

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN GIAI ĐOẠN CUỐI

Hoàng Trọng Ái Quốc¹, Võ Tam², Hoàng Việt Thắng²

(1) Nghiên cứu sinh, Trường Đại học Y dược Huế

(2) Trường Đại học Y Dược Huế

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định nồng độ **Asymmetric Dimethylarginine (ADMA)** huyết tương ở bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối (BTMGĐC); đánh giá mối liên quan giữa nồng độ ADMA với nồng độ creatinin huyết thanh và độ lọc cầu thận ước tính. **Đối tượng và Phương pháp nghiên cứu:** Đây là 1 nghiên cứu cắt ngang có đối chứng. Nồng độ ADMA huyết tương và các thông số khác được đo ở 27 bệnh nhân BTMGĐC điều trị bảo tồn và 21 người khỏe mạnh đối chứng. Nồng độ ADMA huyết tương được xác định bằng phương pháp phân tích hấp thụ miễn dịch liên kết enzyme (ELISA) trên máy Evolis™ Twin Plus. Các kết quả được xử lý bằng phần mềm SPSS 19.0. **Kết quả:** Nồng độ trung bình ADMA huyết tương ở nhóm bệnh nhân BTMGĐC là $0,77 \pm 0,12 \mu\text{mol/L}$ và nhóm người khỏe mạnh làm đối chứng là $0,48 \pm 0,17 \mu\text{mol/L}$ (sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$). Nồng độ ADMA của nam và nữ là $0,69 \pm 0,19 \mu\text{mol/L}$ và $0,61 \pm 0,20 \mu\text{mol/L}$ theo thứ tự ($p > 0,05$). Không có mối tương quan giữa ADMA với tuổi ($r = -0,059$, $p = 0,691$). Tương quan giữa nồng độ ADMA với nồng độ creatinine huyết thanh ($r = 0,459$, $p < 0,001$) và độ lọc cầu thận ($r = -0,596$, $p < 0,001$). **Kết luận:** Nồng độ trung bình ADMA huyết tương ở bệnh nhân BTMGĐC cuối tăng cao có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng. Có mối tương quan giữa nồng độ ADMA với độ lọc cầu thận và với nồng độ creatinine huyết thanh.

Từ khóa: *Asymmetric Dimethylarginine, Bệnh thận mạn giai đoạn cuối.*

Abstract

ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE PLASMA IN END STAGE CHRONIC KIDNEY DISEASE

Hoang Trong Ai Quoc¹, Vo Tam², Hoang Viet Thang²

(1) PhD Student of Medicine and Pharmacy

(2) Hue University of Medicine and Pharmacy

Objectives: To assess the levels of plasma ADMA in healthy people and in reserved patients with end stage renal disease (ESRD), the association between plasma ADMA with serum creatinine concentration and with eGFR. **Materials and Methods:** A controlled cross sectional study. Plasma ADMA and other variables were measured in 27 patients with ESRD and in 21 controls. Plasma ADMA levels were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) using kits provided from immunodiagnostic AG, Germany. Data was analyzed by SPSS 19.0. **Results:** Mean ADMA in men- women was $0.69 \pm 0.19 \mu\text{mol/L}$ and $0.61 \pm 0.20 \mu\text{mol/L}$, respectively, ($p > 0.05$), mean ADMA in control and disease were $0.48 \pm 0.17 \mu\text{mol/L}$ and $0.77 \pm 0.12 \mu\text{mol/L}$; respectively, ($p < 0.001$). No correlation between ADMA and age ($r = -0.059$, $p = 0.691$); correlation between ADMA with serum creatinine ($r = 0.459$, $p < 0.001$) with eGFR ($r = -0.596$, $p < 0.001$). **Conclusion:** ADMA concentration in healthy people: $0.48 \pm 0.17 \mu\text{mol/L}$. ADMA concentration in ESRD: $0.77 \pm 0.12 \mu\text{mol/L}$. There was a correlation between ADMA concentration with eGFR and with serum creatinine concentration.

Key words: *Asymmetric dimethylarginine, end stage chronic kidney disease*

- Địa chỉ liên hệ: Võ Tam, email: votamdhy@yahoo.com

DOI: 10.34071/jmp.2015.6.11

- Ngày nhận bài: 23/11/2015 * Ngày đồng ý đăng: 11/12/2015 * Ngày xuất bản: 12/01/2016

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự ức chế và điều hòa tổng hợp oxit nitric (NO) bởi ADMA đã được mô tả cách đây hơn 20 năm [23]. NO là một chất đóng vai trò quan trọng trong hoạt động của các tế bào nội mạc mạch máu. Vì vậy, ADMA được xem là một chất trung gian hoạt hóa cho sự rối loạn chức năng nội mạc. ADMA cũng được xem là chỉ điểm độc lập cho nguy cơ tim mạch và tử vong ở quần thể nói chung và ở bệnh nhân BTMGĐC [19][27]. ADMA là chỉ điểm cho sự tiến triển của BTM [8]. Vai trò của nồng độ ADMA huyết tương gia tăng trong rối loạn chức năng nội mạc và tổn thương mạch máu đã được nghiên cứu ở các tình huống khác nhau như tiền sản giật, đái tháo đường, đột quỵ, bệnh mạch máu ngoại biên và bệnh mạch vành [2][5][18]. Gia tăng nồng độ ADMA cũng được cho là tham gia vào sự tiến triển của BTM [15][25][26]. Nồng độ ADMA gia tăng theo sự suy giảm chức năng của thận. Các bệnh nhân BTMGĐC với nồng độ cao ADMA có 1 tiên lượng lâu dài không tốt [27]. Vì vậy, việc làm giảm nồng độ ADMA có thể là 1 mục tiêu điều trị để làm chậm sự tiến triển của BTM [3].

Các tế bào ống thận đóng vai trò 1 phần trong chuyển hóa của ADMA [21]. Các stress oxy hóa và giảm khối ống thận trong BTMT có thể làm rối loạn điều hòa hoặc làm giảm khả năng đào thải ADMA [18]. Các yếu tố khác như tăng homocystein máu hoặc tình trạng viêm có thể làm tổn thương sự thoái biến ADMA. Trong khi các liệu pháp như thuốc ức chế men chuyển hóa ngược angiotensin, N-acetylcysteine có thể có hiệu quả ngược lại [12][19].

Như vậy, các nghiên cứu ở nước ngoài đã có bằng chứng chỉ ra rằng chính sự biến đổi nồng độ của ADMA huyết tương góp phần vào những biến đổi tế bào nội mạc mạch máu và biến chứng tim mạch ở bệnh nhân BTM. Hiện tại, chưa có nghiên cứu nào ở trong nước về ADMA nói chung và ADMA trên bệnh nhân BTM. Vì vậy nghiên cứu này của chúng tôi nhằm mục tiêu: Nghiên cứu nồng độ ADMA huyết tương trên BTMGĐC và đánh giá mối liên quan giữa nồng độ ADMA với nồng độ creatinine và độ lọc cầu thận ước tính ở đối tượng nghiên cứu trên.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

27 bệnh nhân BTMGĐC có mức lọc cầu thận $< 15\text{ml/ph}/1,73\text{ m}^2$ chưa lọc máu được khám và điều trị tại Bệnh viện Trung Ương Huế.

21 người lớn khỏe mạnh tham gia vào nhóm đối chứng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang có đối chứng

2.2.2 Các bước tiến hành nghiên cứu

- Lập hồ sơ nghiên cứu
- Khám lâm sàng
- + Khai thác kỹ tiền sử, bệnh sử
- + Tiến hành khám lâm sàng
- + Đo huyết áp theo quy định của Tổ chức Y tế thế giới; đánh giá tăng huyết áp theo Phân hội Tăng huyết áp Quốc gia Việt Nam 2013.
- Tiến hành các xét nghiệm cơ bản: Công thức máu, xét nghiệm nước tiểu, ure máu, creatinine máu, CRP máu, bilan lipid máu, siêu âm thận tiết niệu, XQ hệ tiết niệu.

Sau đó lấy 3 ml máu tĩnh mạch rồi tách lấy mẫu huyết tương tại khoa Hóa sinh Bệnh viện Trung ương Huế. Bảo quản mẫu huyết tương EDTA ở -20°C trước khi làm xét nghiệm phân tích ELISA.

- Tiến hành định lượng ADMA huyết tương EDTA tại khoa Hóa sinh- Bệnh viện Trung ương Huế.

+ Nguyên lý: Phương pháp định lượng ADMA là phương pháp hấp thụ miễn dịch liên kết enzyme (ELISA) cạnh tranh. Nồng độ ADMA được biểu thị bằng đơn vị $\mu\text{mol/L}$ [13].

+ Máy sử dụng trong xét nghiệm phân tích là máy sinh hóa miễn dịch Evolis™ Twin Plus, Mỹ.

+ Thuốc thử được cung cấp bởi hãng Immundiagnostik AG (ADMA ELISA Kit), Đức.

2.3. Xử lý số liệu

Chúng tôi sử dụng phần mềm SPSS 19.0 để xử lý số liệu. Các phép so sánh có ý nghĩa khi $p < 0,05$. So sánh trung bình 2 nhóm độc lập bằng T-test; đánh giá mối liên hệ giữa các đối tượng bằng χ^2 , đánh giá mối tương quan giữa 2 nhóm độc lập bằng phương pháp hồi quy.

3. KẾT QUẢ

3.1. Tuổi và giới

Bảng 3.1. Mối liên hệ giữa tuổi và giới giữa nhóm chứng và nhóm bệnh

Nhóm	Giới	n	%	Tuổi TB (X±SD)	p (T-test)
Nhóm chứng	Nữ	16	76,2	58,3 ± 25,6	0,59
	Nam	5	23,8	48,4 ± 11,4	
Tổng		21	100		
BTMGĐC	Nữ	13	48,1	61,1 ± 0,8	
	Nam	14	51,9	57,0 ± 0,7	
Tổng		27	100		

Nhận xét: Giữa các nhóm nam- nữ có độ tuổi gần nhau

Không có sự khác nhau về độ tuổi trung bình giữa hai nhóm bệnh và chứng

3.2. Nồng độ ADMA theo giới

Bảng 3.2. Nồng độ trung bình của ADMA theo giới

Giới	N	%	X ± SD	p (T test)
Nữ	29	60,4	0,61 ± 0,20	0,19
Nam	19	39,6	0,69 ± 0,19	
Tổng	48	100		

Nhận xét: Nồng độ ADMA giữa nam và nữ không khác nhau

3.3. Nồng độ trung bình của ADMA

Bảng 3.3. Nồng độ trung bình của ADMA

Nhóm	n	%	X± SD	p (T test)
Chứng	21	43,8	0,48 ± 0,17	< 0.001
BTMGĐC	27	56,3	0,77± 0,12	
Tổng	48	100		

Nhận xét: Nồng độ trung bình của ADMA ở nhóm bệnh cao hơn có ý nghĩa với nhóm chứng.

3.4. Liên quan giữa nồng độ ADMA với tuổi

Bảng 3.4. Tương quan của nồng độ trung bình của ADMA so với tuổi

Tương quan		Tuổi
ADMA	r	-0,06
	p	0,69
	N	48

Nhận xét: Không có mối tương quan giữa ADMA với tuổi

3.5. Tương quan giữa nồng độ ADMA với nồng độ creatinine và urê huyết thanh

Bảng 3.5. Tương quan nồng độ ADMA với ĐLCT, nồng độ creatinine, nồng độ urê, Hb và Hct

Tương quan		ĐLCT	Urê	Creatinine	Hb	Hct
ADMA	r	-0,59	0,55	0,50	-0,48	-0,65
	p	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	N	48	48	48	48	48

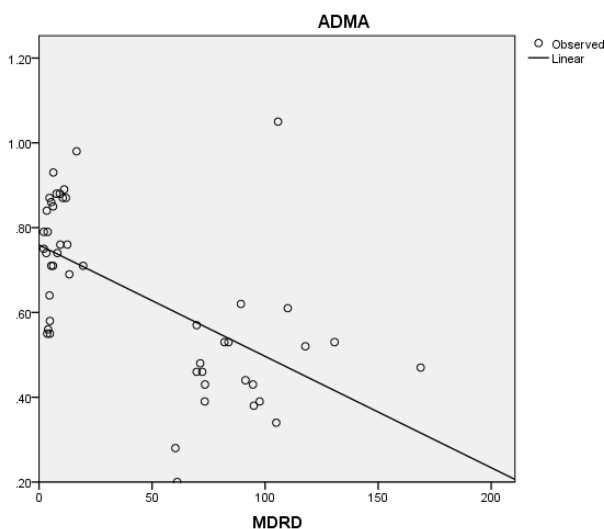
Nhận xét: Có tương quan nghịch trung bình giữa ADMA với ĐLCT, Hb và Hct.

Tương quan thuận trung bình của ADMA với creatinine và urê huyết thanh.

3.6. Tương quan hồi quy giữa nồng độ ADMA với độ lọc cầu thận

Phương trình hồi quy: $C_{ADMA} = 0,746 - 0,003 \times \text{ĐLCT}$

Hình 3.1. Đường biểu diễn hồi quy tuyến tính giữa ADMA-ĐLCT



4. BÀN LUẬN

Kết quả ở Bảng 3.1 cho thấy các nhóm nam-nữ ở nhóm chứng và nhóm bệnh có mối liên hệ với nhau. Bảng này cũng cho thấy không có sự khác nhau về độ tuổi trung bình giữa các nhóm bệnh nhân và nhóm chứng.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ trung bình của ADMA trong huyết tương giữa hai giới nam và nữ không có sự khác biệt ($0,69 \pm 0,19$ $\mu\text{mol/L}$ và $0,61 \pm 0,20$ $\mu\text{mol/L}$, $p = 0,19$). Trong nghiên cứu của tác giả Tanya I. Deneva-Koycheva [20] cũng cho thấy kết quả tương tự. Renate Schnabel cũng không tìm thấy mối liên quan giữa nồng độ ADMA với giới [17].

Chúng tôi cũng không tìm thấy mối tương quan giữa nồng độ ADMA với tuổi (bảng 3.4, $R = -0,06$, $p = 0,69$). Trong nghiên cứu của Jan T. Kielstein [14], của Tanya I. Deneva-Koycheva [20] và Renate Schnabel cũng không tìm thấy mối liên quan giữa nồng độ ADMA với tuổi [17]. Tuy nhiên tác giả Edzard Schwedhelm lại cho biết có mối tương quan giữa nồng độ ADMA với tuổi. Tuy nhiên mối tương quan này rất nhỏ [17].

Liên quan tới nồng độ ADMA ở nhóm người khỏe mạnh và nhóm chứng cho thấy: Nồng độ trung bình của ADMA ở nhóm bệnh nhân là $0,77 \pm 0,12$ $\mu\text{mol/L}$ tăng lên có ý nghĩa so với nhóm chứng là $0,48 \pm 0,17$ $\mu\text{mol/L}$ (bảng 3.3, $p = 0,001$).

N Wahbi tìm thấy nồng độ trung bình của ADMA ở bệnh nhân BTMGĐC là $1,04 \pm 0,17$ $\mu\text{mol/L}$ [14]. Các tác giả Jian-Rong Zhao, De-Yu Zhang, De-Zhen Sun, trong nghiên cứu của mình cho thấy nồng độ trung bình của bệnh nhân BTMGĐC cuối là $4,7 \pm 1,2$ $\mu\text{mol/L}$. Tse-Min Lu

tìm thấy nồng độ trung bình ADMA ở bệnh nhân BTM giai đoạn 3-4 là $0,49 \pm 0,11$ $\mu\text{mol/L}$ [22]. Jill Melendez Young cho biết nồng độ trung bình của ADMA ở các bệnh nhân STM giai đoạn 3-4 là $0,70 \pm 0,25$ $\mu\text{mol/L}$ [17]. Nhiều nghiên cứu cho thấy nồng độ ADMA ở người suy thận mạn có thể tăng từ 2-12 lần so với người khỏe mạnh [13][16].

Ở người lớn khỏe mạnh, Tanya I. Deneva-Koycheva cho thấy nồng độ trung bình của ADMA là $0,48 \pm 0,13$ $\mu\text{mol/L}$ [20]. Edzard Schwedhelm cho biết nồng độ trung bình của ADMA là $0,52 \pm 0,11$ $\mu\text{mol/L}$ [17]. Atzler D. cho kết quả nghiên cứu nồng độ ADMA ở người khỏe mạnh nam giới là $0,41$ $\mu\text{mol/L}$ và cho nữ giới là $0,43$ $\mu\text{mol/L}$ [1].

Như vậy, mặc dù khoảng giá trị nồng độ của ADMA có sự khác nhau giữa các nghiên cứu nhưng luôn luôn có 1 sự khác nhau rõ rệt giữa nồng độ ADMA ở người khỏe mạnh và người mắc bệnh thận mạn tính trong mỗi nghiên cứu. Điều này cho thấy ADMA là 1 yếu tố giúp đánh giá mức độ suy thận.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy có mối tương quan thuận mức độ trung bình giữa nồng độ ADMA huyết tương với nồng độ creatinine huyết thanh (Bảng 3.5; $r = 0,46$, $p < 0,01$, $n = 48$). Nghiên cứu của Mustafa Celik cho kết quả có mối liên quan yếu giữa nồng độ ADMA với nồng độ creatinine huyết thanh ($r = 0,173$, $p < 0,05$) [13]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của N. Wahbi cho thấy không có mối liên quan giữa nồng độ ADMA với nồng độ creatinine huyết thanh. Tse-Min Lu cho thấy có sự khác nhau về nồng độ creatinine ở nhóm bệnh nhân có nồng độ ADMA $0,47$ $\mu\text{mol/L}$ so với nhóm $> 0,47$ $\mu\text{mol/L}$ nhưng không cho biết có mối tương quan hay không [22]. Aleksandra Jazwińska-Kozuba cho thấy không có sự tương quan giữa 2 biến số này ở trẻ em khỏe mạnh [1]. Một phân tích tổng hợp của Johannes Jacobi cho biết không có mối tương quan giữa ADMA với nồng độ creatinine ($r = -0,19$) [10].

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy mối liên quan nghịch mức độ trung bình giữa nồng độ ADMA với độ lọc cầu thận (ĐLCT) ($r = -0,57$, $p < 0,00$) (Hình 3.1). Nghiên cứu của Jan T. Kielstein cho thấy mối tương quan yếu giữa nồng độ ADMA và ĐLCT [14]. Tương tự, Edzard Schwedhelm cũng thấy có mối tương quan yếu giữa nồng độ ADMA và ĐLCT [17].

Chúng ta biết rằng, ADMA gia tăng ở bệnh nhân có tổn thương chức năng thận. Mức độ tương quan yếu của ADMA với ĐLCT ở 1 số nghiên cứu được giải thích như 1 cơ chế tự điều hòa ĐLCT [17].

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy có mối tương quan giữa nồng độ ADMA với nồng độ Hb và Hct ($r=-0,48$ và $r=-0,65$) (Bảng 3.5).

5. KẾT LUẬN

- Nồng độ trung bình ADMA huyết tương ở bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối: là $0,77 \pm 0,12 \mu\text{mol/L}$ cao hơn có ý nghĩa thống kê

($p < 0.001$) so với nồng độ trung bình ADMA huyết tương ở người khỏe mạnh: $0,48 \pm 0,17 \mu\text{mol/L}$.

- Tương quan nghịch mức độ trung bình giữa nồng độ ADMA huyết tương với độ lọc cầu thận.

- Tương quan thuận mức độ trung bình giữa nồng độ ADMA huyết tương với nồng độ creatinin huyết thanh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aleksandra Jazwińska-Kozuba et al (2012), "Associations between Endogenous Dimethylarginines and Renal Function in Healthy Children and Adolescents", *International Journal of Molecule Science*, vol.13, pp:15464-15474.
- Cooke JP (2004), "Asymmetrical dimethylarginine: The Uber marker?", *Circulation*, vol. 109, pp: 1813-1818.
- Danilo Fliser et al (2005), "Asymmetric Dimethylarginine and Progression of Chronic Kidney Disease: The Mild to Moderate Kidney Disease Study", *J Am Soc Nephrol*, vol.16, pp: 2456-2461.
- Edzard Schwedhelm et al (2009), "Asymmetric Dimethylarginine Reference Intervals Determined with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry: Results from the Framingham Offspring Cohort", *Clinical Chemistry*, vol. 55(8), pp: 1539-1545
- Fliser D, Kielstein JT, Bode-Boger SM, Haller H (2003), "Asymmetric dimethylarginine (ADMA): A cardiovascular risk factor in patients with renal disease?", *Kidney Int*, vol. 63(Suppl 84), pp: S37-S40.
- Immundiagnostik AG (2014), "ADMA ELISA Kit", Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim, Germany.
- Jan T. Kielstein (2002), "Marked Increase of Asymmetric Dimethylarginine in Patients with Incipient Primary Chronic Renal Disease", *J Am Soc Nephrol*, Vol. 13: 170-176.
- Jaromír Eiselt et al (2014), "Asymmetric Dimethylarginine and Progression of Chronic Kidney Disease a One-Year Follow-Up Study", *Kidney Blood Press Res*, vol.39, pp:50-57.
- Jill Melendez Young et al (2009), "Asymmetric Dimethylarginine and Mortality in Stages 3 to 4 Chronic Kidney Disease", *Clin J Am Soc Nephrol*, vol.4, pp: 1115-1120.
- Johannes Jacobi et al (2008), "Asymmetrical Dimethylarginine in Renal Disease: Limits of Variation or Variation Limits?", *Am J Nephrol*, vol.28, pp:224-237.
- Lu T-M, Chung M-Y, Lin C-C, Hsu C-P, Lin S-J (2011), "Asymmetric Dimethylarginine and Clinical Outcomes in Chronic Kidney Disease", *Clin J Am Soc Nephrol*, vol.6, pp:1566-1572.
- M.Thaha et al (2010), "Action of N-acetylcysteine on asymmetric Dimethylarginine and albuminuria in stage 1-4 non diabetic chronic kidney patients", *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*, vol.1(3), pp: 146-150.
- Mustafa Celik (2014), "Relation of Asymmetric Dimethylarginine Levels to Macrovascular Disease and Inflammation Markers in Type 2 Diabetic Patients", *Journal of Diabetes Research*, Vol. 2014, pp: Article ID 139215.
- N Wahbi et al (2005), "Dimethylarginines in chronic renal failure", *J Clin Pathol*, vol.54, pp:470-473.
- Özgür Günebakmaz, Mustafa Duran, Ekrem Karakaya, Esen Tanrıku, Mahmut Akpek, Ali Ergin, Mehmet Güngör Kaya (2013), "Increased serum asymmetric dimethylarginine level is an independent predictor of contrast-induced nephropathy", *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol*, vol.41(7), pp:581-588.
- Rainer H. Böger (2005), "L-Arginine Improves Vascular Function by Overcoming the Deleterious Effects of ADMA, a Novel Cardiovascular Risk Factor", *Alternative Medicine Review*, Vol.10(10), pp:14-23.
- Renate Schnabel et al (2005), "Asymmetric Dimethylarginine and the Risk of Cardiovascular Events and Death in Patients With Coronary Artery Disease Results from the AtheroGene Study", *Circ Res*, vol.97, pp:e53-e59.
- Saito A, Kaseda R, Hosojima M, Sato H (2010), "Proximal Tubule Cell Hypothesis for Cardiorenal Syndrome in Diabetes", *Int J Nephrol*, 2011:1-9.
- Sibal L, Agarwal SC, Home PD, Boger RH (2010), "The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease", *Curr Cardiol Rev*, vol.6, pp:82-90.
- Tanya I. Deneva-Koycheva et al (2011), "Dimethylarginine levels In healthy People", *Folia Medica*, vol. 53(10), pp: 28-33.
- Tojo A, Welch WJ, Bremer V, Kimoto M, Kimura K, Omata M, Ogawa T, Vallance P, Wilcox CS (1997), "Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney", *Kidney Int*, vol52, pp:1593-1601.

22. Tse-Min Lu et al (2011), “Asymmetric Dimethylarginine and Clinical Outcomes in Chronic Kidney Disease”, *Clin J Am Soc Nephrol*, vol.6, pp: 1566–1572.
23. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S (1992), “Accumulation of an Endogenous Inhibitor of Nitric Oxide Synthesis in Chronic Renal Failure”, *Lancet*, vol.339, pp:572-575.
24. Vallance P (2001), “Importance of asymmetrical dimethylarginine in cardiovascular risk”, *Lancet*, vol. 358, pp: 2096–2097.
25. Vassilios Raptis et al (2013), “Elevated Asymmetric Dimethylarginine is Associated With Oxidant Stress Aggravation in Patients With Early Stage Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease”, *Kidney Blood Press Res*, vol.38, pp:72-82.
26. Wagner L, Riggleman A, Erdely A, Couser W, Baylis C (2002), “Reduced nitric oxide synthase activity in rats with chronic renal disease due to glomerulonephritis”, *Kidney Int*, vol.62, pp: 532-536.
27. Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LS, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich JC, Böger RH (2001), “Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study”, *The Lancet*, vol.358, pp:2113-2117.