

Analyse par RMN du P-31 des effets du malate de citrulline sur le métabolisme énergétique musculaire chez l'homme

D. Bendahan^{1*}, J.P. Mattei¹, S. Confort-Gouny¹, M.E. Leguern², C. Musial², C. Alquier², P.J. Cozzone¹

¹ Centre de résonance magnétique biologique et médicale, UMR CNRS 6612, faculté de médecine de la Timone 27, Bd J. Moulin 13005 Marseille, France ; ² Laboratoire Biocodex, 92120 Montrouge, France

(Reçu le 10 janvier 2000 ; accepté le 15 octobre 2000)

Résumé

Objectifs – Étude des effets d'un traitement par malate de citrulline sur le métabolisme énergétique musculaire.

Matériels et méthodes – Le métabolisme énergétique musculaire a été analysé chez dix-huit sujets avant (J-7 et J0), pendant (J3, J8, J15) et après (J22) 15 jours de prise de malate de citrulline. Les analyses métaboliques ont été réalisées par SRM du P-31 au cours d'un protocole de repos-exercice (flexion des doigts)-récupération.

Résultats – Les paramètres mesurés avant le traitement ne montraient aucune différence significative témoignant de la reproductibilité des mesures et de l'absence d'effet d'apprentissage dû à la répétition du protocole. L'analyse statistique des changements métaboliques induits par le traitement tendait à démontrer une amélioration de la performance mécanique alors que l'acidose lactique était similaire ($R2 = 0,29 \pm 0,03$ unités pH/W avant traitement vs $0,23 \pm 0,02$ unités pH/W pendant le traitement, $p = 0,02$). La production oxydative d'ATP, caractérisée par les cinétiques de récupération de la PCr, était significativement plus rapide après la prise de malate de citrulline ($V_{\text{rec}} = 16,8 \pm 2,8$ mM PCr/min avant traitement vs $24,1 \pm 3,1$ mM PCr/min pendant le traitement, $p = 0,01$).

Conclusion – Ces résultats démontrent un effet positif du malate de citrulline sur la production oxydative d'ATP aussi bien durant l'exercice que pendant la phase de récupération. Cet effet pourrait être dû à l'apport exogène de malate. © 2001 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

malate de citrulline / métabolisme énergétique / métabolisme mitochondrial / muscle squelettique / RMN du P-31

Summary – 31-P MRS analysis of muscle energetics changes associated to citrulline-malate in humans.

Aim – The purpose of this study was to determine the effects of citrulline malate (CM) supplementation on high-energy phosphate metabolism.

Materials and methods – Eighteen male subjects were included in the study. A rest-exercise (fingers flexions)-recovery protocol was performed twice before (D-7 and D0), three times during and once after (D22) a 15-day supplementation protocol in which 6 g/day of CM were ingested by the subjects. High energy phosphate metabolism was analysed by 31-P magnetic resonance spectroscopy at 4.7 T.

Results – Results obtained twice before the CM ingestion did not show any difference thereby demonstrating the high reproducibility of the measurements and showing no learning effect due to the repetition of the protocol. The statistical analysis of the metabolic changes associated to CM ingestion in the whole group tended to demonstrate an improvement of the mechanical performance whereas PCr consumption and acidosis were similar ($R2 = 0.29 \pm 0.03$ pH unit/W before treatment vs 0.23 ± 0.02 pH unit/W during treatment, $p = 0.02$). Also, the recovery kinetics of PCr improved after treatment as a sign of a faster oxidative ATP production ($V_{\text{rec}} = 16.8 \pm 2.8$ mM PCr/min before treatment vs 24.1 ± 3.1 mM PCr/min during treatment, $p = 0.01$). Metabolic parameters measured after treatment were not significantly different from those measured before.

* Correspondance et tirés à part. Professeur P.J. Cozzone, Centre de résonance magnétique biologique et médicale, UMR CNRS 6612, faculté de médecine de Marseille, 27, Bd J. Moulin 13005 Marseille, France.

Adresse e-mail : patrick.cozzone@medecine.univ-mrs.fr (P.J. Cozzone).

Conclusion – *These results are in favour of a transient activation of mitochondrial metabolism induced by CM treatment likely as a result of an enhanced malate supply.* © 2001 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

citrulline-malate / energetics / mitochondrial / skeletal muscle / 31-P MRS

Le malate de citrulline (Stimol) est un médicament largement utilisé pour le traitement des états d'asthénie physique. Plusieurs études réalisées sur un modèle animal ou chez l'homme ont démontré les effets bénéfiques du malate de citrulline au plan métabolique. Des travaux sur un modèle cellulaire ont montré une accélération de la croissance bactérienne induite par le malate de citrulline, vraisemblablement liée à une meilleure utilisation du lactate [1, 2] et ce en accord avec les études réalisées chez l'homme montrant une diminution rapide du lactate [3] ou de l'ammoniaque [4] sanguins après effort. Par ailleurs, une amélioration de la cinétique de récupération du potentiel musculaire dans les états post-infectieux a été rapportée à la suite de la prise de malate de citrulline [5]. Parallèlement, des études réalisées chez l'animal ont démontré que le malate de citrulline pouvait limiter les effets délétères des endotoxines bactériennes sur la performance musculaire [6]. Cependant, toutes ces études ne fournissent que des informations indirectes ou systémiques sur les effets du malate de citrulline sur le métabolisme musculaire. La spectroscopie de résonance magnétique (SRM) du phosphore-31 (P-31) permet la détection des principaux composés à haut-potentiel énergétique et la mesure du pH *in vivo* en respectant l'intégrité cellulaire [7]. Elle constitue donc une technique de choix permettant d'analyser les changements métaboliques survenant au cours de la contraction musculaire. Au cours du présent travail, nous avons utilisé la SRM du P-31 afin de documenter les effets du malate de citrulline sur le métabolisme énergétique musculaire chez l'homme.

SUJETS ET MÉTHODES

Cette étude a été réalisée sur dix-huit sujets volontaires et sédentaires (âge moyen \pm sd : 32 ± 10 ans) de sexe masculin, indemnes d'antécédents cardiaques, pulmonaires, métaboliques ou musculaires. Après consentement, l'examen d'inclusion comprenait une prise de sang et un électrocardiogramme. Les fonctions hépatiques et musculaires ont été évaluées à partir des prises de sang. Chez les 18 sujets, l'ensemble de ces paramètres était normal.

Après inclusion, les explorations par SRM ont été réalisées à J-7, J0, J3, J8, J15, J22. Le malate de citrulline a été administré pendant 15 jours de J1 à J15 à raison de six ampoules par jour. Chaque ampoule de produit contenait 2 g de soluté à 50 % de malate de citrulline. Le véhicule est une solution officinale d'hydroxyde de sodium qui n'est pas susceptible d'intervenir au niveau du méta-

bolisme énergétique. Les temps de demi-vie d'absorption et d'élimination du produit sont respectivement de 0,21 heure et de 0,62 heure. Cette étude a reçu l'agrément du CCPPRB de Marseille.

Exploration par SRM

L'exploration SRM est réalisée sur les muscles fléchisseurs de l'avant-bras. Le sujet assis, introduit son avant-bras dans l'aimant supraconducteur Bruker Biospec 47/30 et positionne la loge des muscles fléchisseurs en regard de l'antenne doublement accordée aux résonances du phosphore-31 et du proton. Après une période de repos de quelques minutes permettant d'ajuster les paramètres d'acquisition du signal, les spectres de RMN du P-31 sont enregistrés de façon consécutive toutes les minutes, avant (trois minutes), pendant (trois minutes) et après (20 minutes) l'exercice musculaire. Cet exercice correspond à une série de flexions-extensions (0,66 Hz) des doigts permettant, grâce à un système de poids-poulie, de soulever un poids de 6 kg pendant trois minutes. Ce type d'exercice a été choisi afin d'assurer une consommation énergétique significative [7]. Les concentrations des métabolites phosphorylés à haut potentiel énergétique (sucres phosphates : PME, phosphate inorganique : Pi, phosphocréatine : PCr et ATP) sont mesurées à partir des surfaces des signaux correspondants [8]. La valeur du pH intracellulaire est déterminée à partir du déplacement chimique du phosphate inorganique relatif à celui de la PCr [8]. Au cours de l'exercice musculaire, le déplacement de la charge a été mesuré à l'aide d'un capteur de déplacement totalement aimanté connecté à un ordinateur. La puissance mécanique (travail divisé par le temps) a été moyennée pour chaque minute d'exercice.

La vitesse initiale de resynthèse de PCr, reconnue comme un index fiable de la fonction mitochondriale [9], a été calculée après modélisation du décours temporel par une équation exponentielle du premier ordre (équation (1)).

$$\text{PCr}(t) = A - B \exp(-kt) \quad (1)$$

avec $A = [\text{PCr}]$ mesurée au repos et B correspond à la quantité de PCr consommée; k indique la constante de vitesse du phénomène (min^{-1}) et t correspond au temps. La vitesse initiale ($V_{i\text{rec}}$) s'exprime de la façon suivante :

$$V_{i\text{rec}} = kB$$

Les coefficients de rendement énergétique ont été calculés comme suit :

$$R1 = \frac{\Delta \text{PCr}}{P} \quad R2 = \frac{\Delta \text{pH}}{P}$$

avec Δ indique la différence entre le repos et la fin de l'exercice. La puissance est notée P.

Analyse statistique

Une analyse de variance à deux facteurs (mesures répétées sur les deux facteurs) a été réalisée à l'aide du logiciel SAS (Institut SAS). Nous avons utilisé un modèle linéaire de type généralisé (GLM) avec options *mesures répétées* et *contrastes*.

Les deux facteurs répétés étaient la durée de l'exercice (ou de la phase de récupération) notée T et la durée du traitement notée D.

Dans un premier temps, l'effet de chaque variable sur le modèle a été déterminé (F test). Puis, l'effet de chaque facteur (T et D) et de l'interaction entre les facteurs (T*D) sur les paramètres considérés ont été analysés (Wilks lambda test). Enfin, des *contrastes* multiples de type Scheffe ont été calculés afin de tester les interactions entre chaque facteur. Le seuil de significativité a été fixé à 0.01.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La tolérance au produit a été excellente et aucun événement indésirable n'a été enregistré au cours de l'étude. Une série caractéristique de spectres enregistrés au cours du protocole expérimental est présentée sur la *figure 1*. Les valeurs caractéristiques mesurées au repos sont en accord avec les valeurs rapportées dans d'autres travaux (*tableau I*) [10–12]. Les changements typiques des paramètres métaboliques et mécaniques mesurés au cours du protocole expérimental sont présentés sur la *figure 2*. À puissance constante (*figure 2C*), l'exercice musculaire se traduit par une consommation de PCr et une acidose intracellulaire (*figure 2*). La consommation initialement rapide de PCr confirme son rôle de tampon énergétique et la production glycolytique d'ATP contribue à la diminution mesurée du pH [13, 14]. L'arrêt de l'exercice se traduit par une resynthèse du pool initial de phosphocréatine associée à une production exclusivement aérobie d'ATP [7]. Sur la *figure 2*, sont présentés les profils métaboliques enregistrés à une semaine d'intervalle avant la prise médicamenteuse. Les différentes valeurs mesurées sont résumées sur le *tableau I*. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative démontrant clairement la reproductibilité des mesures et l'absence d'effet d'apprentissage associé à la répétition du protocole expérimental.

La prise de malate de citrulline n'a pas affecté les concentrations des métabolites phosphorylés mesurés au repos ni la valeur du pH intracellulaire ne mettant donc en évidence aucun effet sur le statut énergétique du muscle au repos. En revanche, certains paramètres mesurés pendant

Tableau I. Paramètres métaboliques mesurés à J-7 et J0.

| | J-7 | J0 | Valeurs de p |
|--------------------------|-------------|-------------|--------------|
| <i>Repos</i> | | | |
| PCr (mM) | 37,5 ± 0,3 | 38,2 ± 0,8 | 0.23 |
| pH | 6,99 ± 0,01 | 7,01 ± 0,01 | 0.69 |
| <i>Fin de l'exercice</i> | | | |
| PCr cons (%) | 61,4 ± 3,8 | 66 ± 4,5 | 0.69 |
| pH | 6,52 ± 0,04 | 6,47 ± 0,6 | 0.39 |
| Vi _{ex} | 38,4 ± 4,5 | 42,5 ± 5,4 | 0.41 |
| Puissance (W) | 1,55 ± 0,1 | 1,61 ± 0,1 | 0.54 |
| R1 (mM PCr/W) | 16,5 ± 1,6 | 16,2 ± 1,2 | 0.84 |
| R2 (U pH/W) | 0,33 ± 0,03 | 0,35 ± 0,03 | 0.55 |
| <i>Récupération</i> | | | |
| Vi _{rec} | 14,2 ± 2,3 | 14,5 ± 2,8 | 0.89 |

Les valeurs présentées correspondent aux moyennes ± se. PCr cons correspond à la consommation de PCr mesurée en fin d'exercice exprimée en % du contenu initial. Vi_{ex} indique la vitesse initiale de consommation de PCr au cours de l'exercice. Vi_{rec} indique la vitesse initiale de resynthèse de PCr au cours de la phase de récupération post-exercice. Les valeurs de p sont issues d'une analyse de variance à un facteur (mesures répétées) suivies d'une analyse des contrastes multiples de type Scheffe.

Tableau II. Nombre de sujets présentant une valeur optimum des paramètres considérés aux différents temps de mesure.

| | <i>Avant traitement</i> | | <i>Pendant</i> | | | | <i>Après</i> |
|----------------------|-------------------------|-----|----------------|----|-----|-------|--------------|
| | J0 | J-7 | J3 | J8 | J15 | total | J22 |
| PCr cons* | 11 | 22 | 28 | 11 | 11 | 50 | 17 |
| Power** | 17 | 17 | 11 | 22 | 28 | 61 | 6 |
| pH* | 6 | 33 | 22 | 6 | 0 | 28 | 33 |
| R1* | 6 | 22 | 11 | 22 | 33 | 66 | 6 |
| R2* | 17 | 17 | 11 | 22 | 28 | 61 | 6 |
| Vi _{ex} * | 11 | 22 | 11 | 28 | 17 | 56 | 11 |
| Vi _{rec} ** | 6 | 11 | 17 | 28 | 28 | 73 | 11 |

Les valeurs sont indiquées en % du nombre total de sujets.

* Les valeurs optimum correspondent aux valeurs minimum. ** Les valeurs optimum correspondent aux valeurs maximum. PCr cons correspond à la consommation de PCr mesurée en fin d'exercice. Vi_{ex} et Vi_{rec} indiquent les vitesses initiales de consommation (ex) et de resynthèse (rec) de PCr. Le calcul des paramètres R1 et R2 est indiqué dans le chapitre « Sujets et méthodes ».

l'exercice et la récupération ont été modifiés et ce pour différentes durées de traitement. Sur le *tableau II*, nous avons résumé le nombre de sujets présentant une valeur optimum des paramètres mesurés et ce pour chaque jour de mesure. Ces valeurs optimum correspondent aux minima ou au maxima selon les paramètres considérés. L'hé-

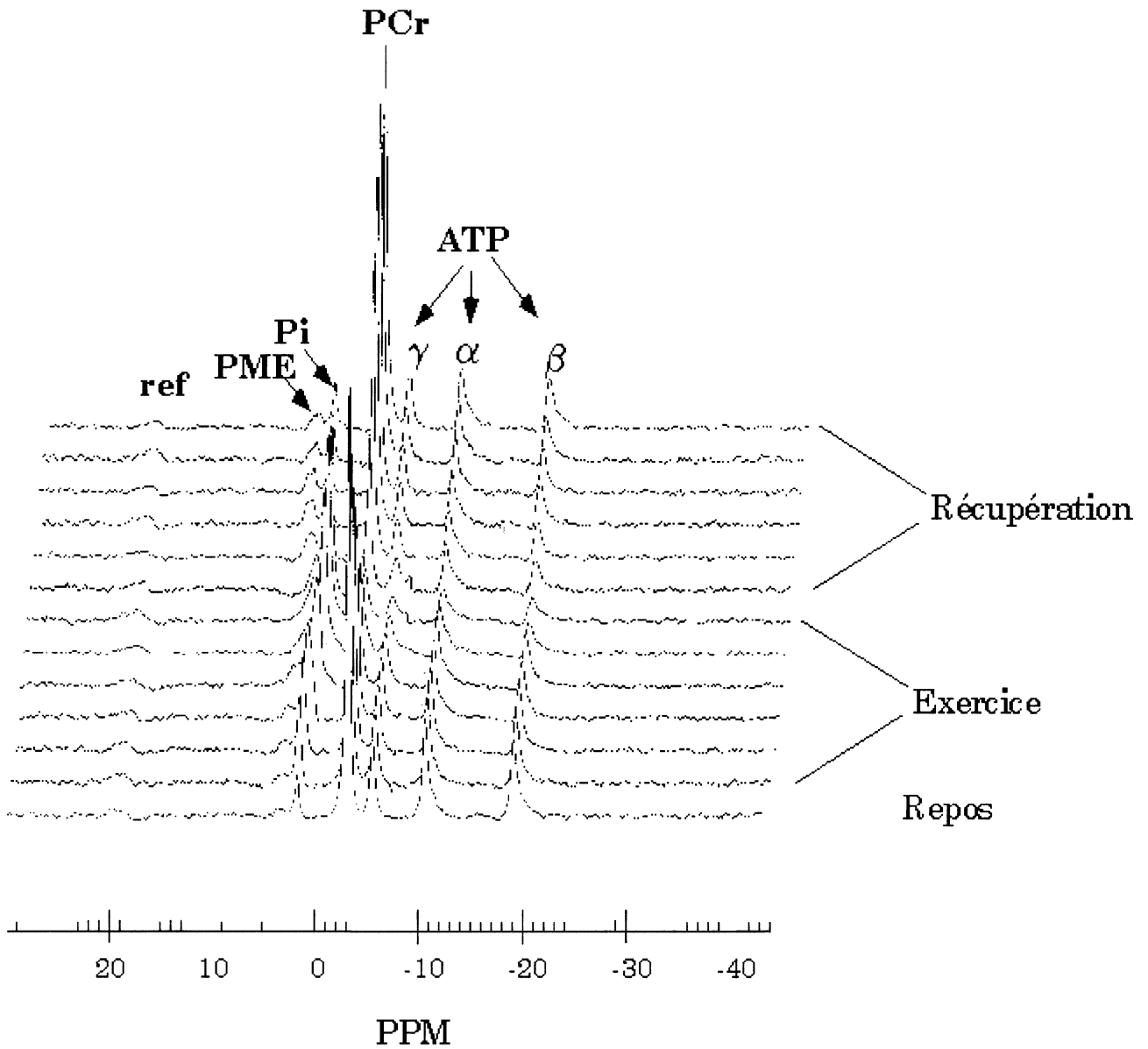


Figure 1. Série caractéristique de spectres de RMN du P-31 enregistrés au cours du protocole repos-exercice-récupération.

térogénéité des réponses est clairement démontrée dans ce tableau et certaines tendances doivent être remarquées. La majorité des sujets présentent une valeur maximale de la puissance développée (61 %) et de la vitesse initiale de récupération de PCr (73 %) pendant la durée du traitement. Les coefficients de rendement énergétique présentent des minima pour une majorité de sujets également (R1 (66 %) et R2 (61 %)). En d'autres termes, pour la majorité des sujets, le traitement permet une augmentation de

la performance mécanique. Cette augmentation explique l'optimisation des coefficients de rendement énergétique (R1 et R2) qui rend compte d'une amélioration de l'efficacité musculaire. Parallèlement, cet effet bénéfique est confirmé par une récupération métabolique plus rapide du contenu initial en PCr. Cette accélération reflète une hyperactivation du métabolisme mitochondrial.

Compte-tenu de l'hétérogénéité chronologique de ces effets, l'analyse comparative prenant en compte chaque

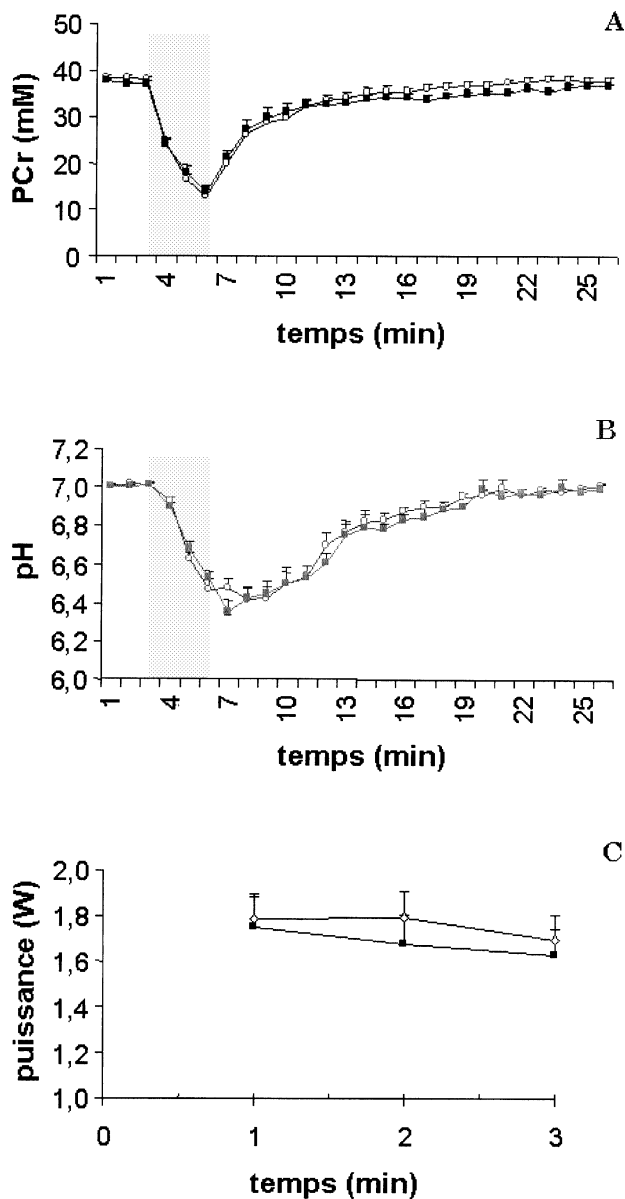


Figure 2. Déroulement temporel du contenu en PCr (A) et du pH (B) au cours des phases de repos, d'exercice (zone grisée) et de récupération. Le déroulement temporel de la puissance développée pendant la phase d'exercice est présentée sur la figure C. Les résultats présentés correspondent aux moyennes \pm SE. Les données enregistrées à J-7 et à J0 sont respectivement représentées par les carrés noirs et les cercles blancs.

jour de traitement ne met en évidence que des tendances qui demeurent à la limite de la significativité statistique. Cette hétérogénéité met en évidence que l'effet du malate de citrulline est sujet-dépendant.

Nous avons choisi de réduire le nombre d'occurrences pour le facteur «durée du traitement» pour n'en

retenir que trois correspondant à avant, pendant et après le traitement. Les occurrences «avant», «pendant» et «après» correspondent respectivement aux valeurs optimum (maximum ou minimum) parmi les valeurs mesurées avant, pendant et après le traitement. Les résultats obtenus sont présentés sur la *figure 3*. D'une façon générale, ils confirment les tendances de l'analyse initiale. La prise de malate de citrulline entraîne une diminution du paramètre R2 correspondant à l'étendue de l'acidose rapportée au travail ($R2 = 0,29 \pm 0,03$ unités pH/W avant traitement vs $0,23 \pm 0,02$ unités pH/W pendant le traitement, $p = 0,02$). Cette diminution provient essentiellement d'une augmentation de la puissance développée ($1,7 \pm 0,1$ W avant le traitement vs $2 \pm 0,1$ W pendant le traitement, $p = 0,05$) alors que le pH mesuré en fin d'exercice ne varie pas ($6,57 \pm 0,01$ avant le traitement vs $6,58 \pm 0,01$ pendant le traitement, $p = 0,73$). En d'autres termes, la production anaérobie d'ATP, qui se traduit principalement par une diminution de pH, demeure identique alors que la performance mécanique est augmentée. Considérant, en accord avec des travaux antérieurs [15], que la production énergétique est directement proportionnelle à la puissance développée, on peut supposer que la participation aérobie à la production d'énergie était plus importante pendant le traitement. La cinétique de récupération de PCr qui illustre directement les processus aérobie confirment cette hypothèse. En effet, le traitement est associé à une accélération des processus de récupération de la PCr témoignant d'une amélioration de la production oxydative d'ATP ($V_{\text{rec}} = 16,8 \pm 2,8$ mM PCr/min avant traitement vs $24,1 \pm 3,1$ mM PCr/min pendant le traitement, $p = 0,01$). La *figure 3C* représentant l'évolution du paramètre R2 en fonction du paramètre R1 confirme cette hypothèse. On peut observer qu'à puissance constante, la prise de malate de citrulline s'accompagne d'une diminution de l'étendue de l'acidose intracellulaire (déplacement vers le bas) associée à une diminution de la consommation de PCr (déplacement vers la gauche). Cette diminution de la contribution anaérobie à la production d'ATP est compensée par une augmentation de la production oxydative d'ATP.

Cette étude démontre une amélioration significative de la production aérobie d'ATP au cours des phases d'exercice et de récupération. Cependant, les variations interindividuelles sont importantes parmi les sujets traités, notamment en ce qui concerne l'amélioration des processus aérobie de production énergie au cours des 15 jours de traitement. Cet effet pourrait être associé à l'apport exogène de malate. En effet, le malate tient une place particulière au sein du métabolisme mitochondrial. Il est un des seuls acides à pouvoir franchir librement la barrière mitochondriale. De plus, sa déshydrogénation mitochondriale en oxalo-acétate permet la réduction de NAD qui est transporté vers la chaîne respiratoire mitochondriale productrice d'énergie. Des effets similaires portant sur la

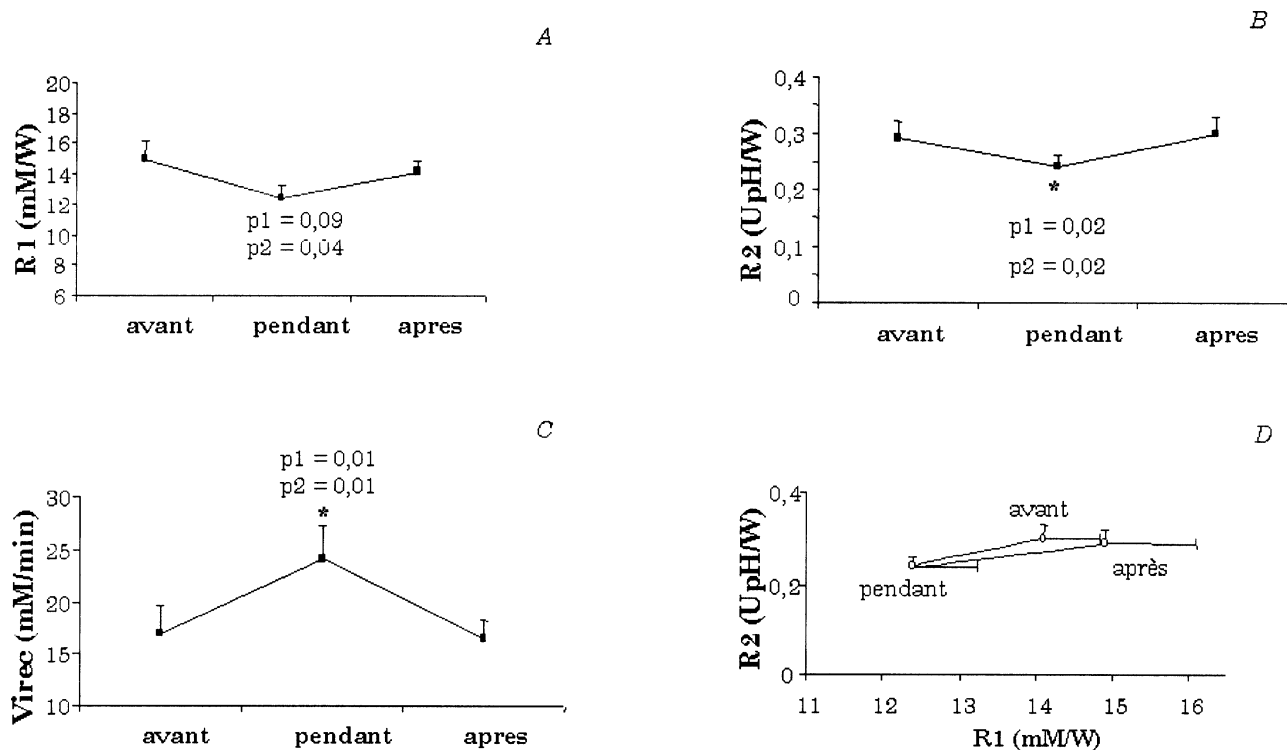


Figure 3. Evolution des paramètres R1 (A), R2 (B) et de la vitesse de récupération de la PCr (Vi rec) (C) avant, pendant et après le traitement. La figure D représente l'évolution corrélée des paramètres R1 et R2. Les résultats présentés correspondent aux moyennes \pm SE. Les astérisques (*) indiquent une différence significative. p1 représente la valeur de p entre les mesures réalisées avant et pendant le traitement, p2 représente la valeur de p entre les mesures réalisées pendant et après le traitement.

production d'acide lactique sérique au cours de l'effort et sur la resynthèse des composés phosphorylés ont été rapportés suite à la prise d'acides aminés intervenant au niveau du cycle de Krebs et donc impliqués dans la production oxydative d'ATP [16]. L'ensemble de ces résultats est en accord avec les effets bénéfiques du malate de citrulline sur les symptômes généraux de fatigue.

RÉFÉRENCES

- Briand J, Astoin J, Lavalmartin D, Calvayrac R, Euglena, As a Cellular-Model Used in Pharmacology For Studying the Effects of Citrulline Malate On Lactate Metabolization. *Comparative Biochemistry and Physiology B - Biochemistry & Molecular Biology* 1986; 85: 553-8.
- Briand J, Blehaut H, Calvayrac R, Lavalmartin D. Use of a Microbial Model For the Determination of Drug Effects On Cell-Metabolism and Energetics - Study of Citrulline-Malate. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* 1992; 13: 1-22.
- Fornaris E, Vanuxem D, Duflo JC, Bernasconi P, Grimaud C. Approche pharmacoclinique de l'activité du malate de citrulline : Étude des taux de lactates sanguins lors d'un exercice musculaire standardisé. *Gazette Médicale* 1984; 91: 1-3.
- Vanuxem D, Duflo JC, Prevot H, Bernasconi P, Blehaut H, Fornaris E, Vanuxem P. Influence of an Anti-Asthenia Agent, Citrulline Malate, On Serum Lactate and Ammonia Kinetics During a Maximum Exercise Test in Sedentary Subjects. *Semaine Des Hôpitaux* 1990; 66: 477-81.
- Creff AF. Controlled double-blind clinical-study against stimol placebo in the treatment of asthenia. *Gazette Médicale De France* 1982; 89: 1926-9.
- Goubel F, Vanhoutte C, Allaf O, Verleye M, Gillardin JM. Citrulline malate limits increase in muscle fatigue induced by bacterial endotoxins. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1997; 75: 205-7.
- Cozzone PJ, Bendahan D. P-31 NMR spectroscopy of metabolic changes associated with muscle exercise: physiopathological applications. *NMR in Physiology and Medicine* 1994; Chap. 23: 389-403.
- Erkintalo M, Bendahan D, Mattéi JP, Fabreguettes C, Vague P, Cozzone PJ. Reduced metabolic efficiency of skeletal muscle energetics in hyperthyroid patients evidenced quantitatively by in vivo 31-P MRS. *Metabolism* 1998; 47: 769-76.
- Bendahan D, Confortgouny S, Kozakribbens G, Cozzone PJ. 31-P Nmr characterization of the metabolic anomalies associated with the lack of glycogen-phosphorylase activity in human forearm muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1992; 185: 16-21.
- Lodi R, Taylor DJ, Tabrizi SJ, Kumar S, Sweeney M, Wood NW, Styles P, Radda GK, Schapira A. In vivo skeletal muscle mitochon-

- drial function in lebers hereditary optic neuropathy assessed by p-31 magnetic resonance spectroscopy. *Annals of Neurology* 1997 ; 42 : 573-9.
- 11 Bendahan D, Kozak-Ribbens G, Rodet L, Confort-Gouny S, Cozzzone PJ. Characterization of muscular metabolic anomalies in malignant hyperthermia patients: application to diagnosis. *Anesthesiology* 1998 ; 88 : 96-107.
 - 12 Taylor DJ, Kemp GJ, Thompson CH, Radda GK. Ageing – effects on oxidative function of skeletal muscle in vivo. *Molecular & Cellular Biochemistry* 1997 ; 174 : 321-4.
 - 13 Taylor DJ, Bore PJ, Styles P, Gadian DG, Radda GK. Bioenergetics of intact human muscle. A ³¹P nuclear magnetic resonance study. *Mol Biol Med* 1983 ; 1 : 77-94.
 - 14 Erkinntalo M, Bendahan D, Mattei JP, Fabrguettes C, Vague P, Cozzzone PJ. Reduced metabolic efficiency of skeletal muscle energetics in hyperthyroid patients evidenced quantitatively by in vivo phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy. *Metabolism-Clinical and Experimental* 1998 ; 47 : 769-76.
 - 15 Kemp GJ, Thompson CH, Taylor DJ, Radda GK. ATP production and mechanical work in exercising skeletal muscle: a theoretical analysis applied to ³¹P magnetic resonance spectroscopic studies of dialyzed uremic patients. *Magn Reson Med* 1995 ; 33 : 601-9.
 - 16 Gremion G, Pahud P, Gobelet C. Arginine aspartate and muscular activity. *Schweiz Z Sportmed* 1989 ; 37 : 241-6.