

Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego
Wydział Lekarski

Rozprawa doktorska

**Stężenie homocysteiny a wybrane wskaźniki rozwoju
miażdżycy oraz odległa chorobowość i śmiertelność u chorych
leczonych powtarzanymi hemodializami**

Lek. med. Grzegorz Chmiel

Promotor: prof. dr hab. med. Władysław Sułowicz

Kraków 2011

***Składam serdeczne podziękowania
Mojemu Mistrzowi i Nauczycielowi
Panu Profesorowi
Władysławowi Sułowiczowi
za wyrozumiałość, życzliwość i pomoc
w trakcie pisania niniejszej pracy***

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów stosowanych w niniejszej pracy	4
1. WSTĘP	6
1.1 Czynniki miażdżycorodne u chorych hemodializowanych	6
1.2 Metabolizm homocysteiny	8
1.3 Przyczyny hiperhomocysteinemii	11
1.4 Patomechanizmy działania homocysteiny	14
1.5 Skutki hiperhomocysteinemii	17
1.6 Czynniki obniżające stężenie homocysteiny	17
1.7 Hiperhomocysteinemia u chorych hemodializowanych	19
2. CEL PRACY	22
3. MATERIAŁ I METODYKA	23
3.1 Grupa badana. Kryteria doboru grup pacjentów	23
3.2 Protokół badawczy	26
4. WYNIKI	30
4.1 Parametry morfologii krwi obwodowej	30
4.3 Stężenia sodu, potasu i glukozy	38
4.3 Gospodarka wapniowo-fosforanowa	41
4.4 Gospodarka żelazowa	45
4.5 Stężenia białka całkowitego i albuminy	49
4.6 Parametry gospodarki lipidowej	52
4.7 Stężenie homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B ₁₂	59
4.8 Stężenie mocznika, kreatyniny i kwasu moczowego	73
4.9 Badania echokardiograficzne oraz ABI i IMT	76
4.10 Analiza korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wybranymi parametrami w poszczególnych badanych grupach	85
4.11 Analiza śmiertelności i chorobowości pacjentów podczas 96 miesięcy obserwacji	93
4.12 Czynniki wpływające na odległą śmiertelność i chorobowość ogólną i sercowo- naczyniową w badanej grupie pacjentów	106
5. DYSKUSJA	111
6. WNIOSKI	123
7. STRESZCZENIE	124
8. PIŚMIENNICTWO	128

Wykaz skrótów stosowanych w niniejszej pracy:

ABI - wskaźnik kostkowo-ramienny
ADMA - asymetryczna dimetyloarginina
BHMT - metylotransferaza betainowo-homocysteinowa
BMI - wskaźnik masy ciała
CBS - beta synteza cystationiny
CTS - gamma cystationaza
EF - frakcja wyrzutowa.
GSH - glutation
GSSG - glutation utlenowany
HCLT - tiolakton homocysteiny
Hcy - homocysteina
HDL - lipoproteiny o wysokiej gęstości
HHcy - hiperhomocysteinemia
H₂O₂ - nadtlenek wodoru
IMT - grubość błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych wspólnych
IVS - średnia grubość przegrody międzykomorowej
LDL - lipoproteiny niskiej gęstości
LVEDD - wymiar końcowo-rozkurczowy lewej komory
LVMI - wskaźnik masy lewej komory
MAT - adenozylotransferaza metiononowa
MS - synteza metioninowa
MTHFR - reduktaza 5,10 metylenotetrahydrofolianowa
MCP-1 - białko chemotaktyczne dla monocytów
nPCR - znormalizowany współczynnik katabolizmu białka
N₂O - tlenek azotu
oxLDL - oksydowane (utlenione) LDL
PG - peroksydaza glutationowa
PTH - parathormon
PWD - grubość tylnej ściany lewej komory
rHuEPO - ludzka rekombinowana erytropoetyna
SAH - S-adenozylhomocysteina
SAM - adenozylometionina

SNOHcy - S-nitrozohomocysteina

TAC - uśrednione stężenie mocznika w czasie

TIBC - całkowita zdolność wiązania żelaza

THF - tetrahydrofolian

TNF- α - czynnik martwicy nowotworów alfa

TSAT - saturacja transferryny

VCAM-1 - cząsteczka adhezji komórek śródbłonna

1. WSTĘP

1.1 Czynniki miażdżycorodne u chorych hemodializowanych

Choroby sercowo-naczyniowe stanowią bardzo częste powikłanie schyłkowej niewydolności nerek, a wśród chorych leczonych powtarzanymi hemodializami, są główną przyczyną zgonów, co jest także następstwem szybszego niż w zdrowej populacji rozwoju miażdżycy. Ryzyko zgonu w grupie chorych dializowanych jest 10-krotnie wyższe niż w ogólnej populacji a śmiertelność z powodu powikłań sercowo-naczyniowych (zawału serca, nagłej śmierci sercowej, niewydolności krążenia lub udaru mózgu) jest 10-20 razy większa. Jednocześnie powikłania sercowo-naczyniowe są przyczyną ponad 50% zgonów wśród chorych leczonych dializami [126]. W Polsce śmiertelność w tej grupie chorych kształtuje się na poziomie 10-15% rocznie a wskaźnik zgonów z powodu chorób sercowo-naczyniowych wynosi 9% na rok. Te zastraszające dane stały się podstawą intensywnych badań służących potwierdzeniu związku pomiędzy wysoką śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych a przyspieszonym rozwojem miażdżycy u chorych leczonych nerkozastępczo i poszukiwaniu czynników najbardziej miażdżycorodnych.

U chorych z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami występuje szereg czynników odpowiedzialnych za przyspieszony rozwój miażdżycy. Część z nich (tzw. czynniki klasyczne) jest odpowiedzialna za rozwój miażdżycy również w populacji ogólnej. Są to: obciążenie genetyczne, wiek, otyłość, cukrzyca, palenie tytoniu, brak aktywności fizycznej. Inne, takie jak: zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej, nadciśnienie tętnicze, podwyższone stężenie homocysteiny, fibrynogenu, białka CRP i innych wskaźników stanu zapalnego są charakterystyczne dla chorych z przewlekłą niewydolnością nerek [120, 121].

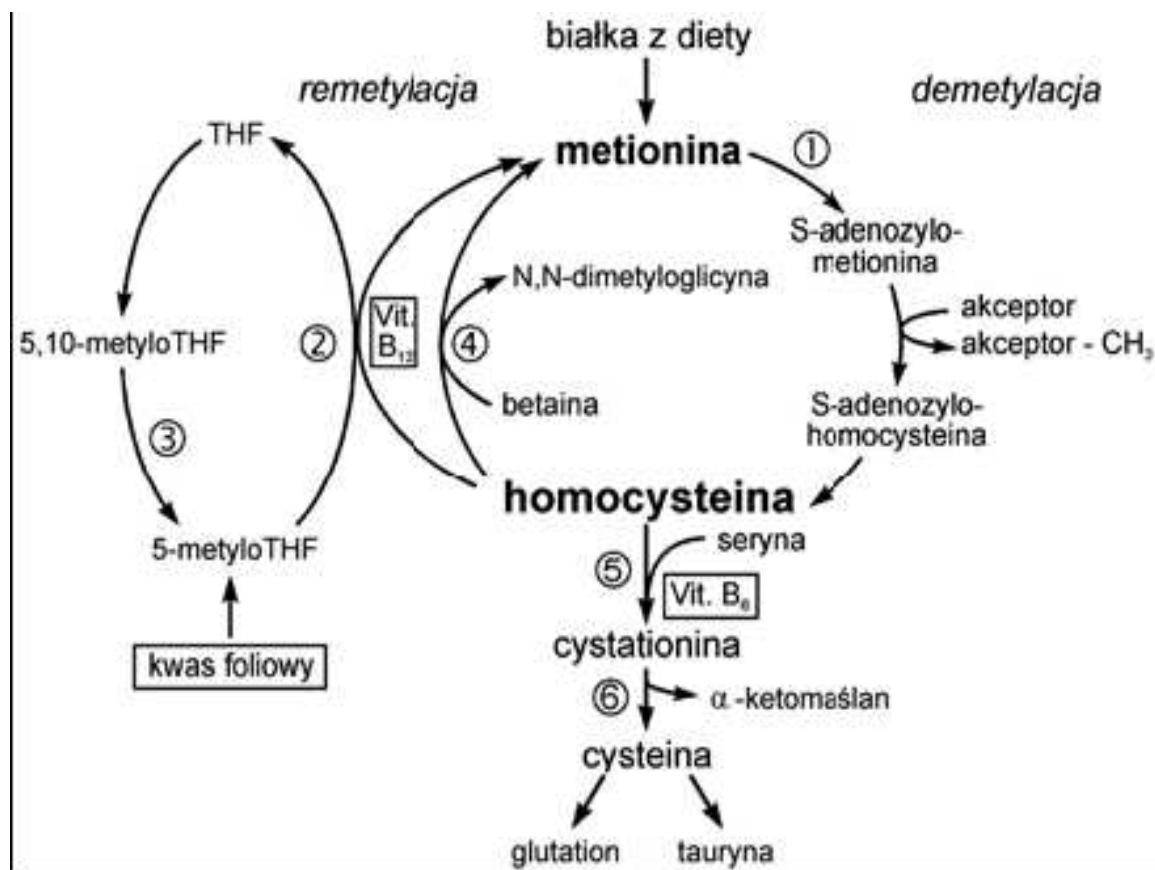
W 1974 r. Lindner i wsp. wysunęli hipotezę, że niewydolność nerek predysponuje do przyspieszonego rozwoju miażdżycy [91] a późniejsze badania epidemiologiczne i kliniczne wykazały, że uszkodzenie dużych tętnic jest główną przyczyną wysokiej zachorowalności i śmiertelności chorych z przewlekłą niewydolnością nerek, jednak mechanizm tego zjawiska w dalszym ciągu nie został do końca wyjaśniony [94]. Większość chorych z niewydolnością nerek jeszcze w okresie przeddializacyjnym wykazuje w różnym stopniu nasilenia cechy uszkodzenia mięśnia sercowego i naczyń, które pogłębiają się podczas leczenia dializami. Na uszkodzenie to wpływają między innymi czynniki hemodynamiczne (nadciśnienie tętnicze, niedokrwistość, hiperwoleミア, stwardnienie naczyń), czynniki metaboliczne (mocznica, niedożywienie, nadczynność przytarczyc, zaburzenia lipidowe, nietolerancja glukozy, stres oksydacyjny) oraz patogeny zakaźne i palenie tytoniu [115]. Czynniki te inicjują uszkodzenie śródbłonna naczyniowego i zapoczątkowują rozwój zmian miażdżycowych [129, 155]. Wpływają one również niekorzystnie na mięsień sercowy oraz naczynia powodując przerost i/lub poszerzenie lewej komory oraz chorobę niedokrwinną serca [86, 35]. Wykazany w wielu badaniach związek i współzależność tych czynników z powikłaniami sercowo-naczyniowymi u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek nie budzi obecnie żadnych wątpliwości [54, 94, 98, 120, 159]. U pacjentów leczonych nerkozastępczo, w przeciwieństwie do populacji ogólnej często stwierdza się skojarzone występowanie wielu opisanych powyżej czynników ryzyka rozwoju miażdżycy. W ostatnich latach coraz większe znaczenie przypisywano homocysteinie (Hcy), uważanej za niezależny czynnik ryzyka miażdżycy [27, 39, 56], który przyspiesza jej rozwój również u chorych z niewydolnością nerek [22, 35, 94, 117].

1.2 Metabolizm homocysteiny

Homocysteina odkryta w 1932 roku przez Butza i Du Vigneauda jest aminokwasem siarkowym, który nie wchodzi w skład białek. Trzydzieści lat później Carson i Neil wykryli duże jej ilości w moczu rodzeństwa z opóźnionym rozwojem umysłowym. Jej obecność w osoczu po raz pierwszy wykryto w latach 70-tych XX wieku [56]. Kilka lat potem opublikowano pierwsze badania kliniczne, wykazujące związek pomiędzy umiarkowanym podwyższeniem stężenia homocysteiny w osoczu a zwiększonym ryzykiem pojawienia się miażdżycy. W 1969 r. McCully – analizując wyniki autopsji dzieci, które zmarły z powodu różnych klinicznych form homocystynurii – jako pierwszy wykazał istnienie związku między znaczną hiperhomocysteinemią a wcześniej rozwijającym się procesem miażdżycowym [106]. Dane z piśmiennictwa wskazują, że u około 50% nieleczonych osób z homocystynurią występuje incydent zakrzepowo–zatorowy, a 20% z nich umiera przed 30 rokiem życia [49].

Homocysteina występuje w osoczu w kilku formach (głównie disiarczków homo- i heterogennych). Wszystkie jej postacie obecne w osoczu stanowią łącznie pulę homocysteiny, określaną terminem homocysteina całkowita. Początkowo w ramach diagnostyki klinicznej rozróżniano tylko homocystynurię – skrajne zwiększenie stężeń homocysteiny w osoczu i moczu spowodowane defektami metabolicznymi. Homocysteina powstaje we wszystkich komórkach organizmu człowieka, w toku fizjologicznych przemian metioniny – egzogenego aminokwasu siarkowego. Dostarczana z pożywieniem metionina, w reakcji katalizowanej przez adenozylotransferazę metioninową (MAT) ulega przemianie do S-adenozylometioniny (SAM), przez co jej grupa metylowa ulega aktywacji. W wyniku demetylacji SAM powstaje S-adenozylhomocysteina (SAH), dalej hydrolizowana do homocysteiny. Homocysteina zostaje uwolniona z komórek do osocza, gdzie krąży głównie w postaci utlenionej. W większości (około 80%) jest związana z białkami, pozostałe 20% występuje głównie w

postaci homocystyny lub disiarczzków homocysteiny z innymi tiolami np. cysteiną [29, 44, 56, 121].



Rycina 1. Przemiany homocysteiny (wg G. Bednarek-Tupikowskiej, K. Tupikowskiego) [17]. 1 – adenozylotransferaza metioninowa, 2 – syntaza metioninowa, 3 – reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianowa, 4 – metylotransferaza betainowohomocysteinowa, 5 – β -syntaza cystationiny, 6 – γ -cystationaza.

Metabolizm homocysteiny obejmuje głównie dwa procesy: transsulfurację i metylację [29, 56]. Możliwa jest także jej metylacja za pomocą betainy oraz proces, którego produktem jest wysoce aterogenny kwas homocysteinowy. Remetylacja homocysteiny jest procesem odwracalnym, który ulega nasileniu w stanach niedoboru metioniny. Reakcja ta zachodzi z udziałem syntazy metioninowej (MS), której kofaktorem jest witamina B₁₂ (metylokobalamina). Donorem grupy metylowej jest 5-metylotetrahydrofolian (pochodna kwasu foliowego), powstający w reakcji katalizowanej przez reduktazę 5,10-

metylenotetrahydrofolianową (MTHFR). Enzym ten pośrednio (aczkolwiek silnie) wpływa na proces remetylacji. Inna droga remetylacji zachodzi z udziałem metylotransferazy betainowo-homocysteinowej (BHMT), wykorzystującej betainę jako dawcę grupy metylowej. Produktami reakcji są metionina i N,N-dimetyloglicyna [1]. Transsulfuracja jest procesem nieodwracalnym, który w sytuacji nadmiernej podaży metioniny ulega nasileniu, natomiast w normalnych warunkach metabolizuje około 50% homocysteiny. W szlaku tym homocysteina łączy się z seryną w reakcji katalizowanej przez β -syntazę cystationiny (CBS), której koenzymem jest aktywna postać witaminy B₆ – fosforan pirydoksalu. Powstała cystationina rozpada się, przy udziale γ -cystationazy (CTS), z wytworzeniem cysteiny i α -ketomaślanu. Dalej, cysteina bierze udział w syntezie glutationu lub jest rozkładana do tauryny. Wartości prawidłowe stężenia homocysteiny we krwi mierzone na czczo mieszczą się w zakresie 5-15 $\mu\text{mol/l}$. Wykazano jednak, że już stężenia rzędu 10-13 $\mu\text{mol/l}$ wywierają szkodliwe działanie na śródbłonek naczyń. W świetle rekomendacji ekspertów zakres referencyjny stężeń powinien być ustalany osobno dla poszczególnych populacji z uwzględnieniem: wieku (stężenie wzrasta z wiekiem), płci (po okresie dojrzewania stężenie aminokwasu jest wyższe u mężczyzn o około 2 $\mu\text{mol/l}$), ciąży, czynników etnicznych, rodzaju diety, stylu życia i występujących schorzeń. Wzrost stężenia homocysteiny we krwi określany jako hiperhomocysteinemia, może przybierać postać:

- a) łagodną – ze stężeniem homocysteiny wynoszącym od 15 do 30 $\mu\text{mol/l}$,
- b) umiarkowaną – ze stężeniem homocysteiny wynoszącym od 31 do 100 $\mu\text{mol/l}$,
- c) ciężką – ze stężeniem homocysteiny powyżej 100 $\mu\text{mol/l}$ [10, 29, 44, 56, 70, 123, 165].

1.3 Przyczyny hiperhomocysteinemii

Hiperhomocysteinemię mogą spowodować:

1) Genetycznie uwarunkowany niedobór lub brak enzymów uczestniczących w metabolizmie homocysteiny – hiperhomocysteinemia pierwotna

Najczęstszą przyczyną ciężkiej hiperhomocysteinemii jest niedobór enzymu – β -syntazy cystationiny (CBS). Homozygotyczny niedobór CBS (homocystynuria wrodzona) charakteryzuje się bardzo wysokim stężeniem Hcy w osoczu (300-500 $\mu\text{mol/l}$) i w moczu. Choroba ta występuje rzadko (1/200-400 tys. narodzin). Częściej stwierdza się mutacje genu CBS o charakterze heterozygotycznym (1-2% populacji) wywołujące umiarkowaną postać choroby. Większość tych mutacji występuje rodzinnie lub dotyczy określonych społeczności. Część chorych dobrze reaguje na leczenie pirydoksyną. Najczęstszą genetycznie uwarunkowaną przyczyną umiarkowanej hiperhomocysteinemii jest polimorfizm genu kodującego MTHFR. Jest to mutacja punktowa, polegająca na zamianie cytozyny na tyminę w pozycji 677 (C677T), prowadząca do zamiany alaniny na walinę. Rokowania u nosicieli tej mutacji są gorsze, niż w przypadku mutacji genu CBS z powodu braku skutecznej terapii [49]. Natomiast inni autorzy są zdania, że suplementacja kwasem foliowym zmniejsza stężenie homocysteiny u większości tych chorych [10, 24, 73].

2) Nabyte niedobory koenzymów przemian homocysteiny

Jedynym źródłem homocysteiny jest metionina, pochodząca głównie z białek zwierzęcych, których nadmierne spożywanie wywołuje tymczasowy wzrost ilości homocysteiny we krwi. Nie istnieją jednak przekonujące dowody na to, że zwiększone spożycie metioniny powoduje przewlekłe podwyższenie poziomu homocysteiny u osób z prawidłową podażą folianów, witamin B₁₂ i B₆. Częstą przyczyną wzrostu stężenia homocysteiny jest niedobór tych witamin spowodowany nieprawidłową lub wegetariańską

dietą. Dodatkowo, nowoczesna obróbka żywności prowadzi do rozkładu znacznej części (od 30 do 55%) niezbędnych witamin [2].

3) Inne choroby – hiperhomocysteinemia wtórna

Stężenie homocysteiny może ulec podwyższeniu w trakcie wielu chorób, takich jak: niewydolność nerek, cukrzyca, niedoczynność tarczycy, niewydolność wątroby, łuszczyca, białaczka limfoblastyczna, choroba Cushinga. W przewlekłej niewydolności nerek stężenie homocysteiny przekracza wartości prawidłowe, gdy przesączanie kłębuszkowe jest mniejsze niż 70 ml/min. Hiperhomocysteinemię stwierdza się aż u 85-95% chorych z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych hemodializami i jest ona niewątpliwie najczęściej występującym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy w tej grupie chorych [10, 35, 123]. Wśród przyczyn hiperhomocysteinemii u chorych z mocnicą wymienia się upośledzone wydalanie homocysteiny przez nerki, zmniejszony jej metabolizm nerkowy, oraz zahamowanie przez toksyny mocznicowe enzymów biorących udział w metabolizmie homocysteiny. Do niedawna uważano, że u chorych z niewydolnością nerek upośledzone wydalanie homocysteiny przez nerki jest najważniejszą przyczyną hiperhomocysteinemii. Okazało się jednak, że jest to przyczyna mało istotna. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że stężenie wolnej, niezwiązanej z białkiem homocysteiny w surowicy waha się od 0,1 – 3,0 $\mu\text{mol/l}$ a wydalanie dobowe wynosi około 6 $\mu\text{mol/dobę}$. Ponadto stwierdzono, że ustrój może metabolizować około 6,8 $\mu\text{mol/kg/godz.}$ homocysteiny i tylko nieco mniej w niewydolności nerek [50]. Tak więc wydaje się, że kumulacji homocysteiny chorych z niewydolnością nerek zapobiega klirens metaboliczny ustroju. Wg Perny i wsp. najbardziej istotnym jest supresyjny wpływ toksyn mocznicowych na aktywność enzymów biorących udział w metabolizmie homocysteiny [117].

Zarówno w przebiegu cukrzycy insulinozależnej typu 1, jak i insulinoniezależnej typu 2 może pojawić się hiperhomocysteinemia. Stężenia homocysteiny wzrastają u chorych z długo

trwającą cukrzycą typu 2. Jej podwyższone stężenie wpływa na pojawienie się powikłań cukrzycowych, nasilając makro- i mikroangiopatie.

4) Leki

Lekami indukującymi hiperhomocysteinemię są:

- metotreksat, który hamuje reduktazę dihydrofolianową,
- fenytoina, karbamazepina i kwas walproinowy, które wpływają na metabolizm kwasu foliowego,
- podtlenek azotu (N_2O), który nieodwracalnie dezaktywuje syntazę metioninową,
- cholestyramina zmniejszająca wchłanianie witaminy B_{12} i folianów,
- środki antykoncepcyjne zawierające estrogen, które obniżają stężenie witaminy B_{12} i folianów,
- leki tiolowe (D-penicyloamina, N-acetylocysteina, mesna) podnoszące stężenie zredukowanej homocysteiny,
- niacyna, izoniazyd i teofilina, które hamują metabolizm witaminy B_6 ,
- L-dopa, która może odgrywać rolę w metabolizmie homocysteiny oraz wpływać na jej stężenie,
- fenofibrat, bezafibrat i cyklosporyna, które upośledzają funkcję nerek,
- metformina wpływająca na metabolizm witaminy B_{12} .

5) Używki

Nadmierne spożywanie alkoholu dwukrotnie podwyższa stężenie homocysteiny we krwi. Alkohol powodując zaburzenia żołądkowo-jelitowe, upośledza wchłanianie witamin oraz hamuje syntazę metioninową. Zawarte w dymie tytoniowym tlenek i disiarczki węgla dezaktywują witaminę B_6 w wątrobie, co zmniejsza katabolizm homocysteiny. Wypalenie jednego papierosa dziennie podnosi jej stężenie (około 1% u kobiet i 0,5% u mężczyzn). Picie kawy, nawet w umiarkowanej ilości, powoduje wzrost stężenia homocysteiny. Wypicie ponad

8 filiżanek dziennie podwyższa stężenie homocysteiny całkowitej (o około 28% u kobiet i 19% u mężczyzn).

1.4 Patomechanizmy działania homocysteiny

Związek pomiędzy podwyższonym stężeniem homocysteiny a chorobą niedokrwienną serca, miażdżycą naczyń obwodowych oraz powikłaniami mózgowymi stwierdzono w wielu badaniach [30, 39, 63, 64, 77, 101, 106, 135, 143, 151].

Pomimo związku hiperhomocysteinemii z miażdżycowo-zakrzepowymi chorobami naczyń mechanizm działania homocysteiny na naczynia nadal nie jest do końca wyjaśniony. Sugeruje się, że homocysteina ogranicza dostępność biologiczną tlenu azotu, zwiększa stres oksydacyjny, stymuluje proliferację komórek mięśni gładkich, zmienia właściwości elastyczne ściany naczyniowej, zwiększa akumulację płytek w miejscu uszkodzenia śródbłonna oraz tworzenie się zakrzepów, co prowadzić może do zwężenia światła naczyń. Bezpośredni wpływ homocysteiny na komórki śródbłonna polega na hamowaniu metylacji białka p21ras, czego konsekwencją jest zmniejszenie syntezy DNA oraz ograniczenie wzrostu i odbudowy uszkodzonej ściany naczynia, co może wpływać na powstawanie uszkodzeń miażdżycowych. Możliwe jest także hamowanie wzrostu komórek śródbłonna w następstwie hipometylacji laminy B i fosfatazy białkowej 2A. Powstająca w trakcie demetylacji homocysteiny S-adenozylhomocysteina (SAH), hamuje wydzielanie adenozyne z tkanek oraz obniża jej biodostępność, co powoduje zmniejszenie cytoprotekcyjnego działania adenozyne, które polega m.in. na hamowaniu wytwarzania angiotensyny II i noradrenaliny [49, 56, 110] .

Przewlekłe podwyższone stężenie homocysteiny prowadzi do uszkodzenia i dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, ograniczając jego zdolność do wytwarzania tlenu azotu (NO) – silnego wazodilatatora [14]. Tlenek azotu (NO) ma zdolność do neutralizacji szkodliwego

działania homocysteiny poprzez tworzenie związku pozbawionego właściwości utleniających – S-nitrozohomocysteiny (SNOHcy), która działa wazodilacyjnie i antyagregacyjnie. Jednak ten mechanizm ochronny staje się nieefektywny, ponieważ powstające przy udziale homocysteiny wolne rodniki inaktywują NO. Obniżają one także poziom tetrahydrobiopteryny – ważnego kofaktora syntazy NO. Dodatkowo homocysteina zmniejsza syntezę NO poprzez zużywanie tetrahydrofolianu (THF), prekursora tetrahydrobiopteryny, we własnym metabolizmie oraz stymuluje powstawanie asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA), która jest inhibitorem syntazy NO [16]. Krótkotrwałe oddziaływanie homocysteiny wywołuje wzrost ilości NO, natomiast długotrwałe – ograniczenie jego biodostępności w ścianie naczyń, co może przyczyniać się do rozwoju nadciśnienia tętniczego. Homocysteina wykazuje właściwości aterogenne poprzez działanie tiolaktonu homocysteiny (HCTL). Tiolakton homocysteiny jest bezwodnikiem tego aminokwasu, powstającym przy udziale syntetazy metionilo-t-RNA. Charakteryzuje się wysoką reaktywnością w stosunku do białek wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych, powodując N-homocysteinyłację reszt lizyny. Zmodyfikowane białko łatwo ulega polimeryzacji i denaturacji. N-homocysteinyłowanie protein działa aterogennie na drodze dwóch mechanizmów:

- a) rozpoznawania zmodyfikowanych protein na powierzchni komórek śródbłónka przez makrofagi i ich fagocytozę, co prowadzi do uszkodzenia ściany naczynia,
- b) przyciągania przez zmienione komórki śródbłónka przeciwciał i tworzenie kompleksów antygen - przeciwciało. Te kompleksy immunologiczne są wiązane przez receptory FC makrofagów, a następnie niszczone.

W obu przypadkach przewaga długotrwałych uszkodzeń nad możliwością ich reperacji sprzyja powstawaniu uszkodzeń miażdżycowych. W badaniach *in vivo* wykazano, że homocysteina indukuje stres oksydacyjny, w którym główną rolę odgrywa nadtlenek wodoru. W procesie autooksydacji grup tiolowych homocysteiny powstają toksyczne, reaktywne

formy tlenu, takie jak: anion ponadtlenkowy, rodnik hydroksylowy oraz nadttlenek wodoru (H_2O_2). H_2O_2 w obecnořci jonów metali przejřciowych tworzy wysoce reaktywne rodniki hydroksylowe zdolne do zapoczątkowania peroksydacji lipidów. Efekt ten moŹe być hamowany przez desferal (řrodek chelatujący jony Źelaza). Wolnorodnikowe działanie homocysteiny zwiąŹzane jest takŹe z nasileniem toksycznořci reaktywnych form tlenu. Ten drugi mechanizm polega na zmniejszeniu aktywnořci peroksydazy glutationowej (PG), enzymu antyoksydacyjnego, który przy udziale glutationu redukuje nadttlenki lipidów i H_2O_2 . Homocysteina powoduje obniŹenie potencjału redoks, wyrażonego stosunkiem ilořci glutationu zredukowanego do utlenionego (GSH/GSSG), poprzez zwiększenie stęŹenia GSSG. Homocysteina inicjuje teŹ proces utleniania frakcji lipoprotein o małej gęstořci (LDL), co zwiększa ich aterogennořć. Autooksydacja homocysteiny powoduje powstawanie rodników zawierających siarkę, które mogą bezpośrednio utleniać lipidy zawarte w LDL. Oksydatywnie zmodyfikowane LDL (oxLDL) zmniejszają przeŹywalnořć komórek śródbłónka przez niszczenie struktur komórkowych i uwraŹliwianie komórek na sygnały apoptotyczne. OxLDL mają duŹe powinowactwo do makrofagów, łączą się z nimi i osiadają pod śródbłónkiem uszkadzając strukturę naczynia. Homocysteina poprzez indukcję ekspresji genów cyklin A i D1, uwalnianie płytkowego czynnika wzrostu lub stymulację aktywnořci kinazy białkowej C w komórkach mięśni gładkich indukuje ich przerost. Zwiększenie ekspresji genów cyklin A i D1 powoduje takŹe wzrost produkcji i gromadzenia się w ścianach naczyń kolagenu. UwaŹa się, Źe homocysteina moŹe indukować i nasilać proces zapalny. W wielu badaniach stwierdzono dodatnią korelację pomiędy jej poziomem a stęŹeniem $\text{TNF-}\alpha$ (czynnika martwicy nowotworów), MCP-1 (białka przyciągającego monocyty) i VCAM-1 (naczyniowej molekuy adhezyjnej-1), które wpływiają na wielu poziomach na zjawiska biorące udział w procesie zapalnym.

1.5 Skutki hyperhomocysteinemii

Podwyższone stężenie homocysteiny powoduje:

- a) aktywację czynników krzepnięcia V i VII,
- b) nasilenie procesu generacji trombiny,
- c) zmniejszenie zdolności wiązania antytrombiny III na powierzchni śródbłónka,
- d) spadek dostępności trombomoduliny i hamowanie zależnej od jej dostępności aktywności białka C (fizjologicznego antykoagulanty),
- e) zwiększenie agregacji płytek krwi zależnej od tromboksanu,
- f) stymulację prokoagulacyjnego działania czynnika tkankowego (TF),
- g) zwiększenie stężenia czynnika von Willebranda (vWF),
- h) zmniejszenie zdolność wiązania tkankowego aktywatora plazminogenu z komórkami śródbłónka i nasilenie ekspresji genu inhibitora 1 aktywatora plazminogenu (PAI-1),
- i) hamowanie ekspresji antykoagulacyjnego siarczanu heparanu,
- j) zmniejszenie działania inhibitora zewnątrzpochoďnej drogi krzepnięcia (TFPI) przede wszystkim wobec czynnika X,
- k) nasiloną aktywację, adhezję i agregację płytek krwi oraz tworzenie zakrzepów w miejscach uszkodzenia śródbłónka,
- l) tworzenie skrzepów zbitych, odpornych na lizę.

Działania c, e, h oraz l zostały potwierdzone w warunkach *in vivo* [13, 14, 56].

Wykazano także, że hiperhomocysteinemia wielokrotnie zwiększa ryzyko choroby wieńcowej w porównaniu z grupą osób z prawidłowym jej stężeniem [22].

1.6 Czynniki obniżające stężenie homocysteiny

Obniżenie stężenia homocysteiny można uzyskać poprzez dietę ubogą w metioninę oraz suplementację witaminami, w tym szczególnie kwasem foliowym a także witaminami B₆ i B₁₂

[10, 24, 73]. Kwas foliowy, witaminy B₁₂ i B₆ są niezbędne w procesie metabolizmu Hcy, dlatego są stosowane zarówno w zapobieganiu jak i leczeniu hiperhomocysteinemii (HHcy). Badania dowiodły, że podawanie ich łącznie daje podobny efekt obniżający stężenie Hcy jak suplementacja jedynie kwasem foliowym. Dalsze obserwacje dowiodły, że około 60% siły działania wszystkich witamin ma kwas foliowy, mniejsze witamina B₁₂, a prawie niezauważalne witamina B₆ [10, 20, 24]. Główną rolę kwasu foliowego w zmniejszaniu poziomu Hcy można wyjaśnić następująco: jako donor grupy metylowej w reakcji metylacji, jest on zużywany ilościowo. Natomiast witaminy B₁₂ i B₆ są koenzymami i nie biorą bezpośrednio udziału w reakcji. Ponadto witamina B₁₂ ulega kumulacji i na ogół jest w organizmie w dostatecznej ilości. Z kolei nieznaczna rola witaminy B₆ wynika ze zdolności organizmu do nasilania procesu remetylacji w przypadku jej niedoboru. W profilaktyce hiperhomocysteinemii u chorych bez niewydolności nerek zalecane jest spożywanie folianów w ilości 400 µg dziennie, witaminy B₁₂ – 3 µg i witaminy B₆ – 2 mg. Najwięcej folianów zawierają drożdże piekarskie, jednak głównym źródłem są warzywa zielone takie jak szpinak, sałata, brokuły, brukselka, szparagi, kalafior i pietruszka. Inne źródła to wątróbka, mięso drobiowe, jaja, fermentowane produkty mleczne, rośliny strączkowe (głównie soja, groch, fasola), pełnoziarniste pieczywo pszenne lub żytnie, otręby, płatki owsiane i pomarańcze. Spożywanie produktów pochodzenia zwierzęcego, głównie tzw. podrobów, a także ryb, jaj i produktów mlecznych dostarcza witaminę B₁₂. Natomiast witaminę B₆ dostarczają przede wszystkim: mięso, ryby, nasiona roślin strączkowych, ziarna zbóż oraz papryka, brukselka, kapusta, szpinak, marchew i banany. Właściwa dieta jest w stanie pokryć zapotrzebowanie na te witaminy. Niestety, nowoczesna obróbka żywności prowadzi do rozkładu znacznej części niezbędnych składników, dlatego niekiedy potrzebna jest suplementacja preparatami witaminowymi. Można także stosować żywność suplementowaną, czego przykładem jest wzbogacanie mąki w taki sposób, aby dostarczała dziennie około 400 µg kwasu foliowego i

2,4 µg witaminy B₁₂, obowiązujące w USA od 1999 roku. Leczenie hiperhomocysteinemii polega na podawaniu wyższych dawek witamin z grupy B. Standardowo stosuje się minimum 500 µg kwasu foliowego, 100-600 µg witaminy B₁₂ i 6-25 mg witaminy B6 [1, 2, 13, 55]. Minimalna efektywna dawka kwasu foliowego stosowana w leczeniu hiperhomocysteinemii u chorych dializowanych nie jest jednoznacznie ustalona.

1.7 Hiperhomocysteinemia u chorych hemodializowanych

Nadal jednak pozostaje niewyjaśnionym fakt, czy obniżenie stężenia homocysteiny zmniejsza ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych? Wykazano, że u chorych dializowanych znacznie podwyższone stężenie homocysteiny koreluje w sposób istotny z powikłaniami sercowo-naczyniowymi oraz wzrostem śmiertelności [110]. Podczas hemodializy stężenie homocysteiny obniża się o ok. 30% a następnie szybko – w ciągu 24 godzin - wraca do stężenia przeddializacyjnego [69,]. U pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek w okresie przeddializacyjnym oraz hemodializowanych, jak również dializowanych otrzewnowo podawanie kwasu foliowego w farmakologicznych dawkach (5-15 mg/dobę) obniża stężenie homocysteiny [10, 20, 24]. Jednakże tylko u 1/3 chorych otrzymujących duże dawki kwasu foliowego (15 mg) stężenie homocysteiny wraca do prawidłowych wartości. Stwierdzono również, że chorzy dializowani z 3-krotnie wyższym, w porównaniu do zdrowych, stężeniem homocysteiny w surowicy mieli znacznie zaawansowane zmiany miażdżycowe manifestujące się chorobą wieńcową, zwężeniem tętnicy szyjnej i niedrożnością naczyń obwodowych [40, 135]. Wykazano, że u chorych dializowanych znacznie podwyższone stężenie homocysteiny koreluje w istotny sposób z powikłaniami sercowo-naczyniowymi oraz wzrostem śmiertelności [21].

Ocena układu naczyniowego ma istotne znaczenie dla profilaktyki, rozpoznania i podjęcia właściwego leczenia jak również dla prognozowania narażenia na powikłania. Takie

możliwości stwarza ultrasonograficzne badanie grubości błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych wspólnych opisaną wartością IMT - *intima media thickness*, a liczne doniesienia dowodzą przydatności tej metody w ocenie zmian miażdżycowych. Przy użyciu tej techniki badania możemy ocenić grubość i strukturę ściany naczyniowej tętnic szyjnych a także wnioskować o współistniejących zmianach w innych obszarach naczyniowych. Zwiększenie grubości błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej wspólnej jest ważnym predyktorem incydentów sercowo-naczyniowych takich jak zawał serca czy udar mózgu w ogólnej populacji a także u pacjentów dializowanych [52]. Stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny w osoczu a grubością IMT w populacji dorosłych bez objawów klinicznych miażdżycy. Przekrojowe badania 1041 kobiet i mężczyzn biorących udział w Framingham Heart Study wykazały, że ryzyko zwężenia tętnicy szyjnej było zwiększone nawet wówczas, gdy stężenie homocysteiny w osoczu było jeszcze w granicach normy. Iloraz szans (OR) dla zwężenia tętnicy szyjnej powyżej 25% wynosił 2,0 dla osób, którzy mieli stężenie homocysteiny powyżej 14 $\mu\text{mol/l}$ w porównaniu do tych, u których stężenie homocysteiny było poniżej 9 $\mu\text{mol/l}$. Silny związek pomiędzy stężeniem homocysteiny a IMT wykazano również w innych badaniach .

Powszechnie uznanym, innym wskaźnikiem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego jest również przerost lewej komory serca. Dotyczy to również populacji chorych dializowanych [35].

Wiadomo, że wielu chorych dializowanych wykazuje cechy niedożywienia, co zwiększa ich umieralność. Niedożywienie związane jest głównie z upośledzeniem apetytu spowodowanym różnymi przyczynami, w tym głównie toksemią mocznicową, stosowanymi lekami, zaburzeniami ze strony przewodu pokarmowego, niestabilnością układu krążenia i innymi [1].

Wprowadzenie do leczenia ludzkiej erytropoetyny uzyskanej metodą rekombinacji genetycznej (rHuEPO) przyczyniło się nie tylko do możliwości prawie całkowitego zaniechania konieczności przetaczania krwi w leczeniu niedokrwistości u chorych na przewlekłą mocznicę ale również doprowadziło do wybitnej poprawy tzw. jakości życia tych chorych. Przejawia się to między innymi poprawą apetytu oraz poprawą obiektywnych wskaźników stanu odżywienia. Z drugiej zaś strony leczenie niedokrwistości przy pomocy rHuEPO może spowodować wystąpienie nadciśnienia tętniczego oraz wzrost krzepliwości krwi [70].

Jak podano powyżej, hiperhomocysteinemia jest obecnie uznanym niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy naczyń. W rozwoju hiperhomocysteinemii istotną rolę odgrywa niedobór kwasu foliowego. Ponieważ leczenie rHuEPO przyczynia się do poprawy apetytu, można również sądzić, że zwiększenie podaży (spożycia) pokarmów będzie wystarczające do uzupełnienia wzmożonego zapotrzebowania na kwas foliowy przy zwiększonej erytropoezie. Wyjaśnienie powyższych zagadnień może mieć znaczenie nie tylko poznawcze ale również przyczyni się do wyboru właściwego postępowania z chorymi przewlekłe dializowanymi otrzymującymi rHuEPO.

2. CEL PRACY:

Celem niniejszej pracy było:

1. Określenie zachowania się stężenia homocysteiny w surowicy krwi u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami w zależności od stopnia suplementacji kwasem foliowym.
2. Ocena wpływu długotrwałego leczenia ludzką rekombinowaną erytropoetyną (rHuEPO) i kwasem foliowym na zachowanie się wybranych wskaźników rozwoju miażdżycy u tych chorych.
3. Ocena wpływu podwyższonego stężenia homocysteiny w badanej grupie chorych przewlekle hemodializowanych na śmiertelność (ogólną i sercowo-naczyniową) oraz chorobowość w okresie suplementacji kwasem foliowym i w trwającej osiem lat obserwacji po jej zakończeniu.

3. MATERIAŁ I METODYKA

3.1 Grupa badana. Kryteria wydzielenia podgrup pacjentów

Badaniami objęto 100 chorych (48 mężczyzn i 52 kobiety) w wieku od 21 do 80 lat z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami (HD) przez okres od 2 do 278 miesięcy w Klinice Nefrologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, w I Oddziale Chorób Wewnętrznych i Nefrologii z Ośrodkiem Dializ Szpitala Wojewódzkiego w Tarnowie oraz w Oddziale Nefrologii i Dializoterapii Specjalistycznego Szpitala im L. Rydygiera w Krakowie. Sesje HD przeprowadzane były 3 razy w tygodniu i trwały od 3,5 do 4,5 godzin (średnio 4 godziny) przy użyciu dializatorów polisulfonowych F5, F6 i F7 firmy Fresenius. Grupę kontrolną stanowiło 25 osób zdrowych porównywalnych pod względem płci i wieku.

Badania zostały zaakceptowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Wszyscy pacjenci wyrazili świadomą, pisemną zgodę na udział w badaniach.

Badanych chorych podzielono na następujące grupy:

Grupa I: chorych którzy otrzymywali rHuEPO i którzy nie otrzymywali kwasu foliowego (25 osób)

Grupa II: chorych którzy otrzymywali rHuEPO i którzy byli suplementowani 5 mg kwasu foliowego doustnie/dobę (25 osób)

Grupa III: chorzy którzy otrzymywali rHuEPO i którzy byli suplementowani 15 mg kwasu foliowego doustnie/dobę (25 osób)

Grupa IV: chorych którzy nie otrzymywali rHuEPO ani kwasu foliowego (25 osób)

Grupę V: kontrolną - 25 osób zdrowych.

Czas obserwacji każdego pacjenta włączonego do badania wynosił 96 miesięcy – w tym 12 miesięcy, w czasie których suplementowano kwasem foliowym chorych z grup II i III i wykonywano badania biochemiczne i obrazowe we wszystkich grupach chorych oraz 84 miesiące obserwacji klinicznych, rozpatrywanych w aspekcie chorobowości i śmiertelności z przyczyn ogólnych i sercowo-naczyniowych.

Do programu badań włączono chorych przewlekle hemodializowanych którzy:

- a) przez ostatni miesiąc nie otrzymywali rHuEPO i mieli stabilne wartości morfologii
- b) mieli stabilne wartościami hematokrytu powyżej 26% i stężenia hemoglobiny powyżej 8g/dl

Wykluczono z badania chorych przewlekle hemodializowanych z

- a) cukrzycą,
- b) ciężkim nadciśnieniem tętniczym,
- c) przewlekłym zakażeniem bakteryjnym lub gruźlicą,
- d) ciężkim uszkodzeniem wątroby lub jej marskością,
- e) ciężką niewydolnością krążenia,
- f) nawracającymi powikłaniami zakrzepowymi dotyczącymi przetoki tętniczo-żylniej, oraz
- g) przyjmujących analogi kwasu foliowego.

Przyczyny schyłkowej niewydolności nerek (SNN) w badanej grupie chorych oraz czasokres leczenia dializami przedstawiono w tabelach I i II. W tabeli II podano również dane dotyczące wieku, wzrostu, ciężaru ciała oraz BMI w grupach wyodrębnionych do badania.

Tabela I. Rozpoznanie medyczne będące przyczyną SNN u 100 chorych przewlekle hemodializowanych i objętych ośmioletnią obserwacją w programie badania.

Rozpoznanie	Liczba chorych
<i>Glomerulonephritis chronica</i>	38
<i>Pyelonephritis chronica</i>	16
<i>Nephrocirrhosis</i>	18
<i>Degeneratio polycystica renum</i>	11
<i>Nephrosclerosis</i>	6
<i>Lupus nephritis</i>	5
<i>Nephrolithiasis</i>	3
<i>Nephropathia urica</i>	2
<i>Amyloidosis</i>	1
Łącznie	100

Tabela II. Średnie wartości wyjściowe: wiek, wzrost, ciężar ciała, BMI i czasokres leczenia powtarzanymi hemodializami w wydzielonych badanych grupach pacjentów oraz w grupie kontrolnej (HD – dializowani, K- kontrola).

Badane Parametry	Grupy				
	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Wiek (lata)	49,5 +/- 14,5	50,2 +/- 17,6	54,4 +/- 11,6	51,2 +/- 11,8	50,1 +/- 5,7
Wzrost (cm)	166,7 +/- 10,1	169,3 +/- 7,3	168,8 +/- 9,2	170,4 +/- 9,1	169,9 +/- 8,5
Ciężar ciała (kg)	68,3 +/- 14,0	70,5 +/- 19,0	70,3 +/- 15,4	72,4 +/- 14,8	77,8 +/- 11,8
BMI (kg/m ²)	23,9 +/- 4,0	23,5 +/- 3,5	23,4 +/- 3,6	23,7 +/- 3,4	26,9 +/- 3,2
Czasokres leczenia HD (miesiące)	63,6 +/- 63,8	79,2 +/- 67,3	65,2 +/- 39,3	65,7 +/- 44,6	-

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standartowego

3.2 Protokół badawczy

Do grup chorych leczonych erytropoetyną tj. I, II i III zostali zakwalifikowani pacjenci w sposób losowy, natomiast do grupy IV (z założenia nie otrzymujący erytropoetyny) zostali dobrani chorzy, którzy w okresie ostatnich kilku miesięcy mieli stabilne stężenia hemoglobiny bez leczenia erytropoetyną.

Szczegółowej analizie poddano następujące dane kliniczne: wiek, płeć, wzrost, ciężar ciała, przyczynę niewydolności nerek, czas trwania dializ, choroby przebyte (zawał serca, udar mózgu, powikłania zatorowo-zakrzepowe) oraz wyniki badań dodatkowych:

1. Wartości morfologii krwi obwodowej chorych z uwzględnieniem hematokrytu, stężenia hemoglobiny oraz liczby erytrocytów, leukocytów i płytek krwi.

2. Przeddializacyjne stężenia sodu, potasu, magnezu w surowicy krwi.
3. Przeddializacyjne stężenia wapnia i fosforanów w surowicy krwi.
4. Stężenia PTH w surowicy krwi.
5. Parametry gospodarki wapniowo-fosforanową, wyrażanej iloczynem stężeń Ca x P (w mmol^2/l^2).
6. Stężenie żelaza, ferrytyny, całkowitą zdolność wiązania żelaza (TIBC), saturację transferyny w surowicy krwi.
7. Stężenie białka całkowitego oraz stężenie albuminy w surowicy krwi, które wraz ze wskaźnikiem masy ciała (BMI) uznano za wyznacznik stanu odżywienia,
8. Parametry gospodarki lipidowej: stężenia cholesterolu całkowitego, (w tym frakcji HDL, LDL, triglicerydów, Apo-B, lipoproteiny [a]), a ponadto stężenia glukozy, fibrynogenu, które wraz z ewentualnie współwystępującymi u chorych z nikotynizmem i nadciśnieniem tętniczym zalicza się do czynników ryzyka miażdżycy,
8. Stężenia w surowicy homocysteiny, kwasu foliowego, witaminy B₁₂,
9. Stężenia mocznika, kreatyniny, kwasu moczowego przed hemodializą,
10. Stopień adekwatności dializy, oceniany przy pomocy parametrów kinetycznego modelowania mocznika:
 - a) wskaźnika dializy Kt/V wg Daugirdasa
 - b) współczynnika katabolizmu białka - nPCR
 - c) uśrednionego stężenia mocznika w czasie - TAC.
11. Zaawansowanie zmian narządowych miażdżycy u chorych oceniano wykonując:
 - a) USG tętnic szyjnych (ocena grubości intymy i medii - IMT)
 - b) mierząc wartość wskaźnika kostkowo-ramiennego (ABI - *ankle-brachial index*)
 - c) badanie echokardiograficzne

Część anamnestyczną badanych pacjentów (w tym dotyczącą powikłań) opracowano na podstawie historii choroby każdego chorego hemodializowanego, jego karty hemodializ oraz na podstawie wywiadu lekarskiego.

U chorych hemodializowanych krew do oznaczeń pobierano na czczo: przed rozpoczęciem badania oraz jeden raz w miesiącu morfologię krwi, i po 3, 6, 9 i 12 miesiącach – zawsze przed hemodializą natomiast w grupie kontrolnej, również na czczo przed rozpoczęciem badań oraz po 12 miesiącach. W próbkach krwi, po odwirowaniu, w surowicy oznaczano następujące parametry biochemiczne: stężenie Na, K, Mg, P, Ca, żelaza, TIBC, ferrytyny, glukozy, lipidów [cholesterolu całkowitego, HDL, LDL, triglicerydów, Apo-B i lipoproteiny(a)], fibrynogenu, homocysteiny, kwasu foliowego, witaminy B₁₂, mocznika, kreatyniny, kwasu moczowego. Do oceny stopnia zaawansowania nadciśnienia tętniczego wykonywano jeden raz w tygodniu pomiar ciśnienia przed HD w środku tygodnia a następnie obliczano średnią miesięczną z 4 wykonanych w ten sposób pomiarów.

Przed rozpoczęciem badań oraz po 6 i 12 miesiącach oznaczano stężenie parathormonu (PTH). W tych samych odstępach czasu (tj. przed, po 6 i 12 miesiącach) wykonywano następujące badania: USG tętnic szyjnych, wskaźnik kostkowo-ramienny i ECHO serca.

Dawkowanie rHuEPO rozpoczynano od 50 j/kg m.c./3 x w tygodniu podskórnie do uzyskania hematokrytu powyżej 30 % (30-36%) oraz hemoglobiny powyżej 10g/dl (10-12g/dl) a następnie kontynuowano leczenie dawką umożliwiającą utrzymanie założonych wartości hemoglobiny i hematokrytu do końca okresu badawczego.

Badania morfologii krwi oraz biochemiczne (stężenia jonów: Na, K, Mg, Ca, P, Fe; glukozy, mocznika, kreatyniny, kwasu moczowego, ferrytyny, TIBC, oraz stężenia białka, albuminy, lipidów, fibrynogenu) wykonywano w Katedrze Diagnostyki Biochemicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierownik: prof. J. Naskalski) .

Oznaczenia stężeń homocysteiny wykonano metodą chromatografii cieczowej

wysokociśnieniowej według Mansoor i wsp. [104] w II Katedrze Chorób Wewnętrznych CM UJ w Krakowie (kierownik: prof. A. Szczeklik).

Oznaczenie stężeń PTH, kwau foliowego i witaminy B₁₂ oznaczano metodą ELISA w Pracowni Badań Biochemicznych „Diagnostyka” w Krakowie.

W okresie badawczym oraz w ośmioletnim okresie obserwacji odległej rejestrowano liczbę i długość hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz zgony pacjentów z uwzględnieniem zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych. Hospitalizacje, których przyczyną była korekta nieprawidłowo funkcjonującej przetoki tętniczo-żylną do hemodializ lub zakrzep tej przetoki z przyczyn anatomicznych - nie były wliczane do grupy hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej wykorzystując testy Wilcoxona, Manna-Whitney’a, Kruskala-Wallisa i korelacji Pearsona zawarte w licencjonowanym programie statystycznym Statistica 5.0. firmy Microsoft.

4. WYNIKI

4.1 Parametry morfologii krwi obwodowej

W tabeli III przedstawiono średnie wartości hematokrytu, stężenia hemoglobiny i liczby erytrocytów w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela III. Średnie wartości Ht, stężenia Hb i liczby erytrocytów w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Ht %	0	29,4+/-3,6	30,1+/-5,1	29,6+/-6,2	31,8+/-6,0	42,3+/-3,6
	1	29,3+/-3,7	30,0+/-5,4	29,8+/-4,5	31,8+/-4,3	-
	2	30,1+/-3,8	31,9+/-6,0	30,8+/-4,8	33,0+/-4,7	-
	3	30,1+/-4,6	32,6+/-4,6	31,1+/-4,2	32,2+/-5,0	-
	4	30,8+/-3,4	33,3+/-5,5	32,5+/-3,8	31,5+/-4,0	-
	5	31,4+/-4,4	34,1+/-5,8	33,2+/-4,8	31,6+/-4,1	-
	6	32,3+/-4,5	34,3+/-4,8	34,1+/-5,7	31,9+/-3,7	-
	7	30,7+/-4,5	34,7+/-4,4	34,2+/-6,0	32,2+/-4,8	-
	8	31,4+/-4,6	34,3+/-4,5	34,2+/-6,4	32,1+/-5,5	-
	9	31,2+/-3,8	34,0+/-5,2	33,7+/-4,8	32,3+/-4,5	-
	10	31,9+/-4,6	34,3+/-5,2	33,1+/-8,6	33,1+/-4,8	-
	11	31,1+/-4,4	35,2+/-5,6	32,6+/-6,7	33,1+/-4,9	-
	12	32,6+/-4,5	35,0+/-6,1	32,5+/-6,5	32,0+/-4,5	40,5+/-4,3
Hb g/dl		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	9,6+/-1,1	10,0+/-1,7	9,8+/-2,0	10,5+/-1,9	14,5+/-1,5
	1	9,3+/-2,0	10,1+/-2,0	9,9+/-1,5	10,8+/-1,5	-
	2	9,9+/-1,1	10,7+/-1,9	10,2+/-1,3	11,0+/-1,7	-
	3	9,9+/-1,5	11,1+/-1,7	10,1+/-1,4	10,7+/-1,7	-
	4	10,2+/-1,2	11,0+/-1,9	10,6+/-1,2	10,3+/-1,6	-

	5	10,2+/-1,5	11,3+/-1,9	10,9+/-1,6	10,6+/-1,4	-
	6	10,6+/-1,4	11,4+/-1,7	11,1+/-1,9	10,5+/-1,3	-
	7	10,0+/-1,5	11,5+/-1,5	11,1+/-2,0	10,6+/-1,5	-
	8	10,2+/-1,5	11,3+/-1,6	11,1+/-2,1	10,6+/-1,6	-
	9	10,2+/-1,3	11,3+/-1,8	11,1+/-1,7	10,6+/-1,3	-
	10	10,8+/-1,8	11,4+/-2,0	10,4+/-2,0	10,5+/-2,0	-
	11	10,2+/-1,4	11,8+/-2,0	10,8+/-2,3	10,9+/-1,5	-
	12	10,7+/-1,5	11,7+/-2,1	10,8+/-2,2	10,5+/-1,5	13,9+/-1,6
Erytrocyty T/l	Grupa					
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	3,1+/-0,4	3,2+/-0,6	3,2+/-0,6	3,4+/-0,7	4,7+/-0,4
	1	3,1+/-0,4	3,2+/-0,6	3,2+/-0,5	3,5+/-0,6	-
	2	3,1+/-0,4	3,3+/-0,6	3,2+/-0,5	3,6+/-0,7	-
	3	3,2+/-0,5	3,4+/-0,5	3,3+/-0,5	3,5+/-0,6	-
	4	3,3+/-0,4	3,4+/-0,5	3,5+/-0,4	3,4+/-0,5	-
	5	3,3+/-0,5	3,5+/-0,5	3,6+/-0,6	3,4+/-0,6	-
	6	3,4+/-0,5	3,5+/-0,4	3,6+/-0,6	3,4+/-0,5	-
	7	3,2+/-0,5	3,6+/-0,4	3,6+/-0,7	3,5+/-0,7	-
	8	3,3+/-0,5	3,5+/-0,4	3,6+/-0,7	3,4+/-0,7	-
	9	3,2+/-0,5	3,5+/-0,4	3,6+/-0,5	3,5+/-0,6	-
	10	3,3+/-0,5	3,5+/-0,5	3,4+/-0,6	3,6+/-0,7	-
	11	3,3+/-0,5	3,6+/-0,5	3,4+/-0,7	3,5+/-0,7	-
	12	3,5+/-0,5	3,6+/-0,5	3,4+/-0,7	3,4+/-0,7	4,6+/-0,4

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli IV przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości parametrów morfologii krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela IV. Zestawienie wyników istotności różnic wartości parametrów morfologii krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	wartość p			
Ht	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	<0,00001	0,0004	0,00006	0,00002
Hb	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	<0,00001	0,0003	0,00001	<0,00001
Erytrocyty	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001

Średnie wartości hematokrytu, stężenia hemoglobiny i liczby erytrocytów w badanych grupach chorych były znamienne niższe w stosunku do grupy kontrolnej we wszystkich okresach badania (Tab. III-IV). W grupie I, II i III wzrosły one już od 3-ciego miesiąca obserwacji i wartości te utrzymywały się do końca badania. W grupie IV średnie wartości Ht, stężenia Hb i liczby erytrocytów nie zmieniały się istotnie w trakcie badania.

W tabeli V przedstawiono średnie wartości liczby leukocytów i płytek krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela V. Średnie wartości liczby leukocytów i płytek krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

Leukocyty G/l		Grupa				
	Mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	6,56+/- 1,4	5,92+/-2,5	6,97+/-3,1	5,72+/-1,5	5,85+/-1,2
	1	5,83+/-1,6	6,45+/-2,9	6,52+/-3,1	5,60+/-2,0	-
	2	5,73+/-2,3	5,79+/-2,1	6,79+/-2,1	5,72+/-2,0	-
	3	7,05+/-2,7	6,60+/-1,8	6,54+/-2,2	6,25+/-2,4	-
	4	7,23+/-2,5	5,95+/-1,1	6,59+/-2,7	5,28+/-1,3	-
	5	6,6+/-2,0	6,18+/-2,0	6,78+/-2,6	5,80+/-1,3	-
	6	7,2+/-2,5	6,5+/-2,5	6,1+/-2,0	6,00+/-1,9	-
	7	5,86+/-1,8	5,54+/-1,1	5,90+/-1,9	5,56+/-1,3	-
	8	6,35+/-1,9	5,18+/-1,0	5,86+/-2,0	5,60+/-1,5	-
	9	6,74+/-2,2	6,00+/-2,3	6,45+/-1,8	5,47+/-2,1	-
	10	7,10+/-2,1	7,52+/-2,7	6,11+/-2,3	6,25+/-2,5	-
	11	7,09+/-2,6	6,59+/-2,0	7,04+/-2,6	6,06+/-1,7	-
12	6,66+/-2,5	6,57+/-2,0	7,3+/-2,7	6,2+/-1,8	5,7+/-1,3	
Płytki krwi G/l		Grupa				
	Mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	117,2+/-	136,8+/-	176,5+/-	157,5+/-	223,9+/-
		92,6	82,6	145,7	88,3	55,0
	1	97,4+/-	126,2+/-	132,9+/-	111,9+/-	-
	100,1	88,2	146,5	87,4		

	2	96,3+/- 100,0	150,6+/- 105,0	139,8+/- 130,6	116,9+/- 85,4	-
	3	110,2+/- 113,0	120,8+/- 90,7	139,8+/- 128,3	107,7+/- 83,9	-
	4	108,6+/- 115,3	133,7+/- 78,5	139,0+/- 122,0	108,5+/- 91,1	-
	5	137,2+/- 104,8	133,3+/- 85,8	168,4+/- 118,2	141,3+/- 80,2	-
	6	116,3+/- 101,0	130,3+/- 82,2	177,0+/- 121,5	157,3+/- 80,2	-
	7	140,7+/- 101,7	126,3+/- 81,5	167,4+/- 112,7	146,7+/- 73,7	-
	8	147,1+/- 99,5	138,3+/- 89,0	167,1+/- 103,5	151,8+/- 82,7	-
	9	133,4+/- 97,7	138,0+/- 93,9	171,3+/- 113,5	156,2+/- 84,8	-
	10	139,7+/- 98,4	137,9+/- 105,3	163,8+/- 111,0	171,8+/- 98,2	-
	11	141,8+/- 94,8	125,9+/- 80,9	160,5+/- 109,7	151,5+/- 79,5	-
	12	154,5+/- 89,6	121,6+/- 81,5	153,7+/- 107,2	146,5+/- 84,2	237,6+/- 56,1

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli VI przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości liczby leukocytów i płytek krwi we krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela VI. Zestawienie wyników istotności różnic wartości liczby leukocytów i płytek krwi we krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	Wartość p			
Leukocyty	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	0,19	0,06	0,62	0,61
12 miesięcy	0,22	0,10	0,31	0,32
płytki krwi	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	0,0002	0,00002	0,02	0,002
12 miesięcy	0,003	0,00004	0,001	0,001

Liczba leukocytów nie różniła się istotnie pomiędzy grupami badanymi a grupą kontrolną, nie zmieniała się również w kolejnych okresach obserwacji (Tab. V-VI). Średnie wartości płytek krwi były istotnie niższe w grupach badanych w stosunku do grupy kontrolnej, tak na początku jak i na końcu badania (Tab. V-VI). Nie obserwowano również istotnych statystycznie różnic w wartościach hematokrytu, erytrocytów, leukocytów i płytek krwi pomiędzy poszczególnymi grupami, jedynie w dziewiątym miesiącu obserwacji wystąpiła znamienna statystycznie różnica w wartości hemoglobiny.

4.2 Stężenia sodu, potasu i glukozy

W tabeli VII przedstawiono średnie wartości stężenia sodu, potasu i glukozy w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela VII. Średnie wartości stężenia sodu, potasu i glukozy w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Sód mmol/l	0	137,7+/-2,7	136,2+/-3,9	136,6+/-3,3	137,9+/-4,1	142,6+/-2,1
	3	137,9+/-4,9	138,1+/-4,0	138,3+/-4,4	136,8+/-3,5	-
	6	138,4+/-5,1	139,0+/-3,1	138,0+/-4,1	137,8+/-2,6	-
	9	138,3+/-4,9	138,6+/-2,4	137,8+/-2,4	137,5+/-3,8	-
	12	140,3+/-5,5	138,7+/-4,0	138,6+/-3,4	137,6+/-2,2	142,0+/-1,6
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Potas mmol/l	0	5,4+/-0,7	5,2+/-0,7	5,4+/-0,8	5,6+/-1,0	4,2+/-0,2
	3	5,2+/-0,4	5,5+/-0,9	5,4+/-0,8	5,5+/-0,9	-
	6	5,3+/-0,6	5,5+/-0,8	5,4+/-0,8	5,5+/-0,6	-
	9	5,3+/-0,7	5,7+/-0,9	5,5+/-0,8	5,2+/-0,9	-
	12	5,5+/-0,9	5,5+/-0,8	5,6+/-1,0	5,3+/-0,7	4,2+/-0,3
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Glukoza mmol/l	0	4,9+/-0,7	5,4+/-1,4	5,4+/-1,0	5,0+/-0,6	5,2+/-0,4
	3	4,8+/-0,3	5,0+/-0,3	4,8+/-0,4	4,9+/-0,4	-
	6	4,9+/-0,6	5,1+/-0,8	5,3+/-0,8	5,4+/-0,9	-
	9	5,0+/-0,5	5,5+/-1,0	5,1+/-0,7	5,7+/-1,3	-
	12	5,1+/-0,5	5,4+/-1,4	5,1+/-1,0	5,6+/-1,6	5,2+/-0,5

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli VIII przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości stężenia sodu, potasu, i glukozy w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela VIII. Zestawienie wyników istotności różnic wartości stężenia sodu, potasu i glukozy w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	Wartość p			
Na	grupa I	Grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	<0,00001	0,00002
12 miesięcy	0,006	0,01	0,0004	<0,00001
K.	grupa I	Grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
Glukoza	grupa I	Grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,32	0,31	0,87	0,22
12 miesięcy	0,84	0,63	0,30	0,22

Średnie stężenia sodu we wszystkich grupach chorych dializowanych były zbliżone w poszczególnych okresach obserwacji i były istotnie niższe a potasu odpowiednio wyższe w stosunku do grupy kontrolnej, bez istotnych różnic między grupami (Tab. VII-VIII). Stężenia glukozy we wszystkich badanych grupach chorych niezależnie od okresu obserwacji były

zbliżone do wartości w grupie kontrolnej i nie różniły się statystycznie między grupami (Tab. VII-VIII).

4.2 Gospodarka wapniowo-fosforanowa

W tabeli IX przedstawiono średnie wartości stężenia wapnia, fosforanów, magnezu i PTH w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela IX. Średnie wartości stężenia wapnia, fosforanów, magnezu i PTH w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

Ca mmol/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	2,4+/-0,3	2,3+/-0,3	2,3+/-0,3	2,2+/-0,3	2,3+/-0,1
	3	2,4+/-0,3	2,3+/-0,2	2,3+/-0,3	2,4+/-0,4	-
	6	2,4+/-0,2	2,3+/-0,2	2,3+/-0,3	2,4+/-0,3	-
	9	2,3+/-0,2	2,4+/-0,2	2,3+/-0,4	2,4+/-0,3	-
12	2,4+/-0,3	2,4+/-0,2	2,4+/-0,3	2,4+/-0,2	2,3+/-0,1	
P mmol/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	1,7+/-0,6	2,0+/-0,7	1,8+/-0,5	1,9+/-0,6	0,9+/-0,2
	3	1,9+/-0,5	1,9+/-0,5	2,0+/-0,5	2,0+/-0,6	-
	6	2,0+/-0,5	1,8+/-0,5	1,8+/-0,7	1,8+/-0,5	-
	9	1,9+/-0,8	1,6+/-0,4	1,8+/-0,4	1,5+/-0,4	-
12	1,8+/-0,5	1,6+/-0,6	1,9+/-0,6	1,7+/-0,6	0,9+/-0,2	
Mg mmol/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	1,1+/-0,2	1,3+/-0,2	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	0,9+/-0,1
	3	1,1+/-0,2	1,3+/-0,2	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	-
	6	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	-
	9	1,2+/-0,2	1,4+/-0,2	1,3+/-0,1	1,3+/-0,2	-
12	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	1,3+/-0,2	1,3+/-0,2	0,8+/-0,2	
		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K

PTH pg/ml	0	345,2+/-	374,2+/-	398,3+/-	384,2+/-	60,1+/-
		323,9	339,1	321,2	391,3	16,5
	3	542,1+/-	367,7+/-	465,7+/-	365,1+/-	-
		360,1	276,3	510,2	342,0	
	6	631,4+/-	405,1+/-	500,1+/-	345,7+/-	-
		498,5	411,4	601,2	411,2	
	9	323,1+/-	298,0+/-	512,2+/-	298,1+/-	-
		377,6	223,5	600,1	210,2	
	12	536,6+/-	311,8+/-	396,2+/-	396,4+/-	62,0+/-
		543,1	323,4	324,7	312,6	18,8

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W kolejnych okresach badania obserwowano w grupie II i IV niewielki spadek stężeń fosforu odpowiednio od 3 i 6 miesiąca, który utrzymywał się do końca badania, nie było natomiast znamiennych statystycznie różnic stężeń fosforanów pomiędzy grupami (Tab. IX).

W tabeli X przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości stężenia wapnia, fosforanów, magnezu i PTH w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela X. Zestawienie wyników istotności różnic wartości stężenia wapnia, fosforanów, magnezu i PTH w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	Wartość p			
Ca	Grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,15	0,66	0,86	0,64
12 miesięcy	0,52	0,33	0,37	0,97
P	Grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	<0,00001	<0,00001	<0,00001	0,00002
Mg	Grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
PTH	Grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	0,01	<0,00001	0,001
12 miesięcy	0,0001	0,002	0,0004	0,00002

Średnie wartości stężenia wapnia całkowitego w surowicy zarówno w grupach badanych chorych jak i w grupie kontrolnej nie różniły się pomiędzy sobą i były stabilne podczas całego okresu obserwacji (Tab. IX-X). Średnie wartości stężenia fosforu w surowicy były istotnie wyższe we wszystkich grupach chorych dializowanych w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. X). Średnie wartości stężenia magnezu we wszystkich grupach badanych chorych były istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną a nie różniły się istotnie pomiędzy sobą przez cały okres obserwacji (Tab. IX-X). Stężenie iPTH we wszystkich badanych grupach chorych dializowanych było istotnie podwyższone w stosunku do wartości obserwowanych w

grupie kontrolnej. W toku obserwacji obserwowano nieistotne statystycznie wahania stężenia iPTH w badanych grupach chorych (Tab. IX-X).

4.4 Gospodarka żelazowa

W tabeli XI przedstawiono średnie wartości stężenia żelaza, TIBC, ferrytyny i saturacji transferyny w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XI. Średnie wartości stężenia żelaza, TIBC, ferrytyny i saturacji transferryiny (TSAT) w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

Fe μmol/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	15,6+/-8,5	18,5+/-5,2	18,3+/-10,8	13,9+/-4,6	18,8+/-7,6
	3	13,1+/-5,0	13,6+/-6,4	18,6+/-25,4	13,8+/-4,9	-
	6	14,1+/-5,2	12,0+/-4,0	14,0+/-6,0	13,5+/-4,1	-
	9	14,5+/-6,0	14,1+/-3,1	16,0+/-6,6	14,6+/-5,2	-
	12	13,6+/-4,8	15,0+/-5,4	14,5+/-6,0	13,9+/-5,3	18,2+/-7,3
TIBC μmol/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	49,5+/-1,1	48,9+/-17,8	51,3+/-12,1	53,5+/-3,0	62,4+/-0,6
	3	45,4+/-7,4	47,5+/-0,6	46,0+/-0,7	55,2+/-5,3	-
	6	46,3+/-9,1	44,8+/-9,3	44,8+/-2,0	55,3+/-9,2	-
	9	41,9+/-4,9	46,7+/-2,5	39,1+/-3,7	45,1+/-2,6	-
	12	42,8+/-9,1	47,9+/-1,6	43,7+/-1,6	44,9+/-3,7	62,6+/-8,7
Ferrytyna μg/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	824,2+/-13,2	868,2+/- 588,1	919,2+/- 42,5	697,1+/-27,3	164,5+/-174,0
	3	851,5+/- 603,5	942,2+/- 455,5	1031,8+/- 755,2	790,5+/- 899,3	-
	6	1108,1+/- 57,2	894,3+/- 448,1	1120,2+/- 626,5	796,7+/- 865,1	-

	9	867,2+/- 671,2	912,1+/- 563,1	975,4+/- 677,9	867,3+/- 1117,2	-
	12	962,2+/- 561,0	796,5+/- 532,9	982,3+/- 685,8	641,4+/- 653,1	136,5+/-154,6
TSAT %		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	32,3+/-16,8	34,8+/-16,9	36,7+/-20,5	27,7+/-10,3	31,3+/-14,0
	3	29,6+/-12,2	28,4+/-12,1	28,8+/-10,2	25,7+/-8,2	-
	6	32,2+/-16,9	26,7+/-8,0	32,5+/-15,5	26,4+/-9,5	-
	9	34,9+/-17,4	31,8+/-12,5	31,8+/-12,5	34,1+/-18,6	-
	12	32,5+/-12,2	33,4+/-17,3	34,4+/-15,0	31,1+/-12,0	29,9+/-12,1

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli XII przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości stężenia żelaza, TSAT, TIBC i ferrytyny w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XII. Zestawienie wyników istotności różnic wartości stężenia żelaza, TSAT, TIBC i ferrytyny w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	Wartość p			
Fe	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,05	0,2	0,32	0,008
12 miesięcy	0,03	0,07	0,03	0,01
TSAT	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,61	0,52	0,65	0,23
12 miesięcy	0,73	0,79	0,64	0,76
TIBC	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,0002	0,00004	0,0001	0,003
12 miesięcy	<0,00001	0,00001	<0,00001	0,00005
Ferrytyna	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,00001	<0,00001	0,00001	0,01
12 miesięcy	<0,00001	<0,00001	<0,00001	0,001

Średnie wartości stężenia żelaza w badanych grupach chorych oraz w grupie kontrolnej mieściły się w granicach wartości prawidłowych (Tab. XI). Wartości te w grupie I i IV na początku badania i po 12 miesiącach obserwacji były istotnie niższe od wartości w grupie osób zdrowych natomiast w grupie II i III średnie wartości stężenia żelaza na początku obserwacji były zbliżone do wartości w grupie kontrolnej a po 12 miesiącach w grupie III były istotnie niższe. Przez cały okres badanie nie obserwowano istotnych statystycznie różnic stężeń żelaza pomiędzy grupami (Tab. XI-XII). Całkowita zdolność wiązania żelaza (TIBC) była porównywalna w grupach badanych, natomiast była niższa od grupy kontrolnej tak na początku badania jak i po 12 miesiącach. Od dziewiątego miesiąca obserwacji do zakończenia

badania obserwowano znamienne statystycznie różnice w całkowitej zdolności wiązania żelaza w badanych grupach chorych (Tab. XI-XII). Średnie stężenia ferrytyny w badanych grupach chorych były istotnie wyższe od wartości obserwowanych w grupie kontrolnej (Tab. XI-XII), nie zmieniały się istotnie w toku obserwacji, choć w trzecim i szóstym miesiącu badania zaobserwowano znamienne statystycznie różnice stężeń ferrytyny pomiędzy badanymi grupami. Od dziewiątego miesiąca badania do końca różnic tych już nie obserwowano. Saturacja transferyny we wszystkich badanych grupach chorych była podobna do wartości w grupie kontrolnej, nie obserwowano również istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi okresami obserwacji i pomiędzy poszczególnymi grupami (Tab. XI-XII).

4.5 Stężenia białka całkowitego i albuminy

W tabeli XIII przedstawiono średnie wartości stężenia białka całkowitego, albuminy, i fibrynogenu w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym ni rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO i kwasu foliowego.

Tabela XIII. Średnie wartości stężenia białka całkowitego, albuminy i fibrynogenu w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Białko całkowite g/l	0	69,9+/-5,1	69,5+/-5,1	71,2+/-4,4	71,0+/-4,5	70,1+/-4,2
	3	67,7+/-7,4	67,7+/-8,3	69,3+/-5,0	69,7+/-5,8	-
	6	68,2+/-5,2	70,4+/-5,3	69,4+/-5,7	70,2+/-5,6	-
	9	69,2+/-5,2	69,1+/-5,1	69,3+/-5,0	70,5+/-5,1	-
	12	68,1+/-5,5	68,9+/-6,6	69,9+/-5,8	70,2+/-6,9	71,8+/-4,1
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Albumina g/l	0	40,2+/-6,0	41,9+/-4,4	40,0+/-5,5	40,5+/-5,4	46,1+/-1,9
	3	41,4+/-8,9	40,8+/-4,8	41,7+/-5,0	40,2+/-10,0	-
	6	42,1+/-9,1	40,5+/-7,5	42,7+/-4,5	42,2+/-5,1	-
	9	41,5+/-16,2	42,6+/-3,0	43,3+/-3,0	42,4+/-3,2	-
	12	41,7+/-2,1	41,8+/-1,8	41,5+/-2,9	41,9+/-2,0	47,0+/-1,9
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Fibrynogen g/l	0	3,8+/-1,1	3,8+/-1,1	4,5+/-1,6	3,6+/-0,8	2,9+/-0,6
	3	3,9+/-1,4	3,9+/-1,1	4,6+/-1,8	4,0+/-1,0	-
	6	3,8+/-1,1	3,9+/-1,1	4,1+/-0,9	3,7+/-0,9	-
	9	4,0+/-1,0	3,5+/-1,0	4,2+/-0,9	3,7+/-0,7	-
	12	4,0+/-1,1	3,4+/-0,9	4,1+/-0,9	3,8+/-0,9	3,2+/-0,8

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli XIV przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości stężenia białka całkowitego, albuminy, i fibrynogenu w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XIV. Zestawienie wyników istotności różnic wartości stężenia białka całkowitego, albuminy i fibrynogenu w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	Wartość p			
Białko całk.	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,95	0,74	0,60	0,72
12 miesięcy	0,10	0,12	0,05	0,22
Albumina	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,0002	0,00002	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
Fibrynogen	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,02	0,0004	0,00003	0,00009
12 miesięcy	0,02	0,007	0,0006	0,03

Średnie stężenia białka całkowitego w badanych grupach chorych dializowanych i w grupie kontrolnej przedstawia Tab. XIII. Wartości te nie różniły się istotnie pomiędzy grupami zarówno na początku, w trakcie jak i na końcu badania (Tab. XIV). W zakresie średnich stężeń albuminy wykazano istotne statystycznie niższą wartość w badanych grupach chorych w stosunku do grupy kontrolnej zarówno na początku jak i po 12 miesiącach obserwacji (Tab.

XIII-XIV). Średnie stężenia fibrynogenu były istotnie wyższe we wszystkich grupach chorych w porównaniu do grupy kontrolnej (Tab. XIII-XIV).

4.6 Parametry gospodarki lipidowej

W tabeli XV przedstawiono średnie wartości stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, triglicerydów, Apo-B, Lp(a) w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XV. Średnie wartości stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL, cholesterolu LDL, triglicerydów, apo-B, Lp(a) w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Cholesterol	0	5,1+/-1,0	4,4+/-1,1	4,7+/-1,2	4,8+/-1,2	6,1+/-0,8
Całkowity	3	5,1+/-1,1	4,5+/-1,0	4,8+/-1,1	4,5+/-1,2	-
mmol/	6	5,2+/-1,1	4,4+/-0,8	4,8+/-1,0	4,8+/-1,0	-
	9	4,8+/-1,2	4,7+/-0,9	5,0+/-1,3	4,5+/-0,9	-
	12	4,9+/-1,1	4,3+/-1,0	4,8+/-1,3	4,4+/-0,9	5,6+/-0,7
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Cholesterol	0	1,1+/-0,3	1,0+/-0,4	1,0+/-0,4	1,1+/-0,3	1,5+/-0,4
HDL	3	1,1+/-0,3	1,2+/-0,4	1,1+/-0,4	1,1+/-0,2	-
mmol/l	6	1,1+/-0,3	1,0+/-0,3	1,0+/-0,3	1,0+/-0,2	-
	9	1,0+/-0,4	1,1+/-0,4	1,0+/-0,3	1,0+/-0,3	-
	12	1,2+/-0,4	1,1+/-0,4	0,9+/-0,2	1,1+/-0,3	1,6+/-0,4
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Cholesterol	0	3,0+/-0,8	2,5+/-0,9	2,7+/-0,9	2,7+/-0,9	3,8+/-0,7
LDL	3	3,0+/-0,9	2,5+/-0,8	2,7+/-0,9	2,6+/-0,6	-
mmol/l	6	2,9+/-0,9	2,4+/-0,6	2,7+/-1,0	2,7+/-0,7	-
	9	2,7+/-1,0	2,8+/-0,8	3,0+/-1,0	2,6+/-0,7	-
	12	2,7+/-0,8	2,4+/-0,7	2,9+/-1,0	2,5+/-0,8	3,3+/-0,7

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Triglicerydy mmol/l	0	2,5+/-1,2	2,0+/-1,0	2,9+/-3,5	2,3+/-1,2	1,6+/-0,7
	3	2,5+/-1,2	1,9+/-1,2	2,7+/-2,4	2,5+/-1,7	-
	6	2,5+/-1,2	2,0+/-1,2	2,8+/-2,6	2,3+/-1,1	-
	9	2,5+/-2,1	1,8+/-0,8	2,4+/-1,1	2,1+/-1,1	-
	12	2,0+/-1,3	1,8+/-0,9	2,6+/-1,8	1,7+/-1,0	1,8+/-1,5
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
ApoB mg/dl	0	101,9+/-32,5	90,8 +/- 46,2	105,2+/- 26,9	99,3+/-29,8	146,1+/-51,5
	3	106,4+/-29,1	89,3+/-28,0	107,4+/- 37,8	103,3+/-29,0	-
	6	97,6 +/-25,5	98,7+/-26,7	105,6+/- 38,7	103,1+/-26,6	-
	9	105,4+/- 37,1	103,2+/- 24,6	117,6+/- 41,7	116,4+/-28,7	-
	12	91,6 +/-30,8	93,06+/- 25,9	103,6+/- 36,2	99,4+/-28,1	147,3+/-42,6
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Lp(a) mg/dl	0	19,7+/-21,1	28,1+/-20,9	23,8+/-28,8	22,7+/-16,9	7,13+/-6,8
	3	18,4+/-19,0	32,2+/-25,6	24,2+/-33,6	17,1+/-8,0	-
	6	17,2+/-21,7	31,7+/-20,8	25,2+/-37,2	17,2+/-10,0	-

	9	16,1+/-21,2	24,6+/-18,6	25,2+/-38,6	17,5+/-10,7	-
	12	17,1+/-23,1	25,9+/-21,5	13,5+/-7,7	15,5+/-7,9	11,5+/-11,6

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli XVI przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, triglicerydów, ApoB, Lp(a) w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XVI. Zestawienie wyników istotności różnic wartości stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL, cholesterolu LDL, triglicerydów, Apo(B), Lp(a) w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	wartość p			
Cholesterol	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,0006	<0,00001	0,00002	0,0002
12 miesięcy	0,007	0,00003	0,003	0,00007
HDL	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,00005	0,00002	0,0003	0,0002
12 miesięcy	0,0008	0,0001	0,000001	0,0001
LDL	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,0002	0,000002	0,00005	0,00003
12 miesięcy	0,006	0,0001	0,15	0,002
TG	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,0005	0,23	0,004	0,002
12 miesięcy	0,35	0,51	0,008	0,98
ApoB	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,001	0,01	0,04	0,04
12 miesięcy	0,00004	0,003	0,008	0,009
Lp(a)	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,0003	0,001	0,007	0,0002
12 miesięcy	0,71	0,06	0,16	0,12

W tabeli XVII przedstawiono wyniki porównania istotności i znamienności różnic wartości stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL, cholesterolu LDL, triglicerydów,

Apo(B), Lp(a) w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XVII. Zestawienie wyników istotności i znamienności różnic wartości stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL, cholesterolu LDL, triglicerydów, Apo(B), Lp(a) w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych (test Kruskala-Wallisa).

Parametr	Znamienność	
Cholesterol	Z	p
Początek	6,76	0,08
3 miesiące	4,03	0,23
6 miesięcy	5,01	0,17
9 miesięcy	3,91	0,26
12 miesięcy	5,74	0,12
HDL	Z	p
Początek	1,33	0,72
3 miesiące	1,22	0,74
6 miesięcy	1,80	0,60
9 miesięcy	3,11	0,37
12 miesięcy	5,69	0,12
LDL	Z	p
Początek	4,97	0,17
3 miesiące	2,36	0,53
6 miesięcy	3,34	0,34

9 miesięcy	1,96	0,57
12 miesięcy	3,94	0,26
TG	Z	p
Początek	3,11	0,37
3 miesiące	5,83	0,11
6 miesięcy	4,11	0,24
9 miesięcy	4,96	0,17
12 miesięcy	3,68	0,29
Lp(a)	Z	p
Początek	3,52	0,30
3 miesiące	2,53	0,42
6 miesięcy	2,79	0,42
9 miesięcy	2,09	0,55
12 miesięcy	3,51	0,35
ApoB	Z	p
Początek	1,71	0,63
3 miesiące	1,73	0,62
6 miesięcy	0,45	0,92
9 miesięcy	0,67	0,87
12 miesięcy	0,06	0,96

Średnie wartości stężeń cholesterolu całkowitego we wszystkich badanych grupach chorych dializowanych nie różniły się istotnie pomiędzy sobą; nie zmieniały się również w kolejnych okresach obserwacji. Były one natomiast istotnie niższe od średnich wartości w grupie kontrolnej tak na początku badania jak i po 12 miesiącach (Tab. XV-XVII). Średnie stężenia

cholesterolu HDL w badanych grupach chorych były zbliżone i nie odbiegały od wartości prawidłowych, nie zmieniały się także istotnie w trakcie obserwacji. Były one natomiast istotnie niższe w porównaniu do średnich wartości stężeń cholesterolu HDL w grupie kontrolnej zarówno na początku jak i po 12 miesiącach badania (Tab. XV-XVI). Wartości średnie stężeń cholesterolu LDL na początku obserwacji w poszczególnych badanych grupach były istotnie niższe w porównaniu z grupą kontrolną tak na początku badania jak i po 12 miesiącach obserwacji z wyjątkiem grupy III gdzie po 12 miesiącach nie stwierdzano istotnych różnic w stężeniach LDL (Tab. XV-XVI). Wartości stężeń LDL nie zmieniały się istotnie w badanych grupach chorych dializowanych podczas rocznej obserwacji. Wartości stężeń triglicerydów na początku badania były istotnie podwyższone w grupach I, III i IV w stosunku do grupy kontrolnej. Po 12 miesiącach stwierdzono istotny wzrost średniego stężenia TG w grupie III (Tab. XV-XVI). W ocenianych grupach chorych średnie wartości ApoB wahały się od 90,8 do 117,6 mg/dl i zarówno na początku, w trakcie jak i pod koniec badania nie różniły się między sobą (Tab. XVII). Były one istotnie niższe we wszystkich grupach chorych dializowanych w stosunku do wartości w grupie kontrolnej tak na początku badania jak i po 12 miesiącach (Tab. XV-XVI). Średnie wartości Lp(a) w badanych grupach chorych na początku obserwacji były istotnie wyższe od wartości obserwowanych w grupie kontrolnej. Po 12 miesiącach stwierdzono istotny spadek Lp(a) we wszystkich badanych grupach chorych i różnice pomiędzy badanymi grupami a grupą kontrolną nie były istotne (Tab. XV-XVI).

4.7 Stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂

W tabeli XVIII przedstawiono średnie wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej

(K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XVIII. Średnie wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Homocysteina μmol/l	0	26,4+/-11,8	26,2+/-9,7	24,8+/-10,3	25,5+/-9,8	12,4+/-3,1
	3	23,4+/-8,5	28,0+/-10,5	24,9+/-9,6	28,0+/-10,2	-
	6	22,3+/-7,4	27,4+/-9,3	23,2+/-10,6	31,8+/-21,5	-
	9	24,5+/-10,7	23,0+/-8,5	22,3+/-7,2	25,6+/-7,5	-
	12	21,6+/-8,5	22,9+/-7,5	19,1+/-7,9	25,7+/-10,1	13,6+/-5,4
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Kwas foliowy ng/ml	0	587,1+/- 847,5	436,6+/- 719,5	626,8+/- 822,0	738,5+/- 1010,4	15,3+/-26,5
	3	480,1+/- 608,7	515,8+/- 512,5	1283,9+/- 699,4	346,8+/- 550,1	-
	6	497,3+/- 617,3	662,3+/- 744,5	1178,4+/- 557,8	278,1+/- 378,99	-
	9	440,1+/- 698,9	659,5+/- 910,7	987,3+/- 864,4	421,7+/- 829,1	-
	12	399,5+/- 660,3	701,5+/- 1013,1	1415,8+/- 1000,6	274,5+/- 305,7	9,7+/-4,8

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
Wit. B ₁₂ ng/l	0	412,6+/- 142,5	504,2+/- 275,3	464,1+/- 235,2	328,1+/- 101,4	327,4+/- 116,9
	3	429,3+/- 212,2	433,2+/- 247,1	393,2+/- 227,1	374,1+/- 130,3	-
	6	397,1+/- 120,3	462+/- 323,1	316,7+/- 115,0	372,4+/- 181,1	-
	9	409,1+/- 137,9	331,9+/- 98,5	406,2+/- 164,2	348,3+/-98,1	-
	12	390,2+/- 197,1	273+/- 158,3	393,1+/- 174,2	329,2+/- 105,3	359,6+/- 117,5

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standartowego

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że średnie stężenie homocysteiny u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami było znamienne wyższe od wartości uzyskanych w grupie kontrolnej. Średnie stężenia homocysteiny były podwyższone przez cały okres prowadzenia badania we wszystkich czterech grupach chorych hemodializowanych (Tab. XVIII). W okresie początkowym badania średnie wartości w poszczególnych grupach badanych nie różniły się istotnie i wynosiły odpowiednio: w grupie I – 26,4 $\mu\text{mol/l}$, w grupie II – 26,2 $\mu\text{mol/l}$, w grupie III – 24,8 $\mu\text{mol/l}$ a w grupie IV – 25,5 $\mu\text{mol/l}$ (Tab. XVIII, Ryc. 1). W kolejnych miesiącach obserwacji stwierdzono spadek średniego stężenia homocysteiny w grupie I, II i III, przy czym w grupie II po 3 miesiącach badania obserwowano przejściowy jej wzrost. Najwyższy spadek stężenia homocysteiny obserwowano w grupie III, otrzymującej największe dawki kwasu foliowego. W grupie IV

stężenie homocysteiny, poza przejściowym wzrostem po 3 i 6 miesiącach nie ulegało istotnym zmianom a wartości po 9 i 12 miesiącach były prawie identyczne w stosunku do wartości wyjściowych (Tab. XVIII). Najwyższe średnie wartości stężenia kwasu foliowego stwierdzono w grupie IV. Wynosiły one odpowiednio w grupie I – 587,1 ng/ml, w grupie II – 436,6 ng/ml, w grupie III – 626,8 ng/ml, a w grupie IV – 738,5 ng/ml. W okresie obserwacji stężenia kwasu foliowego zmieniały się w poszczególnych grupach, i tak w grupie I stwierdzono spadek kwasu foliowego po 3 i 12 miesiącach, przy czym najwyższy spadek stężenia kwasu foliowego w stosunku do wartości wyjściowych obserwowano po 12 miesiącach. W grupie II stężenie kwasu foliowego wzrastało w kolejnych okresach obserwacji, tj. w 3, 6 i 9 i 12 miesiącu. W grupie III, otrzymującej kwas foliowy w najwyższej dawce (15 mg/dobę) średnie stężenie kwasu foliowego wzrastało bardzo znacznie i w 3, 6 i 12 miesiącu obserwacji osiągnęło wartości prawie 2-krotnie wyższe od wartości początkowej (Tab. XVIII).

W tabeli XIX przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂, w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XIX. Zestawienie wyników istotności różnic wartości stężeń homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	Wartość p			
HC	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,000001	<0,00001	<0,00001	<0,00001
12 miesięcy	0,00001	<0,00001	0,00001	0,00001
AF	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,01	0,06	0,003	0,003
12 miesięcy	0,02	0,0004	0,000003	0,04
Wit. B ₁₂	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,06	0,06	0,09	0,98
12 miesięcy	0,97	0,09	0,70	0,59

Chorzy, których zakwalifikowano do grupy IV mieli najwyższe początkowe wartości stężeń kwasu foliowego. W trakcie obserwacji średnie stężenie kwasu foliowego w tej grupie spadało znacznie w 3, 6, 9 i 12 miesiącu i wynosiło odpowiednio 346,8 ng/ml, 278,1 ng/ml, 421,7 ng/ml i 274,5 ng/ml., jednak różnice w stosunku do wartości wyjściowej nie osiągnęły znamienności statystycznej. W grupie III wartości średnich stężeń kwasu foliowego po 3, 6, 9 i 12 miesiącach były istotnie wyższe od wartości wyjściowych tej grupy (Tab. XIX).

W tabeli XX przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem wartości wyjściowych. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I

suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XX. Zestawienie wyników istotności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem wartości wyjściowych w poszczególnych grupach (test Wilcoxon).

Parametr	Wartość p			
HC	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
3 miesiące	0,15	0,60	0,80	0,40
6 miesięcy	0,04	0,90	0,37	0,10
9 miesięcy	0,32	0,16	0,26	0,82
12 miesięcy	0,01	0,05	0,01	0,38
AF	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
3 miesiące	0,54	0,87	0,05	0,34
6 miesięcy	0,87	0,57	0,05	0,10
9 miesięcy	0,67	0,34	0,05	0,06
12 miesięcy	0,30	0,50	0,001	0,17
wit. B ₁₂	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
3 miesiące	0,38	0,11	0,24	0,20
6 miesięcy	0,30	0,52	0,65	0,52
9 miesięcy	0,10	0,42	0,10	0,07
12 miesięcy	0,40	0,31	0,43	0,58

Średnie wartości stężenia witaminy B₁₂ we wszystkich grupach badanych mieściły się w zakresie wartości prawidłowych i nie różniły się istotnie od grupy kontrolnej. Nie zmieniały się również w kolejnych okresach obserwacji (Tab. XVIII-XX).

Średnie wartości stężenia kwasu foliowego w poszczególnych grupach po 3, 6 9, i 12 miesiącach różniły się istotnie pomiędzy sobą (Tab. XX, Ryc. 3-6).

W tabeli XXI przedstawiono wyniki porównania istotności i znamienności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂, w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

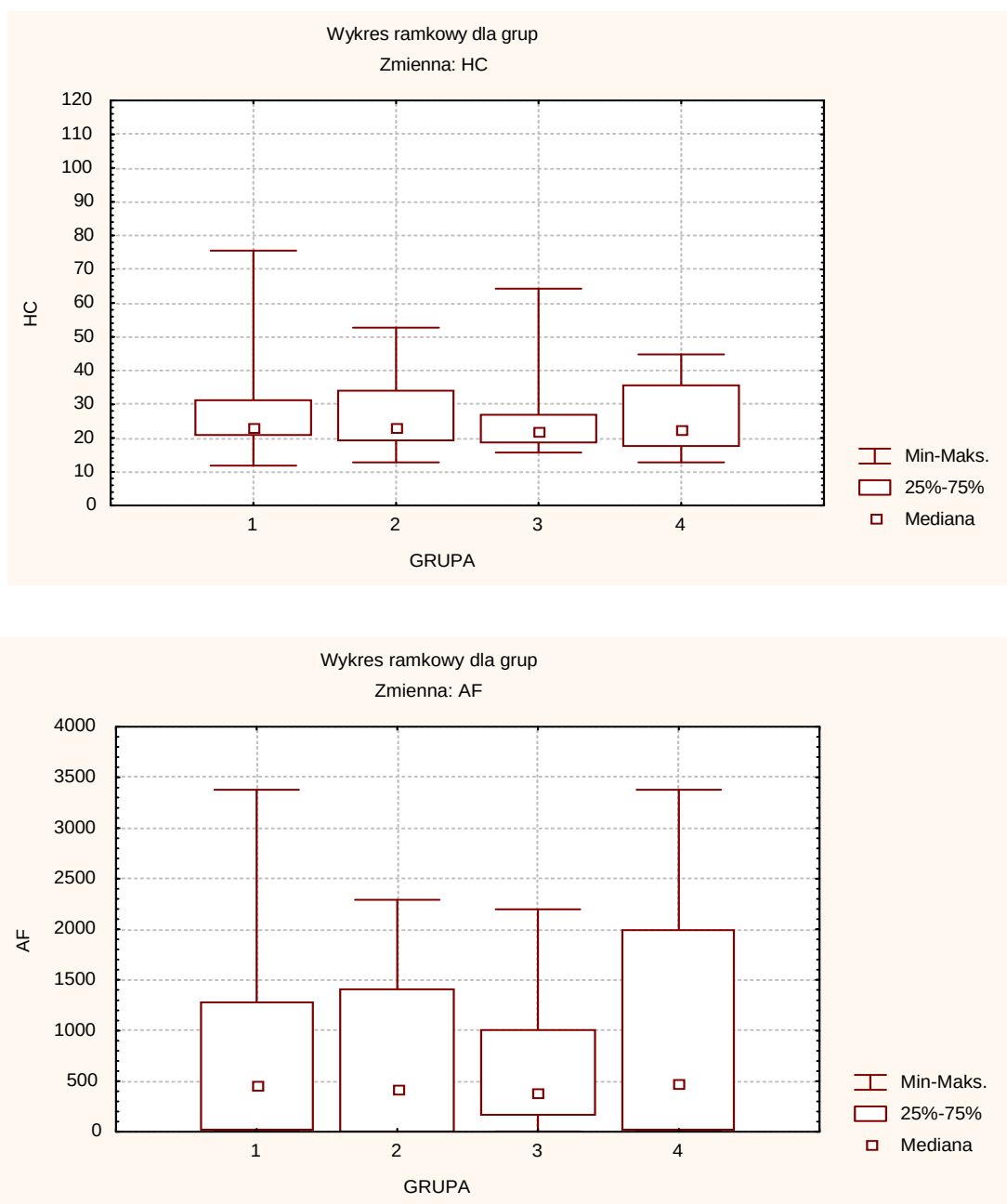
Tabela XXI. Zestawienie wyników istotności i znamienności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi obwodowej badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych (test Kruskala-Wallisa).

Parametr	Znamienność	
HC	Z	p
Początek	0,67	0,87
3 miesiące	3,78	0,28
6 miesięcy	6,22	0,10
9 miesięcy	2,57	0,46
12 miesięcy	7,96	0,05
AF	Z	p
Początek	1,93	0,58
3 miesiące	14,39	0,02
6 miesięcy	13,03	0,004
9 miesięcy	8,01	0,04
12 miesięcy	11,30	0,001
Wit. B ₁₂	Z	p
Początek	2,62	0,45
3 miesiące	0,14	0,98
6 miesięcy	0,42	0,93
9 miesięcy	1,92	0,58
12 miesięcy	1,62	0,49

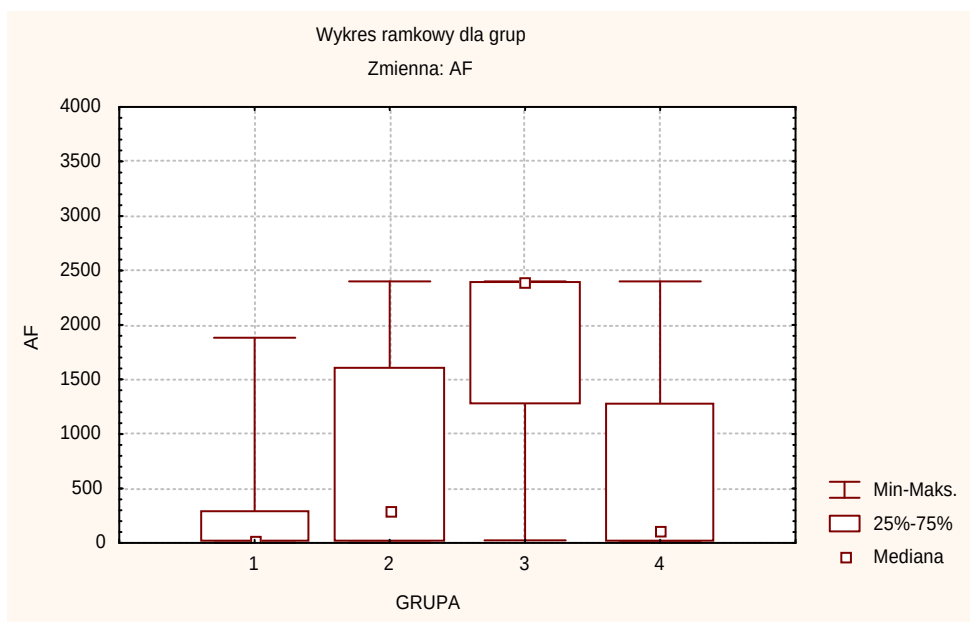
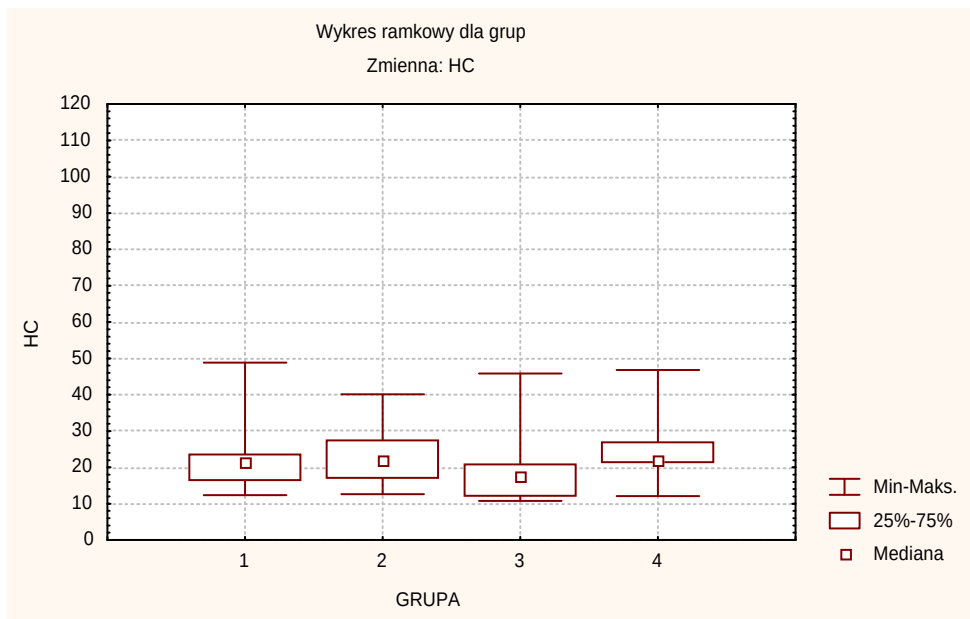
Średnie wartości stężenia homocysteiny były istotnie niższe od wartości wyjściowych w grupie I po 6 i 12 miesiącach a w grupie II i III po 12 miesiącach (Tab. XIX, Tab. XX, Tab. XXI, Ryc. 3-6). Średnie stężenie homocysteiny w grupie kontrolnej wynosiło 12,3 $\mu\text{mol/l}$ i

mieściło się w granicach normy a wartości indywidualne zarówno u kobiet jak i mężczyzn wahały się od 9,3 $\mu\text{mol/l}$ do 15,5 $\mu\text{mol/l}$. Wartości średnie w tej grupie wzrosły nieznacznie po 12 miesiącach, do 13,6 $\mu\text{mol/l}$ i wzrost ten nie był istotny statystycznie. Po 12 miesiącach obserwacji średnie stężenia homocysteiny w badanych grupach chorych dializowanych różniły się między sobą. Najwyższą różnicę zaobserwowano pomiędzy grupą III a grupą IV (Ryc. 6, Tab. XXI). Wyjściowe średnie stężenia kwasu foliowego były znacznie podwyższone we wszystkich badanych grupach chorych hemodializowanych i były one znamienne wyższe w porównaniu z grupą kontrolną (Tab. XVIII, Tab. XIX).

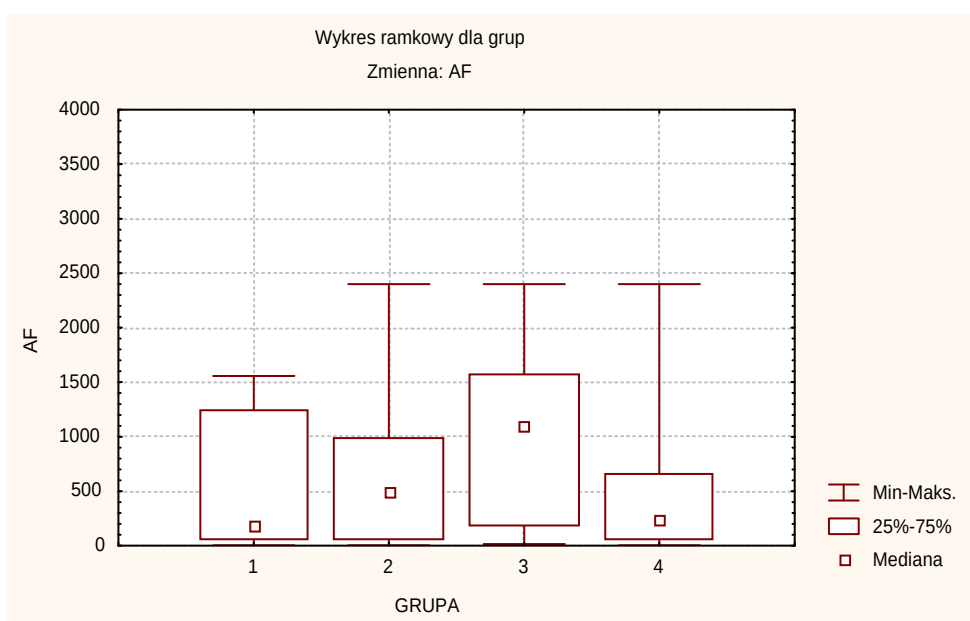
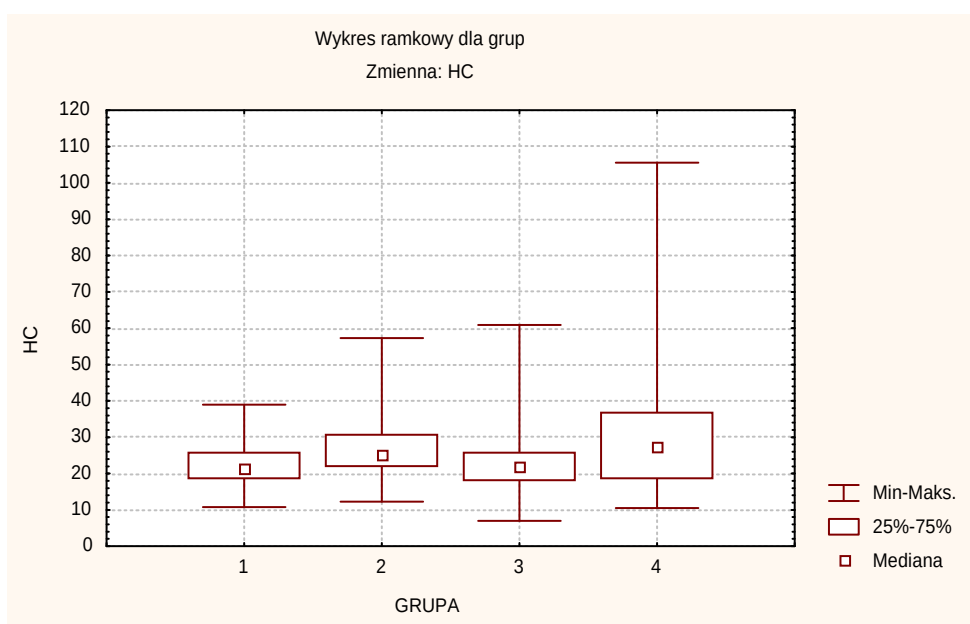
Na rycinach 2-6 przedstawiono wykresy ramkowe wartości mediany stężeń homocysteiny i kwasu foliowego w poszczególnych grupach badanych chorych w kolejnych okresach badania i po jego zakończeniu (punkt diagramu odpowiada wartości mediany).



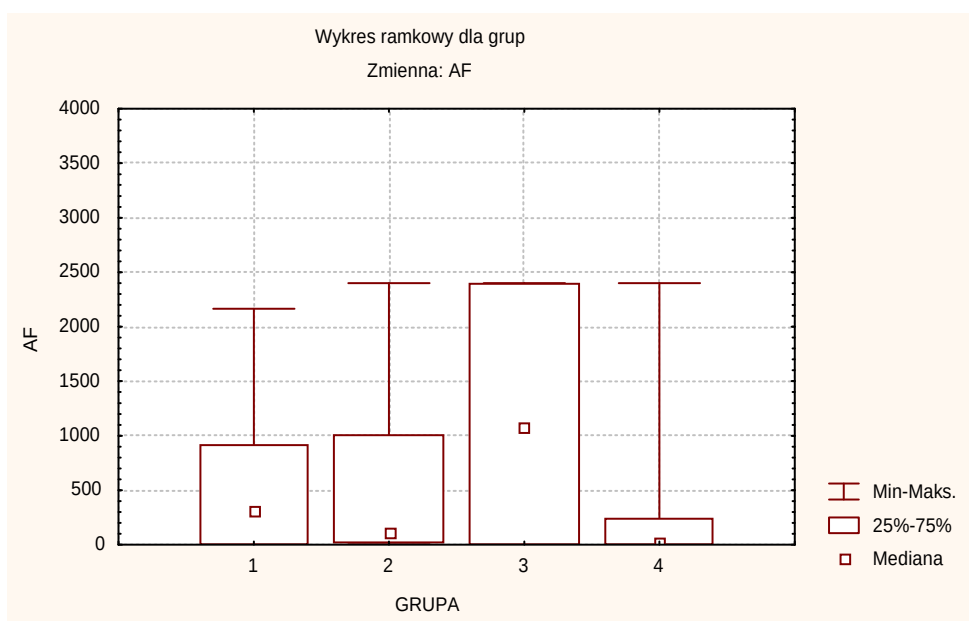
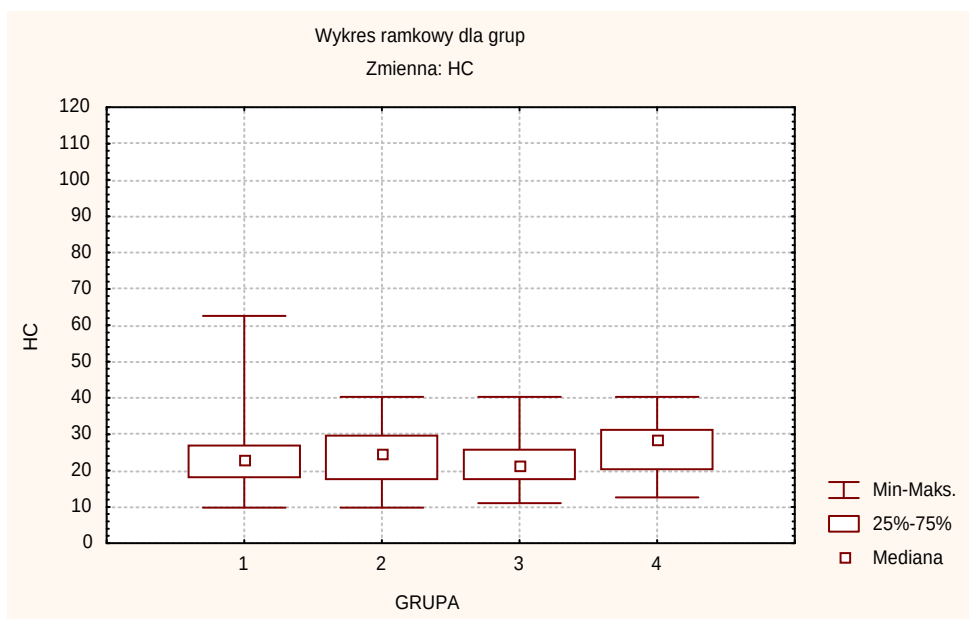
Rycina 2. Stężenia homocysteiny i kwasu foliowego w badanych grupach chorych przed rozpoczęciem badania.



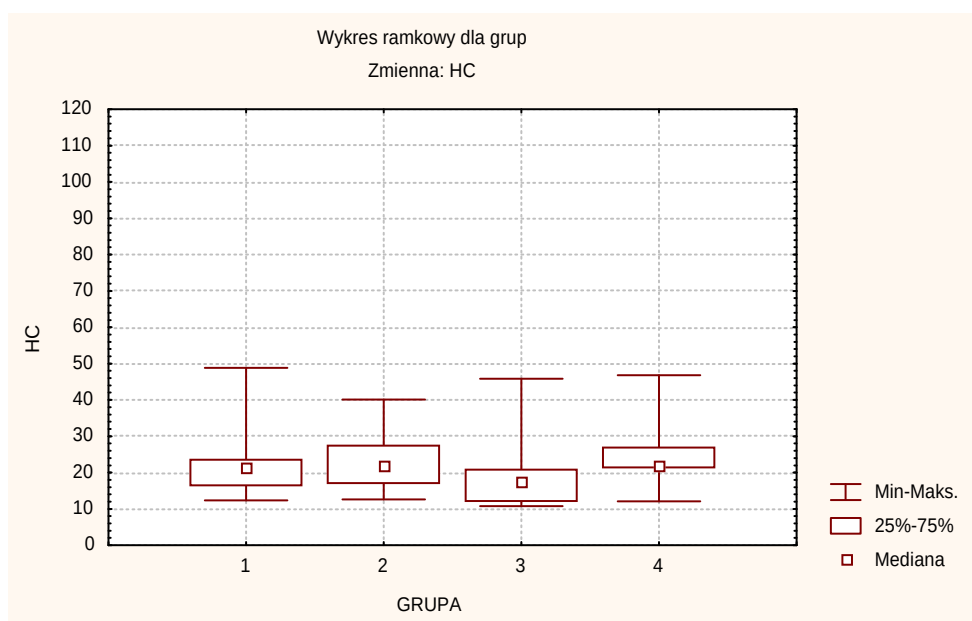
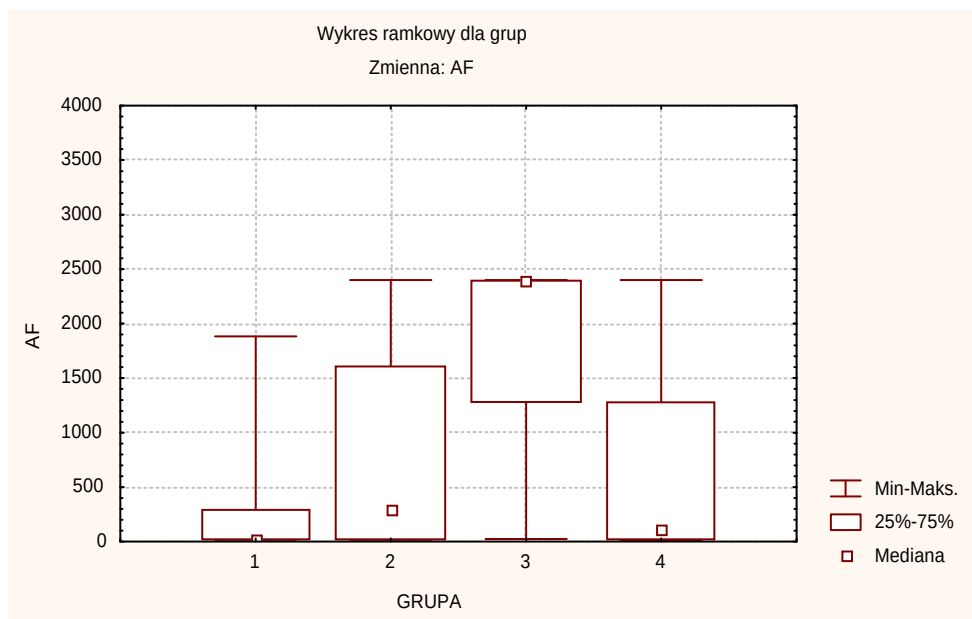
Rycina 3. Stężenia homocysteiny i kwasu foliowego po trzech miesiącach badania.



Rycina 4. Stężenia homocysteiny i kwasu foliowego po sześciu miesiącach badania



Rycina 5. Stężenia homocysteiny i kwasu foliowego po dziewięciu miesiącach badania



Rycina 6. Stężenia homocysteiny i kwasu foliowego w momencie zakończenia badania

4.8 Stężenia mocznika, kreatyniny i kwasu moczowego

W tabeli XXII przedstawiono średnie wartości stężenia mocznika, kreatyniny i kwasu moczowego w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K), oraz średnie wartości parametrów kinetycznego modelowania mocznika w badanych grupach chorych w poszczególnych okresach obserwacji. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XXII. Średnie wartości stężenia mocznika, kreatyniny, kwasu moczowego w surowicy krwi w kolejnych miesiącach badania we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K), oraz średnie wartości parametrów kinetycznego modelowania mocznika (kt/V, TAC, nPCR) w badanych grupach w poszczególnych okresach obserwacji.

Mocznik mmol/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	27,9+/-6,6	27,7+/-7,7	28,1+/-6,6	26,6+/-6,5	5,0+/-0,9
	3	26,9+/-5,8	27,2+/-5,8	27,8+/-6,8	26,7+/-5,7	-
	6	25,4+/-7,5	25,0+/-7,3	25,5+/-8,3	24,1+/-7,4	-
	9	28,3+/-6,4	27,4+/-6,8	25,7+/-5,3	27,7+/-10,2	-
12	27,2+/-6,7	25,3+/-5,6	28,1+/-9,4	23,8+/-5,1	5,8+/-1,2	
Kreatynina μmol/l		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	954,9+/- 175,4	1117,1+/- 216,4	971,3+/- 166,3	1036,0+/- 188,9	74,7+/-13,4
	3	927,5+/- 173,1	1013,7+/- 233,1	939,6+/- 194,5	1036,4+/- 232,6	-
	6	895,5+/- 162,7	1008,4+/- 216,2	916,5+/- 220,2	967,6+/- 194,8	-
	9	977,4+/- 184,6	1007,8+/- 156,3	1011,3+/- 202,2	1022,8+/- 278,3	-
	12	929,0+/- 165,3	1001,8+/- 190,7	991,4+/- 210,3	982,8+/- 235,1	68,6+/-13,2
	Kwas moczowy μmol/l		Grupa			
mies.		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
0		376,6+/-94,1	375,0+/-5,8	342,9+/-65,4	349,5+/-93,8	272,4+/-79,5

	3	372,7+/-72,9	375,7+/- 78,0	371,5+/-44,3	372,7+/-69,3	-
	6	389,7+/- 133,4	453,6+/- 431,2	344,8+/- 62,4	370,9+/- 59,8	-
	9	364,3+/-72,4	364,9+/- 80,6	352,2+/-78,0	356,5+/-70,9	-
	12	355,3+/-84,7	353,3+/- 75,9	345,9+/-77,9	359,6+/-70,9	289,4+/-94,0
	WSKAŹNIKI ADEKWATNOŚCI DIALIZY					
Kt/V		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	1,3+/-0,3	1,4+/-0,3	1,4+/-0,3	1,5+/-0,3	-
	3	1,4+/-0,2	1,4+/-0,2	1,4+/-0,3	1,4+/-0,3	-
	6	1,3+/-0,3	1,4+/-0,2	1,4+/-0,4	1,4+/-0,3	-
	9	1,4+/-0,3	1,4+/-0,3	1,5+/-0,4	1,5+/-0,2	-
	12	1,4+/-0,3	1,5+/-0,3	1,5+/-0,3	1,5+/-0,4	-
nPCR g/kg/dobę		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	1,2+/-0,4	1,2+/-0,3	1,1+/-0,3	1,1+/-0,2	-
	3	1,1+/-0,4	1,3+/-0,3	1,2+/-0,4	1,1+/-0,3	-
	6	1,3+/-0,4	1,2+/-0,8	1,1+/-0,3	1,0+/-0,3	-
	9	1,2+/-0,4	1,1+/-0,3	1,1+/-0,3	1,1+/-0,4	-
	12	1,1+/-0,4	1,0+/-0,2	1,2+/-0,5	1,1+/-0,4	-

TAC mg%BUN		Grupa				
	Mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	48,1+/-17,7	48,3+/-11,9	44,5+/-12,1	46,1+/-11,9	-
	3	42,2+/-17,9	42,1+/-13,5	40,5+/-19,9	40,2+/-12,5	-
	6	46,5+/-19,8	44,1+/-8,2	42,3+/-21,5	39,6+/-6,3	-
	9	45,2+/-12,6	45,2+/-14,3	41,0+/-27,1	41,5+/-13,3	-
	12	46,1+/-17,4	47,1+/-12,6	49,3+/-21,3	41,2+/-11,8	-

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

Średnie stężenia mocznika, kreatyniny i kwasu moczowego przedstawione w powyższej tabeli, ze zrozumiałych względów były podwyższone w stosunku do wartości w grupie kontrolnej, nie zmieniały się jednak w kolejnych okresach badania. Pacjenci byli adekwatnie dializowani a średnia wartość ich wskaźnika dializy Kt/V wahała się od 1,3 – 1,4. Również wartość wskaźnika katabolizmu białka nPCR i wartości uśrednionego stężenia mocznika w czasie TAC były na zadowalającym poziomie, stabilne i nie zmieniające się istotnie w toku badania (Tab. XXII). Oznacza to, iż hemodializę u tych pacjentów można było uznać za adekwatną i spełniającą aktualne zalecenia. Nie obserwowano znamiennych statystycznie różnic wartości tych parametrów pomiędzy grupami.

4.9 Badania echokardiograficzne oraz ABI i IMT

W tabeli XXIII przedstawiono średnie wartości wybranych parametrów echokardiograficznych: IVS, PWD, LVEDD, LVMI, EF w poszczególnych okresach obserwacji we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzalnymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i

rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XXIII. Średnie wartości wybranych parametrów echokardiograficznych: IVS, PWD, LVEDD, LVMI, EF, w poszczególnych okresach obserwacji we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

IVS cm		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	1,3+/-0,3	1,4+/-0,3	1,4+/-0,3	1,4+/-0,3	1,0+/-0,1
	6	1,3+/-0,2	1,4+/-0,3	1,3+/-0,2	1,3+/-0,3	-
	12	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	1,4+/-0,2	1,3+/-0,3	1,0+/-0,1
PWD cm		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	1,4+/-0,3	1,2+/-0,2	0,9+/-0,1
	6	1,1+/-0,3	1,3+/-0,2	1,2+/-0,2	1,2+/-0,2	-
	12	1,2+/-0,2	1,2+/-0,2	1,3+/-0,2	1,2+/-0,2	0,9+/-0,1
LVEDD cm		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	4,8+/-0,7	5,0+/-0,6	4,8+/-0,9	4,8+/-0,8	3,8+/-0,4
	6	4,9+/-0,6	5,0+/-0,7	5,2+/-0,7	5,1+/-0,8	-
	12	5,0+/-0,6	4,9+/-0,7	5,0+/-0,7	5,0+/-0,7	3,9+/-0,4
LVMI g/m ²		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	155,7+/-58,0	179,5+/-81,4	189,1+/-95,8	161,5+/-69,8	106,9+/- 14,8
	6	145,3+/-43,2	156,9+/-41,7	146,2+/-42,8	139,6+/-34,4	-
	12	141,9+/-37,3	150,0+/-42,2	144,0+/-46,5	136,2+/-36,6	112,8+/- 16,4

EF %		Grupa				
	mies.	HD I	HD II	HD III	HD IV	K
	0	65,2+/-9,8	67,1+/-10,2	63,9+/-9,5	67,3+/-9,9	69,1+/-3,9
	6	65,4+/-9,2	63,3+/-9,4	62,7+/-11,6	66,3+/-8,4	-
	12	62,7+/-9,3	63,3+/-7,8	65,8+/-10,6	67,1+/-9,6	69,4+/-3,4

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli XXIV przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wybranych wartości badania echokardiograficznego (IVS, PWD, LVEDD, LVMI, EF) badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XXIV. Zestawienie wyników istotności różnic wybranych wartości badania echokardiograficznego (IVS, PWD, LVEDD, LVMI, EF) badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney'a).

Parametr	Wartość p			
IVS	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	0,00003	0,000003	0,000005	0,00001
12 miesięcy	0,00007	0,0001	0,000002	0,00003
PWD	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	<0,000001	<0,000001	<0,000001	0,00001
12 miesięcy	0,00001	<0,000001	0,000001	0,0002
LVEDD	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	<0,000001	<0,000001	0,00001	0,00001
12 miesięcy	<0,000001	0,000001	<0,000001	0,000001
LVMI	grupa I	grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	0,00003	0,00009	0,00002	0,002
12 miesięcy	0,002	0,0001	0,008	0,05
EF	grupa I	Grupa II	Grupa III	grupa IV
Początek	0,04	0,86	0,06	0,76
12 miesięcy	0,001	0,002	0,49	0,04

W tabeli XXVI przedstawiono średnie wartości wskaźników miażdżycy – IMT i ABI w poszczególnych okresach obserwacji we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K). Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XXV. Średnie wartości wskaźników rozwoju miażdżycy - IMT i ABI w poszczególnych okresach obserwacji we wszystkich grupach chorych leczonych powtarzanymi hemodializami (I-IV) oraz w grupie kontrolnej (K).

	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
IMT mm	0	0,8+/-0,3	0,7+/-0,2	0,7+/-0,3	0,8+/-0,3	0,518+/-0,08
	6	0,7+/-0,2	0,7+/-0,2	0,7+/-0,3	0,7+/-0,3	-
	12	0,7+/-0,2	0,7+/-0,2	0,7+/-0,3	0,7+/-0,3	0,526+/-0,06
	mies.	Grupa				
		HD I	HD II	HD III	HD IV	K
ABI	0	1,1+/-0,3	1,1+/-0,3	1,3+/-0,3	1,1+/-0,3	1,11+/-0,9
	6	1,2+/-0,3	1,1+/-0,3	1,3+/-0,3	1,1+/-0,3	-
	12	1,1+/-0,3	1,1+/-0,3	1,2+/-0,3	1,1+/-0,2	1,11+/-0,08

Znakiem +/- oznaczono wartość odchylenia standardowego

W tabeli XXV przedstawiono wyniki porównania istotności różnic wybranych wskaźników rozwoju miażdżycy – IMT i ABI badanych chorych w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym i rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO ani kwasu foliowego.

Tabela XXVI. Zestawienie wyników istotności różnic wskaźników rozwoju miażdżycy – IMT i ABI w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej (test Manna-Whitney’a).

Parametr	Wartość p			
IMT	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	<0,000001	0,00007	0,0001	0,0006
12 miesiące	0,000008	0,004	0,0003	0,0006
ABI	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,6	0,9	0,11	0,71
12 miesiące	0,98	0,2	0,07	0,10

W tabeli XXVII dokonano porównania istotności różnic wartości wskaźników rozwoju miażdżycy LVMI, IMT, ABI w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem grupy kontrolnej. Grupy II i III otrzymywały suplementację kwasem foliowym ni rHuEPO, grupa I suplementowana była tylko rHuEPO a grupa IV nie otrzymywała rHuEPO i kwasu foliowego.

Tabela XXVII. Zestawienie wyników istotności różnic wartości wskaźników rozwoju miażdżycy LVMI, IMT, ABI w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych względem wartości wyjściowych w poszczególnych grupach (test Wilcoxona).

Parametr	Wartość p			
LVMI	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
6 miesięcy	0,77	0,81	0,03	0,49
12 miesięcy	0,44	0,19	0,03	0,08
IMT	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
6 miesięcy	0,55	0,17	0,65	0,86
12 miesięcy	0,42	0,12	0,07	0,42
ABI	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
6 miesięcy	0,27	0,72	0,70	0,61
12 miesięcy	0,87	0,96	0,82	0,69

Średnia grubość lewej przegrody międzykomorowej (IVS), tylnej ściany lewej komory (PWD), wymiar końcowo-rozkurczowy lewej komory (LVEDD) i wskaźnik masy lewej komory (LVMI) były znamienne wyższe w stosunku do grupy kontrolnej zarówno na początku jak na końcu badania. (Tab. XXIII-XXIV). Frakcja wyrzutowa różniła się istotnie pomiędzy grupą I a grupą kontrolną na początku i na końcu badania. W pozostałych grupach, tj. II, III i IV nie stwierdzono istotnych różnic w stosunku do grupy kontrolnej na początku badania. Różnice pojawiły się w 12 miesiącu w grupie II i IV. W zakresie LVMI we wszystkich grupach chorych obserwowano spadek wartości indeksu masy w stosunku do wartości wyjściowych w 6 i 12 miesiącu. Był on znamieny w grupie III w 6 i 12 miesiącu w stosunku do wartości wyjściowych (Tab. XXIII i XXVII). Średnie wartości grubości ściany tętnicy szyjnej i wskaźnika kostkowo-ramiennego przedstawiono w tabelach XXV i XXVI. Wartości IMT w badanych grupach chorych były istotnie wyższe w stosunku do grupy

kontrolnej na początku i po 12 miesiącach badania. Natomiast wskaźnik ABI nie wykazywał istotnych różnic w stosunku do grupy kontrolnej jak również pomiędzy grupach chorych (Tab. XXVII). Wartości IMT i ABI nie zmieniały się istotnie we w badanych grupach chorych w 6 i 12 miesiącu.

4.10. Analiza korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wybranymi parametrami w poszczególnych badanych grupach.

Korelacja pomiędzy stężeniem homocysteiny a wartościami morfologii krwi obwodowej

W tabeli XXVIII przedstawiono korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wartościami morfologii krwi obwodowej w badanych grupach pacjentów.

Tabela XXVIII. Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wartościami morfologii krwi obwodowej: hematokrytem, stężeniem hemoglobiny i liczbą leukocytów w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych.

Parametr	Grupa			
Ht	grupa I	grupa II	grupa III	Grupa IV
Początek	-0,10	0,10	-0,47*	-0,14
3 miesiące	-0,04	0,23	-0,48*	-0,14
6 miesięcy	-0,05	0,08	0,18	-0,03
9 miesięcy	-0,13	0,07	0,21	-0,08
12 miesięcy	-0,25	0,10	0,23	-0,16
Hb	grupa I	grupa II	grupa III	Grupa IV
Początek	0,01	0,03	-0,47*	-0,19
3 miesiące	-0,06	-0,31	-0,44	-0,18
6 miesięcy	-0,05	0,08	0,14	-0,04
9 miesięcy	-0,12	0,06	0,18	-0,06
12 miesięcy	-0,22	0,11	0,19	-0,13
Erytrocyty	grupa I	grupa II	grupa III	Grupa IV
Początek	-0,11	-0,07	-0,50*	-0,09
3 miesiące	-0,07	0,15	-0,57*	-0,07

6 miesięcy	-0,01	-0,01	0,06	-0,04
9 miesięcy	-0,14	0,07	0,24	-0,07
12 miesięcy	-0,30	0,12	0,25	-0,15

Wykazano ujemną korelację pomiędzy wartościami stężeń homocysteiny a wartościami morfologii krwi w grupie III na początku i po 3 miesiącach badania (Tab. XXVIII).

Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami gospodarki lipidowej

W tabeli XXIX przedstawiono korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny w wskaźnikami gospodarki lipidowej w badanych grupach pacjentów.

Tabela XXIX. Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami gospodarki lipidowej w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych.

Parametr	Grupa			
Chol. całk.	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,10	0,08	0,20	-0,17
3 miesiące	0,15	-0,03	-0,30	0,17
6 miesięcy	0,38	0,33	-0,35	0,44
9 miesięcy	-0,06	-0,09	0,04	-0,21
12 miesięcy	0,03	0,25	-0,06	-0,56*
HDL	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,07	-0,19	0,24	0,08
3 miesiące	0,38	-0,02	-0,02	0,02
6 miesięcy	0,30	-0,17	-0,03	-0,16
9 miesięcy	0,19	-0,13	0,37	0,10

12 miesięcy	0,37	0,25	0,27	0,15
LDL	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,14	0,11	0,17	-0,17
3 miesiące	0,12	-0,23	-0,37	-0,13
6 miesięcy	0,35	-0,51*	-0,38	0,37
9 miesięcy	0,06	-0,04	0,10	-0,24
12 miesięcy	0,01	0,03	-0,06	-0,60*
TG	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	-0,09	0,15	0,02	-0,24
3 miesiące	-0,08	0,45*	0,27	-0,01
6 miesięcy	-0,14	0,28	-0,11	0,39
9 miesięcy	-0,24	-0,01	-0,17	-0,27
12 miesięcy	-0,29	0,25	-0,13	0,01
ApoB	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,46	0,58	-0,60	0,49
3 miesiące	0,01	0,04	0,42	0,44
6 miesięcy	-0,30	0,30	-0,02	-0,16
9 miesięcy	0,07	0,07	-0,15	-0,19
12 miesięcy	-0,43	-0,43	-0,18	-0,20
Lp(a)	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,25	-0,48	0,07	0,60
3 miesiące	-0,18	-0,05	0,20	0,26
6 miesięcy	-0,24	-0,30	-0,25	0,42
9 miesięcy	-0,30	-0,30	-0,02	-0,16

12 miesięcy	-0,12	-0,61	0,11	0,16
-------------	-------	-------	------	------

Analizując wyniki opisujące gospodarkę lipidową wykazano ujemną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniami cholesterolu całkowitego i stężeniami cholesterolu LDL w grupie IV po 12 miesiącach obserwacji (Tab. XXIX). Stwierdzono również ujemną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniem cholesterolu LDL i stężeniem TG w grupie II odpowiednio w 6 i 3 miesiącu badania.

Korelacje pomiędzy stężeniami homocysteiny a badaniami ECHO, IMT i ABI w badanych grupach pacjentów

W tabeli XXX przedstawiono korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a IMT w badanych grupach pacjentów.

Tabela XXX. Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a IMT w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach pacjentów.

Parametr	Grupa			
IMT	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,20	0,20	0,02	0,29
6 miesięcy	0,07	0,07	0,16	0,10
12 miesięcy	0,13	0,16	-0,42	0,33

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikiem IMT (Tab. XXX).

W tabeli XXXI przedstawiono wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a ABI w badanych grupach pacjentów.

Tabela XXXI. Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a ABI w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych.

Parametr	Grupa			
ABI	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,02	-0,06	0,42*	-0,17
6 miesięcy	0,15	-0,05	0,16	0,45
12 miesięcy	0,11	0,07	0,13	-0,41

Stężenie homocysteiny korelowało natomiast ze wskaźnikiem ABI w grupie III na początku badania (Tab. XXXI).

W tabeli XXXII przedstawiono wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a LVMI w badanych grupach pacjentów.

Tabela XXXII. Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a LVMI w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych.

Parametr	Grupa			
LVMI	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	-0,05	-0,10	0,53**	-0,38
6 miesięcy	-0,25	0,15	0,14	0,18
12 miesięcy	-0,34	-0,09	0,02	-0,19

Dodatnią korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikiem masy lewej komory wykazano na początku badania w grupie III (Tab. XXXII).

Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami gospodarki wapniowo-fosforanowej i PTH

W tabeli XXXIII przedstawiono wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny w wskaźnikami gospodarki wapniowo-fosforanowej i stężeniami PTH.

Tabela XXXIII. Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami gospodarki wapniowo-fosforanowej i stężeniami PTH w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych.

Parametr	Grupa			
Ca całkow.	grupa I	grupa II	grupa III	Grupa IV
Początek	0,04	-0,26	0,16	0,13
3 miesiące	0,01	-0,15	0,21	0,03
6 miesięcy	0,14	-0,19	0,34	0,13
9 miesięcy	0,14	-0,24	0,02	-0,03
12 miesięcy	0,04	-0,04	0,30	-0,04
p	grupa I	grupa II	grupa III	Grupa IV
Początek	0,11	0,21	-0,19	-0,30
3 miesiące	-0,12	0,32	-0,37	0,08
6 miesięcy	0,01	0,23	-0,30	-0,11
9 miesięcy	0,09	-0,09	-0,21	-0,57*
12 miesięcy	-0,08	0,11	-0,24	-0,07

PTH	grupa I	grupa II	grupa III	Grupa IV
Początek	0,47*	0,29	-0,28	0,08
3 miesiące	0,35	0,25	-0,10	-0,13
6 miesięcy	-0,34	-0,04	0,09	-0,22
9 miesięcy	0,21	0,07	0,02	-0,44
12 miesięcy	0,36	-0,07	-0,23	0,23

W zakresie wskaźników gospodarki wapniowo-fosforanowej stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniem fosforu w grupie IV po 9 miesiącach badania oraz pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniem iPTH w grupie I na początku obserwacji (Tab. XXXIII).

Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami adekwatności dializy

W tabeli XXXIV przedstawiono wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikiem adekwatności dializy Kt/V

Tabela XXXIV. Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikiem adekwatności dializy Kt/V w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych.

Parametr	Grupa			
Kt/V	grupa I	Grupa II	grupa III	Grupa IV
Początek	-0,19	0,05	-0,43*	0,21
3 miesiące	-0,42*	0,24	0,09	0,28
6 miesięcy	-0,40	0,38	0,17	0,25
9 miesięcy	-0,01	0,30	-0,21	-0,30
12 miesięcy	-0,35	0,17	-0,37	-0,61*

Wykazano także ujemną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikiem adekwatności dializy Kt/V. Wystąpiły one w grupie I po 3 miesiącach, w grupie III na początku badania oraz w grupie IV po 12 miesiącach (Tab. XXXIV).

Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami stanu odżywienia opisywanym poprzez stężenia białka całkowitego, albuminy oraz przez wartość nPCR

W tabeli XXXV przedstawiono wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami stanu odżywienia.

Tabela XXXV. Wyniki korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wskaźnikami stanu odżywienia w kolejnych badaniach i w poszczególnych grupach chorych.

Parametr	Grupa			
Białko całk.	grupa I	Grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	-0,02	0,02	-0,01	0,26
3 miesiące	-0,06	0,1	-0,16	0,01
6 miesięcy	-0,23	0,26	-0,09	0,11
9 miesięcy	-0,16	-0,13	-0,33	-0,18
12 miesięcy	-0,15	0,11	-0,16	0,03
Albumina	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	0,02	0,22	-0,27	-0,17
3 miesiące	0,03	-0,41	0,21	-0,13
6 miesięcy	0,28	0,36	0,22	-0,21
9 miesięcy	-0,02	-0,45*	0,21	0,31
12 miesięcy	0,01	0,26	0,17	-0,50*

Cr	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV
Początek	-0,21	-0,07	0,17	-0,18
3 miesiące	-0,10	-0,29	-0,09	0,34
6 miesięcy	-0,23	-0,11	-0,12	-0,23
9 miesięcy	-0,23	0,18	-0,26	-0,41
12 miesięcy	0,12	0,12	-0,21	-0,07

Stężenie homocysteiny korelowało z wskaźnikami stanu odżywienia. Stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniem albuminy w grupie II po 9 miesiącach i w grupie IV po 12 miesiącach (Tab. XXXV).

4.11 Analiza śmiertelności i chorobowości pacjentów podczas 96 miesięcy obserwacji.

Podczas 8-letniej obserwacji zmarło 43 pacjentów, w tym 27 (62,7% wszystkich zmarłych) z przyczyn sercowo naczyniowych, a 57 zakończyło obserwację. Podczas tego okresu 72 pacjentów wymagało hospitalizacji, z czego 31 z przyczyn sercowo naczyniowych. W tabeli XXXVI dokonano porównania znamienności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi obwodowej badanych chorych, pomiędzy pacjentami, którzy zmarli i pacjentami, którzy zakończyli okres obserwacji.

Tab. XXXVI. Znamienność różnic stężeń homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ pomiędzy pacjentami, którzy zmarli i pacjentami, którzy zakończyli okres obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
Homocysteina	U	p
Średnie stężenie	1047	0,27
Kwas foliowy	U	p
Średnie stężenie	1050	0,55

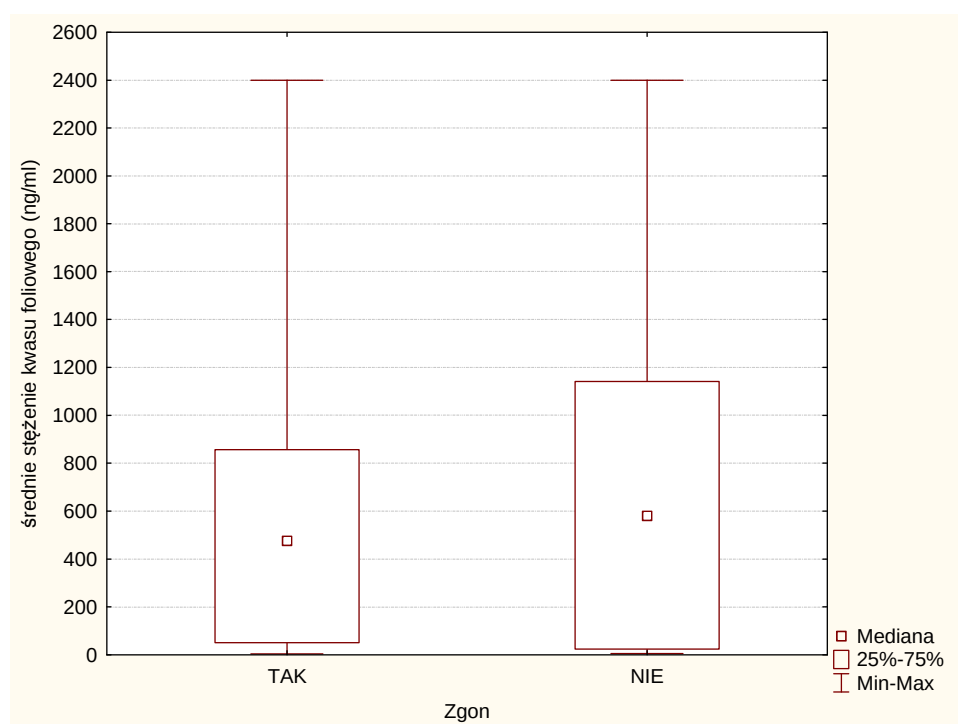
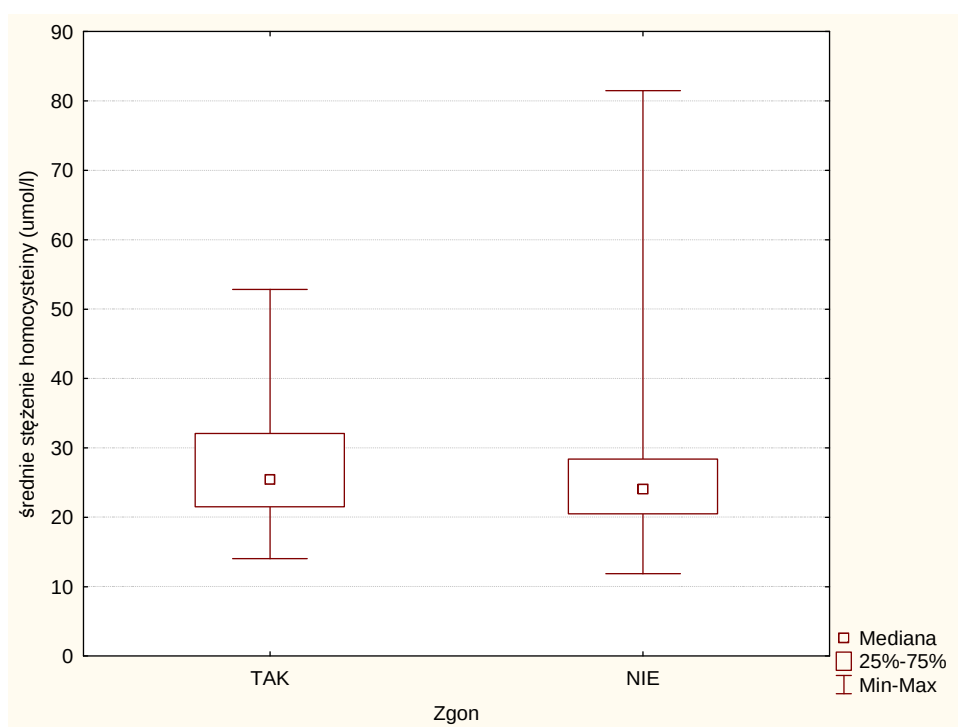
Nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w stężeniu homocysteiny i kwasu foliowego pomiędzy pacjentami, którzy zmarli i pacjentami, którzy zakończyli okres obserwacji.

W tabeli XXXVII dokonano porównania znamienności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w surowicy krwi obwodowej badanych chorych, pomiędzy pacjentami, którzy zmarli z przyczyn sercowo-naczyniowych i pacjentami, którzy zakończyli obserwację.

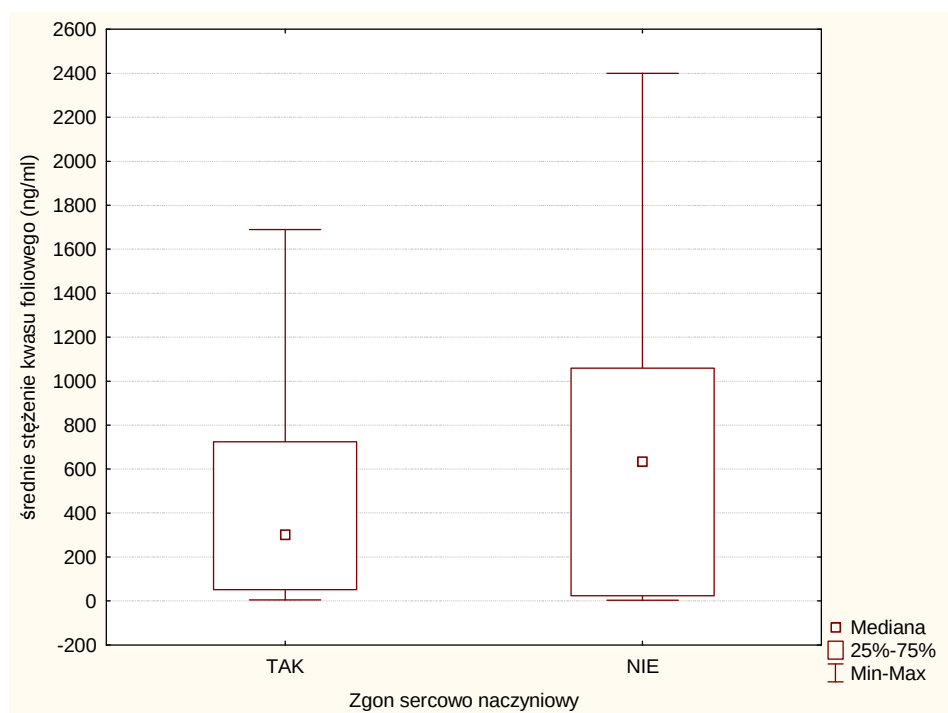
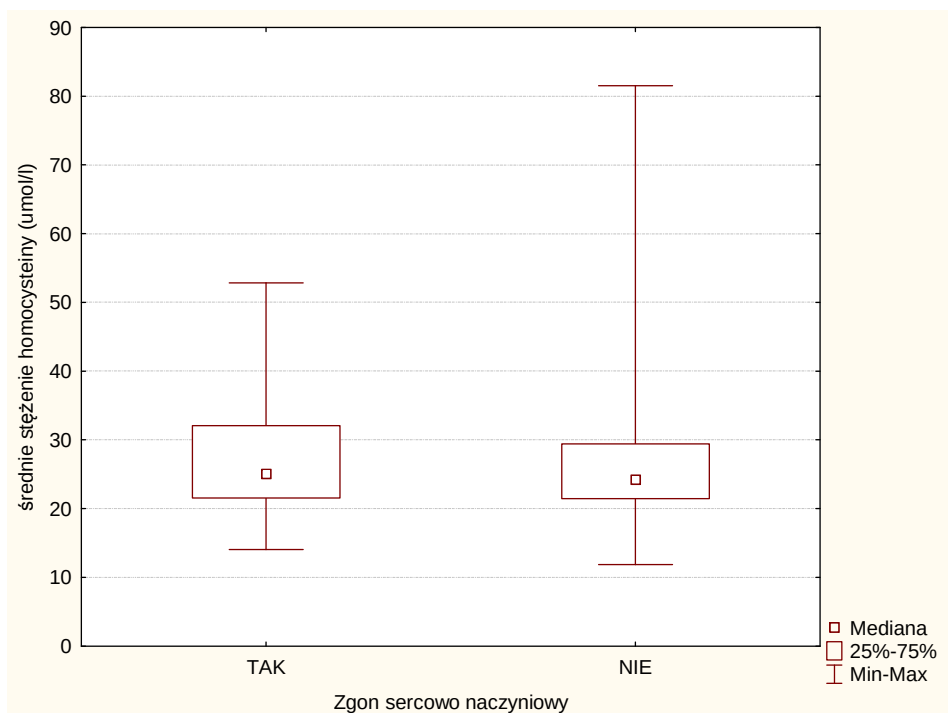
Tab. XXXVII. Znamienność różnic stężeń homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ pomiędzy pacjentami, którzy zmarli z przyczyn sercowo naczyniowych i pacjentami, którzy zakończyli okres obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
Homocysteina	U	p
Średnie stężenie	914	0,58
Kwas foliowy	U	p
Średnie stężenie	834	0,41

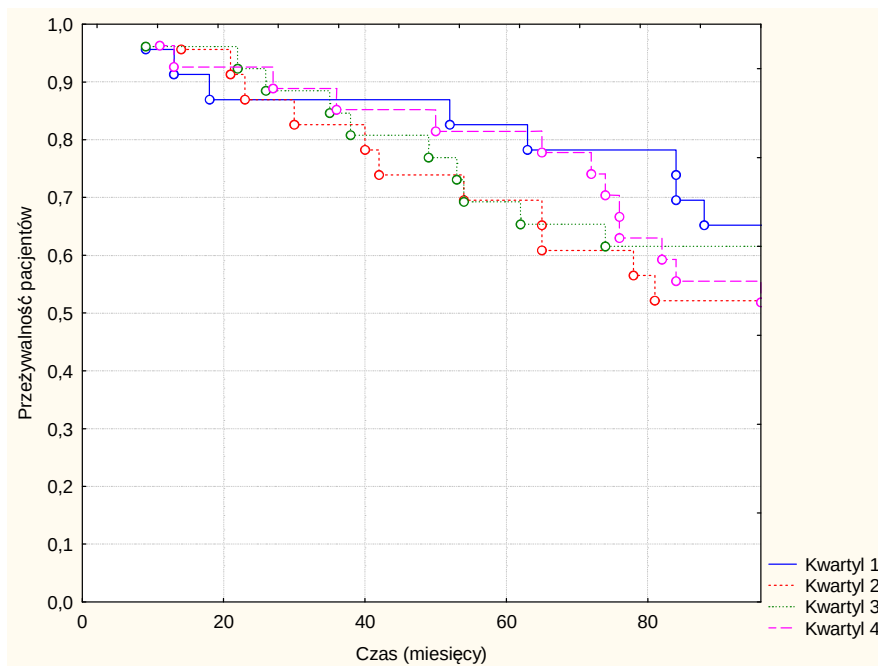
Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w stężeniu homocysteiny i kwasu foliowego pomiędzy pacjentami, którzy zmarli z przyczyn sercowo-naczyniowych i pacjentami, którzy zakończyli okres obserwacji.



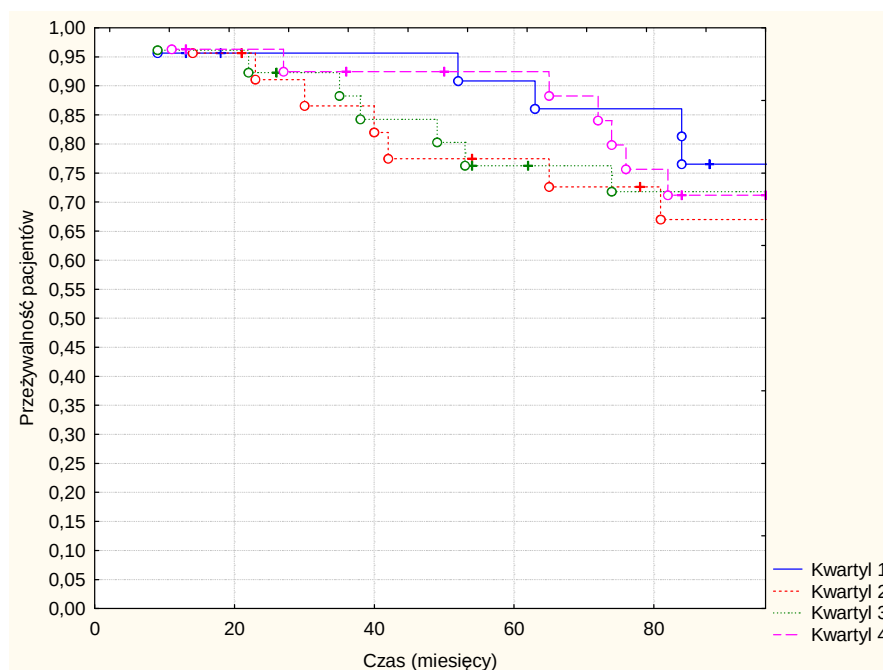
Rycina 7. Średnie stężenia homocysteiny i kwasu foliowego u pacjentów, którzy zmarli i u pacjentów, którzy ukończyli obserwację. Punkt w diagramie słupkowym oznacza wartość mediany.



Rycina 8. Średnie stężenia homocysteiny i kwasu foliowego u pacjentów, którzy zmarli z przyczyn sercowo-naczyniowych i u pacjentów, którzy ukończyli obserwację. Punkt w diagramie słupkowym oznacza wartość mediany.

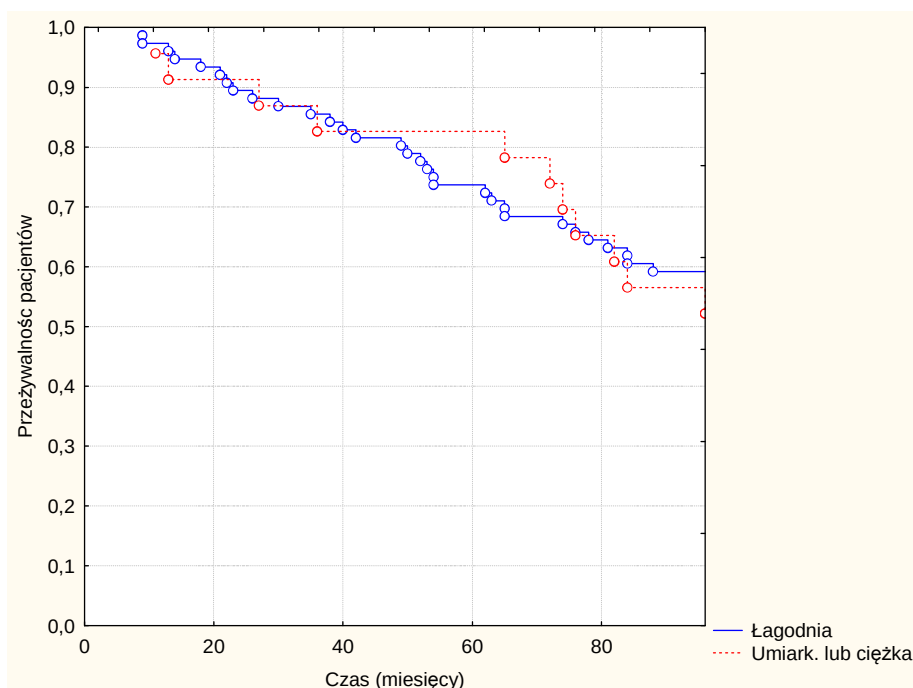


Rycina 9. Krzywe Kaplana-Meiera przeżywalności chorych leczonych nerkozastępczo powtarzanymi hemodializami w okresie ośmioletniej obserwacji w zależności od kwartyła średniego stężenia homocysteiny ($p=0,2$)

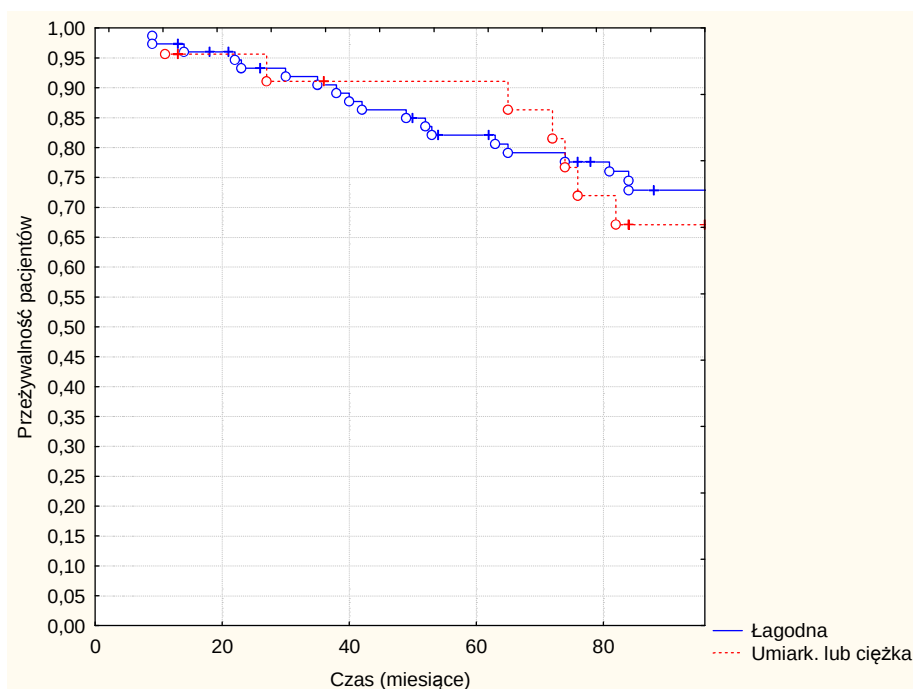


Rycina 10. Krzywe Kaplana-Meiera przeżywalności chorych leczonych nerkozastępczo (zgony sercowo-naczyniowe) w okresie ośmioletniej obserwacji w zależności od kwartyła średniego stężenia homocysteiny.

Nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w śmiertelności ogólnej i z przyczyn sercowo-naczyniowych z zależności od stężenia homocysteiny.

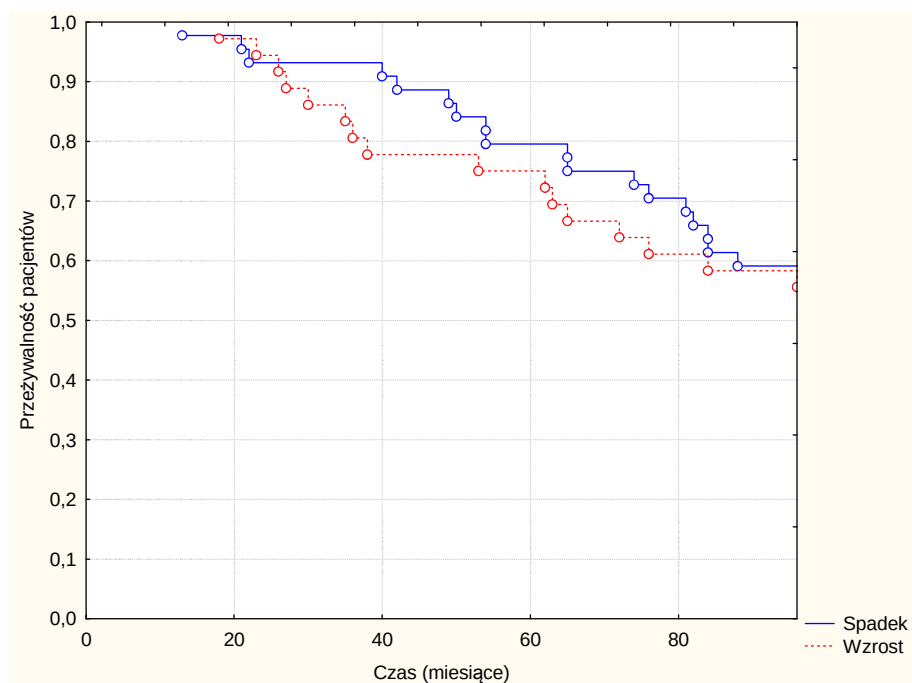


Rycina 11. Przeżywalność pacjentów w zależności od nasilenia hiperhomocysteinemii (łagodna vs. umiarkowana lub ciężka $p=0,88$)

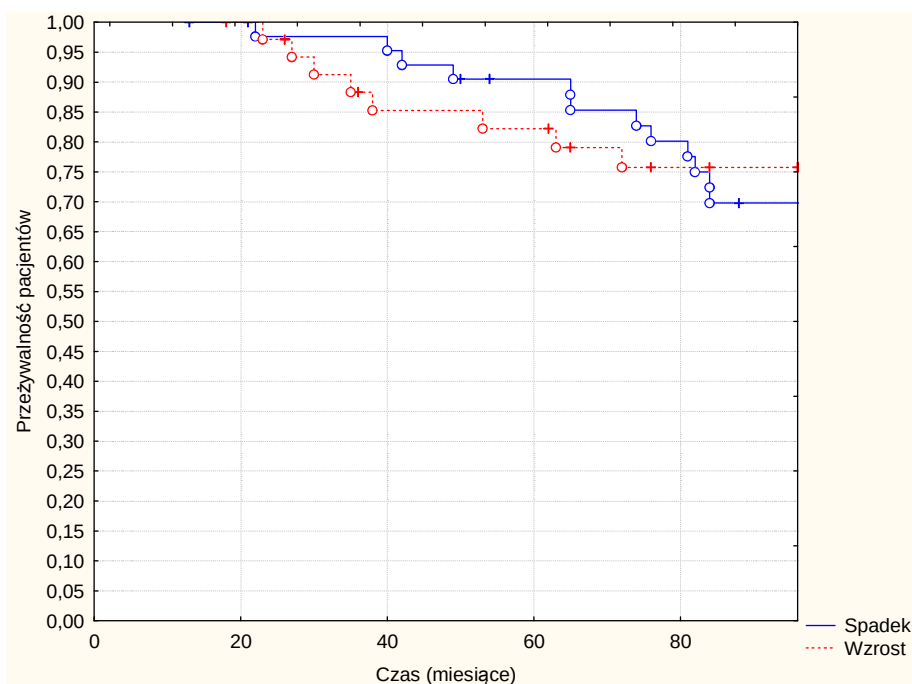


Rycina 12. Przeżywalność pacjentów (zgony sercowo-naczyniowe) w zależności od nasilenia hiperhomocysteinemii (łagodna vs. Umiarkowana lub ciężka $p=0,88$).

Nie stwierdzono znamiennej statystycznie różnic w śmiertelności ogólnej i z przyczyn sercowo-naczyniowych z zależności od nasilenia hiperhomocysteinemii.

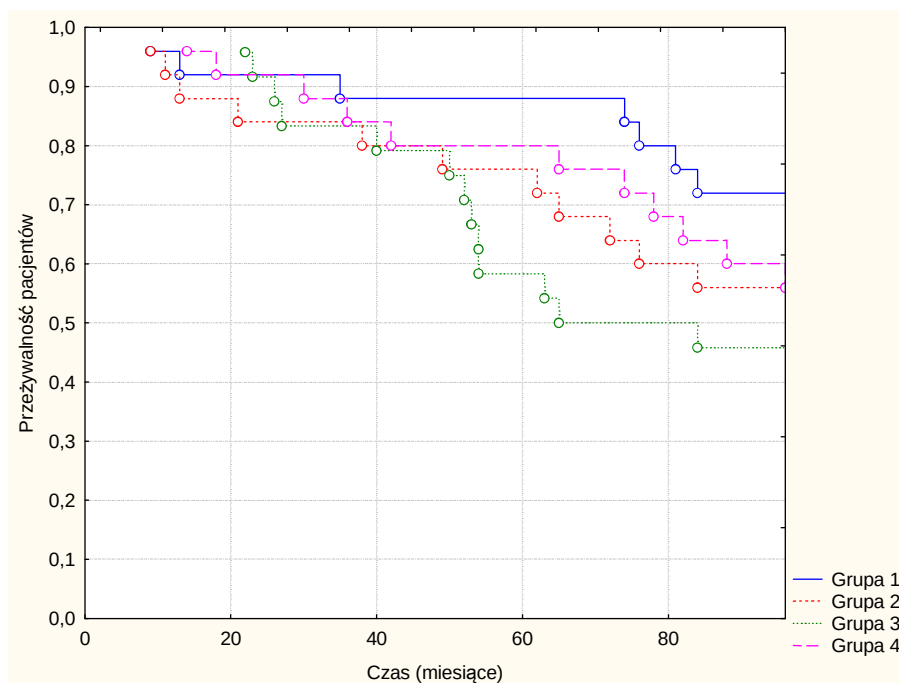


Rycina 13. Przeżywalność pacjentów w zależności od zmian stężenia homocysteiny podczas 12 miesięcznej obserwacji (spadek vs. wzrost stężenia $p=0,45$)

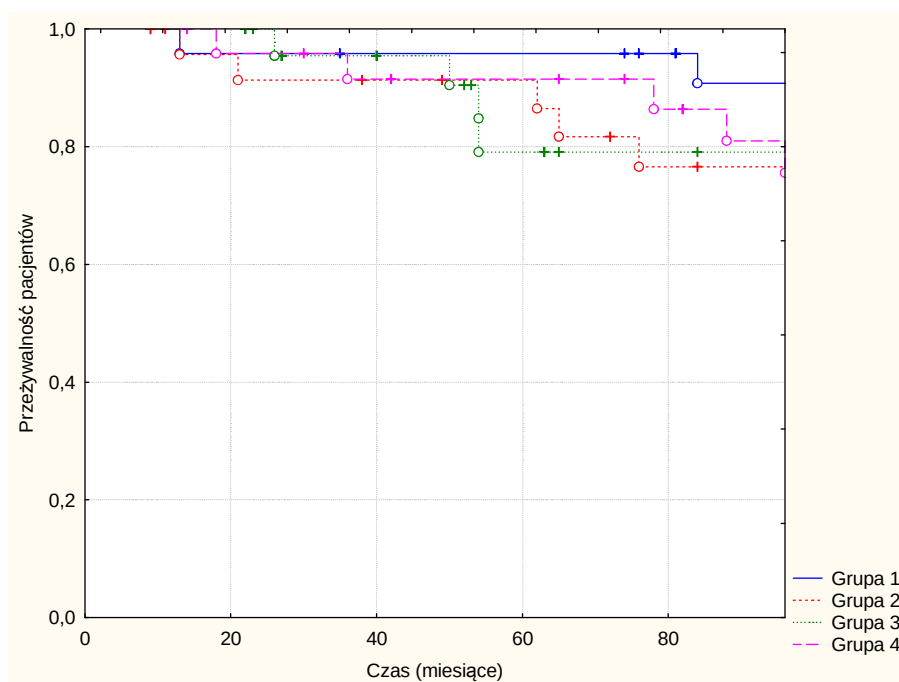


Rycina 14. Przeżywalność pacjentów (zgony sercowo naczyniowe) w zależności od zmian stężenia homocysteiny podczas 12 mies. obserwacji (spadek vs. wzrost stężenia, $p=0,82$).

Nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w śmiertelności ogólnej i z przyczyn sercowo-naczyniowych z zależności od zmian stężenia homocysteiny (wzrost vs. spadek).



Ryc. 15. Przeżywalność pacjentów w zależności od grupy badawczej ($p=0,28$).



Rycina 16. Przeżywalność pacjentów (zgony sercowo naczyniowe) w zależności od grupy badawczej ($p=0,57$).

Nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w przeżywalności pacjentów (śmiertelność ogólnej i z przyczyn sercowo-naczyniowych) z zależności od badanej grupy.

W tabeli XXXVIII przedstawiono wyniki porównania znamienności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi i niehospitalizowanymi podczas obserwacji.

Tab. XXXVIII. Znamienność różnic stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi i niehospitalizowanymi podczas obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
Homocysteina	U	p
Średnie stężenie	871	0,33
Kwas foliowy	U	p
Średnie stężenie	729	0,08

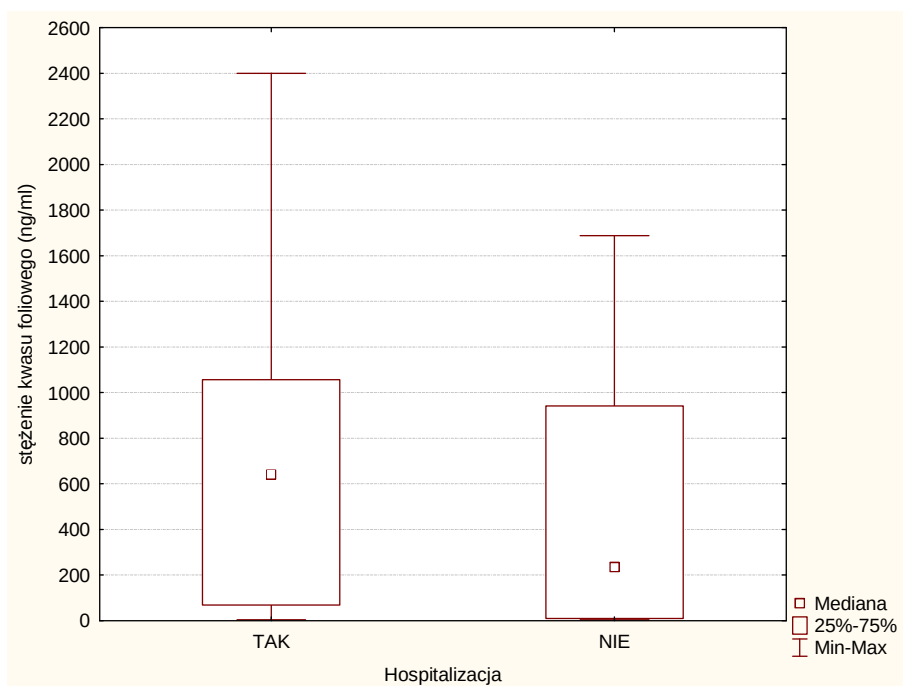
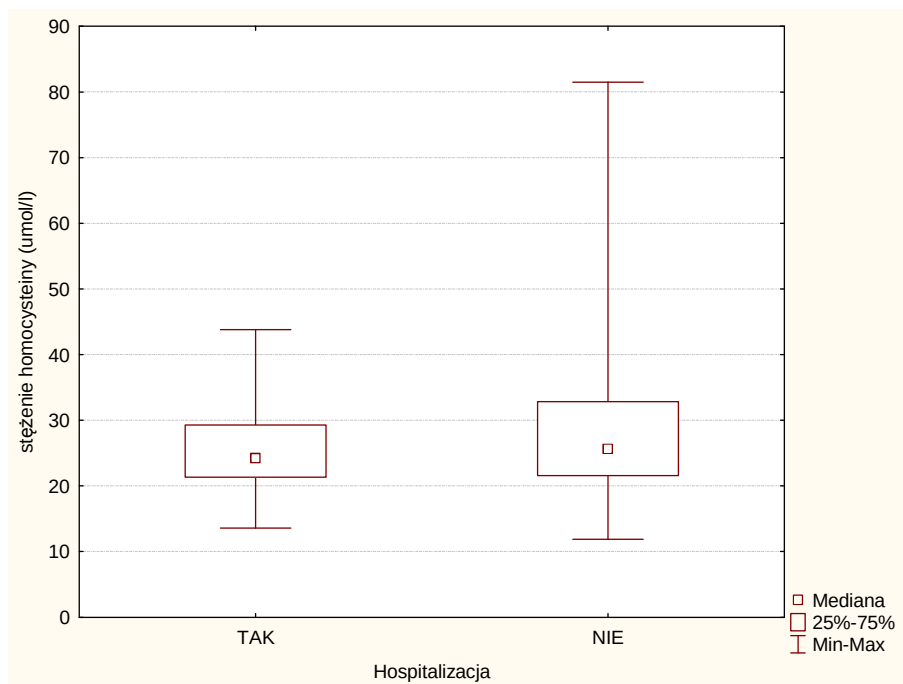
Nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w stężeniu homocysteiny i kwasu foliowego pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi i niehospitalizowanymi podczas okresu obserwacji.

W tabeli XXXIX przedstawiono wyniki porównania znamienności różnic wartości stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂, pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi z przyczyn sercowo-naczyniowych i niehospitalizowanymi podczas obserwacji.

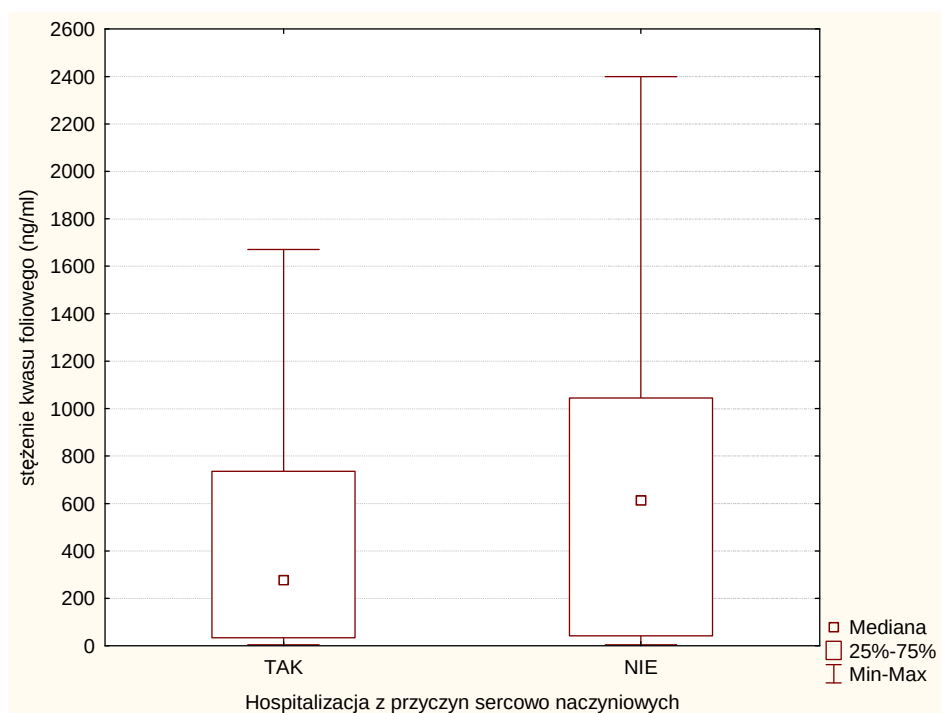
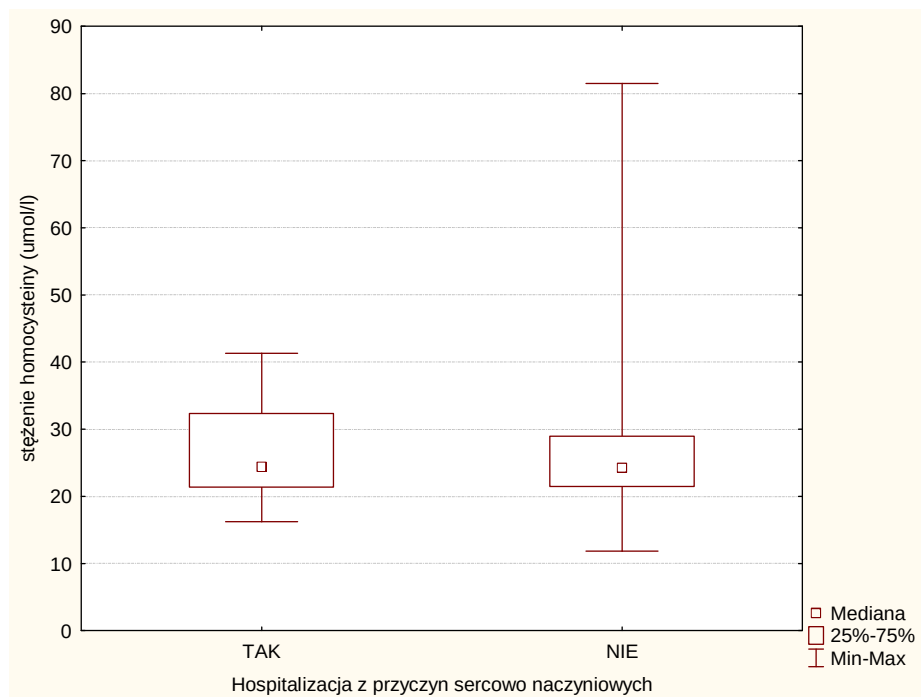
Tab. XXXIX. Znamienność różnic stężeń homocysteiny, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi z przyczyn sercowo-naczyniowych i niehospitalizowanymi podczas obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
Homocysteina	U	p
Średnie stężenie	914	0,58
Kwas foliowy	U	p
Średnie stężenie	834	0,41

Nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w stężeniu homocysteiny i kwasu foliowego pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi i niehospitalizowanymi z przyczyn sercowo-naczyniowych podczas okresu obserwacji.



Rycina 17. Średnie stężenia homocysteiny i kwasu foliowego u pacjentów hospitalizowanych i niehospitalizowanych podczas obserwacji. Punkt w diagramie słupkowym oznacza wartość mediany.



Rycina 18. Średnie stężenia homocysteiny i kwasu foliowego u pacjentów hospitalizowanych i niehospitalizowanych z przyczyn sercowo naczyniowych podczas obserwacji. Punkt w diagramie słupkowym oznacza wartość mediany.

4.12 Czynniki wpływające na odległą śmiertelność i chorobowość ogólną i sercowo-naczyniową w badanej grupie pacjentów.

W tabeli XL przedstawiono wyniki analizy statystycznej znamienności różnic dla wieku, stężenia fibrynogenu, cholesterolu LDL, sodu i magnezu pomiędzy pacjentami, którzy zmarli i pacjentami, którzy zakończyli 8 letni okres obserwacji.

Tab. XL. Znamienne statystycznie różnice pomiędzy pacjentami, którzy zmarli i pacjentami, którzy zakończyli 8 letni okres obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
	U	p
Wiek (lata)	577	0,00001
Fibrynogen (g/l)	770	0,003
Cholesterol LDL (mmol/l)	850	0,02
Na (mmol/l)	914	0,04
K (mmol/l)	914	0,03

Pacjenci, którzy zmarli w stosunku do pacjentów, którzy przeżyli 8 letni okres obserwacji byli starsi, mieli wyższe stężenie fibrynogenu, cholesterolu LDL i potasu, a niższe stężenie sodu.

W tabeli XLI przedstawiono wyniki analizy statystycznej znamienności różnic dla wieku, stężenia białka całkowitego, fibrynogenu i cholesterolu LDL pomiędzy pacjentami, którzy zmarli z przyczyn sercowo-naczyniowych i pacjentami, którzy zakończyli 8 letni okres obserwacji.

Tab. XLI. Znamienne statystycznie różnice pomiędzy pacjentami, którzy zmarli z przyczyn sercowo naczyniowych i pacjentami, którzy zakończyli 8 letni okres obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
	U	p
Wiek (lata)	563	0,001
Białko całkowite (g/l)	715	0,04
Fibrynogen (g/l)	716	0,04
Cholesterol LDL (mmol/l)	657	0,02

Pacjenci, którzy zmarli z przyczyn sercowo-naczyniowych w stosunku do pacjentów, którzy przeżyli 8 letni okres obserwacji byli starsi, mieli wyższe stężenie fibrynogenu, cholesterolu LDL.

W tabeli XLII przedstawiono wyniki analizy statystycznej znamienności różnic dla stężenia fibrynogenu i potasu pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi i niehospitalizowanymi podczas 8 letniego okres obserwacji.

Tab. XLII. Znamienne statystycznie różnice pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi i niehospitalizowanymi podczas 8 letniego okresu obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
	U	p
Fibrynogen (g/l)	607	0,003
K (mmol/l)	667	0,003

W surowicy krwi pacjentów hospitalizowanych stwierdzono wyższe stężenie fibrynogenu i potasu w stosunku do pacjentów niehospitalizowanych.

W tabeli XLIII przedstawiono wyniki analizy statystycznej znamienności różnic dla wieku pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi z przyczyn sercowo-naczyniowych i niehospitalizowanymi podczas 8 letniego okresu obserwacji.

Tab. XLIII. Wpływ wieku na znamienność statystyczną różnic pomiędzy pacjentami hospitalizowanymi i niehospitalizowanymi z przyczyn sercowo naczyniowych podczas 8 letniego okresu obserwacji (test Manna-Whitneya).

Parametr	Znamienność	
	U	p
Wiek (lata)	715	0,01

Pacjenci, którzy byli hospitalizowani z przyczyn sercowo-naczyniowych w stosunku do pacjentów niehospitalizowanych byli starsi.

W tabeli XLIV przedstawiono analizę wyniku regresji logistycznej czynników wpływających na śmiertelność pacjentów podczas 8 letniej obserwacji.

Tab. XLIV. Wyniki regresji logistycznej czynników wpływających na śmiertelność pacjentów podczas 8 letniej obserwacji.

Parametr	Znamienność	
	Chi²	p
Model	30,63	0,0001
	OR	p
	1,07	0,0006

Jedynym czynnikiem który w sposób niezależny pozwolił przewidzieć śmiertelność pacjentów w ciągu 8 letniej obserwacji był wiek w momencie rozpoczęcia badania (ryzyko zgonu zwiększające się o 7% z każdym kolejnym rokiem leczenia hemodializami).

W tabeli XLV przedstawiono wynik analizy regresji logistycznej czynników wpływających na śmiertelność pacjentów z przyczyn sercowo-naczyniowych podczas 8 letniej obserwacji.

Tab. XLV. Wyniki regresji logistycznej czynników wpływających na śmiertelność z przyczyn sercowo naczyniowych pacjentów podczas 8 letniej obserwacji.

Parametr	Znamienność	
	Chi²	p
Model	30,63	0,0002
	OR	p
Wiek (lata)	1,07	0,001
Białko całkowite (g/l)	0,93	0,02

Jedynym czynnikiem umożliwiającym w sposób niezależny przewidzieć śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych w ciągu 8 letniej obserwacji było stężenie białka całkowitego w trakcie trwania badania (ryzyko zgonu zwiększające się o 7% z każdym kolejnym rokiem leczenia hemodializami).

W tabeli XLVI przedstawiono wynik regresji logistycznej czynników wpływających na konieczność hospitalizacji pacjentów podczas 8 letniej obserwacji.

Tab. XLIVI. Wyniki regresji logistycznej czynników wpływających na konieczność hospitalizacji pacjentów podczas 8 letniej obserwacji.

Parametr	Znamienność	
	Chi²	p
Model	9,93	0,007
	OR	p
Fibrynogen (g/l)	1,77	0,05

Jedynym czynnikiem umożliwiającym w sposób niezależny przewidzieć konieczność hospitalizacji w ciągu 8 letniej obserwacji było stężenie fibrynogenu w trakcie trwania badania (ryzyko hospitalizacji hospitalizacji zwiększające się o 77% na każdy g/l stężenia fibrynogenu).

5. DYSKUSJA

W wielu dotychczas przeprowadzonych badaniach stwierdzono związek pomiędzy podwyższonym stężeniem homocysteiny a chorobą niedokrwienną serca, miażdżycą naczyń obwodowych oraz powikłaniami mózgowymi [15, 21, 28, 38, 103, 114, 134]. Jednakże wyniki licznych prac wskazywały, iż niższe stężenia homocysteiny w surowicy krwi chorych hemodializowanych korelowały ze zmniejszeniem się ryzyka chorób sercowo-naczyniowych i zmniejszeniem się śmiertelności tych chorych [129, 130, 131]. Spostrzeżenia te wydają się szczególnie istotne u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek (SNN) leczonych powtarzanymi hemodializami, u których stężenie homocysteiny w surowicy krwi bywa znamienne wyższe niż w ogólnej populacji i dotyczy ok. 85% chorych dializowanych [8, 9].

Z przedstawionych w Rozdziale 1. biochemicznych przemian homocysteiny do metioniny, stanowiących ok 50% jej metabolizmu (ryc 1) wynika, że kwas foliowy (obok witaminy B₁₂) jest najważniejszym i niezbędnym kofaktorem tej przemiany i jako donor grupy metylowej w reakcji remetylacji homocysteiny do metioniny jest zużywany ilościowo [161], tzn. jego grupa metylowa jest substratem dla powstania metioniny z homocysteiny.

W badanej grupie 100 pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych przewlekłe hemodializami, średnie stężenia kwasu foliowego i homocysteiny na początku badania były znamienne wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej (tab. XIV i XV), co jest zgodne z dotychczasowymi wynikami wielu badań [152, 153], chociaż wcześniejsza praca Kanga i wsp. [77] sugerowała, iż za wysokie stężenie homocysteiny w surowicy krwi chorych hemodializowanych odpowiedzialny jest deficyt kwasu foliowego (wyrażający się jego niskim stężeniem we krwi). Wyniki badań Perny i wsp. wskazywały, iż

prawdopodobnie najistotniejszym czynnikiem sprzyjającym akumulacji homocysteiny w ustroju jest wpływ toksyn mocznicowych na enzymy biorące udział w jej metabolizmie - a nie niedobór kwasu foliowego [123, 124, 125], którego suplementacja, jako donora grup metylowych, wzmacnia w metabolizmie homocysteiny zarówno jej metylację do metioniny (o ok. 34 %) jak i transmetylację metioniny do homocysteiny (o ok. 22%). Pomimo, że wyniki wielu dotychczas przeprowadzonych badań potwierdzały dominujący wpływ toksyn mocznicowych na akumulację homocysteiny w ustroju [5, 13, 14, 16, 20, 21], wyniki mojej pracy prowadzą do wniosku, iż suplementacja kwasem foliowym w dużych, bo 15 mg/dobę, doustnych dawkach powodowała największy spadek stężeń homocysteiny (grupa III) ze średnich wartości wyjściowych 24,8 $\mu\text{mol/l}$ do 19,1 $\mu\text{mol/l}$. W grupie II z mniejszą suplementacją kwasem foliowym (5 mg/d p.o) spadek ten, choć znamieny statystycznie, był znacznie mniejszy (z 26,2 $\mu\text{mol/l}$ do 22,9 $\mu\text{mol/l}$). Brak suplementacji kwasem foliowym w grupie I i IV, pomimo jego wysokich wyjściowych stężeń (odpowiednio w grupie I - 587,1 ng/ml i 738,5 ng/ml w grupie IV), nie prowadził do istotnych różnic w średnim stężeniu homocysteiny na początku i końcu badania w grupie IV (odpowiednio: 25,5 $\mu\text{mol/l}$ i 25,7 $\mu\text{mol/l}$), natomiast w grupie I zaobserwowano znamienne obniżenie się stężenia homocysteiny ze średnich wartości 26,4 $\mu\text{mol/l}$ do 21,6 $\mu\text{mol/l}$. W grupie IV obserwowano jedynie przejściowe wzrosty stężeń homocysteiny po 3. i 6. miesiącu badania (odpowiednio 28,0 $\mu\text{mol/l}$ i 31,8 $\mu\text{mol/l}$). Wyniki niniejszej pracy, w której stwierdzono zmniejszenie się stężenia homocysteiny we krwi chorych dializowanych pod wpływem suplementacji kwasem foliowym, pozostają w zgodzie z wynikami wielu badań klinicznych i nawiązują do podobnych spostrzeżeń poczynionych ostatnio przez Hiszpanów: Bayo i wsp. i Bayes i wsp [16, 20]. Nadal niewyjaśniona pozostaje natomiast hiperhomocysteinemia u chorych dializowanych z wysokimi stężeniami kwasu foliowego, nieotrzymujących jego suplementacji. Przesłanki teoretyczne oraz znajomość biochemicznych szlaków

metabolizmu homocysteiny uprawniałyby do oczekiwania, iż przy wysokich stężeniach kwasu foliowego we krwi, jego suplementacja nie będzie konieczna do obniżenia stężenia homocysteiny. Także w dostępnym piśmiennictwie (korzystałem z bazy PubMed) brak jest doniesień, iż wysokie stężenia kwasu foliowego, bez jego suplementacji warunkują niższe stężenia homocysteiny. Brak także teoretycznych podstaw do wytłumaczenia tego fenomenu. Co więcej, w niniejszej pracy wykazano, iż wraz ze wzrostem stężeń kwasu foliowego w surowicy krwi, bardziej obniża się stężenie homocysteiny. W grupie IV badanych pacjentów, wyjściowe stężenie kwasu foliowego było najwyższe (średnio 738,5 ng/ml), natomiast wyjściowe stężenie homocysteiny (25,5 μ mol/l) nie odbiegało od jej stężeń w pozostałych grupach. Prowadzi to do wniosku, iż obniżanie się stężenia homocysteiny u chorych hemodializowanych zależne jest od stałej suplementacji kwasem foliowym warunkującej jego bardzo wysokie lub stale zwiększające się stężenia w surowicy krwi. Obecne badanie wykazało także, iż w grupie III z największą suplementacją kwasem foliowym, spadek stężenia homocysteiny był największy, co koreluje z badaniami irańskimi [119], w których istotny statystycznie spadek stężenia homocysteiny nastąpił w grupie chorych leczonych wysokimi, doustnymi dawkami kwasu foliowego, 15 mg/dobę. Także we wcześniejszych pracach [139, 140, 143] nie wykazywano istotnego spadku stężenia homocysteiny we krwi chorych hemodializowanych pod wpływem suplementacji niskimi dawkami kwasu foliowego. Istotny statystycznie spadek wystąpił natomiast podczas suplementacji dawkami „ponadfizjologicznymi”. Niewyjaśnionym pozostaje fakt, iż w grupie I i IV, bez suplementacji kwasem foliowym (i bez rHuEPO w grupie IV), w rocznej obserwacji obserwowano znaczny spadek średniego stężenia kwasu foliowego w surowicy krwi u pacjentów w grupie IV z 738,5 ng/ml do 278,1 ng/ml., a znacznie mniejszy w grupie I z średnio 587,1 ng/ml do 497,3 ng/ml., przy spadku średniego stężenia homocysteiny w grupie I (z 26,4 μ mol/l do 21,6 μ mol/l w trakcie rocznej obserwacji) i praktycznie

niezmienionym jej stężeniu w grupie IV (25,5 $\mu\text{mol/l}$ na początku obserwacji i 25,7 $\mu\text{mol/l}$ na końcu obserwacji), zwłaszcza, że kwas foliowy jest zużywającym się donorem grup metylowych w remetylacji homocysteiny do metioniny. Tak dużego spadku stężenia kwasu foliowego w grupie IV badanych nie można wytłumaczyć jego dyfuzją do płynu dializacyjnego podczas zabiegu hemodializy (kwas foliowy jest witaminą rozpuszczalną w wodzie o masie cząsteczkowej ok. 440 Da) i jest wydalany do dializatu, choć nie tak skutecznie jak związki niskocząsteczkowe: mocznik – 60 Da, kreatynina - 113 Da lub kwas moczowy - 163 Da. Jego utrata do płynu dializacyjnego jest większa niż jego utrata z moczem u osobników zdrowych [135]. Dieta chorych dializowanych nie zawiera restrykcji wobec kwasu foliowego i jego podaż w diecie w okresie międzydializacyjnym jest wystarczająca by uzupełnić jego straty podczas hemodializy, a przyswajanie witaminy B₁₂ i kwasu foliowego nie różni się istotnie statystycznie między chorymi hemodializowanymi a osobami zdrowymi, natomiast przyswajalność witaminy B₆ przez pacjentów hemodializowanych jest większa niż osób zdrowych [133].

Pacjenci z grup II i III oprócz suplementacji kwasem foliowym otrzymywali preparaty ludzkiej rekombinowanej erytropoetyny (rHuEPO) oraz żelaza w dawkach warunkujących utrzymanie optymalnego dla chorych hemodializowanych wskaźnika hematokrytu i hemoglobiny. Nie istnieją teoretyczne i praktyczne przesłanki utrzymywania wysokich stężeń kwasu foliowego (niezużywalny kofaktor) w celu utrzymywania zalecanych wartości morfologii, a dla prawidłowej erytropoezy wystarczy jego prawidłowe stężenie w surowicy krwi [116, 160]. U znacznej części chorych ze schyłkową niewydolnością nerek występuje deficyt endogennej erytropoetyny, która u osób zdrowych produkowana jest głównie przez nerki – komórki około cewkowe typu I (w ok 85%) i wątrobę. Wytworzenie rekombinowanej ludzkiej erytropoetyny i jej zastosowanie w praktyce klinicznej umożliwiło chorym dializowanym uniezależnienie się od ciągłych transfuzji krwi oraz utrzymywanie

prawidłowych, stabilnych wartości morfologii krwi, co przez wyeliminowanie stanu ciągłej anemizacji i związanego z nią niekorzystnego wpływu na układ sercowo naczyniowy (krążenie hiperkinetyczne, przerost lewej komory, zwiększenie się wskaźnika IMT, wskaźnik ABI) poprawiło jakość życia chorych, apetyt a tym samym stan odżywienia. Sama zaś erytropoetyna poprzez swoje działanie plejotropowe poprawia funkcję CSN. Stwierdzono także odwrotną korelację pomiędzy stężeniem hemoglobiny we krwi hemodializowanych pacjentów a stężeniem homocysteiny [4]. Doniesienia o wpływie stosowania rHuEPO u pacjentów hemodializowanych na zwiększenie się incydentów sercowo naczyniowych, głównie zawałów serca, pochodzące z końca lat 90-tych XX wieku [70] zostały negatywnie zweryfikowane przez późniejsze badania. Jednak w ostatnich zaleceniach dotyczących leczenia erytropoetyną chorych leczonych nerkozastępczo dializami [93], autorzy zwracają uwagę na fakt, iż zbyt wysokie wartości morfologii u tych chorych osiągnięte przy stosowaniu dużych dawek rHuEPO mogą spowodować zwiększoną ilość incydentów sercowo-naczyniowych w tym również zakończonych zgonem. We wszystkich grupach chorych badanych w niniejszej pracy nie zaobserwowano istotnej poprawy wybranych wskaźników rozwoju miażdżycy poza istotnym statystycznie obniżeniem się stężenia miazdżycorodnej lipoproteiny A [Lp(a)], której stężenia we wszystkich grupach chorych po rocznej obserwacji nie różniły się istotnie od jej stężeń w grupie kontrolnej i pomiędzy poszczególnymi grupami chorych. Podobny efekt obniżenia się stężenia Lp(a) opisywał Naruszewicz i wsp. [113] pod wpływem czterotygodniowego leczenia 21 chorych kwasem foliowym w wysokich dobowych dawkach 15 mg i kompleksem witamin B, dodatkowo uzyskał on istotny statystycznie spadek stężenia fibrynogenu w surowicy krwi tych chorych, czego nie udało się potwierdzić w niniejszej pracy – stężenie fibrynogenu we wszystkich grupach chorych pozostawało znamienne wyższe w porównaniu z grupą kontrolną i nie różniło się istotnie statystycznie pomiędzy

grupami. Zastanawiającym jest fakt, iż obniżenie średnich stężeń Lp(a) nastąpiło zarówno w grupach chorych, które otrzymywały kwas foliowy i w których doszło do obniżenia średnich stężeń homocysteiny jak i w grupie IV nie otrzymującej kwasu foliowego i w której spadek stężenia homocysteiny nie nastąpił. Być może jest to związane z faktem, iż pacjenci tej grupy, niewymagający suplementacji rHuEPO, w dostatecznej ilości wytwarzali endogenną erytropoetynę oraz posiadali wystarczające zasoby kwasu foliowego w organizmie by nastąpiło obniżenie się stężenia Lp(a). Parametry gospodarki lipidowej (mierzonej stężeniem cholesterolu całkowitego, stężeniem cholesterolu HDL, LDL) we wszystkich grupach chorych były znacząco niższe niż w grupie kontrolnej zarówno na początku badania jak i po jego ukończeniu i nie różniły się istotnie pomiędzy grupami w kolejnych okresach obserwacji. Prawdopodobnie wynikało to z gorszego stanu odżywienia chorych hemodializowanych – potwierdzeniem tego jest istotna statystycznie niższa wartość stężeń albuminy w grupie chorych hemodializowanych przez cały okres ich obserwacji. Stałe, wyższe niż w grupie kontrolnej stężenia triglicerydów utrzymywały się u chorych dializowanych przez cały czas badania – co związane było z zaburzonym metabolizmem lipidów u chorych w mocznicy i obserwowaną u nich przewlekłą hiperlipidemią oraz hipertriglicydemią. Również stężenia fibrynogenu u wszystkich chorych przez cały czas obserwacji utrzymywały się na wyższym poziomie niż w grupie kontrolnej, co związane jest z przewlekłym procesem zapalnym indukowanym przez zabieg hemodializy. Nie obserwowano wśród chorych otrzymujących suplementację kwasem foliowym obniżenia jego stężenia opisywanego przez Naruszewicza i wsp. [113]. Badanie nie wykazało, aby suplementacja erytropoetyny, kwasu foliowego i erytropoetyny (bądź brak tej suplementacji) wpływały w jakikolwiek sposób na parametry gospodarki lipidowej, osoczowe stężenie fibrynogenu czy stan odżywienia pacjentów hemodializowanych w czasie ich rocznej obserwacji. Oceniano także pozostałe wskaźniki uszkodzenia układu sercowo-

naczyniowego: grubość ściany tętnicy szyjnej (IMT), wskaźnik kostkowo-ramienny (ABI), średnią grubość lewej przegrody międzykomorowej (IVS), średnią grubość tylnej ściany lewej komory (PWD), wymiar końcowo rozkurczowy lewej komory (LVEDD), i wskaźnik masy lewej komory (LVMI).

Poza ABI, którego wartość nie różniła się istotnie pomiędzy grupą kontrolną a badanymi grupami chorych i nie zmieniała się istotnie przez cały okres badania, wartości pozostałych parametrów w badanych grupach chorych były istotnie podwyższone w porównaniu do grupy kontrolnej.

Suplementacja chorych hemodializowanych erytropoetyną w grupach chorych I-III prowadzona była według aktualnych zaleceń towarzystw nefrologicznych a jej celem było zapewnienie chorym hemodializowanym optymalnych, docelowych wartości hematokrytu i stężenia hemoglobiny u chorych dializowanych (stężenia Hb na poziomie 11-12 g/dl) . Stosowane dawki rHuEPO cechowały się zmiennością u wszystkich pacjentów w tych trzech grupach podczas całego czasu trwania obserwacji. Pozwoliło to na uzyskanie stabilnych wartości hematokrytu i stężenia hemoglobiny we krwi tych chorych przez cały okres badania. Brak było istotnie statystycznych różnic tych wartości pomiędzy badanymi grupami.

Przez cały czas badania wartości: IVS, PWD, LVEDD, LVMI we wszystkich grupach chorych były znamienne wyższe w porównaniu do analogicznych wartości w grupie kontrolnej. Nie obserwowano istotnych statystycznie zmian ich wartości przez cały okres badania, z wyjątkiem obniżenia się wartości LVMI w szóstym i dwunastym miesiącu badania we wszystkich grupach chorych, także grupie IV niewymagającej suplementacji rHuEPO. Spadek ten jednakże był znamieny statystycznie tylko w grupie III, otrzymującej najwyższe dawki kwasu foliowego i w której notowano największy spadek stężenia homocysteiny. Sugerowało by to, iż suplementacja dużymi dawkami kwasu foliowego powodująca

największe obniżenie się stężenia homocysteiny, może mieć wpływ na poprawę wskaźnika masy lewej komory a tym samym - redukować ryzyko chorób sercowo-naczyniowych. Byłoby to w zgodzie z wynikami prowadzonych od lat 70-tych XX wieku badań [21, 27]. Jednak w ostatnich latach ukazały się prace wykazujące brak korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny we krwi chorych hemodializowanych a ich wiekiem, czasem trwania hemodializ, stężeniem kreatyniny, adekwatnością hemodializy czy wartością wskaźnika LVMI [96].

Pomimo opisywanej przez Nanayakkara i wsp. regresji IMT [110] pod wpływem rocznego leczenia chorych z PChN w stadium 3 i 4 ich niewydolności skojarzoną terapią statyną, witaminą E jako antyoksydantem i kompleksem witamin obniżającym stężenie homocysteiny, w niniejszej pracy nie wykazano istotnych statystycznie różnic wartości IMT przez cały czasokres badania jak i pomiędzy poszczególnymi grupami chorych hemodializowanych, ani też nie stwierdzono regresji IMT w trzeciej grupie chorych, z najwyższym spadkiem stężenia homocysteiny. Wartości te były znamienne wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. Wcześniejsze prace Robinsona i wsp oraz Sancheza i wsp. wykazywały dodatnią korelację pomiędzy IMT a wiekiem chorego, czasem trwania hemodializ, paleniem papierosów i stężeniem homocysteiny u chorych hemodializowanych [131,134].

W prowadzonych od lat 70-tych XX w. badaniach wykazywano związek pomiędzy podwyższonym stężeniem homocysteiny a chorobowością i śmiertelnością z przyczyn sercowo–naczyniowych oraz aterogenny wpływ wysokich stężeń homocysteiny [2, 154, 167]. Także inne prace wskazywały na związek pomiędzy wysokim poziomem homocysteiny a incydentami naczyniowo-zakrzepowym [126].

W trakcie ośmioletniej obserwacji stu hemodializowanych chorych, zmarło 43 pacjentów, w tym 27 (62,7% wszystkich zmarłych) - z przyczyn sercowo–naczyniowych, 57

pacjentów zakończyło obserwację. Podczas tego okresu 72 pacjentów wymagało hospitalizacji, z czego 31 - z przyczyn sercowo–naczyniowych. W niniejszej pracy nie stwierdzono istotnych różnic średnich wartości stężeń homocysteiny zarówno u chorych hospitalizowanych z przyczyn ogólnych jak i z przyczyn sercowo–naczyniowych, jak również nie obserwowano takich różnic pomiędzy pacjentami, którzy zmarli z przyczyn ogólnych i sercowo–naczyniowych a pacjentami pozostającymi w ośmioletniej obserwacji i to we wszystkich grupach chorych. Obserwacje własne są zgodne z doniesieniami z ostatnich lat. Van Guldener jako jeden z pierwszych podważył w 2006 roku związek pomiędzy hiperhomocysteinemią a chorobowością i śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz korzyści jakie daje obniżenie stężenia homocysteiny u chorych hemodializowanych [60]. Podobne wnioski w tym samym czasie opublikowali Simic-Ogrizovic i wsp. [137], a - rok wcześniej - Taurangsri [150] stwierdził, że hiperhomocysteinemia nie jest niezależnym czynnikiem patogenetycznym miażdżycy - a tym samym ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u chorych hemodializowanych. Dowodów na powyższe tezy dostarczyli Heinz i wsp. [65] w dużym badaniu wieloośrodkowym przeprowadzonym w 33 ośrodkach dializ na 650 pacjentach w północnych i wschodnich Niemczech w latach 2002 - 2008, z których wynika, iż suplementacja kwasem foliowym i witaminami B₁₂ oraz B₆, obniżała stężenie homocysteiny w surowicy krwi chorych dializowanych, natomiast stężenie homocysteiny nie miało wpływu na chorobowość i śmiertelność tych pacjentów z przyczyn ogólnych i sercowo–naczyniowych. Także wyniki wcześniej przeprowadzonej metaanalizy wielu badań klinicznych przez tę samą autorkę i jej zespół sugerowały brak związku pomiędzy stężeniem homocysteiny a śmiertelnością i chorobowością pacjentów hemodializowanych [66]. Badanie Jamisona i wsp. [72], w którym pacjentom leczonym powtarzanymi hemodializami podawano w pulsach wysokie dawki kwasu foliowego i witaminy B₆ oraz B₁₂ nie wykazało przewagi skuteczności takiej terapii w zmniejszeniu liczby incydentów sercowo-naczyniowych w

porównaniu do pacjentów otrzymujących placebo, chociaż u tych ostatnich stężenia homocysteiny utrzymywały się na znamienne wyższym poziomie. Potwierdza to także wieloośrodkowe badanie HOPE-2 [102], w którym w pięcioletniej obserwacji poddano 5522 pacjentów i nie stwierdzono różnic w śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych pomiędzy grupą pacjentów otrzymującą suplementację kwasem foliowym a grupą otrzymującą placebo. Także badanie NORVIT obejmujące 3749 pacjentów z przebyłym zawałem mięśnia sercowego dało podobny wynik. Późniejsze prace tajskich badaczy wykazujące brak korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny we krwi chorych hemodializowanych i rozwojem miażdżycy, wskazywały na istotny wpływ wieku i grubości ściany naczyniowej [149] na częstość występowania incydentów sercowo-naczyniowych.

Prawdopodobnie obniżenie stężenia homocysteiny u chorych hemodializowanych suplementowanych kwasem foliowym i kompleksem witamin B₆ i B₁₂ wpływa na polepszenie się bilansu żywieniowego (wnioskować o tym można obserwując zwiększanie się stężenia albuminy i obniżanie się stężenia białka C reaktywnego). Niskie stężenia homocysteiny u chorych hemodializowanych korelowały w wielu badaniach z niedoborami albuminy, niedożywieniem, większą liczbą hospitalizacji i większą śmiertelnością z przyczyn ogólnych i sercowo-naczyniowych [144].

Jedynymi parametrami, które w obecnej pracy znamienne statystycznie korelowały ze śmiertelnością z przyczyn ogólnych w ośmioletnim okresie obserwacji stu chorych hemodializowanych były wiek (dodatnia korelacja), stężenie fibrynogenu (dodatnia korelacja), stężenie cholesterolu LDL (dodatnia korelacja), stężenie sodu (ujemna korelacja) i potasu (dodatnia korelacja). Ze zgonami z przyczyn sercowo-naczyniowych w badanej grupie pacjentów znamienne statystycznie korelowały: wiek, stężenie białka całkowitego - jako wynik niedożywienia [1] oraz stężenie fibrynogenu i cholesterolu LDL. W licznych pracach wykazano natomiast, iż niskie stężenie homocysteiny u chorych hemodializowanych koreluje

z niskim stężeniem albumin i jest jednym ze wskaźników niedożywienia chorych dializowanych i jednym ze wskaźników złego rokowania u tych chorych [1, 2] a pacjenci z niskimi stężeniami homocysteiny są częściej hospitalizowani [38]. Sama zaś hipoalbuminemia jest czynnikiem ryzyka przerostu lewej komory serca [107].

Wyniki niniejszej pracy wpisują się w cykl obserwacji klinicznych, które miały na celu przybliżenie złożonych zależności pomiędzy zmianami biochemicznymi towarzyszącymi schyłkowej niewydolności nerek a zmianami patomorfologicznymi postrzeganymi jako wtórne do mocznicy. U chorych z mocznicą zaburzone mechanizmy i szlaki metaboliczne aminokwasów i lipidów, zmiany w składzie elektrolitowym płynów wewnątrzustrojowych, przewodnienie, akumulacja licznych produktów przemiany materii oraz zaburzenia gospodarki hormonalnej prowadzą do przyspieszenia zmian miażdżycowych, co - łącznie z nadciśnieniem tętniczym oraz zaburzonym stanem odżywienia - prowadzi do zwiększenia zapadalności na choroby sercowo-naczyniowe oraz zwiększenia śmiertelności w tej grupie pacjentów. Na śmiertelność wpływa ponadto dysfunkcja układu serowo-naczyniowego wywołana przewlekłą niedokrwistością oraz kardiotoksycznym wpływem wielu toksyn mocznicowych. Z pośród tych wielu niekorzystnie działających, wzajemnie nasilających swoje działanie czynników spróbowano dotychczas ocenić jedynie niewielki ich fragment, próbując wprost odpowiedzieć na pytanie: - Czy i jaki jest wpływ długotrwałego leczenia rHuEPO na wybrane wskaźniki rozwoju miażdżycy? Oraz: - Czy obniżanie stężenia homocysteiny w surowicy krwi tych chorych na drodze suplementacji kwasem foliowym wpływa na śmiertelność z przyczyn ogólnych i sercowo-naczyniowych? Uzyskane w trakcie badania wyniki wykazały, iż leczenie rHuEPO wpływało „tylko” na obniżenie się jednego czynnika ryzyka rozwoju miażdżycy, tj. stężenia lipoproteiny A, natomiast wpływ suplementacji kwasem foliowym na obniżenie się stężenia homocysteiny w surowicy krwi tych chorych nie przekładał się na zmniejszenie śmiertelności i chorobowości pacjentów

zarówno z przyczyn ogólnych jak i sercowo-naczyniowych mimo, że czasokres badania i obserwacji był jednym z najdłuższych (po przeanalizowaniu danych w dostępnym piśmiennictwie). Czy oznacza to, iż należy zaprzestać leczenia hiperhomocysteinemi u chorych z mocznicą kwasem foliowym? Przedstawione w Rozdziale 1. mechanizmy aterogenne działania homocysteiny przemawiają zdecydowanie przeciwko rezygowaniu z obniżania stężenia homocysteiny, natomiast coraz liczniejsze doniesienia oraz wyniki niniejszej pracy wskazują, iż nie ma ono działania kardioprotekcyjnego, nie zmniejsza chorobowości i śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych (i ogólnych) u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek. Konieczne są dalsze prace nad patogenezą miażdżycy i potencjalnym w niej udziałem homocysteiny u chorych z przewlekłą mocznicą a także nad możliwościami jej zapobiegania i leczenia. Nie wszyscy chorzy ze schyłkową niewydolnością nerek kwalifikują się do przeszczepienia nerki – jedynej jak dotąd metody leczenia nerkozastępczego, która m.in. spowalnia postęp miażdżycy i redukuje chorobowość i śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych. Ta „nieprzeszczepialna” populacja dializowanych chorych, głównie z powodu nasilenia zmian miażdżycowych ma znacznie niższą jakość życia oraz krótszy czas przeżycia, porównywalny z czasem przeżycia osób z chorobą nowotworową. Poszukiwanie i odkrywanie nowych, skuteczniejszych metod kardioprotekcji i ograniczania czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych powinno przynieść nie tylko poprawę jakości i długości życia chorych dializowanych ale także przyczynić się do zmniejszenia kosztów ich leczenia.

6. WNIOSKI

- 1) Suplementacja kwasem foliowym u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami wpływa istotnie na obniżenie się stężenia homocysteiny w surowicy krwi tych chorych. To obniżenie dodatnio korelowało z suplementacyjną dawką kwasu foliowego i jego stężeniem w surowicy krwi w okresie rocznej obserwacji.
- 2) Z pośród badanych wskaźników rozwoju miażdżycy długotrwałe leczenie erytropoetyną i suplementacja kwasem foliowym prowadziły do obniżenia się stężenia miażdżycorodnej lipoproteiny A [Lp(a)]. Obniżenie się indeksu masy lewej komory (LVMI) nie miało wpływu na zachowanie się pozostałych, to jest IMT i ABI, badanych w niniejszej pracy wskaźników rozwoju miażdżycy u chorych hemodializowanych.
- 3) Stężenie homocysteiny we krwi chorych hemodializowanych zarówno w okresie badawczym jak i ośmioletnim okresie obserwacyjnym pozostawało bez wpływu na chorobowość i śmiertelność dorosłych chorych, zarówno z przyczyn ogólnych jak i sercowo-naczyniowych.

7. STRESZCZENIE

Choroby sercowo-naczyniowe stanowią najczęstsze powikłanie schyłkowej niewydolności nerek, a wśród chorych leczonych powtarzanymi hemodializami, są główną przyczyną zgonów. Ryzyko zgonu w grupie chorych dializowanych jest 10-krotnie wyższe niż w ogólnej populacji a śmiertelność z powodu powikłań sercowo-naczyniowych jest 10-20 razy większa. U chorych z PChN leczonych powtarzanymi hemodializami poza klasycznymi czynnikami odpowiedzialnymi za przyspieszony rozwój miażdżycy występują inne, charakterystyczne dla tej grupy chorych. Są to: zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej, nadciśnienie tętnicze, podwyższone stężenia: homocysteiny, fibrynogenu, białka CRP i innych wskaźników stanu zapalnego. W ostatnich latach coraz większe znaczenie przypisywano homocysteinie (niewchodzącemu w skład białek siarkowemu aminokwasowi) uważanej za niezależny czynnik ryzyka miażdżycy, który przyspiesza jej rozwój również u chorych z niewydolnością nerek.

Hiperhomocysteinemię mogą spowodować zaburzenia genetyczne prowadzące do niedoboru enzymów uczestniczących w jej metabolizmie, nabyte niedobory koenzymów jej przemiany, liczne schorzenia, niektóre leki oraz używki. U chorych z przewlekłą niewydolnością nerek stężenie homocysteiny przekracza wartości prawidłowe, gdy przesączanie kłębuszkowe jest mniejsze niż 70 ml/min. Hiperhomocysteinemię stwierdza się aż u 85-95% chorych z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych hemodializami. Podwyższone stężenie homocysteiny powoduje nasiloną adhezję i aktywację płytek krwi oraz zwiększa skłonność do tworzenia zakrzepów. Hiperhomocysteinemia wielokrotnie zwiększa ryzyko choroby wieńcowej w porównaniu z grupą osób z prawidłowym jej stężeniem. Leczenie hiperhomocysteinemii polega na podawaniu wyższych dawek witamin z grupy B.

Podczas hemodializy stężenie homocysteiny obniża się o ok. 30% by w ciągu 24 godzin wrócić do poziomu przeddializacyjnego.

Celem niniejszej pracy było określenie zachowania się stężenia homocysteiny u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami w zależności od stopnia suplementacji kwasem foliowym, ocena wpływu długotrwałego leczenia rHuEPO i kwasem foliowym na zachowanie się wybranych wskaźników rozwoju miażdżycy u tych chorych oraz ocena wpływu podwyższonego stężenia homocysteiny w badanej grupie chorych przewlekle hemodializowanych na śmiertelność (ogólną i sercowo-naczyniową) oraz chorobowość w okresie suplementacji kwasem foliowym i w okresie ośmiu lat po jej zakończeniu. Badaniami objęto 100 chorych (48 mężczyzn i 52 kobiety) w wieku od 21 do 80 lat z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami (adekwatną i spełniającą zalecenia dawką dializy) przez okres od 2 do 278 miesięcy. Chorych podzielono na cztery grupy w zależności od dawki otrzymywanej suplementacji kwasem foliowym i leczenia erytropoetyną. Grupę kontrolną stanowiło 25 osób zdrowych porównywalnych pod względem płci i wieku. Szczegółowej analizie poddano dane kliniczne takie jak wiek, płeć, wzrost, wagę, przyczynę niewydolności nerek, czas trwania dializ, przebyte choroby sercowo-naczyniowe oraz wyniki badań dodatkowych: wartości morfologii krwi, przeddializacyjne stężenia w surowicy krwi: sodu, potasu, magnezu, gospodarkę wapniowo-fosforanową i PTH, gospodarkę lipidową, stan odżywienia wyrażający się stężeniem białka całkowitego i albuminy, stężenia witaminy B₁₂ i kwasu foliowego, oraz stopień adekwatności dializy. Wskaźniki zaawansowania miażdżycy oceniani na podstawie badań obrazowych USG i ECHO oraz oceny wskaźnika ABI. W okresie badawczym oraz w ośmioletnim okresie obserwacji odległej rejestrowano liczbę i długość hospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz zgony pacjentów z uwzględnieniem zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych. Wyniki badań poddano analizie statystycznej wykorzystując testy Wilcozona,

Manna-Whitney'a, Kruskala-Wallisa i korelacji Pearsona oraz wykorzystując program Statistica 7.0.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że średnie stężenie homocysteiny u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych powtarzanymi hemodializami było znamienne wyższe od wartości uzyskanych w grupie kontrolnej. Podczas badania najwyższe obniżenie się stężenia homocysteiny obserwowano w grupie otrzymującej największe dawki kwasu foliowego. Średnie jego stężenia wzrastały bardzo znacznie i osiągnęły wartości prawie 2-krotnie wyższe od wartości początkowej. Analiza wyników badania echokardiograficznego: średniej grubości przegrody międzykomorowej, grubości tylnej ściany lewej komory, wymiaru końcowo-rozkurczowego lewej komory oraz wskaźnika masy lewej komory, nie wykazała znamiennych statystycznie różnic tych wartości pomiędzy grupami. Średnie wartości IVS, PWD, LVEDD i LVMI były znamienne wyższe w stosunku do grupy kontrolnej zarówno na początku jak na końcu badania.

Podczas 8-letniej obserwacji zmarło 43 pacjentów, w tym 27 (62,7% wszystkich zmarłych) z przyczyn sercowo naczyniowych, a 57 zakończyło obserwację. Podczas tego okresu 72 pacjentów wymagało hospitalizacji, z czego 31 z przyczyn sercowo-naczyniowych. Po przeprowadzonej analizie korelacji wymienionych czynników miażdżycorodnych wysunięto wnioski, iż suplementacja kwasem foliowym wpływa istotnie na obniżenie się stężenia homocysteiny w surowicy krwi chorych hemodializowanych, a jego obniżenie się dodatkowo koreluje z suplementacyjną dawką kwasu foliowego i jego stężeniem w surowicy krwi. Z pośród badanych wskaźników rozwoju miażdżycy długotrwałe leczenie erytropoetyną i suplementacja kwasem foliowym prowadzą do obniżenia się stężenia miażdżycorodnej lipoproteiny A [Lp(a)]. Obniżenie się indeksu masy lewej komory (LVMI), nie ma wpływu na zachowanie się pozostałych, badanych w niniejszej pracy wskaźników rozwoju miażdżycy u chorych hemodializowanych. Stężenie homocysteiny we krwi chorych hemodializowanych

pozostaje bez wpływu na chorobowość i śmiertelność dorosłych chorych i to zarówno z przyczyn ogólnych jak i sercowo-naczyniowych. Niniejsza praca nie daje odpowiedzi na pytanie czy suplementacja kwasem foliowym jest bezcelowa. Konieczne są dalsze badania nad patogenezą i leczeniem miażdżycy. Poszukiwanie i odkrywanie nowych skuteczniejszych metod kardioprotekcji i ograniczania czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych przyniesie nie tylko poprawę jakości i długości życia chorych dializowanych ale także powinno przyczynić się do zmniejszenia kosztów ich leczenia.

8. PIŚMIENNICTWO

1. **Acchiardo SR, Moore LW, Latour PA:** Malnutrition as the main factor in morbidity and mortality of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1983; 24: 199-203.
2. **Akgul A, Bilgic A, Sezer S, Arat Z, Ozdemir FN, Haberal M:** Low total plasma homocysteine level in relation to malnutrition, inflammation, and outcome in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2008; 18: 338-46.
3. **Anan F, Takahashi N, Shimimura T, Imagawa M, Yufu K, Nawata T, Nakagawa M, Yonemochi H, Eshima N, Saikawa T, Yoshimatsu H:** Hyperhomocysteinemia is a significant risk factor for silent cerebral infarction in patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis. *Metabol Clin and Experimental* 2006; 55: 655-661
4. **Anees M, Mumtaz A, Ibrahim M, Shaheen SM, Asghar A:** Effect of Anemia and Hyperhomocysteinemia on Mortality of Patients on Hemodialysis. *Iran J Kidney Dis* 2010; 4: 60-65.
5. **Azadibakhsh N, Hosseini R S, Atabak S, Nateghiyan N, Golestan B, Rad A H:** Efficacy of folate B₁₂ in lowering homocysteine concentrations in hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2009; 20: 779-788.
6. **Armada E, PerezMelon C, Otero A, Gayoso P, Rodriguez M, Esteban Morcillo J:** Effect of folic acid supplementation on total homocysteine levels in hemodialysis patients. *Nefrologia* 2001; 21: 167-173.
7. **Arnadattir M, Gudnason V, Hultberg B:** Treatment with different doses of folic acid in haemodialysis patients: effects of folate distribution and aminothiols concentrations. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 524-528.
8. **Arnadottir M, Hultberg B, Nilsson-Ehle P, Thysel H:** The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentration. *Scand J Clin Lab Invest* 1996; 56: 41-46.

9. **Arnadottir M, Hultberg B, Wahlberg J, Fellstrom B, Dimeny E:** Serum total homocysteine concentration before and after renal transplantation. *Kidney Int* 1998; 54: 1380–1384.
10. **Arnadottir M, Brattstrom L, Simonsen O, Thysell H, Hultberg B, Andersson A, Nilsson-Ehle P:** The high effect of high-dose pyridoxine and folic acid supplementation on serum lipid and plasma homocysteine concentration in dialysis patients. *Clin Nephrol* 1993; 40: 236–240.
11. **Arnadottir M, Berg AL., Hegbrant J, Hultberg B:** Influence of haemodialysis on plasma total homocysteine concentration. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 142-146.
12. **Bamonti-Catena F, Buccianti G, Porcella A, Valenti G, Como G, Finazzi S, Maiolo T:** Folate measurements in patients on regular hemodialysis treatment. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 492-497.
13. **Baragetti I, Raselli S, Stucchi A, Terraneo V, Furiani S, Buzzi L, Garlaschelli K, Alberghini E, Catapano A L, Buccianti G:** Improvement of endothelial function in uremic patients on peritoneal dialysis: a possible role for 5-MTHF administration. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3292-3297.
14. **Bayes B, Pastor MC, Bonal J, Junca J, Romero R:** Homocysteine and lipid peroxidation in haemodialysis: role of folinic acid and vitamin E. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2172-2175.
15. **Bachmann J, Tepel M, Raidt H, Riezler R, Graefe U, Langer K, Zidek W:** Hyperhomocysteinemia and the risk for vascular disease in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 121–125.
16. **Bayo MP, Lopez MJ, Ortega AO, Peinado Ca, Granados JJ, de la Serrana HL, Martinez MC:** Resistance of hyperhomocysteinemia in renal patients to treatment with supra-physiological doses of parenteral folic acid. *Nutr Kosp* 2008; 23: 268-276.
17. **Bednarek-Tupikowska G, Tupikowski K:** Homocysteina – niedoceniany czynnik ryzyka miażdżycy. Czy hormony płciowe wpływają na stężenie homocysteiny. *Postepy Hig Med. Dosw* 2004; 58: 381-389

18. **Bekpinar S, Unlucerci Y, Genc S, Turkmen A:** Cardiovascular risk assessment and homocysteine and leptin levels in peritoneal dialysis and hemodialysis patients. *Adv Perit Dial* 2005; 21: 80-84.
19. **Bennet-Richards K, Kattenhorn M, Donald A, Oakley G, Varghese Z, Rees L, Deanfield JE:** Does oral folic acid lower total homocysteine levels and improve endothelial function in chronic with chronic renal failure? *Circulation* 2002; 105: 1810-1815.
20. **Billion S, Tribout B, Cadet E, Queinnec C, Rochette J, Wheatley P, Bataille P:** Hyperhomocysteinaemia, folate and vitamin B12 in unsupplemented haemodialysis patients: effect of oral therapy with folic acid and vitamin B12. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 455-461.
21. **Blacher J, Demuth K, Guerin AP, Vadez C, Moatti N, Safar ME, London GM:** Association between plasma homocysteine concentrations and cardiac hypertrophy in end-stage renal disease. *J Nephrol* 1999; 12: 248-255.
22. **Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Miller JW, Sutherland P, Nadean M, Seyoom E, Hartman W, Prior R, Wilson PW:** Hyperhomocysteinemia and traditional cardiovascular disease risk factors in end stage renal disease patients on dialysis: A case control study. *Atherosclerosis* 1995; 114: 93-103.
23. **Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Sutherland P, Nadean MR, Wilson PW, Yoburn D, Bausserman L, Tofler G, Jaques PF, Selhub J, Rosenberg IH:** Hyperhomocysteinemia, hyperfibrinogenemia and lipoprotein (a) excess in maintenance dialysis patients: A matched case-control study. *Atherosclerosis* 1996; 125: 91–101.
24. **Bostom AG, Shemin D, Gohh RY, Beaulieu AJ, Bagley P, Massy ZA, Jacques PF, Dworkin L, Selhub J:** Treatment of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients and renal transplants recipients. *Kidney Int* 2001; 78(Suppl 2): S46-52.
25. **Bostom AG, Shemin D, Verhoef P, Nadeau MR, Jacques PF, Selhub J, Dworkin L, Rosenberg IH:** Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler Throm Vasc Biol* 1997; 17: 2554-2558.

26. **Bostom AG, Shemin D, Gogh RY, Beaulieu AJ, Massy ZA, Jacques PF, Dworkin L, Selhub J:** Treatment of hyperhomocystenemia in hemodialysis patients and renal transplant recipients. *Kidney Int* 2001; 78(Suppl 2): S246-253.
27. **Boushey CJ, Beresford SAA, Gilbert SO, Motulsky AG:** A quantitative assessment of plasma homocysteine as risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057.
28. **Bowden RG, Wyatt FB, Wilson R, Wilborn C, Gentile M:** Homocysteine and vascular access thrombosis in a cohort of end-stage renal disease patients. *Ren Fail.* 2004; 26: 709-714.
29. **Brattstrom L, Israelsson B, Lindgarde F, Hultberg B:** Higher total plasma homocysteine in vitamin B12 deficiency than in heterozygosity for cystathionine B-synthase deficiency. *Metabolism* 1988; 37: 175-178.
30. **Brattstorm L, Israelsson B, Norrving B:** Impaired homocysteine metabolism in early onset cerebral and peripheral occlusive arterial disease: Effects of pyridoxine and folic acid treatment. *Atherosclerosis* 1990; 81: 51-60.
31. **Brulez HF, van Guldener C, Donker AJ, ter Wee PM:** The impact of an amino acid-based peritoneal dialysis fluid on plasma total homocysteine levels, lipid profile and body fat mass. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 154-159.
32. **Buccianti G, Bamonti Catena F, Patrosso C, Corgi E, Novembrino C, Baragetti I, Lando G, De Franceschi M, Maiolo MT:** Reduction of the homocysteine plasma concentration by intravenously administered folic acid and vitamin B 12 in uraemic patients on maintenance haemodialysis. *Am J Nephrol* 2001; 21: 294-299.
33. **Buccianti G, Baragetti I, Bamonti F, Furiani S, Doriget V, Patrosso C:** Plasma homocysteine levels and cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *J Nephrol.* 2004; 17: 405-410.
34. **Chang Ty, Chou KJ, Tseng CF, Chung HM, Fang HC, Hung YM, Wu MJ, Tzeng HM, Lind CC, Lu KC:** Effect of folic acid and vitamin B complex on serum C-reactive protein and albumin levels in stable hemodialysis patients. *Curr Med Res Opin.* 2007; 23: 1879-1886.

35. **Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, Aupetit J, Hannedouche T, Kamown P, Jungers P:** Hyperhomocysteinemia a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. *Kidney Int* 1993; 43(Suppl. 44): 72-77.
36. **Chen TC, Wang IK, Lee CH, Chang HW, Chiou TY, Lee CT, Fang JT, Wu MS, Hsu KT, Yang CC, Wang PH, Chuang FR:** Hyperhomocysteinaemia and vascular access thrombosis among chronic hemodialysis patients in Taiwan: a retrospective study. *J Clin Pract.* Dec 2006; 60: 1596-1599.
37. **Chiu YW, Chang JM, Hwang SJ, Tsai JC, Chen HC:** Pharmacological dose of vitamin B₁₂ is as effective as low-dose folinic acid in correcting hyperhomocysteinemia of hemodialysis patients. *Ren Fail* 2009; 31: 278-283.
38. **Cianciolo G, La Manna G, Coli L, Donati G, D'Addio F, Persici E, Comai G, Wratten M, Dormi A, mantovani V, Grossi G, Stefoni S:** 5- Methyltetrahydrofolate administration is associated with prolonged survival and reduced infalamtion in ESRD Patients. *Am J Nephrol* 2008; 28: 941-948.
39. **Clarke R, Kaly L, Robison K et al:** Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324:1149.
40. **Collins AJ, Keane WF:** Higher hematocrit levels: do they improve patient outcomes, and are they cost effective? *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1627-1629.
41. **Collins AJ, Ma JZ, Umen A, Keshaviah P:** Urea index (Kt/V) and other predictors of hemodialysis patients survival. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 272-282.
42. **Coppola A, Davi G, De Stefano V, Mancini FP, Cerbone AM, Di Minno G:** Homocysteine, coagulation, platelet function and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 243-254.
43. **Delfino VDA, de Andrade Vianna AC, Mocelin AJ, Barbosa DS, Mise RA, MatsuoT:** Folic acid therapy reduces plasma homocysteine levesl and improves plasma antioxidant capacity in hemodialysis patients. *Nutrition* 2007; 23: 242-247.
44. **Dennis VW, Robinson K.:** Homocysteinemia and vascular diseases in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1996; 50(Suppl 57): 11-17.

45. **De Vriese AS, Verbeke F, Schrijvers BF, Lameire NH:** Is folate a promising agent in the prevention and treatment of cardiovascular disease in patients with renal failure? *Kidney Int* 2002; 61: 1199-1209.
46. **Dierkes J, Domrose U, Ambrosch A, Bosselman HP, Naumann KH, Luley C:** Response of hyperhomocystenemia to folic acid supplementation in patients with end-stage renal disease. *Clin Nephrol* 1999; 51: 108-115.
47. **Dimeny E, Hultberg B, Wahlberg J, Fellestrom B, Arnadottir M:** Serum total homocysteine concentration does not predict outcome in renal transplants recipients. *Clin Transplant* 1998; 12: 563-568.
48. **Diop ME, Viron B, Bailleul S, Lefevre G, Fessi H, Maury J, Etiente J, Couderc R:** Lp(a) is increased in hemodialysis patients according to the type of dialysis membrane: a 2-year follow-up study. *Clin Nephrol* 2000; 54: 210-217.
49. **Domagała TB, Undas A, Libura M., Szczeklik A:** Pathogenesis of vascular disease in hyperhomocysteinemia. *J Cardiovasc Risk* 1998; 5: 239-247.
50. **Eschbach JW, Adamson JW:** Iron overload in renal failure patients: Changes since the introduction of erythropoietin therapy. *Kidney Int* 1999; 55(Suppl 69): S35-S43.
51. **Fodinger M, Buchmayer H, Heinz G, Papagiannopoulos M, Kletzmayer J, Perschl A, Vychytil A, Horl WH, Sunder-Plassmann G:** Association of two MTHFR polymorphism with total homocysteine plasma levels in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 77-84.
52. **Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Hartin CJ, Murray DC, Barre PE:** Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int* 1995; 47: 186-192.
53. **Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE:** Hypoalbuminemia, cardiac morbidity and mortality in end stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 728-736.

54. **Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE:** Impact of hypertension on cardiomyopathy, morbidity and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1996; 49: 1379-1385.
55. **Fudin R, Jaichenko J, Shostak A, Bennett M, Gotloib L:** Correction of uremic iron deficiency anemia in hemodialyzed patients: A prospective study. *Nephron* 1998; 79: 299-305.
56. **Gąsiorowska D, Korzeniowska K, Jablecka A:** Homocysteina. *Farm współ* 2008; 1:196-175.
57. **Glueck CJ, Shaw P, Lang JE, Tracy T, Siewe-Smith L, Wang Y:** Evidence that homocysteine is an independent risk factor for atherosclerosis in hyperlipidemic patients. *Am J Cardiol* 1995; 75: 132-136.
58. **Goto S, Fuji H, Kim JI, Fukagawa M:** Homocysteine and folic acid levels in hemodialysis patients treated with sevelamer hydrochloride. *Clin Nephrol* 2010; 73: 420-425.
59. **van Guldener C:** Why is homocysteine elevated in renal failure and what can be expected from homocysteine-lowering? *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1161-1166.
60. **van Guldener C, Kulik W, Berger R, Dijkstra DA, Jakobs C, Reijngoud DJ, Donker AJ, Stehouwer CD, De Meer K:** Homocysteine remethylation and methionine transmethylation are proportionally decreased in end-stage renal disease – A stable isotop study with L-[2H3-methyl-1-13C]-methionine. *Kidney Int* 1999; 56: 1064-1071.
61. **Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, Nygard O, Schneede J, Vollset SE, Refsum H:** Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (>40 $\mu\text{mol/l}$). *J Clin Invest* 1996; 98: 2174-2183.
62. **Guttormsen AB, Ueland PM, Svards E, Refsum H:** Kinet basis of hyperhomocysteinemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1997; 52: 495-502.

63. **Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR:** Homocysteine induced arteriosclerosis, The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58: 731-741.
64. **Harnett JD, Foley RN, Kent GM, Barre PE, Murray D, Partrey PS:** Congestive heart failure in dialysis patients: Prevalence, incidence, prognosis and risk factors. *Kidney Int* 1995; 47: 884-890.
65. **Heinz J, Kropf S, Domrose U, Westphal S, Borucki K, Luley c, Neumann KH, Dierkes J:** B vitamins and the risk of total mortality and cardiovascular disease in end-stage renal disease: results of a randomized controlled trial. *Circulation* 2010; 121: 1379-1381.
66. **Heinz J, Kropf S, Luley C, Dierkes J:** Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease in patients treated by dialysis: A meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009; 54: 478-489.
67. **Herrmann W, Quast S, Ellgass A, Wolter K, Kiessig ST, Molinari E, Riegel W.:** An increase 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: 41-49.
68. **Huysmans K, Lins RL, Daelemans R, Zachee P, De Broe ME:** Hypertension and accelerated atherosclerosis in end-stage renal disease. *J Nephrol* 1998; 11: 185-195.
69. **Hultberg B, Andersson A, Sterner G:** Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 40: 230–234.
70. **Iseki K, Nishime K, Uehara H, Tokuyama K, Toma S, Yosihara K, Kanatari T, Terukina S, Osana A, Fukiyama K:** Increased risk of cardiovascular disease with erythropoetin in chronic dialysis patients. *Nephron* 1996; 72: 30-36.
71. **Jacobsen DW:** Homocysteine targeting of plasma proteins in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2006; 69: 787-789.
72. **Jamison RL, hartigan P, Kaufman JS, Goldfarb DS, Warren SR, Guarino PD, Gaziano JM:** Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in

- advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease. *JAMA* 2007; 298: 1163-1170.
73. **Janssen MJ, van Guldener C, Jong GM, van der Berg M, Stehouwer CD, Donker AJ:** Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Miner Electrolyte Metab* 1996; 22: 110-114.
 74. **Jungers P, Chauveau P, Bandin O, Chadeaux B, Aupetit J, Labrunie M, Descamps-Latscha B, Kamoun P:** Hyperhomocysteinemia is associated with atherosclerotic occlusive arterial accidents in predialysis chronic renal failure patients. *Miner Electrolyte Metab* 1997; 23: 170-173.
 75. **Jungers P, Joly D, Massy Z, Chauveau P, Nguyen AT, Aupetit J, Chadeaux B:** Sustained reduction of hyperhomocysteinaemia with folic acid supplementation in predialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2903-2906.
 76. **Jungers P, Massy ZA, Khoa TN, Fumeron C, Labrunie M, Lacour B, Descamps-Latscha B, Man NK:** Incidence and risk factors of atherosclerotic cardiovascular accidents in predialysis chronic renal failure patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2597-2602.
 77. **Kang SS, Wong PWK, Morasis M:** Hyperhomocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987; 36: 458-462.
 78. **Kennedy R, Case C, Fathi R, Johnson D, Isbel N, Marwick TH:** Does renal failure cause an atherosclerotic milieu in patients with end-stage renal disease? *Am J Med.* 2001; 15: 198-204.
 79. **Kes P:** Hyperhomocysteinemia in end-stage renal failure. *Acta Med Croatica*, 2000; 54: 175-181.
 80. **Kraśniak A, Drożdż M, Pasowicz M, Chmiel G, Michałek M, Szumilak D, Podolec P, Klimeczek P, Konieczńska M, Wicher-Muniak E, Tracz W, Khoa TN, Sourberbielle JC, Druka TB, Sułowicz W:** Factors involved in vascular calcification and atherosclerosis in maintenance hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 515-521.

81. **Kokot F, Chudek J, Lysiak-Szydlowska W, Domagała B, Adamczak M, Ignacy W, Kania M, Rutkowski B, Szczeklik A, Więcek A:** Levels of carnitine and homocysteine in plasma of long-term hemodialysis patients with chronic renal failure. *Pol Arch Med. Wewn* 2001; 106: 1131-1136.
82. **Kronenberg F:** Homocysteine, lipoprotein(a) and fibrinogen: metabolic risk factors for cardiovascular complications of chronic renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypert* 1998; 7: 271–278.
83. **Kokot F, Chudek J, Lysiak-Szydlowska W, Domagała B, Adamczak M, Ignacy W, Kania M, Rutkowski B, Szczeklik A, Więcek A:** Levels of carnitine and homocysteine in plasma of long-term hemodialysis patients with chronic renal failure. *Pol Arch Med. Wewn* 2001; 106: 1131-1136.
84. **Koulouridis E, Tzilianos M, Katsarou A, Costimba I, Klonou E, Panagiotaki E, Georgalidis C, Krokida A, Delaportas N, Lachanas A, Karaliotas G, Kaliolia I:** Homocysteine and C-reactive protein levels in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2001; 33: 207-215.
85. **Korzets A, Ori Y, Chagnac A, Weinstein T, Herman M, Zevin D, Malachi T, Gafter U:** Erythropoetin, folic acid deficiency and hyperhomocystenemia: is there a possible relationship in chronically hemodialyzed patients? *Clin Nephrol* 2000; 53: 48-54.
86. **Kunz K, Petitjean P, Lisri N, Chantrel F, Koehl C, Wiessel ML, Cazenave JP, Moulin B, Hannedouche TP:** Cardiovascular morbidity and endothelial dysfunction in chronic haemodialysis patients: is homocystein the missing link? *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1934-1942.
87. **Lee JA, Kim DH, Oh DJ, Yu SH:** Association of serum albumin and homocysteine levels and cardio-ankle vascular index in patients with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Korean J Int Med* 2006; 21: 2338 - 2343.

88. **Lee YK, Kwon YJ, Yoon JW., Oh KS, Cha DR, Cho WY, Huh K, Pyo HJ, Kim HK:** Homocysteine and atherosclerosis in patients on chronic hemodialysis. *J. Korean Med Sci* 1999; 14: 193-198.
89. **Lee EY, Kim JS, Lee HJ, Yoon DS., Han BG, Shim YH, Choi SO:** Do dialysis patients need extra folate supplementation? *Adv Perit Dial* 1999; 15: 247-250.
90. **Li N, Chen YF, Zou AP:** Implications of hyperhomocysteinemia in glomerular sclerosis in hypertension. *Hypertension* 2002; 39: 443-448.
91. **Lim PS, Hung WR, Wei YH:** Polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase gene: its impact on plasma homocysteine levels and carotid atherosclerosis in ESRD patients receiving hemodialysis. *Nephron* 2001; 87: 249-256.
92. **Lindner A, Bankson DD, Stehman-Breen C, Mahuren JD, Coburn SP:** Vitamin B6 metabolism and homocysteine in end-stage renal disease and chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 134-145.
93. **Locatelli F, Aljama P, Canaud B, Covic A, De Francisco A, Macdougall IC, Więcek A, Vanholdner R:** Target haemoglobin to aim for with erythropoiesis-stimulating agents: a position statement by ERBP following publication of the Trial to Reduce Cardiovascular Events with Aranesp Therapy (TREAT) Study. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 2846-2850.
94. **London GM, Fabiani F, Marchais SJ, de Vornejoul MC, Guerin AP, Safar ME, Metivier F, Llach F:** Uremic cardiomyopathy: An inadequate left ventricular hypertrophy. *Kidney Int* 1987, 31: 973-980.
95. **London GM, Drueke TB:** Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1997; 51: 1678-1695.
96. **London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Pannier B, Safar ME, Day M, Metivier F:** Cardiac and arterial interactions in end stage renal disease. *Kidney Int* 1996; 50: 600-608.
97. **Lovcic V, Kes P, Reiner Z:** Characteristic of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Acta Med Croatia* 2006; 60: 21-26.

98. **Lovcic V, Kes P, Zeljko R, Kusec V:** The treatment of hyperhomocysteinemia in patients on dialysis: folic acid or the high-flow polysulphonic membrane? *Acta Med Croatia* 2006; 60: 201-208.
99. **Ludat K, Paulitschke M, Riedel E, Hampl H:** Complete correction of renal anemia by recombinant human erythropoietin. *Clin Nephrol* 2000; 53: S42-S49.
100. **Madore F, Lowrie E, Brugnara C, Lew NL, Lazarus JM, Bridges K, Owen WF:** Anemia in hemodialysis patients: variables affecting this outcome predictor. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1921-1929.
101. **Malinow MR, Nieto FJ, Szklo M, Chambless LE, Bond G:** Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocysteine in asymptomatic adults: The atherosclerosis risk in communities study. *Circulation* 1993; 87: 1107-1113.
102. **Manns BJ, Burgess ED, Hyndman ME, Parsons HG, Schaefer JP, Scott-Douglas NW:** Hyperhomocysteinemia and the prevalence of atherosclerotic vascular disease in patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 669-677.
103. **Mann JFE, Sheridan P, McQueen MJ, Held C, Arnold MO, Fodor G, Yusuf S, Lonn EM:** Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in people with chronic kidney disease-results of the renal Hope-2 study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 645-653.
104. **Mansoor M.A, Svardal A.M, Ueland P.M.** Determination of the in vivo redox status of cysteine, cysteinylglycine, homocysteine, and glutathione in human plasma. *Annal Biochem* 1992; 200: 218-230.
105. **Marcus J, Sarnak MJ, Menon V:** Homocysteine lowering and cardiovascular disease risk: Lost in translation. *Can J Cardiol* 2007; 23: 707-710.
106. **McCully KS:** Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996; 2: 386-390.
107. **McDonald SP, Whiting MJ, Tallis GA, Barbara JA:** Relationship between homocysteine and related amino acids in chronic hemodialysis patient. *Clin Nephrol* 2001; 55: 465-470.

108. **McGregor D, Shand B, Lynn K:** A controlled trial of the effect of folate supplements on homocysteine, lipids and hemorheology in end-stage renal disease. *Nephron* 2000; 85: 215-220.
109. **Moon KH, Song IS, Yang WS, Shin YT, Kim SB, Song JK, Park JS:** Hypoalbuminemia as a risk factor for progressive left-ventricular hypertrophy in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2000; 20: 396-401.
110. **Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW, Robinson K, Dennis VW:** Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998; 97: 138-141.
111. **Nakamura T, Saionji K, Hiejima Y, Hirayama H, Tago K, Takano H, Tajiri M, Hayashi K, Kawabata M, Funamizu M, Makita Y, Hata A:** Methylenetetrahydrofolate reductase genotype, vitamin B12, and folate influence plasma homocysteine in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1032-1039.
112. **Nanayakkara WB, van Guldener C, ter Wee P, Scheffer PG, van Ittersum FJ, Twisk JW, Teerlink T, van Dorp W, Stehouwer CDA:** Effect of a treatment strategy consisting of pravastatin, vitamin E, and homocysteine lowering on carotid intima-media thickness, endothelial function, and renal function in patients with mild to moderate chronic kidney disease. *Arch Intern Med*. 2007; 167: 1262-1270.
113. **Naruszewicz M, Klinka M, Dziewanowski K, Staniewicz A, Bukowska H:** Homocysteine, fibrinogen, and lipoproteine (a) leveles are simultaneously reduced in patients with renal failure treated with folic acid, pyridoxine, and cyanocobalamin. *Metabolism* 2001; 50: 131-134.
114. **Nishizawa Y, Shoji T, Ishimura E, Inaba M, Morii H:** Paradox of risk factors for cardiovascular mortality in uremia: Is a higher cholesterol level better for atherosclerosis in uremia? *Am J Kidney Dis* 2001; 38: S4-S7.
115. **Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Veland PM, Farstad M, Vollset SE:** Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-236.

116. **Oh J, Wunsch R, Turzer M, Bahner M, Raggi P, Querfeld U, Mehls O, Schaefer F:** Advanced coronary and carotid arteriopathy in young adults with childhood-onset chronic renal failure. *Circulation* 2002; 106: 100-105.
117. **Ono K, Hisasue Y:** Is folate supplementation necessary in hemodialysis patients on erythropoietin therapy. *Clin Nephrol* 1992; 38: 290-292.
118. **Oishi K, Nagake Y, Yamasaki H, Fukuda S, Ichikawa H, Ota K, Makino H:** The significance of serum homocysteine levels in diabetic patients on haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 851-855.
119. **Oishi K, Nagake Y, Yamasaki H, Fukuda S, Ichikawa H, Ota K, Makino H:** The significance of atherogenic indices in patients on hemodialysis. *Am J Nephrol*; 2000; 20: 107-115.
120. **Ossareh S, Shayan-Moghaddam H, Salimi A, Asgari M, Farrokhi F:** Different doses of oral folic acid for homocysteine-lowering therapy in patients on hemodialysis. *Iranian J Kidney Dis* 2009; 3: 227-233.
121. **Owen WF, Lew NL, Liu Y, Lowrie EG, Lazarus JM:** The urea reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 1993; 329: 1001-1006.
122. **Parfrey PS, Foley RN:** Risk factors for cardiac dysfunction in dialysis patients: Implication for patient care. *Sem Dial* 1997; 10: 137-141.
123. **Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE:** The outcome and risk factors for left ventricular disorders in chronic uremia. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1277-1285.
124. **Perna AF, Ingrosso D, DeSanto NG, Galletti P, Brunone M, Zappia V:** Metabolic consequences of folate-induced reduction of hyperhomocysteinemia in uremia. *J Am Soc Nephrol* 1998; 8: 1899-1905.
125. **Perna AF, Ingrosso D, Satta E, Romano M, Cimmino A, Galetti P, Zappia V, De Santo NG:** Metabolic consequences of hyperhomocysteinemia in uremia. *Am. J Kidney Dis* 2001; 38(Suppl 1): S85-90.

126. **Perna AF, Acanfora F, Luciano MG, Pulzella P, Capasso R, Satta E, Cinzia L, Pollastro RM, Iannelli S, Ingross D, De Santo NG:** Plasma protein homocysteinylolation in uremia. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 1678-1682.
127. **Queffeuilou G, Michel C, Vrtovsnik F, Philit JB, Dupuis E, Mignon F:** Hyperhomocysteinemia, low folate status, homozygous C 677 T mutation of the methylene tetrahydrofolate reductase and renal arterial thrombosis. *Clin Nephrol* 2002; 57: 158-162.
128. **Raine AEG, Margreiter R, Brunner FP, Ehrich JHH et al:** Report on the management of renal failure in Europe XXII 1991. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7(Sppl 2): 35.
129. **Rakhit DJ, Marwick TH, Armstrong KA, Johnson DW, Leano R, Isbel NM:** Effect of aggressive risk factor modification on cardiac events and myocardial ischaemia in patients with chronic kidney disease. *Heart* 2006; 92: 1402-1408.
130. **Rhigetti M, Serbelloni P, Milani S, Ferrario G:** Homocysteine-lowering vitamin B treatment decreases cardiovascular events in hemodialysis patients. *Blood Purif.* 2006; 24: 377-378.
131. **Robinson K, Gupta A, Dennis V, Arheart K, Chandhary D, Green R, Vigo P, Mayer EL, Kutner M, Jacobsen DW, Selhub J:** Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and piridoxine concentrations. *Circulation* 1996; 94: 2743–2748.
132. **Ross R:** The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
133. **Sakurabayashi T, Fyjimoto M, Takaesu Y, Haginoshita S, GotoS, Aoike I, Miyazaki S, Koda Y, Yuasa Y, Sakai S, Suzuki M, Hirasawa Y:** Association between plasma homocysteine concentration and carotid atherosclerosis in hemodialysis patients. *Jpn Circ J* 1999; 63: 692-696.
134. **Sanchez C, Aranda P, Planells E, Galindo P, Perez de la Cruz A, Larrubia W, Ilopis J:** Influence of low-protein dietetic foods consumption on quality of life and levels of B

vitamins and homocysteine in patient with chronic renal failure. *Nutr Hosp.* 2010; 25: 238-244.

135. **Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, O'leary DH, Wolf PA, Schaefer EJ, Rosenberg IH:** Association between plasma homocysteine concentration and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 286-291.
136. **Schaefer RM, Teschner M, Kosch M:** Folate metabolism in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(Suppl 5): 24-27.
137. **Shojaei MH, Djalali M, Siassi F, Khatami MR, Boroumand MA, Eshragian MR:** Serum levels of lipoprotein(a) and homocysteine in patients on hemodialysis who take hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors, vitamin B₆, and folic acid. *Iranian J Kidney Dis* 2009; 3: 141-144.
138. **Simic-Ogrizovic S, Stosovic M, Novakovic I, Pejanovic S, Jemcov T, Radovic M, Djukanovic L:** Fuzzy role of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients' mortality. *Biomed Pharmacother* 2006; 60: 200-207.
139. **Sombolos K, Papaioannou A, Christidou F, Natse T, Bamichas G, Gionanlis L, Katsaris G, Progia E:** The effect of two different doses comprising the simultaneous administration of intravenous B-complex vitamins and oral folic acid on serum homocysteine levels in hemodialysis patients. *International Urology and Nephrology* 2006; 38: 725-730.
140. **Spence JD, Cordy P, Kortas C, Freeman D.:** Effect of usual doses of folate supplementation on elevated plasma homocysteine in hemodialysis patients: no difference between 1 and 5 mg daily. *Am J Nephrol* 1999; 19: 405-410.
141. **Shemin D, Bostom AG, Selhub J:** Treatment of hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(Suppl 1): S91-94.
142. **Stam F, van Guldener C, ter Wee PM, Jakobs C, de Meer K, Stehouwer CDA:** Effect of folic acid on methionine and homocysteine metabolism in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2005; 67: 259-264.

143. **Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullius 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: 308-318.
144. **Stanford JL, Molina H, Philips j, Kohlman-Trigoboff D, Moore J, Smith BM:** Oral folate reduce plasma homocysteine levels in hemodialysis patients with cardiovascular disease. *Cardiovasc Surg* 2000; 8: 567-571.
145. **Suliman ME, Qureshi AR, Barany P, Stenvinkel P, Filho JC, Anderstam B, Heimbürger O, Lindholm B, Bergström J:** Hyperhomocysteinemia, nutritional status, and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 57: 1727-1735.
146. **Suliman M, Stenvinkel P, Qureshi AR, Kalantar-Zadeh K, Barany P, Heimbürger O, Vonesh EF, Lindholm B:** The reverse epidemiology of plasma total homocysteine as a mortality risk factor is related to the impact of wasting and inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 209-217.
147. **Sunder-Plassmann G, Föding M, Buchmayer H, Papagiannopoulos M, Wojcik J, Kletzmayer J, Enzerberger B, Janata O, Winkelmayer WC, Paul G, Auinger M, Barnas U, Horl WH:** Effect of high dose folic acid therapy on hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients: results of the Vienna multicenter study. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1106-1116.
148. **Sunder-Plassmann G, Winkelmayer WC, Föding M:** Therapeutic potential of total homocysteine-lowering drugs on cardiovascular disease. *Expert Opin Investig Drugs* 2000; 9: 2637-2651.
149. **Takamitsu Y, Nakanishi T:** Association of endothelial dysfunction with sulfur amino acid metabolism in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(Suppl 1): S95-99.
150. **Taruangsri P, Ong-Ajyooth S, Chaiyasoot W, leowattana W, Sritippayawan S, Vareesangthip K, Chanchairujira T, Vasuvattakul S, Shayakul C, Vanichakarn S:** Relationship between hyperhomocysteinemia and atherosclerosis in chronic hemodialysis patients. *J Med Assoc Thai* 2005; 88: 1373-1381.

151. **Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA:** Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilatation in humans. *Circulation* 1997; 95: 1119-1121.
152. **Thambyrajah J, Landray MJ, McGlynn FJ, Jones HJ, Wheeler DC, Townsend JN:** Does folic acid decrease plasma homocysteine and improve endothelial function in patients with predialysis renal failure? *Circulation* 2000; 102: 871-875.
153. **Touam M, Zingraff J, Jungers P, Chadeaux-Vekemans B, Drueke T, Massy ZA:** Effective correction of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients by intravenous folinic acid and pyridoxine therapy. *Kidney Int* 1999; 56: 2292-2296.
154. **Tremblay R, Bonnardeaux A, Geadah D, Busque L, Lebrun L, Ouimet D, Leblanc M:** Hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients: effects of 12-month supplementation with hydrosoluble vitamins. *Kidney Int* 2000; 58: 851-858.
155. **Tsai JC, Kuo HT, Chiu YW, Hwang SJ, Chuang HY, Chang JM, Chen HC, Lai YH:** Correlation of plasma homocysteine level with arterial stiffness and pulse pressure in hemodialysis patients. *Atherosclerosis* 2005; 182: 121-127.
156. **Tungkseeerak P, Ong-ajyooth L, Chaiyasoot W, Ong-aiyooth S, Leowattana W, Vasuvattakul S, Vareesangthip K, Shayakul C, Chanchairujira T, Sritippayawan S:** Effect of short-term folate and vitamin B supplementation on blood homocysteine level and carotid artery wall thickness in chronic hemodialysis patients. *J Med Assoc Thai* 2006; 89: 1187-1193.
157. **Urquhart BL, House AA:** Assessing plasma total homocysteine in patients with end-stage renal disease. *Perit Dial Int* 2007; 27: 476-488.
158. **Vecchi AF, Bamonti-Catena F, Finazzi S, Campolo J, Taioli E, Novembrino C, Celucci P, Accinni R, De Franceschi M, Fasano MA, Maiolo AT:** Homocysteine, vitamin B12, and serum and erythrocyte folate in peritoneal dialysis and hemodialysis patients. *Perit Dial Int* 2000; 20: 169-173.

159. **Vecchi AF, Patrosso C, Novembrino C, Finazzi S, Colucci P, Franceschi M, Fasano MA, Bamonti-Catena F:** Folate supplementation in peritoneal dialysis patients with normal erythrocyte folate: effect on plasma homocysteine. *Nephron* 2001; 89: 297-302.
160. **Ventura P, Panini R, Verlato Ch, Scarpetta G, Salvioli G.:** Hyperhomocysteinemia and related factors in 600 hospitalized elderly subjects. *Metabolism* 2001; 12: 1466-1471.
161. **Webb AT, Reaveley DA, O'Donnell M, O'Connor B, Seed M, Brown EA:** Lipids and lipoprotein(a) as risk factors for vascular disease in patients on renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 5: 354-357.
162. **Westhuyzen J:** Folate supplementation in the dialysis patients – fragmentary evidence and tentative recommendations. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2748-2750.
163. **Westhuyzen J, Matherson K, Tracey R, Fleming SJ:** Effect of withdrawal of folic acid supplementation in maintenance hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1993; 40: 96-99.
164. **Vianna AC, Mocelin AJ, MatsuoT, Morais-Filho D, Largura A, Delfino VA, Soares AE, Matni AM:** Uremic hyperhomocysteinemia: a randomized trial of folate treatment for the prevention of cardiovascular events. *Hemodial Int* 2007; 11: 210-216.
165. **Wilcken DE, Dudman NP, Tyrrel PA, Robertson MR:** Folic acid lowers elevated plasma homocysteine in chronic renal insufficiency: Possible implication for prevention of vascular disease. *Metabolism* 1988; 37: 697–701.
166. **Yu H, Rifai N:** High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerosis: from theory to therapy. *Clin Bioch* 2000; 33: 601-610.
167. **Zachwieja K, Kolanowska H, Pietrzyk JA, Drożdż D, Dyras P, Stec Z, Sancewicz-Pach K:** Stężenie homocysteiny, witaminy B12, kwasu foliowego oraz wybranych parametrów układu krzepnięcia u dzieci ze schyłkową niewydolnością nerek. *Nefrol Dial Pol* 2001; 5: 198-204.