

HOMOSİSTEİN ve KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ

HOMOCYSTEINE AND CHRONIC RENAL FAILURE

Sevcan A. Bakkaloğlu

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı, ANKARA

Böbrek fonksiyonları plazma homosistein konsantrasyonu için önemli bir belirleyicidir ve azalan böbrek rezervi ile homosistein düzeyleri arasında yakın bir ilişki vardır (1). Böbrek yetmezliği gelişen hastalarda homosistein düzeyleri normal şahıslara oranla en az üç-dört kat artmakta (2-4), normal populasyonda %5-7 olan hiperhomosisteinemi prevalansı %85-90'a ulaşmaktadır (1,5,6). Diyaliz tedavisi ile izlenen hastalarda hiperhomosisteinemiye geniş serili bir çalışmada Bostom tarafından dikkat çekilmiş ve bu hastalarının %83'ünde hiperhomosisteineminin saptandığı gösterilmiştir (7). Kronik periton diyalizi ile izlenen hastalarda da total homosistein düzeylerinin hemodiyaliz hastalarına göre daha düşük düzeylerde olmakla birlikte belirgin olarak yükseldiği gösterilmiştir (8).

Üremide homosistein metabolizmasında yer alan diğer aminoasit ve ara ürünler de etkilenmektedir. Hastaların metionin düzeyleri normal, buna karşın sistationin ve sistein gibi transsülfürasyon metabolitlerinin düzeyleri yüksek bulunmaktadır. S-adenozil metionin (Ado-Met) ve S-adenozil homosistein (Ado-Hcy) gibi ara ürünlerin plazma konsantrasyonlarının arttığı, Ado-Hcy'deki artışın daha belirgin olduğu ve buna bağlı olarak Ado-Met/Ado-Hcy oranının düştüğü gösterilmiştir. Aynı patern eritrositlerde de gösterilmiş, üremik hastalarda artmış plazma ve eritrosit homosisteininin eritrositlerde toksik bir bileşen olan Ado-Hcy birikimine neden olduğu saptanmıştır (3,4). Sistein-homosistein mikst disülfid düzeylerinin böbrek yetmezliği olan hastalarda kreatinin düzeyleri ile korele olarak arttığı bilinmektedir (9). Plazma homosistein konsantrasyonu ile kreatinin düzeyi arasında pozitif, kreatinin klirensi ile negatif korelasyon olduğu da gösterilmiştir (1). Buna karşın hiperhomosisteinemi ile primer böbrek hastalığı, diyaliz modalitesi, diyaliz süresi ve diyaliz yeterliliği arasında ilişki saptanamamıştır (10).

Hiperhomosisteineminin ateroskleroz gelişimi ve kardiyovasküler morbidite/mortalite açısından

bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (11-14). Homosisteinin ateroskleroz patogenezindeki yerine ilk kez 30 yılı aşkın bir süre önce homosistinürili bir hastaya ait otopside aterosklerozis varlığını gösteren McCully dikkat çekmiş (15) ve devam eden araştırmalarla hiperhomosisteineminin sağlıklı populasyon ve kronik böbrek yetmezliği hastaları için kardiyovasküler risk faktörü olduğu kesinleşmiştir (16). Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda % 85-90'a varan hiperhomosisteinemi prevalansı ve diğer pek çok predizpozan faktör nedeniyle aterosklerotik hastalıklar açısından oldukça yüksek risk söz konusudur (17). Total homosistein düzeyindeki 1 µmol/l lik artış, üremik hastalarındaki vasküler riski %1 arttırmaktadır (18). Üremik çocuk hastalarda da hiperhomosisteinemiye bağlı vasküler komplikasyonlar gelişebilmektedir (19).

Homosistein aracılıklı vasküler hasar direkt endotelial toksisite yanısıra trombosit ve pıhtılaşma faktörlerindeki fonksiyonel bozukluklar nedeniyle de gelişmektedir (20). Homosisteinin kültüre edilmiş endotelial hücrelerde reaktif oksijen radikalleri oluşumunu arttırdığı ve peroksitleri detoksifiye edecek antioksidan enzimleri inhibe ettiği gösterilmiştir (21-24). Ayrıca hiperhomosisteineminin endotel hücre proliferasyonunu ve endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ettiği ve endotelin antitrombotik fonksiyonlarını bozduğu da bilinmektedir (21). Üremik hastalarda homosisteinin özellikle okside formlarının birikimi nedeniyle serbest oksijen radikalleri aşırı miktarda üretilmekte, antioksidan savunma mekanizmaları bozulmakta, nitrik oksitin biyoyararlanımı azalmakta ve endotel bağımlı vazodilatasyon negatif yönde etkilenmektedir (21). Diyaliz hastalarında endotel fonksiyonlarında geri dönüşsüz bozukluklar oluşabilmekte ve buna bağlı olarak kalıcı vasküler hasar gelişebileceği düşünülmektedir (21,25). Kalıcı vasküler hasarı önlemek ve olası kardiyovasküler risklerden korunmak için

hiperhomosisteinemiye yönelik tedaviler gündeme gelmektedir.

Kronik böbrek yetmezliğinde hiperhomosisteineminin mekanizması:

Tam olarak aydlatılamamakla birlikte çeşitli hipotezler üzerinde durulmaktadır:

- Defektik renal klirens veya metabolizma İdrarla homosistein klirensinin minimal (kreatinin klirensinin sadece %0.3'ü veya günde 3-l(^mol/l) oluşu nedeniyle, renal yetmezliğe bağlı azalmış homosistein ekskresyonunun hiperhomosisteinemiden sorumlu tutulamayacağı düşünülmektedir (4,26-27). Kronik böbrek yetmezliğinde homosisteinin tubuler "uptake"inin azalabileceği ve üremik hiperhomosisteinide tübüler hücrelerde aktif homosistein katabolizmasının bozulmasının neden olabileceği öne sürülmüştür. Ancak bu güne dek insanlarda bunu destekleyen kesin kanıt elde edilememiştir (4,28).

- Tüm vücut homosistein metabolizmasındaki sistemik bir bozukluk Böbrek yetmezliğinde hiperhomosisteinemi için temel mekanizmanın defektif homosistein remetilasyonunu ve transmetilasyonu olduğu düşünülmektedir. Patogenezi tam olarak aydlatılamamakla birlikte üremik toksinlerin direkt inhibitör etkileri ve üremide değişmiş folat metabolizması potansiyel neden olarak düşünülmektedir (4,29). Üreminin eritrosit, plazma ve tüm vücutta biriken homosistein ve Ado-Hcy'nin transmetilasyon reaksiyonlarını inhibe ettiği de bilinmektedir (30).

- Böbrek yetmezliğinde hiperhomosisteineminin böbrek dışı veya sistemik kaynaklı olabileceği yönündeki diğer çalışmalarda vitamin ve/veya substrat eksiklikleri, genetik bozukluklar, değişmiş total vücut homosistein "turnover"i araştırılmaktadır. Bu konuda en çok çalışılan vitaminler folat, kobalamin ve pridoksindir. Üremik hastalarda düzeyleri genellikle normal şuurlarda olduğu halde, hiperhomosisteinemi önlemede yetersiz kalmaktadırlar. Folat, plazma homosistein konsantrasyonunun en önemli determinantıdır. Böbrek yetmezliği olan hastalarda sadece folatla yapılan tedavilerle plazma homosistein konsantrasyonlarında düşüş elde edilmesi de bunu desteklemektedir (4).

- Bunların ötesinde genetik yapı da plazma homosistein düzeyi için önemli bir belirleyicidir. Homosistein metabolizmasında yer alan enzimleri kodlayan genlerdeki polimorfizm homosisteinin plazma düzeyini belirlemektedir (31). İnsanda 5,10 metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geni Ip36.3 loküsünde yer alır ve 11 ekzon içerir (32). Normal şahıslarda MTHFR'ı kodlayan genin 4. ekzonunda folatın

bağlanma yerinde homozigot C677T mutasyonunun (MTHFR TT) enzim aktivitesini normalin %35'ine indirdiği, folat eksikliğine predispozisyon yarattığı ve hiperhomosisteinemi ile birlikte olduğu gösterilmiştir (33,34). Çeşitli renal replasman tedavileri ile izlenen hastalarda da plazma homosistein düzeylerinin MTHFR C677T mutasyonundan etkilendiği, bu mutasyonu homozigot olarak taşıyan hemodiyaliz, periton diyalizi ve renal transplantasyon alıcılarında hiperhomosisteineminin ağırla olduğu gösterilmiştir (32). Bu çalışmalarda hastaların folat almıyor olması veya sadece düşük dozların verilmesi dikkat çekicidir. Bunun aksine günde 2 mg folat ilavesi ile MTHFR homozigot olan hastalarda plazma homosistein düzeylerinin etkilendiği de gösterilmiştir (32). Renal transplant vericilerindeki 677T alelinin alıcıda hiperhomosisteinemi üzerine etkisinin olmadığı da belirtilmiştir(35).

Son yıllarda homosistein metabolizmasındaki rolü tam olarak aydlatılamamakla birlikte MTHFR geninde ekzon 7'de yeni bir mutasyon tanımlanmıştır. MTHFR A1298C polimorfizmi ile enzim aktivitesi normalin %60'ına indiği halde (32,36) hiperhomosisteinemi veya folat eksikliği saptanamamaktadır. Bununla birlikte 677T ve 1298C MTHFR birleşik heterozigotlarında hiperhomosisteinemi ve folat eksikliği görülmektedir. Renal transplantasyon uygulanan 733 hastada MTHFR A1298C polimorfizminin plazma total homosistein ve folat düzeylerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada birleşik heterozigotların plazma homosistein düzeylerinin artmadığı, buna karşın bu hastalarda folat düzeyinin düşük olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada 677TT (1298AA) genotipinin plazma homosistein düzeylerini etkilediği ve bu hastaların plazma folat düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (37).

Üremik hiperhomosisteinemide tedavi

Üremide homosisteinin remetilasyonu veya folik asit, pridoksin ve vitamin B 12 eksiklikleri plazma homosistein düzeylerinde kısmi bir yükseklığe neden olsa da, bu vitaminlerin normal düzeylerde olduğu üremik hastalarda da hiperhomosisteinemi görülmektedir (38). Ayrıca çoğu üremik hastada vitamin B 12, pridoksal fosfat ve folat düzeyleri belirlenmeden hastalara rutin olarak bu kofaktörleri içeren vitaminler verildiğinden, vitamin B 12 ve folat eksikliğinin homosistein düzeyi yüksekliklerinden sorumlu tutulamayacağı yönünde de düşünülmektedir (9). Buna rağmen kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda homosistein konsantrasyonunu düşürmek amacıyla ilk kez 1981 yılında folat, pridoksin ve vitamin B 12 tedavileri denenmiş ve sadece folatın yararlı olduğu gösterilmiştir (39). Diyaliz hastalarına suprafizyolojik dozlarda folik asit verildiğinde gerek erişkin, gerekse çocuklarda plazma homosistein

düzeylerinde düşüş elde edilmektedir. Bu konuda çeşitli çalışmalar vardır. Günde 1 mg ve 5 mg folat verilen iki ayrı diyaliz hasta grubunda bu dozların homosistein düzeylerini düşürmede yetersiz kaldığı, dozun 15 mg'a yükseltilmesi gerektiği gösterilmiştir (8). Bostom ve arkadaşlarının bir çalışmasında HD tedavisi ile izlenen 50 hasta ve renal transplantasyon uygulanmış 60 hastada hiperhomosisteinemi tedavisinde B 6 ve B 12 vitaminleri ile kombine edilmiş folat (15 mg/gün) veya eşdeğer miktarda indirgenmiş folatın (17 mg/gün MTHFR) etkinliğini karşılaştırmışlardır. Oldukça yüksek dozlar denenmesine rağmen her iki tedavi ile HD hastalarının homosistein düzeylerinde etkili bir düşüş sağlanamadığı ve HD hastalarındaki hiperhomosisteineminin tedavi başlangıcında aynı homosistein düzeylerine sahip renal transplantasyon alıcılarına oranla tedaviye daha dirençli olduğu gösterilmiştir (40). Günlük 5 mg veya 15 mg folat eklenmesi ile son dönem böbrek yetmezliği olan ve hemodiyaliz tedavisi ile izlenen hastaların çoğunda total homosistein düzeylerinin düşürülebildiği gösterilmiştir (41,42). Hemodiyaliz tedavisi uygulanan 144 hiperhomosisteinematik hastaya günlük 15 mg, 30 mg ve 60 mg folatın verildiği bir çalışmada farklı dozlarda folat uygulaması ile homosistein düzeylerindeki düşüşün üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, folat ilavesi öncesindeki bazal plazma total homosistein düzeylerinin folat tedavisine yanıtı belirleyen bağımsız bir faktör olduğu gösterilmiştir. Dört hafta süreyle günde 30 veya 60 mg folat verilen MTHFR TT genotipinde olan hastalarda tedavi kesimini takiben rebound olduğu, hatta bazı hastalarda homosistein düzeylerinin başlangıç düzeylerinin de üstüne çıktığı bildirilmiştir. (43). Bu çalışmada ayrıca, homosistein metabolizmasının 5,10 MTHFR'ın genetik değişkenliklerinden etkilediği bilindiğinden, MTHFR C677T ve A1298 C polimorfizmlerinin yüksek doz folat tedavisine yanıtı etkileyip etkilemediği de araştırılmıştır. Günde 60 mg folat verildiğinde MTHFR TT genotipi olan hastalarda CC veya CT genotipi olanlara oranla plazma homosistein düzeylerinin daha belirgin olarak düştüğü gösterilmiştir (43).

Renal transplantasyon uygulanan hastalarda hiperhomosisteinemi

Renal transplantasyon uygulanan hastalarda açlıkta ve metionin yüklemesi sonrasında hiperhomosisteineminin gelişme prevalansının %50-60 olduğu bildirilmiştir (35,44). Artmış plazma homosistein konsantrasyonunun azalan renal fonksiyonlarla paralel olarak arttığı belirtilse de (44), bu konu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (45).

Arnadottir ve arkadaşlarının transplantasyondan önce ve sonra plazma homosistein düzeylerini değerlendirdikleri bir çalışmada, transplantasyonu takiben glomerül filtrasyon hızı pretransplant döneme göre çok belirgin ölçüde yükseldiği halde, plazma homosistein düzeyinde beklenen ölçüde düşüş olmadığı saptanmıştır (46). Bunun aksini gösteren çalışmalar da vardır. Stein ve arkadaşları stabil renal transplantasyon alıcılarında total homosistein düzeyini sağlıklı kontrollere oranla 2 kat, metabolitlerini ise 2-6 kat yüksek bulmuşlardır. Ayrıca bu metabolitlerin düzeyleriyle serum kreatinin düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmış olmaları dikkat çekicidir (45). Yine aynı çalışmada akut ve kronik rejeksiyon atakları ile artmış plazma total homosistein düzeyi veya artmış metabolitlerinin düzeyleri arasında herhangi bir ilişki olmadığı da gösterilmiştir (45). Benzer şekilde 5 yıl süreyle izlenen renal transplantasyon alıcılarında hasta ve graft survisinin, graft fonksiyonunun ve histopatolojinin, pre veya posttransplant serum homosistein düzeylerinden etkilenmediği gösterilmiştir (46).

Normal populasyon ve üremik hastalarla benzer şekilde renal transplant alıcılarında da hiperhomosisteineminin kardiyovasküler hastalıklar açısından potansiyel bir risk faktörü olduğuna ilişkin çalışmalar vardır (44). Bu hastalarda aterosklerotik kardiyovasküler hastalık mortalitesi iki kat, kardiyovasküler hastalık insidansı dört kat artmıştır (47). Homosistein düzeyindeki $\mu\text{mol/l}$ lik artış, kardiyovasküler hastalık gelişme riskini %6 arttırmaktadır (47). Ducloux ve arkadaşları, öyküsünde geçirilmiş kardiyovasküler hastalık olan renal transplantasyon alıcılarında plazma homosistein düzeyinin böyle bir öyküsü olmayan transplantlı hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (48). Günter ve arkadaşları ise yeni saptanan veya öyküsünde kardiyovasküler hastalık olan 17 renal transplant alıcısı ile kardiyak sorunu olmayan 33 hasta arasında plazma total homosistein ve metabolitlerinin düzeyleri açısından fark olmadığını göstermişlerdir (45). Renal transplant alıcılarında gözlenen daha düşük kardiyovasküler hastalık oranlarının, diyaliz tedavisi ile izlenen hastalara oranla daha düşük homosistein düzeylerine sahip olmalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (45).

Renal transplantasyon alıcılarında homosistein düzeylerinin MTHFR TT genotipi ile ilişkisi çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. 189 renal transplantasyon alıcısının dahil olduğu bir çalışmada homozigot genotipi olan hastalarda anlamlı ölçüde yüksek plazma homosistein düzeyleri saptanmıştır. Kreatinin klirensi ve plazma folatı yanı sıra MTHFR 677 TT genotipinin de, bu hastalarda plazma homosistein

konsantrasyonu için önemli bir belirleyici olduğu vurgulanmıştır (49). Diğer bir çalışmada 733 renal transplantasyon alıcısında MTHFR C677T ve A1298C polimorfizmlerinin homosistein ve folat düzeyleri üzerine etkisi değerlendirilmiş ve 677 TT (1298AA) genotipine sahip hastalarda homosistein düzeylerinin yüksek ve folat düzeylerinin düşük olduğu, ayrıca birleşik heterozigot genotipinde olanlarda plazma folatının düşük düzeylerde olduğu saptanmıştır (37). Farklı MTHFR genotipleri ve hiperhomosisteineminin hasta ve graft süresine etkisi de araştırılmıştır. Ortalama iki yıllık izlemde 189 renal transplantasyon alıcısında plazma homosistein düzeyi ve MTHFR genotiplerinin hasta ve graft süresine etkisinin olmadığı, sadece kreatinin düzeyinin graft süresini etkilediği gösterilmiştir (49).

Siklosporin A kullanımının hiperhomosisteinemi için ek bir risk olduğunu savunan çalışmaların aksine (46), siklosporin içeren ve içermeyen protokollerle tedavi edilen renal transplantlı hastaların homosistein düzeyleri arasında fark olmadığını gösteren çalışmalar da vardır (50). Sikloporin kullanımı ile homosisteinin yanısıra metabolitlerinin düzeylerinin de etkilenmediği gösterilmiştir (45).

Renal transplantasyon alıcılarında total homosistein ve metabolitlerinin düzeylerinin düşürülmesi ve bu yolla kardiyovasküler hastalıklardan daha etkin korunma sağlanabilmesi ve uzun dönem başarının artırılması konusunda araştırma ve çabalar sürmektedir.

Üremik çocuklarda hiperhomosisteinemi:

Kronik böbrek yetmezliği olan çocuklarda hiperhomosisteinemi ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Sağlıklı çocuklarda olduğu gibi üremik çocuklarda da homosistein düzeylerinin yaşla paralel olarak arttığı gösterilmiştir (51). Erişkinlerdekine benzer şekilde üremik çocuk hastalarda da hiperhomosisteinemi geliştiği, bunun son dönem böbrek yetmezliği gelişmeden önce ortaya çıktığı ve renal transplantasyon yapıldıktan sonraki dönemlerde de sebat ettiği, plazma homosistein düzeyi ile glomerül filtrasyon hızı arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir (51,52). Çocukluk yaş grubunda konservatif tedavi ile izlenen prediyaliz dönemdeki hastaları, hemodiyaliz hastalarını, iyi ve kısmen bozulmuş graft fonksiyonu olan renal transplantasyon hastalarını kapsayan bir çalışmada tüm gruplarda plazma homosistein düzeylerinin aynı yaştaki sağlıklı çocuklara oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır (51). Üremik çocuk hastalarda folat tedavisi ile homosistein düzeylerinde düşüş elde edilebildiği halde (19, 53), hiperhomosisteinemi tedavisinde kullanılacak optimum folat dozu tam olarak belirlenememiştir. Yapılacak tedavinin çocukları ileride gelişebilecek aterosklerotik risklerden koruyup koruyamayacağı konusu açıklık kazanmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, Aupetit J, Hannedouche T, Kamoun P. Hyperhomocysteinemia, a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. *Kidney Int Suppl* 1993; 43: S72-77.
2. Hultberg B, Andersson A, Arnadottir M. Reduced, free and total fractions of homocysteine and other thiol compounds in plasma from patients with renal failure. *Nephron* 1995; 70: 62-67.
3. Hörl WH. Genesis of the uremic syndrome. In: Davison AM, Cameron JS, Grünfeld JP, Kerr DNS, Ritz E, Winearls CG (eds). *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. Oxford Medical Publications, Oxford 1998; pp 1822-1836.
4. Guldener CV, Stam F, Stehouwer CDA. Homocysteine metabolism in renal failure. *Kidney Int Suppl* 2001; 59: S234-237.
5. Dennis VW, Robinson K. Homocysteinemia and vascular disease in end stage renal disease. *Kidney Int Suppl* 1996; 50: SI 1-17.
6. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: Prevalence, etiology, and potential relationship to atherosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997; 52: 10-20.
7. Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Sutherland P, Nadeau MR, Wilson PWF, et al. Hyperhomocysteinemia, hyperfibrinogenemia, and lipoprotein (a) excess in maintenance dialysis patients.: A matched case-control study. *Atherosclerosis* 1996; 125:91-101.
8. 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
9. Wilcken DEL, Gupta VJ. Sulphur-containing aminoacids in chronic renal failure with particular reference to cysteine-homocysteine mixed disulfide. *Eur J Clin Invest* 1979; 9: 301-307.
10. Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Nadeau MR, Sutherland P, Chan J, et al. Folate status is the major determinant of fasting total plasma homocysteine levels in maintenance dialysis patients. *Atherosclerosis* 1996; 123: 193-202.
11. Boers GHJ, Smals AGH, Trijbels FJM, Fowler B, Bakkeren JAJM, Schoonderwaldt HC; et al. • Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Eng J Med* 1985; 313: 709-715.
12. Clarke R, Daly R, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I. Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *N Eng J Med* 1991; 324: 1149-1155.
13. Stampfer MJ, Malinow R, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, et al. A prospective study on plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268: 877-881.
14. Perna AF, Ingrosso D, Castaldo P, Galletti P, De Santo GN. Homocysteine and transmethylation in uremia. *Kidney Int Suppl* 2001; 59: S230-233.

15. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-128.
16. Scott JM. Homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 333-334.
17. Bostom AG, Gohh RY, Beaulieu AJ, Nadeau MR, Hume AL, Jacques PF, et al. Treatment of hyperhomocysteinemia in renal transplant recipients: A randomized, placebo-controlled trial. *Ann Int Med* 1997; 127: 1089-1092.
18. Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW, et al. Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998; 97: 138-141.
19. Merouani A, Genest J, Rozen R, Lambert M, Mitchell GA, Dubois J, Robitaille P. Cerebral vascular complications in a cystinotic uremic child. *Pediatr Nephrol* 1999; 13: 73-76.
20. Ueland PM, Refsum H, Brattström L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. In: *Atherosclerotic cardiovascular disease, Hemostasis and endothelial function*. Francis RB Jr (ed), New York, Marcel Dekker, Inc., 1992, pp 183-236.
21. Massy ZA, Ceballos I, Chadefaux-Latscha B, Nguyen-Khao T, Descamps-Latscha B, Driieke T, Jungers P. Homocysteine, oxidative stress, and endothelium function in uremic patients. *Kidney Int Suppl* 2001; 59: S243-245.
22. Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A. The role of sulphur-containing aminoacids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1987; 262: 10098-10103.
23. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 1986; 77: 1370-1376.
24. Upchurch GR, Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Loscalzo J. Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272: 17012-17017.
25. Guldener CV, Janssen MJFM, Lambert J, ter Wee PM, Jacobs J, Donker AJM, Stehouwer CDA. No change in impaired endothelial function after long-term folic acid therapy of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 106-112.
26. Refsum H, Helland S, Ueland PM. Radioenzymatic determination of homocysteine in plasma and urine. *Clin Chem* 1985; 31: 624-628.
27. Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH. Quantitation of total homocysteine, total cysteine and methionine in normal serum and urine using capillary gas chromatography-mass spectrophotometry. *Analytical Biochem* 1987; 162: 186-196.
28. Hultberg B, Andersson A, Sterner G. Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 40: 230-234.
29. Massy ZA. Reversal of hyperhomocyst(e)inemia in chronic renal failure-Is folic or folinic acid the answer? *Nephrol Dial Transplant* 1999; 12: 2810-2812.
30. Loehrer FMT, Angst CP, Brunner FP, Haefeli WE, Fowler B. Evidence for disturbed S-adenosylmethionine:S-adenosylhomocysteine ratio in patients with end-stage renal failure: A cause for disturbed methylation reactions? *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 656-661.
31. Födinger M, Buchmayer H, Sunder-Plassmann G. Molecular genetics of homocysteine metabolism. *Miner Electrolyte Metab* 1999; 25: 269-278.
32. Födinger M, Wagner OF, Hörl WH, Sunder-Plassmann G. Recent insights into the molecular genetics of the homocysteine metabolism. *Kidney Int Suppl* 2001; 59: S238-242.
33. Födinger M, Hörl WH, Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol* 2000; 13: 20-33.
34. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase (letter). *Nat Genet* 1995; 10: 111-113.
35. Födinger M, Wolf G, Fischer G, Rasoul-Rockenschaub S, Schmid R, Hörl WH, Sunder-Plassmann G. Effect of MTHFR 677C T on plasma total homocysteine levels in renal graft recipients. *Kidney Int* 1999; 55: 1072-1080.
36. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 1998; 64: 169-172.
37. Födinger M, Buchmayer H, Heinz G, Papagiannopoulos M, Kletzmayer J, Rosoul-Rockenschaub, et al. Effect of MTHFR 1298 A C and MTHFR 677C T genotypes on total homocysteine, folate, and vitamin B 12 plasma concentrations in kidney graft recipients. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1918-1925.
38. Janssen MJFM, Guldener CV, de Jong GM, van den Berg M, Stehouwer CDA, Donker AJM. Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Miner Electrolyte Metab* 1996; 22: 110-114.
39. Wilcken DEL, Gupta VJ, Betts AK. Homocysteine in the plasma of renal transplant recipients: Effects of cofactor for methionine metabolism. *Clin Sci* 1981; 61: 743-749.
40. Bostom AG, Shemin D, Gohh RY, Beaulieu AJ, Bagley P, Massy ZA, et al. Treatment of hyperhomocysteinemia in hemodialysis and renal transplant recipients. *Kidney Int* 2001 Suppl; 59: S246-252.
41. Wilcken DEL, Dudman NP, Tyrrell PA, Robertson MR. Folic acid lowers elevated plasma homocysteine in chronic renal insufficiency: Possible implications for prevention of vascular disease. *Metabolism* 1988; 37: 697-701.
42. Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Hume AL, Yoburn D, Nadeau MR, et al. High dose B-vitamin treatment of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Kidney Int* 1996; 49: 147-152.
43. Sunder-Plassmann G, Födinger M, Buchmayer H, Papagiannopoulos M, Wojcik J, Kletzmayer J, Enzenberger B, et al. 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.
44. Massy ZA, Chadeaux-Vekemans B, Chevalier A, Bader CA, Druke TB, Legendre C, et al. Hyperhomocysteinemia: a significant risk factor for cardiovascular disease in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant*. 1994;9(8):1103-1108.
 45. Stein G, Müller A, Busch M, Fleck C, Sperschneider S. Homocysteine, its metabolites, and B group vitamins in renal transplant patients. *Kidney Int Suppl* 2001; 59: S262-265.
 46. Arnadóttir M, Hultberg B, Wahlberg J, Fellström B, Dimeny E. Serum total homocysteine concentration before and after renal transplantation. *Kidney Int* 1998; 54: 1380-1384.
 47. Bostom AG. Homocysteine: "Expensive creatinine" or important, modifiable risk factor for atherosclerotic outcomes in renal transplant recipients? *J Am Soc Nephrol* 2000;11:149-151.
 48. Ducloux D, Ruedin C, Gibey R, Vautrin P, Bressonvautrin C, Rebibou JM, Chalopin JM. Prevalence, determinants and, clinical significance of hyperhomocyst(e)inemia in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:2890-2893.
 49. Hagen W, Födinger M, Heinz G, Buchmayer H, Hörl WH, Sunder-Plassmann G. Effect of MTHFR genotypes and hyperhomocysteinemia on patient and graft survival in kidney transplant recipients. *Kidney Int Suppl* 2001; 59: 253-257.
 50. Ducloux D, Fournier V, Rebibou JM, Bresson-Vautrin C, Gibey R, Chalopin JM. Hyperhomocysteinemia in renal transplant recipients with and without cyclosporine. *Clin Nephrol* 1998; 49: 232-235.
 51. Lilien M, Duran M, Hoeck KV, Poll-The BT, Schroder C. Hyperhomocysteinemia in children with renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 366-368
 52. Litwin M, Abuauba M, Wawer ZT, Grenda R, Kuryt T, Pietraszek E. Folate, vitamin B₁₂ and sulfur amino acid levels in patients with renal failure. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 127-132
 53. Litwin M, Grenda R. Hyperhomocysteinemia in children with moderate chronic renal failure — effect of folic acid treatment. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: CI 89 (Abstract).