

HEMODİYALİZ HASTALARINDA PLAZMA TOTAL HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİ

PLAZMA TOTAL HOMOCYSTEINE LEVELS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

**Fatih Bulucu, Abdülgaffar Vural*, Zeki Yeşilova,
Çağatay Öktenli, Halil Yaman**, M. Kemal Erbil**,
Fikri Kocabalkan***

Gülhane Askeri Tıp Akademisi İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
* Nefroloji Bilim Dalı, "Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Homosistein (Hey) ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörüdür. Son dönem böbrek hastalarında aterosklerotik kardiyovasküler olaylar en sık ölüm nedeni olduğundan bu çalışma hemodiyaliz hastalarından oluşan bir grupta plazma Hey düzeylerinin durumunu belirlemek, böbrek fonksiyonları ile ilişkisini incelemek, beslenme durumu ile olan ilişkisini saptamak ve hemodiyalizin plazma Hey düzeyleri üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla gerçekleştirildi. On altı hemodiyaliz hastasının diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey, serum üre, kreatinin ve albümin değerleri belirlendi. Hemodiyaliz yeterliliğinin bir göstergesi olarak URR (urea reduction rate) değerleri belirlendi. Kontrol grubu 16 sağlıklı bireyden oluşturuldu ve plazma total Hey düzeyleri saptandı. Hastaların diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey düzeyleri kontrollerinkilerle ve birbirleri ile kıyaslandı. Ayrıca hastaların diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey düzeylerinin serum üre, kreatinin, albümin düzeyleri ve URR değerleri ile olan ilişkisi araştırıldı. Çalışma grubunun diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey düzeylerinin kontrollerinkinden anlamlı olarak yüksek olduğu, beslenme durumu ile ilişkili olmadığı ancak URR ile anlamlı ilişkili olduğu belirlendi. Sonuç olarak hemodiyaliz hastaları yüksek plazma total Heyin düzeylerine sahiptirler. Son dönem böbrek hastalarında hemodiyaliz tedavisi tek başına plazma Hey düzeylerinin normal değerlerine dönmesi için yeterli olamamaktadır.

SUMMARY

Homocysteine (Hey) is an independent risk factor for atherosclerosis. Since atherosclerotic cardiovascular events are the most frequent death causes in end stage renal disease patients, in the present study, plasma total Hey levels, their relationship with renal functions and nutritional status and the effect of hemodialysis on plasma total Hey levels were investigated in hemodialysis patients. In 16 hemodialysis patients, pre- and postdialysis plasma total Hey, serum urea, creatinine and albumin levels were determined. As an indicator of dialysis adequacy, URR (urea reduction rate) values of the patients were calculated. The control group was consisted of 16 healthy subjects and their plasma total Hey levels were also measured. Predialysis plasma total Hey levels of the patients were compared to those of the controls and to the postdialysis levels. Additionally, it was also investigated whether predialysis and postdialysis plasma total Hey levels of the patients had relationship with serum urea, creatinine, albumin levels and URR values. The both of pre- and postdialysis levels of plasma total homosistein were higher than those of controls. While pre- and postdialysis plazma total homosistein levels had no correlation with nutritional statues of the patients, they had significant correlation with URR values. In conclusion, hemodialysis patients have elevated plazma total Hey levels. Although there is a reduction in plazma total Hey levels after hemodialysis session, they do not return to the normal in postdialysis period.

Key words: Homocysteine, hemodialysis

GİRİŞ

Vasküler hastalık son dönem böbrek hastalığının major bir komplikasyonudur. Bu hastalarda kardiyak arrest, miyokard infarktüsü ve diğer kardiyak olaylar en sık ölüm nedenidirler (1). Ateroskleroz için bilinen diğer risk faktörlerinin (hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara içimi ve diyabet) yanı sıra sülfür içeren bir aminoasit olan homosisteinin (Hey) de koroner, serebral ve periferik dolaşım için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir (2-4). Metyoninin demetilasyonu ile oluşan Hcy'nin (5) kronik böbrek yetmezliğinde ilk defa Wilcken ve Gupta tarafından gösterilmiştir (6). Plazma Hey düzeylerinin serum kreatinin düzeyleri ile pozitif bir korrelasyon göstermekle birlikte Hcy'nin böbrekten itrahının azalmasının artmış Hey düzeylerinin başlıca sorumlusu olamayacağı, çünkü total Hey üretiminin % 0.1'inin idrarla atıldığı ve kronik böbrek yetmezliklilerde artmış Hey düzeylerinin nedeninin henüz açıklığa kavuşmadığı bildirilmektedir (7,8). Son dönem böbrek hastalarında hemodiyaliz plazma Hey düzeyleri üzerine kısmi bir etkisi olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (5,9-11). Çalışmamız hemodiyaliz hastalarında plazma Hey düzeylerinin durumunu belirlemek, böbrek fonksiyonları ile ilişkisini incelemek, beslenme durumu ile olan ilişkisini saptamak ve hemodiyaliz plazma Hey düzeyleri üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla gerçekleştirildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız 1-99 aydan beri (ortalama hemodiyaliz yaşı 22.0 ± 27.8 ay) hemodiyaliz tedavisi görmekte olan 16 son dönem böbrek yetmezlikli hastada gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya alınan hemodiyaliz hastalarının 11'i erkek olup, 5'i kadındı. Hastaların yaşlarının ortalaması 36.1 ± 15.5 yıl (21-70 yıl) idi. Hastalar haftada 3 kez 4 saat süreli 1.2 m^2 'lik Cuprophan membranının kullanıldığı hemodiyaliz tedavisi almaktaydılar. Diyaliz öncesi serum kreatinin düzeylerinin ortalaması $11.1 \pm 3.4 \text{ mg/dl}$ (7.00-20.1 arasında) idi. Hastaların hiçbiri rutin olarak B vitamini ya da folik asit desteği almamaktaydı. Sağlıklı gönüllülerden seçilen kontrol grubu da 16 bireyden (10 erkek ve 6 kadın) oluşmaktaydı. Kontrol grubundakilerin hepsinin renal fonksiyonları normal olup yaşlarının ortalaması 38.4 ± 9.2 yıl (25-57 arasında) idi. Hastalar ve kontrollerin özellikleri **Tablo-1'** de görülmektedir.

Tablo-1: Hastaların ve kontrollerin özellikleri

	Hastalar	Kontroller
Sayı	16	16
Kadın/Erkek	5/11	6/10
Yaş ortalaması (yıl)	36.1 ± 15.5 (21-70)	38.4 ± 9.2 (25-57)
Hemodiyaliz yaşı ortalaması (ay)	22.0 ± 27.8 (1-99)	

Hastalardan diyaliz öncesi ve sonrası kontrollerden ise sabah aç olarak plazma total Hey düzeylerini tayin etmek üzere potasyum içeren EDTA lı tüplere 5 cc tam kan alındı. Alman kanların 1 saat içinde plazması ayrıldı. Çalışma gününe kadar -40°C 'da depolandı. Çalışmada HPLC (high performance liquid chromatography) yöntemi ile floresan dedektör kullanıldı. Örnekler çalışma için injekte edilmeden önce redüksiyon aşamasında beta merkaptotanol, derivatizasyon aşamasında 7 florobenzo-2-oksa-1.3 diyazol 4-sülfonimid (ABD-F) ile floresans veren bileşik haline getirildi. Kromatografik koşullarda mobil fazda % 8 metanol içeren 0.1 molar fosfat tampon (pH 6.0) kullanıldı. İsookratik olarak çalışıldı. Akım hızı 1.6 ml/dk olarak gerçekleştirildi ve $20 \mu\text{l}$ 'lik lup takılı Rheodyne enjeksiyon modülüne $20 \mu\text{l}$ örnek uygulandı. Ayrımında reverse faz iyon değişimi kullanıldı. Analitik kolon olarak C18 hidrokarbon zincirine bağlı silika içeren, partikül büyüklüğü $5 \mu\text{m}$ olan $150 \times 4.6 \text{ mm}$ boyutlarındaki Hypersil çelik kolon kullanıldı. Analitik kolonla enjeksiyon modülü arasında koruyucu olarak $50 \times 4.6 \text{ mm}$ boyutlarında C18 Hypersil çelik koruyucu kolon yerleştirildi. Floresan tarayıcıyla 386 nm eksitasyon ve 516 nm emisyon dalga boylarında 15 dk süreli tarama gerçekleştirildi. Standart çalışmalarında elde edilen pik yükseklikleri esas alınarak çizilen kalibrasyon eğrisine uygulanan regresyon analizinde hesaplanan eğim değerlerine göre bilinmeyen örneklerin pik yüksekliklerinden konsantrasyonları bulundu. Konsantrasyonlar $\mu\text{mol/L}$ olarak belirtildi.

Ayrıca hastalardan diyaliz öncesi ile sonrası ve kontrollerden ise sabah aç olarak serum üre, kreatinin ve albumin düzeylerini tayin etmek amacıyla kan örnekleri alındı. Serum üre, kreatinin ve albumin değerleri bir otoanalizör (Technicon RA-1000) yardımı ile tayin edildi. Diyaliz öncesi ve sonrası serum üre değerlerine dayanılarak hastaların URR (urea reduction rate) değerleri $\text{URR} = 100(1 - \text{Postdiyaliz üre}/\text{prediyaliz üre})$ (12) formülüne göre belirlendi.

Hastaların diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey düzeyleri kontrollerinkilerle ve birbirleri ile kıyaslandı. Ayrıca hastaların diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey düzeylerinin serum üre, kreatinin, albümin düzeyleri ve URR değerleri ile olan ilişkisi araştırıldı.

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak belirtildi. Sonuçların istatistiki değerlendirmesinde Mann-Whitney U ile Wilcoxon nonparametrik testleri ve Pearson korrelasyon testi kullanıldı. Bulunan p değerleri 0.05'den küçük ise anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Hasta ve kontrol grubu birbirinden yaş açısından farklılık göstermedi ($p=0.270$). Hastaların diyaliz öncesi plazma total Hey düzeyleri (25.6 ± 1.3 mol/L) kontrol grubunkilerden (12.3 ± 5.4 μ mol/L) anlamlı olarak farklı bulundu ($p=0.0000$) (**Tablo-2**). Çalışma grubunun diyaliz öncesi ve sonrası serum üre, kreatinin ve albümin düzeyleri **Tablo-3** de görülmektedir. Hastaların diyaliz öncesi plazma total Hey düzeyleri hastaların yaşları ($r=-0.3002$, $p=0.277$), hemodiyaliz yaşları ($r=-0.2662$, $p=0.338$) diyaliz öncesi serum üre ($r=0.3835$, $p=0.143$), serum kreatinin ($r=0.4044$, $p=0.120$) ve serum albümin düzeyleri ($r=-0.2252$, $p=0.402$) ile istatistiki olarak anlamlı bir ilişki göstermedi (**Tablo-3**). Hastaların diyaliz öncesi (25.6 ± 1.3 mol/L) ve sonrası (20.7 ± 10.3 mol/L) plazma total Hey düzeyleri arasındaki farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu ($p=0.0004$) bulundu (**Tablo-1**). Hastaların diyaliz sonrası total Hey düzeyleri (20.7 ± 10.3 mol/L) kontrollerinkinden (12.3 ± 5.4 μ mol/L) istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermekteydi ($p=0.0020$) (**Tablo-2**). Çalışma grubunun diyaliz sonrası üre ($p=0.0004$) ve kreatinin ($p=0.0004$) düzeyleri diyaliz öncesi değerlerinden anlamlı farklı olup URR ortalaması 55.00 ± 13.32 (21.00 ila 80.00 arasında) idi. Hastalar serum albümin düzeyleri açısından kontrollerle farklılık göstermedi ($p=0.7536$). Hasta grubunda diyaliz sonrası serum üre ($r=0.5588$, $p=0.024$) ve serum kreatinin ($r=0.7853$, $p=0.000$) değerleri diyaliz sonrası plazma total Hey düzeyleri ile anlamlı korrelasyon gösterirken, diyaliz sonrası serum albümin düzeyleri ile diyaliz sonrası plazma total Hey düzeyleri arasında da anlamlı bir ilişki mevcut değildi ($r=-0.1933$, $p=0.473$). URR değerleri giriş ($r=-0.6087$, $p=0.012$) ve çıkış ($r=-0.5871$, $p=0.017$) plazma total Hey düzeyleri ile negatif yönde anlamlı bir ilişki göstermekteydi.

Tablo-2: Hastaların diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey düzeylerinin kontrollerle karşılaştırılması.

	Diyaliz öncesi	Diyaliz sonrası	Kontroller
Plazma total Hey düzeyleri (μ mol/L)	25.6 ± 11.3^a (14.6-55.0)	20.7 ± 10.3^b (9.5-45.7)	12.3 ± 5.4^c (6.9-29.0)

^a ile ^c için $p < 0.0001$; ^a ile ^b için $p = 0.0004$; ^b ile ^c için $p = 0.002$

Tablo-3: Hastaların diyaliz öncesi ve sonrası serum üre, kreatinin ve albümin değerleri

	Diyaliz öncesi	Diyaliz sonrası	p değeri
Serum üre (mg/dl)	156.81 ± 50.20	74.75 ± 43.52	0.0004
Serum kreatinin (mg/dl)	11.16 ± 3.48	5.82 ± 2.36	0.0004
Serum albumini (g/dl)	4.58 ± 0.57	4.60 ± 0.93	0.7536

TARTIŞMA

Plazma total Hey düzeylerinin kronik böbrek yetmezliğinde artmış olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (5-8, 13, 14). Sonuçlarımız da bu çalışmalar ile uyumlu olarak, plazma total Hey düzeylerinin hemodiyaliz hastalarında diyaliz öncesi ve sonrası dönemlerde kontrollere göre yüksek olduğunu göstermektedir. Plazma Hey düzeylerinin serum kreatinin düzeyleri ile korelasyonu olduğu bildirilmektedir (8, 15-17). Ancak çalışmamızda diyaliz öncesi plazma total Hey düzeylerinin diyaliz öncesi serum kreatinin düzeyleri ile anlamlı bir korrelasyon göstermediği bulunmuştur. Diyaliz öncesi ve sonrası plazma total Hey düzeylerinin serum albümin düzeyleri ile pozitif yönde anlamlı bir ilişki gösteren yayın ile (16) karşılaştırıldığında, çalışmamızda gerek diyaliz öncesi ($r=-0.2252$, $p=0.402$) gerekse diyaliz sonrası ($r=-0.1933$, $p=0.473$) plazma total Hey düzeyleri ile serum albümin düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Serum albumini ile plazma total Hey düzeyleri arasındaki ilişkinin pozitif yönde olduğu diğer çalışmaların aksine çalışmamızda bu iki parametre arasındaki ilişkinin negatif yönde olması çalışma populasyonlarındaki farklı beslenme biçimlerinin bir sonucu olabilir. Günde idrarla itrah edilen Hey miktarı 3.5-10 mol olup bu miktar günlük total Hey üretiminin

yaklaşık % 0.1'idir (7). Normalde günlük toplam üretiminin az bir miktarı idrarla itrah edilen Hcy'nin plazma düzeylerinin hemodiyaliz hastalarında artmış olması ve çalışmamızda serum kreatinin düzeyleri ile istatistiki olarak anlamlı bir korrelasyon göstermemesi, bu durumdan glomerül filtrasyon hızı azalmasının dışındaki faktörlerin de sorumlu olabileceğini telkin etmektedir. Böbrek yetmezlikli hastalarda görülen yüksek plazma total Hey konsantrasyonlarının mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (8,14). Bostom ve arkadaşları farelerde yaptıkları bir çalışmada Hcy'nin böbrekler tarafından alınıp metabolize edildiğini ve çok az miktarda idrarla itrah edildiğini göstermişlerdir (18). Guttormsen ve arkadaşları da benzer bulgularını bildirmişlerdir (19). Ancak total Hcy'nin sadece sınırlı bir bölümü (serbest kısım, total Hcy'nin sadece % 20'si) serbest olarak filtre olabildiğinden aktif nefron kitlesinin kaybına bağlı olarak üremiklerde hiperhomosisteinemi görülmesinden glomerül filtrasyon hızının azalması sadece kısmen sorumlu olabilir (5). Metioninin demetilasyonu ile oluşan ve serin ile kondansasyona girerek önce sistationin daha sonra da sisteine dönüşen Hcy'nin kronik böbrek yetmezliklilerdeki artmış plazma düzeylerinden üremik ortamın etkisiyle artmış yapımı ya da azalmış yıkımı da sorumlu olabilir. Ancak Hey metabolizmasında sorumlu enzimlerin üremik ortam tarafından etkilenip etkilenmediği ispatlanmamıştır. Üremik hastalarda serin düzeylerinin normal ya da normalin alt sınırında olması Hey katabolizmasının korunduğunun delili olarak öne sürülmüşse de (20) Tiziannelo (21) serinin büyük oranda böbreklerde glisinden oluştuğunu ve azalmış aktif böbrek kitlesinin serin düzeylerindeki düşüklükten sorumlu olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Hcy'nin serin ile kondansasyona girerek sistationin oluşturmasında kofaktör olarak görev yapan pridoksinin diyaliz hastalarındaki yüksek plazma total Hey düzeylerini düşürmek için verilmesi durumunda anlamlı bir fayda sağlamadığı görülmüştür (22). Bu durum da üremik hastalarda Hcy'nin katabolizmasının bu yoldan olmadığını göstermektedir. Öte yandan böbrek yetmezliklilerde plazma Hey düzeylerini düşürmede en etkin yolun folat desteği olduğu bildirilmektedir. Folat Hcy'nin remetilasyonu yoluyla metionine dönmesini sağlamaktadır. Ancak bazı bireylerde görülen metilentetrahidrofolat redüktaz gen mutasyonunun aynı doz folik asit desteğine rağmen hastaların plazma Hey düzeylerinde aynı oranda düşme sağlanamamasından sorumlu olduğu bildirilmiştir (23). Tüm bu veriler glomerül filtrasyon hızının dolaylı bir göstergesi olan serum kreatinin düzeylerinin çalışmamızda plazma total Hey düzeyleri ile korrelasyon göstermemesini desteklemektedir, çünkü

plazma total Hey düzeyleri hemodiyaliz hastalarında sadece glomerül filtrasyon hızının azalmasından değil aynı zamanda üremik ortamdan ve genetik aberrasyonlardan etkileniyor gözükmektedir.

Hemodiyaliz tedavisinin plazma total Hey konsantrasyonlarını azaltıcı etkisi olduğu ancak normal düzeylere indiremediği bildirilmektedir. Wilcken ve ark. (9) diyaliz sonrası plazma Hey düzeylerinin diyaliz öncesine göre % 50, Kang ve ark. (10) % 23, Smolin ve ark. (11) % 11, Chauveau ve ark. (5) % 50, Suliman ve ark. (24) ise % 26 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da tek seans hemodiyaliz sonrası serum total Hey düzeyleri % 19 oranında bir azalma göstermiş ve normal düzeylere dönmemiştir. Hemodiyaliz tedavisinin plazma Hey düzeylerini düşürmesi konusundaki bu farklı sonuçların hemodiyaliz tekniğinden kaynaklanmış olması muhtemeldir. Yüksek oranda geçirgen, yüksek akımlı membranların kullanıldığı Chauveau ve arkadaşlarının çalışmasında (5) diyaliz sonrası plazma Hey düzeylerinde diyaliz öncesine göre % 50 düşüş sağlanmıştır. Ortalama URR'nin % 55.00Ü3.32 olduğu hasta grubumuzda diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası plazma total Hey düzeylerinin URR değerleri ile negatif yönde anlamlı korrelasyon göstermesi diyaliz etkinliğinin Hey, uzaklaştırmadaki rolünün önemini göstermektedir. URR'deki azalma hastaların diyaliz öncesi plazma total homosistein düzeylerindeki artışla anlamlı negatif ilişki gösterdiğinden bu durum hemodiyalizin bu hasta grubunda Hey uzaklaştırmadaki başlıca yol olduğunu akla getirmektedir.

Sonuç olarak hemodiyaliz hastaları ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilen Hey'in yüksek düzeylerine sahiptirler ve bu durum bu hasta grubunda görülen ve en sık ölüm nedeni olan kardiyovasküler olaylara katkıda bulunan bir faktör olabilir. Hey düzeylerinin düşürülmesinin böbrek yetmezliği olanlarda ateroskleroz gelişimini etkileyip etkilemeyeceğini araştırarak çalışmalar bu aminoasidin böbrek yetmezliklilerdeki kardiyovasküler mortalite üzerine olan etkisini belirlemeye yardımcı olacaktır. Son dönem böbrek hastalarında hemodiyaliz tedavisi tek başına plazma Hey düzeylerinin normal değerlerine dönmesi için yeterli olamamaktadır.

KAYNAKLAR

1. US Renal Data System,USRDS 1995 Annual Data Report. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease; April 1995

- Rostand SG, Brunzell JD, Canon RO, Victor RG. Cardiovascular complications in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1991; 2: 1053-1062
- Malinow MR, Levenson J, Giral P et al. Role of blood pressure, uric acid, and hemorheological parameters on plasma homocysteine concentration. *Atherosclerosis* 1995; 114:175-180.
- Donner MG, Klein GK, Mathes PB et al. Plasma total homocysteine levels in patients with early -onset coronary heart disease and a low cardiovascular risk profile. *Metabolism* 1998; 47: 273-279.
- Chauveau P, Chadeaux B, Coude M. Hyperhomocysteinemia, a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. *Kidnet Int* 1993; 43 Suppl 41;S72-S77
- Wilcken DEL, Gupta VJ. Sulphur containing amino acids in chronic renal failure with particular reference to homocystein and cystein-homocysteine mixed disulfide. *Eur J Clin Invest* 1979; 9:301- 307.
- Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: Plasma levels in health, disease and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 473-501.
- Zidek W. Homocysteine- A new arteriosclerotic risk factor in end-stage renal failure. *Nephron* 1997; 75: 249-250.
- Wilcken DEL, Gupta VJ. Accumulation of sulphur containing amino acids including cysteine-homocysteine in patients on maintenance hemodialysis. *Clin Sci* 1980; 58: 427-430.
- Kang SS, Wong PWK, Bidani A, Milanez S: Plasma protein-bound homocysteine in patients requiring chronic hemodialysis: *Clin Sci* 1983; 65: 335-336.
- Smolin LA, Laidlaw SA, Kopple JD. Altered plasma free and protein-bound sulphur amino acid levels in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:737-743.
- Goldstein MB, Jindal KK, Levin A,Stingebauch B. The adequacy of hemodialysis: Assessment and achievement. In Jacobson HR, Striker GE, Klahr S (eds)The principles and practice of Nephrology. Mosby, St. Louis1995,pp 665-673.
- Hultberg B, Andersson A , Sterner G. Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 40: 230-234.
14. Robinson K, Gupta A, Dennis V et al. Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation* 1996; 94: 2743-2748.
15. Wu LL, Wu J, Hunt SC et al. Plasma homocysteine as a risk factor for early familial coronary artery disease. *Clin Chem* 1994; 40: 552-561.
16. Lussier, Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, et al. Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 587-593.
17. Tonstad S. Correlates of plasma total homocysteine in patients with hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 1025-1029.
18. Bostom AG ,Brosnan JT , Hall B. Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney in vivo. *Atherosclerosis* 1995;116:59-62.
19. Guttormsen AB , Svarstad E, Ueland DM, Elimination of homocysteine from plasma in subjects with end - stage renal failure. *Ir J Med Sci* 1995 : 164 (suppl15): 8-9 (Abstract)
20. Bergstrom J, Alverstrand A, Furst P. Plasma and muscle free aminoacids in maintenance hemodialysis patients without protein malnutrition. *Kidney Int* 1990; 38: 108-114.
21. Tizianello A, Deferrari G, Garibotto G et al. Renal metabolism of amino acids and ammonium in subjects with normal renal function and in patients with chronic renal insufficiency. *J Clin Invest* 1980; 65: 1162-1173.
22. Arnadottir M, Brattström L, Simonsen O et al. The effect of high dose pyridoxine and folic acid supplementation on serum lipid and plasma homocysteine concentrations in dialysis patients. *Clin Nephrol* 1993;40:236-240.
23. Fodinger M, Mannhalter C, Wolf G et al. Mutation (677 C to T) in the methylenetetrahydrofolate reductase gene aggravates hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997; 52: 517-523.
24. Suliman ME, Anderstam B,Lindholm B, Bergstrom J. Total, free,and protein bound sulphur amino acids in uraemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2332-2338.