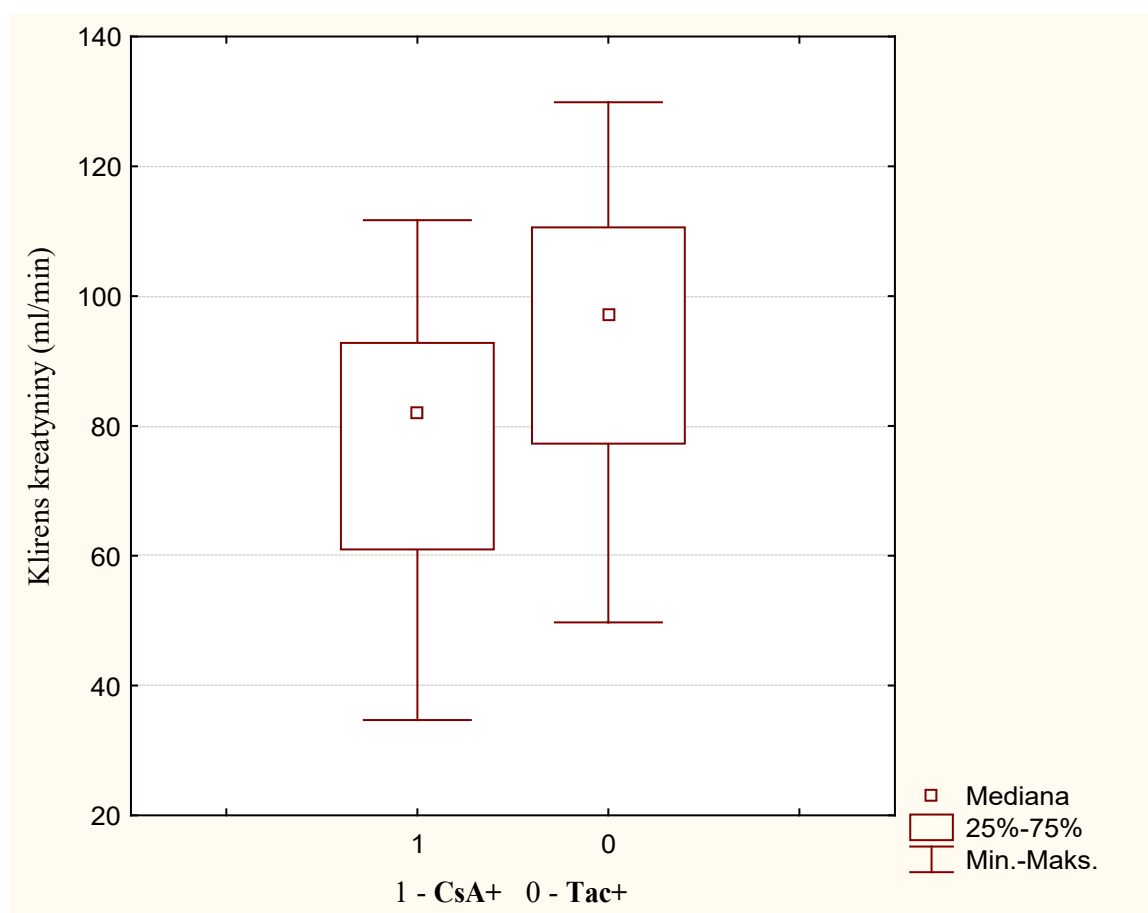
Ryc. 11. Porównanie spadku stężenia homocysteiny 3 miesiące po przeszczepieniu nerki u chorych leczonych cyklosporyną A (CsA) i tacrolimusem (Tac).

Pomimo dużych różnic wielkości spadku stężenia homocysteiny (schemat immunosupresyjny z CsA vs. z Tac) pomiędzy badaniami przed przeszczepieniem nerki i 24 miesiące po zabiegu (odpowiednio o 27% i 57,6%) nie uzyskały one znamienności statystycznej ($p=0,13$) (Ryc.12).



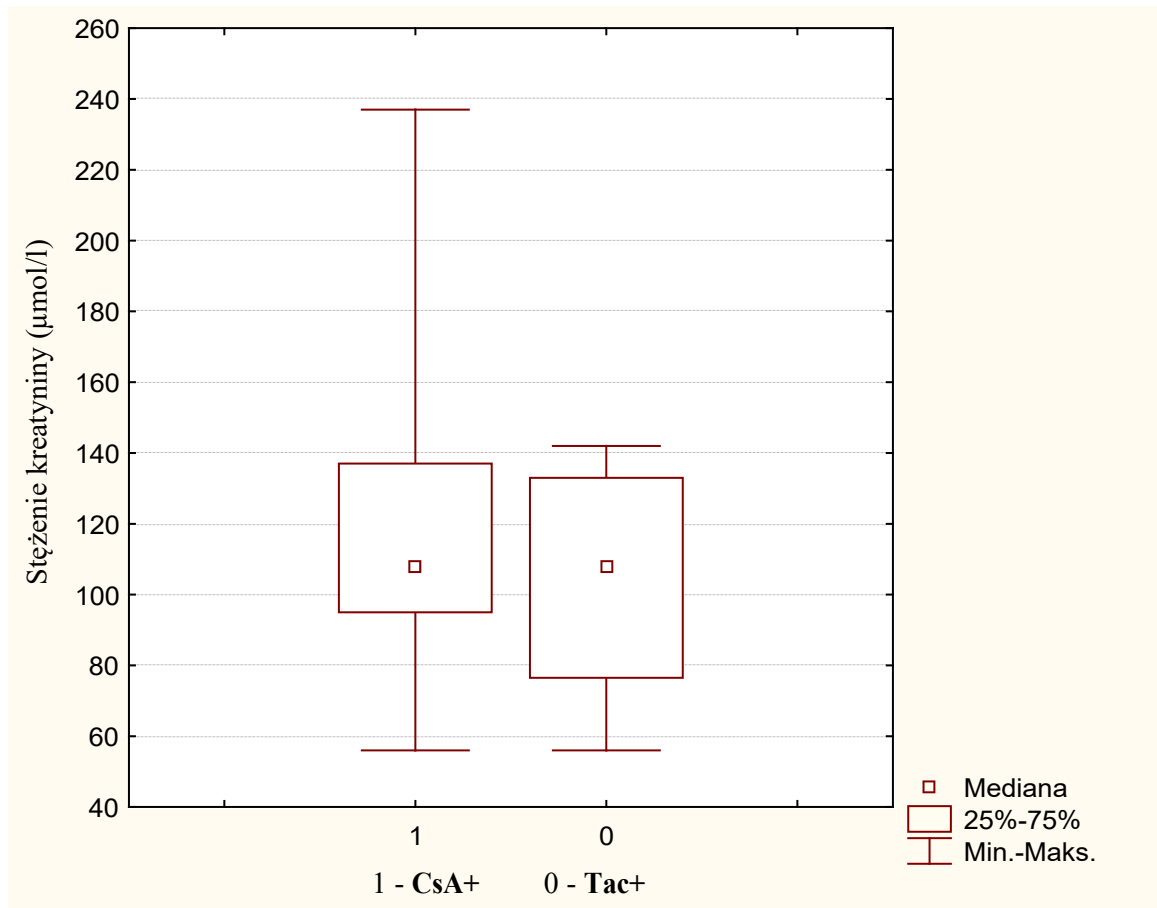
Ryc. 12. Porównanie spadku stężenia homocysteiny 24 miesiące po przeszczepieniu nerki u chorych leczonych cyklosporyną A (CsA) i tacrolimusem (Tac).

W teście Manna-Whitney'a różnica klirensów kreatyniny pomiędzy grupami chorych otrzymujących cyklosporynę i tacrolimus w odległym okresie po przeszczepieniu nerki (po 24 miesiącach) nie osiągnęła znaczącości statystycznej ($p=0,13$) (Ryc. 13). Należy jednak zauważyć, że grupa pacjentów leczonych Tac miała klirens kreatyniny wyższy od otrzymującej CsA o 16,5%.



Ryc. 13. Porównanie klirensu kreatyniny 24 miesiące po przeszczepieniu nerki u chorych leczonych cyklosporyną A (CsA+) i otrzymujących tacrolimus (Tac+).

Również poziomy kreatyniny nie różniły się znacząco między tymi grupami ($p=0,65$) (Ryc. 14).



Ryc. 14. Porównanie stężeń kreatyniny 24 miesiące po przeszczepieniu nerki u chorych leczonych cyklosporyną A (CsA+) i otrzymujących tacrolimus (Tac+).

4.6. Homocysteina a funkcja nerki przeszczepionej

Zmiany stężeń kreatyniny w kolejnych badaniach przedstawiono w tabeli XIII.

Tabela XIII.

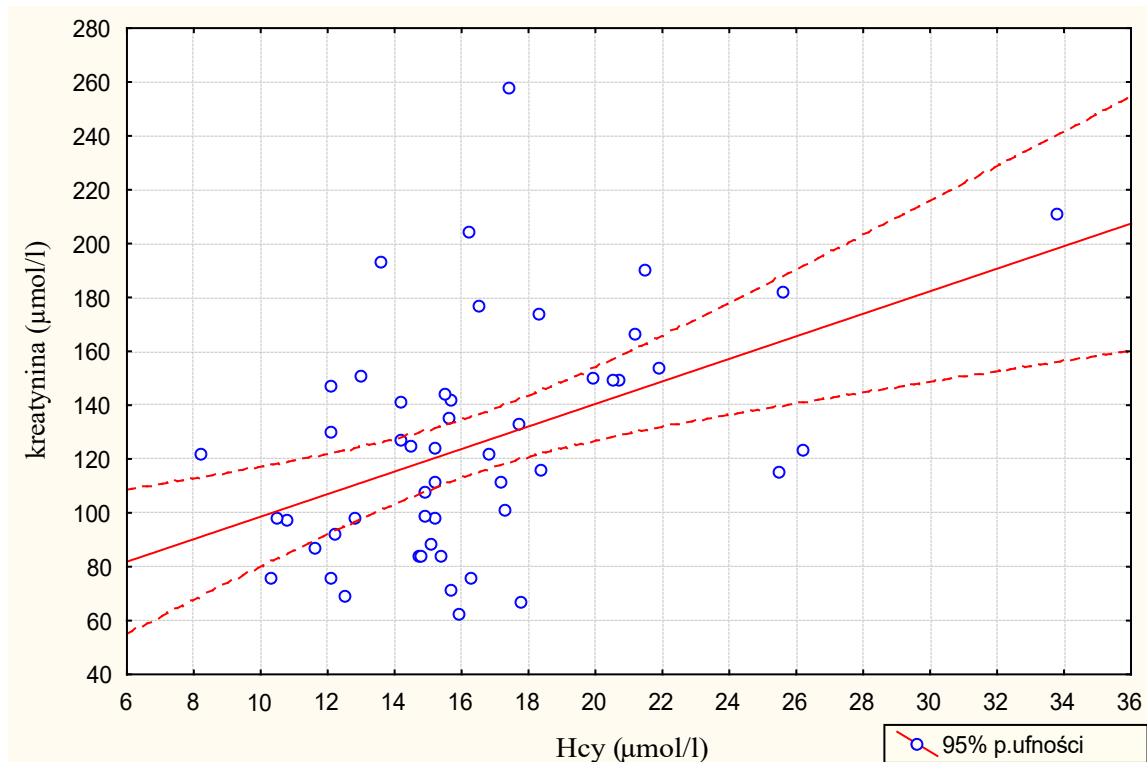
Poziomy kreatyniny (Cr) w kolejnych badaniach.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
Cr 1	724,88	215,08	747,00	291,00	1120,00	347,00
Cr 2	125,30	42,37	122,00	62,00	258,00	57,00
Cr 3	123,02	48,65	120,00	61,00	326,00	48,00
Cr 4	117,36	38,64	112,50	52,00	267,00	44,00
Cr 5	124,26	52,38	116,50	64,00	317,00	41,00
Cr 6	120,09	48,85	109,00	64,00	330,00	41,00
Cr 7	115,57	36,06	115,00	61,00	239,00	34,00
Cr 8	118,62	40,91	116,00	50,00	262,00	44,00
Cr 9	113,58	36,46	108,00	56,00	237,00	39,00

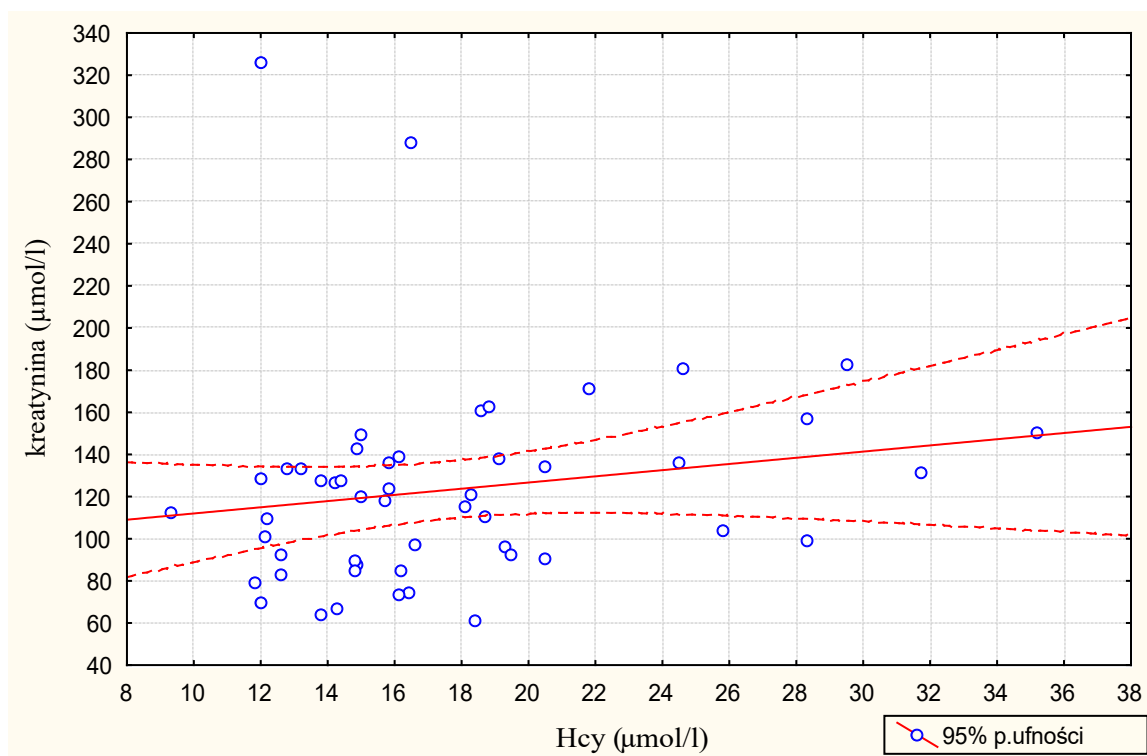
W analizie korelacji nieparametrycznej Spearmana poziom homocysteiny pozostawał w znamienym związku statystycznym z poziomem kreatyniny we wszystkich badaniach za wyjątkiem badania przed przeszczepieniem nerki (tabela XIV).

Tabela XIV. Współczynniki korelacji Spearmana pomiędzy stężeniami homocysteiny i kreatyniny (Cr) w kolejnych badaniach.

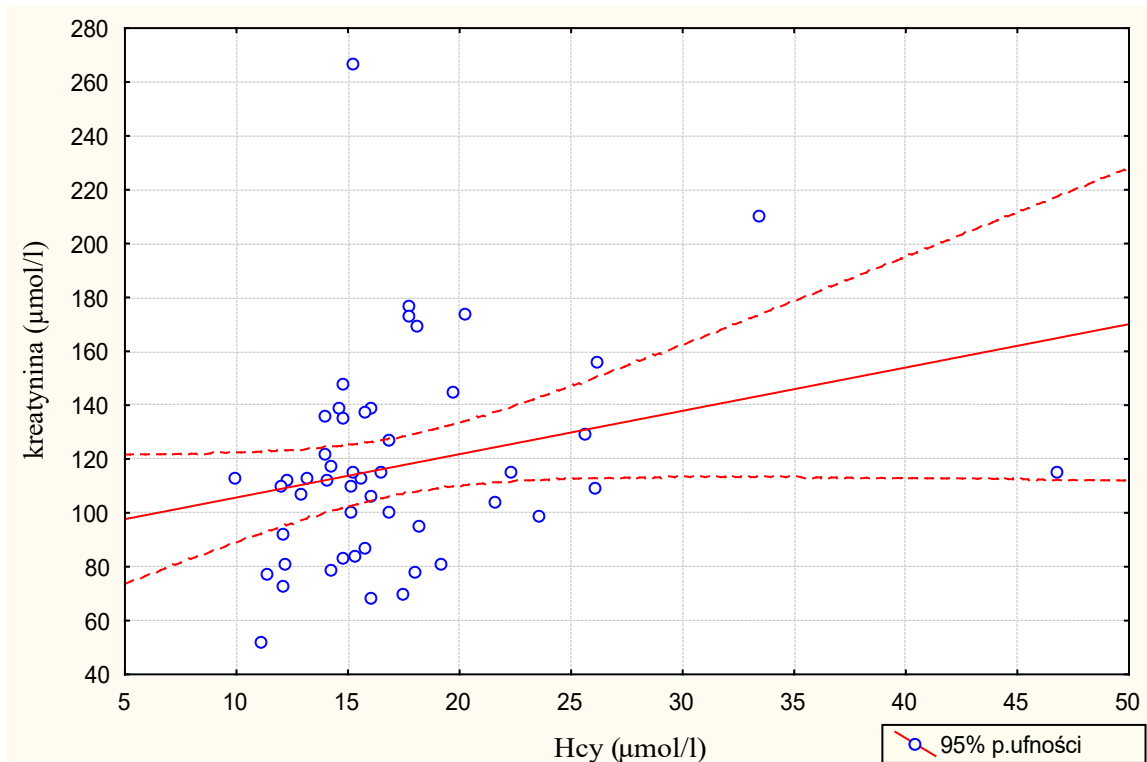
	R	poziom p
Hcy1 & Cr1	0,05	0,7206
Hcy2 & Cr2	0,44	0,0012
Hcy3 & Cr3	0,32	0,0217
Hcy4 & Cr4	0,30	0,0329
Hcy5 & Cr6	0,51	0,0004
Hcy5 & Cr7	0,49	0,0023
Hcy5 & Cr8	0,41	0,0137
Hcy5 & Cr9	0,45	0,0052
Hcy6 & Cr6	0,39	0,0081
Hcy7 & Cr7	0,42	0,0103
Hcy8 & Cr8	0,44	0,0071
Hcy9 & Cr9	0,38	0,0208



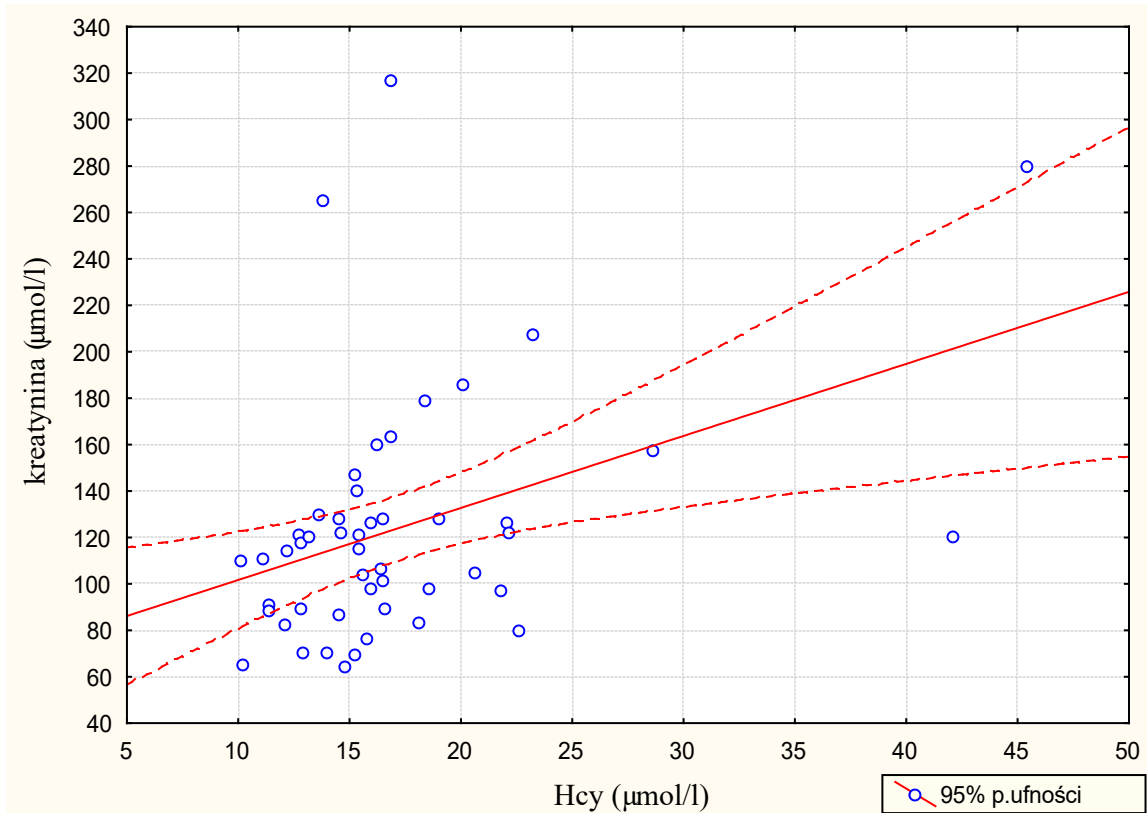
Ryc. 15. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 3 miesiące po przeszczepieniu nerki.



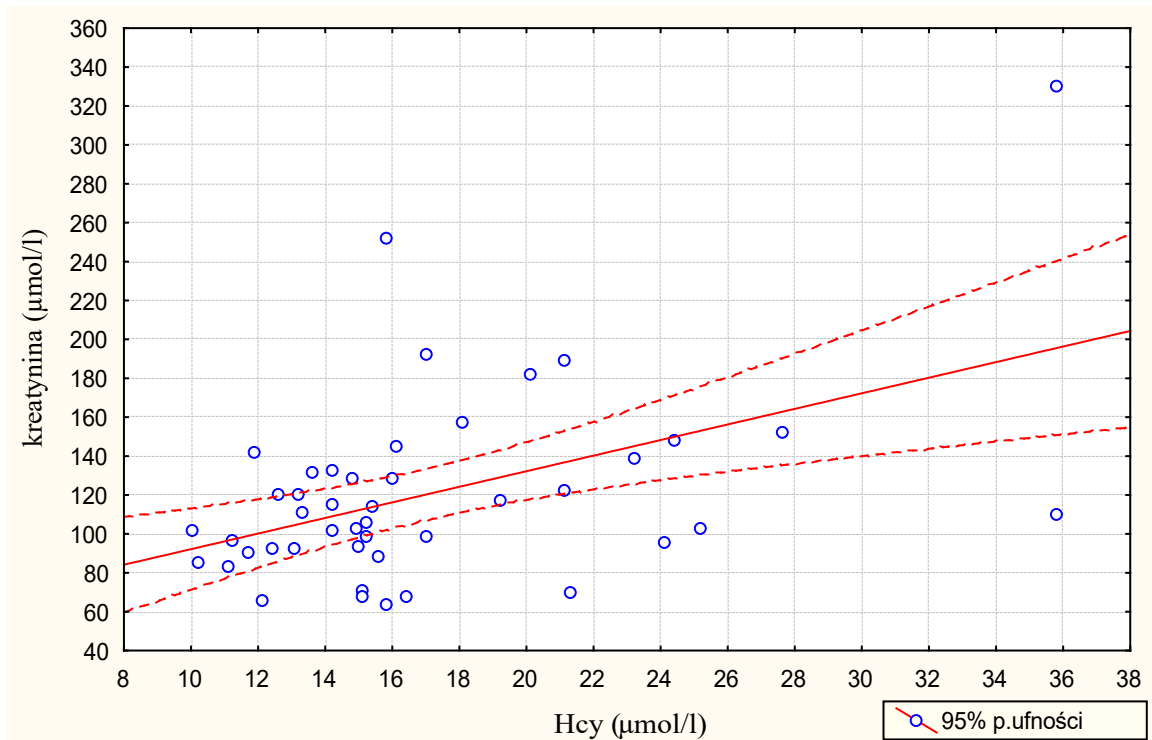
Ryc. 16. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 6 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



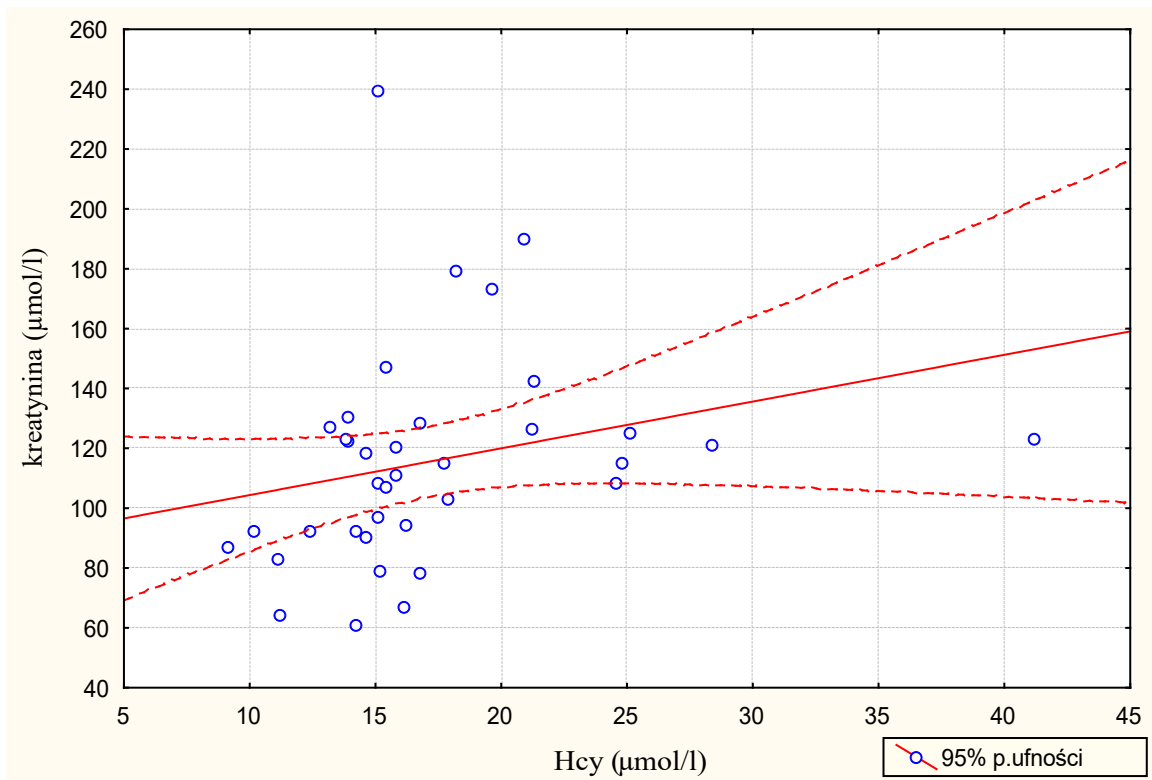
Ryc. 17. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 9 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



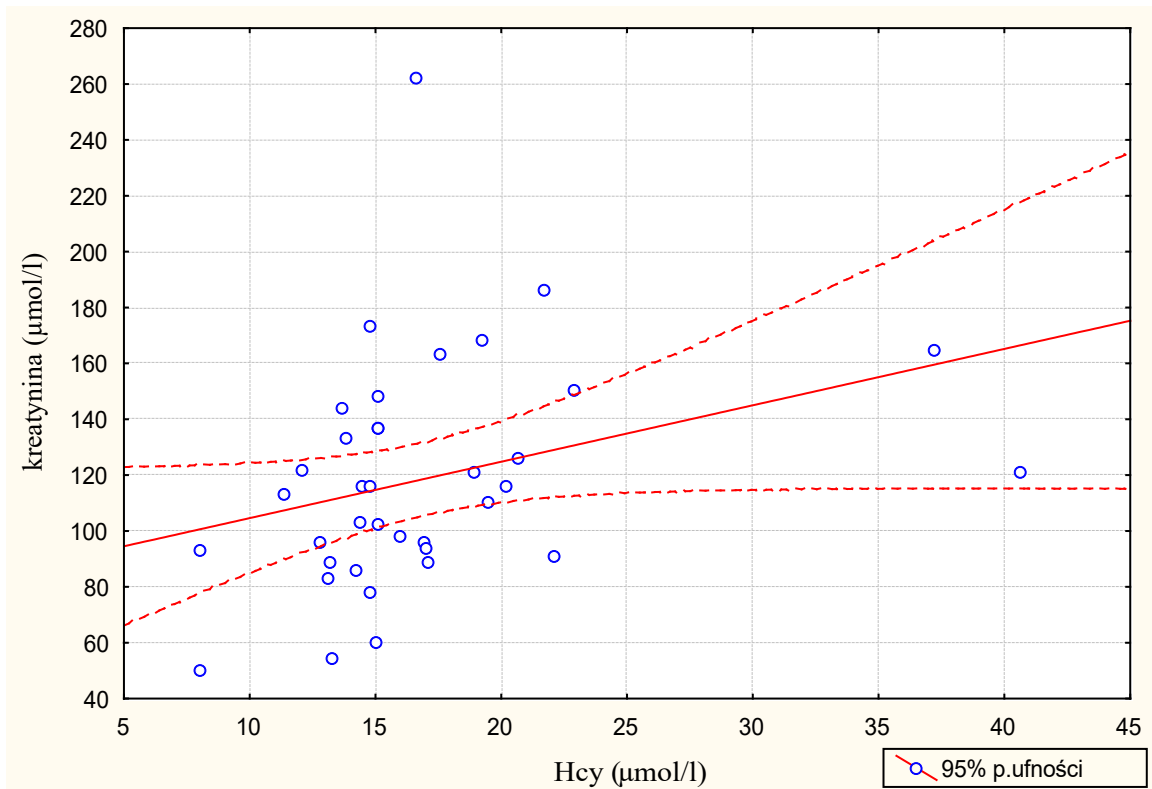
Ryc. 18. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



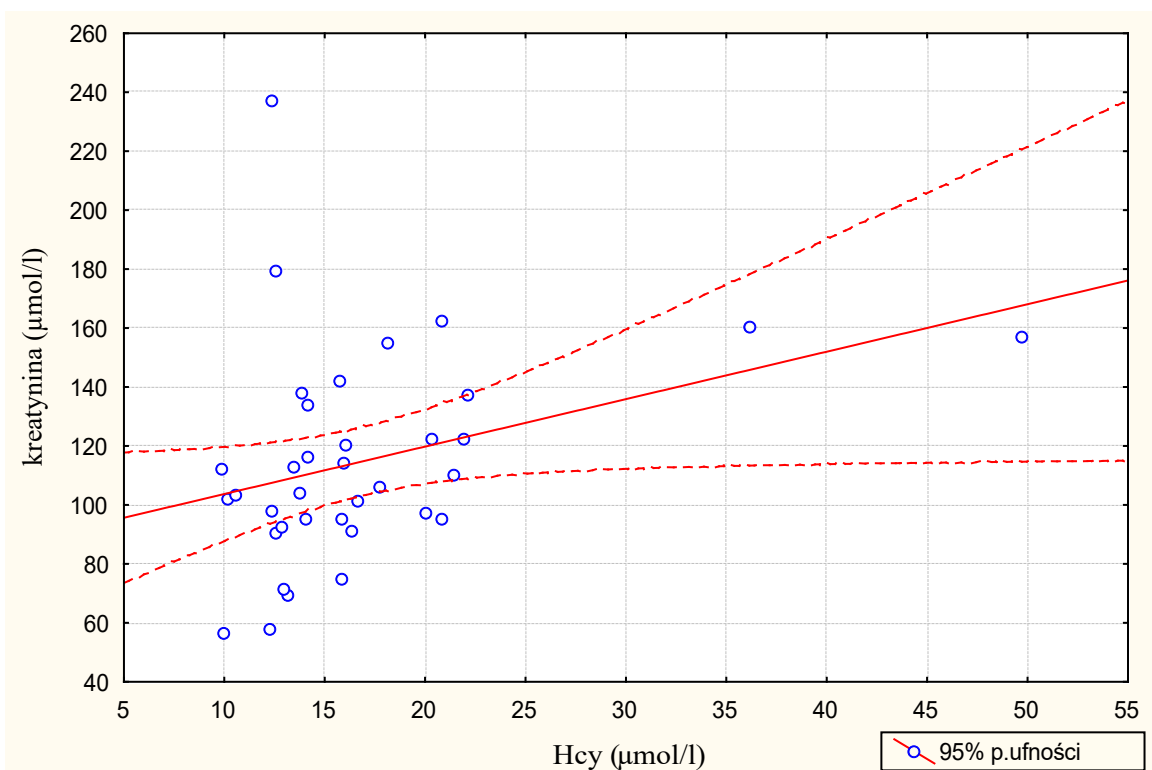
Ryc. 19. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 15 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



Ryc. 20. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 18 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



Ryc. 21. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 21 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



Ryc. 22. Związek pomiędzy stężeniami kreatyniny i homocysteiny 24 miesięcy po przeszczepieniu nerki.

W tabeli XV przedstawiono zmiany klirensów kreatyniny w kolejnych okresach obserwacji.

Tabela XV.

Klirens kreatyniny (CCr) w kolejnych badaniach.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
CCr1	11,40	3,50	10,84	5,16	24,03	3,51
CCr2	68,47	28,26	67,97	28,56	133,27	20,16
CCr3	72,77	25,45	72,07	20,64	110,58	19,64
CCr4	76,79	21,15	76,23	29,70	137,99	20,30
CCr5	76,83	27,72	76,47	22,66	138,06	23,53
CCr6	78,00	29,49	80,95	19,22	113,48	22,54
CCr7	78,67	32,39	78,19	33,88	125,27	20,92
CCr8	79,07	25,35	81,30	31,38	143,51	23,97
CCr9	82,02	31,08	85,44	34,70	129,89	22,90

W analizie korelacji nieparametrycznej Spearmana stężenia homocysteiny pozostawały w znamionym związku statystycznym z wartościami klirensu kreatyniny we wszystkich badaniach za wyjątkiem badań 1 i 3 (*) (Tabela XVI).

Tabela XVI.

Współczynniki korelacji Spearmana pomiędzy poziomami homocysteiny i klirensiem kreatyniny w kolejnych badaniach (CCr - klirens kreatyniny).

	R	poziom p
*Hcy1 & CCr1	0,03	0,8614
Hcy2 & CCr2	-0,33	0,0175
*Hcy3 & CCr3	-0,14	0,3225
Hcy4 & CCr4	-0,31	0,0279
Hcy5 & CCr5	-0,29	0,0425
Hcy6 & CCr6	-0,32	0,0326
Hcy7 & CCr7	-0,41	0,0123
Hcy8 & CCr8	-0,40	0,0129
Hcy8 & CCr9	-0,46	0,0046
Hcy9 & CCr9	-0,41	0,0131

4.7. Ostra martwica cewek nerkowych (ATN) po przeszczepieniu nerki a stężenia homocysteiny.

Konieczność wykonywania zabiegów hemodializ u pacjentów po przeszczepieniu nerki nie wpływała na stężenia homocysteiny w kolejnych okresach obserwacji. Stężenia homocysteiny w kolejnych badaniach pomiędzy chorymi wymagającymi (29 pacjentów) i nie wymagającymi (22 pacjentów) hemodializ po przeszczepieniu nerki nie różniły się istotnie (Tabela XVII).

Tabela XVII. Analiza statystyczna różnic stężeń homocysteiny pomiędzy chorymi wymagającymi i nie wymagającymi hemodializ po przeszczepieniu nerki (w teście Manna-Whitney'a).

	U	Z	poziom p
Przed NTx	276,00	-0,82	0,4134
3 m-ce po NTx	287,00	-0,61	0,5427
6 m-cy po NTx	309,00	0,19	0,8491
9 m-cy po NTx	298,50	-0,19	0,8526
12 m-cy po NTx	265,00	-0,59	0,5579
15 m-cy po NTx	247,50	-0,10	0,9184
18 m-cy po NTx	124,50	-1,39	0,1653
21 m-cy po NTx	150,00	-0,61	0,5418
24 m-ce po NTx	143,50	-0,53	0,5993

Również liczba wykonanych hemodializ nie korelowała znamienne ze stężeniami homocysteiny w badaniu po 24 miesiącach od przeszczepienia nerki ($R = 0,04$ $p = 0,81$).

4.8. Stężenia homocysteiny a wskaźnik intima-media (CCA IMT).

Zmiany CCA IMT w poszczególnych okresach badania przedstawiono w tabeli XVIII.

Tabela XVIII.

CCA IMT (mm) w kolejnych badaniach.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp między- kwarty- lowy
CCA IMT przed NTx	0,60	0,16	0,57	0,35	0,95	0,20
CCA IMT 12 m-cy po NTx	0,68	0,18	0,70	0,35	1,10	0,30
CCA IMT 24 m-ce po NTx	0,73	0,22	0,70	0,45	1,30	0,30

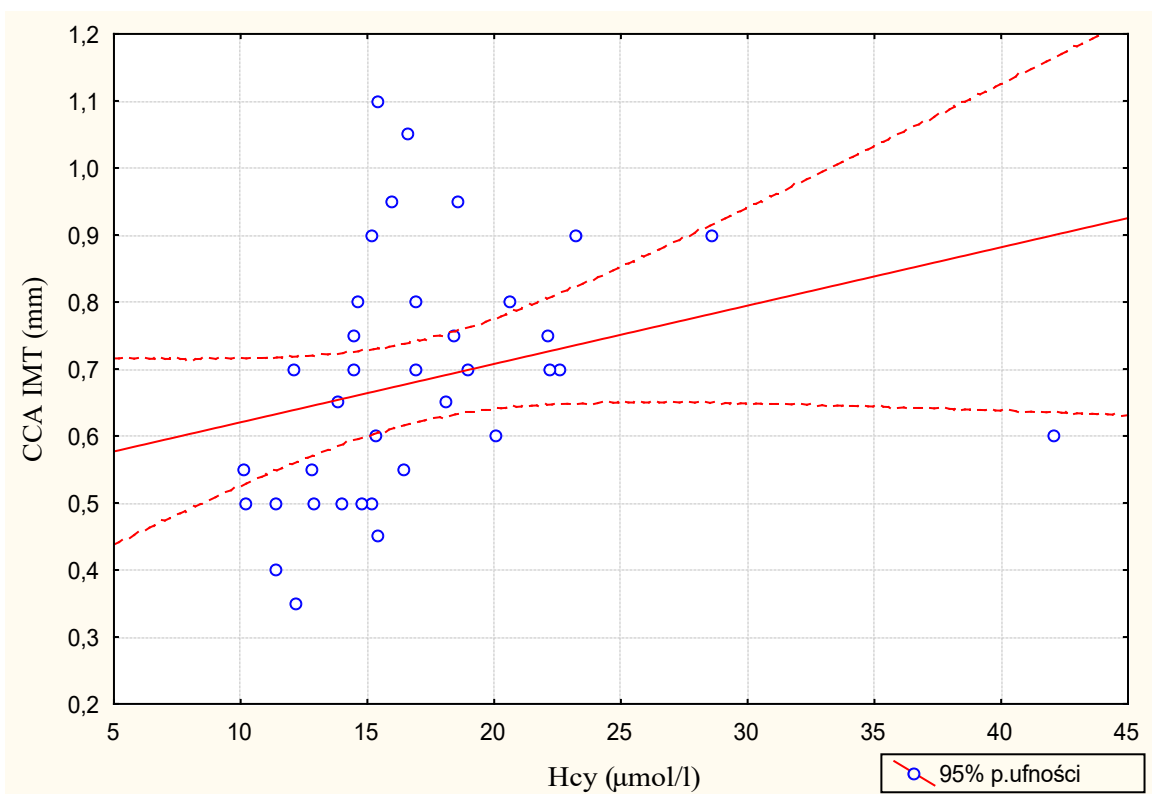
.

CCA IMT korelowała znamienne ze stężeniami homocysteiny po 12 i 24 miesiącach od przeszczepienia nerki natomiast nie wykazano korelacji w badaniu pierwszym – przed przeszczepieniem nerki (korelacja Spearmana) (Tabela XIX).

Tabela XIX.

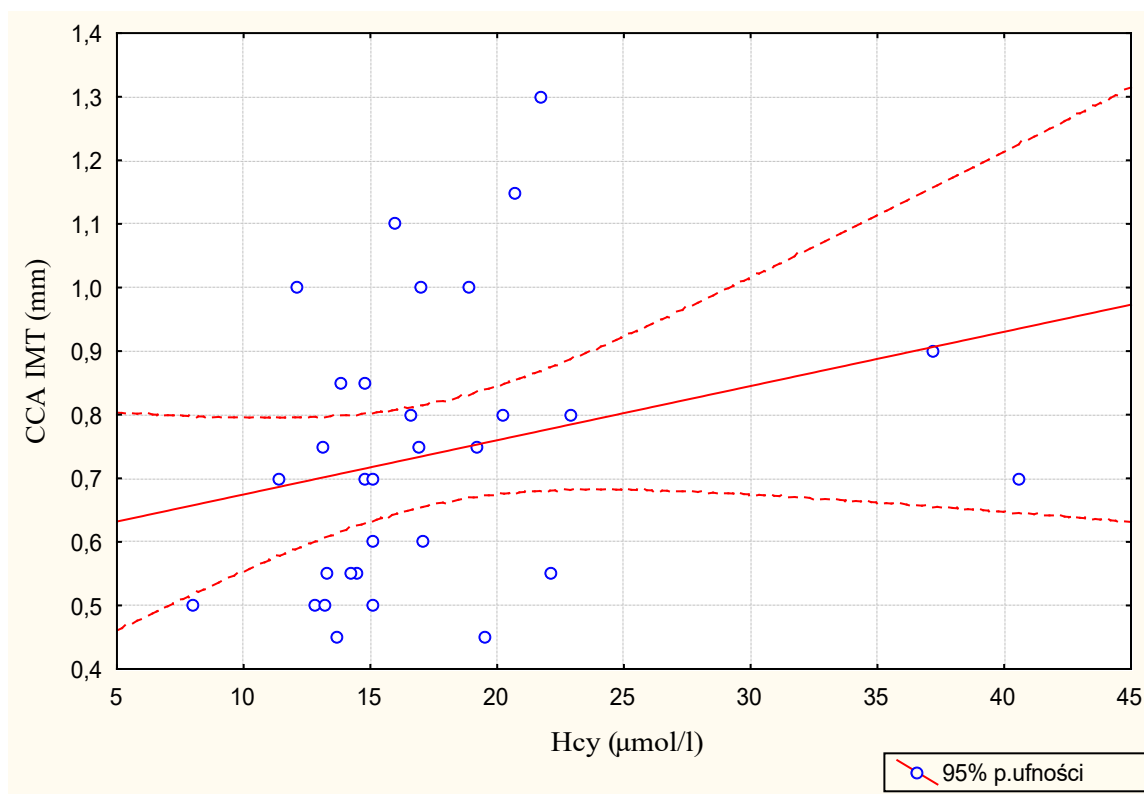
Związek pomiędzy stężeniami homocysteiny a CCA IMT w kolejnych badaniach.

	R	poziom p
Hcy & CCA IMT przed NTx	0,15	0,3417
Hcy & CCA IMT 12 m-ce po NTx	0,53	0,0009
Hcy & CCA IMT 24 m-ce po NTx	0,38	0,0356



Ryc. 23.

Korelacja pomiędzy stężeniem Hcy a CCA IMT 12 miesiące po przeszczepieniu nerki.

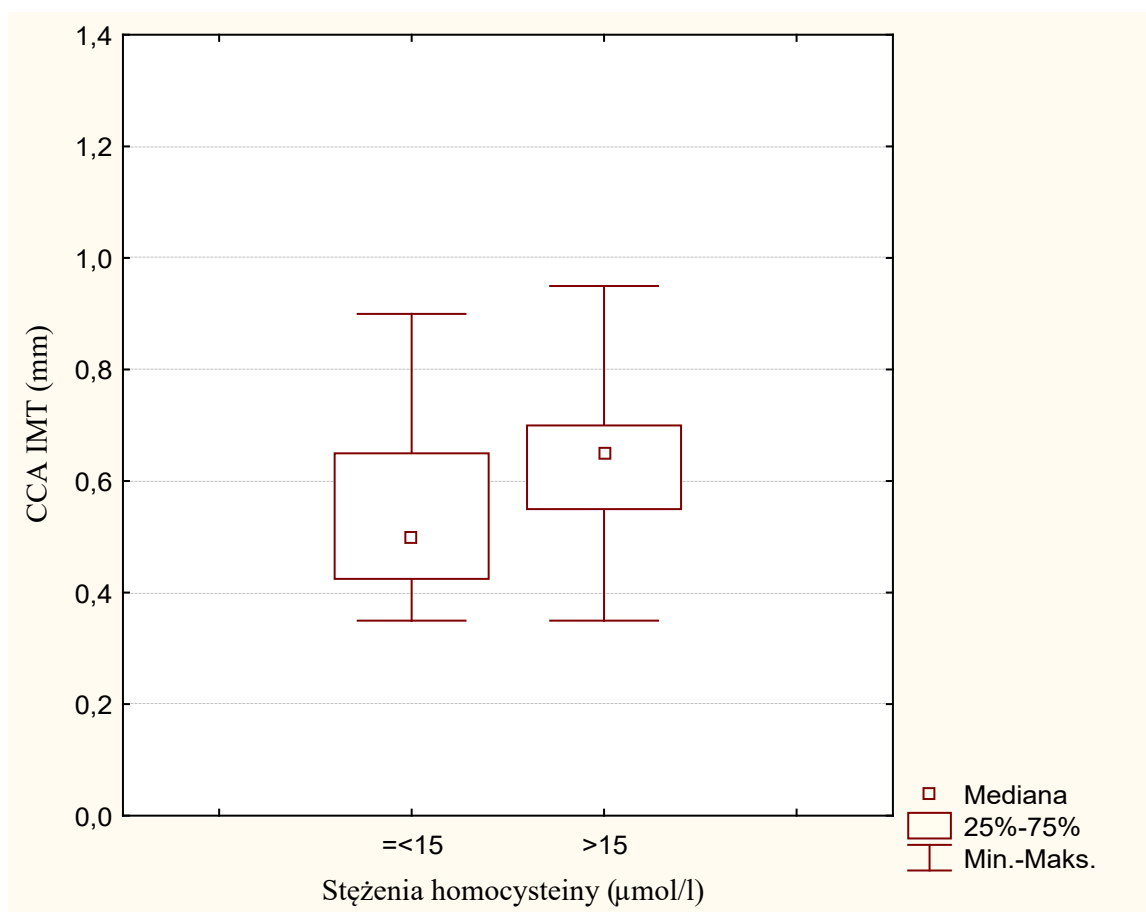


Ryc. 24.

Korelacja pomiędzy stężeniem Hcy a CCA IMT 24 miesiące po przeszczepieniu nerki.

Porównywano również wskaźnik IMT CCA pomiędzy chorymi z prawidłowym ($\leq 15\mu\text{mol/l}$) i podwyższonym ($> 15\mu\text{mol/l}$) stężeniem homocysteiny.

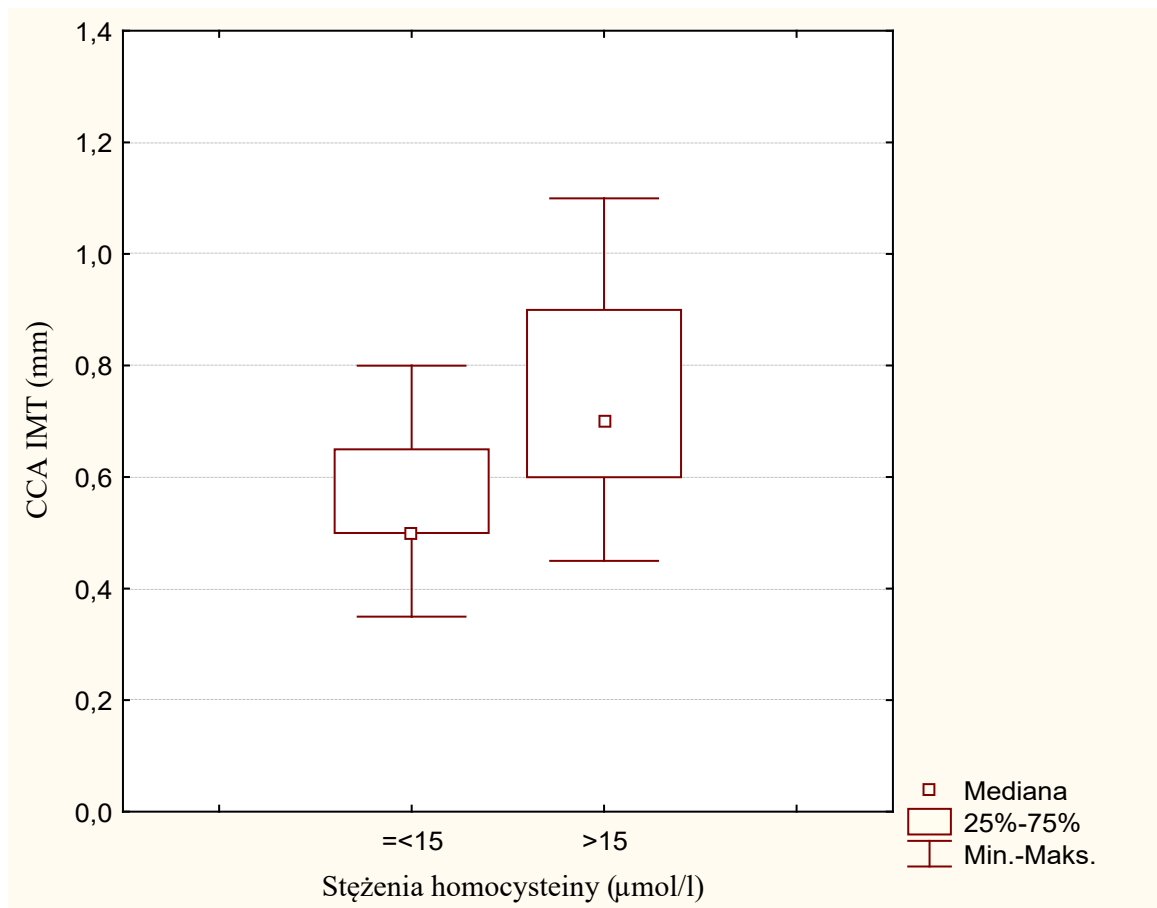
W teście Manna Whitney'a stwierdzono znamiennej statystycznie różnicę w grubości intymy i medii na początku badania pomiędzy pacjentami mającymi prawidłowe ($\leq 15\mu\text{mol/l}$) i podwyższone ($> 15\mu\text{mol/l}$) stężenie homocysteiny przed przeszczepieniem nerki ($p=0,046$) (Ryc. 25). Wyższy wskaźnik CCA IMT mieli chorzy z hiperhomocysteinemią.



Ryc. 25.

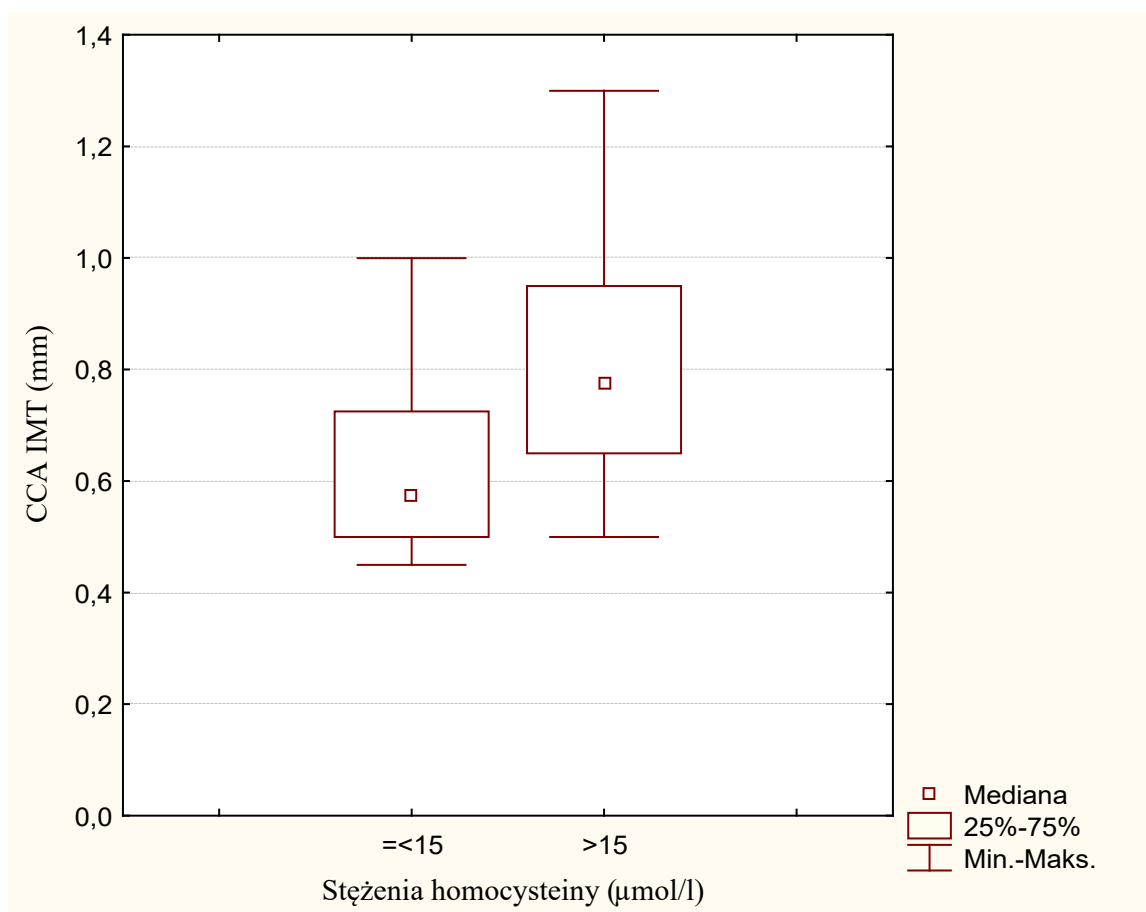
CCA IMT u chorych z i bez hiperhomocysteinemii przed przeszczepieniem nerki

Również po 12 i 24 miesiącach od przeszczepienia nerki w teście Manna Whitney'a stwierdzono znamiennej statystycznie różnicę w CCA IMT pomiędzy pacjentami mającymi prawidłowe ($\leq 15 \mu\text{mol/l}$) i podwyższone ($> 15 \mu\text{mol/l}$) średnie stężenie homocysteiny po przeszczepieniu nerki (odpowiednio $p=0,0035$ i $p=0,015$) (Ryc. 26 i Ryc. 27).



Ryc. 26.

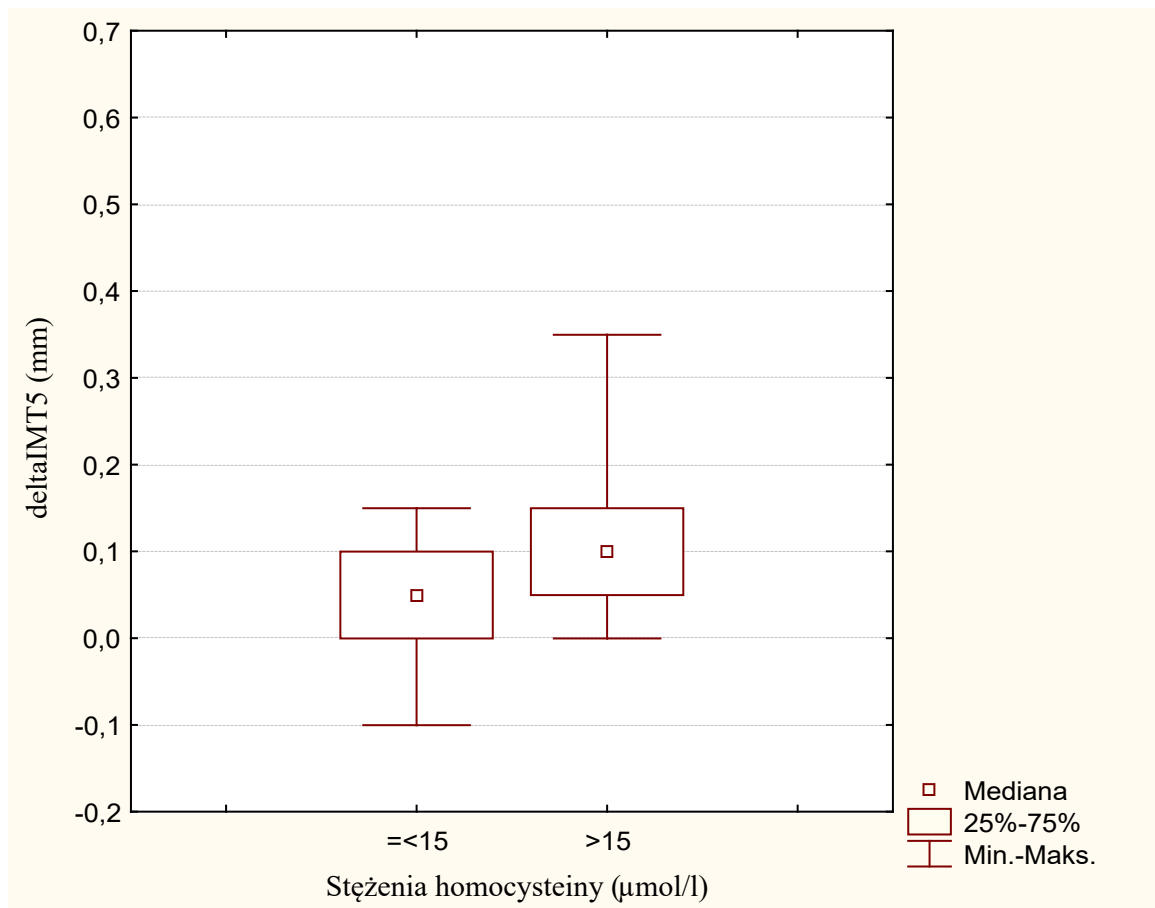
CCA IMT u chorych z i bez hiperhomocysteinemii 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



Ryc. 27.

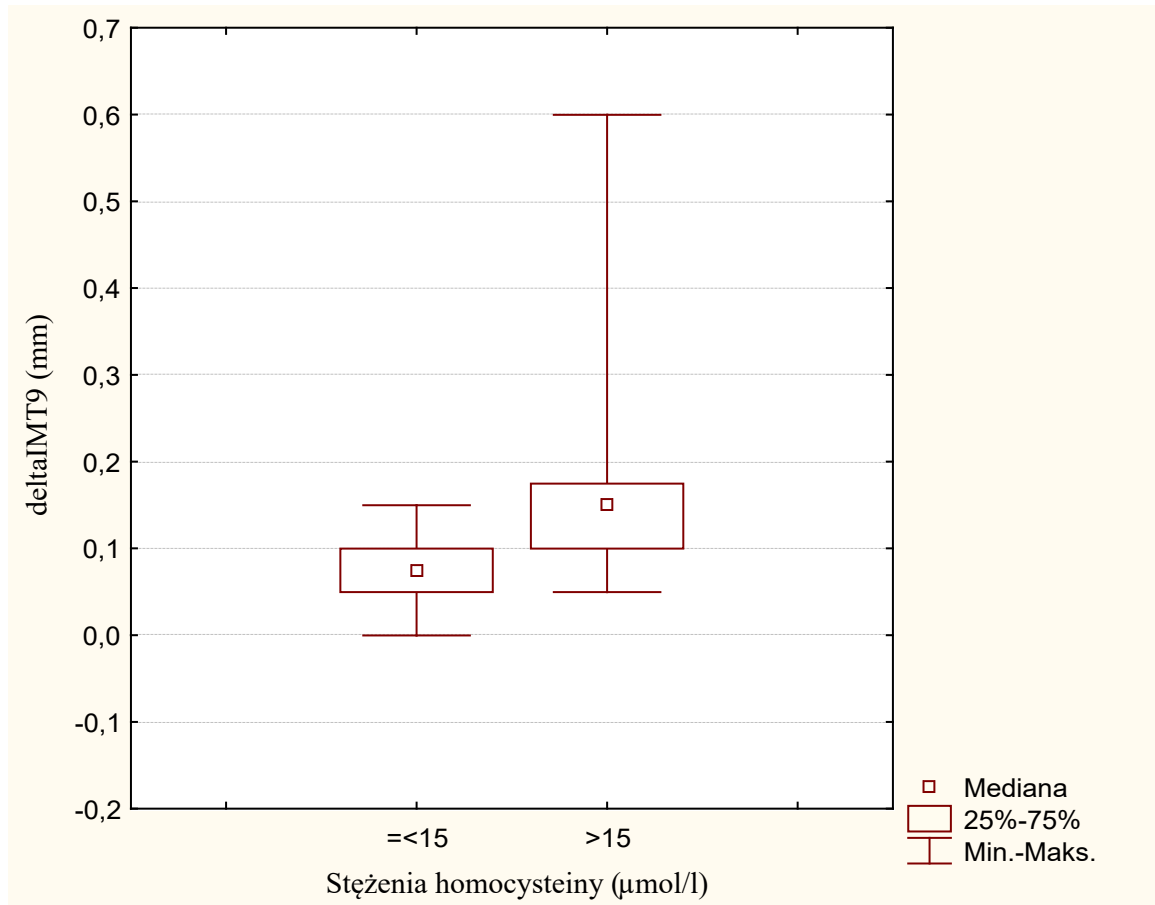
CCA IMT u chorych z i bez hiperhomocysteinemii 24 miesiące po przeszczepieniu nerki.

Analizując zmiany CCA IMT w trakcie obserwacji chorych po przeszczepieniu nerki, stwierdzono znamiennej statystycznie różnicę w przyroście grubości intymy i medii po 12 i 24 miesiącach od przeszczepienia nerki (deltaIMT5 i deltaIMT9) pomiędzy pacjentami mającymi prawidłowe ($\leq 15 \mu\text{mol/l}$) i podwyższone ($> 15 \mu\text{mol/l}$) średnie stężenie homocysteiny po przeszczepieniu nerki (odpowiednio: $p=0,049$ i $p=0,0039$) (Ryc. 28 i 29).



Ryc. 28.

Porównanie zmiany wskaźnika CCA IMT u pacjentów z i bez hiperhomocysteinemii 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki.



Ryc. 29.

Porównanie zmiany wskaźnika CCA IMT u pacjentów z i bez hiperhomocysteinemii 24 miesiące po przeszczepieniu nerki.

CCA IMT nie różnił się istotnie pomiędzy chorymi z i bez cukrzycy (Tabela XX).

Tabela XX. Podsumowanie wyników analizy różnic CCA IMT pomiędzy chorymi z i bez rozpoznania cukrzycy (w teście Manna-Whitney'a).

	U	Z	poziom p
CCA IMT przed NTx	108,00	0,00	1,0000
CCA IMT 12 m-ce po NTx	74,50	0,76	0,4428
CCA IMT 24 m-ce po NTx	0,00	0,00	1,0000

Ponieważ tylko jedna osoba z cukrzycą była obserwowana przez 24 miesiące statystyka w tym okresie badania była niemożliwa do wykonania.

4.9. Stężenia homocysteiny a BMI.

Wartości BMI (*body mass index*) w kolejnych okresach badania przedstawiono w tabeli XXI.

Tabela XXI.

BMI (kg/m²) w kolejnych badaniach.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp między- kwarty- lowy
BMI 1	22,26	3,27	22,22	16,62	32,42	4,53
BMI 2	22,89	3,13	22,84	16,49	30,47	3,64
BMI 3	23,73	3,24	23,68	17,50	31,71	4,87
BMI 4	24,23	3,49	24,26	17,31	33,86	4,35
BMI 5	24,69	3,56	24,65	17,31	34,02	5,20
BMI 6	24,66	3,67	24,64	16,94	33,20	5,40
BMI 7	24,60	3,54	24,82	15,81	34,38	4,01
BMI 8	24,83	3,68	24,86	16,37	35,94	4,25
BMI 9	24,84	3,62	24,81	16,56	35,16	4,98

Stężenia homocysteiny nie korelowały (korelacja Spearmana) z BMI we wszystkich okresach obserwacji (Tabela XXII).

Tabela XXII.

Zależność pomiędzy BMI a stężeniami homocysteiny w kolejnych badaniach.

	R	poziom p
BMI1 & Hcy1	-0,05	0,7378
BMI2 & Hcy2	0,25	0,0831
BMI3 & Hcy3	0,27	0,0537
BMI4 & Hcy4	0,21	0,1413
BMI5 & Hcy5	0,18	0,2036
BMI6 & Hcy6	0,24	0,1219
BMI7 & Hcy7	0,27	0,1005
BMI8 & Hcy8	0,06	0,7314
BMI9 & Hcy9	0,03	0,8548

Nie stwierdzono również różnic w BMI pomiędzy grupami pacjentów z prawidłowym i podwyższonym stężeniem homocysteiny.

4.10. Stężenia homocysteiny a wiek.

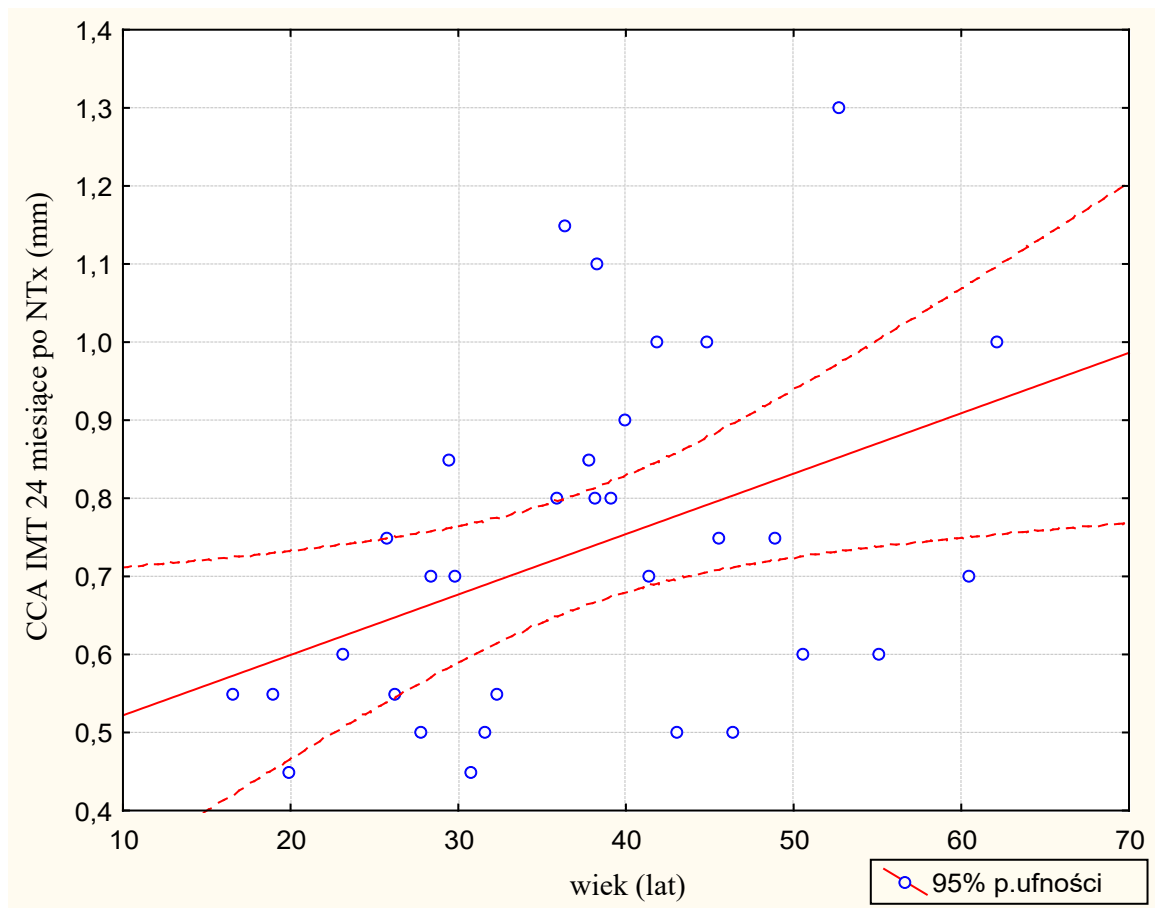
Stężenia homocysteiny korelowały z wiekiem w badaniu 4 i 5 (po 9 i 12 miesiącach od przeszczepu nerki) natomiast nie korelowały w pozostałych badaniach (Tabela XXIII).

Tabela XXIII.

Zależność pomiędzy wiekiem i poziomem homocysteiny w kolejnych badaniach.

	R	poziom p
wiek & Hcy1	-0,13	0,3791
wiek & Hcy2	0,27	0,0512
wiek & Hcy3	0,24	0,0959
wiek & Hcy4	0,29	0,0424
wiek & Hcy5	0,41	0,0037
wiek & Hcy6	0,15	0,3336
wiek & Hcy7	0,20	0,2346
wiek & Hcy8	0,17	0,3232
wiek & Hcy9	0,20	0,2350

Ponadto analizując wskaźnik CCA IMT 24 miesiące po przeszczepieniu nerki stwierdzono, że koreluje on z wiekiem chorych (Ryc. 30).



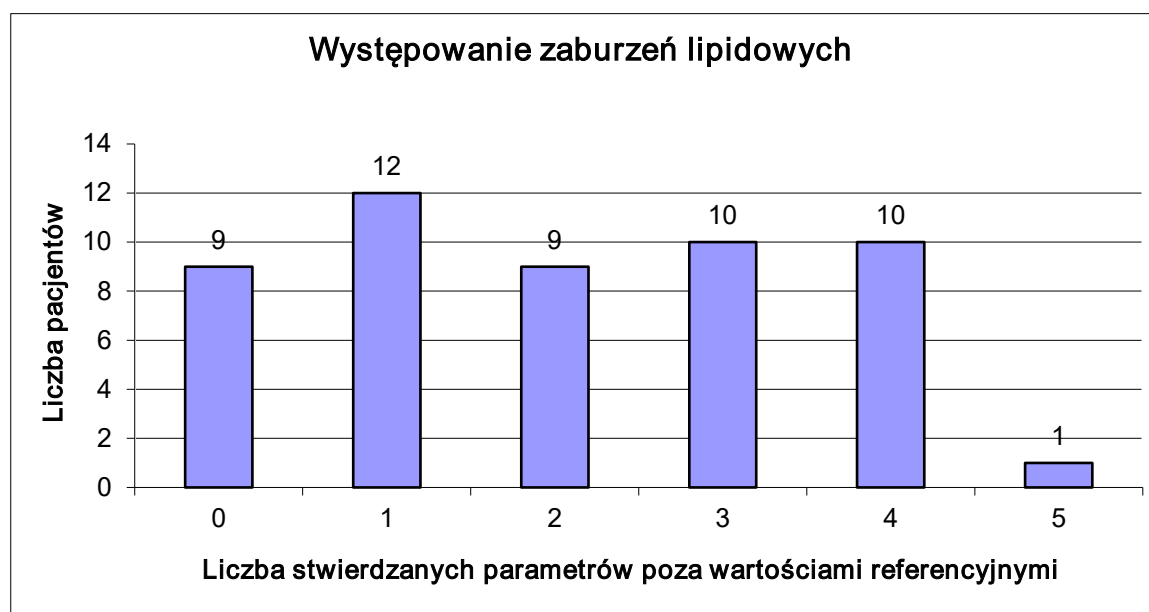
Ryc. 30. Stwierdzono znamioną statystycznie korelację pomiędzy wskaźnikiem CCA IMT a wiekiem pacjentów po 24 miesiącach od przeszczepienia nerki ($R=0,39$, $p<0,05$).

4.11. Stężenia homocysteiny a wybrane wskaźniki lipidowe.

Oceniając wskaźniki lipidowe po przeszczepieniu nerki względem wartości referencyjnych pracowni, w której były wykonywane (tabela XXIV) zaburzeń lipidowych nie stwierdzono u 9 chorych natomiast u pozostałych 42 pacjentów (82,4% badanych) obserwowano różnie nasiloną dyslipidemię (maksymalnie w 5 badanych parametrach) (Ryc. 31).

Tabela XXIV. Wartości referencyjne badanych wskaźników lipidowych.

Wskaźnik lipidowy	Wartości referencyjne	Wskaźnik lipidowy	Wartości referencyjne
Cholesterol całkowity	3,2-5,2 mmol/l	Triglicerydy	0,2-2,0 mmol/l
Cholesterol LDL	0,2-3,4 mmol/l	ApoB	80-120 mg/dl
Cholesterol HDL	>0,9 mmol/l	Lp(a)	1-30 mg/dl



Ryc. 31. Występowanie zaburzeń lipidowych po przeszczepieniu nerki.

4.11.1 Stężenia homocysteiny a Lp(a).

W tabeli XXV przedstawiono stężenia lipoproteiny (a) – (Lp(a)) w poszczególnych okresach obserwacji.

Tabela XXV.

Stężenia Lp(a) (mg/dl) w kolejnych badaniach.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp miedzy- kwarty- lowy
Lp(a)1	20,36	24,06	11,70	2,40	116,80	19,30
Lp(a)2	16,57	19,24	8,55	2,40	99,10	18,30
Lp(a)3	19,96	19,72	12,70	2,40	67,20	25,40
Lp(a)4	17,19	22,10	5,15	2,40	100,30	21,50
Lp(a)5	15,77	21,34	4,95	2,40	96,20	22,20
Lp(a)6	17,73	18,02	8,95	2,40	59,40	28,75
Lp(a)7	16,22	19,52	4,90	2,40	67,60	18,10
Lp(a)8	14,49	17,24	6,10	2,40	57,70	17,10
Lp(a)9	13,72	15,04	5,45	2,40	53,70	14,00

Stężenia homocysteiny nie korelowały z poziomem Lp(a) w żadnym okresie badania (Tabela XXVI).

Tabela XXVI.

Zależność pomiędzy stężeniami Lp(a) i homocysteiny w kolejnych okresach obserwacji.

	R	poziom p
Lp(a)1 & Hcy1	-0,20	0,1640
Lp(a)2 & Hcy2	-0,01	0,9330
Lp(a)3 & Hcy3	-0,18	0,2720
Lp(a)4 & Hcy4	-0,25	0,1287
Lp(a)5 & Hcy5	-0,06	0,7489
Lp(a)6 & Hcy6	-0,09	0,6456
Lp(a)7 & Hcy7	0,12	0,5766
Lp(a)8 & Hcy8	-0,18	0,3699
Lp(a)9 & Hcy9	-0,34	0,0627

Nie stwierdzono również znamienych statystycznie różnic w poziomach Lp(a) pomiędzy pacjentami mającymi prawidłowe ($\leq 15 \mu\text{mol/l}$) i podwyższone ($> 15 \mu\text{mol/l}$) średnie stężenie homocysteiny po przeszczepieniu nerki.

4.11.2. Stężenia homocysteiny a ApoB.

W tabeli XXVII przedstawiono stężenia apolipoproteiny B (ApoB) w poszczególnych okresach obserwacji.

Tabela XXVII.

Stężenia ApoB (mg/dl) w kolejnych badaniach.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
ApoB 1	99,00	22,52	102,00	34,00	141,00	34,00
ApoB 2	122,31	24,16	120,50	78,90	175,00	34,00
ApoB 3	111,78	30,08	108,50	34,00	171,00	43,90
ApoB 4	113,96	36,12	113,00	34,00	216,00	44,30
ApoB 5	108,09	21,62	110,50	63,20	149,00	30,80
ApoB 6	108,49	28,77	104,00	65,20	157,00	48,70
ApoB 7	108,24	19,35	107,00	76,60	161,00	23,00
ApoB 8	101,43	19,60	103,50	56,80	134,00	26,90
ApoB 9	103,45	21,48	100,00	56,00	148,00	26,20

Stężenia homocysteiny nie korelowały z poziomem ApoB za wyjątkiem badania 4, tj. po 9 miesiącach od zabiegu przeszczepienia nerki (Tab. XXVIII).

Tabela XXVIII.

Zależność pomiędzy ApoB i stężeniami homocysteiny w kolejnych badaniach.

	R	poziom p
ApoB1 & Hcy1	-0,07	0,6132
ApoB 2 & Hcy2	0,05	0,7173
ApoB 3 & Hcy3	0,27	0,0823
ApoB 4 & Hcy4	0,36	0,0385
ApoB 5 & Hcy5	0,30	0,0881
ApoB 6 & Hcy6	0,19	0,3970
ApoB 7 & Hcy7	0,15	0,4704
ApoB 8 & Hcy8	0,13	0,5759
ApoB 9 & Hcy9	0,15	0,3787

Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w poziomach ApoB pomiędzy pacjentami mającymi prawidłowe ($\leq 15 \mu\text{mol/l}$) i

podwyższone ($>15\mu\text{mol/l}$) średnie stężenie homocysteiny po przeszczepieniu nerki.

4.11.3. Stężenia homocysteiny a lipidogram.

Zmiany ocenianych elementów lipidogramu przedstawiono w tabelach XXIX, XXX i XXXI.

Tabela XXIX.

Składowe lipidogramu w kolejnych badaniach (cholesterol całkowity - mmol/l).

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
Chol1	5,15	1,12	5,25	3,13	7,01	1,98
Chol2	6,47	1,35	6,21	3,74	10,30	1,89
Chol3	5,91	1,45	5,88	3,21	10,50	1,65
Chol4	5,70	1,34	5,56	3,63	9,03	1,83
Chol5	5,57	0,97	5,55	3,62	7,56	1,07
Chol6	5,51	1,22	5,50	3,48	9,52	1,34
Chol7	5,20	0,89	5,29	3,00	7,36	0,77
Chol8	5,70	1,05	5,46	4,11	8,81	0,96
Chol9	5,10	0,91	4,95	3,24	7,64	1,00

Tabela XXX. Składowe lipidogramu w kolejnych badaniach (LDL cholesterol - mmol/l, HDL cholesterol – mmol/l).

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
LDL1	2,81	0,81	2,73	1,27	4,55	1,01
LDL2	3,77	1,01	3,84	1,44	6,33	1,30
LDL3	3,28	0,98	3,27	1,04	5,49	1,37
LDL4	3,17	1,01	2,93	1,94	6,19	1,12
LDL5	3,00	0,78	3,02	1,61	5,36	0,88
LDL6	2,77	0,58	2,76	1,78	4,41	0,76
LDL7	2,89	0,65	2,78	1,78	4,94	0,70
LDL8	3,04	0,88	3,08	1,45	5,21	1,04
LDL9	2,79	0,63	2,85	0,93	3,99	0,63
HDL1	1,09	0,29	0,99	0,62	1,76	0,47
HDL2	1,35	0,27	1,31	0,78	2,06	0,29
HDL3	1,36	0,39	1,25	0,76	2,42	0,47
HDL4	1,27	0,30	1,19	0,75	2,11	0,47
HDL5	1,44	0,34	1,32	0,88	2,47	0,37
HDL6	1,43	0,35	1,32	0,96	2,50	0,45
HDL7	1,40	0,32	1,44	0,90	1,99	0,45
HDL8	1,42	0,37	1,47	0,67	2,10	0,58
HDL9	1,32	0,33	1,31	0,76	2,09	0,43

Tabela XXXI. Stężenia triglicerydów w kolejnych badaniach (TG - mmol/l).

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp międzykwartylowy
TG1	2,58	1,53	2,12	0,47	6,79	1,70
TG2	3,08	1,57	2,62	0,94	6,84	2,20
TG3	2,77	1,39	2,53	0,78	5,57	2,03
TG4	2,33	1,06	2,04	0,77	4,66	1,63
TG5	2,51	1,27	2,11	0,80	5,72	2,02
TG6	2,45	1,46	2,11	0,83	7,60	2,11
TG7	2,77	2,08	1,88	0,96	11,39	2,28
TG8	2,49	1,82	1,88	0,86	9,12	1,56
TG9	2,44	1,53	1,98	0,88	8,21	2,26

Nie stwierdzono znamienych statystycznie zależności pomiędzy stężeniami homocysteiny a ocenianymi elementami lipidogramu (Tabele XXXII, XXXIII).

Tabela XXXII.

Zależność pomiędzy poziomem cholesterolu całkowitego i stężeniem homocysteiny w kolejnych okresach obserwacji.

Parametr	R	poziom p
Chol1 & Hcy1	-0,189053	0,1839
Chol2 & Hcy2	0,087678	0,5578
Chol3 & Hcy3	0,101937	0,5052
Chol4 & Hcy4	0,160498	0,2979
Chol5 & Hcy5	0,217964	0,2084
Chol6 & Hcy6	0,006234	0,9729
Chol7 & Hcy7	-0,255221	0,2082
Chol8 & Hcy8	0,300713	0,0682
Chol9 & Hcy9	0,357847	0,0615

Tabela XXXIII.

Zależność pomiędzy wartościami lipidogramu (triglicerydy – TG, cholesterol HDL – HDL, cholesterol LDL – LDL) a stężeniem homocysteiny w kolejnych okresach obserwacji.

Parametr	R	poziom p
TG1 & Hcy1	-0,06	0,6701
TG 2 & Hcy2	0,20	0,1672
TG 3 & Hcy3	0,19	0,2044
TG 4 & Hcy4	0,31	0,0390
TG 5 & Hcy5	0,23	0,1890
TG 6 & Hcy6	0,26	0,1477
TG 7 & Hcy7	0,06	0,7517
TG 8 & Hcy8	-0,00	0,9912
TG 9 & Hcy9	0,17	0,3654
HDL1 & Hcy1	0,11	0,4379
HDL2 & Hcy2	-0,14	0,3207
HDL3 & Hcy3	-0,14	0,3639
HDL4 & Hcy4	-0,17	0,2882
HDL5 & Hcy5	-0,11	0,5403
HDL6 & Hcy6	-0,30	0,1371
HDL7 & Hcy7	-0,39	0,0503
HDL8 & Hcy8	0,18	0,3704
HDL9 & Hcy9	0,16	0,4015
LDL1 & Hcy1	0,19	0,1996
LDL2 & Hcy2	0,28	0,0536
LDL3 & Hcy3	0,14	0,3516
LDL4 & Hcy4	0,01	0,9528
LDL5 & Hcy5	0,12	0,5017
LDL6 & Hcy6	0,15	0,4130
LDL7 & Hcy7	-0,08	0,6935
LDL8 & Hcy8	0,10	0,6093
LDL9 & Hcy9	0,11	0,5573

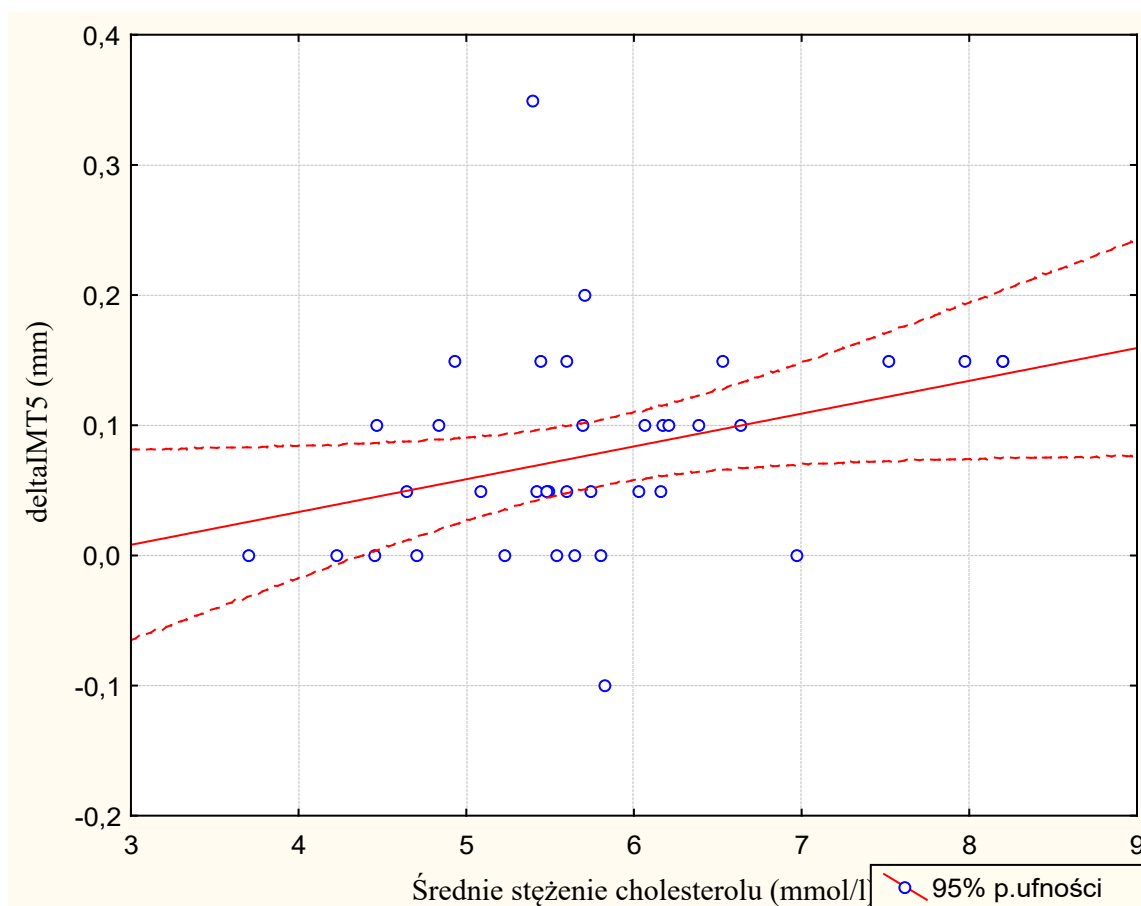
Nie stwierdzono również znamienych statystycznie różnic w ocenianych elementach lipidogramu pomiędzy pacjentami mającymi prawidłowe ($\leq 15 \mu\text{mol/l}$) i podwyższone ($> 15 \mu\text{mol/l}$) średnie stężenie homocysteiny po przeszczepieniu nerki.

Przyrost wskaźnika CCA IMT 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki korelował znamiennie ze średnim poziomem cholesterolu całkowitego po przeszczepieniu nerki, nie korelował natomiast z pozostałymi elementami lipidogramu, Lp(a) i ApoB (Tabela XXXIV, Ryc. 32).

Tabela XXXIV.

Zależność pomiędzy przyrostem wskaźnika CCA IMT 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki (dIMT5) a ocenianymi elementami lipidogramu.

	R	poziom p
dIMT5 & Chol	0,35	0,0333
dIMT5 & LDL	0,29	0,0871
dIMT5 & HDL	-0,14	0,4247
dIMT5 & TG	0,29	0,0854
dIMT5 & ApoB	0,28	0,0956
dIMT5 & Lp(a)	-0,28	0,0991



Ryc. 32.

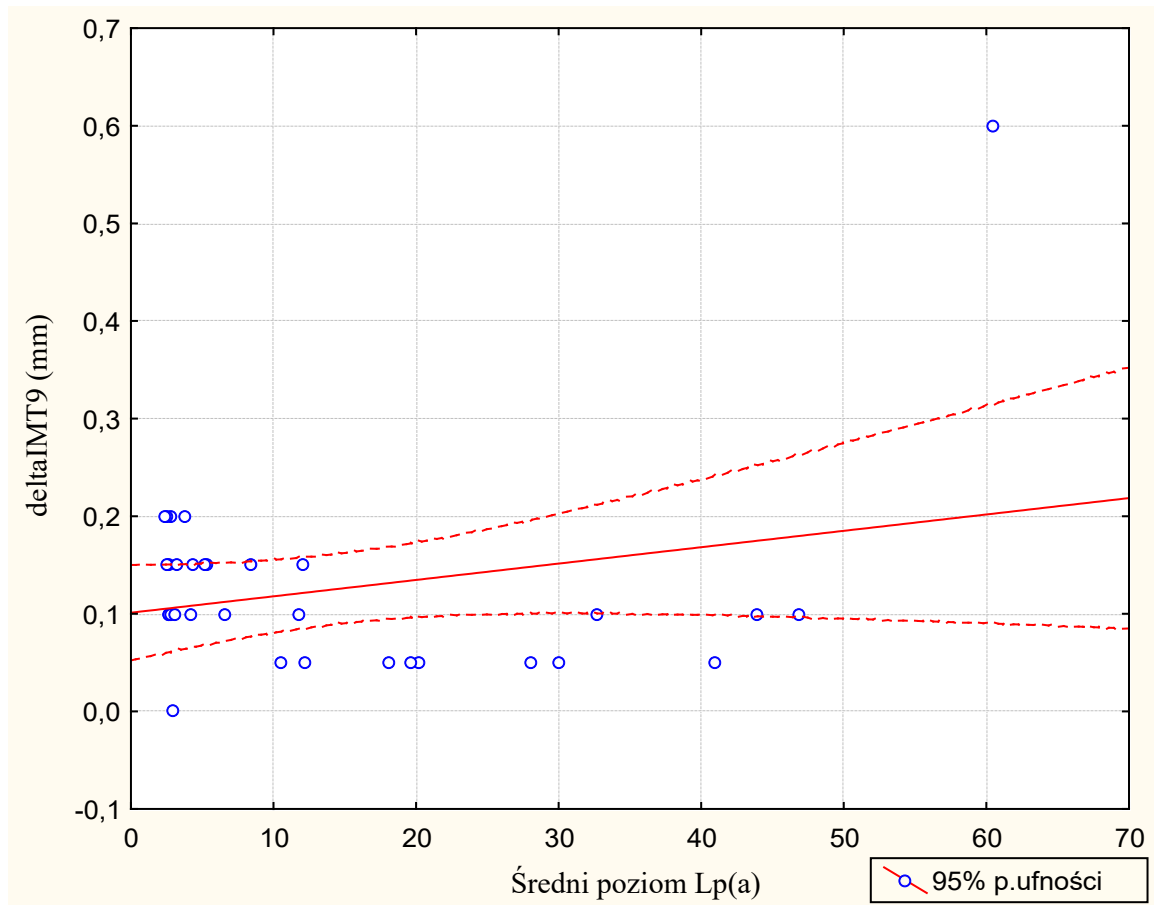
Korelacja pomiędzy średnim stężeniem cholesterolu całkowitego a przyrostem CCA IMT 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki.

Przyrost grubości intymy i medii 24 miesiące po NTx korelował znamienne ze średnim poziomem Lp(a) po przeszczepieniu nerki i nie korelował z pozostałymi ocenianymi elementami lipidogramu i z ApoB (Tabela XXXV, Ryc. 33). Natomiast pomimo braku istotności statystycznej stwierdzono, że u chorych z podwyższonym średnim stężeniem cholesterolu całkowitego ($>5,2\text{mmol/l}$) wskaźnik CCA IMT jest o 42% wyższy niż u pozostałych.

Tabela XXXV.

Zależność pomiędzy przyrostem wskaźnika CCA IMT 24 miesiące po przeszczepieniu nerki a ocenianymi elementami lipidogramu.

	R	poziom p
dIMT9 & Chol	0,22	0,2341
dIMT9 & LDL	0,32	0,0738
dIMT9 & HDL	-0,23	0,2137
dIMT9 & TG	0,13	0,4776
dIMT9 & ApoB	0,24	0,1881
dIMT9 & Lp(a)	-0,38	0,0315



Ryc. 33.

Korelacja pomiędzy średnim stężeniem Lp(a) a przyrostem CCA IMT 24 miesiące po przeszczepieniu nerki.

4.12. Stężenia homocysteiny a kwas foliowy.

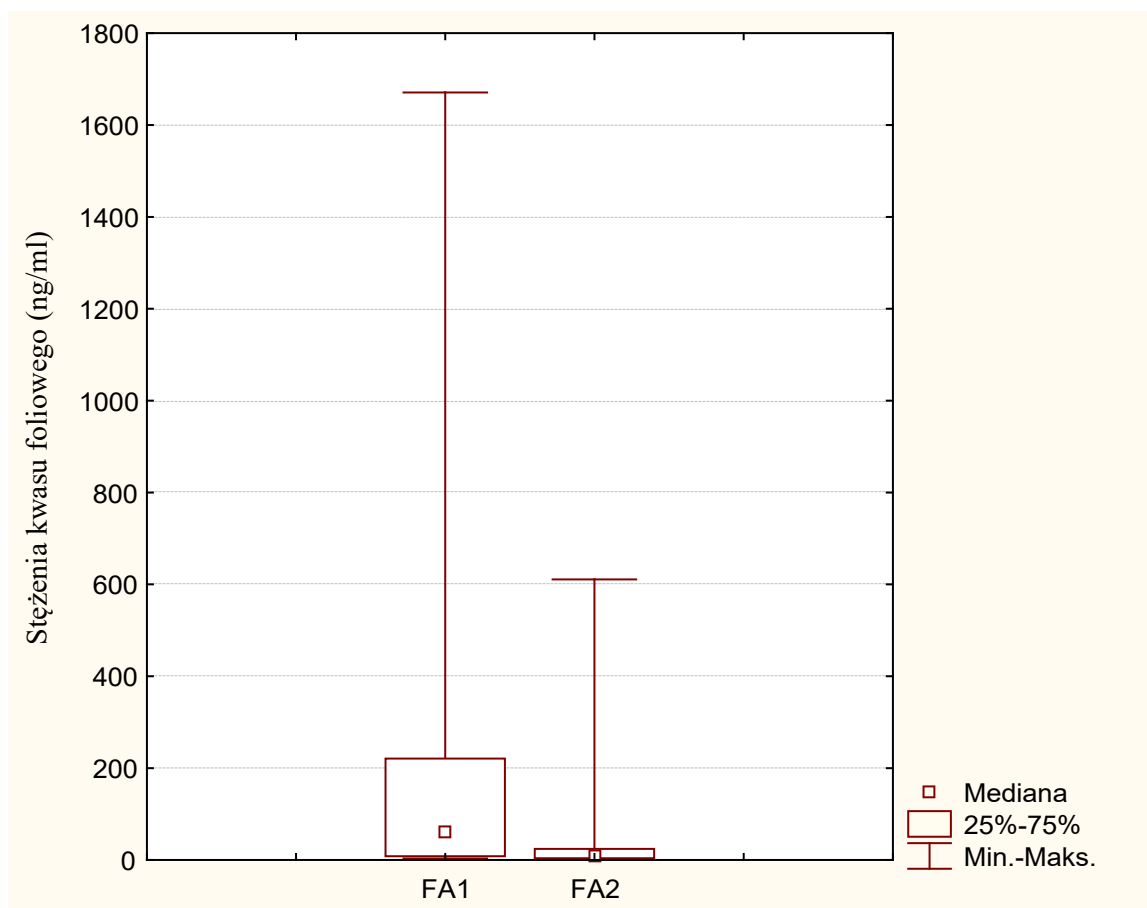
Zmiany stężeń kwasu foliowego (FA) w kolejnych badaniach przedstawiono w tabeli XXXVI.

Tabela XXXVI.

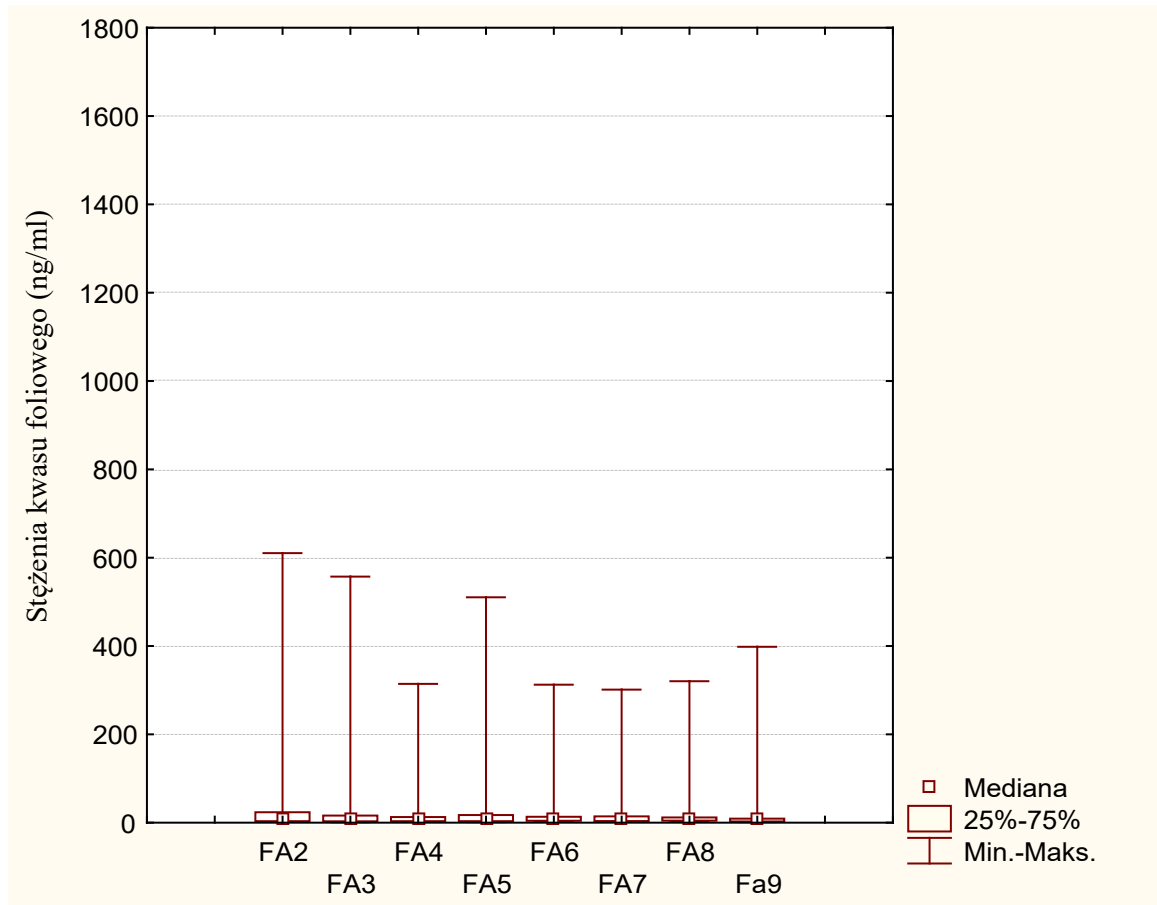
Stężenia kwasu foliowego (ng/ml) w kolejnych badaniach.

	Średnia	Odch. Std.	Mediana	Min.	Max.	Rozstęp między- kwarty- lowy
FA1	220,47	395,10	60,35	3,25	1671,00	212,74
FA2	60,30	129,75	8,99	2,17	611,00	20,22
FA3	58,78	126,35	7,67	1,76	558,00	13,23
FA4	26,86	59,90	7,54	2,20	315,00	9,41
FA5	56,27	121,62	7,50	1,99	511,00	13,92
FA6	33,43	69,86	8,61	2,33	313,00	9,03
FA7	35,93	76,67	7,97	2,20	302,00	10,66
FA8	35,86	81,14	8,91	2,26	321,00	7,27
FA9	32,79	83,89	7,44	1,96	399,00	6,25

Po zabiegu przeszczepienia nerki stwierdzono znamienne statystycznie ($p < 0,001$ w teście Wilcoxona) spadek poziomu kwasu foliowego u badanych pacjentów (Ryc. 34), natomiast w kolejnych badaniach po przeszczepieniu nerki poziomy kwasu foliowego nie różniły się znamienne (ANOVA Friedmana $p = \text{NS}$) (Ryc. 35).

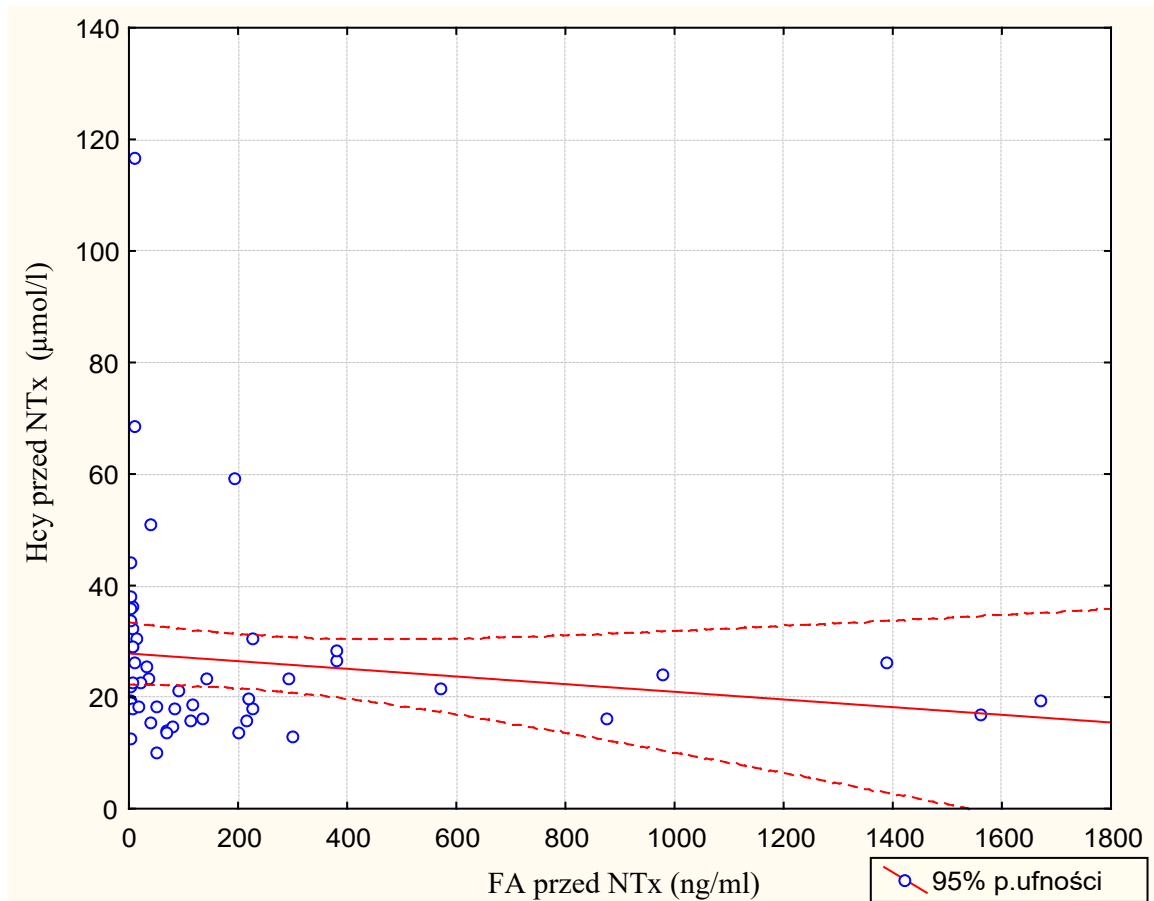


Ryc. 34. Poziomy kwasu foliowego przed (FA1) i 3 miesiące po przeszczepieniu nerki (FA2).



Ryc. 35. Poziomy kwasu foliowego w kolejnych badaniach po przeszczepieniu nerki.

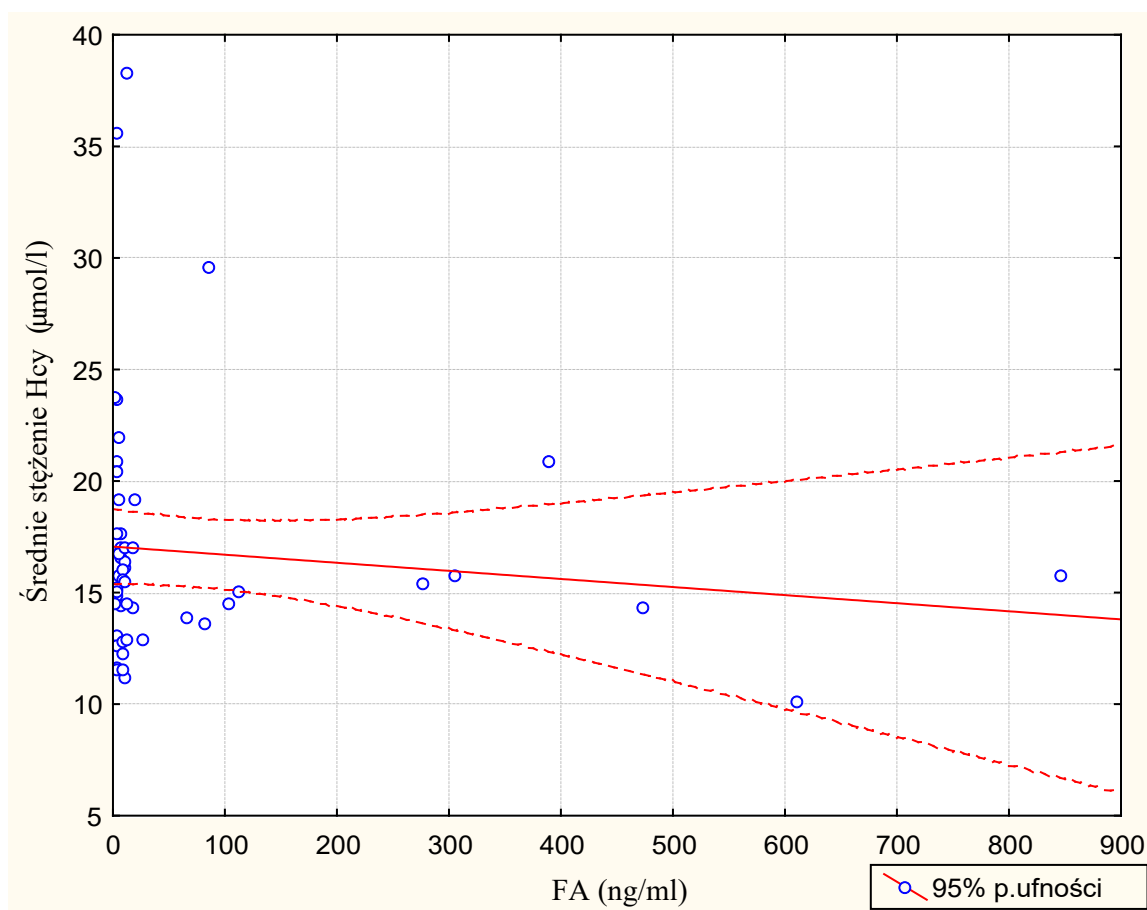
Przed przeszczepieniem nerki stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniami homocysteiny i kwasem foliowym ($R = -0,28$, $p < 0,05$), którą przedstawiono na rycinie 36.



Ryc. 36.

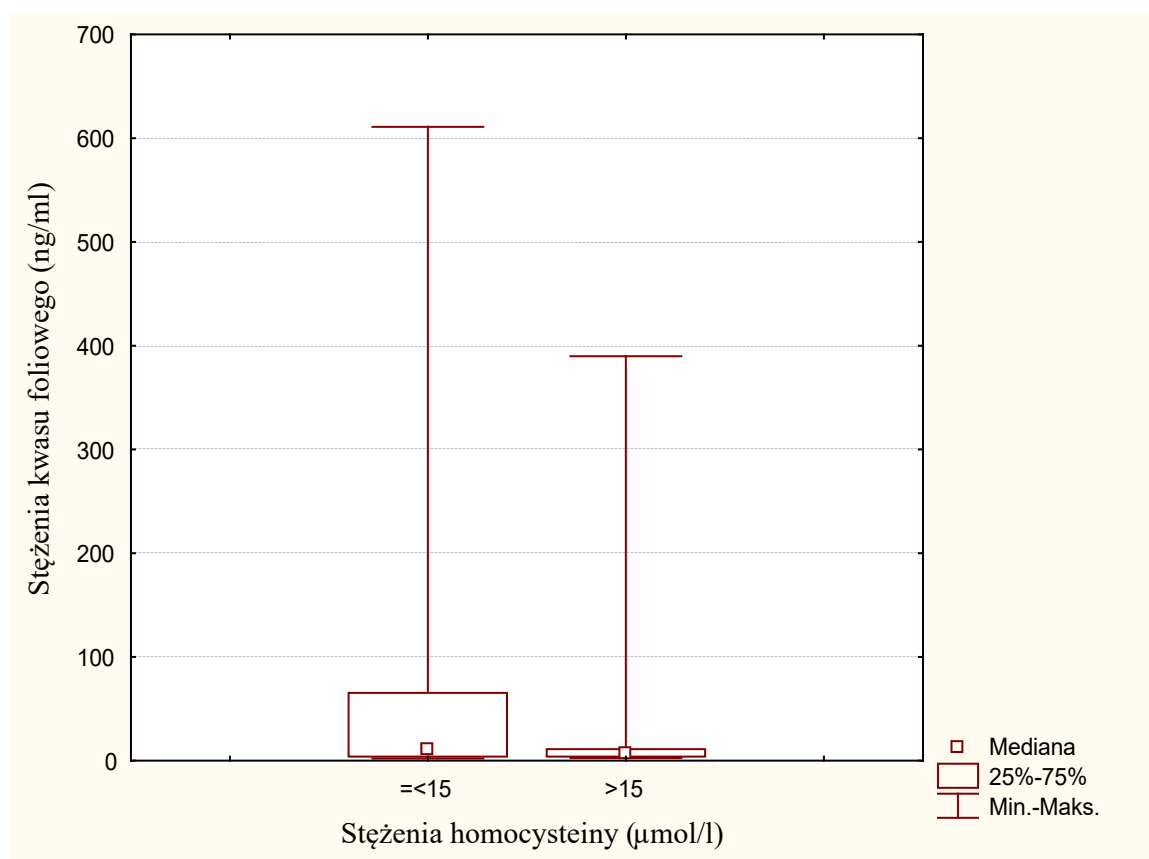
Korelacja pomiędzy stężeniami homocysteiny i kwasu foliowego przed zabiegiem przeszczepienia nerki.

Natomiast średnie stężenia homocysteiny po zabiegu przeszczepienia nerki nie korelowały znamienne z poziomami kwasu foliowego ($R = -0,12$, $p = \text{NS}$) (Ryc. 37).



Ryc. 37. Brak znamiennej korelacji pomiędzy średnimi stężeniami homocysteiny i kwasem foliowym.

Nie stwierdzono również statystycznie istotnych różnic w średnich poziomach kwasu foliowego po zabiegu przeszczepienia nerki u pacjentów z prawidłowy i podwyższonym średnim stężeniem homocysteiny po zabiegu przeszczepienia nerki (Ryc. 38), choć występowanie hiperhomocysteinemii wiązało się z niższym o 42% stężeniem kwasu foliowego w stosunku do tych chorych, u których Hcy była poniżej lub równa 15 $\mu\text{mol/l}$ (36,41 ng/ml vs. 62,45 ng/ml).



Ryc. 38. Brak istotnej różnicy średnich stężeń kwasu foliowego pomiędzy chorymi z i bez hiperhomocysteinemii.

5. DYSKUSJA

Funkcja nerek obok zaburzeń genetycznych ma decydujący wpływ na poziom homocysteiny w organizmie. Zależność ta dodatnio koreluje ze stopniem ich upośledzenia a najwyższe stężenia Hcy obserwujemy u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek. Nie jest dokładnie poznane co determinuje hiperhomocysteinemię u tych osób. Zmniejszone usuwanie Hcy przez uszkodzone nerki i upośledzony w nich lub przez nagromadzone toksyny mocznicowe metabolizm homocysteiny to najbardziej prawdopodobne jej przyczyny. Hiperhomocysteinemię u chorych dializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek stwierdza się u ponad 85% badanych [32, 85, 127, 138]. Średnie stężenie u tych pacjentów waha się wg różnych doniesień od 21,8 $\mu\text{mol/l}$ do 33,2 $\mu\text{mol/l}$ i w głównej mierze zależy od rodzaju stosowanej terapii i dawek leków takich jak kwas foliowy, witamina B₆ i witamina B₁₂ [16, 61, 85, 128]. Ponadto u pacjentów hemodializowanych wpływ na stężenie homocysteiny ma czasokres od ostatniego zabiegu dializy, która obniża je średnio o około 30%. W badaniach Tamura i wsp. średnia homocysteinemia u tych chorych zmieniała się w przedziale od 24,2 $\mu\text{mol/l}$ (po hemodializie) do 36,8 $\mu\text{mol/l}$ (przed hemodializą) [134].

W analizowanej grupie pacjentów hiperhomocysteinemię przed przeszczepieniem nerki stwierdzono u 86% chorych. Stężenie homocysteiny wahało się od 10,2 $\mu\text{mol/l}$ do 116,8 $\mu\text{mol/l}$ (średnie w całej

grupie wynosiło 28,5 μ mol/l). Najwięcej osób miało homocysteinemię w przedziale 15 – 30 μ mol/l (63%).

Skuteczny zabieg przeszczepienia nerki (NTx) jest najlepszą metodą leczenia chorych ze schyłkową niewydolnością nerek. Ma on również wpływ na homocysteinemię u tych pacjentów. Wg wielu autorów pozwala szybko obniżyć poziom homocysteiny (łącznie średnio o 33%). Jednakże u około 70% badanych pozostaje wciąż powyżej normy [4, 42, 49, 114, 138]. Podobne wnioski przedstawili Bostom i wsp., którzy porównywali stężenie homocysteiny między dwoma grupami pacjentów: po przeszczepieniu (co najmniej 6 miesięcy) ze stabilną kreatyniną (średnio 1,5mg/dl) oraz ze schyłkową niewydolnością nerek, leczonych powtarzanymi hemodializami. Poziom Hcy u pacjentów po NTx i zażywających kwas foliowy był znacząco niższy od porównywanej grupy chorych leczonych nerkozastępczo, choć utrzymywał się powyżej normy (średnio 16,4 μ mol/l) [17].

Wydaje się, że największe zmiany stężenia homocysteiny występują w pierwszych dniach po przeszczepieniu nerki i są one związane z funkcją graftu. Huh i wsp., obserwowali zmiany stężenia homocysteiny w pierwszych 21 dniach po transplantacji. Stwierdzili, że u chorych, u których nerka przeszczepiona podjęła funkcję bezpośrednio po zabiegu, już następnego dnia poziom homocysteiny był znacząco niższy od wyjściowego (odpowiednio 18,2 μ mol/l i 9,6 μ mol/l). U pacjenta, u którego w 3 dniu po transplantacji wystąpiło ostre odrzucanie stężenie homocysteiny po początkowym spadku wzrosło do poziomu sprzed zabiegu, natomiast u chorego z pierwotnym brakiem funkcji nerki przeszczepionej poziom Hcy nie zmienił się [66]. Podobny efekt obserwowali A. Merouani i wsp. badając chorego z homozygotycznym

wariantem termolabilnej formy reduktazy metylenotetrahydrofolanowej. Poziom homocysteiny obniżył się po 45 dniach z 138 $\mu\text{mol/l}$ do 26,7 $\mu\text{mol/l}$ i dodatnio korelował ze stężeniem kreatyniny w surowicy pacjenta [93]. Ponadto Fonseca i wsp. badając grupę 202 chorych w okresie co najmniej 6 miesięcznym po przeszczepieniu nerki zauważyli, że stężenie Hcy jest znacząco wyższe u mężczyzn niż u kobiet w porównywalnej grupie pacjentów [45].

W badanej grupie chorych stężenie homocysteiny po przeszczepieniu nerki obniżyło się średnio o 35,2% i u 39% pacjentów w trakcie 24 miesięcznej obserwacji pozostawało w granicach normy (poniżej 15 $\mu\text{mol/l}$). Natomiast analizując wszystkich badanych należy zauważyć, że średni poziom homocysteiny pozostawał jednak powyżej normy i wynosił 17,1 $\mu\text{mol/l}$. W przeciwieństwie do badań Fonseca i wsp. nie zauważono różnic pomiędzy płcią badanych. Największy spadek poziomu homocysteiny obserwowano w pierwszym okresie po zabiegu przeszczepienia nerki. Stwierdzono istotnie statystyczną różnicę pomiędzy badaniem przed transplantacją i 3 miesiące po zabiegu ($p < 0,00001$). Oceniano również wpływ ostrej martwicy cewek nerkowych po przeszczepieniu nerki na stężenie homocysteiny. Zarówno konieczność wykonywania hemodializ jak i ich ilość nie wpływała na stężenia homocysteiny w badanych okresach. Zapewne związane to było z czasem wykonania kolejnych oznaczeń. Pierwsze badanie po transplantacji nerki zostało wykonane po 3 miesiącach od zabiegu a więc w okresie kiedy funkcje graftów między chorymi z i bez ATN nie różniły się.

Skuteczny zabieg przeszczepienia nerki, choć znacząco poprawia jakość życia pacjentów przez możliwość rezygnacji z leczenia dializami, nie prowadzi do całkowitej normalizacji parametrów związanych z funkcją nerek (jakie mają ludzie zdrowi). Wydaje się, że oceniając stężenie

homocysteiny u pacjentów po przeszczepieniu nerki należy spodziewać się wartości porównywalnych do osób z przewlekłą niewydolnością nerek własnych z podobnymi wartościami kreatyniny bądź klirensu kreatyniny. W swoim badaniu Bostom i wsp. porównali dwie takie grupy, identyczne pod względem płci, wagi oraz poziomu kreatyniny (średnio $150,3\mu\text{mol/l}$). Nie stwierdzili żadnych różnic w poziomie homocysteiny u tych chorych (odpowiednio $15,0\mu\text{mol/l}$ po NTx i $14,9\mu\text{mol/l}$ z PNN). Można zatem sądzić, że stężenie Hcy jest w decydującej mierze uwarunkowane funkcją nerek [14]. W grupie chorych po zabiegu przeszczepienia nerki związek funkcji graftu i homocysteinemii potwierdzono w wielu badaniach, przeprowadzanych w różnych okresach od transplantacji [42, 45, 38, 118, 57, 80, 86]. Fonseca i wsp. analizując 202 chorych (średnio $58,5 \pm 37,2$ miesięcy po zabiegu przeszczepienia nerki) stwierdzili dodatnią korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny i kreatyniny, niezależnie od stosowanej immunosupresji, stanu odżywienia (ocenianym na podstawie BMI, poziomu albumin, białka całkowitego, kwasu foliowego, witamin B₆ i B₁₂) oraz lipidów [45]. Podobne zależności stwierdzili Manrigue i wsp. badając 193 pacjentów od 3 do 288 miesięcy po NTx. W badaniu tym na powyższą zależność nie miała wpływu stosowana terapia obniżająca homocysteinemię, polegająca na podawaniu doustnie przez 12 miesięcy wysokich dawek kwasu foliowego (do 29mg dziennie) i witaminy B₁₂ (do 950 μg dziennie) [86]. Natomiast wg Bostoma i wsp. u chorych po przeszczepieniu nerki z prawidłowym stężeniem kreatyniny (poniżej lub równym $1,5\text{mg/dl}$) nie stwierdza się opisywanej powyżej korelacji. Autorzy badając 28 pacjentów spełniających te kryteria sugerują, że może to być związane z małą czułością kreatyniny jako wskaźnika funkcji nerki przeszczepionej, szczególnie u osób z prawidłowymi jej wartościami. Uważają, że w tej sytuacji bardziej miarodajnym wydaje się być

oznaczanie cystatyny C, która lepiej odpowiada funkcji wydalniczej nerki i dla której stwierdzono dodatnią korelację ze stężeniem homocysteiny w tej badanej grupie chorych [13].

Zależność pomiędzy funkcją nerki a stężeniem homocysteiny potwierdzono w analizowanej grupie chorych. Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniami kreatyniny i Hcy w każdym okresie badania po zabiegu przeszczepienia nerki, tj. po 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, i 24 miesiącach od zabiegu. Jedynie w pierwszym badaniu (przed transplantacją nerki) nie potwierdzono tej zależności. Wydaje się, że było to związane z metodyką tego badania, które miało wpływ przede wszystkim na poziom kreatyniny. Materiał do oznaczeń był pobierany od chorych zakwalifikowanych do zabiegu przeszczepienia nerki bezpośrednio przed zabiegiem. Pacjenci ci byli w różnych odstępach czasowych od swojej ostatniej hemodializy, a ponadto część chorych była dializowana otrzewnowo. Stężenia kreatyniny wahały się w szerokim przedziale: od 291 do 1120 $\mu\text{mol/l}$. Stąd badanie ich korelacji ze stężeniami homocysteiny nie może być wiarygodne.

Podobne wyniki uzyskano analizując zależność poziomu homocysteiny z klirensiem kreatyniny wyliczanym ze wzoru Cocrofta. Korelacji nie stwierdzono przed zabiegiem przeszczepienia nerki (zapewne z opisanych powyżej powodów) oraz 6 miesięcy po transplantacji (w tym badaniu istnieje jednak dodatnia zależność pomiędzy wynikami, która jednak nie osiąga znamienności statystycznej). W pozostałych okresach badania, stężenie homocysteiny pozostaje w ścisłym związku z funkcją nerki przeszczepionej określaną klirensem kreatyniny.

Jednym z ważnych powodów występowania hiperhomocysteinemii u chorych po Ntx może mieć stosowana immunosupresja. W 1996 roku

Arnadottir zasugerował, że cyklosporyna A podnosi poziom homocysteiny w surowicy. Lek ten miał zaburzać proces remetylacji Hcy [3, 4, 96]. Przeprowadzone w następnych latach badania nie dały jasnej odpowiedzi dotyczącej wpływu CsA na metabolizm tego aminokwasu. Jurewicz w prospektywnym, randomizowanym 5-letnim badaniu porównywał wpływ immunosupresji (tacrolimus *vs.* cyklosporyna) na wyniki przeszczepienia nerki u 232 chorych. Stwierdził w nim, że poziom Hcy jest znacząco niższy u chorych leczonych TAC (odpowiednio $19\mu\text{mol/l}$ i $15\mu\text{mol/l}$) [70]. Podobne wyniki badań przedstawili Quiroga i wsp. jak również Laures i wsp. [80, 107]. Pierwsi wyżej wymienieni badacze w przedstawionej rocznej obserwacji stwierdzili istotną różnicę poziomu Hcy w surowicy u chorych leczonych wg protokołu immunosupresji z TAC w porównaniu do pacjentów leczonych wg schematu z CsA ($12,8\mu\text{mol/l}$ z TAC *vs.* $16\mu\text{mol/l}$ z CsA) [107]. Ważnym wydaje się zauważyć, że we wszystkich opisanych badaniach pacjenci otrzymujący w schemacie immunosupresyjnym TAC mieli znacząco lepszą funkcję nerki przeszczepionej, mierzonej poziomem kreatyniny lub klirensiem endogennej kreatyniny niż otrzymujący CsA. Może to tłumaczyć różnice w poziomie Hcy u tych chorych, gdyż zależność ta jest dobrze udokumentowana. Potwierdzić może to badanie Ducloux i wsp., którzy badali stężenia homocysteiny u 122 pacjentów po przeszczepieniu nerki z porównywalnym wiekiem, czasem od transplantacji i stężeniem kreatyniny. Powyżsi autorzy nie stwierdzili różnic w homocysteinemii pomiędzy osobami leczonymi CsA lub innym lekiem w schemacie immunosupresyjnym (odpowiednio $17,9 \pm 6,1 \mu\text{mol/l}$ i $17,1 \pm 5,6 \mu\text{mol/l}$) [35]. Podobne wnioski wysunęli Artz i wsp., którzy w otwartym, randomizowanym, prospektywnym badaniu badali wpływ konwersji cyklosporyny / tacrolimus na poziom homocysteiny. Po 6 miesiącach nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w poziomie

homocysteiny w porównywanych grupach [6]. Również z przytaczanego wcześniej badania Bostoma i wsp. porównującego chorych z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych nerkozastępczo i po przeszczepieniu nerki wynika, że pacjenci mający taki sam poziom kreatyniny mają podobny poziom Hcy w surowicy, a więc stosowana immunosupresja nie ma na to wpływu [14]. Kolejnym dowodem braku wpływu CsA i Tac na homocysteinemię jest badanie Fernandez-Miranda i wsp. Autorzy porównywali w nim skuteczność obniżania stężenia homocysteiny u chorych po przeszczepieniu nerki w zależności od stosowanej immunosupresji (CsA vs. Tac). Podając 5 mg kwasu foliowego przez 3 miesiące uzyskali średnio 31% redukcję homocysteinemii. Stężenia homocysteiny nie różniły się między sobą zarówno przed jak i po badaniu w obu obserwowanych grupach [43].

Także badania *in vitro* nie potwierdzają wpływu cyklosporyny A na powstawanie hiperhomocysteinemii. Ignatescu i wsp. badając komórki nabłonkowe cewek proksymalnych nerki, będące ważnym miejscem przemian homocysteiny, nie stwierdzili żadnego wpływu tego immunosupresantu (podawanego w różnych dawkach) na jej metabolizm [67]. W innej pracy tych samych autorów opisano podobne badanie oceniające oddziaływanie mykofenolanu mofetylu (MMF) oraz tacrolimusu (TAC). Nie stwierdzono wpływu TAC na metabolizm Hcy natomiast MMF obniżał jej stężenie. Zależność tą potwierdzono analizując 454 chorych po przeszczepieniu nerki. Średni poziom Hcy u mężczyzn leczonych MMF w porównaniu z azatiopryną był odpowiednio $17,5 \pm 10 \mu\text{mol/l}$ i $18,5 \pm 9,5 \mu\text{mol/l}$. Różnica ta była istotnie statystyczna. Natomiast u kobiet nie obserwowano tej zależności [68].

W badanej grupie chorych nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności stężenia homocysteiny od leczenia immunosupresyjnego

(porównywano schematy z tacrolimusem i cyklosporyną A). Należy jednak zauważyć, że grupy te dość znacząco różniły się spadkiem stężenia Hcy w stosunku do wartości wyjściowych tj. sprzed NTx. Po 24 miesiącach w grupie chorych leczonych tacrolimusem średni poziom homocysteiny obniżył się z 32,8 $\mu\text{mol/l}$ do 13,9 $\mu\text{mol/l}$ (a więc do normy), czyli o 57,6%, natomiast prowadzonych w schemacie z cyklosporyną A średnio z 24,4 $\mu\text{mol/l}$ do 17,8 $\mu\text{mol/l}$ (spadek o 27%). Pomimo tak znaczących różnic nie uzyskały one jednak znamienności statystycznej. Wydaje się, że wyniki te można tłumaczyć funkcją nerki przeszczepionej. Choć stężenie kreatyniny na koniec obserwacji w obu tych grupach było porównywalne (104,1 $\mu\text{mol/l}$ z Tac i 111,9 $\mu\text{mol/l}$ z CsA) to w poziomach klirensu kreatyniny zaznaczała się już wyraźna różnica (93,7 ml/min z Tac i 80,5 ml/min z CsA). Porównując powyższe grupy chorych wyraźnie widać, że na oczekiwane stężenie Hcy w późnym okresie po transplantacji nie ma wpływu wielkość hiperhomocysteinemii przed przeszczepieniem nerki. Podstawowe znaczenie odgrywa tutaj wydolność graftu i ona przede wszystkim determinuje wielkość homocysteinemii u badanych osób.

Dyslipidemia jest jednym z głównych zaburzeń metabolicznych obserwowanych u chorych po przeszczepieniu nerki. Stwierdza się ją u ponad 60% pacjentów. W stosunku do ogólnej populacji dodatkowymi przyczynami mogącymi ją wywoływać jest stosowane leczenie immunosupresyjne a w szczególności steroidy i cyklosporyna A [91, 101]. Pannu i wsp. porównując zmiany profilu lipidowego u 30 chorych przed przeszczepieniem nerki a następnie w 1, 3 i 6 miesięcy po transplantacji stwierdzili istotny statystycznie wzrost cholesterolu całkowitego, triglicerydów, VLDL, LDL cholesterolu w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną, natomiast poziom HDL w tym badaniu pozostawał statystycznie

niższy zarówno przed jak i po przeszczepieniu [102]. Istotnym czynnikiem wpływającym na zaburzenia lipidowe jest stosowana immunosupresja a w szczególności stosowana cyklosporyna A. Artz i wsp. porównywali zmiany profilu lipidowego u pacjentów po konwersji cyklosporyny A na tacrolimus. 124 chorych (co najmniej rok po transplantacji) podzielono na 2 grupy: 64 pacjentom zmieniono CsA na Tac, 60 osób kontynuowało leczenie CsA. Obie grupy po randomizacji nie różniły się pod względem profilu lipidowego. Po 6 miesiącach obserwacji w grupie z Tac stwierdzono znaczący spadek stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL oraz triglicerydów, natomiast nie zmienił się poziom lipoproteiny (a). W ocenianym okresie stosowane leczenie hipolipemiczne u tych pacjentów nie było modyfikowane [6]. Wydaje się jednak, że zaburzenia w gospodarce lipidowej nie mają wpływu na stężenie homocysteiny u chorych po przeszczepieniu nerki. Chociaż Ducloux i wsp. badając 103 pacjentów po transplantacji stwierdzili, że poziom Hcy dodatnio koreluje ze stężeniem LDL (natomiast ujemnie z poziomem kwasu foliowego, IGF-1 oraz stężeniem insuliny) inne badania nie potwierdzają tych doniesień [38, 43, 97, 121]. Podobnie Fonseca i wsp., w badaniu przytoczonym wcześniej, analizując 202 chorych po przeszczepieniu nerki nie stwierdzają korelacji homocysteiny z wiekiem, BMI, stężeniami albumin, triglicerydów, cholesterolu całkowitego oraz LDL, Lp(a) i ApoB [45].

W przeprowadzonym badaniu, oceniając na podstawie średnich wartości w trakcie obserwacji po przeszczepieniu nerki, u 42 chorych (82,4%) stwierdzono zaburzenia lipidowe. W stosunku do średnich wartości przed transplantacją obniżenie w ocenianych elementach profilu lipidowego stwierdzono jedynie w przypadku Lp(a) – spadek o 18,4%, natomiast średnie stężenie triglicerydów nie zmieniło się (2,58mmol/l przed NTx vs. 2,63mmol/l po NTx). W pozostałych obserwowano wzrost

stężenia: cholesterolu całkowitego o 11%, cholesterolu LDL o 11% i ApoB o 12%. Nie stwierdzono zależności pomiędzy ocenianymi elementami lipidogramu a stężeniem homocysteiny zarówno przed przeszczepieniem nerki jak i w okresie 24 miesięcy po zabiegu.

Innym istotnym zaburzeniem metabolicznym występującym u pacjentów po przeszczepieniu nerki jest otyłość. Jest ona często związana z dyslipoproteinemią i stanowi u nich jeden z powodów akceleracji miażdżycy. Badając pacjentów po pierwszym roku od transplantacji nerki z BMI powyżej 30 kg/m² Teplan i wsp. stwierdzili, że mają oni znaczną hiperhomocysteinemię (średnio 35µmol/l). U tych samych chorych po włączeniu diety niskokalorycznej, niskotłuszczowej, suplementacji kwasu foliowego, witaminy B₆ i leków hipolipemicznych obserwowano znaczącą poprawę w następujących parametrach: stężenia homocysteiny (spadek do 12,7µmol/l), BMI (spadek z 35,5 do 27,4kg/m²), leptyny (spadek z 48,3 do 16,8ng/ml) oraz profilu lipidowego mierzonego stężeniem cholesterolu, LDL- cholesterolu i trójglicerydów. Równocześnie stwierdzono znaczące zwiększenie poziomu kwasu foliowego oraz witaminy B₆ u tych chorych [135]. W aktualnych badaniach nie stwierdzono zależności pomiędzy BMI a stężeniem homocysteiny. Być może w cytowanym powyżej badaniu nie sam spadek BMI miał wpływ na redukcję hiperhomocysteinemii ale podaż kwasu foliowego oraz witaminy B₆. Brak zależności pomiędzy BMI a homocysteiną u chorych po przeszczepieniu nerki potwierdzają również inne doniesienia [45, 97].

Hiperhomocysteinemia jest uznanym niezależnym czynnikiem rozwoju miażdżycy. Prowadzi ona do wystąpienia wielu powikłań sercowo-naczyniowych, które są główną przyczyną zgonów u chorych po przeszczepieniu nerki [37, 39, 76]. Wg Hjelmæsætha i wsp. możemy mówić

o występowaniu po przeszczepieniu nerki metabolicznego zespołu sercowo – naczyniowego. W prospektywnej (10 tygodniowej) obserwacji, u 167 chorych po transplantacji nerki, oceniano występowanie nietolerancji glukozy u tych pacjentów i jej wpływ na występowanie czynników rozwoju miażdżycy. Zaburzenia glikemii stwierdzono u 52% chorych. Obecność nietolerancji glukozy związana była z pozytywnym wywiadem rodzinnym w kierunku choroby wieńcowej, wysokim stężeniem trójglicerydów, Apo B oraz obniżonym poziomem HDL cholesterolu. Nie było różnicy w poziomie Hcy pomiędzy grupami chorych z i bez zaburzeń glikemii [65].

W wieloletniej obserwacji Massy i wsp. mężczyźni, u których wystąpiły powikłania sercowo–naczyniowe mieli wyższy (na granicy istotności statystycznej) poziom homocysteiny niż chorzy bez ww. incydentów. Tych zależności nie obserwowano u badanych kobiet [89]. Również u osób po przeszczepieniu nerki, u których przed zabiegiem wystąpiły powikłania sercowo – naczyniowe stwierdza się istotnie statystycznie wyższy poziom homocysteiny niż u chorych z ujemnym wywiadem w tym kierunku [39]. Występowanie powikłań sercowo – naczyniowych nie jest związane jedynie z podwyższonym poziomem homocysteiny. Pozostałymi czynnikami są m.in.: nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia, cukrzyca oraz wcześniejsze leczenie nerkozastępcze [65, 71, 76]. W niniejszym badaniu nie obserwowano powikłań naczyniowych. Jeden z włączonych pacjentów zmarł nagle (przyczyna nieznana). Można jedynie przypuszczać, że powodem zgonu były powikłania sercowo – naczyniowe (ale to i tak nie pozwalałoby na analizę statystyczną). Chcąc ocenić rozwój zmian miażdżycowych naczyń u pacjentów włączonych do badania, wykonywano ultrasonograficzną ocenę grubości intymy i medii tętnic szyjnych (CCA IMT). Badanie to stwarza możliwość oceny

zaawansowania miażdżycy i jego zmian w czasie. Choć hiperhomocysteinemia jest uznanym niezależnym czynnikiem rozwoju miażdżycy to jej wpływ na zmiany grubości ściany tętnicy szyjnej nie jest jednoznacznie udowodniony. Lim i wsp. oceniali wskaźnik CCA IMT u 151 chorych ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych hemodializami w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną (135 osób), przy czym grupę z niewydolnością nerek podzielono na podgrupy w zależności od typu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR) (prawidłowej - CC, termolabilnej: w wariacie heterozygotycznym – CT lub homozygotycznym - TT). Średnie stężenie homocysteiny u pacjentów dializowanych ($23,1 \pm 7,4$ $\mu\text{mol/l}$) było znacząco wyższe niż u osób zdrowych ($10,1 \pm 5,0$ $\mu\text{mol/l}$). Analizując wyniki przeprowadzonych badań stwierdzili, że pacjenci z obecnością termolabilnej formy MTHFR (a w szczególności wariant TT) mają wyższy wskaźnik CCA IMT w porównaniu z osobami zdrowymi jak i chorymi ze schyłkową niewydolnością nerek ale z prawidłową formą tego enzymu. Najprawdopodobniej związane to jest z wyższą homocysteinemią u osób z defektem tego szlaku enzymatycznego. W przytoczonym badaniu wynosiła ona dla poszczególnych wariantów MTHFR następująco: CC – $22,3 \pm 6,8 \mu\text{mol/l}$, CT - $22,8 \pm 7,3 \mu\text{mol/l}$ i TT - $28,3 \pm 2,8 \mu\text{mol/l}$ [83]. Natomiast Smilde i wsp. analizując wskaźnik CCA IMT w różnorodnej pod względem czynników ryzyka powikłań sercowo – naczyniowych grupie osób (19 z homozygotyczną mutacją i 14 z heterozygotyczną mutacją genu kodującego β -syntazę cystationiny, 21 z rodzinną hipercholesterolemią, 15 z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, 20 palaczy papierosów i 28 stanowiących grupę kontrolną) nie stwierdzili jego zależności z homocysteinemią. Ponadto CCA IMT nie różnił się pomiędzy pacjentami z defektem β -syntazy cystationiny a grupą kontrolną, natomiast był znacząco

wyższy u osób z rodzinną hipercholesterolemią, pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i u palaczy papierosów [119]. Również Leskinen i wsp. badając 135 chorych z niewydolnością nerek (58 w okresie przeddializacyjnym, 36 dializowanych i 41 po przeszczepieniu nerki) nie stwierdzili wpływu stężenia homocysteiny na grubość intymy i medii oraz obecność blaszki miażdżycowej w tętnicy szyjnej wspólnej [81].

Doniesienia na temat wpływu przeszczepienia nerki na wskaźnik CCA IMT nie są jednoznaczne. Chociaż po transplantacji obserwujemy znaczące zmniejszenie homocysteinemii to jednak mamy do czynienia z dodatkowym czynnikiem aterogennym jakim jest stosowana immunosupresja. Ponadto u większości pacjentów po NTx stężenie homocysteiny pozostaje nadal podwyższone.

Suwelack i wsp. w prospektywnym badaniu próbowali ocenić wpływ Hcy na zmiany grubości ściany tętnic szyjnych (intima + media) u 53 chorych po przeszczepieniu nerki. 12 miesięczna obserwacja nie dała jednoznacznej odpowiedzi. Jedynie po 3 miesiącach od zabiegu transplantacji zaobserwowano istotne statystycznie różnice w grubości ściany tętnicy szyjnych pomiędzy chorymi z podwyższonym i prawidłowym poziomem homocysteiny (pacjenci z hiperhomocysteinemią mieli wyższy wskaźnik intima-media). W kolejnych badaniach (po 6 i 12 miesiącach) nie stwierdzono już żadnych różnic [131,132]. Ciekawą obserwacją są badania Barbagallo i wsp. Porównywali oni występowanie blaszki miażdżycowej w tętnicy szyjnej wspólnej ocenianej badaniem ultrasonograficznym u 57 chorych będących po przeszczepieniu nerki z 113 osobową grupą kontrolną. Stwierdzili, że istotnie częściej występuje ona u pacjentów po transplantacji niż w porównywalnej grupie osób z wydolnymi nerkami własnymi (24,6% vs. 6,2%, $p < 0.001$) i w pierwszej grupie jest związana jedynie z wiekiem i nadciśnieniem tętniczym.

Natomiast analizując grupę kontrolną potwierdzono korelację rozwoju miażdżycy ze znanymi czynnikami ryzyka takimi jak wiek, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie papierosów, obecność chorób sercowo – naczyniowych. Nie stwierdzono w obu grupach pacjentów wpływu zaburzeń lipidowych na rozwój płytki miażdżycowej, choć w grupie kontrolnej zauważono dodatnią zależność, która jednak nie osiągnęła znamienności statystycznej [9]. Wydaje się, że u osób po przeszczepieniu nerki istnieją jeszcze inne czynniki mające wpływ na rozwój miażdżycy (immunosupresja, hiperhomocysteinemia), które nie były brane pod uwagę w tym badaniu. Być może istotnym czynnikiem wpływającym na grubość intymy i medii jest stosowanie inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACEi). Badając chorych po przeszczepieniu nerki Serafinowicz i wsp. stwierdzili, że pacjenci otrzymujący co najmniej przez 2 lata enalapril mają mniejszą grubość ściany tętnicy szyjnej niż chorzy bez ACEi, choć zależność ta nie była istotnie statystyczna. Natomiast nie obserwowano różnic w grubości intymy i medii pomiędzy pacjentami z prawidłowym i podwyższonym stężeniem homocysteiny [118].

W badanej grupie chorych stwierdzono zależność pomiędzy wskaźnikiem CCA IMT a homocysteinemią na każdym etapie badania. Porównując stężenia homocysteiny przed zabiegiem przeszczepienia nerki stwierdzono, że hiperhomocysteinemia ($> 15 \mu\text{mol/l}$) związana jest ze znamienne statystycznie grubsza intyma i media. Ponadto 12 i 24 miesiące po transplantacji stężenie homocysteiny dodatnio korelowało ze wskaźnikiem CCA IMT. Analizowano również zmiany wskaźnika CCA IMT pomiędzy poszczególnymi badaniami. Podwyższone stężenie homocysteiny wiązało się z istotnym statystycznie większym przyrostem intymy i medii w porównaniu z chorymi z prawidłową homocysteinemią.

Ponadto stwierdzono, że na zmianę wskaźnika CCA IMT u badanych osób miały wpływ niektóre zaburzenia lipidowe. Uzyskano istotnie statystyczną dodatnią zależność pomiędzy przyrostem grubości intymy i medii a stężeniami cholesterolu całkowitego 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki. Natomiast po 24 miesiącach od zabiegu transplantacji u osób mających podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego ($>5,2\text{mmol/l}$) stwierdzono przyrost grubości CCA IMT o 42% większy w porównaniu z osobami, u których poziom cholesterolu mieścił się w zakresie normy. Wartości te nie były jednak znamienne statystycznie. Ponadto wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem Lp(a) a CCA IMT. Zależność tą stwierdzono 24 miesiące po zabiegu przeszczepienia nerki. Pozostałe parametry lipidogramu oceniane w niniejszym badaniu nie wpływały na zmianę grubości intymy i medii. Na podstawie analizy powyższych wyników możemy przypuszczać, że na rozwój miażdżycy u chorych po przeszczepieniu nerki w głównej mierze mają wpływ hiperhomocysteinemia oraz zaburzenia lipidowe, w których główną rolę odgrywają podwyższony poziom cholesterolu całkowitego oraz Lp(a). Potwierdzeniem, że hiperhomocysteinemia może odgrywać rolę w rozwoju miażdżycy u pacjentów po przeszczepieniu nerki są wyniki badania Marcucci i wsp. Analizą objęto przez 6 miesięcy 56 pacjentów po przeszczepieniu nerki ze stabilną funkcją graftu, zrandomizowanych do dwóch grup. Pierwsza grupa chorych (A) jako leczenie obniżające homocysteinemię otrzymywała doustnie kwas foliowy, witaminę B₆ i witaminę B₁₂, natomiast druga (B) była prowadzona bez tej terapii. Przed rozpoczęciem i po zakończeniu wszyscy chorzy mieli wykonywany pomiar grubości intymy i medii. W grupie A stwierdzono znaczące obniżenie stężenia homocysteiny (z średnio $21,8\text{ }\mu\text{mol/l}$ do średnio $9,3\text{ }\mu\text{mol/l}$; $p<0,0001$) z równoczesnym istotnym statystycznie zmniejszeniem CCA

IMT (z $0,95 \pm 0,20$ mm do $0,64 \pm 0,17$ mm; $p < 0,0001$). Natomiast w grupie B stężenie homocysteiny pozostawało na niezmiennym ale powyżej zakresu normy poziomie (średnio- $20,5 \mu\text{mol/l}$ na początku badania i $20,7 \mu\text{mol/l}$ na końcu obserwacji; $p = \text{NS}$) i wiązało się z istotnym statystycznie wzrostem (średnio 23,3%) grubości intymy i medii (z $0,71 \pm 0,16$ mm do $0,87 \pm 0,19$ mm; $p < 0,05$) [87]. W przeprowadzonym badaniu, podobnie jak w grupie B opisywanego wyżej doniesienia, u pacjentów przez cały okres obserwacji po przeszczepieniu nerki stwierdzano podwyższone średnie stężenia homocysteiny (w zakresie od $16,38 \mu\text{mol/l}$ do $17,59 \mu\text{mol/l}$; $p = \text{NS}$) i również wiązało się to w tym czasie z akceleracją miażdżycy ocenianą na podstawie wskaźnika CCA IMT. Średnia grubość intymy i medii zmieniała się następująco: $0,6 \pm 0,16$ mm bezpośrednio po NTx, $0,68 \pm 0,18$ mm 12 miesięcy po NTx i $0,73 \pm 0,22$ mm 24 miesiące po NTx.

Ważnym elementem wpływającym na nasilenie hiperhomocysteinemii jest styl życia i stosowana dieta (w szczególności podaż kwasu foliowego oraz witamin B₆ i B₁₂), także u osób po przeszczepieniu nerki. Ujemna korelacja pomiędzy stężeniami kwasu foliowego i homocysteiny u osób ze schyłkową niewydolnością nerek jest dobrze udokumentowana [56, 61, 85, 109, 128, 134]. U osób hemodializowanych ta zależność jest obserwowana niezależnie od odległości czasowej od ostatniego zabiegu [134].

Podobne wyniki uzyskano w aktualnym badaniu. Stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniami homocysteiny i kwasu foliowego bezpośrednio przed zabiegiem przeszczepienia nerki. Na wystąpienie tej zależności nie miały wpływu zarówno czasokres w stosunku do ostatniej

hemodializy jak również metoda leczenia nerkozastępczego przed transplantacją.

W związku z częstą hiperhomocysteinemią (HHcy) u chorych po NTx, wydają się być celowe próby jej leczenia. Podobnie jak u innych chorych z HHcy podstawową formą leczenia jest podawanie kwasu foliowego oraz witaminy B₆ i B₁₂, które są kofaktorami enzymów biorących udział w metabolizmie homocysteiny.

W prospektywnym badaniu Manrique i wsp. 193 chorych po przeszczepieniu nerki podzielono na następujące grupy: z poziomem Hcy poniżej 14μmol/l oraz powyżej 14μmol/l. Tej drugiej grupie podawano lub nie kwas foliowy oraz witaminę B₁₂. Stosowano na dobę odpowiednio 10-20mg kwasu foliowego oraz 500μg witaminy B₁₂. Po dwunastomiesięcznej obserwacji jedynie w grupie otrzymującej leczenie stwierdzono statystycznie istotną zmianę stężenia homocysteiny, której poziom obniżył się z 20,38μmol/l do 12,48μmol/l [86]. Wydaje się, że także mniejsze dawki stosowanych leków mogą skutecznie leczyć hiperhomocysteinemię. W badaniu Savaj i wsp. podawanie chorym po przeszczepieniu nerki jedynie kwasu foliowego w dawce 5mg na dobę obniżało istotnie statystycznie stężenie homocysteiny po 3 miesiącach leczenia (o 21,6%) [115]. Stosując kwas foliowy wyższą skuteczność leczenia hiperhomocysteinemii obserwuje się u osób z gorszą funkcją nerki przeszczepionej. W obserwacji Grandtnerova i wsp. u pacjentów z kreatyniną mniejszą lub równą 106μmol/l podawanie kwasu foliowego 10mg na dobę przez 3 miesiące redukowało poziom homocysteiny o około 21,8% natomiast u chorych z wyższą kreatyniną (średnio 138,1μmol/l) o 27,3%. Różnica ta była istotna statystycznie [57].

Chociaż terapia kwasem foliowym skutecznie obniża stężenie homocysteiny u chorych po przeszczepieniu nerki to korelacja pomiędzy

jego stężeniem w surowicy a homocysteinemią nie jest jednoznacznie udowodniona. Stein i wsp. analizując stężenie homocysteiny i jego metabolitów w surowicy 50 pacjentów po przeszczepieniu nerki stwierdził ujemną zależność pomiędzy Hcy i kwasem foliowym [121]. Podobne wyniki uzyskali też inni autorzy [36, 38, 45]. Natomiast Bostom i wsp. obserwując 28 pacjentów po przeszczepieniu nerki z prawidłową wartością kreatyniny nie stwierdza takiej zależności [13]. Podobne wyniki uzyskali Laures i wsp. Obserwowali oni 73 osoby przez 12 miesięcy od przeszczepienia nerki badając ich bezpośrednio po zabiegu oraz 6 i 12 miesięcy po transplantacji. W analizowanych okresach stwierdzili znaczący spadek średniego stężenia homocysteiny (kolejno: $28,41 \pm 13,71 \mu\text{mol/l}$; $18,59 \pm 8,31 \mu\text{mol/l}$ i $17,13 \pm 7,06 \mu\text{mol/l}$) natomiast nie korelował ono w żadnym okresie ze stężeniem kwasu foliowego [80].

W aktualnym badaniu stwierdzono istotny spadek stężenia kwasu foliowego po przeszczepieniu nerki. 3 miesiące po NTx obniżył się w stosunku do wartości sprzed transplantacji o 72,6% (z średnio $220,47 \pm 395,1 \text{ ng/ml}$ do $60,3 \pm 129,75 \text{ ng/ml}$). Związane to było najprawdopodobniej z zaprzestaniem suplementacji kwasu foliowego przez pacjentów. Innym ważnym czynnikiem wydaje się być odbudowa układu czerwonokrwinkowego u tych chorych, mających anemię w przebiegu terminalnej niewydolności nerek oraz w wyniku okołozabiegowej utraty krwi. W dalszych okresach badania nie stwierdzano zmian stężenia kwasu foliowego. W tym czasie nie obserwowano istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniami homocysteiny a kwasem foliowym. Należy jednak zauważyć, że w badanym okresie występowanie hiperhomocysteinemii wiązało się z niższym o 42% stężeniem kwasu foliowego u tych chorych w stosunku do tych, u których stwierdzano prawidłowy poziom homocysteinemii ($36,41 \text{ ng/ml}$ vs. $62,45 \text{ ng/ml}$).

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że skuteczny zabieg przeszczepienia nerki znacząco obniża stężenie homocysteiny, które w dalszym okresie bezpośrednio zależy od funkcji graftu. Jednakże u większości chorych po transplantacji utrzymuje się hiperhomocysteinemia. Ma ona wpływ na rozwój miażdżycy, którą oceniano badając grubość intymy i medii tętnicy szyjnej. Innymi czynnikami stwierdzonymi w tym badaniu i wpływającymi aterogennie były zaburzenia lipidowe a w szczególności cholesterol całkowity oraz Lp(a). W związku z dodatnią korelacją pomiędzy homocysteinemią i rozwojem zmian miażdżycowych ważnym jest próba obniżenia jej stężenia u tych chorych. Najważniejszym elementem jest dbałość o zapewnienie jak najlepszej funkcji nerki przeszczepionej, którą możemy uzyskać poprawiając techniki operacyjne oraz leczenie immunosupresyjne. Słusznym wydaje się również podawanie pacjentom kwasu foliowego nawet tym, którzy mają prawidłowe jego stężenie we krwi.

6. WNIOSKI

Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Stężenie homocysteiny obniża się u pacjentów po przeszczepieniu nerki w stosunku do wartości przed zabiegiem a największy spadek obserwuje się w pierwszych trzech miesiącach.
2. U większości chorych po zabiegu przeszczepienia nerki poziom homocysteiny utrzymuje się powyżej normy.
3. Występowanie ostrej martwicy cewek nerkowych i epizodów ostrego odrzucania nie wpływa na odległe stężenia homocysteiny w badanej grupie chorych.
4. Stężenie homocysteiny u chorych po przeszczepieniu nerki koreluje dodatnio ze stężeniem kreatyniny i ujemnie z wartościami klirensu kreatyniny.
5. Hiperhomocysteinemia, podwyższone stężenia cholesterolu i Lp(a) u chorych po przeszczepieniu nerki nasilają progresję zmian miażdżycowych ocenianych wskaźnikiem intima – media.

7. STRESZCZENIE

Przeszczepienie nerki jest najskuteczniejszym leczeniem pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek. Pozwala ono w znaczący sposób poprawić przeżycie tych chorych oraz polepszyć jakość ich życia. Liczba zabiegów stale się zwiększa a pacjenci po przeszczepieniu nerki stanowią coraz większą grupę wymagającą stałej specjalistycznej opieki. Głównymi przyczynami chorobowości i śmiertelności u tych chorych są powikłania związane z miażdżycą naczyń do której rozwoju przyczynia się hiperhomocysteinemia.

Homocysteina (Hcy) jest siarkowym aminokwasem powstającym w wyniku demetylacji metioniny. Fizjologicznie niewielka ilość Hcy jest stwierdzana w surowicy. Jest to efekt jej komórkowego wydzielania jako mechanizmu uzupełniającego transsulfurację i mającego na celu utrzymanie niskiego poziomu wewnątrzkomórkowego Hcy, która jest aminokwasem potencjalnie cytotoksycznym. W sytuacji zaburzeń metabolizmu homocysteiny prowadzących do jego nadmiaru dochodzi do wydzielania tego aminokwasu z komórek do krwi. Mechanizm ten chroni komórki lecz równocześnie umożliwia ewentualne toksyczne działanie Hcy na naczynia krwionośne. W patogenezie hiperhomocysteinemii główne znaczenie mają zaburzenia syntezy N-5-metylenotetrahydrofolianu, remetylacji i transsulfuracji homocysteiny. Wśród najważniejszych przyczyn takiej sytuacji wymienia się: niedobory enzymatyczne, witaminowe, styl życia, niewydolność nerek oraz stosowane leki. U pacjentów z przewlekłą i schyłkową niewydolnością nerek za rozwój hiperhomocysteinemii odpowiedzialny może być upośledzony metabolizm

Hcy przez nagromadzone toksyny mocznicowe a także zmniejszone usuwanie Hcy z moczem. Ponadto na zaburzenie przemiany Hcy wpływają niedobory witaminowe, zmiana ich metabolizmu lub/i podwyższone zapotrzebowanie.

Aterogenne znaczenie hiperhomocysteinemii zostało potwierdzone w wielu badaniach i obecnie jest ona uznawana za niezależny czynnik rozwoju miażdżycy. Patomechanizm powstawania miażdżycy u osób z podwyższonym stężeniem homocysteiny nie jest dokładnie poznany. Badania eksperymentalne sugerują, że hiperhomocysteinemia prowadzi do uszkodzenia komórek śródbłónka, zwiększa agregację płytek krwi, aktywuje krążące leukocyty, upośledza fibrynolizę działając jednocześnie prozakrzepowo.

W związku z wpływem hiperhomocysteinemii na rozwój miażdżycy słusznym wydają się próby jej leczenia, pomimo, że nie udowodniono jednoznacznie korzystnego wpływu obniżenia poziomu homocysteiny na hamowanie aterogenezy. Obok diety ubogometioninowej, głównymi związkami, które stosuje się w terapii hiperhomocysteinemii są kwas foliowy oraz witaminy B₆ i B₁₂.

Celem pracy była ocena: zmian stężenia homocysteiny u chorych po przeszczepieniu nerki, w różnych okresach po zabiegu, korelacji stwierdzanych stężeń homocysteiny ze stopniem wydolności przeszczepionej nerki, wpływu ostrej martwicy cewek nerkowych, ostrego odrzucania oraz stosowanej immunosupresji na poziom homocysteiny a także próba powiązania homocysteinemii z rozwojem miażdżycy u pacjentów po przeszczepieniu nerki.

Badanie przeprowadzono u 51 chorych (17K, 34M) w wieku od 15 do 62 lat (średnio 38,1 lat), u których w okresie od 20.11.2000 roku do 13.08.2003 roku w I Katedrze Chirurgii Ogólnej i Klinice Chirurgii

Gastroenterologicznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie wykonano przeszczepienie nerki ze zwłok. Wszyscy chorzy przed przeszczepieniem byli leczeni nerkozastępczo (w programie hemodializ - 46 osób, dializ otrzewnowych - 5 osób).

Poddano analizie następujące dane kliniczne oraz badania dodatkowe:

1. Wiek, płeć, wzrost, waga, przyczyna niewydolności nerek, czas trwania dializ przed przeszczepem, schemat immunosupresji.
2. Poziom homocysteiny w surowicy.
3. Badania lipidowe: cholesterol całkowity z frakcjami HDL i LDL, trójglicerydy, Apo-B, Lipoproteina (a).
4. Inne badania laboratoryjne: kwas foliowy w surowicy, kreatynina, klirens kreatyniny, glukoza we krwi.
5. Ultrasonograficzna ocena grubości intymy i medii tętnicy szyjnej wspólnej.

Przed przeszczepieniem nerki w analizowanej grupie pacjentów hiperhomocysteinemię stwierdzono u 86% chorych. Stężenie homocysteiny wahało się od 10,2 $\mu\text{mol/l}$ do 116,8 $\mu\text{mol/l}$ (średnie w całej grupie wynosiło 28,5 $\mu\text{mol/l}$).

Natomiast po przeszczepieniu nerki stężenie homocysteiny obniżyło się średnio o 35,2% i u 39% pacjentów w trakcie 24 miesięcznej obserwacji pozostawało w granicach normy (poniżej 15 $\mu\text{mol/l}$). Analizując wszystkich badanych należy zauważyć, że średni poziom homocysteiny pozostawał jednak powyżej normy i wynosił 17,1 $\mu\text{mol/l}$. Nie zauważono różnic pomiędzy płcią badanych. Największy spadek poziomu homocysteiny obserwowano w pierwszym okresie po zabiegu przeszczepienia nerki. Stwierdzono istotnie statystyczną różnicę pomiędzy

badaniem przed transplantacją i 3 miesiące po zabiegu ($p < 0,00001$). Oceniano również wpływ ostrej martwicy cewek nerkowych po przeszczepieniu nerki na stężenie homocysteiny. Zarówno konieczność wykonywania hemodializ jak i ich ilość nie wpływała na stężenia homocysteiny w badanych okresach. Zapewne związane to było z czasem wykonania kolejnych oznaczeń. Pierwsze badanie po transplantacji nerki zostało wykonane po 3 miesiącach od zabiegu a więc w okresie kiedy funkcje graftów między chorymi z i bez ATN nie różniły się.

Zależność pomiędzy funkcją nerki a stężeniem homocysteiny potwierdzono w analizowanej grupie chorych. Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniami kreatyniny i Hcy w każdym okresie badania po zabiegu przeszczepienia nerki, tj. po 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, i 24 miesiącach od zabiegu. Jedynie w pierwszym badaniu (przed transplantacją nerki) nie potwierdzono tej zależności. Wydaje się, że było to związane z metodyką tego badania, które miało wpływ przede wszystkim na poziom kreatyniny. Materiał do oznaczeń był pobierany od chorych zakwalifikowanych do zabiegu przeszczepienia nerki bezpośrednio przed zabiegiem. Pacjenci ci byli w różnych odstępach czasowych od swojej ostatniej hemodializy, a ponadto część chorych była dializowana otrzewnowo. Stężenia kreatyniny wahały się w szerokim przedziale: od 291 do 1120 $\mu\text{mol/l}$. Stąd badanie ich korelacji ze stężeniami homocysteiny nie może być wiarygodne. Podobne wyniki uzyskano analizując zależność poziomu homocysteiny z klirensem kreatyniny wyliczanym ze wzoru Cocrofta. Korelacji nie stwierdzono przed zabiegiem przeszczepienia nerki (zapewne z opisanych powyżej powodów) oraz 6 miesięcy po transplantacji (w tym badaniu istnieje jednak dodatnia zależność pomiędzy wynikami, która jednak nie osiąga znamienności statystycznej). W pozostałych

okresach badania, stężenie homocysteiny pozostaje w ścisłym związku z funkcją nerki przeszczepionej określaną klirensem kreatyniny.

W badanej grupie chorych nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności stężenia homocysteiny od leczenia immunosupresyjnego (porównywano schematy z tacrolimusem i cyklosporyną A). Należy jednak zauważyć, że grupy te dość znacząco różniły się spadkiem stężenia Hcy w stosunku do wartości wyjściowych tj. sprzed NTx. Po 24 miesiącach w grupie chorych leczonych tacrolimusem średni poziom homocysteiny obniżył się z 32,8 $\mu\text{mol/l}$ do 13,9 $\mu\text{mol/l}$ (a więc do normy), czyli o 57,6%, natomiast prowadzonych w schemacie z cyklosporyną A średnio z 24,4 $\mu\text{mol/l}$ do 17,8 $\mu\text{mol/l}$ (spadek o 27%). Pomimo tak znaczących różnic nie uzyskały one jednak znamienności statystycznej. Wydaje się, że wyniki te można tłumaczyć funkcją nerki przeszczepionej (klirens kreatyniny: 93,7 ml/min z Tac i 80,5 ml/min z CsA). Porównując powyższe grupy chorych wyraźnie widać, że na oczekiwane stężenie Hcy w późnym okresie po transplantacji nie miała wpływu wielkość hiperhomocysteinemii przed przeszczepieniem nerki. Podstawowe znaczenie odgrywała tutaj wydolność graftu i ona przed wszystkim determinowała wielkość homocysteinemii u badanych osób.

W przeprowadzonym badaniu, oceniając na podstawie średnich wartości w trakcie obserwacji po przeszczepieniu nerki, u 42 chorych (82,4%) stwierdzono zaburzenia lipidowe. Nie stwierdzono zależności pomiędzy ocenianymi elementami lipidogramu a stężeniem homocysteiny zarówno przed przeszczepieniem nerki jak i w okresie 24 miesięcy po zabiegu.

Analizując aterogenne działanie homocysteiny stwierdzono zależność pomiędzy wskaźnikiem CCA IMT a homocysteinemią na każdym etapie badania. Porównując stężenia homocysteiny przed

zabiegiem przeszczepienia nerki stwierdzono, że hiperhomocysteinemia ($>15 \mu\text{mol/l}$) związana jest ze znamienne statystycznie grubszą intymą i medią. Ponadto 12 i 24 miesiące po transplantacji stężenie homocysteiny dodatnio korelowało ze wskaźnikiem CCA IMT. Analizowano również zmiany wskaźnika CCA IMT pomiędzy poszczególnymi badaniami. Podwyższone stężenie homocysteiny wiązało się z istotnym statystycznie większym przyrostem intymy i medii niż u osób z prawidłową homocysteinemią. Ponadto stwierdzono, że na zmianę wskaźnika CC IMT u badanych osób miały wpływ niektóre zaburzenia lipidowe. Uzyskano istotnie statystyczną dodatnią zależność pomiędzy przyrostem grubości intymy i medii a stężeniami cholesterolu całkowitego 12 miesięcy po przeszczepieniu nerki. Natomiast po 24 miesiącach od zabiegu transplantacji u osób mających podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego ($>5,2\text{mmol}$) stwierdzono przyrost grubości CCA IMT o 42% większy w porównaniu z osobami, u których poziom cholesterolu mieścił się w zakresie normy. Wartości te nie były jednak znamienne statystycznie. Innym zaburzeniem lipidowym, które dodatnio korelowało z rozwojem miażdżycy u tych pacjentów było stężenie Lp(a). Stwierdzono tą zależność 24 miesiące po zabiegu przeszczepienia nerki. Pozostałe oceniane parametry lipidogramu nie wpływały na zmianę grubości intymy i medii.

Ważnym elementem wpływającym na nasilenie hiperhomocysteinemii jest styl życia i stosowana dieta (w szczególności podaż kwasu foliowego oraz witamin B₆ i B₁₂), także u osób po przeszczepieniu nerki. W aktualnym badaniu stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniami homocysteiny i kwasu foliowego bezpośrednio przed zabiegiem przeszczepienia nerki. Na wystąpienie tej zależności nie miały wpływu zarówno czasokres w stosunku do ostatniej hemodializy jak również metoda leczenia nerkozastępczego przed transplantacją. Ponadto

obserwowano istotny spadek stężenia kwasu foliowego po przeszczepieniu nerki. 3 miesiące po NTx obniżył się w stosunku do wartości sprzed transplantacji o 72,6% (z średnio $220,47 \pm 395,1$ ng/ml do $60,3 \pm 129,75$ ng/ml). Związane to było najprawdopodobniej z zaprzestaniem suplementacji kwasu foliowego przez pacjentów. Innym ważnym czynnikiem wydaje się być odbudowa układu czerwonokrwinkowego u tych chorych mających anemię w przebiegu terminalnej niewydolności nerek oraz w wyniku okołozabiegowej utraty krwi. W dalszych okresach badania nie stwierdzano zmian stężenia kwasu foliowego. W tym czasie nie obserwowano istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniami homocysteiny a kwasem foliowym. Należy jednak zauważyć, że w badanym okresie występowanie hiperhomocysteinemii wiązało się z niższym o 42% stężeniem kwasu foliowego u tych chorych w stosunku do tych, u których stwierdzano prawidłowy poziom homocysteinemii (36,41 ng/ml vs. 62,45 ng/ml).

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że skuteczny zabieg przeszczepienia nerki znacząco obniża stężenie homocysteiny, które w dalszym okresie bezpośrednio zależy od funkcji graftu. Jednakże u większości chorych po transplantacji utrzymuje się hiperhomocysteinemia. Ma ona wpływ na rozwój miażdżycy, którą oceniano badając grubość intymy i medii tętnicy szyjnej. Innymi czynnikami stwierdzonymi w tym badaniu i wpływającymi aterogennie były zaburzenia lipidowe a w szczególności cholesterol całkowity oraz Lp(a). W związku z dodatnią korelacją pomiędzy homocysteinemią i rozwojem zmian miażdżycowych ważnym jest próba obniżenia jej stężenia u tych chorych. Najważniejszym elementem jest dbałość o zapewnienie jak najlepszej funkcji nerki przeszczepionej, którą możemy uzyskać poprawiając techniki operacyjne oraz leczenie immunosupresyjne.

Słusznym wydaje się również podawanie pacjentom kwasu foliowego nawet tym, którzy mają prawidłowe jego stężenie we krwi.

8. PIŚMIENNICTWO

1. Alul R.H., Wood M., Longo J., Marcotte A.L., Campione A.L., Moore M.K., Lynch S.M.: Vitamin C protects low-density lipoprotein from homocysteine-mediated oxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 2003, 34, 881-91.
2. Andres E., Noel E., Goichot B.: Metformin-associated vitamin B12 deficiency. *Arch. Intern. Med.* 2002, 28, 2251-2.
3. Arnadottir M., Hultberg B., Vladov V., Nilsson-Ehle P., Thysell H.: Hyperhomocysteinemia in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 1996, 61, 509-12.
4. Arnadottir M., Hultberg B., Wahlberg J., Fellstrom B., Dimeny E.: Serum total homocysteine concentration before and after renal transplantation. *Kidney Int.* 1998, 54, 1380-4.
Arnadottir M., Hultberg B.: The effect of vitamin B12 on total plasma homocysteine concentration in folate-replete hemodialysis patients. *Clin. Nephrol.* 2003, 59, 186-9.
6. Artz M.A., Boots J.M., Ligtenberg G., Roodnat J.I., Christiaans M.H., Hene R.J., Blom H.J., Demacker P.N., Hilbrands L.B.: Randomized conversion from cyclosporine to tacrolimus in renal transplant patients: improved lipid profile and unchanged plasma homocysteine levels. *Transplant. Proc.* 2002, 34, 1793-4.
7. Austen S.K., Coombes J.S., Fassett R.G.: Homocysteine-lowering therapy in renal disease. *Clin. Nephrol.* 2003, 60, 375-85.

8. Balaghi M., Horne D.W., Wagner C.: Hepatic one-carbon metabolism in early folate deficiency in rats. *Biochem. J.* 1993, 291, 145-9.
9. Barbagallo C.M., Pinto A., Gallo S., Parrinello G., Caputo F., Sparacino V., Cefalu A.B., Novo S., Licata G., Notarbartolo A., Averna M.R.: Carotid atherosclerosis in renal transplant recipients: relationships with cardiovascular risk factors and plasma lipoproteins. *Transplantation* 1999, 15, 366-71.
10. Barnabei V.M., Phillips T.M., Hsia J.: Plasma homocysteine in women taking hormone replacement therapy: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. *J. Womens Health Gend. Based. Med.* 1999, 8, 1167-72.
11. Bortolotto L.A., Safar M.E., Billaud E., Lacroix C., Asmar R., London G.M., Blacher J.: Plasma homocysteine, aortic stiffness, and renal function in hypertensive patients. *Hypertension* 1999, 34, 837-42.
12. Bostom A.G., Culleton B.F.: Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999, 10, 891-900.
13. Bostom A.G., Gohh R.Y., Bausserman L., Hakas D., Jacques P.F., Selhub J., Dworkin L., Rosenberg I.H.: Serum cystatin C as a determinant of fasting total homocysteine levels in renal transplant recipients with a normal serum creatinine. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999, 10, 164-6.
14. Bostom A.G., Kronenberg F., Gohh R.Y., Schwenger V., Kuen E., Konig P., Kraatz G., Lhotta K., Mann J.F., Muller G.A., Neyer U., Riegel W., Riegler P., Ritz E., Selhub J.: Chronic renal transplantation: a model for the hyperhomocysteinemia of renal insufficiency. *Atherosclerosis* 2001, 156, 227-30. Bostom

15. A.G., Selhub J.: Homocysteine and arteriosclerosis: subclinical and clinical disease associations. *Circulation* 1999, 11, 2361-3.
16. Bostom A.G., Shemin D., Gohh R.Y., Beaulieu A.J., Bagley P., Massy Z.A., Jacques P.F., Dworkin L., Selhub J.: Treatment of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients and renal transplant recipients. *Kidney Int.* 2001, 59 (Supl. 78), 246-52.
17. Bostom A.G., Shemin D., Gohh R.Y., Verhoef P., Nadeau M.R., Bianchi L.A., Hopkins-Garcia B.J., Jacques P.F., Selhub J., Dworkin L., Rosenberg I.H.: Lower fasting total plasma homocysteine levels in stable renal transplant recipients versus maintenance dialysis patients. *Transplant. Proc.* 1998, 30, 160-2.
18. Bostom A.G., Shemin D., Yoburn D., Fisher D.H., Nadeau M.R., Selhub J.: Lack of effect of oral N-acetylcysteine on the acute dialysis-related lowering of total plasma homocysteine in hemodialysis patients. *Atherosclerosis* 1996, 120, 241-4.
19. Bostom A.G.: Homocysteine: "expensive creatinine" or important modifiable risk factor for arteriosclerotic outcomes in renal transplant recipients? *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000, 11, 149-51.
20. Boushey C.J., Beresford S.A, Omenn G.S., Motulsky A.G.: A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995, 274, 1049-57.
21. Briddon A.: Homocysteine in the context of cobalamin metabolism and deficiency states. *Amino Acids* 2003, 24, 1-12.
22. Carson N.A., Cusworth D.C., Dent C.E., Field C.M., Neill D.W., Westall R.G.: Homocystinuria: a new inborn error of metabolism associated with mental deficiency. *Arch. Dis. Child.* 1963, 38, 425-3.

23. Chen Y.F., Li P.L., Zou A.P.: Effect of hyperhomocysteinemia on plasma or tissue adenosine levels and renal function. *Circulation* 2002, 106, 1275-81.
24. Christensen B., Landaas S., Stensvold I., Djurovic S., Retterstol L., Ringstad J., Berg K., Thelle D.S.: Whole blood folate, homocysteine in serum, and risk of first acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1999, 147, 317-26.
25. Chruściel B., Stompór T., Sułowicz W., Ziomek K., Szpernal G.: Chorobowość i śmiertelność wśród chorych dializowanych. *Nephrol. Dial. Pol.* 1999, 3, 159-174.
26. Clarke R., Lewington S., Landray M.: Homocysteine, renal function, and risk of cardiovascular disease. *Kidney Int.* 2003, 63 (Suppl. 84), 131-3.
27. Cook R.J.: Defining the steps of the folate one-carbon shuffle and homocysteine metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 72, 1419-20.
28. Cooke J.P.: Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000, 20, 2032-7.
29. Cronin C.C., McPartlin J.M., Barry D.G., Ferriss J.B., Scott J.M., Weir D.G.: Plasma homocysteine concentrations in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1998, 21, 1843-7.
30. de Bree A., Verschuren W.M., Bjorke-Monsen A.L., van der Put N.M., Heil S.G., Trijbels F.J., Blom H.J.: Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 77, 687-93.

31. de Lorgeril M., Salen P., Paillard F., Lacan P., Richard G.: Lipid-lowering drugs and homocysteine. *Lancet* 1999, 353, 209-10.
32. De Vriese A.S., Verbeke F., Schrijvers B.F., Lameire N.H.: Is folate a promising agent in the prevention and treatment of cardiovascular disease in patients with renal failure? *Kidney Int.* 2002, 61, 1199-209.
33. Desouza C., Keebler M., McNamara D.B., Fonseca V.: Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs* 2002, 62, 605-16.
34. Dicker-Brown A., Fonseca V.A., Fink L.M., Kern P.A.: The effect of glucose and insulin on the activity of methylene tetrahydrofolate reductase and cystathionine-beta-synthase: studies in hepatocytes. *Atherosclerosis* 2001, 158, 297-301.
35. Ducloux D., Fournier V., Rebibou J.M., Bresson-Vautrin C., Gibey R., Chalopin J.M.: Hyperhomocysteinemia in renal transplant recipients with and without cyclosporine. *Clin. Nephrol.* 1998, 49, 232-5.
Ducloux D., Motte G., Challier B., Gibey R., Chalopin J.M.: Serum total homocysteine and cardiovascular disease occurrence in chronic, stable renal transplant recipients: a prospective study. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000, 11, 134-7.
37. Ducloux D., Motte G., Massy Z.A.: Hyperhomocysteinemia as a risk factor after renal transplantation. *Ann. Transplant.* 2001, 6, 40-2.
38. Ducloux D., Motte G., Nguyen N.U., Abdelfatah A., Gibey R., Chalopin J.M.: Homocysteine, nutritional status and insulin in renal transplant recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002, 17, 1674-7.

-
39. Ducloux D., Ruedin C., Gibey R., Vautrin P., Bresson-Vautrin C., Rebibou J.M., halopin J.M.: Prevalence, determinants, and clinical significance of hyperhomocyst(e)inaemia in renal-transplant recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998, 13, 2890-3.
 - Durand P., Lussier-Cacan S., Blache D.: Acute methionine load-induced hyperhomocysteinemia enhances platelet aggregation, thromboxane biosynthesis, and macrophage-derived tissue factor activity in rats. *FASEB J.* 1997, 11, 1157-68.
 41. Eberhardt R.T., Forgione M.A., Cap A., Leopold J.A., Rudd M.A., Trollet M., Heydrick S., Stark R., Klings E.S., Moldovan N.I., Yaghoubi M., Goldschmidt-Clermont P.J., Farber H.W., Cohen R., Loscalzo J.: Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocysteinemia. *J. Clin. Invest.* 2000, 106, 483-91.
 42. EBPG Expert Group on Renal Transplantation. European best practice guidelines for renal transplantation. Section IV: Long-term management of the transplant recipient. IV.5.5. Cardiovascular risks. Hyperhomocysteinaemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002, 17, 28-9.
 43. Fernandez-Miranda C., Gomez P., Diaz-Rubio P., Estenoz J., Carillo J.L., Andres A., Morales J.M.: Plasma homocysteine levels in renal transplanted patients on cyclosporine or tacrolimus therapy: effect of treatment with folic acid. *Clin. Transplant.* 2000, 14, 110-4.
 44. Fodinger M., Wagner O.F., Horl W.H., Sunder-Plassmann G.: Recent insights into the molecular genetics of the homocysteine metabolism. *Kidney Int.* 2001, 59 (Suppl. 78), 238-42.
 45. Fonseca I., Queiros J., Santos M.J., Mendonca D., Henriques A.C., Sarmiento A.M., Santos A.C., Guimaraes S., Pereira

- M.: Hyperhomocysteinemia in renal transplantation: preliminary results. *Transplant. Proc.* 2000, 32, 2602-4.
46. Fonseca V.A., Mudaliar S., Schmidt B., Fink L.M., Kern P.A., Henry R.R.: Plasma homocysteine concentrations are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 1998, 47, 686-9.
47. Friedman A.N., Bostom A.G., Laliberty P., Selhub J., Shemin D.: The effect of N-acetylcysteine on plasma total homocysteine levels in hemodialysis: a randomized, controlled study. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 41, 442-6.
48. Friedman A.N., Bostom A.G., Selhub J., Levey A.S., Rosenberg I.H.: The kidney and homocysteine metabolism. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001, 12, 2181-9.
49. Friedman A.N., Rosenberg I.H., Selhub J., Levey A.S., Bostom A.G.: Hyperhomocysteinemia in renal transplant recipients. *Am. J. Transplant.* 2002, 2, 308-13.
50. Fukasawa M., Matsushita K., Kamiyama M., Mikami Y., Araki I., Yamagata Z., Takeda M.: The methylenetetrahydrofolate reductase C677T point mutation is a risk factor for vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 41, 637-42.
51. Ganji V., Kafai M.R.: Third National Health and Nutrition Examination Survey. Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 77, 826-33.
52. Giral P., Bruckert E., Jacob N., Chapman M.J., Foglietti M.J., Turpin G.: Homocysteine and lipid lowering agents. A comparison between

- atorvastatin and fenofibrate in patients with mixed hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2001, 154, 421-7.
53. Gonin J.M., Nguyen H., Gonin R., Sarna A., Michels A., Masri-Imad F., Bommareddy G., Chassaing C., Wainer I., Loya A., Cary D., Barker L.F., Assefi A., Greenspan R., Mahoney D., Wilcox C.S.: Controlled trials of very high dose folic acid, vitamins B12 and B6, intravenous folinic acid and serine for treatment of hyperhomocysteinemia in ESRD. *J. Nephrol.* 2003, 16, 522-34.
54. Graeber J.E., Slott J.H., Ulane R.E., Schulman J.D., Stuart M.J.: Effect of homocysteine and homocystine on platelet and vascular arachidonic acid metabolism. *Pediatr. Res.* 1982, 16, 490-3.
55. Graham I.M., Daly L.E., Refsum H.M., Robinson K., Brattstrom L.E., Ueland P.M., Palma-Reis R.J., Boers G.H., Sheahan R.G., Israelsson B., Uiterwaal C.S., Meleady R., McMaster D., Verhoef P., Witteman J., Rubba P., Bellet H., Wautrecht J.C., de Valk H.W., Sales Luis A.C., Parrot-Rouland F.M., Tan K.S., Higgins I., Garcon D., Andria G., et al.: Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997, 277, 1775-81.
56. Graham I.M., O'Callaghan P.: Vitamins, homocysteine and cardiovascular risk. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2002, 16, 383-9.
57. Grandtnerova B., Laca L., Gabor D., Gregova E., Koronyi S.: Folic acid supplementation and homocysteine level in renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2001, 33, 2049-50.
58. Green T.J., Houghton L.A., Donovan U., Gibson R.S., O'Connor D.L.: Oral contraceptives did not affect biochemical folate indexes and homocysteine concentrations in adolescent females. *J. Am. Diet Assoc.* 1998, 98, 49-55.

-
59. Hajjar K.A., Jacovina A.T.: Modulation of annexin II by homocysteine: implications for atherothrombosis. *J. Investig. Med.* 1998, 46, 364-9.
 60. Heinecke J.W., Kawamura M., Suzuki L., Chait A.: Oxidation of low density lipoprotein by thiols: superoxide-dependent and -independent mechanisms. *J. Lipid Res.* 1993, 34, 2051-61.
 61. Henning B.F., Riezler R., Tepel M., Langer K., Raidt H., Graefe U., Zidek W.: Evidence of altered homocysteine metabolism in chronic renal failure. *Nephron* 1999, 83, 314-22.
 62. Herbert V.: Vitamin B-12 and folic acid supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.* 1997, 66, 1479-80.
 63. Herman A., Manitius J., Rutkowski B., Łysiak-Szydlowska W.: Homocysteina w chorobach nerek. *Nephrol. Dial. Pol.* 2000, 4, 10-13.
 64. Herrmann W., Quast S., Ellgass A., Wolter K., Kiessig S.T., Molinari E., Riegel W.: An increased serum level of free Apo(a) in renal patients is more striking than that of Lp(a) and is influenced by homocysteine. *Nephron* 2000, 85, 41-9.
 65. Hjelmestaeth J., Hartmann A., Midtvedt K., Aakhus S., Stenstrom J., Morkrid L., Egeland T., Tordarson H., Fauchald P.: Metabolic cardiovascular syndrome after renal transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001, 16, 1047-52.
 66. Huh W., Kim B., Kim S.J., Kim Y.G., Kim D.J., Cho J.W., Oh H.Y.: Changes of fasting plasma total homocysteine in the early phase of renal transplantation. *Transplant. Proc.* 2000, 32, 2811-3.
 67. Ignatescu M.C., Fodiger M., Kletzmayer J., Bieglmayer C., Horl W.H., Sunder-Plassmann G.: Is there a role of cyclosporine A on total

- homocysteine export from human renal proximal tubular epithelial cells? *Kidney Int.* 2001, 59 (Suppl. 78), 258-61.
68. Ignatescu M.C., Kletzmayer J., Fodinger M., Bieglmayer C., Horl W.H., Sunder-Plassmann G.: Influence of mycophenolic acid and tacrolimus on homocysteine metabolism. *Kidney Int.* 2002, 61, 1894-8.
69. Ikeda U., Ikeda M., Minota S., Shimada K.: Homocysteine increases nitric oxide synthesis in cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. *Circulation* 1999, 99, 1230-5.
70. Jurewicz W.A.: Tacrolimus versus cyclosporin immunosuppression: long-term outcome in renal transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003, 18, 7-11.
71. Juskowa J., Bartłomiejczyk J., Paczek L., Rowinski W., Szmidt J., Foroniewicz B., Mucha K., Plominski Y.P.: Total homocysteine as a risk factor for vascular disease in renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2002, 34, 576-9.
72. Kalantar-Zadeh K., Block G., Humphreys M.H., Kopple J.D.: Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int.* 2003, 63, 793-808.
73. Kaletha K., Chodorowski Z., Sein-Anand J., Gazda M., Nagel-Starczynowska G.: Homocysteina jako czynnik rozwoju miażdżycy. *Przeg. Lek.* 2000, 57, 591-5.
74. Kanani P.M., Sinkey C.A., Browning R.L., Allaman M., Knapp H.R., Haynes W.G.: Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999, 100, 1161-8.
75. Kang S.S., Zhou J., Wong P.W., Kowalisyn J., Strokosch G.: Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of

- methylenetetrahydrofolate reductase. *Am. J. Hum. Genet.* 1988, 43, 414-21.
76. Kasiske B.L.: Cardiovascular disease after renal transplantation. *Semin. Nephrol.* 2000, 20, 176-87.
77. Kielstein J.T., Boger R.H., Bode-Boger S.M., Frolich J.C., Haller H., Ritz E., Fliser D.: Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002, 13, 170-6.
78. Langman L.J., Cole D.E.: Homocysteine. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1999, 36, 365-406.
79. Langman L.J., Cole D.E.: Homocysteine: cholesterol of the 90s? *Clin. Chim. Acta.* 1999, 286, 63-80.
80. Lares A.S., Gomez E., Alvarez V., Coto E., Baltar J., Alvarez-Grande J.: Influence of anticalcineurinic therapy in plasma homocysteine levels of renal transplant recipients: a prospective study. *Transplant. Proc.* 2003 35, 1739-41.
81. Leskinen Y., Lehtimäki T., Loimaala A., Huhtala H., Salenius J.P., Oja S.S., Saha H.: Homocysteine and carotid atherosclerosis in chronic renal failure - the confounding effect of renal function. *Atherosclerosis* 2004, 175, 315-23.
82. Lievers K.J., Kluijtmans L.A., Blom H.J.: Genetics of hyperhomocysteinaemia in cardiovascular disease. *Ann. Clin. Biochem.* 2003, 40, 46-59.
83. Lim P.S., Hung W.R., Wei Y.H.: Polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase gene: its impact on plasma homocysteine levels and carotid atherosclerosis in ESRD patients receiving hemodialysis. *Nephron* 2001, 87, 249-56.

-
84. Malinow M.R., Bostom A.G., Krauss R.M.: Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation* 1999, 99, 178-82.
 85. Manns B.J., Burgess E.D., Hyndman M.E., Parsons H.G., Schaefer J.P., Scott-Douglas N.W.: Hyperhomocysteinemia and the prevalence of atherosclerotic vascular disease in patients with end-stage renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 1999, 34, 669-77.
 86. Manrique J., Errasti P., Lavilla J., Rossich E., Hernandez A., Pujante D., Garcia-Fernandez N., Purroy A.: Treatment of hyperhomocysteinemia after renal transplantation. *Transplant. Proc.* 2003, 35, 1742-4.
 87. Marcucci R., Zanazzi M., Bertoni E., Rosati A., Fedi S., Lenti M., Prisco D., Castellani S., Abbate R., Salvadori M.: Vitamin supplementation reduces the progression of atherosclerosis in hyperhomocysteinemic renal-transplant recipients. *Transplantation* 2003, 15, 1551-5.
 88. Massy Z.A., Ceballos I., Chadeaux-Vekemens B., Nguyen-Khoa T., Descamps-Latscha B., Drueke T.B., Jungers P.: Homocyst(e)ine, oxidative stress, and endothelium function in uremic patients. *Kidney Int.* 2001, 59 (Suppl. 78), 243-5.
 - Massy Z.A., Chadeaux-Vekemens B., Chevalier A., Bader C.A., Drueke T.B., Legendre C., Lacour B., Kamoun P., Kreis H.: Hyperhomocysteinaemia: a significant risk factor for cardiovascular disease in renal transplant recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1994, 9, 1103-8.
 90. Massy Z.A.: Potential strategies to normalize the levels of

- homocysteine in chronic renal failure patients. *Kidney Int.* 2003, 63 (Suppl. 84), 134-6.
91. Mathis A.S., Dave N., Knipp G.T., Friedman G.S.: Drug-related dyslipidemia after renal transplantation. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2004, 15, 565-85.
92. McCully K.S.: Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am. J. Pathol.* 1969, 56, 111-28.
93. Merouani A., Rozen R., Clermont M.J., Genest J.: Renal function, homocysteine, and other plasma thiol concentrations during the postrenal transplant period. *Transplant. Proc.* 2002, 34, 1159-60.
94. Mezzano D., Pais E.O., Aranda E., Panes O., Downey P., Ortiz M., Tagle R., Gonzalez F., Quiroga T., Caceres M.S., Leighton F., Pereira J.: Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int.* 2001, 60, 1844-50.
95. Miltiadows G., Papakostas J., Chasiotis G., Seferiadis K., Elisaf M.: Statins and homocysteine. *Atherosclerosis* 2003, 166, 199-200.
96. Mor E., Helfmann L., Lustig S., Bar-Nathan N., Yussim A., Sela B.A.: Homocysteine levels among transplant recipients: effect of immunosuppressive protocols. *Transplant. Proc.* 2001, 33, 2945-6.
97. Mota C., Fonseca I., Santos M.J., Costa T., Faria M.S., Henriques A.C., Sarmiento A.M., Pereira E., Pereira M.: Homocysteine levels in pediatric renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2003, 35, 1093-5.
98. Nakanishi T., Ishigami Y., Otaki Y., Izumi M., Hiraoka K., Inoue T., Takamitsu Y.: Impairment of vascular responses to reactive

- hyperemia and nitric oxide in chronic renal failure. *Nephron* 2002, 92, 529-35.
99. Ono H., Sakamoto A., Eguchi T., Fujita N., Nomura S., Ueda H., Sakura N., Ueda K.: Plasma total homocysteine concentrations in epileptic patients taking anticonvulsants. *Metabolism* 1997, 46, 959-62.
100. Orłowski T.: *Przeszczepianie nerek*. Wydawnictwo Lekarskie 1995.
101. Ovuworie C.A., Fox E.R., Chow C.M., Pascual M., Shih V.E., Picard M.H., Tolkoff-Rubin N.E.: Vascular endothelial function in cyclosporine and tacrolimus treated renal transplant recipients. *Transplantation* 2001, 72, 1385-8.
102. Pannu H.S., Singh D., Sandhu J.S.: Lipid profile before and after renal transplantation--a longitudinal study. *Ren. Fail.* 2003, 25, 411-7.
103. Perna A.F., Ingrosso D., Castaldo P., Galletti P., De Santo N.G.: Homocysteine and transmethyations in uremia. *Kidney Int.* 2001, 59 (Suppl. 78), 230-3.
104. Perna A.F., Ingrosso D., Lombardi C., Acanfora F., Satta E., Cesare C.M., Violetti E., Romano M.M., De Santo N.G.: Possible mechanisms of homocysteine toxicity. *Kidney Int.* 2003, 63 (Suppl. 84), 137-40.
105. Perna A.F., Ingrosso D., Lombardi C., Cesare C.M., Acanfora F., Satta E., De Santo N.G.: Homocysteine in uremia. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 41, 123-6.
106. Poddar R., Sivasubramanian N., DiBello P.M., Robinson K., Jacobsen D.W.: Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic

- endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation* 2001, 103, 2717-23.
107. Quiroga I., Morris-Stiff G., Baboo R., Darby C.R., Lord R.H., Jurewicz W.A.: Differential homocysteine levels in renal transplant patients receiving neoral versus tacrolimus. *Transplant. Proc.* 2001, 33, 1209-10.
108. Retterstol L., Paus B., Bohn M., Bakken A., Erikssen J., Malinow M.R., Berg K.: Plasma total homocysteine levels and prognosis in patients with previous premature myocardial infarction: a 10-year follow-up study. *J. Intern. Med.* 2003, 253, 284-92.
109. Riddell L.J., Chisholm A., Williams S., Mann J.I.: Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71, 1448-54.
110. Ridker P.M., Shih J., Cook T.J., Clearfield M., Downs J.R., Pradhan A.D., Weis S.E., Gotto A.M. Jr.: Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS) Investigators. Plasma homocysteine concentration, statin therapy, and the risk of first acute coronary events. *Circulation* 2002, 105, 1776-9.
111. Rodgers G.M., Kane W.H.: Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J. Clin. Invest.* 1986, 77, 1909-16.
112. Ross R.: Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am. Heart J.* 1999, 138, 419-20.
113. Roubenoff R., Dellaripa P., Nadeau M.R., Abad L.W., Muldoon B.A., Selhub J., Rosenberg I.H.: Abnormal homocysteine metabolism in rheumatoid arthritis. *Arth. Rheum.* 1997, 40, 718-22.

-
114. Savaj S., Ghorbani G., Ghods A.J.: Hyperhomocysteinemia in renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2001, 33, 2701.
115. Savaj S., Rezakhani S., Porooshani F., Ghods A.J.: Effect of folic acid therapy on serum homocysteine level in renal transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2002, 34, 2419.
116. Schlaich M.P., John S., Jacobi J., Lackner K.J., Schmieder R.E.: Mildly elevated homocysteine concentrations impair endothelium dependent vasodilation in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis* 2000, 153, 383-9.
117. Selhub J.: Homocysteine metabolism. *Ann. Rev. Nutr.* 1999, 19, 217-46.
118. Serafinowicz A., Kukula K., Cieciora T., Shaibani B., Baczkowska T., Soin J., Sadowska A., Nowacka-Cieciora E., Lewandowska D., Rell K., Durlik M., Lao M.: Homocysteine and lipid peroxidation products: important atherosclerosis risk factors in renal allograft recipients? *Transplant. Proc.* 2000, 32, 1367-8.
119. Smilde T.J., van den Bergmotel F.W., Boers G.H., Wollersheim H., de Boo T., van Langen H., Stalenhoef A.F.: Carotid and femoral artery wall thickness and stiffness in patients at risk for cardiovascular disease, with special emphasis on hyperhomocysteinemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998, 18, 1958-63.
120. Stamler J.S., Osborne J.A., Jaraki O., Rabbani L.E., Mullins M., Singel D., Loscalzo J.: Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J. Clin. Invest.* 1993, 91, 308-18.

-
121. Stein G., Muller A., Busch M., Fleck C., Sperschneider H.: Homocysteine, its metabolites, and B-group vitamins in renal transplant patients. *Kidney Int.* 2001, 59 (Suppl. 78), 262-5.
 122. Stein J.H., McBride P.E.: Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease: pathophysiology, screening, and treatment. *Arch. Intern. Med.* 1998, 158, 1301-6.
 123. Stuhlinger M.C., Oka R.K., Graf E.E., Schmolzer I., Upson B.M., Kapoor O., Szuba A., Malinow M.R., Wascher T.C., Pachinger O., Cooke J.P.: Endothelial dysfunction induced by hyperhomocysteinemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2003, 108, 933-8.
 124. Stuhlinger M.C., Tsao P.S., Her J.H., Kimoto M., Balint R.F., Cooke J.P.: Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001, 104, 2569-75.
 125. Suliman M.E., Lindholm B., Barany P., Bergstrom J.: Hyperhomocysteinemia in chronic renal failure patients: relation to nutritional status and cardiovascular disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2001, 39, 734-8.
 126. Suliman M.E., Qureshi A.R., Barany P., Stenvinkel P., Filho J.C., Anderstam B., Heimbürger O., Lindholm B., Bergstrom J.: Hyperhomocysteinemia, nutritional status, and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2000, 57, 1727-35.
 127. Suliman M.E., Stenvinkel P., Barany P., Heimbürger O., Anderstam B., Lindholm B.: Hyperhomocysteinemia and its relationship to cardiovascular disease in ESRD: influence of hypoalbuminemia, malnutrition, inflammation, and diabetes mellitus. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 41, 89-95.

-
128. Sunder-Plassmann G., Fodinger M., Buchmayer H., Papagiannopoulos M., Wojcik J., Kletzmayer J., Enzenberger B., Janata O., Winkelmayer W.C., Paul G., Auinger M., Barnas U., Horl W.H.: Effect of high dose folic acid therapy on hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients: results of the Vienna multicenter study. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000, 11, 1106-16.
 129. Sunder-Plassmann G., Fodinger M.: Genetic determinants of the homocysteine level. *Kidney Int.* 2003, 63 (Suppl. 84), 141-4.
 130. Suormala T., Gamse G., Fowler B.: 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) assay in the forward direction: residual activity in MTHFR deficiency. *Clin. Chem.* 2002, 48, 835-43.
 131. Suwelack B., Gerhardt U., Witta J., Hohage H.: Total serum homocysteine does not influence carotid intimal media thickness. *Transplant. Proc.* 2001, 33, 2381-3.
 132. Suwelack B., Gerhardt U., Witta J., Rahn K.H., Hohage H.: Effect of homocysteine on carotid intima-media thickness after renal transplantation. *Clin. Transplant.* 2000, 14, 555-60.
 133. Syvanne M., Whittall R.A., Turpeinen U., Nieminen M.S., Frick M.H., Kesaniemi Y.A., Pasternack A., Humphries S.E., Taskinen M.R.: Serum homocysteine concentrations, gemfibrozil treatment, and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2004, 172, 267-72.
 134. Tamura T., Johnston K.E., Bergman S.M.: Homocysteine and folate concentrations in blood from patients treated with hemodialysis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1996, 7, 2414-8.

-
135. Teplan V., Schuck O., Stolova M., Vitko S.: Obesity and hyperhomocysteinaemia after kidney transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003, 18, 71-3.
 136. Ubbink J.B., Becker P.J., Delport R., Bester M., Riezler R., Vermaak W.J.: Variability of post-methionine load plasma homocysteine assays. *Clin. Chim. Acta.* 2003, 330, 111-9.
 137. UKPDS: Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 1998, 352, 854-65.
 138. van Guldener C., Kulik W., Berger R., Dijkstra D.A., Jakobs C, Reijngoud D.J., Donker A.J., Stehouwer C.D., De Meer K.: Homocysteine and methionine metabolism in ESRD: A stable isotope study. *Kidney Int.* 1999, 56, 1064-71.
 139. van Guldener C., Stehouwer C.D.: Homocysteine metabolism in renal disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2003, 41, 1412-7.
 140. Venn B.J., Green T.J., Moser R., Mann J.I.: Comparison of the effect of low-dose supplementation with L-5-methyltetrahydrofolate or folic acid on plasma homocysteine: a randomized placebo-controlled study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 77, 658-62.
 141. Ventura P., Panini R., Pasini M.C., Scarpetta G., Salvioli G.: N-Acetyl-cysteine reduces homocysteine plasma levels after single intravenous administration by increasing thiols urinary excretion. *Pharmacol. Res.* 1999, 40, 345-50.
 142. Vermeulen E.G., Rauwerda J.A., van den Berg M., de Jong S.C., Schalkwijk C., Twisk J.W., Stehouwer C.D.: Homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 lowers urinary

- albumin excretion but not plasma markers of endothelial function or C-reactive protein: further analysis of secondary end-points of a randomized clinical trial. *Eur. J. Clin. Invest.* 2003, 33, 209-15.
143. von Eckardstein A., Malinow M.R., Upson B., Heinrich J., Schulte H., Schonfeld R., Kohler E., Assmann G.: Effects of age, lipoproteins, and hemostatic parameters on the role of homocysteinemia as a cardiovascular risk factor in men. *Arterioscler. Thromb.* 1994, 14, 460-4.
144. Wald D.S., Law M., Morris J.K.: Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *Brit. Med. J.* 2002, 325, 1202-6.
145. Wang X.L., Duarte N., Cai H., Adachi T., Sim A.S., Cranney G., Wilcken D.E.: Relationship between total plasma homocysteine, polymorphisms of homocysteine metabolism related enzymes, risk factors and coronary artery disease in the Australian hospital-based population. *Atherosclerosis* 1999, 146, 133-40.
146. Weiss N., Keller C., Hoffmann U., Loscalzo J.: Endothelial dysfunction and atherothrombosis in mild hyperhomocysteinemia. *Vasc. Med.* 2002, 7, 227-39.
147. Weiss N., Zhang Y.Y., Heydrick S., Bierl C., Loscalzo J.: Overexpression of cellular glutathione peroxidase rescues homocysteine-induced endothelial dysfunction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 12503-8.
148. Wouters M.G., Moorrees M.T., van der Mooren M.J., Blom H.J., Boers G.H., Schellekens L.A., Thomas C.M., Eskes T.K.: Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur. J. Clin. Invest.* 1995, 25, 801-5.

-
149. Wrone E.M., Zehnder J.L., Hornberger J.M., McCann L.M., Coplon N.S., Fortmann S.P.: An MTHFR variant, homocysteine, and cardiovascular comorbidity in renal disease. *Kidney Int.* 2001, 60, 1106-13.
150. Wulffele M.G., Kooy A., Lehert P., Bets D., Ogterop J.C., Borger van der Burg B., Donker A.J., Stehouwer C.D.: Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B12 in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial. *J. Intern. Med.* 2003, 254, 455-63.
151. Yamamoto M., Hara H., Adachi T.: Effects of homocysteine on the binding of extracellular-superoxide dismutase to the endothelial cell surface. *FEBS Lett.* 2000, 486, 159-62.