

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y- DƯỢC

HOÀNG TRỌNG ÁI QUỐC

**NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ ASYMMETRIC
DIMETHYLARGININE HUYẾT TƯƠNG VÀ
LIÊN QUAN VỚI MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ
TIM MẠCH Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN**

CHUYÊN NGÀNH: NỘI THẬN TIẾT NIỆU
MÃ SỐ: 62.72.01.46

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Huế, 2017

Công trình được hoàn thành tại Trường Đại học Y Dược Huế

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS VÕ TAM

2. PGS.TS HOÀNG VIỆT THẮNG

Phản biện1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp Đại học Huế họp tại 03 Lê Lợi, TP Huế vào lúc 08 giờ 00 ngày.....tháng.....năm.....

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Trường Đại học Y Dược Huế
- Thư viện Quốc gia

ĐẶT VẤN ĐỀ

1. Tính cấp thiết của đề tài

Ngày nay, bệnh thận mạn được xem là một vấn đề của sức khỏe cộng đồng. Số lượng người mắc bệnh thận mạn ngày càng gia tăng trên phạm vi toàn cầu. Tình trạng này đặt ra nhiều vấn đề cho chăm sóc y tế cũng như tiêu tốn nhiều nguồn lực của mỗi quốc gia. Bên cạnh đó, bệnh nhân bệnh thận mạn còn có nguy cơ cao bị bệnh tim mạch do có sự tác động qua lại giữa bệnh thận mạn và bệnh tim mạch vào cơ chế sinh bệnh học lẫn nhau dẫn đến vòng luẩn quẩn của mỗi bệnh và tử vong sớm.

Ở bệnh thận mạn thường có sự gia tăng nồng độ của asymmetric dimethylarginine. Đây là chất có hoạt động sinh học thông qua việc ức chế và điều hòa tổng hợp nitric oxide. Nitric oxide có một vai trò quan trọng trong hoạt động của các tế bào nội mạc mạch máu. Vì vậy, asymmetric dimethylarginine được xem là chất trung gian hoạt hóa cho sự rối loạn chức năng nội mạc. Nồng độ asymmetric dimethylarginine tăng dẫn đến gia tăng nguy cơ và tử vong do bệnh tim mạch ở quần thể nói chung cũng như ở bệnh thận mạn giai đoạn cuối. Do đó, tăng asymmetric dimethylarginine là một yếu tố nguy cơ tim mạch quan trọng của bệnh thận mạn.

Ở Việt Nam cho đến nay chưa có nghiên cứu nào về vai trò của asymmetric dimethylarginine ở bệnh thận mạn. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài *“Nghiên cứu nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương và liên quan với một số yếu tố nguy cơ tim mạch ở bệnh nhân bệnh thận mạn”*.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu 1: Xác định nồng độ và tỷ lệ tăng nồng độ của asymmetric dimethylarginine huyết tương ở các bệnh nhân bệnh thận mạn chưa điều trị thay thế thận.

Mục tiêu 2: Khảo sát mối liên quan và tương quan giữa nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương với các yếu tố tuổi, giới, chỉ số khối cơ thể, huyết áp, nồng độ cholesterol huyết thanh, nồng độ protein phản ứng C độ nhạy cao huyết thanh, nồng độ hemoglobin máu, hematocrit, nồng độ creatinine và ure huyết thanh, mức lọc cầu thận ở các giai đoạn khác nhau của bệnh thận mạn chưa điều trị thay thế thận.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

Ý nghĩa khoa học: Biết được sự khác biệt về nồng độ chất này ở các giai đoạn tiến triển của bệnh và mối liên quan giữa asymmetric dimethylarginine huyết tương với một số yếu tố nguy cơ tim mạch. Từ đó, chúng ta biết được vai trò của asymmetric dimethylarginine đối với sự hình thành, tiến triển của bệnh thận mạn cũng như sự phát triển của bệnh tim mạch ở các bệnh nhân này.

Ý nghĩa thực tiễn: Dựa trên nồng độ của asymmetric dimethylarginine huyết tương và mối liên hệ của nồng độ chất này với các yếu tố nguy cơ tim mạch giúp ta tiên lượng sự tiến triển của bệnh thận, dự báo sự xuất hiện của bệnh tim mạch; từ đó xây dựng phác đồ điều trị sớm, ngăn chặn và thay đổi quá trình tiến triển của bệnh thận. Các nhà lâm sàng có thể sử dụng như một chỉ số theo dõi hiệu quả của các phác đồ điều trị làm chậm quá trình suy giảm chức năng thận và hạn chế sự xuất hiện của bệnh tim mạch trên các bệnh nhân này.

4. Đóng góp của đề tài

Đây là luận án đầu tiên nghiên cứu nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở bệnh thận mạn tại Việt Nam.

Nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương tăng cao có ý nghĩa thống kê trong nhóm bệnh thận mạn ở các giai đoạn sau phản ánh sự rối loạn chức năng nội mạc nặng nề cũng như nguy cơ tim mạch gia tăng ở các đối tượng này.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH THẬN MẠN

1.1.1. Định nghĩa bệnh thận mạn

Bệnh thận mạn là tình trạng tổn thương thận về mặt cấu trúc hoặc chức năng, biểu hiện bởi sự hiện diện của albumin niệu, hoặc các bất thường về hình ảnh học hoặc suy giảm chức năng thận được xác định thông qua mức lọc cầu thận (MLCT) <60 ml/phút/ $1,73$ m² tồn tại trên 3 tháng.

1.1.2. Phân chia giai đoạn bệnh thận mạn

Theo hướng dẫn của NKF 2012 thì bệnh thận mạn có thể được chia làm 5 giai đoạn dựa trên mức lọc cầu thận.

1.1.6. Chẩn đoán bệnh thận mạn

Chẩn đoán xác định bệnh thận mạn dựa vào tiêu chuẩn của NKF 2012 (NKF/KDIGO-2012). Cần có 2 yếu tố: bệnh nhân có tổn thương thận và tính chất mạn tính của tổn thương thận kéo dài trên 3 tháng.

1.2. CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ TIM MẠCH Ở BỆNH THẬN MẠN

Hiện nay, bệnh thận mạn được xem là một YTNCTM. Ở bệnh thận mạn có đầy đủ các YTNCTM truyền thống. Ngoài ra còn có thêm các YTNCTM không truyền thống khác như tăng ADMA.

1.3. TỔNG QUAN VỀ ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE

1.3.2. Cấu trúc và sự tổng hợp của ADMA

ADMA là một axit amino tự nhiên có công thức là $N^G N^G$ -dimethylarginine, trọng lượng phân tử khoảng 202 dalton. ADMA được hình thành nhờ ly giải các chuỗi protein có chứa arginine đã được gắn thêm 2 nhóm methyl vào nguyên tử N một cách không đối xứng. Sự methyl hóa arginine này được thực hiện nhờ protein arginine *N*-methyltransferases. Các tế bào nội mạc mạch máu được cho là nơi

chủ yếu để thực hiện việc này. Hiện tại vẫn chưa phát hiện được một cơ chế nào để tổng hợp ADMA từ việc methyl hóa arginine tự do.

1.3.3. Chuyển hóa của ADMA

ADMA bị phân hủy bằng enzyme DDAH ; hoặc được vận chuyển ra ngoài huyết tương. Sự đào thải ADMA từ huyết tương xảy ra ở thận qua nước tiểu hoặc được hấp thu vào tế bào khác. Hơn 80% ADMA được DDAH chuyển hóa thành citruline và dimethylamine hoặc monomethylamine.

Trong trường hợp bệnh thận mạn thì sự gia tăng nồng độ ADMA chủ yếu do hoạt động DDAH bị giảm.

1.3.4. Tác dụng sinh học của ADMA

Tác dụng sinh học của ADMA trong cơ thể được thực hiện thông qua ức chế enzyme tổng hợp NO (NO synthases- NOS). NO có tác dụng chống xơ vữa mạch máu, bảo vệ tim mạch. Khi nồng độ chất này giảm sẽ gây tăng nguy cơ bệnh tim mạch.

1.3.5. Các phương pháp đo nồng độ ADMA

Nồng độ ADMA có thể được đo bằng nhiều phương pháp nhưng xét nghiệm hấp thụ miễn dịch gắn enzyme (enzyme-linked immunosorbent assay- ELISA) lại được dùng phổ biến hơn.

1.4. VAI TRÒ CỦA ADMA TRONG BỆNH THẬN MẠN

1.4.1. Vai trò của ADMA đối với các rối loạn nội mạc

Các rối loạn nội mạc được gây ra do tăng nồng độ ADMA huyết tương thông qua hậu quả của sự giảm nồng độ NO.

NO có tác dụng ức chế sự oxy hóa của các lipoprotein huyết tương, làm giảm sự kết dính của các tế bào đơn nhân vào lớp nội mô, ức chế sự tăng sinh tế bào cơ trơn mạch máu và ngăn chặn hoạt động của tiểu cầu. NO gây dẫn mạch thông qua việc tổng hợp cGMP nên khi nồng độ NO giảm sẽ gây tăng nguy cơ co mạch.

1.4.2. Hoạt động của ADMA ở thận

ADMA gây co mạch thận và làm giảm dòng huyết tương ở mạch thận trong lúc áp lực ở mao mạch cầu thận tăng lên. Điều này làm thay đổi cấu trúc và chức năng mạch máu thận, làm lắng đọng chất béo trên thành mạch. ADMA còn thúc đẩy sự lão hóa của tế bào.

ADMA còn gây tổn thương nội mạc do nó ức chế hoạt động của các tế bào gốc nội mạc (endothelial progenitor cell- EPC), làm ảnh hưởng tới hiệu quả của tế bào gốc nội mạc. ADMA có thể gây nên xơ hóa thận bằng sự gia tăng tổng hợp collagen và TGF- β 1.

1.4.3. Vai trò của ADMA trong bệnh thận mạn và mối liên quan với các yếu tố nguy cơ tim mạch

ADMA là chỉ điểm của bệnh thận. ADMA dự báo sự tiến triển và mức độ nặng của bệnh thận mạn. ADMA là một YTNCTM.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành từ tháng 4/2012- 4/2016 tại Bệnh viện Trung Ương Huế.

2.1.2. Quần thể nghiên cứu

2.1.2.1. Phương pháp chọn mẫu

Cỡ mẫu: theo công thức tính cỡ mẫu ước lượng một tỷ lệ.

2.1.2.2. Đối tượng nghiên cứu

Tổng cộng có 240 người được chia làm 2 nhóm:

- **Nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn:** gồm 176 người bị bệnh viêm cầu thận mạn và bệnh thận-bể thận mạn do sỏi, chưa điều trị thay thế thận được khám, điều trị nội trú và ngoại trú. Các bệnh nhân được chia thành 5 phân

nhóm theo 5 giai đoạn bệnh thận mạn: giai đoạn 1: 32 bệnh nhân; giai đoạn 2: 37 bệnh nhân; giai đoạn 3: 30 bệnh nhân; giai đoạn 4: 33 bệnh nhân; giai đoạn 5: 44 bệnh nhân.

- **Nhóm chứng:** 64 người khỏe mạnh (30 nam và 34 nữ).

2.1.2.8. Chẩn đoán giai đoạn bệnh thận mạn

*Chẩn đoán giai đoạn bệnh thận mạn dựa vào MLCT ước tính. MLCT được dựa vào công thức CKD-EPI 2009.

* Chẩn đoán giai đoạn bệnh thận mạn theo Hội thận học Hoa Kỳ 2012 (NKF/KDIGO-2012).

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp mô tả cắt ngang có đối chứng.

2.2.2. Phương tiện nghiên cứu

Máy Cobas 6000 được dùng để xét nghiệm các chỉ số sinh hóa. Máy xét nghiệm sinh hóa miễn dịch EVOLIS™ TWIN PLUS được dùng để định lượng ADMA huyết tương

2.2.5. Các biến số lâm sàng

Các chỉ số nhân trắc (Chiều cao, cân nặng, BMI) và huyết áp

2.2.6. Các biến số cận lâm sàng

- Các chỉ số huyết học: Hồng cầu, bạch cầu, hemoglobin (Hb) và hematocrit (Hct).

- Các chỉ số sinh hóa máu: ure, creatinine, glucose, hs-CRP, C-TP, LDL-C, HDL-C, TG.

- ADMA huyết tương

2.2.6.1. Quy định thời gian lấy máu

Lấy máu trước 9 giờ sáng, bệnh nhân chưa ăn sáng, sau 8 giờ nhịn đói.

2.2.6.11. Kỹ thuật định lượng ADMA huyết tương

* *Nơi tiến hành*

Thực hiện tại khoa Hóa sinh

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

**Cách lấy bệnh phẩm và bảo quản:*

- Tiến hành lấy 2 ml máu tĩnh mạch lúc đói sau đó quay ly tâm tách lấy phần huyết tương và bảo quản ở -20°C cho tới khi tiến hành định lượng.

** Nguyên lý của thử nghiệm*

Thử nghiệm này dựa trên nguyên lý thử nghiệm ELISA.

- Mẫu huyết tương đã xử lý cùng với kháng huyết thanh ADMA đa dòng được ủ trong các giếng của đĩa được vi chuẩn hóa (các đĩa này đã được phủ bằng dẫn xuất ADMA đánh dấu). ADMA trong mẫu huyết tương cạnh tranh với ADMA đánh dấu trên thành giếng để gắn với các kháng thể đa dòng và thế chỗ các ADMA đánh dấu đã gắn với kháng thể. Nồng độ các kháng thể gắn vào ADMA đánh dấu tỉ lệ nghịch với nồng độ ADMA trong mẫu huyết tương.

- Sử dụng máy quang kế để đo mức hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 450 nm. Nồng độ ADMA được xác định trực tiếp từ đường biểu diễn dựa theo độ hấp thụ quang học và các giá trị nồng độ ADMA đã chuẩn hóa.

**Ngưỡng tăng nồng độ ADMA huyết tương:*

Gọi là tăng khi nồng độ ADMA huyết tương $\geq \bar{X} + 2SD$

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Qua nghiên cứu tiến hành trên 240 người được chia thành 2 nhóm, nhóm chứng và nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn do sỏi thận tiết niệu hoặc do viêm cầu thận mạn, chúng tôi thu được kết quả như sau:

3.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Sự khác biệt về tuổi trung bình giữa hai nhóm và tuổi trung bình giữa hai giới không có ý nghĩa thống kê. Sự khác biệt về tỉ lệ giới trong mỗi nhóm cũng không có ý nghĩa thống kê.

3.1.2. Đặc điểm nhân trắc của đối tượng nghiên cứu

3.1.2.1. Đặc điểm nhân trắc của nhóm chứng và nhóm bệnh

Sự khác nhau giữa nhóm bệnh và nhóm chứng không có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ BMI theo từng khoảng giá trị nguy cơ tim mạch.

Nhóm bệnh thận mạn giai đoạn 5 có trung bình BMI thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,001$).

3.2. NỒNG ĐỘ ADMA HUYẾT TƯƠNG

3.2.1. Nồng độ ADMA huyết tương của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Nồng độ ADMA huyết tương ở đối tượng nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu		Nhóm bệnh	Nhóm chứng	p
Chỉ số				
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	176	64	<0,001
	$\bar{X} \pm SD$	0,73 $\pm$ 0,24	0,47 $\pm$ 0,13	
	Giá trị nhỏ nhất	0,28	0,20	
	Giá trị lớn nhất	1,71	0,76	

- Ngưỡng $\bar{X} + 2SD$ của nhóm chứng là ngưỡng tăng ADMA.

- Ngưỡng tăng AMDA = $0,47 + 2 \times 0,13 = 0,73$ ($\mu\text{mol/L}$).

- Tỷ lệ nhóm bệnh có nồng độ ADMA lớn hơn mức trung vị ($>0,70$ $\mu\text{mol/L}$) là 50%.

3.2.2. Tăng nồng độ ADMA huyết tương ở đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.23. Tỷ lệ tăng nồng độ ADMA huyết tương ở đối tượng nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu Tăng ADMA	Nhóm bệnh (n=176)		Nhóm chứng (n=64)		p [*]
	n	%	n	%	
Có	80	45,5	1	1,6	<0,001
Không	96	54,5	63	98,4	
OR (Khoảng tin cậy 95%)	52,5 (7,12- 387,02)				

Nhận xét: Tỷ lệ tăng nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm bệnh cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,001$).

3.2.3. Nồng độ ADMA huyết tương theo các điểm cắt mức lọc cầu thận

Bảng 3.3. Nồng độ ADMA của nhóm bệnh có $MLCT < 30 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$, $MLCT \geq 30 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$, $MLCT \geq 60 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$, $MLCT < 60 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$ và $MLCT < 90 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$.

Nhóm nghiên cứu		n	ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	
			$\bar{X} \pm SD$	p
Nhóm chứng		64	0,47 $\pm$ 0,13	$p_1 > 0,05$ $p < 0,001$
Nhóm bệnh	$MLCT \geq 90 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$	32	0,52 $\pm$ 0,13	
	$MLCT < 90 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$	144	0,78 $\pm$ 0,23	
Nhóm chứng		64	0,47 $\pm$ 0,13	$p < 0,001$
Nhóm bệnh	$MLCT \geq 60 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$	69	0,56 $\pm$ 0,12	
	$MLCT < 60 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$	107	0,85 $\pm$ 0,22	
Nhóm chứng		64	0,47 $\pm$ 0,13	$p < 0,001$
Nhóm bệnh	$MLCT \geq 30 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$	99	0,59 $\pm$ 0,13	
	$MLCT < 30 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$	77	0,91 $\pm$ 0,22	

Nhận xét: Nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm chứng thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với ở các nhóm bệnh ($p < 0,001$) (ngoại trừ nhóm bệnh có $MLCT > 90 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$, $p_1 > 0,05$).

3.2.4. Nồng độ ADMA huyết tương theo giai đoạn bệnh thận mạn

Bảng 3.15. Nồng độ ADMA huyết tương theo giai đoạn bệnh thận mạn

Nhóm nghiên cứu ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	Nhóm chứng n=64	Nhóm bệnh				
		GD 1 n=32	GD 2 n=37	GD 3 n=30	GD 4 n=33	GD 5 n=44
$\bar{X} \pm SD$	0,47 $\pm$ 0,13	0,52 $\pm$ 0,13	0,59 $\pm$ 0,10	0,68 $\pm$ 0,11	0,83 $\pm$ 0,13	0,97 $\pm$ 0,26
p	$p_{0,1} > 0,05$; $p_{0,2} < 0,01$; $p_{0,3,4,5} < 0,001$					
	$p_{1,2} > 0,05$; $p_{1,3} < 0,01$; $p_{1,4,5} < 0,001$					
	$p_{2,3} > 0,05$; $p_{2,4} < 0,001$					
	$p_{3,4} < 0,01$; $p_{3,5} < 0,001$					
	$p_{4,5} < 0,001$					

$p_{x,y}$: so sánh giữa nhóm giai đoạn x với nhóm giai đoạn y ($x, y = 0, 1, 2, 3, 4, 5$) (0: nhóm chứng)

Nhận xét: Nồng độ ADMA ở bệnh thận mạn ở giai đoạn 2-5 đều cao có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,001$).

3.2.5. Tăng nồng độ ADMA huyết tương theo giai đoạn bệnh thận mạn

Bảng 3.4. Tăng nồng độ ADMA huyết tương theo giai đoạn bệnh thận

Nhóm nghiên cứu Chỉ số		Nhóm chứng $n=64$	Nhóm bệnh				
			GĐ 1 $n=32$	GĐ 2 $n=37$	GĐ 3 $n=30$	GĐ 4 $n=33$	GĐ 5 $n=44$
Tăng ADMA	n	1	2	2	8	28	40
	%	1,6	6,3	5,4	26,7	84,8	90,9
	p	$p_{1,2} > 0,05$			$p_{3,4,5} < 0,001$		

p_x : so sánh giữa nhóm bệnh giai đoạn x với nhóm chứng, $x=1,2,3,4,5$

Nhận xét: Tỷ lệ đối tượng có nồng độ ADMA tăng ở nhóm bệnh cao hơn so với nhóm chứng và có ý nghĩa thống kê ở giai đoạn 3-5 ($p < 0,001$). Tỷ lệ này tăng dần theo sự tiến triển bệnh thận, đạt 90,9 % ở giai đoạn 5.

3.3. LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ ADMA HUYẾT TƯƠNG VỚI MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ TIM MẠCH Ở BỆNH THẬN MẠN

3.3.1. Nồng độ ADMA huyết tương của đối tượng nghiên cứu theo giới

Sự khác nhau không có ý nghĩa thống kê về nồng độ ADMA huyết tương theo giới.

3.3.2. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương và tuổi

3.3.2.1. Tương quan giữa nồng độ ADMA và tuổi

Bảng 3.5. Liên quan giữa nồng độ ADMA và tuổi

Tương quan ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	r	p
Nhóm chứng	64	-0,161	$> 0,05$
Nhóm bệnh	176	0,225	$< 0,01$

Nhận xét: Có tương quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với tuổi ở nhóm bệnh.

3.3.2.3. Tăng nồng độ ADMA huyết tương theo tuổi 65

Bảng 3.6. Tỷ lệ tăng nồng độ ADMA theo tuổi 65

Tuổi nhóm bệnh Tăng ADMA	≥65 (n=58)		<65 (n=118)		p
	n	%	n	%	
Có	33	56,9	47	39,8	<0,05
Không	25	43,1	71	60,2	
OR (Khoảng tin cậy 95%)	1,99 (1,05- 3,77)				

Nhận xét: Tần suất tăng nồng độ ADMA huyết tương từ tuổi 65 về sau gấp đôi so với dưới 65 tuổi.

3.3.3. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với BMI ở bệnh thận mạn

3.3.3.1. Nồng độ ADMA huyết tương theo nguy cơ tim mạch của BMI

Ở các nhóm BMI $\leq 18,4$ kg/m² và BMI=18,5-22,9 kg/m², nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm bệnh cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng (p<0,001).

3.3.3.2. Tăng nồng độ ADMA theo phân loại nguy cơ của BMI

Tỷ lệ tăng nồng độ ADMA ở nhóm bệnh giảm dần từ khoảng BMI $\leq 18,4$ kg/m², 18,5-22,9 kg/m², 23,0-24,9 kg/m² và 25,0-29,9 kg/m².

3.3.3.3. Tương quan giữa nồng độ ADMA huyết tương và BMI

Nồng độ ADMA huyết tương tương quan nghịch mức độ vừa với BMI (r =-0,35, p<0,001).

3.3.4. Liên quan nồng độ ADMA huyết tương và huyết áp ở bệnh thận mạn

3.3.4.1. Nồng độ ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn tăng huyết áp

Bảng 3.7. ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn THA và không THA

Chỉ số		Nhóm bệnh		p
		THA	Không THA	
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	108	68	<0,05
	$\bar{X} \pm SD$	0,76 $\pm$ 0,25	0,68 $\pm$ 0,21	

Nhận xét: Nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm có THA cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không THA (p<0,05).

3.3.4.3. Tương quan giữa nồng độ ADMA huyết tương và chỉ số huyết áp

HATT và HATB có tương quan thuận ở mức thấp với nồng độ ADMA huyết tương $r=0,19$; $p<0,05$ và $r=0,16$; $p<0,05$, theo thứ tự).

3.3.5. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với chỉ số huyết học ở bệnh thận mạn

3.3.5.1. Nồng độ ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn có thiếu máu

Nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm thiếu máu là $0,82\pm0,24$ $\mu\text{mol/L}$ cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không thiếu máu có nồng độ ADMA huyết tương là $0,59\pm0,13$ $\mu\text{mol/L}$ ($p<0,001$).

3.3.5.2. Tăng nồng độ ADMA huyết tương và thiếu máu ở bệnh thận mạn

Bảng 3.8. Tăng ADMA và tình trạng thiếu máu ở bệnh thận mạn

Nhóm bệnh Tăng ADMA	Thiếu máu		Không thiếu máu		p
	n	%	n	%	
Có	70	65,4	10	14,5	<0,001
Không	37	34,6	59	85,5	
OR (Khoảng tin cậy 95%)	11,16 (5,12- 24,34)				

Nhận xét: Tần suất tăng nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm thiếu máu cao hơn 11 lần so với nhóm không thiếu máu ($p<0,001$).

3.3.5.3. Nồng độ ADMA huyết tương theo phân loại mức độ thiếu máu

Bảng 3.98. Nồng độ ADMA ở bệnh thận mạn theo phân loại thiếu máu

Nhóm bệnh Chỉ số		Hb (g/L)			
		≥ 120	110-<120	80-<110	<80
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	81	20	51	24
	$\bar{X} \pm SD$	$0,60\pm0,14$	$0,69\pm0,14$	$0,84\pm0,20$	$0,96\pm0,32$
	p	$p_1>0,05$; $p_2<0,001$			

Nhận xét: Nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm bệnh có $\text{Hb}\geq 120$ g/L thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh có thiếu máu vừa và nhóm bệnh có thiếu máu nặng ($p<0,001$).

3.3.5.4. *Tương quan hồi quy giữa nồng độ ADMA với chỉ số bạch cầu, hồng cầu, hemoglobin và hematocrit ở bệnh thận mạn*

Bảng 3.10. *Tương quan hồi quy giữa nồng độ ADMA huyết tương với chỉ số bạch cầu, hồng cầu, hemoglobin và hematocrit*

Chỉ số		Bạch cầu (Ngàn/ml)	Hồng cầu (Triệu/L)	Hb (G/L)	Hct (%)
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	Hằng số	0,832	1,269	1,250	1,97
	Hệ số	-0,010	-0,14	-0,005	-0,014
	<i>r</i>	-0,182	-0,526	-0,525	-0,491
	<i>p</i>	<0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	Phương trình hồi quy	$y = -0,01x + 0,832$	$y = -0,14x + 1,269$	$y = -0,005x + 1,25$	$y = -0,014x + 1,197$

3.3.5.5. *Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương và thiếu máu*

Với điểm cắt nồng độ ADMA huyết tương $\geq 0,7 \mu\text{mol/L}$ thì có thể xuất hiện thiếu máu với độ nhạy 72,0%, độ đặc hiệu: 81,2%, diện tích dưới đường cong ROC là 82,2% (khoảng tin cậy 95%: 76,1%-88,3%).

3.3.6. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với các chỉ số sinh hóa ở bệnh thận mạn

3.3.6.1. *Nồng độ ADMA theo phân loại nguy cơ tim mạch hs-CRP*

Sự khác biệt về nồng độ ADMA huyết tương theo phân loại nguy cơ tim mạch của hs-CRP chưa có ý nghĩa thống kê.

3.3.6.2. *Tương quan giữa nồng độ ADMA huyết tương và các chỉ số sinh hóa*

Có sự tương quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với nồng độ TG huyết thanh ($p < 0,05$).

3.3.7. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với một số chỉ số chức năng thận ở bệnh thận mạn

3.3.7.1. Tương quan hồi quy giữa ADMA huyết tương với chỉ số chức năng thận

Bảng 3.11. Tương quan hồi quy giữa nồng độ ADMA với chỉ số chức năng thận

Biến phụ thuộc	Giá trị	Ure (mmol/L)	Creatinine (mmol/L)	MLCT (ml/ph/1,73 m ²)
ADMA (μmol/L)	<i>Hằng số</i>	0,564	0,634	0,945
	<i>Hệ số</i>	0,012	0,001	-0,004
	<i>r</i>	0,642	0,569	-0,689
	<i>p</i>	<0,001	<0,001	<0,001
	<i>Phương trình</i>	y=0,012x +0,564	y=0,001x +0,634	y=-0,004x +0,945

Nhận xét: Nồng độ ADMA huyết tương tương quan khá chặt chẽ với nồng độ ure huyết thanh, với creatinine huyết thanh và với MLCT.

3.3.7.2. Nồng độ ADMA huyết tương và dự báo MLCT < 60 ml/ph/1,73 m²

Với điểm cắt $\geq 0,68$ μmol/L, nồng độ ADMA dự báo giảm MLCT < 60 ml/ph/1,73 m², độ nhạy 86,9 %, độ đặc hiệu: 82,6%, diện tích dưới đường cong ROC 92,4% (khoảng tin cậy 95%: 88,6% - 96,1%).

3.3.7.3. Liên quan giữa mức lọc cầu thận và tăng nồng độ ADMA huyết tương

Với MLCT $\leq 40,2$ ml/ph/1,73 m² thì có khả năng tăng nồng độ ADMA huyết tương với độ nhạy 87,5 %, độ đặc hiệu: 80,2%, diện tích dưới đường cong ROC là 92,0% (khoảng tin cậy 95% : 88,8% - 96,2%).

3.3.8. Hồi quy đa biến giữa ADMAx1000 với BMI, creatinine và MLCT

Bảng 3.12. Hồi quy đa biến giữa ADMAx1000 với BMI, creatinine, MLCT

Thông số	B	t	p
Hằng số	1085,028	11,103	<0,001
BMI (kg/m ²)	-11,480	-2,434	<0,05
Creatinine (μmol/L)	0,119	3,259	<0,01
MLCT (ml/ph/1,73 m ²)	-3,257	-7,617	<0,001

- BMI, creatinine và MLCT là các yếu tố độc lập trong dự báo nồng độ ADMA huyết tương.

-Phương trình hồi quy:

$$ADMA \times 1000 = 1085,028 - 11,48 \times BMI + 0,119 \times \text{creatinine} - 3,257 \times MLCT$$

3.3.9. Hồi quy đa biến giữa ADMA, tuổi, HATB, BMI, creatinine, Hb và TG với MLCT

Nhận xét: ADMA huyết tương, tuổi và creatinine huyết thanh là những yếu tố dự báo MLCT tốt hơn so với HATB, Hb và TG.

3.3.10. Hồi quy logistic giữa tăng ADMA với các chỉ số nhân trắc, lâm sàng và cận lâm sàng

Bảng 3.13. Hồi quy logistic giữa tăng ADMA với BMI, THA, MLCT giảm, hs-CRP và thiếu máu

Thông số	Hằng	OR	Khoảng tin cậy	p
BMI (kg/m ²)	-0,212	0,809	0,686-0,953	<0,05
THA	-0,913	0,401	0,134-1,198	>0,05
MLCT<60 ml/ph/1,73 m ²	3,709	40,811	11,401-146,091	<0,001
hs-CRP (mg/L)	-0,009	0,991	0,982-1,000	<0,05
Thiếu máu	1,575	4,829	1,753-13,301	<0,01
Hằng số	1,259	3,521		

Nhận xét: BMI, MLCT<60 ml/ph/1,73 m², hs-CRP và thiếu máu ảnh hưởng đồng thời đến tăng nồng độ ADMA trong lúc THA không phải là yếu tố dự báo đồng thời với các yếu tố trên.

Chương 4

BÀN LUẬN

Chúng tôi nghiên cứu trên 240 đối tượng gồm 64 người khỏe mạnh thuộc nhóm chứng và 176 người bệnh thận mạn ở Bệnh viện đa khoa Trung ương Huế. Kết quả có được như sau:

4.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

4.1.1. Đặc điểm về giới

Sự khác nhau về số lượng nam so với nữ trong mỗi nhóm chứng và nhóm bệnh không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

4.1.2. Đặc điểm về tuổi

Sự khác nhau về tuổi trung bình của nhóm chứng và nhóm bệnh không có ý nghĩa thống kê. Khi xem xét tuổi theo hai giới trong mỗi nhóm nghiên cứu cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

4.1.3. Đặc điểm nhân trắc của đối tượng nghiên cứu

Chỉ khi MLCT giảm ở mức nặng (giai đoạn 5, MLCT<15 ml/ph/1,73 m²) thì BMI của nhóm bệnh mới thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng.

4.2. NỒNG ĐỘ ADMA CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

4.2.1. Nồng độ ADMA huyết tương ở đối tượng nghiên cứu

Nồng độ trung bình của ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn là 0,73±0,24 µmol/L, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng là 0,47±0,13 µmol/L (p<0,001) (Bảng 3.12). Có 45,5% bệnh thận mạn tăng nồng độ ADMA so với nhóm chứng chỉ có 1,6% (p<0,001). Tỷ suất tăng nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm bệnh cao hơn 50 lần so với ở nhóm chứng (OR=52,5; p<0,001) (Bảng 3.13).

Nhiều nghiên cứu cho biết nồng độ ADMA ở bệnh thận mạn (Bảng 4.1).

Bảng 4.1. So sánh nồng độ ADMA huyết tương với một số nghiên cứu

MLCT	Nghiên cứu	Phương pháp	ADMA	p
<90 ml/ph/1,73 m ²	Chúng tôi	ELISA	0,73±0,24	>0,05
	Pietro Ravani (2005)		0,78±0,23	
	Tetty Hendrawati (2009)		0,73±0,25	
	Paola Pecchini (2012)		0,79±0,17	
<60 ml/ph/1,73 m ²	Chúng tôi	ELISA	0,85±0,22	>0,05
	Jaromír Eiselt (2014)		0,87 (0,79-0,98)	
≥30 ml/ph/1,73 m ²	Chúng tôi	ELISA	0,59±0,13	<0,05
	Prabath W.B. N. (2005)	SKLHNC	0,52±0,07	
BTM 5 giai đoạn	Chúng tôi	ELISA	0,73±0,24	<0,05
	Jan T. Kielstein (2002)	SKLHNC	4,2±0,9	
	Tarnow (ĐTĐ-2004)	SKLHNC	0,46±0,08	
	Danilo Fliser (2005)	SKLHNC-ĐKQP	0,46±0,12	

Nồng độ trung bình của ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn có MLCT<90 ml/ph/1,73 m² trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả từ nghiên cứu của Pietro Ravani, của Tetty Hendrawati và của Paola Pecchini. Đây là những nghiên cứu đều sử dụng phương pháp ELISA để định lượng nồng độ ADMA (Bảng 3.14 và 4.1).

Nghiên cứu của Danilo Fliser có nồng độ của ADMA huyết tương thấp hơn kết quả của chúng tôi và từ các tác giả khác ở trên (Bảng 3.14 và 4.1). Nghiên cứu này sử dụng phương pháp đo SKLHNC-ĐKQP.

Nghiên cứu của Jan T. Kielstein có nồng độ trung bình của ADMA huyết tương cao hơn so với kết quả từ nghiên cứu của chúng tôi và với các nghiên cứu khác. Nghiên cứu của Tarnow trên bệnh thận mạn ĐTĐ có nồng độ ADMA thấp hơn với kết quả của các nghiên cứu đã nói ở trên. Hai nghiên cứu này sử dụng phương pháp SKLHNC (Bảng 3.14 và 4.1).

Ở MLCT<60 ml/ph/1,73 m², Jaromír Eiselt (2014) cho thấy nồng độ ADMA tương đương với kết quả của chúng tôi ($p>0,05$) (Bảng 3.14).

Ở MLCT $\geq$ 30 μ mol/L, nồng độ ADMA ở nhóm bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi có cao hơn so với kết quả từ nghiên cứu của Prabath W.B. Nanayakkara ($p<0,01$) (Bảng 3.14 và 4.1).

Như vậy, nồng độ trung bình ADMA huyết tương trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả từ nhiều nghiên cứu khác cùng sử dụng phương pháp ELISA để đo nồng độ ADMA huyết tương.

Nghiên cứu của Tetty Hendrawati và nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ tăng nồng độ ADMA tương tự nhau ($p=0,362$).

4.2.2. Nồng độ ADMA huyết tương theo từng giai đoạn bệnh thận

Có sự gia tăng nồng độ và tỷ lệ tăng ADMA theo sự sụt giảm mức lọc cầu thận. Các giai đoạn bệnh thận mạn đều có nồng độ ADMA cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng (Bảng 3.15 và bảng 3.16).

Một số nghiên cứu cho thấy nồng độ ADMA huyết tương ở các giai đoạn (Bảng 4.2).

Bảng 4.2. Nồng độ ADMA theo giai đoạn bệnh thận

ADMA ($\mu\text{mol/L}$) \diagdown Giai đoạn bệnh thận		GĐ 1 n=32	GĐ 2 n=37	GĐ 3 n=30	GĐ 4 n=33	GĐ 5 n=44	P
Nghiên cứu của chúng tôi	n	32	37	30	33	44	<0,001
	$\bar{X} \pm SD$	0,52 $\pm$ 0,13	0,59 $\pm$ 0,10	0,68 $\pm$ 0,11	0,83 $\pm$ 0,13	0,97 $\pm$ 0,26	
Nghiên cứu của Danilo Fliser	n	37	48	68			<0,01
	$\bar{X} \pm SD$	0,37 $\pm$ 0,07	0,43 $\pm$ 0,1	0,56 $\pm$ 0,1			
Nghiên cứu của Tri P. Asmarawati	n			25	25	25	>0,05
	$\bar{X} \pm SD$			0,63 $\pm$ 0,11	0,72 $\pm$ 0,16	0,73 $\pm$ 0,18	
Nghiên cứu của Tetty Hendrawati	n		31	23	10	11	>0,05
	$\bar{X} \pm SD$		0,70 $\pm$ 0,20	0,74 $\pm$ 0,25	0,87 $\pm$ 0,21	0,66 $\pm$ 0,38	

Nồng độ ADMA ở từng giai đoạn bệnh thận trong nghiên cứu của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của Tri P. Asmarawati ở giai đoạn 3, tương đương với kết quả nghiên cứu của Tetty Hendrawati ở giai đoạn 3, 4 và với MacAllister ở giai đoạn 5.

Nồng độ ADMA của chúng tôi cao hơn có ý nghĩa thống kê so với kết quả nghiên cứu của Danilo Fliser ở tất cả các giai đoạn; của Tri P. Asmarawati ở giai đoạn 5 và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với kết quả từ nghiên cứu của Tetty Hendrawati ở giai đoạn 2.

4.3. LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ ADMA HUYẾT TƯƠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ TIM MẠCH

4.3.1. Nồng độ ADMA huyết tương theo giới

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ ADMA huyết tương không thay đổi theo giới.

4.3.2. Nồng độ ADMA huyết tương và tuổi

Nồng độ ADMA ở bệnh thận mạn có sự liên quan yếu so với tuổi (Bảng 3.18; $r=0,225$, $p<0,01$). Tuy nhiên, nồng độ ADMA huyết tương không có mối liên quan ở các nhóm tuổi cách nhau 10 năm.

Các bệnh nhân ≥ 65 tuổi có tỷ lệ tăng ADMA cao hơn so với nhóm < 65 tuổi ($p < 0,05$). Tỷ suất tăng nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm ≥ 65 tuổi gấp đôi so với nhóm thứ hai ($OR = 1,99$; $p < 0,05$) (Bảng 3.20).

4.3.3. Liên quan giữa nồng độ ADMA với BMI ở bệnh thận mạn

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ở các nhóm BMI $< 18,5$ kg/m² và BMI $= 18,5 - < 23,0$ kg/m² thì nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm bệnh cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,001$). Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê về nồng độ ADMA ở hai nhóm BMI $= 23,0 - < 25,0$ kg/m² và BMI $= 25,0 - < 30,0$ kg/m². Điều này có nghĩa là nồng độ ADMA ít bị ảnh hưởng ở các đối tượng nguy cơ béo phì hoặc béo phì độ I.

Ở nhóm bệnh, tỷ lệ tăng ADMA cao nhất là ở mức BMI $< 18,5$ kg/m². Có sự tương quan nghịch giữa nồng độ chất này với BMI ở mức độ vừa ($r = -0,35$, $p < 0,001$).

4.3.4. Liên quan giữa nồng độ ADMA và huyết áp ở bệnh thận mạn

Ở bệnh thận mạn THA, sự khác biệt nồng độ ADMA huyết tương không có ý nghĩa thống kê so ở bệnh thận mạn không THA ($p < 0,05$). Sự khác biệt về tỷ lệ tăng ADMA huyết tương ở nhóm bệnh thận mạn có THA và không THA không có ý nghĩa về mặt thống kê. Có sự tương quan thuận giữa nồng độ ADMA huyết tương với HATT và HATB ở mức độ yếu ($r = 0,19$ và $r = 0,16$ theo thứ tự, $p < 0,05$).

4.3.5. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với chỉ số huyết học ở bệnh thận mạn

Nồng độ ADMA huyết tương ở nhóm bệnh thận thiếu máu cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nồng độ ADMA ở nhóm bệnh thận không thiếu máu. Tỷ lệ tăng nồng độ ADMA ở bệnh thận có thiếu máu cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ tăng nồng độ ADMA ở bệnh thận không thiếu máu. Tỷ suất tăng nồng độ ADMA ở bệnh nhân có thiếu máu cao hơn 11 lần so với bệnh nhân không thiếu máu ($OR = 11,16$; khoảng tin cậy 95%: 5,12-24,34; $p < 0,001$) (Bảng 3.27).

Nồng độ ADMA cao nhất ở các bệnh nhân thiếu máu nặng ($Hb < 80$ g/L) (Bảng 3.28). Giữa nồng độ ADMA huyết tương với nồng độ Hb có tương quan nghịch khá chặt chẽ ($r = -0,525$, $p < 0,001$) (Bảng 3.29).

Đường cong ROC cho thấy, khi nồng độ $Hb \leq 110,5$ g/L thì có khả năng tăng nồng độ ADMA với độ nhạy 71,3%, độ đặc hiệu: 80,2%, diện tích dưới đường cong 80,6% (khoảng tin cậy 95%: 73,8%- 87,4%). Giá trị dự báo thiếu máu với tăng nồng độ ADMA huyết tương khá tốt.

Có sự tương quan nghịch giữa nồng độ ADMA huyết tương với số lượng hồng cầu ($r = -0,526$; $p < 0,001$), với Hct ($r = -0,491$; $p < 0,001$) (Bảng 3.29). Điều này phù hợp với mối liên quan giữa thiếu máu và tăng nồng độ ADMA huyết tương.

Có mối tương quan hồi quy yếu giữa số lượng bạch cầu và nồng độ ADMA ($r = -0,182$, $p < 0,05$) (Bảng 3.29).

4.3.6. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với các chỉ số sinh hóa ở bệnh thận mạn

4.3.6.1. Liên quan giữa nồng độ ADMA và nồng độ hs-CRP

Sự khác nhau về nồng độ trung bình của ADMA huyết tương theo các khoảng nồng độ của hs-CRP (< 1 mg/L, 1-3 mg/L và > 3 mg/L) không có ý nghĩa thống kê. Không có sự tương quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với nồng độ hs-CRP huyết thanh (Bảng 3.31).

4.3.6.3. Liên quan giữa nồng độ ADMA và nồng độ cholesterol

Có sự tương quan yếu giữa nồng độ ADMA huyết tương với nồng độ TG huyết thanh, không có mối liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với nồng độ C-TP, HDL-C và LDL-C huyết thanh.

4.3.7. Liên quan giữa nồng độ ADMA huyết tương với một số chỉ số chức năng thận ở bệnh thận mạn

Có mối tương quan thuận giữa nồng độ ADMA với nồng độ ure huyết thanh ($r = 0,642$; $p < 0,001$), với nồng độ creatinine huyết thanh ($r = 0,569$; $p < 0,001$) và tương quan nghịch với MLCT ($r = -0,689$; $p < 0,001$). Như vậy sự tương quan giữa nồng độ ADMA và các yếu tố nồng độ ure, nồng độ

creatinine và MLCT đều xảy ra ở mức độ khá chặt chẽ. Trong các yếu tố trên thì MLCT có sự tương quan mạnh nhất đối với nồng độ ADMA huyết thanh (Bảng 3.32).

Với điểm cắt $\geq 0,68 \mu\text{mol/L}$, nồng độ ADMA có ý nghĩa dự báo giảm MLCT ($< 60 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$) với độ nhạy 86,9 %, độ đặc hiệu: 82,6%, diện tích dưới đường cong ROC là 92,1% (khoảng tin cậy 95%: 88,6%- 96,1%). Như vậy nồng độ ADMA huyết tương có tính dự báo rất tốt về khả năng sụt giảm của MLCT $< 60 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$.

Với MLCT $\leq 40,2 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$ thì có khả năng tăng nồng độ ADMA với độ nhạy 87,5%, độ đặc hiệu 80,2%, diện tích dưới đường cong là 92,0% (khoảng tin cậy 95% : 88,8%-96,2%). Như vậy, dựa vào MLCT có thể dự đoán tăng nồng độ ADMA huyết tương với mức độ rất tốt.

4.3.8. Liên quan giữa ADMAx1000 với BMI, creatinine và MLCT

Để diễn đạt kết quả được chính xác chúng tôi khuyến nghị nồng độ ADMA lên với 1000. Giữa nồng độ ADMAx1000 có sự tương quan hồi quy nghịch với BMI ($t=-2,434$; $p<0,05$), hồi quy thuận với nồng độ creatinine ($t=3,259$; $p<0,01$) và hồi quy nghịch với MLCT ($t=-7,617$; $p<0,001$). Không có sự tương quan giữa nồng độ ADMA với các yếu tố thêm vào như tuổi, huyết áp, nồng độ Hb, Hct, nồng độ glucose huyết tương và nồng độ ure huyết thanh mặc dù một vài yếu tố khi phân tích với biến số đơn độc thì cho thấy sự tương quan (Bảng 3.33). Trong các yếu tố có sự tương quan đa biến với nồng độ ADMAx1000 thì MLCT là vẫn là yếu tố có sự tương quan mạnh nhất.

4.3.9. Liên quan giữa ADMA, tuổi, HATB, BMI, creatinine, Hb và TG với MLCT

Có tương quan hồi quy nghịch giữa MLCT với nồng độ ADMA ($t=-57,278$; $p<0,001$), tuổi ($t=-627$; $p<0,001$), HATB ($t=-0,320$; $p<0,05$), nồng độ TG huyết thanh ($t=-2,482$; $p<0,05$) và với nồng độ creatinine huyết thanh ($t=-0,032$; $p<0,001$). Có tương quan hồi quy thuận với nồng độ Hb ($t=0,220$; $p<0,05$). Không có tương quan hồi quy với BMI. Trong đó, các

yếu tố nồng độ ADMA, tuổi và creatinine có tính dự báo MLCT tốt hơn so với HATB, nồng độ Hb và TG.

4.3.10. Liên quan giữa tăng nồng độ ADMA với các yếu tố nhân trắc, lâm sàng và cận lâm sàng

Chúng tôi sử dụng hồi quy logistic để khảo sát dự đoán tăng nồng độ ADMA huyết tương bằng các yếu tố MLCT < 60 ml/ph/1,73 m², BMI, THA, nồng độ hs-CRP và thiếu máu.

Kết quả cho thấy MLCT < 60 ml/ph/1,73 m² là yếu tố liên quan mạnh nhất ($p < 0,001$), tiếp đến là yếu tố thiếu máu ($p < 0,01$) so với BMI và nồng độ hs-CRP ($p < 0,05$) trong việc dự đoán tăng nồng độ ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn (Bảng 3.35).

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở bệnh thận mạn do viêm cầu thận mạn và bệnh thận-bể thận mạn chúng tôi rút ra được một số kết luận sau:

1. Nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở bệnh thận mạn

Nồng độ ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn tăng dần theo sự suy giảm của chức năng thận.

- Nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở bệnh thận mạn là $0,73 \pm 0,24 \mu\text{mol/L}$; ở người bình thường là $0,47 \pm 0,13 \mu\text{mol/L}$ ($p < 0,001$).

- Nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở bệnh thận mạn giai đoạn 1 là $0,52 \pm 0,13 \mu\text{mol/L}$; giai đoạn 2 là $0,59 \pm 0,10 \mu\text{mol/L}$; giai đoạn 3 là $0,68 \pm 0,11 \mu\text{mol/L}$; giai đoạn 4 là $0,83 \pm 0,13 \mu\text{mol/L}$ và giai đoạn 5 là $0,97 \pm 0,26 \mu\text{mol/L}$.

- Điểm cắt của sự tăng nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương là $0,73 \mu\text{mol/L}$.

- Tỷ lệ tăng nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương cao nhất ở giai đoạn cuối và đạt 90,9%.

2. Liên quan giữa nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương với các yếu tố nguy cơ tim mạch ở bệnh thận mạn

Nồng độ ADMA huyết tương ở bệnh thận mạn liên quan với một số yếu tố nguy cơ tim mạch truyền thống và không truyền thống.

- Nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương có tương quan nghịch khá chặt chẽ với mức lọc cầu thận ($r=-0,689$; $p<0,001$), với nồng độ hemoglobin ($r=-0,525$; $p<0,001$) và hematocrit ($r=-0,491$; $p<0,001$); có tương quan thuận khá chặt chẽ với nồng độ creatinine huyết thanh ($r=0,569$; $p<0,001$) và nồng độ ure huyết thanh ($r=0,642$; $p<0,001$).

- Nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương có tương quan nghịch mức độ yếu với chỉ số khối cơ thể và số lượng bạch cầu; có tương quan thuận mức độ yếu với tuổi, với huyết áp trung bình và nồng độ triglyceride huyết thanh.

- Không có sự liên quan giữa nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương với giới, nồng độ protein phản ứng C huyết thanh độ nhạy cao và nồng độ các cholesterol huyết thanh.

- Có sự tương quan hồi quy đa biến số giữa nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương với mức lọc cầu thận ($p<0,001$), creatinine huyết thanh ($p<0,01$) và chỉ số khối cơ thể ($p<0,05$).

- Nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở điểm cắt $\geq 68 \mu\text{mol/L}$ có ý nghĩa dự báo rất tốt sự giảm MLCT $< 60 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$ với độ nhạy 86,9 %, độ đặc hiệu: 82,6%, diện tích dưới đường cong ROC 92,4% (khoảng tin cậy 95%: 88,6% - 96,1%); điểm cắt $\geq 0,7 \mu\text{mol/L}$ có ý nghĩa dự báo khá tốt tình trạng thiếu máu với độ nhạy 72,0%, độ đặc hiệu: 81,2%, diện tích dưới đường cong ROC là 82,2% (khoảng tin cậy 95%: 76,1%-88,3%).

- Tăng nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương $\geq 0,73 \mu\text{mol/L}$ được dự đoán rất tốt bằng MLCT $\leq 40,2 \text{ ml/ph/1,73 m}^2$ với độ

nhảy 87,5 %, độ đặc hiệu: 80,2%, diện tích dưới đường cong ROC là 92,0% (khoảng tin cậy 95%: 88,8% - 96,2%).

- Tăng nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương bị ảnh hưởng đồng thời với mức lọc cầu thận <60 ml/ph/1,73 m² ($p<0,001$), thiếu máu ($p<0,01$), chỉ số khối cơ thể ($p<0,05$) và nồng độ protein phản ứng C huyết thanh độ nhạy cao ($p<0,05$); trong lúc tăng huyết áp không phải là yếu tố dự đoán đồng thời với các yếu tố trên.

KIẾN NGHỊ

1. Cần có những nghiên cứu sâu hơn để tìm ra các yếu tố nguyên nhân bên dưới của mối liên quan giữa nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở bệnh thận mạn và các yếu tố nguy cơ tim mạch.

2. Cần mở rộng cỡ mẫu và nghiên cứu nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở người bình thường cũng như ở bệnh nhân bệnh thận mạn ở các giai đoạn khác nhau, các bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối để thiết lập một khoảng giá trị sinh lý của nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương từ đó có các nghiên cứu can thiệp sớm làm chậm sự tiến triển của suy thận, làm giảm nguy cơ các biến chứng tim mạch và tử vong.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC LIÊN QUAN ĐÃ CÔNG BỐ

1. Hoàng Trọng Ái Quốc, Võ Tam, Hoàng Viết Thắng (2016), “Nghiên cứu nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương ở bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối”, *Tạp chí Y Dược Học*, số 30, tr.71-76.

2. Hoàng Trọng Ái Quốc, Võ Tam, Hoàng Viết Thắng (2016), “Nghiên cứu nồng độ asymmetric dimethylarginine huyết tương và mối liên quan với một số yếu tố nguy cơ tim mạch ở bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối”, *Tạp chí Y Dược Học*, số 32, tr.50-59.

HUE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

HOANG TRONG AI QUOC

**RESEARCH OF PLASMA
ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE LEVELS AND THEIR
RELATIONSHIPS TO SOME OF CARDIOVASCULAR DISEASE
RISK FACTORS IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS**

SPECIALITY: Nephrology

CODE: 62.72.01.46

THE SUMMARY OF MEDICAL DOCTORATE THESIS

Hue, 2017

Thesis was completed at: Hue University of Medicine and Pharmacy

Scientific tutor:

1. Prof. Dr. VO TAM

2. Assoc. Prof. Dr. HOANG VIET THANG

Reviewer 1:

Reviewer 2:

Reviewer 2:

The thesis was reported at the Council of Hue University, number 3,

Le Loi Street, Hue City

AthourDate of.....

Thesis could be found in:

- National Library of Vietnam

- Library of Hue University of Medicine and Pharmacy

PREFACE

1. Urgency of the thesis

Chronic kidney disease is a worldwide public health problem. Its incident rate is increasing all over the world. This situation places many difficulties to health care of each nation. Patients with chronic kidney disease are at high risk from cardiovascular diseases because the disease and cardiovascular disease affect to each other, causing a pathological cycle and early dead.

Patients with chronic kidney disease usually have increase of asymmetric dimethylarginine levels. This substance has biological activities by inhibition and regulation of nitric oxide activity. Nitric oxide plays an important role in vascular endothelial cells. Therefore, asymmetric dimethylarginine is called a factor activating for endothelial function disorders. Elevated asymmetric dimethylarginine levels lead to increasing risk of dead in general population and in chronic kidney disease patients. So, elevated asymmetric dimethylarginine level is an important cardiovascular risk factor of chronic kidney disease.

However, there is not any investigation of asymmetric dimethylarginine in chronic kidney disease in Vietnam. So, we carried out the thesis “Research of plasma asymmetric dimethylarginine levels and their relationship to some of cardiovascular disease risk factors in chronic kidney disease patients”.

2. Objectives

Objective 1: Identifying levels and proportion of elevated level of plasma asymmetric dimethylarginine in chronic kidney disease patients with conservative treatment.

Objective 2: Examining relationship and correlation between levels of plasma asymmetric dimethylarginine with age, gender, body mass index, blood pressure, serum cholesterol concentrations, high sensitive serum C reactive protein, blood hemoglobin level, hematocrite, serum

creatinine and ure concentration, glomerular filtration rate in different stages of chronic kidney disease patients with conservative treatment.

3. Scientific significance and practical meaning

Scientific significance: by knowing the difference of asymmetric dimethylarginine levels in stages of chronic kidney disease and their relationships to some of cardiovascular disease risk factors, we know how the role of this substance to organization and progression of chronic kidney disease as well as cardiovascular disease development in these patients.

Practical meaning: by basing on plasma asymmetric dimethylarginine levels and their relationships to cardiovascular disease risk factors, prognosis of kidney disease progression and forecast of cardiovascular disease can be made. By that, we can plan early a strategy in order to prevent, treat and change disease evolution. Practitioners can use them as indicators to follow up effect of trials that slow down progression of disease and restrict cardiovascular disease development in these patients.

4. Contributions of the thesis

This is the first thesis which assesses plasma asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease in Vietnam.

Plasma asymmetric dimethylarginine levels increasing significantly in patients with chronic kidney disease reflect severe endothelial function disorder as well as high cardiovascular risk in these patients.

Chapter 1

OVERVIEW

1.1. OVERVIEW OF CHRONIC KIDNEY DISEASE

1.1.1. Definition

CKD is defined as abnormalities of kidney structure or function, presenting for over 3 months, manifested by albuminuria, or imaging

abnormalities or deterioration in renal function which is determined by glomerular filtration rate $<60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$.

1.1.2. Stage classification of chronic kidney disease

According to the NKF 2012, CKD is classified into 5 stages basing on eGFR.

1.1.6. Diagnosis

Diagnosis of CKD bases on criteria published by NKF/KDIGO-2012. It is required by 2 major factors: kidney damage and its duration >3 months.

1.2. CARDIOVASCULAR DESEASE RISK FACTORS IN CKD

CKD is a CVD risk factor nowadays. Beside of traditional CVD risk factors in CKD, it also exist untraditional CVD risk factors such as ADMA elevation.

1.3. OVERVIEW OF ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE

1.3.2. Structure and synthesis of ADMA

ADMA is a natural amino acid with structure of $N^G N^G$ -dimethylarginine and molecule weight 202 dalton. ADMA is released by proteolysis protein chains containing arginine amino acids having 2 groups of methyl that bound asymmetrically to atom N. This methylation is made by arginine *N*-methyltransferases. Vascular endothelial cells are major places for the methylation. No method is found to synthetize ADMA by free arginine methylation out of body.

1.3.3. Metabolism of ADMA

ADMA can be metabolized by enzyme DDAH or transported into plasma. Plasma ADMA can be excreted by urine or absorbed into cells. More than 80% of ADMA are metabolized by DDAH to citruline and dimethylamine or monomethylamine.

In case of CKD, elevated levels of ADMA are caused principally by decreasing of DDAH activity.

1.3.4. Biological activity of ADMA

ADMA exerts its biological activity by competitively inhibiting NOS activity). NO plays important functional roles in a variety of physiological systems including protection from arteriosclerosis and CVD. Decreased concentration of NO can lead to high risk of CVD.

1.3.5. Quantification of ADMA

ADMA levels can be quantified by many methods. However, it is more common to be determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

1.4. ROLE OF ADMA IN CKD

1.4.1. Role of ADMA in endothelial disorders

Endothelial disorders from increasing ADMA are through decreasing NO concentration.

NO inhibits plasma lipoprotein oxidation, inhibits platelet aggregation, prevents neutrophil/platelet adhesion to endothelial cells and inhibits smooth muscle cell proliferation and migration. NO induces vasodilation through cGMP synthesis. So, decreasing NO concentration causes risk of many physiological systems.

1.4.2. ADMA activity in kidney

ADMA causes renal vascular contraction and decrease renal plasma flow while renal glomerular pressure increases. This results to changes of renal function and structure, causes accumulation fat on vascular wall. ADMA promotes cellular old age too.

ADMA also causes endothelial damage through endothelial progenitor cell inhibition and affect on these cells. ADMA can cause renal sclerosis by increasing synthesis of collagen and TGF- β 1.

1.4.3. ADMA as a CVD risk factor and CKD biomarker in CKD

ADMA is an indicator of CKD. ADMA alerts progression and severity of CKD. It is also a CVD risk factor.

Chapter 2

SUBJECTS AND METHODS

2.1. RESEARCH SUBJECTS

2.1.1. Place and time of research

This research was performed at Hue Central Hospital from April/2012- April/2016.

2.1.2. Population

2.1.2.1. Method of sample selection

Sample size: estimation of a proportion

2.1.2.2. Subjects

There are totally 240 persons who divided into 2 groups:

- **CKD group:** 176 patients with chronic glomerulonephritis and stone pyelonephrolory who conservative treated at outpatient and inter-hospital departments. The group was divided into 5 subgroups: stage 1: 32 patients; stage 2: 37 patients; stage 3: 30 patients; stage 4: 33 patients; stage 5: 44 patients.

- **Control group:** 64 healthy people (30 male and 34 female).

2.1.2.8. Staging of disease

Diagnosing of CKD stage based on the criteria of NKF/KDIGO 2012. eGFR based on formula of CKD-EPI 2009 (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration – 2009).

2.2. METHODS

2.2.1. Method of research

Cross sectional control study

2.2.2. Techniques in the research

Machine of Cobas 6000 for quantifying chemo-biological indices

Immune-biological machine of EVOLIS TM TWIN PLUS for quantifying plasma ADMA levels.

2.2.5. Clinical variables

Anthropometry (height, weight and BMI) and blood pressure

2.2.6. Paraclinical variables

- Hematological indices: Red blood cell, white blood cell, hemoglobin (Hb) and hematocrit (Hct).

- Chemo-biological indices: ure, creatinine, glucose, hs-CRP, total C, LDLC, HDLC, TG.

- Plasma ADMA

2.2.6.1. Time for taking blood sample

Before 9 a.m and breakfast; patient without eating at least 8 h.

2.2.6.11. Technics for quantifying plasma ADMA

** Place*

Chemo-biological department

Kits of Immundiagnostik AG (ADMA ELISA Kit), Germany.

**Sample and storage:*

- Taking 2 ml venous fasting blood and centrifuging; storage of plasma at -20⁰C until quantification.

** Principle of the test*

This assay is based on the method of competitive enzyme linked immunoassays.

- The treated samples and the polyclonal ADMA-antiserum are incubated in wells of a microtiter plate coated with ADMA-derivative (tracer). During the incubation period, the target ADMA in the sample competes with the tracer immobilized on the wall of the microtiter wells for the binding of the polyclonal antibodies. The ADMA in the sample displaces the antibodies out of the binding to the tracer. Therefore, the concentration of the tracer-bound antibody is inverse proportional to the ADMA concentration in the sample.

- Determination of absorption immediately with a photometer reader at 450 nm. A dose response curve of absorbance unit vs. concentration is generated using the values obtained from the standard.

**Threshold of elevated plasma ADMA level:*

$$\text{Plasma ADMA level} \geq \bar{X} + 2SD$$

Chapter 3 RESULTS

By studying 240 people, including 64 healthy people, 176 patients with CKD, we have obtained the following results:

3.1. CHARACTERISTICS OF SUBJECTS

3.1.1. General characteristics

Mean age difference of 2 groups and 2 genders was not significant. Gender proportion difference within each group was not significant either.

3.1.2. Anthropometry characteristics

3.1.2.1. Anthropometry characteristics of control and CKD groups

Rate difference of BMI that classified in CVD risk intervals between control group and CKD group was not significant.

BMI mean of stage 5 was significant lower than control group's one ($p < 0.001$).

3.2. PLASMA ADMA LEVELS

3.2.1. Plasma ADMA levels of subjects

Table 3.142. Plasma ADMA levels of subjects

Group Index		CKD	Control	p
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	176	64	
	$\bar{X} \pm SD$	0.73 $\pm$ 0.24	0.47 $\pm$ 0.13	<0.001
	Min value	0.28	0.20	
	Max value	1.71	0.76	

- Threshold of elevated plasma ADMA level = 0.47 + 2x0.13 = 0.73 ($\mu\text{mol/L}$)

- Proportion of CKD with plasma ADMA level > median (>0.70 $\mu\text{mol/L}$): 50%

3.2.2. Elevation of plasma ADMA levels in subjects

Table 3.13. Elevated plasma ADMA level proportion of subjects

Group ADMA elevation	CKD (n=176)		Control (n=64)		p [*]
	n	%	n	%	
Yes	80	45.5	1	1.6	<0.001
No	96	54.5	63	98.4	
OR (95% CI)	52.5 (7.12- 387.02)				

Proportion of plasma ADMA level elevation of CKD group was significantly higher than of control group (p<0.001).

3.2.3. Plasma ADMA levels with eGFR cut-off

Table 3.14. Plasma ADMA levels of CKD group with $eGFR < 30 \text{ ml/min/1.73m}^2$, $eGFR \geq 30 \text{ ml/min/1.73m}^2$, $eGFR \geq 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$, $eGFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ and $eGFR < 90 \text{ ml/min/1.73m}^2$.

Group Index		n	ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	
			$\bar{X} \pm SD$	p
Control		64	0.47 $\pm$ 0.13	$p_1 > 0.05$ $p < 0.001$
CKD	$eGFR \geq 90 \text{ ml/min/1.73m}^2$	32	0.52 $\pm$ 0.13	
	$eGFR < 90 \text{ ml/min/1.73m}^2$	144	0.78 $\pm$ 0.23	
Control		64	0.47 $\pm$ 0.13	$p < 0.001$
CKD	$eGFR \geq 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$	69	0.56 $\pm$ 0.12	
	$eGFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$	107	0.85 $\pm$ 0.22	
Control		64	0.47 $\pm$ 0.13	$p < 0.001$
CKD	$eGFR \geq 30 \text{ ml/min/1.73m}^2$	99	0.59 $\pm$ 0.13	
	$eGFR < 30 \text{ ml/min/1.73m}^2$	77	0.91 $\pm$ 0.22	

Plasma ADMA levels of control group was significantly lower than CKD's ones (p<0.001) (exception of CKD group with $eGFR > 90 \text{ ml/min/1.73m}^2$, $p_1 > 0.05$).

3.2.4. Plasma ADMA levels with CKD stages

Table 3.15. Plasma ADMA levels with CKD stages

ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	Group	Control n=64	CKD				
			Stage 1 n=32	Stage 2 n=37	Stage 3 n=30	Stage 4 n=33	Stage 5 n=44
$\bar{X} \pm SD$		0.47 $\pm$ 0.13	0.52 $\pm$ 0.13	0.59 $\pm$ 0.10	0.68 $\pm$ 0.11	0.83 $\pm$ 0.13	0.97 $\pm$ 0.26
p		$p_{0;1} > 0.05$; $p_{0;2} < 0.01$; $p_{0;3,4,5} < 0.001$					
		$p_{1;2} > 0.05$; $p_{1;3} < 0.01$; $p_{1;4,5} < 0.001$					
		$p_{2;3} > 0.05$; $p_{2;4} < 0.001$					
		$p_{3;4} < 0.01$; $p_{3;5} < 0.001$					
		$p_{4;5} < 0.001$					

$p_{x,y}$: comparison between stage x with stage y ($x,y=0,1,2,3,4,5$)(0: control)

Plasma ADMA levels of stage 2-5 was significantly higher than control's ones ($p < 0.001$).

3.2.5. Plasma ADMA level elevation with CKD stage

Table 3.16. Elevation of plasma ADMA levels with CKD stages

Group	Index	Control n=64	CKD				
			Stage 1 n=32	Stage 2 n=37	Stage 3 n=30	Stage 4 n=33	Stage 5 n=44
Elevated ADMA	n	1	2	2	8	28	40
	%	1.6	6.3	5.4	26.7	84.8	90.9
	p	$p_{1,2} > 0.05$			$p_{3,4,5} < 0.001$		

p_x : Comparison between stage x with control, $x=1,2,3,4,5$

Proportion of stage 3-5 subjects with elevated ADMA was significantly higher than control's one ($p < 0.001$). The proportion was increasing with eGFR reduction and reached 90.9 % at stage 5.

3.3. RELATIOSHIPS BETWEEN PLASMA ADMA LEVELS AND CVD RISK FACTORS IN CKD

3.3.1. Plasma ADMA levels and gender

Gender difference of plasma ADMA levels was not significant.

3.3.2. Relationship between plasma ADMA levels and age

3.3.2.1. Correlation between ADMA levels and age

Table 3.18. Correlation between ADMA levels and age

Correlation ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	r	p
Control	64	-0.161	>0.05
CKD	176	0.225	<0.01

There was correlation between plasma ADMA levels and age in CKD.

3.3.2.3. Elevation of plasma ADMA levels according to age ≥ 65

Table 3.20. Proportion of ADMA elevation with age ≥ 65

CKD age ADMA elevation	≥65 (n=58)		<65 (n=118)		p
	n	%	n	%	
Yes	33	56.9	47	39.8	<0.05
No	25	43.1	71	60.2	
OR (95% CI)	1.99 (1.05- 3.77)				

Ratio of elevated ADMA of age ≥ 65 was twice as high as <65's one.

3.3.3. Relationship between plasma ADMA levels and BMI in CKD

3.3.3.1. Plasma ADMA levels according to CVD risk classified BMI

In BMI group $\leq 18.4 \text{ kg/m}^2$ and BMI group=18.5-22.9 kg/m^2 , plasma ADMA levels of CKD was significantly higher than control's ones ($p < 0.001$).

3.3.3.2. ADMA elevation according to CVD risk classified BMI

Elevated ADMA proportion of CKD was decreasing with BMI group $\leq 18.4 \text{ kg/m}^2$, 18.5-22.9 kg/m^2 , 23.0-24.9 kg/m^2 and 25.0-29.9 kg/m^2 .

3.3.3.3. Correlation between plasma ADMA levels and BMI

Plasma ADMA levels were correlated moderate inversely to BMI ($r = -0.35$, $p < 0.001$).

3.3.4. Relationship between plasma ADMA levels and blood pressure in CKD

3.3.4.1. Plasma ADMA levels in hypertension CKD

Table 3.23. ADMA levels in hypertension and nonhypertension CKD

Index		CKD		p
		Hypertension	Nonhypertension	
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	108	68	<0.05
	$\bar{X} \pm SD$	0.76 $\pm$ 0.25	0.68 $\pm$ 0.21	

Plasma ADMA levels of hypertension group were significantly higher than nonhypertension'one ($p < 0.05$).

3.3.4.3. Correlation between plasma ADMA levels and blood pressure

Systolic blood pressure and mean blood pressure correlate weakly favorably to plasma ADMA levels ($r = 0.19$; $p < 0.05$ and $r = 0.16$; $p < 0.05$, respectively).

3.3.5. Relationship between plasma ADMA levels and hematological indices in CKD

3.3.5.1. Plasma ADMA levels in anemia CKD

Plasma ADMA levels of anemia group ($0.82 \pm 0.24 \mu\text{mol/L}$) were significantly higher than non-anemia group's ones ($0.59 \pm 0.13 \mu\text{mol/L}$) ($p < 0.001$).

3.3.5.2. Plasma ADMA elevation and anemia in CKD

Table 3.27. ADMA elevation and anemia in CKD

CKD ADMA elevation	Anemia		Non-anemia		p
	n	%	n	%	
Yes	70	65.4	10	14.5	<0.001
No	37	34.6	59	85.5	
OR (95% CI)	11.16 (5.12- 24.34)				

ADMA elevation ratio of anemia CKD was 11 folds higher than non-anemia CKD ($p<0.001$).

3.3.5.3. Plasma ADMA levels with anemia classification

Table 3.28. Plasma ADMA levels with anemia classification

CKD Index		Hb (g/L)			
		≥ 120	110-<120	80-<110	<80
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	n	81	20	51	24
	$\bar{x} \pm SD$	0.60 $\pm$ 0.14	0.69 $\pm$ 0.14	0.84 $\pm$ 0.20	0.96 $\pm$ 0.32
	p	$p_1>0.05$; $p_2<0.001$			

Plasma ADMA levels of CKD with $\text{Hb} \geq 120$ g/L were significantly lower than moderate anemia and severe anemia groups ($p<0.001$).

3.3.5.4. Regression correlation between ADMA levels and indices of WBC, RBC, Hb and Hct in CKD

Table 3.2915. Regression correlation between ADMA levels and indices of WBC, RBC, Hb and Hct

Index		WBC (10^9 /ml)	RBC (10^{12} /ml)	Hb (G/L)	Hct (%)
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	Constant	0.832	1.269	1.250	1.97
	Coefficient	-0.010	-0.14	-0.005	-0.014
	r	-0.182	-0.526	-0.525	-0.491
	p	<0.05	< 0.001	< 0.001	< 0.001
	Equation	$y = -0.01x + 0.832$	$y = -0.14x + 1.269$	$y = -0.005x + 1.25$	$y = -0.014x + 1.97$

3.3.5.5. Relationship between plasma ADMA levels and anemia

With cut-off of plasma ADMA levels $\geq 0.7 \mu\text{mol/L}$, it existed anemia with sensitivity of 72.0%, specificity of 81.2%, area under ROC of 82.2% (95% CI: 76.1%-88.3%).

3.3.6. Relationship between plasma ADMA levels and chemobiological indices in CKD

3.3.6.1. ADMA levels according to CVD risk classified hs-CRP

Plasma ADMA level difference according to CVD risk classified hs-CRP was not significant.

3.3.6.2. Correlation between plasma ADMA levels and chemobiological indices

It exists a correlation between plasma ADMA levels and serum TG ($p < 0.05$).

3.3.7. Relationship between plasma ADMA levels and renal function indices in CKD

3.3.7.1. Regression correlation between ADMA levels and renal function indices

Table 3.32. Regression correlation between ADMA levels and renal function indices

Dependent variable	Value	Ure (mmol/L)	Creatinine (mmol/L)	eGFR (ml/min/1.73m ²)
ADMA (μmol/L)	Constant	0.564	0.634	0.945
	Coefficient	0.012	0.001	-0.004
	r	0.642	0.569	-0.689
	p	<0.001	<0.001	<0.001
	Equation	y=0.012x +0.564	y=0.001x +0.634	y=-0.004x +0.945

It existed a relatively strict regression correlation between ADMA levels and serum urea, serum creatinine and eGFR.

3.3.7.2. Plasma ADMA levels and prediction of eGFR<60 ml/min/1.73m²

With cut-off of ≥ 0.68 μmol/L, ADMA levels predict reduction of eGFR<60ml/min/1.73m², sensitivity of 86.9 %, specificity of 82.6%, area under ROC 92.4% (95% CI: 88.6% - 96.1%).

3.3.7.3. Relationships between eGFR and ADMA elevation

With cut-off of eGFR ≤ 40.2 ml/min/1.73m², it existed plasma ADMA level elevation with sensitivity of 87.5 %, specificity of 80.2%, area under ROC 92.0% (95% CI: 88.8% - 96.2%).

3.3.8. Multivariable regression between ADMAx1000 and BMI, creatinine, eGFR

Table 3.3316. Multivariable regression between ADMAx1000 and BMI, creatinine, eGFR

Index	B	t	p
Constant	1085.028	11.103	<0.001
BMI (kg/m ²)	-11.480	-2.434	<0.05
Creatinine (μmol/L)	0.119	3.259	<0.01
eGFR (ml/min/1.73m ²)	-3.257	-7.617	<0.001

- BMI, creatinine and eGFR were free factors to predict plasma ADMA levels.

-Equation:

$$\text{ADMAx1000} = 1085.028 - 11.48 \times \text{BMI} + 0.119 \times \text{creatinine} - 3.257 \times \text{eGFR}$$

3.3.9. Multivariable regression between ADMA, age, mean BP, BMI, creatinine, Hb and TG with eGFR

Plasma ADMA, age and serum creatinine were factors better than mean BP, Hb and TG in predicting eGFR.

-Equation:

$$\text{eGFR} = 139.573 - 0.627 \times \text{age} - 0.320 \times \text{Mean BP} - 57.278 \times \text{ADMA} - 0.032 \times \text{creatinine} + 0.220 \times \text{Hb} - 2.48 \times \text{TG}$$

3.3.10. Logistic regression between ADMA elevation and anthropometry indices, clinical and paraclinical indices

Table 3.3517. Logistic regression between ADMA elevation and BMI, hypertension, eGFR reduction, hs-CRP, anemia

Index	Constant	OR	95% CI	p
BMI (kg/m ²)	-0.212	0.809	0.686-0.953	<0.05
Hypertension	-0.913	0.401	0.134-1.198	>0.05
eGFR<60 ml/min/1.73m ²	3.709	40.81	11.401-146.091	<0.001
hs-CRP (mg/L)	-0.009	0.991	0.982-1.000	<0.05
Anemia	1.575	4.829	1.753-13.301	<0.01

BMI, eGFR<60 ml/min/1.73m², hs-CRP and anemia affected simultaneously to ADMA elevation but hypertension.

Chapter 4 DISCUSSION

4.1. THE CHARACTERISTICS OF THE SUBJECTS

4.1.1. Characteristics of gender

Gender proportion difference within each group and between groups was not significant.

4.1.2. Characteristics of age

Mean age difference of 2 groups and 2 genders was not significant.

4.1.3. Anthropometry characteristics

BMI mean of stage 5 was statistically significant lower than control group's one ($p < 0.001$).

4.2. PLASMA ADMA LEVELS

4.2.1. Plasma ADMA levels of subjects

Mean of CKD plasma ADMA levels ($0.73 \pm 0.24 \mu\text{mol/L}$) was significantly higher than control's ones ($0.47 \pm 0.13 \mu\text{mol/L}$) ($p < 0.001$, table 3.12). 45.5% of CKD with ADMA elevation compared to 1.6% of control with ADMA elevation ($p < 0.001$). Plasma ADMA elevation ratio of CKD was 50 folds higher than control's one ($\text{OR} = 52.5$; $p < 0.001$) (Table 3.13). Many researches presented ADMA levels in CKD (Table 4.1).

Table 4.1. Plasma ADMA levels in researchs

eGFR	Research	Method	ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	p
<90 ml/ph/1.73 m ²	Our research	ELISA	0.73 ± 0.24	>0.05
	Pietro Ravani (2005)		0.78 ± 0.23	
	Tetty Hendrawati (2009)		0.73 ± 0.25	
	Paola Pecchini (2012)		0.79 ± 0.17	
<60 ml/ph/1.73 m ²	Our research	ELISA	0.85 ± 0.22	>0.05
	Jaromír Eiselt (2014)		$0.87 (0.79-0.98)$	
$\geq 30 \text{ ml/ph/1.73 m}^2$	Our research	ELISA	0.59 ± 0.13	<0.05
	Prabath W.B. N.(2005)	HPLC	0.52 ± 0.07	
CKD with 5 stages	Our research	ELISA	0.73 ± 0.24	<0.05
	Jan T. Kielstein (2002)	HPLC	4.2 ± 0.9	
	Tarnow (DTĐ-2004)	HPLC	0.46 ± 0.08	
	Danilo Fliser (2005)	HPLC-MS	0.46 ± 0.12	

Mean of CKD ADMA levels with $\text{eGFR} < 90 \text{ ml/ph/1.73 m}^2$ in this research was the same to results of Pietro Ravani's research, Tetty Hendrawati's research and Paola Pecchini's research. All utilized ELISA method to quantify ADMA levels (Table 3.14 và 4.1).

Danilo Fliser's research presented lower ADMA levels than our results and above authors (Table 3.14 và 4.1). This research utilized HPLC-MS.

Jan T. Kielstein's research had higher mean of plasma ADMA levels than our research's and other researches' results. Tarnow's result in diabetic CKD presented lower mean of ADMA levels than above researches. Both utilized HPLC method (Table 3.14 and 4.1).

With $\text{eGFR} < 60 \text{ ml/ph/1.73 m}^2$, Jaromír Eiselt (2014) showed the same of ADMA levels to our results ($p > 0.05$) (Table 3.14).

With $\text{eGFR} \geq 30 \text{ } \mu\text{mol/L}$, our ADMA levels was higher than ADMA levels in Prabath W.B. Nanayakkara's research ($p < 0.01$) (Table 3.14 và 4.1).

Generally, our mean of ADMA levels was the same to levels from researches that utilized ELISA.

Tetty Hendrawati and our research were of equal proportion of ADMA elevation ($p = 0.362$).

4.2.2. Plasma ADMA levels with CKD stages

There was an increasing of ADMA levels and elevation proportion associated with eGFR reduction. ADMA levels of every CKD stage were significant higher than control's ones (Table 3.15 and table 3.16). Many researches also presented plasma ADMA levels in different stages (Table 4.2).

Table 4.2. Plasma ADMA levels in different stages of CKD

Stage ADMA ($\mu\text{mol/L}$)		Stage 1 n=32	Stage 2 n=37	Stage 3 n=30	Stage 4 n=33	Stage 5 n=44	p
Our research	n	32	37	30	33	44	<0.001
	$\bar{X} \pm SD$	0.52 $\pm$ 0.13	0.59 $\pm$ 0.10	0.68 $\pm$ 0.11	0.83 $\pm$ 0.13	0.97 $\pm$ 0.26	
Danilo Fliser	n	37	48	68			<0.01
	$\bar{X} \pm SD$	0.37 $\pm$ 0.07	0.43 $\pm$ 0.1	0.56 $\pm$ 0.1			
Tri P. Asmarawati	n			25	25	25	>0.05
	$\bar{X} \pm SD$			0.63 $\pm$ 0.11	0.72 $\pm$ 0.16	0.73 $\pm$ 0.18	
Tetty Hendrawati	n		31	23	10	11	>0.05
	$\bar{X} \pm SD$		0.70 $\pm$ 0.20	0.74 $\pm$ 0.25	0.87 $\pm$ 0.21	0.66 $\pm$ 0.38	

Our ADMA levels with CKD stage 3 were equivalent to levels in Tri P. Asmarawati's research. Our results were also equivalent to levels of Tetty Hendrawati's research at stage 3-4 and equivalent to Mac Allister's results at stage 5.

Our results were significantly higher than Danilo Fliser's results at all stages, Tri P. Asmarawati's results at stage 5 and significantly lower than Tetty Hendrawati's ones at stage 2.

4.3. RELATIONSHIP BETWEEN PLASMA ADMA LEVELS AND SOME OF CVD RISK FACTORS

4.3.1. Plasma ADMA levels and gender

Our results presented that plasma ADMA levels were not depended by gender.

4.3.2. Plasma ADMA levels and age

It existed a weak correlation between ADMA levels and age in CKD (Table 3.18; $r=0.225$, $p<0.01$). However, there was not the relation between plasma ADMA levels and 10 years of age.

Patients ≥ 65 years old had a higher proportion of ADMA elevation than patients <65 years old had ($p<0.05$). Plasma ADMA elevation ratio of

group ≥ 65 years old was twice higher than the second's one (OR=1.99; $p<0.05$) (Table 3.20).

4.3.3. Relationship between ADMA levels and BMI in CKD

In groups of BMI <18.5 kg/m² and BMI=18.5- <23.0 kg/m², plasma ADMA levels of CKD were significantly higher than the control's ones ($p<0.001$). It meant that ADMA levels were affected weakly by obese.

In CKD, ADMA elevation proportion was highest in group of BMI <18.5 kg/m². There was a moderate inverse correlation between this substance and BMI ($r=-0.3$, $p<0.001$).

4.3.4. Relationship between ADMA levels and BP in CKD

Plasma ADMA level differences between hypertension CKD and non-hypertension CKD were not significant ($p<0.05$). Differences of ADMA elevation proportion between hypertension CKD and non-hypertension CKD were not significant either. It existed a weakly favorable correlation between plasma ADMA levels and SBP and mean BP ($r=0.19$ and $r=0.16$ respectively, $p<0.05$).

4.3.5. Relationship between plasma ADMA levels and hematological indices in CKD

Plasma ADMA levels of anemia CKD were significantly higher than non-anemia CKD's ones. ADMA elevation proportion of anemia CKD was significantly higher than non-anemia CKD's one. In anemia CKD, ADMA elevation ratio was 11 folds higher than the ratio in non-anemia CKD (OR=11.16; 95% CI: 5.12-24.34; $p<0.001$) (Table 3.27).

ADMA levels were highest in patients with severe anemia (Hb <80 g/L) (Table 3.28). There was a relatively strict inverse correlation between plasma ADMA levels and Hb concentration ($r=-0.525$, $p<0.001$) (Table 3.29).

It was possible that an ADMA elevation could be existed with Hb concentration ≤ 110.5 g/L, sensitivity of 71.3%, specificity of 80.2%, area under ROC 80.6% (95% CI: 73.8%- 87.4%). Plasma ADMA levels could predict anemic status at a fair good degree.

There was an inverse correlation between plasma ADMA levels and RBC ($r=-0.526$; $p<0.001$), Hct ($r=-0.491$; $p<0.001$) (Table 3.29). This is appropriate to relationship between anemia and ADMA elevation.

There was a weak regression correlation between WBC and ADMA levels ADMA ($r=-0.182$, $p<0.05$) (Table 3.29).

4.3.6. Relationship between plasma ADMA levels and chemobiological indices in CKD

4.3.6.1. Relationship between ADMA and hs-CRP

Differences of ADMA level means between different intervals of hs-CRP (<1 mg/L, $1-3$ mg/L và >3 mg/L) was not significant. There was not correlation between plasma ADMA levels and hs-CRP levels (Table 3.31).

4.3.6.3. Relationship between ADMA and cholesterol

There was a weak correlation between plasma ADMA levels and serum TG. There was not correlation between plasma ADMA levels and total C, HDL-C and LDL-C.

4.3.7. Relationship between plasma ADMA levels and renal function indices in CKD

There was a favorable correlation between plasma ADMA levels and serum ure ($r=0.642$; $p<0.001$), serum creatinine ($r=0.569$; $p<0.001$) ; an inverse correlation between plasma ADMA levels and eGFR ($r=-0.689$; $p<0.001$). These correlation were strict in which the strongest correlation was between eGFR and ADMA levels (Table 3.32).

With cut-off ≥ 0.68 $\mu\text{mol/L}$, ADMA levels could predict well a reduction of eGFR (<60 ml/min/1.73m²), sensitivity of 86.9 %, specificity of 82.6%, area under ROC 92.1% (95% CI: 88.6%- 96.1%).

With cut-off $\leq 40,2$ ml/min/1.73m², eGFR could predict very well ADMA elevation possibility with sensitivity of 87.5%, specificity of 80.2%, area under ROC 92,0% (95% CI : 88.8%-96.2%).

4.3.8. Relationship between ADMAx1000 and BMI, creatinine and eGFR in CKD

In order to express exactly, we amplified ADMA levels by 1.000. The results showed that there was a regression correlation inversely between ADMAx1.000 with BMI ($t=-2.434$; $p<0.05$), eGFR ($t=-7.617$; $p<0.001$) and favorably with serum creatinine concentration ($t=3.259$; $p<0.01$). There was not correlation with added factors such as age, BP, Hb, Hct, glucose concentration and ure levels although some of these factors presented the correlation when they were analysed lonely with ADMA (Table 3.33). eGFR had the strongest correlation in comparison to other factors.

4.3.9. Relationship between eGFR and ADMA, age, mean BP, BMI, creatinine, Hb, TG in CKD

There was an inverse regression correlation between eGFR and ADMA ($t=-57.278$; $p<0.001$), age ($t=-627$; $p<0.001$), mean BP ($t=-0.320$; $p<0.05$), serum TG ($t=-2.482$; $p<0.05$) and serum creatinine ($t=-0.032$; $p<0.001$); favorable regression correlation between eGFR and Hb ($t=0.220$; $p<0.05$) in which ADMA, age and creatinine predicted better than mean BP, Hb and TG.

4.3.10. Relationship between ADMA level elevation and anthropometry, clinic and paraclinic factors in CKD

We utilized logistic regression to predict plasma ADMA level elevation by $eGFR<60 \text{ ml/min/1.73m}^2$, BMI, hypertension, hs-CRP and anemia.

The result showed that $eGFR<60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ ($p<0.001$) and anemia ($p<0.01$) predict better than BMI and hs-CRP ($p<0.05$) (Table 3.35).

CONCLUSION

By studying plasma asymmetric dimethylarginine levels in patients with chronic glomerulonephritis and stone pyelonephrology, we have conclusion as following:

1. Plasma asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease

Plasma asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease were increasing with deterioration of renal function.

- Plasma asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease were $0.73 \pm 0.24 \mu\text{mol/L}$; in healthy people were $0.47 \pm 0.13 \mu\text{mol/L}$ ($p < 0.001$).

- Plasma asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease of stage 1 were $0.52 \pm 0.13 \mu\text{mol/L}$; of stage 2 were $0.59 \pm 0.10 \mu\text{mol/L}$; of stage 3 were $0.68 \pm 0.11 \mu\text{mol/L}$; of stage 4 were $0.83 \pm 0.13 \mu\text{mol/L}$ and of stage 5 were $0.97 \pm 0.26 \mu\text{mol/L}$.

- Cut-off of plasma asymmetric dimethylarginine level elevation was $0.73 \mu\text{mol/L}$.

- Proportion of plasma asymmetric dimethylarginine level elevation was highest at stage 5 and reached 90.9%.

2. Relationships between plasma asymmetric dimethylarginine levels and cardiovascular disease risk factors in chronic kidney disease

Plasma asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease relate to some of traditional and non-traditional cardiovascular disease risk factors.

- Plasma asymmetric dimethylarginine levels correlated inversely and relatively strictly to eGFR ($r = -0.689$; $p < 0.001$), red blood cell ($r = -0.526$; $p < 0.001$), hemoglobin concentration ($r = -0.525$; $p < 0.001$) and hematocrit ($r = -0.491$; $p < 0.001$); correlated favorably and relatively strictly to serum creatinine ($r = 0.569$; $p < 0.001$) and serum ure ($r = 0.642$; $p < 0.001$).

- Plasma asymmetric dimethylarginine levels correlated inversely weakly to body mass index and white blood cell; correlated favorably weakly to age, systolic blood pressure, mean blood pressure and serum triglyceride.

- There was not relation between plasma asymmetric dimethylarginine levels and high sensitive C reactive protein and serum cholesterol.

- There was multivariable regression correlation between plasma asymmetric dimethylarginine levels and estimated glomerular filtration rate ($p<0.001$), serum creatinine ($p<0.01$) and body mass index ($p<0.05$).

- Cut-off of plasma asymmetric dimethylarginine levels $\geq 68 \mu\text{mol/L}$ was possible to predict very well the reduction of estimated glomerular filtration rate $<60 \text{ ml/min/1.73m}^2$, sensitivity of 86.9 %, specificity of 82.6%, area under ROC 92.4% (95% CI: 88.6% - 96.1%); cut-off $\geq 0.7 \mu\text{mol/L}$ was possible to predict well the anemia, sensitivity of 72.0%, specificity of 81.2%, area under ROC 82.2% (95% CI: 76.1%-88.3%).

- Plasma asymmetric dimethylarginine elevation $\geq 0.73 \mu\text{mol/L}$ was predicted well by estimated glomerular filtration rate $\leq 40.2 \text{ ml/min/1.73m}^2$, sensitivity of 87.5 %, specificity of 80.2%, area under ROC 92.0% (95% CI: 88.8%- 96.2%).

- Plasma asymmetric dimethylarginine elevation was predicted simultaneously by estimated glomerular filtration rate $<60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ ($p<0.001$), anemia ($p<0.01$), body mass index ($p<0.05$) and high sensitive C reactive protein ($p<0.05$).

RECOMMENDATION

1. It is necessary to have further research to find underlying possible reason factors in relationship between ADMA levels and cardiovascular disease risk factors in chronic kidney disease.

2. It is needed to expand the sample size to study plasma asymmetric dimethylarginine levels in healthy people as well as in chronic kidney disease patients, in patients with stage 5 chronic kidney disease on many other subjects. Then, we will have more comprehensive review to establish a physiologic interval of plasma asymmetric dimethylarginine levels and have trial research to slow down the progression and reduce cardiovascular disease risk and dead.

LIST OF PUBLISHED SCIENTIFIC ARTICLES

1. Hoàng Trong Ai Quoc, Vo Tam and Hoang Viet Thang (2016), “Asymmetric dimethylarginine plasma in end stage chronic kidney disease”, *Journal of medicine and pharmacy*, vol. 30, pp.71-76.
2. Hoang Trong Ai Quoc, Vo Tam and Hoang Viet Thang (2016), “Plasma asymmetric dimethylarginine level and the association with cardiovascular risk factors in end stage chronic kidney disease”, *Journal of medicine and pharmacy*, vol. 32, pp.50-59.