



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founder:

- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research article

A. Nesen, P. Semenovykh, K. Savicheva, V. Galchiskaya,
V. Chernyshov, V. Shkapo

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.08

Kidney disorders in patients with type 2 diabetes: The potential role of the A1166C (rs5186) angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism

Government Institution “L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkiv, Ukraine

Citation:

Nesen A, Semenovykh P, Savicheva K, Galchiskaya V, Chernyshov V, Shkapo V. Kidney disorders in patients with type 2 diabetes: The potential role of the A1166C (rs5186) angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism. *Ukr J Nephrol Dialys.* 2025;1(85):55-65. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.08.

Abstract. *The study aimed to identify a possible association between the A1166C (rs5186) polymorphism of the AT1R gene and markers of kidney function in patients with type 2 diabetes and nephropathy.*

Methods. *The study involved 194 patients with DN: 108 women and 86 men. The patients' ages ranged from 43 to 80 years, with an average age of (56.32±3.21) years. The control group consisted of 48 healthy individuals. Deoxyribonucleic acids (DNA) were extracted from blood using a standard method with the “NeoPrep50” reagent kit (Neogen, Ukraine) according to the manufacturer's instructions. Genotyping of the A1166C (rs5186) polymorphism of the AT1R gene was performed using TaqMan technology with the TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix and TaqMan® SNP Assay kits. Statistical analysis of genetic associations was conducted using the SNP Stats program.*

Results. *Data analysis using SNPStats revealed a significant difference in genotype and allele frequencies of the studied polymorphism in the group of patients with diabetic nephropathy (DN) compared to the control group, corresponding to: Codominant inheritance model: OR 0.31 (0.12–0.81); p=0.044; Dominant inheritance model: OR 0.36 (0.15–0.89); p=0.024; Overdominant inheritance model: OR 0.32 (0.12–0.80); p=0.012. Patients with DN who carried the C/C genotype of the rs5186 polymorphism of the AT1R gene demonstrated significantly higher levels of creatinine (130.60 [46.44–214.76] mg/L), urea (12.44 [2.55–27.43] mg/L), and lower glomerular filtration rate (GFR) (54.20 [25.19–83.21] mL/min/1.73m²) compared to heterozygous A/C and homozygous A/A carriers. Patients with DN homozygous for the C allele of the AT1R gene had significantly higher urinary albumin levels (110.35 [12.81–233.50] µg/mL) compared to A/C heterozygotes (49.99 [22.41–77.58] µg/mL). The highest albumin-to-creatinine ratio in urine was observed in DN patients homozygous for the C allele of the AT1R gene (0.59 [0.08–1.10]), compared to A/C heterozygotes (0.44 [0.16–0.72]), p<0.05, and A/A homozygotes (0.27 [0.19–0.35]), p<0.05.*

Conclusions. *Patients with DN who are homozygous for the C allele of the AT1R gene exhibit significantly higher levels of creatinine, urea, urinary albumin, and the albumin-to-creatinine ratio, as well as lower GFR, compared to A/C heterozygotes (p<0.05) and A/A homozygotes. These findings demonstrate the unequivocally negative impact of the C allele on kidney functional status in this patient group.*

Keywords: *Diabetic nephropathy, angiotensin II type 1 receptor gene, diabetes mellitus.*

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

© A. Nesen, P. Semenovykh, K. Savicheva, V. Galchiskaya, V. Chernyshov, V. Shkapo, 2025.

Correspondence should be addressed to Andriy Nesen: nesen.andr@gmail.com



Article history:

Received January 8, 2025

Received in revised form

February 02, 2025

Accepted February 04, 2025

© Несен А., Семенових П., Савічева К., Гальчінська В., Чернишов В., Шкапо В., 2025

УДК: 616.61:616.379-008.64

А. Несен, П. Семенових, К. Савічева, В. Гальчінська, В. Чернишов, В. Шкапо

Ниркові порушення у хворих на цукровий діабет 2 типу: потенційна роль поліморфізму A1166C (rs5186) гена рецептора ангіотензину II типу 1

Державна установа „Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої
НАМН України”, м. Харків, Україна

Резюме. *Мета роботи:* виявити можливий зв'язок між поліморфізмом A1166C (rs 5186) гена рецептора ангіотензину II типу 1 (AT1R) і показниками функціонального стану нирок у хворих на цукровий діабет 2 типу з нефропатією.

Методи. Обстежено 194 хворих на ДН: 108 жінок та 86 чоловіків. Вік хворих коливався від 43 до 80 років та становив в середньому (56,32±3,21) роки. Контрольну групу склали 48 здорових осіб. Дезоксирибонуклеїнової кислоти виділяли з крові стандартним методом з використанням набору реагентів «NeoPrep50» («Неоген», Україна) згідно інструкції виробника. Генотипування поліморфізму A1166C (rs 5186) гена AT1R проводили за технологією TaqMan із застосуванням набору Taq-Man® Fast Universal PCR Master Mix та TaqMan® SNP Assay. Статистичний аналіз генетичних асоціацій проводився з використанням програми SNP Stats.

Результати. Аналіз даних за SNPStats продемонстрував вірогідну різницю у частоті зустрічальності генотипів та алелей досліджуваного поліморфізму в групі хворих з ДН в порівнянні з контролем, що відповідає: кодомінантній моделі успадкування ВШ 0,31 (0,12-0,81); $p=0,044$; домінантній моделі успадкування 0,36 (0,15-0,89); $p=0,024$; над-домінантній моделі успадкування 0,32 (0,12-0,80); $p=0,012$. Встановлено, що у хворих на ДН - носіїв С/С генотипу поліморфізму rs 5186 гена AT1R, мали місце достовірно вищі показники креатиніну 130,60 [46,44-214,76] мг/л, сечовини - 12,44 [2,55-27,43] мг/л, також нижчу ШКФ - 54,20 [25,19-83,21] мл/хв/1,73м², порівняно з гетерозиготами А/С та гомозиготами С/С. Доведено, що хворі на ДН, гомозиготні за алелем С гена AT1R, мають достовірно вищі рівні альбуміну сечі (110,35 [12,81-233,50] мкг/мл), порівняно з гетерозиготами А/С (49,99 [22,41-77,58] мкг/мл). Найвищий рівень співвідношення альбумін/креатинін сечі у хворих на ДН було визначено у гомозигот С алелі гена AT1R (0,59 [0,08-1,10]), порівняно з гетерозиготами А/С (0,44 [0,16-0,72]), $p<0,05$ та гомозиготами А/А (0,27 [0,19-0,35]), $p<0,05$.

Висновки. Хворі на ДН, гомозиготні за алелем С гена AT1R, мають достовірно вищі показники креатиніну, сечовини, рівні альбуміну сечі та співвідношення альбумін/креатинін сечі, а також нижчу ШКФ порівняно з гетерозиготами А/С та гомозиготами А/А. Ймовірно, наявність в генотипі С алелі може вважатися несприятливим фактором щодо погіршення фільтраційної функції нирок у пацієнтів з ЦД2 типу.

Ключові слова: діабетична нефропатія, ген рецептора ангіотензину II типу 1, цукровий діабет.

Вступ. Хронічна хвороба нирок (ХХН) є глобальною медико-соціальною та економічною проблемою внаслідок значної поширеності в популяції, високої смертності від серцево-судинних захворювань та необхідності високо витратних методів лікування термінальної стадії ХХН (діаліз, трансплантація нирки) [1, 2]. Проведені в світі дослідження показали, що провідне місце у структурі ХХН займають не первинні захворювання нирок, такі як гломерулонефрит, пієлонефрит, полікістозна хвороба нирок, а вторинні нефропатії при метаболічних порушеннях, зокрема, при цукровому діабеті (ЦД).

Діабетична нефропатія (ДН) або діабетична хвороба нирок - одне з специфічних мікросудин-

них ускладнень, яке характеризується розвитком дифузного або вузликового гломерулосклерозу та розвивається приблизно у 40% пацієнтів на ЦД 2 типу та є провідною причиною ХХН [3]. За даними досліджень, значна частина ризику смерті від усіх причин та серцево-судинних подій у хворих на ЦД пов'язана саме з ДН [4].

В цілому проведені в світі дослідження дозволяють розглядати пацієнтів з ДН, як когорту, яка потребує постійного медичного нагляду та суттєвих економічних витрат.

З іншого боку, поширеність нефропатій може бути обумовленою як погіршенням екологічних умов, так і іншими антропогенними й техногенними факторами. В цьому зв'язку слід очікувати, що воєнний конфлікт, в якому наразі перебуває наша держава, безумовно вплине як на частоту, так і на прогресування ХХН.

В зв'язку з цим, виявлення ранніх діагностичних маркерів схильності до розвитку ниркових уражень представляє великий клінічний інтерес через можливість прогнозування перебігу, виділення та

Андрій Несен
nesen.andr@gmail.com

спостереження за групами підвищеного ризику ще на доклінічному етапі, коли ураження нирок можуть бути зворотними, а також, перспективні патогенетичні ланки для покращення ефективності нефропротекторної терапії.

Як свідчать світові наукові джерела, профілактику ниркових та серцево-судинних уражень в першу чергу пов'язують зі зниженням впливу факторів ризику [5]. Традиційні фактори ризику добре вивчені, і розроблені рекомендації щодо їх корекції. У той же час має місце досить велика різниця в ступені впливу цих факторів на кожного індивіда. Пошуки схильності до патології нирок та серцево-судинної системи і взаємозв'язку таких чинників, як гіперглікемія, артеріальна гіпертензія, альбумінурія, дисліпідемія, з розвитком захворювання належать сфері генетичних досліджень.

Серед генетичних поліморфізмів, пов'язаних з розвитком як ниркової, так і серцево-судинної патології, виділяють гени, які регулюють ліпідний обмін, реологічні властивості крові, запальні реакції, антиоксидантну систему, ренін-ангіотензин-альдостеронову систему (РААС) та ін. [6].

Встановлення асоціації поліморфізму гена з захворюванням та подальша оцінка індивідуального генетичного ризику мають важливе значення для розробки диференційованого підходу до профілактики та лікування даної патології та її ускладнень в залежності від спадкової схильності конкретного пацієнта. Тому в даний час одним з найбільш прогресивних підходів є розробка стратегії ранньої діагностики, прогнозування та превентивної терапії хвороби з використанням генетичних маркерів.

В цьому зв'язку, безумовний інтерес представляють дослідження, присвячені вивченню ролі поліморфізму гена рецептора ангіотензину II типу I (*AT1R*) в розвитку ДН.

Встановлено, що *AT1R* знаходиться переважно в нирках і гладких м'язах судин та відіграє суттєву роль у перебігу ниркової патології. *AT1R* - це G-білковий рецептор, лігандом якого є ангіотензин II. Активація *AT1R* ангіотензином II супроводжується посиленням проліферації, вазоконстрикцією та клітинними ефектами. На теперішній час було ідентифіковано декілька поліморфізмів гена *AT1R*, з яких поліморфізм A1166C (rs 5186) є найбільш вивченим. Слід зазначити, що поліморфізм A1166C гена *AT1R* пов'язаний із посттрансляційною модифікацією мРНК даного рецептора.

В дослідженнях останніх років продемонстровано асоціацію поліморфізму A1166C з есенціальною гіпертензією, гіпертрофією лівого шлуночка, інфарктом міокарда, потовщенням інтими сонної артерії та інсультом в обмеженій кількості популяцій [7, 8]. Встановлено, що у носіїв мутантного алеля С має місце більш суттєве підвищення фільтраційної фракції клубочків нирок у відповідь на інфузію ангіотензину II у порівнянні з носіями А алеля [9]. Передбачається, що наявність алеля С в

генотипі може сприяти розвитку гломерулярної гіперфільтрації, ранньої класичної ознаки початкової стадії ХХН.

У кількох попередніх дослідженнях вивчалась роль поліморфізму гена *AT1R* в етіології діабетичної хвороби нирок, проте вони показали суперечливі результати [10, 11, 12, 13]. Непослідовні висновки в роботах пояснюються генетичним різноманіттям і етнічною приналежністю різних груп населення. Велика кількість міжнародних досліджень свідчить про невпинний науковий пошук генетичних маркерів уражень нирок у хворих на цукровий діабет 2 типу, а визначення поліморфізму гена *AT1R* з нефропатією може стати надійним інструментом для виділення групи ризику по розвитку та важкому перебігу діабетичної нефропатії.

Таким чином, в основу даного дослідження ми поклали гіпотезу про існування асоціації між поліморфізмом A1166C (rs 5186) гена *AT1R* та ураженням нирок в українській когорті хворих на ДН.

Мета роботи: виявити можливий зв'язок між поліморфізмом A1166C (rs 5186) гена *AT1R* і показниками функціонального стану нирок у хворих на цукровий діабет 2 типу з нефропатією.

Пацієнти та методи. *Дизайн дослідження.* Дослідження проводились у відділі профілактики та лікування хвороб нирок при коморбідних станах на базі клінічного відділення ускладнень артеріальних гіпертензій та коморбідних станів ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої Національної Академії медичних наук України». Протокол дослідження (№11 від 18 грудня 2024 р.) ухвалено комісією з питань етики та деонтології при ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої Національної Академії медичних наук України». Всі пацієнти були проінформовані та дали згоду на участь у дослідженні. Дослідження виконані згідно міжнародних стандартів щодо погодженої участі обстежених, етичної складової виконання досліджень та взяття біоматеріалу.

Пацієнти. В процесі виконання обсерваційного одномоментного дослідження обстежено 194 хворих на ДН, які перебували на лікуванні в клініці ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України». Вік хворих коливався від 43 до 80 років та становив в середньому (56,32±3,21) роки. Серед хворих на ДН було 108 жінок та 86 чоловіків. Контрольну групу склали 48 здорових осіб.

Збір даних. План обстеження включав: вивчення антропометричних показників; лабораторні дослідження (клінічні аналізи крові та сечі); визначення функціонального стану нирок шляхом розрахунку швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) за формулою ЕРІ [14]; дослідження альбумінурії; визначення параметрів вуглеводного обміну та ліпідного спектру крові; електрокардіографія; ехокардіографія. Діагноз ДН встановлювали за класифікацією С.Е. Mogensen, яка орієнтована на виявлення ранніх стадій захворювання [15].

Дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК) виділяли з крові стандартним методом з використанням набору реагентів «NeoPrep50» («Неоген», Україна) згідно інструкції виробника. Генотипування поліморфізму A1166C (rs 5186) гена *AT1R* проводили за технологією TaqMan (алель-специфічна полімеразна ланцюгова реакція з детекцією результату в реальному часі) із застосуванням набору Taq-Man® Fast Universal PCR Master Mix та TaqMan® SNP Assay. Ампліфікацію проводили за допомогою «Системи детекції продуктів ПЛР в реальному часі CFX96 Touch (BioRad, США). Для алельної дискримінації використовували програмне забезпечення CFX Manager Software (США).

Зразки ДНК, що підлягали аналізу, вносили до стрипованих пробірок із готовою ампліфікаційною сумішшю згідно рекомендованої схеми. До кожної постановки включали, окрім зразків ДНК, негативні контролю та позитивні контрольні зразки – гомозиготу за алелем 1, гетерозиготу та гомозиготу за алелем 2 для кожного з досліджуваних поліморфізмів. У якості єдиного негативного контролю використовували розріджувач. Стрипи ретельно закривали кришками, струшували, центрифугували 3-5 сек. при 1500-3000 об/хв. на мікроцентрифугі – вортексі та розташовували на плашці ампліфікатора згідно протоколу дослідження.

Для зчитування плашки обирали канали: HEX – алель 1 та FAM – алель 2. Генотипування зазначених поліморфізмів проводили з використанням програмного забезпечення CFX Manager Software за аналізом порогового циклу (вкладка Quantification) або аналізом дискримінації алелей (вкладка Allelic discrimination).

Ампліфікація виключно за каналом HEX свідчила про гомозиготний генотип за алелем 1, за каналами FAM та HEX – про гетерозиготний генотип, виключно за каналом FAM – про гомозиготний генотип за алелем 2 для кожного з поліморфних сайтів. Результат вважали позитивним при C_q менше 35.

Критеріями включення пацієнтів були: наявність ЦД 2 типу, підписання інформованої згоди на участь у дослідженні. Критеріями виключення пацієнтів були: вік менше 18 років, вагітні жінки, хворі з декомпенсацією ЦД, наявність первинної патології нирок (сечокам'яна хвороба, інфекції вивідних шляхів, уроджені аномалії нирок), термінальна стадія ниркової недостатності, тяжкі захворювання печінки, злоякісні новоутворення, захворювання системи крові, відсутність інформованої згоди.

Статистичний аналіз. Статистичний аналіз генетичних асоціацій проводився з використанням програми SNP Stats. Для порівняння виявлених і очікуваних частот генотипів розраховували рівновагу Харді-Вайнберга за критерієм χ^2 з одним ступенем свободи. Для оцінки ризику,

пов'язаного з тим чи іншим алелем або генотипом, розраховувалося відношення шансів (ВШ) і 95% довірчий інтервал (ДІ). Розрахунок ВШ проводився відповідно з п'ятьма відомими моделями успадкування (кодомінантна, доміантна, рецесивна, наддомінантна і лог-адитивна). Вибір найбільш імовірної моделі проводився відповідно до інформаційного критерію Акаїке (AIC); модель з найменшим значенням AIC визначалася як найбільш ймовірна.

Статистичну обробку проводили з використанням пакетів програм IBM®SPSS® Statistics 23.0. Перевірку нормальності розподілу показників здійснювали за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Різницю між групами в сукупностях з нормальним розподілом визначали за допомогою критерію Стьюдента. В групах, які не відповідали нормальному розподілу, кількісні показники в незв'язаних вибірках порівнювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні. Дані наведені як середні величини та їх похибки ($M \pm SD$) за нормального розподілу даних та як медіана (Me) й інтерквартильний діапазон (Q_{25} - Q_{75}) за розподілу, відмінного від нормального. Різницю між значеннями вважали статистично достовірною за рівня критерію значущості $p < 0,05$.

Результати. Як показали результати молекулярно-генетичного дослідження, розподіл генотипів поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* відповідав рівновазі Харді-Вайнберга в усіх досліджених групах та суттєво не відрізнявся від європейських популяцій.

У хворих на ДН розподіл генотипів був наступним: А/А – 35%, А/С – 59,8% і С/С – 5%. Розподіл алельних варіантів в даній групі становив: алель А – 65%, алель С – 35%. Для групи контролю характерним був наступний розподіл генотипів та алелів: А/А – 60%, А/С – 32% і С/С – 8%, алель А – 76%, алель С – 24%. Частотний розподіл алелів досліджуваного поліморфізму гена *AT1R* серед усіх досліджуваних зразків становив: А/А – 40%, А/С – 54% і С/С – 6%, алель А – 67%, алель С – 33%. Подібний розподіл відповідає частоті, характерній для європейської популяції за даними численних авторів.

Аналіз даних за допомогою онлайн програми SNPStats продемонстрував вірогідну різницю у частоті зустрічальності генотипів та алелів досліджуваного поліморфізму в групі хворих з ДН в порівнянні з контролем, що відповідає: кодомінантній моделі успадкування ВШ 0,31 (0,12-0,81); $p=0,044$; доміантній моделі успадкування 0,36 (0,15-0,89); $p=0,024$; над-домінантній моделі успадкування 0,32 (0,12-0,80); $p=0,012$.

З огляду на різницю в регуляції метаболізму в залежності від статі було проведено дослідження гендерних особливостей розподілу частот алельних варіантів та генотипів досліджуваного поліморфізму гена *AT1R* у хворих на ДН (табл. 1).

Таблиця 1

Частотний розподіл генотипів і алелей поліморфізму rs 5186 A1166C гена *AT1R* в залежності від статі

Група		Генотип, %			Частота зустрічаємості, %	
		A/A	A/C	C/C	A	C
Жінки	ДН	38,9	55,6	5,5	66,7	33,3
	Контроль	53,8	38,5	7,7	73,1	26,9
Чоловіки	ДН	30,2	65,1	4,7	67,8	32,2
	Контроль	66,7	25,0	8,3	79,2	20,8

Примітки: ДН – діабетична нефропатія

Серед жінок, хворих на ДН зустрічальність генотипу А/А поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* становила 38,9%, А/С – 55,6% і С/С – 5,5%. Алель А виявлялася у 66,7% пацієнтів, алель С – у 33,3%. У чоловіків, хворих на ДН розподіл генотипів був наступним: А/А – 30,2%, А/С – 65,1% і С/С – 4,7%. Розподіл алелів в даній групі пацієнтів становив: алель А – 67,8%, алель С – 32,2% (табл. 1).

ентів становив: алель А – 67,8%, алель С – 32,2% (табл. 1).

Виходячи з даних, наведених у таблиці 2, у чоловіків з ДН ризик наявності гетерозиготного А/С генотипу поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* в 2,9 рази більший, ніж у групі контролю (за домінантною моделлю успадкування ВШ 0,24 (0,06-0,77); $p=0,05$).

Таблиця 2

Відношення шансів у хворих на ДН, носіїв різних генотипів гена *AT1R* в залежності від статі

Стать	Поліморфізм rs 5186 гена <i>AT1R</i>	ВШ (95%) ДН до контролю
Жінки	A/A	1,00
	A/C	0,50 (0,14-1,79)
	C/C	1,00 (0,09-11,24)
Чоловіки	A/A	1,00
	A/C	0,24 (0,04-0,77)*
	C/C	0,81 (0,06-10,48)

Примітки: ДН – діабетична нефропатія

*- різниця була достовірною, $p<0,05$

При дослідженні частотного розподілу алелів поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* виявлено, що серед пацієнтів з ХХН III ст. генотип А/С значно частіше виявлявся у чоловіків, порівняно з жінками (ВШ – 3,33 (1,51-222,89), $p<0,05$).

З метою кращого розуміння механізмів асоціації поліморфізму rs 5186 A1166C гена *AT1R* з

розвитком та прогресуванням ДН, а також з серцево-судинними ускладненнями, у відібраних хворих були оцінені основні клінічні та біохімічні параметри в залежності від генотипу досліджуваного гена: А/А, А/С та С/С. Отримані дані представлено в таблиці 3.

Таблиця 3

Основні клінічні характеристики та лабораторні параметри в групах обстежених ($M \pm m$ або $Me [Q1-Q3]$)

Показник	Генотип <i>AT1R</i>			P	
	A/A (n=68)	A/C (n=116)	C/C (n=10)		
1	2	3	4	5	
Стать, %	чол.	26 (30,2%)	56 (65,1%)	4 (4,7%)	
	жін.	42 (38,9%)	60 (55,6%)	6 (5,5%)	
Вік, роки	63,24 [59,15-67,33]	61,40 [55,77-67,03]	61,00 [47,44-76,56]		
Індекс маси тіла, кг/м ²	31,23 [29,89-32,59]	31,04 [29,47-32,61]	34,08 [20,51-47,64]		
Глюкоза крові, ммоль/л	8,80 [7,24-10,36]	6,98 [6,12-7,83]	8,79 [6,29-11,29]		

Продовження таблиці 3

Показник	Генотип <i>AT1R</i>			P
	A/A (n=68)	A/C (n=116)	C/C (n=10)	
1	2	3	4	5
Креатинін, мкмоль/л	91,26 [84,26-98,26]	93,50 [75,09-111,91]	130,60 [46,44-214,76]	$p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
Сечовина, ммоль/л	7,90 [6,97-8,82]	7,47 [6,13-8,81]	12,44 [2,55-27,43]	$p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
ШКФ, мл/хв/1,73м ²	69,61 [63,06-76,15]	73,60 [63,17-84,03]	54,20 [25,19-83,21]	$p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
Альбумін сечі, мг/л	30,42 [19,53-41,31]	49,99 [22,41-77,58]	110,35 [12,81-233,50]	$p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
Креатинін сечі, мкмоль/л	113,02 [97,37-128,67]	144,49 [96,26-192,71]	150,36 [51,46-249,26]	
Співвідношення альбумін/креатинін, мг/г	0,27 [0,19-0,35]	0,44 [0,16-0,72]	0,59 [0,08-1,10]	$p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
Сечова кислота	390,93 [331,22-390,65]	506,61 [221,60-791,62]	312,75 [168,17-457,33]	$p_{2-3} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$

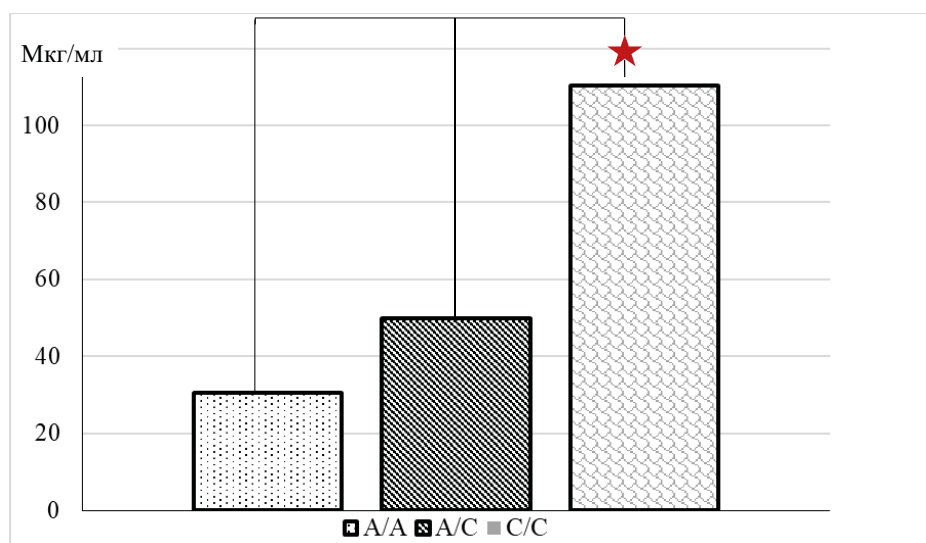
Примітки: ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

Як видно з наведених в таблиці 3 даних, хворі на ДН в залежності від генотипу поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* були співставними за віком та статтю. Хворі з генотипом C/C гена *AT1R* мали вищі рівні індексу маси тіла порівняно з гомозиготами A/A та гетерозиготами A/C досліджуваного поліморфізму, хоч ці зміни і не були достовірними.

При дослідженні показників функціонального стану нирок визначено, що у хворих на ДН - носіїв C/C генотипу поліморфізму rs 5186 гена *AT1R*, мали місце достовірно вищі показники креатиніну 130,60 [46,44-214,76] мг/л, сечовини - 12,44 [2,55-27,43] мг/л, також нижчу ШКФ - 54,20 [25,19-83,21] мл/хв/1,73м², порівняно з гетерозиготами A/C, $p < 0,05$ та гомозиготами C/C, $p < 0,05$. У хворих на ЦД 2 типу з ДН з A/A генотипом гена *AT1R* рівні досліджуваних показників становили: креатинін 91,26 [84,26-98,26] мкмоль/л, сечовина - 7,90 [6,97-8,82]

ммоль/л, ШКФ - 69,61 [63,06-76,15] мл/хв/1,73м². У хворих на ДН, носіїв гетерозиготного A/C генотипа досліджуваного гена рівні креатиніну становили 93,50 [75,09-111,91] мкмоль/л, сечовина - 7,47 [6,13-8,81] ммоль/л, ШКФ - 73,60 [63,17-84,03] мл/хв/1,73м² (табл. 3). Виходячи з отриманих результатів, наявність в генотипі C алелі поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* може вважатися несприятливим фактором щодо погіршення фільтраційної функції нирок у даної категорії пацієнтів.

В дослідженні було встановлено, що хворі на ДН, гомозиготні за алелем C гена *AT1R*, мають достовірно вищі рівні альбуміну сечі (110,35 [12,81-233,50] мкг/мл), порівняно з гетерозиготами A/C (49,99 [22,41-77,58] мкг/мл), $p < 0,05$ та гомозиготами A/A (30,42 [19,53-41,31] мкг/мл), $p < 0,05$, що демонструє беззаперечний негативний вплив на перебіг ДН у цієї категорії хворих (рис. 1).

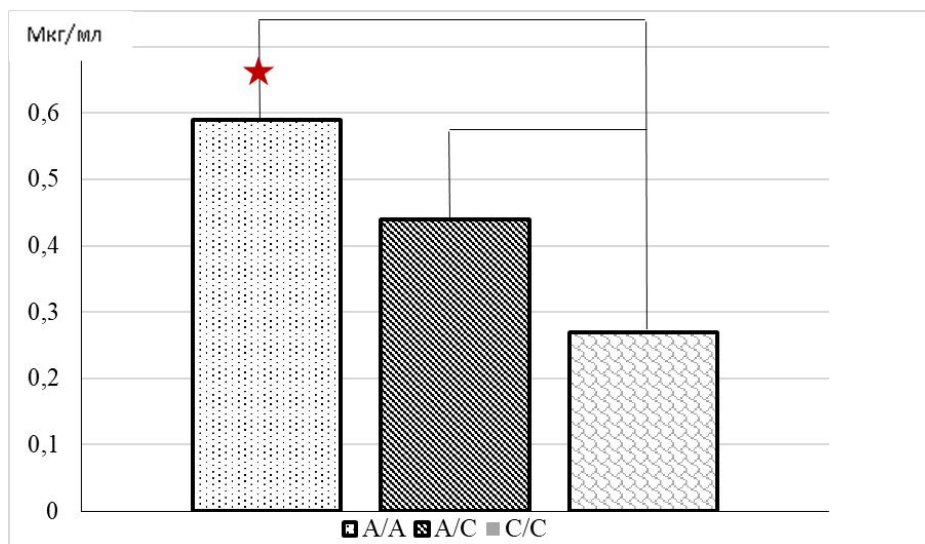


Примітка. ★ - $p < 0,05$

Рис.1. Рівень альбуміну сечі у хворих на ДН в залежності від поліморфного варіанту rs 5186 гена *AT1R*.

Під час визначення креатиніну сечі у хворих на ДН, носіїв С/С генотипу гена *AT1R* виявлено вищі рівні показника (150,36 [51,46-249,26] мкмоль/л), порівняно з носіями А/А генотипу (113,02 [97,37-128,67] мкмоль/л) та А/С генотипу – (144,49 [96,26-192,71] мкмоль/л), хоча ці зміни не були достовірними.

Найвищий рівень співвідношення альбумін/креатинін сечі у хворих на ДН було визначено у гомозигот С алелі гена *AT1R* (0,59 [0,08-1,10]), порівняно з гетерозиготами А/С (0,44 [0,16-0,72]), $p < 0,05$ та гомозиготами А/А (0,27 [0,19-0,35]), $p < 0,05$, що свідчить про гірший функціональний стан нирок у даної категорії пацієнтів (рис. 2).



Примітка. ★ - $p < 0,05$

Рис. 2. Співвідношення альбумін/креатинін сечі у хворих на ДН в залежності від поліморфного варіанту rs 5186 гена *AT1R*.

Під час порівняння хворих на ДН, носіїв різних поліморфних варіантів rs 5186 гена *AT1R*, за стадіями ДН, рівнем креатиніну та ШКФ у хворих, які мали С/С генотип досліджуваного поліморфізму

визначалися більш суттєві прояви ураження нирок, а саме 60% хворих мали ШКФ < 60 мл/хв/1,73м². Наглядне зображення отриманих результатів представлено на рис. 3.

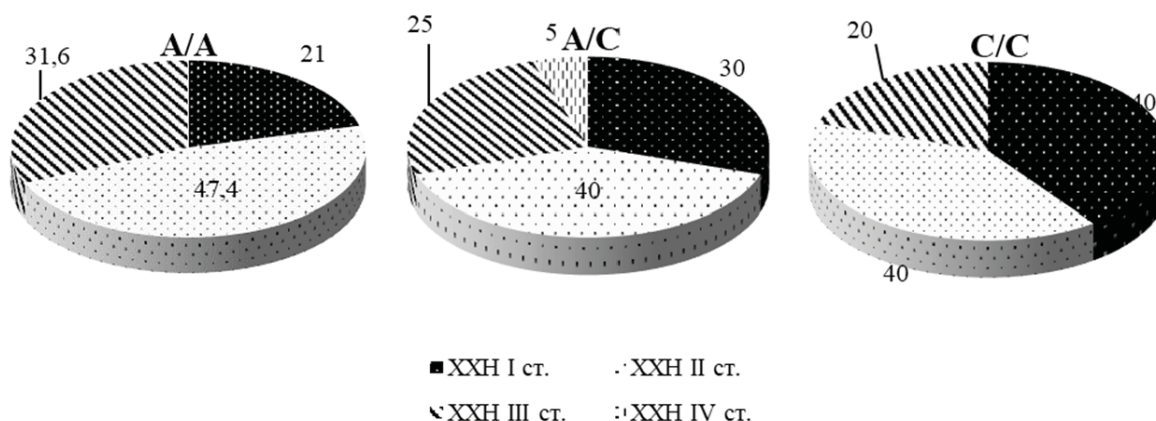


Рис. 3. Ступінь ураження нирок у хворих на ДН, носіїв різних поліморфних варіантів rs5186 гена *AT1R*.

При дослідженні розподілу хворих за стадіями ХХН було виявлено, що у носіїв А/А генотип гена *AT1R* ХХН I ст. визначалась у 21,0% випадків, ХХН II ст. – у 47,4%, ХХН III ст. – 31,6%; у хворих з А/С

генотипом гена *AT1R*: ХХН I ст. визначена у 30,0%, ХХН II ст. у 40,0%, ХХН III ст. у 25,0%, а ХХН IV ст. у 5,0% пацієнтів. У носіїв гомозиготного з С алелю генотипа С/С визначався наступний розподіл:

ХХН II ст. - 40,0%, ХХН III ст. - 40,0%, а ХХН IV ст. - 20,0% пацієнтів.

Обговорення. Проведене нами дослідження розширює уявлення про генетичну детермінованість ниркових ускладнень у хворих на ЦД 2 типу. Зокрема, отримані результати демонструють зв'язок між поліморфізмом А1166С гена *AT1R* і показниками функціонального стану нирок у цієї категорії хворих. Уперше в українській когорті пацієнтів було проведено аналіз асоціації поліморфних варіантів гена *AT1R* з ренальними складовими фенотипу хворих на ЦД 2 типу. При виконанні дослідження нами було встановлено, що у хворих на ЦД 2 типу, носіїв С/С генотипу поліморфізму rs5186 гена *AT1R*, мають місце достовірно вищі показники альбумінурії, також нижча ШКФ, порівняно з гетерозиготами А/С та гомозиготами А/А. Ми передбачаємо, що наявність в генотипі С алелі може вважатися несприятливим фактором щодо погіршення фільтраційної функції нирок у даній категорії пацієнтів. Обговорюючи ймовірні механізми виявленої асоціації гена *AT1R* з погіршенням функціонального стану нирок у хворих на ЦД 2 типу, варто урахувати фенотипову схожість залучених в дослідження пацієнтів за такими ознаками, як ожиріння і гіперглікемія (табл. 3), котрі також виступають потужними чинниками стимуляції експресії гена *AT1R* і активності рецепторів до ангіотензину II 1-го типу [16,17]. В умовах ожиріння, гіперглікемії та наявності в генотипі алеля С А1166С поліморфізму гена *AT1R*, імовірно, відбувається активація РААС, яка через ангіотензин II в тканині нирок спричиняє гіперфільтрацію, оксидативний стрес, тромбоз, ендотеліальну дисфункцію, запалення та судинне ремоделювання, котрі виступають в якості важливих патофізіологічних механізмів, асоційованих зі зниженням ШКФ. Внаслідок активації РААС нирковий ангіотензин II бере участь у перетворенні епітеліальних клітин в мезенхімальні, в подальшому сприяючи фібротичним змінам ниркової тканини в умовах «гіперглікемічного зовнішнього середовища». Вазоконстрикторні ефекти ангіотензину II як системні, так і внутрішньоклубочкові, прискорюють ці зміни. Все це свідчить про безпосередню участь ангіотензину II і його рецептора 1-го типу у розвитку ДН у пацієнтів із ЦД 2 типу [16, 18]. Наявність алеля С зазвичай асоціюється з високим рівнем експресії гена *AT1R* або з підвищеною чутливістю відповідних рецепторів, які він кодує, до ангіотензину II. Адитивний ефект алеля С найбільш яскраво проявляється при генотипі С/С у порівнянні з генотипом А/С. Припускають, що більш виражена дія ангіотензину II, котра пов'язана з наявністю в генотипі алеля С, особливо в гомозиготному стані, підвищує уразливість ниркової тканини до патологічних ефектів гіперглікемії через погіршення системної і/або ренальної гемодинаміки, чи внаслідок порушення функції ренальних клітин [18]. Отже, реалі-

зація асоціації алеля С А1166С поліморфізму гена *AT1R* з погіршенням фільтраційної функції нирок у залучених в дослідження пацієнтів із ЦД 2 типу, ймовірно, відбувається через активацію РААС, яка додатково посилюється існуючими метаболічними розладами (інсулінорезистентність, гіперглікемія, ожиріння, дисліпідемія).

Отримані дані співпадають з результатами багатьох досліджень. Підвищена активація РААС пов'язана з прогресуванням ХХН різної етіології, (особливо ДН [19-21], і опосередковується ураженням нирок, викликаним підвищенням АТ [22] та прискореним розвитком фібротичних процесів [23]. Суттєве значення цього патогенетичного механізму прогресування ХХН привернуло увагу дослідників до компонентів РААС, зокрема до *AT1R*. З огляду на вищезазначене, ген *AT1R* можна розглядати як перспективний ген-кандидат для різних фенотипів, пов'язаних із ХХН. Ген *AT1R* можна також розглядати як генетичний біомаркер через його відповідальність за кодування структурних протеїнів рецептора до ангіотензину II 1-го типу. Більш того, різні поліморфізми, локалізовані в ділянці розташування цього гена на 3-й хромосомі людини, асоціюються з ефектами РААС, що пошкоджують структуру і функцію нирок (вазоконстрикція, запалення, водно-електролітний дисбаланс) [16].

За результатами V.N. Shahu індійській популяції наявність С алелю поліморфного варіанту rs 5186 гена *AT1R* була асоційована з розвитком діабетичної нефропатії. Так у пацієнтів, що мали гомозиготний С/С генотип досліджуваного поліморфізму без визначений у 6 разів вищий ризик розвитку ДН [24]. Згідно з результатами мета аналізу, проведеного L.J. Smyth, який включав 3197 осіб із захворюваннями нирок і 3720 контрольних осіб, яким досліджували поліморфізм rs 5186 гена *AT1R*. Було виявлено, що наявність алеля А в цьому локусі забезпечувала менший ризик розвитку ЦД 2 типу та ДХН у популяції Південної Азії ($p=0,001$) [11]. Результати іншого мета-аналізу демонструють достовірно асоціацію поліморфного варіанту rs 5186 гена *AT1R* за домінантним типом успадкування з розвитком ДН у азійській популяції [12]. У дослідженні V.N. Shah була визначена достовірно вища частота зустрічальності С алелі А1166С гена *AT1R* у хворих, які мали ДН порівняно з хворими на ЦД 2 типу без нефропатії та наявності цієї алелі мала достовірну асоціацію з наявністю протеїнурії, як однієї з ознак прогресування ДХН [24]. Ahluwalia та співавтори також виявили асоціацію між алелем С гена *AT1R* і ЦД 2 типу, а також підвищеним ризиком розвитку та прогресування ДН серед індійської популяції [25]. За результатами двох мета аналізів наочно продемонстровано, що С/С генотип поліморфізму А1166С гена *AT1R* може сприяти розвитку ДН, особливо у пацієнтів із ЦД 2 типу, порівняно з А/А генотипом [26, 27]. Наявність цих асоціацій може пояснюватися вищою експресією *AT1R* за наяв-

ності мутантного алеля 1166С гена *AT1R* і вищою спорідненістю варіанту рецептора до ангіотензину II [28]. Однак у кількох дослідженнях не було встановлено асоціації між поліморфізмом А1166С гена *AT1R* і ризиком розвитку ЦД 2 типу або ДН, зокрема, серед тайванської [29] і мексиканської популяції [13]. Непослідовні результати вказують на те що етнічна належність, відмінності у діагностиці ХХН її класифікації, розмір вибірки, взаємодії генів та вплив середовища можуть впливати на результати різних досліджень [30].

Таким чином, були визначені спадкові розбіжності у носіїв різних поліморфних варіантів rs 5186 гена *AT1R* у хворих на ХХН, що можуть обумовлювати перебіг захворювання та розвиток ускладнень у даної категорії пацієнтів. Для підтвердження отриманих результатів, а також подальшого поглиблення наукових знань у розумінні генетичних основ функціональних уражень нирок та перебігу захворювання у даної категорії хворих необхідні подальші дослідження.

Висновки. Уперше в українській когорті пацієнтів було проведено аналіз асоціації поліморфних варіантів гена *AT1R* з ренальними складовими фенотипу хворих на ЦД 2 типу.

В групі хворих з ДН відзначається вірогідна різниця у частоті зустрічальності генотипів та алелів поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* в порівнянні з контролем, що відповідає: кодомінантній моделі успадкування ВШ 0,31 (0,12-0,81); $p=0,044$; домінантній моделі успадкування 0,36 (0,15-0,89); $p=0,024$; над-домінантній моделі успадкування 0,32 (0,12-0,80); $p=0,012$.

У чоловіків з ДН ризик наявності гетерозиготного А/С генотипу поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* в 2,9 рази більший, ніж у групі контролю (за домінантною моделлю успадкування ВШ 0,24 (0,06-0,77); $p=0,05$).

Серед пацієнтів з ХХН III ст. генотип А/С поліморфізму rs 5186 гена *AT1R* значно частіше виявлявся у чоловіків, порівняно з жінками (ВШ – 3,33 (1,51-222,89), $p<0,05$).

У хворих на ДН, носіїв С/С генотипу поліморфізму rs 5186 гена *AT1R*, мають місце достовір-

но вищі показники креатиніну, сечовини, також нижча ШКФ, порівняно з гетерозиготами А/С та гомозиготами С/С, $p<0,05$. Ймовірно, наявність в генотипі С алеля може вважатися несприятливим фактором щодо погіршення фільтраційної функції нирок у даної категорії пацієнтів.

Хворі на ДН, гомозиготні за алелем С гена *AT1R*, мають достовірно вищі рівні альбуміну сечі та співвідношення альбумін/креатинін сечі, порівняно з гетерозиготами А/С, $p<0,05$ та гомозиготами А/А, що демонструє беззаперечний негативний вплив на функціональний стан нирок у цієї категорії хворих.

Визначення поліморфізму гена *AT1R* у хворих на цукровий діабет у типу з нефропатією є надійним інструментом для виділення групи ризику по розвитку та важкому перебігу діабетичної нефропатії та допоможе проводити індивідуалізовану корекцію схеми фармакологічної терапії.

Перспективним напрямком подальших наукових та клінічних досліджень є пошук нових підходів до діагностики, лікування та профілактики кардіоренальних уражень при ЦД 2 типу.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування. Робота виконана в рамках НДР «Розробити методи корекції факторів кардіометаболічного ризику у хворих хронічною хворобою нирок в умовах війни та післявоєнного часу» (реєстраційний номер дослідження 0124U000252).

Інформація про внесок кожного учасника:

А.О. Несен: концепція та дизайн дослідження,

П.С. Семенових: курація пацієнтів, вступ, обговорення, формулювання висновків, оформлення тексту роботи,

В.Ю. Гальчінська: визначення поліморфізму гена *AT1R*, аналіз отриманих даних,

К.О. Савічева: курація пацієнтів, статистичний аналіз отриманих даних, обговорення, оформлення тексту роботи,

В.А. Чернишов: обговорення, аналіз літератури,

В.Л. Шкапо: аналіз літератури, оформлення тексту роботи.

Література (References):

1. Ruiz-Ortega M, Rayego-Mateos S, Lamas S, Ortiz A, Rodrigues-Diez RR. Targeting the progression of chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2020;16(5):269-288. doi: 10.1038/s41581-019-0248-y.
2. Wang V, Vilme H, Maciejewski M, Boulware LE. The Economic Burden of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease. *Semin Nephrol.* 2016;36(4):319-330. doi: 10.1016/j.seminephrol.2016.05.008.
3. Thipsawat S. Early detection of diabetic nephropathy in patient with type 2 diabetes mellitus: A review of the literature. *Diab Vasc Dis Res.* 2021;18(6). doi:10.1177/14791641211058856.
4. Pavkov ME, Collins AJ, Coresh J, Nelson R, Cowie C, Sarah Stark Casagrande S, et al. Kidney Disease in Diabetes. In: *Diabetes in America*. [Internet]. 2018;22:1-84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33651560/>.

5. *Kourtidou C, Stangou M, Marinak S, Tziomalos K.* Novel Cardiovascular Risk Factors in Patients with Diabetic Kidney Disease. *Int J Mol Sci.*2021;22;11196. doi: 10.3390/ijms22011196.
6. *Reilly DF, Breyer MD.* The Use of Genomics to Drive Kidney Disease Drug Discovery and Development. *Clin J Am Soc Nephrol.*2020;15(9):1342-1351. doi: 10.2215/CJN.11070919.
7. *Ali Z, Kusriani I, Shahab A, Saleh I.* Association between A1166C Polymorphism of the Angiotensin II Type-1 Receptor Gene and Type-2 Diabetic Nephropathy in an Indonesian Malay Population. *Acta Med Indones.* [Internet].2018;50(4):314-319. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30630996/>.
8. *Zhuang Y, Niu F, Liu D, Sun J, Zhang X, Zhang J, et al.* Association between AT1R A1166C polymorphism and the susceptibility to diabetic nephropathy: Evidence from a meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(41): e07689. doi: 10.1097/MD.00000000000007689.
9. *Palatini P.* Glomerular hyperfiltration: a marker of early renal damage in pre-diabetes and pre-hypertension. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27(5):1708-14. doi: 10.1093/ndt/gfs037.
10. *Ihsan M, Khan NU, Asim N, Ismail M, Almutairi MH, Ali I, et al.* Significant association of candidate genes (AGTR1 and TGF-1) polymorphism with diabetic nephropathy in diabetes mellitus type 2 patients. *Cell Physiol Biochem.*2024;58:203-11. doi:10.33594/000000702.
11. *Smyth LJ, Canadas-Garre M, Cappa RC, Maxwell AP, McKnight AJ.* Genetic associations between genes in the renin-angiotensin-aldosterone system and renal disease: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2019;9 (4):e026777. doi: 10.1136/bmjopen-2018-026777.
12. *Ahmad N, Jamal R, Shah SA, Gafar AHA, Murad NAA.* Renin-Angiotensin-Aldosterone System Gene Polymorphisms and Type 2 Diabetic Nephropathy in Asian Populations: An Updated Meta-analysis. *Curr Diabetes Rev.* 2019;15(4):263-276. doi: 10.2174/1573399814666180709100411.
13. *Thameem F, Puppala S, Arar N, Blangero J, Stern MP, Duggirala R, et al.* Genetic polymorphisms in the renin angiotensin system (RAS) genes and their association analysis with type 2 diabetes and related traits in Mexican Americans. *Diabetes Res Clin Practice.* 2008;79(2):e14-6. doi: 10.1016/j.diabres.2007.08.025.
14. KDIGO 2022 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney International.* 2022;102(5S):1–127. doi: 10.1016/j.kint.2022.06.008.
15. *Mogensen C.E.* The Diabetic Kidney. New Jersey: Humana Press. 2006; 564 p.
16. *Figueroa MAC, Lujambio IM, Gutierrez TA, Hernández MFP, Ramírez EYE, Guzmán DJ, et al.* Association of the rs5186 polymorphism of the AGTR1 gene with decreased eGFR in patients with type 2 diabetes from Mexico City. *Nefrologia.*2023;43(5):546-61. doi: 10.1016/j.nefro.2022.06.010.
17. *Potaskalova VS, Khaitovych NV, Natrus LV, Abdriakhimova TB, Kleban KI, Lunov VY, et al.* The effect of NOS3 and AGTR1 genotypes on the course of the arterial hypertension for the overweight or obese patients. *Wiad Lek.*2022;75(2):533-39. doi: 10.36740/WLek202202137.
18. *Razi F, Daneshpour MS, Karimoei M, Mehrabzadeh M, Bandarian F, Bahreini E, et al.* AGTR1 rs5186 variants in patients with type 2 diabetes mellitus and nephropathy. *Meta Gene.*2018;15:50-54. doi: 10.1016/j.mgene.2017.11.001.
19. *Remuzzi G, Perico N, Macia M, Ruggenti P.* The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.*2005;68:57-65. doi:10.1111/j.1523-1755.2005.09911.x.
20. *Coll E, Campos B, Gonzalez-Nunez D, Botey A, Poch E.* Association between the A1166C polymorphism of the angiotensin II receptor type 1 and progression of chronic renal insufficiency. *J Nephrol.* [Internet].2003;16:357–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12832734/>.
21. *Bermejo S, Garcia CO, Rodríguez E, Barrios C, Otero S, Mojal S, et al.* The renin-angiotensin-aldosterone system blockade in patients with advanced diabetic kidney disease. *Nefrologia.*2018;38:197-206. doi:10.1016/j.nefro.2017.07.003.
22. *Yamout H, Lazich I, Bakris GL.* Blood pressure, hypertension, RAAS blockade, and drug therapy in diabetic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis.*2014;21: 281-286. doi:10.1053/j.ackd.2014.03.005.
23. *Mezzano SA, Ruiz-Ortega M, Egido J.* Angiotensin II and renal fibrosis. *Hypertension.*2001;38(3):635–638. doi:10.1161/hy09t1.094234.
24. *Shah VN, Cheema BS, Sharma R, Khullar M, Kohli HS, Ahluwalia TS, et al.* ACAC β gene (rs2268388) and AT1R gene (rs5186) polymorphism and the risk of nephropathy in Asian Indian patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem.*2013;372(1-2):191-198. doi: 10.1007/s11010-012-1460-2.
25. *Ahluwalia TS, Ahuja M, Rai TS, Kohli HS, Bhansali A, Sud K, et al.* ACE variants interact with the RAS pathway to confer risk and protection against type 2 diabetic nephropathy. *DNA Cell Biol.*2009;28(3):141–50. doi: 10.1089/dna.2008.0810.

26. *Ding W, Wang F, Fang Q, Zhang M, Chen J, Gu Y.* Association between two genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2012;39(2):1293-303. doi: 10.1007/s11033-011-0862-7.
27. *Wang F, Fang Q, Yu N, Zhao D, Zhang Y, Wang J, et al.* Association between genetic polymorphism of the angiotensin-converting enzyme and diabetic nephropathy: a meta-analysis comprising 26580 subjects. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2012;13(1):161-74. doi: 10.1177/1470320311417655.
28. *Mehri S, Koubaa N, Hammami S, Mahjoub S, Chaaba R, Nakbi A, et al.* Genotypic interactions of renin-angiotensin system genes with diabetes type 2 in a Tunisian population. *Life Sci.* 2010;87(1-2):49-54. doi: 10.1016/j.lfs.2010.05.010.
29. *Chang HR, Cheng CH, Shu KH, Chen CH, Lian JD, Wu MY.* Study of the polymorphism of angiotensinogen, angiotensin-converting enzyme and angiotensin receptor in type II diabetes with end-stage renal disease in Taiwan. *J Chin Med Assoc.* [Internet]. 2003;66(1):51-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12728975/>.
30. *Fradin S, Goulet-Salmon B, Chantepie M, Grandhomme F, Morello R, Jauzac P, et al.* Relationship between polymorphisms in the renin-angiotensin system and nephropathy in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab.* [Internet]. 2002;28(1):27-32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11938025/>.