

## ВИПАДКИ З КЛІНІЧНОЇ ПРАКТИКИ / CLINICAL CASE REPORTS

- CONCURRENT HEPATITIS B INFECTION AND IGA NEPHROPATHY IN A PATIENT WITH A HISTORY OF MALIGNANT MELANOMA**  
Gülsüm Ceren Terzioğlu, Alper Alp, Mürşide Gülay Örgün Sönmez, Ferda Bacaksızlar Sarı, Dilek Gibyeli Genek, Bülent Huddam (Turkey) ..... 3
- МЕТОД ХІРУРГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ СТЕНОЗУ ФІСТУЛЬНОЇ ВЕНИ ДЛЯ ГЕМОДІАЛІЗУ: КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК**  
С.Р. Вільданов, В.О. Губка (Україна) ..... 10

## ОРИГІНАЛЬНІ НАУКОВІ РОБОТИ / ORIGINAL PAPERS

- FUNCTIONAL AND STRUCTURAL KIDNEY ALTERATIONS ASSOCIATED WITH FERTILITY DRUG ADMINISTRATION IN RATS**  
Ibtihal Kadhim Mazyed, Fatima Aziz Mahdi Al- badry (Iraq) ..... 15
- OXIDATIVE STRESS AND HYPOXIA PARAMETERS IN CHILDREN WITH NEPHROTIC SYNDROME**  
Ievgeniia A. Burlaka (Ukraine) ..... 23
- MOLECULAR DETECTION OF ALS1, ALS3, AND HWP1 GENES WITH ANTIFUNGAL RESISTANCE PATTERN OF CANDIDA ALBICANS ISOLATED FROM WOMEN WITH URINARY TRACT INFECTIONS**  
Muna F. Jihad, Manal B. Salih (Iraq) ..... 29
- MICRORNA EXPRESSION AND GPX-1 GENETIC POLYMORPHISMS IN PATIENTS UNDERGOING HEMODIALYSIS: IMPLICATIONS FOR OXIDATIVE STRESS IN A CROSS-SECTIONAL STUDY**  
Hetaf Shallal, Nagam Khudhair, Maryam I. Salman (Iraq) ..... 39
- HISTOPATHOLOGICAL ALTERATIONS IN KIDNEY TISSUE FOLLOWING EXPERIMENTAL ENDOTOXEMIA IN A MURINE MODEL**  
Antoniuk V.M., Pavlovych S.I., Dzhuran B.V., Kondratska O.A., Yanchii R.I. (Ukraine) ..... 49
- НИРКОВІ ПОРУШЕННЯ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ: ПОТЕНЦІЙНА РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ A1166C (RS5186) ГЕНА РЕЦЕПТОРА АНГІОТЕНЗИНУ II ТИПУ 1**  
А. Несен, П. Семенових, К. Савічева, В. Гальчінська, В. Чернишов, В. Шкапо (Україна) ..... 55

## ШКОЛА НЕФРОЛОГА / NEPHROLOGY SCHOOL

- ADVANCES IN UNDERSTANDING AND MANAGING DIABETIC KIDNEY DISEASE: AN UPDATED REVIEW**  
Elmukhtar Habas, prof. Amna Rayani, Dr. Aml Habas, Dr. Kalifa Farfar, Dr. Eshrak Habas, Dr. Khaled Alarbi, Dr. Ala Habas, Dr. Elmehdi Errayes, Dr Gamal Alfilitori. (Qatar, Libya) ..... 66
- НЕІМУНОПОСЕРЕДКОВАНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ТРИВАЛОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ТРАНСПЛАНТОВАНОЇ НИРКИ**  
М. Колесник, Н. Степанова, Л. Король, І. Шіфріс, Р. Зограб'ян, О. Вороняк (Україна) ..... 81

## РЕДАКЦІЙНА ІНФОРМАЦІЯ / EDITORIAL INFORMATION

- РЕДАКЦІЙНА ІНФОРМАЦІЯ ..... 97



## Національний нирковий фонд України

ISSN 2304-0238

ISSN 2616-7352

## УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ НЕФРОЛОГІЇ ТА ДІАЛІЗУ НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ, МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

№ 1 (85) 2025

Заснований 04.2004.

ВИХОДИТЬ 4 РАЗИ НА РІК

**Головний редактор:** Колесник Микола Олексійович  
**Заступник головного редактора:** Степанова Наталя Михайлівна  
**Відповідальний секретар:** Козлюк Надія Іванівна

**Редакційна колегія:**

Бурлака Євгенія Анатоліївна	Фоміна Світлана Петрівна
Деміхова Надія Володимирівна	Alper Alp
Дряньська Вікторія Євгенівна	Raymond T. Krediet
Дудар Ірина Олексіївна	Jolanta Malyszko
Зуб Лілія Олексіївна	Francesco P. Schena
Король Леся Вікторівна	Vladimir Tesar
Сагалевич Андрій Ігорович	Christoph Wanner
Стаховський Едуард Олександрович	Andrzej Więcek
Сусла Олександр Богданович	

*Засновник* – Національний нирковий фонд України

*Журнал зареєстровано у Державному Реєстрі суб'єктів у сфері друкованих медіа (ідентифікатор медіа R30-02569, Рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення №298 від 08.02.2024 р.) та он-лайн медіа (ідентифікатор медіа R40-02656, Рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення №2543 від 08.08.2024 р.).*

*Журнал внесено до категорії «А» переліку наукових фахових видань України (Наказ Міністерства освіти і науки України від 07.04.2022 №320).*

*Репозитарне зберігання та представлення журналу на порталі "Наукова періодика України" Національної бібліотеки України імені В.І. Вернадського*

**Індексація журналу:**

- Scopus
- Crossref (видавничий префікс: 10.31450),
- The Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD),
- National Repository Vernadsky National Library of Ukraine,
- Google Scholar,
- Library catalog OCLC WorldCat.

*Видається за наукової підтримки Національного ниркового фонду України.*

*Рекомендовано до друку Науковою радою Національного ниркового фонду України (протокол № 1 від 24.02.2025 р.).*

**Наклад** 500 прим.

**Адреса редакції:** вул. Дегтярівська 17 В., м. Київ, 04050;  
тел. 225 93 86; тел./факс: 225 93 87; e-mail: ukrjnd@gmail.com

**Здано в набір** 28.02.2025. **Підписано до друку** 03.03.2025  
Формат паперу 64×90 1/8. Гарнітура НьютонС. Ум. друк. арк. 11,2. Замовлення № 030325

**Друк ТОВ «Поліграф плюс»**

**Свідоцтво** про внесення до Державного реєстру суб'єктів видавничої справи  
№ 5041 (серія ДК) від 26.01.2016 р.  
03062, вул. Туполева, 8, Київ, тел./факс: (067) 466-14-42  
e-mail: office@poligraph-plus.kiev.ua



Матеріали друкуються мовою оригіналу (українською або англійською).  
За достовірність і орфографію рекламної інформації відповідальність несе рекламодавць.  
Редакція не завжди поділяє думки авторів публікацій.  
Передрук публікацій здійснювати тільки за згодою редакції.

© «Український журнал нефрології та діалізу», 2025



Журнал розповсюджується за ліцензією CC Attribution-ShareAlike 4.0

## National Kidney Foundation of Ukraine

 ISSN 2304-0238  
 ISSN 2616-7352

**UKRAINIAN JOURNAL OF NEPHROLOGY AND DIALYSIS**  
PRACTICAL, SCIENTIFIC, MEDICAL JOURNAL

*Nº 1 (85) 2025*

**PUBLISHED 4 TIMES A YEAR**

*founded in 04.2004*

**Editor-in-chief:** Mykola Kolesnyk  
**Deputy Editor:** Natalia Stepanova  
**Executive secretary:** Nadiia Kozliuk

**Editorial Board :**

Alper Alp	Andriy Sahalevych
Ievgeniia Burlaka	Francesco P. Schena
Nadiia Demikhova	Eduard Stakhovsky
Victoria Driyanska	Oleksandr Susla
Iryna Dudar	Vladimir Tesar
Svitlana Fomina	Christoph Wanner
Lesya Korol	Andrzej Więcek
Raymond T. Krediet	Liliia Zub
Jolanta Malyszko	

**Founder** – National Kidney foundation of Ukraine

**The journal is registered in the State Register of Subjects in the Field of Printed Media (media identifier R30-02569, Decision of the National Council of Ukraine on Television and Radio Broadcasting No. 298 dated February 8, 2024) and online media (media identifier R40-02656, Decision of the National Council of Ukraine on Television and Radio Broadcasting No. 2543 dated August 8, 2024).**

**The Journal is included in the category "A" of the list of scientific professional editions of Ukraine (Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine dated April 07, 2022, №320).**

**Journal's repository storage and presentation in the portal "Scientific Periodicals of Ukraine" by the Vernadsky National Library of Ukraine**

**Journal indexing:**

- **Scopus**
- Crossref Registration Agency (doi prefix 10.31450),
- The Directory of Open Access Journals (DOAJ)
- Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD),
- National Repository Vernadsky National Library of Ukraine,
- Google Scholar,
- Library catalog OCLC WorldCat.

**Published** by scientific support of the Kidney Foundation of Ukraine

**Recommended for publication** by the Academic Council of the National Kidney Foundation of Ukraine (Protocol № 1 dated February 24, 2025).

**Edition 500 copies**

**Address:** Degtjarivska str.17V, Kyiv, 04050; e-mail: ukrjnd@gmail.com  
tel. 225 93 86; tel/fax: 225 93 87.

**Put in a set on** February 28, 2025. **Signed to print** March 03, 2025.

Paper size 64x90 1/8. Headset NewtonC. Conventionally printed sheets 11,2. Order № 030325

**Print LLC "Polygraph plus"**

**Certificate** of entry into the State Register of publishing entities №. 5041 (DK series) dated January 26, 2016.

03062, Tupoleva str., 8, Kyiv, tel/ fax: (067) 466-14-42  
e-mail: office@poligraph-plus.kiev.ua

Materials are published in the original language  
(Ukrainian or English).

For the accuracy and spelling of the advertising information the responsibility is on the advertiser.

The editorial office does not always agree with the authors.

Reprint of the publications is possible to carry out only for the agreement of editorial office

© Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis, 2025



The Journal is licensed by CC Attribution-ShareAlike 4.0 International



# 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>****Case Reporte**

**Gülsüm Ceren Terzioğlu<sup>1</sup>, Alper Alp<sup>1</sup>, Mürşide Gülay Örgün Sönmez<sup>2</sup>,  
Ferda Bacaksızlar Sarı<sup>3</sup>, Dilek Gibyeli Genek<sup>1</sup>, Bülent Huddam<sup>1</sup>**

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.01

**Concurrent hepatitis B infection and IgA nephropathy in a patient with a history of malignant melanoma**

<sup>1</sup>Department of Nephrology, Faculty of Medicine, Mugla Sıtkı Koçman University, Mugla, Turkey

<sup>2</sup>Department of Pathology, Mugla Sıtkı Koçman University Training and Research Hospital, Mugla, Turkey

<sup>3</sup>Department of Radiology, Mugla Sıtkı Koçman University Training and Research Hospital, Mugla, Turkey

## Citation:

Terzioğlu GC, Alp A, Sönmez MGO, Sarı FB, Genek DG, Huddam B. Concurrent hepatitis B infection and IgA nephropathy in a patient with a history of malignant melanoma. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85): 3-9. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.01.

**Abstract.** *IgA nephropathy (IgAN) is an immune complex-mediated glomerulonephritis characterized by the deposition of IgA-dominant immune complexes in the mesangium, leading to mesangial proliferation and subsequent renal injury. Clinically, IgAN often manifests as episodic macroscopic hematuria following upper respiratory tract or gastrointestinal infections. Disease progression is variable, with 20–50% of patients advancing to end-stage renal disease within 10–20 years of diagnosis.*

*Although IgAN is primarily idiopathic, it may also occur secondary to systemic conditions such as Henoch-Schönlein purpura, HIV infection, toxoplasmosis, ankylosing spondylitis, and liver cirrhosis. Less commonly, IgAN can be associated with hepatitis B virus (HBV) infection or manifest as a paraneoplastic phenomenon.*

*Here, we report a unique case of clinical presentation and successful treatment of concurrent HBV infection and IgAN in a patient with a history of malignant melanoma. To our knowledge, this is the first documented case in which these three conditions (IgAN, HBV infection, and malignant melanoma) coexist in a single patient.*

**Key words:** *IgA nephropathy, HBV infection, malignant melanoma, paraneoplastic syndrome, immunotherapy, end-stage renal disease, renal pathology.*

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

© Gülsüm Ceren Terzioğlu, Alper Alp, Mürşide Gülay Örgün Sönmez, Ferda Bacaksızlar Sarı, Dilek Gibyeli Genek, Bülent Huddam, 2025.

Correspondence should be addressed to Alper Alp: [alperalp@mu.edu.tr](mailto:alperalp@mu.edu.tr)

**Article history:**

Received October 25, 2024

Received in revised form  
November 29, 2024

Accepted December 03, 2024



© Терзіюглу Г. Д., Алп А., Сонмез М. Г. О., Сари Ф. Б., Генек Г.Д., Худдам Б, 2025

УДК: 616-006.81:[616.36-002+616.611-002]-036

Гюльсюм Джерен Терзіюглу<sup>1</sup>, Алпер Алп<sup>1</sup>, Мюршіде Гюлай Оргюн Сонмез<sup>2</sup>, Ферда Бакаксізлар Сари<sup>3</sup>,  
Ділек Гіб'єлі Генек<sup>1</sup>, Бюлент Худдам<sup>1</sup>

## Конкомітантний перебіг гепатиту В та ІgА-нефропатії у пацієнта з анамнезом злоякісної меланоми

<sup>1</sup>Кафедра нефрології, Медичний факультет, Університет Мугла Ситки Кочман, Мугла, Туреччина

<sup>2</sup>Кафедра патології, Університетська навчально-дослідна лікарня Мугла Ситки Кочман, Мугла, Туреччина

<sup>3</sup>Кафедра радіології, Університетська навчально-дослідна лікарня Мугла Ситки Кочман, Мугла, Туреччина

**Резюме.** ІgА-нефропатія (ІgAN) — це імунокомплексний гломерулонефрит, який характеризується відкладенням імунних комплексів з переважанням ІgА у мезангії, що спричиняє мезангіальну проліферацію та прогресуюче ураження нирок. Клінічно захворювання часто проявляється епізодичною макрогематурією після перенесених інфекцій верхніх дихальних шляхів або шлунково-кишкового тракту. Перебіг хвороби варіабельний, проте у 20–50% пацієнтів протягом 10–20 років від моменту встановлення діагнозу розвивається термінальна стадія хронічної хвороби нирок.

Хоча ІgА-нефропатія найчастіше має ідіопатичне походження, вона також може бути вторинною до системних захворювань, таких як пурпура Геноха-Шенляйна, ВІЛ-інфекція, токсоплазмоз, анкілозуючий спондиліт і цироз печінки. Рідше ІgAN може асоціюватися з HBV інфекцією або проявлятися як паранеопластичний синдром.

У цій статті представлено унікальний випадок клінічної картини та успішного лікування конкомітантного перебігу вірусного гепатиту В та ІgAN у пацієнта зі злоякісною меланою в анамнезі. Наскільки нам відомо, це перший задокументований випадок, коли ці три захворювання (ІgAN, HBV інфекція і злоякісна меланома) співіснують в одного пацієнта.

**Ключові слова:** ІgА-нефропатія, вірусний гепатит В, злоякісна меланома, паранеопластичний синдром, імуноterapia, термінальна стадія хронічної хвороби нирок, патологія нирок.

**Introduction.** IgA nephropathy (IgAN) is the most common cause of primary glomerulonephritis worldwide [1, 2]. Compared to the general population, patients with IgAN have a reduced life expectancy and an increased risk of mortality [3]. Renal biopsy findings such as crescent formation, mesangial hypercellularity, segmental glomerulosclerosis, and tubular atrophy/interstitial fibrosis are considered risk factors for progression to renal failure [3].

IgAN can occur in isolation or in association with other diseases such as chronic liver disease, celiac disease, HIV infection, group A streptococcal infection, malignancies, granulomatosis with polyangiitis and minimal change disease, and it has been reported that regions where IgAN is endemic also have a high prevalence of HBV infection [2]. Antigenemia is likely to cause the accumulation of circulating immune complexes in the mesangial and subendothelial areas, and

imaging techniques can identify these deposition sites, supporting this mechanism [4]. Conversely, some studies have suggested that HBs antigenemia does not have a high incidence in IgAN, thus questioning the association of HBV infection with the aetiology and pathogenesis of IgAN [2]. Therefore, the role of HBV antigenemia in IgAN remains controversial.

A review of the literature shows that although the coexistence of the three pathologies can be observed separately, the occurrence of all three clinical conditions together in a single case is unique. We also aimed to speculate that paraneoplastic glomerulonephritis may occur many years later in a patient with malignant melanoma.

**Case.** A 40-year-old male patient presented to the nephrology clinic with a complaint of dark urine of several weeks' duration. He had no additional symptoms. He had a history of resection of a malignant melanoma of the back approximately 9 years ago. The patient reported that he had received no specific treatment after diagnosis and was considered cured after successful surgery. There was no recent history of strenuous exercise, trauma, or recent medical treatment. Arterial blood pressure was 130/87 mmHg, heart rate was 89/minute and no significant findings were noted on physical examination. Laboratory tests on admission are shown in Table 1.

Alper Alp  
alperalp@mu.edu.tr

Table 1

## Laboratory findings of the patient on admission

Parameter	Result	Reference Range	Parameter	Result	Reference Range
<b>WBC</b> (x10 <sup>3</sup> /μL)	8.76	4.23–9.07	<b>Magnesium</b> (mg/dL)	1.99	1.5–2.5
<b>HGB</b> (g/dL)	15.3	12–16	<b>CRP</b> (mg/L)	1.35	0–5
<b>HCT</b> (%)	43.6	40.1–51	<b>Calcium</b> (mg/dL)	9.08	8.6–10.6
<b>MCV</b> (fL)	85.7	79–92.2	<b>C3</b> (g/L)	0.21	0.1–0.4
<b>PLT</b> (x10 <sup>3</sup> /μL)	207	160–340	<b>C4</b> (g/L)	1.01	0.9–1.8
<b>Urea</b> (mg/dL)	53	16.6–48.5	<b>Potassium</b> (mmol/L)	4.78	3.5–5.1
<b>Creatinine</b> (mg/dL)	1.27	0.65–1.20	<b>Spot urine alb/creat</b> (mg/g)	1674	0–30
<b>eGFR</b> (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	70	-	<b>Spot urine prot/creat</b> (mg/g)	1774	0–200
<b>Total protein</b> (g/L)	61.8	64–83	<b>Phosphorus</b> (mg/dL)	3.6	2.5–4.5
<b>Albumin</b> (g/L)	42.2	35–52	<b>Sedimentation</b> (mm/h)	12	-
<b>Uric Acid</b> (mg/dL)	6.0	3.4–7.0	<b>ANA</b>	Positive (+), fine granular	-
<b>Sodium</b> (mmol/L)	139.5	136–145	<b>Urine test (TIT)</b>	Protein (+), leukocyte (-), erythrocyte (+3)	-
<b>Anti-HIV</b>	Negative	-	<b>HBeAg</b>	Negative	-
<b>Anti-HBc IgG</b>	Positive	-	<b>Anti-HBe</b>	Positive	-
<b>Anti-HBc IgM</b>	Negative	-	<b>HCV</b>	Negative	-
<b>HBsAg</b>	Positive	-	<b>HBV-DNA</b> (IU/mL)	290,000	-
<b>Anti-HBs</b>	Negative	-	-	-	-

Abbreviations: *ANA* – Antinuclear Antibody; *Anti-HBc IgG* – Hepatitis B Core Antibody, IgG; *Anti-HBc IgM* – Hepatitis B Core Antibody, IgM; *Anti-HBe* – Hepatitis B e-Antibody; *Anti-HBs* – Hepatitis B Surface Antibody; *Anti-HIV* – Antibody test for Human Immunodeficiency Virus; *Ca* – Calcium; *C3* – Complement component 3; *C4* – Complement component 4; *CRP* – C-Reactive Protein; *eGFR* – Estimated Glomerular Filtration Rate; *ESR* – Erythrocyte Sedimentation Rate; *HBeAg* – Hepatitis B e-Antigen; *HBsAg* – Hepatitis B Surface Antigen; *HBV-DNA* – Hepatitis B Viral DNA (viral load); *HCV* – Hepatitis C Virus; *HCT* – Hematocrit; *HGB* – Hemoglobin; *K* – Potassium; *MCV* – Mean Corpuscular Volume; *Mg* – Magnesium; *Na* – Sodium; *P* – Phosphorus; *PLT* – Platelet count; *TIT* – Urine Test (Test-Indicator Tape); *Total protein* – Total serum protein level; *UA* – Uric Acid; *Urea* – Blood Urea Nitrogen; *WBC* – White Blood Cell count.

Abdominopelvic ultrasonography showed bilateral normal renal size, parenchyma, and echogenicity. Renal biopsy was planned due to haematuria, proteinuria, and decreased GFR. The renal biopsy specimen showed; 39 glomeruli of which 13 had global sclerosis, 6 had segmental sclerosis and 1 glomerulus had fibrous crescent. The glomeruli also showed me-

sangial expansion, increased cellularity, thickening of the basement membranes, focal tubular atrophy, interstitial fibrosis, and chronic inflammation in the tubulointerstitial area. Immunofluorescence staining was significant for IgA (+4) and C3 deposition in the mesangial area. These findings were consistent with IgAN (Fig. 1).

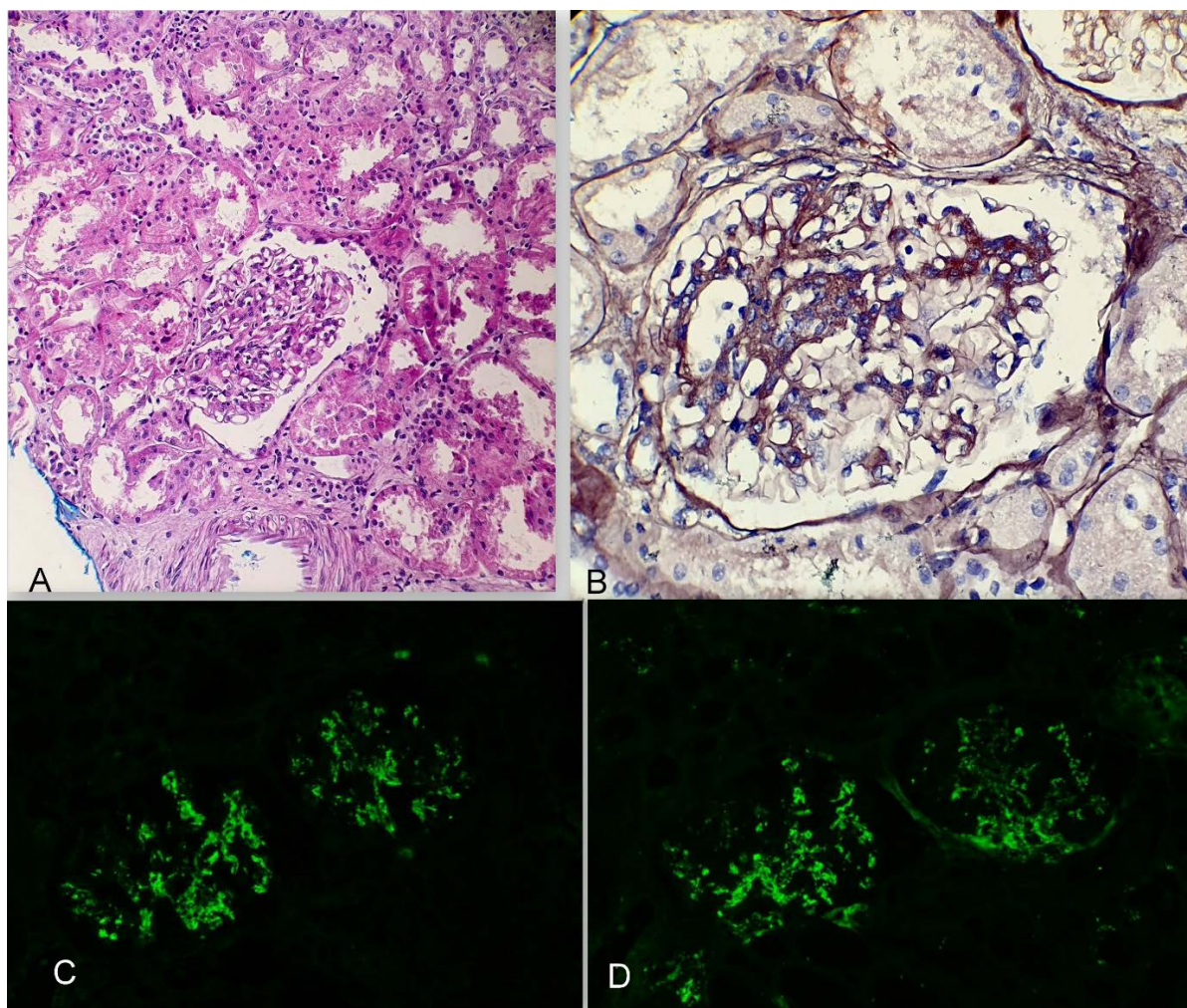


Fig. 1. Histopathological and immunofluorescence findings in IgA nephropathy. (A) Increased mesangial cellularity and matrix expansion (mesangial expansion), H&E staining,  $\times 200$  magnification. (B) Mesangial expansion and hypercellularity, Jones histochemical staining,  $\times 400$  magnification. (C) Mesangial IgA deposits, direct immunofluorescence (DIF),  $\times 200$  magnification. (D) Mesangial C3 deposits, DIF,  $\times 200$  magnification.

At the same time, routine investigations revealed concurrent HBsAg positivity and an HBV DNA viral load of 290,000 IU/ml. Entecavir was ordered at a dose of 0.5 mg per day. At the same time, the patient was started on low-dose ramipril, and the dose was titrated to 10 mg/day. During follow-up, the patient experienced an increase in proteinuria despite ramipril treatment. Twelve months after starting ramipril, the patient developed swelling of the eyes and pretibial edema. At the same time, a creatinine level of 1.4 mg/dL and a 24-hour protein level of 1.7 grams were observed, indicating progression. After consultation with the oncology and gastroenterology clinics, methylprednisolone 60 mg/day was started; at the 1-month follow-up, the protein level was 939 mg; at the 2-month and 3-month follow-ups with the same corticosteroid dose, the urine protein levels were 849 mg and 317 mg, respectively; because of the proximal myopathy-like complaints, the corticosteroid dose was gradually reduced; with the dose reduction, the protein level continued to decrease at the 1-month follow-up (Fig. 2).

The patient's current treatment regimen continues in our clinic as ramipril+entecavir (due to persistent HbsAg(+)), with the most recent proteinuria level of 397 mg/day, albuminuria of 247 mg/day and serum creatinine of 1.74 mg/dl.

**Discussion.** Hepatitis B virus is widespread worldwide, with approximately 2 billion people infected. Of these patients, approximately 35 million develop chronic HBV infection, making it one of the most common diseases worldwide. The incidence of persistent HBV infection varies by geographical region. In China, Southeast Asia, and sub-Saharan Africa, HBV infection is observed in 8-15% of the total population, whereas in Europe and the USA, this rate is around 2% [5].

In the United States, HBV infection is estimated to be prevalent in 10% of the population. HBV infection can lead to a variety of extrahepatic clinical manifestations, including rash, bone marrow involvement, arthralgia, and nephropathy. One of the most common extrahepatic findings is nephropathy, which is observed in individuals chronically infected with the hepatitis B

virus. During HBV infection, secondary glomerulonephritides such as membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN), membranous glomerulonephritis (MGN), mesangial glomerulonephritis, IgAN, focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) and minimal change disease may occur. A review of the literature

reveals a lack of numerous clinical studies investigating the frequency of HBV and nephropathy. In a study analyzing the association between hepatitis B and glomerulonephritides, it was shown that IgA nephropathy is more common in adults, whereas MGN is more common in children [6].

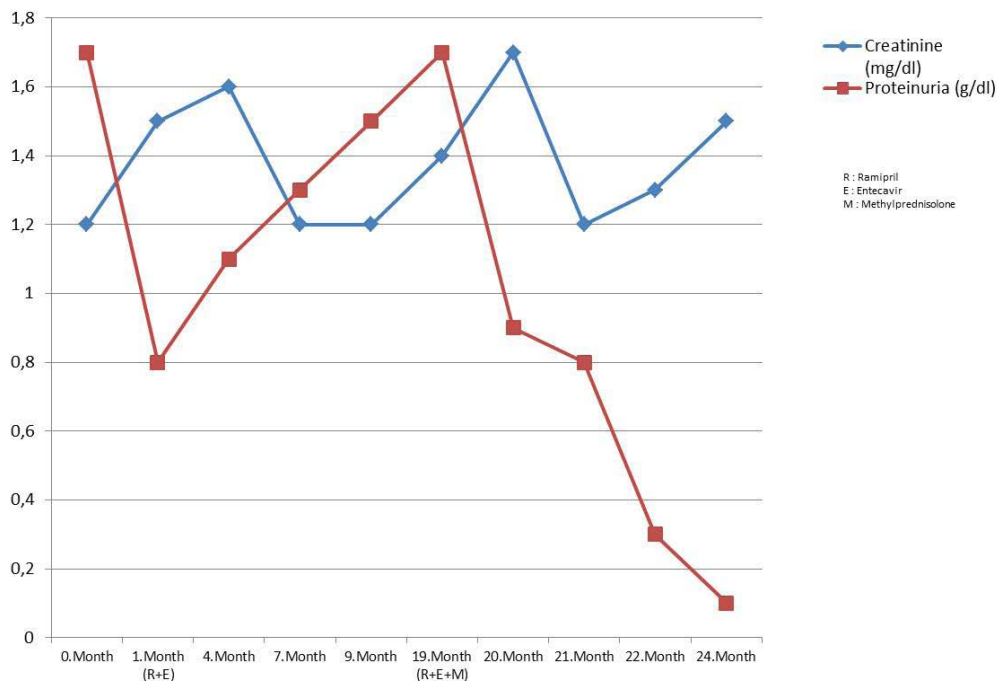


Fig. 2. Changes in creatinine and proteinuria levels over the course of treatment.

Glomerulonephritis may occur as a paraneoplastic syndrome in association with various cancers; cancer-associated glomerulonephritis is predominantly membranous glomerulonephritis and, although its pathogenesis is not fully understood, it has been associated with the accumulation of tumor antigens or immune complexes in the glomerular basement membrane [7].

Nephrotoxicity associated with malignancy may be paraneoplastic, but may also result from the agents used to treat the primary disease. Renal injury is a serious complication that can result from the progression of the neoplastic disease as well as from the treatment methods used. Over the years, the spectrum of renal disease in cancer patients has evolved, mainly due to changes in chemotherapy regimens and the introduction of immunotherapy. Antineoplastic drugs can cause damage to the renal tubules, glomeruli, parenchyma, and blood vessels, leading to a wide range of complications, from mild, asymptomatic increases in serum creatinine to hemodialysis requiring acute kidney injury (AKI) [8].

Immunotherapy is considered a key component in the treatment of cancer patients. Today, immunotherapy is used in the treatment of several malignancies, particularly melanoma. Nivolumab is a PD-1 monoclonal antibody used in the treatment of malignant melanoma. A review of the literature shows cases of glomerulonephritis and vasculitis associated with nivolumab [9].

Paraneoplastic glomerulonephritis is a rare secondary cause of glomerulonephritis. Altered immune responses appear to play a role in the pathogenesis of paraneoplastic glomerulonephritis. A study in Buffalo/Mna timomal rats showed that tumor cells induce polarisation of the immune response towards T-helper-2 (TH2) or cause overexpression of the TH2 cytokine interleukin 13, leading to the development of glomerulonephritis [10].

The relationship between the malignant process and the accumulation of immune complexes in glomerulonephritis is not clearly understood yet. It is thought that the accumulation of tumor antigens or immune complexes in the glomerular basement membrane may be the cause. Studies have suggested aetiological mechanisms such as tumor antibody production against tumor antigens, circulating factors secreted by T lymphocytes, B cell production and the M component of cryoglobulins, and circulating Ig-A to cause glomerulonephritis. Antibodies to exogenous or endogenous antigens in cancer patients may cause immune complex nephritis in susceptible groups. It is not known how these immunological mechanisms affect the time interval between cancer and GN formation [11]. The aetiological role of HBV antigenemia and HBV antigen accumulation in IgA nephropathy remains controversial. The nephropathy is thought to

be caused by an accumulation of circulating immune complexes in the mesangial and subendothelial areas, and studies have supported this accumulation mechanism. Many studies have demonstrated deposition of HBsAg, HBcAg, and HBeAg along with immunoglobulins and complement in the glomeruli. While some chronic HBsAg carriers develop IgA nephropathy, others may develop MPGN or MGN. This variation may be related to the size and loading characteristics of the HBV antigens, as well as the relationship between these antigens and their antibodies. These differences may explain the occurrence of different renal pathologies. HBeAg has the smallest molecular weight, which allows it to pass through the glomerular basement membrane more easily and causes subepithelial dense deposits visible under the microscope. This is a well-known characteristic morphological feature of MGN and the localised formation of antigen-antibody complexes induces the characteristic proteinuria and subepithelial immunodeposits seen in MGN. Therefore, HBeAg is considered a nephrogenic antigen for MGN. In contrast, HBsAg, which is larger in size, is thought to play a role in the formation of mesangial HBsAg-anti-HBsAg complexes in HBV-associated IgAN [5].

A study by Lai et al. investigated the relationship between HBV infection and IgA nephropathy and reported a positive correlation between the prevalence of IgAN and HBV. It was observed that in individuals with IgAN, HBsAg, HBcAg and corresponding immune complexes accumulate in the mesangial and subendothelial areas of the glomeruli [12].

The basic principles in the treatment of HBV-associated glomerulonephritis include reducing proteinuria, treating and preventing recurrence, preserving renal function and preventing progression to end-stage renal disease. Entecavir is the first-line treatment option due to its low resistance and antiviral efficacy [13].

Blood pressure, proteinuria and serum creatinine levels are considered to be the most robust and reliable indicators of clinical prognosis in IgAN. Treatment focuses on maintaining optimal blood pressure levels, controlling proteinuria through renin-angiotensin system inhibition, and implementing dietary and lifestyle modifications. Immunosuppressive therapy is usually preferred in patients at high risk of progression to end-stage renal disease [13].

In inactive HBV carriers, corticosteroid therapy has been shown to achieve both partial and complete remission of IgAN. In addition, it has been observed that there is no significant difference in the reduction of proteinuria levels between corticosteroid monotherapy and a combination of corticosteroid and antiviral treatment [14].

Due to the lack of genetic analysis data on malignant melanoma and the lack of long-term follow-up of the case, a clear distinction between primary and secondary IgA nephropathy cannot be made. This is a limiting factor in our case.

**Conclusions.** The relationship between HBV infection and IgAN remains unclear. Although the coexistence of HBV infection and IgAN is not common in clinical practice, it is interesting that both conditions are associated with the deposition of immune complexes in the mesangial and subendothelial areas of the glomeruli. At the same time, a review of the literature showed that there are not many studies evaluating the relationship between IgAN and HBV infection. The unique aspect of our case is the coincidence of malignant melanoma, HBV infection and IgAN in the same patient. We observed a significant regression of proteinuria and successful treatment when corticosteroid and antiviral therapies were combined. To our knowledge, this is the first reported case in the literature demonstrating the coexistence of these 3 clinical entities.

The treatment of paraneoplastic glomerulonephritis is aimed at treating the primary disease and requires a multidisciplinary targeting of both the tumor and the glomerular lesions. The identification of biomarkers from blood, urine, or kidney biopsy samples that would confirm the diagnosis of paraneoplastic glomerulonephritis will facilitate the diagnosis of the primary disease. Another important point is that patients with a history of malignancy should have their kidney function monitored regularly for the possibility of new glomerular pathology.

**Informed consent statement.** Written informed consent was obtained from the patient.

**Conflicts of interest statement.** The authors have no competing interests to declare.

**Funding source.** The authors declare that there is no funding source.

#### **Author contributions:**

**Gülsüm Ceren Terzioğlu:** Conceptualization, investigation, original draft preparation, and data analysis of the patient's clinical condition.

**Alper Alp:** Conceptualization, investigation, patient management, original draft preparation, and analysis of the patient's diagnostic data.

**Mürşide Gülay Örgün Sönmez:** Conceptualization, patient diagnosis, and data collection and analysis.

**Ferda Bacaksızlar Sarı:** Conceptualization and oversight of patient data investigation.

**Dilek Gibyeli Genek:** Conceptualization, review and editing, and analysis of the patient's clinical outcomes.

**Bülent Huddam:** Conceptualization, review and editing, and supervision of data analysis.

**References:**

1. Kolman M, Song S, Han T, Asado N, Ehrenpreis ED. A Case Report of Diffuse Alveolar Hemorrhage Coexisting With Immunoglobulin A (IgA) Nephropathy. *Cureus*. 2022;27:14(11):e31941. doi: 10.7759/cureus.31941.
2. Sun IO, Hong YA, Park HS, Choi SR, Chung BH, Park CW, et al. Clinical characteristics and treatment of patients with IgA nephropathy and hepatitis B surface antigen. *Ren Fail*. 2013;35(4):446-451. doi: 10.3109/0886022X.2013.775659.
3. Wang K, Yu Z, Huang Y, Yang K, He T, Xiao T, et al. Clinicopathological features, risk factors, and outcomes of immunoglobulin A nephropathy associated with hepatitis B virus infection. *J Nephrol*. 2021;34(6):1887-1896. doi: 10.1007/s40620-021-01004-2.
4. Khaira A, Upadhyay BK, Sharma A, Das P, Mahajan S, Makhariya G, et al. Hepatitis B virus associated focal and segmental glomerular sclerosis: report of two cases and review of literature. *Clin Exp Nephrol*. 2009;13(4):373-377. doi:10.1007/s10157-008-0124-8.
5. Wang NS, Wu ZL, Zhang YE, Guo MY, Liao LT. Role of hepatitis B virus infection in pathogenesis of IgA nephropathy. *World J Gastroenterol*. 2003;9(9):2004-2008. doi: 10.3748/wjg.v9.i9.2004.
6. Shah HH, Patel C, Jhaveri KD. Complete remission of hepatitis B virus-associated nephrotic syndrome from IgA nephropathy following peginterferon therapy. *Ren Fail*. 2013;35(2):295-298. doi: 10.3109/0886022X.2012.745785.
7. Faria TV, Baptista MA, Burdmann EA, Cury P. Glomerular deposition of immune complexes as a first manifestation of malignant melanoma—a case report. *Ren Fail*. 2010;32(10):1223-1225. doi: 10.3109/0886022X.2010.516852.
8. Jagiela J, Bartnicki P, Rysz J. Nephrotoxicity as a Complication of Chemotherapy and Immunotherapy in the Treatment of Colorectal Cancer, Melanoma and Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9):4618. doi: 10.3390/ijms22094618.
9. Jung K, Zeng X, Bilusic M. Nivolumab Associated Acute Glomerulonephritis: A Case Report and Literature Review. *BMC Nephrol*. 2016;17(1):188. doi:10.1186/s12882-016-0408-2.
10. Lien YH, Lai LW. Pathogenesis, diagnosis and management of paraneoplastic glomerulonephritis. *Nat Rev Nephrol*. 2011;7(2):85-95. doi: 10.1038/rrneph.2010.171.
11. Ryu J, Ryu H, Kim S, Chin HJ, Na KY, Chae DW, et al. Comparison of cancer prevalence between patients with glomerulonephritis and the general population at the time of kidney biopsy. *PLoS One*. 2019;14(10):e0224024. doi: 10.1371/journal.pone.0224024.
12. Tan Z, Fang J, Lu JH, Li WG. HBV serum and renal biopsy markers are associated with the clinicopathological characteristics of HBV-associated nephropathy. *Int J Clin Exp Pathol*. [Internet]. 2014;7(11):8150-8154. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25550864/>.
13. Wang R, Wu Y, Zheng B, Zhang X, An D, Guo N, et al. Clinicopathological characteristics and prognosis of hepatitis B associated membranous nephropathy and idiopathic membranous nephropathy complicated with hepatitis B virus infection. *Sci Rep*. 2021;11(1):18407. doi: 10.1038/s41598-021-98010-y.
14. Fang J, Li W, Tan Z, Li D. Comparison of prednisolone and lamivudine combined therapy with prednisolone monotherapy on carriers of hepatitis B virus with IgA nephropathy: a prospective cohort study. *Int Urol Nephrol*. 2014;46(1):49-56. doi: 10.1007/s11255-013-0480-5.



## 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>

### Case Reporte

S. Vildanov, V. Gubka

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.02

### Surgical method for correcting fistulous vein stenosis in hemodialysis: A clinical case

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University,  
Zaporizhzhia, Ukraine

Citation:

Vildanov S, Gubka V. Surgical method for correcting fistulous vein stenosis in hemodialysis: A clinical case. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85):10-14. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.02.

**Abstract.** *Permanent vascular access is crucial for the effective management of patients with end-stage kidney disease (ESKD) undergoing hemodialysis. The arteriovenous fistula (AVF) remains the preferred access due to its long-term patency, with an initial survival rate of over 50% at five years. However, once stenosis becomes hemodynamically significant (>70% luminal narrowing), it leads to reduced blood flow, increased venous pressure, and a greater than 50% risk of thrombosis, necessitating timely intervention. Endovascular techniques for restoring venous patency, such as angioplasty and stenting, are costly and require specialized equipment, which limits their availability in Ukraine.*

*Here, we present the case of a 72-year-old patient (O.) with ESKD due to hypertensive and diabetic nephropathy. The patient developed a 70% stenosis of the fistula vein in the right anterior elbow region. To restore vascular access function, an interpositional autovenous shunt was created using a conduit from the great saphenous vein of the lower limb. The postoperative assessment confirmed a well-functioning AV shunt, allowing a dialysis blood flow rate of up to 300 ml/min. The patient was followed up for six months, with no complications observed.*

*This case highlights the efficacy of interpositional autovenous shunting as an accessible and effective alternative to endovascular interventions for AVF stenosis. Personalized decision-making and careful preoperative assessment are essential to optimizing outcomes for hemodialysis patients.*

**Keywords:** *chronic kidney disease, hemodialysis, vascular access, arteriovenous fistula, stenosis, autovenous shunting.*

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

© S. Vildanov, V. Gubka, 2025.

Correspondence should be addressed to Serhii Vildanov: [vildanov009@gmail.com](mailto:vildanov009@gmail.com)



#### Article history:

Received December 20, 2024

Received in revised form

February 02, 2025

Accepted February 04, 2025

© Вільданов С. Р., Губка В. О., 2025

УДК: 616.61-085.38-073.27:616.13/14-089.86]-082

С. Р. Вільданов, В. О. Губка

## Метод хірургічної корекції стенозу фістульної вени для гемодіалізу: клінічний випадок

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет,  
Запоріжжя, Україна

**Резюме.** Наявність постійного судинного доступу є запорукою успішного лікування пацієнтів з термінальною нирковою недостатністю, які лікуються методом гемодіалізу. Показник первинного виживання артеріовенозної фістули становить > 50% протягом п'яти років із формування артеріовенозної фістули. Як тільки значення стенозу набувають гемодинамічно значимого характеру (> 70% просвіту судини), виникає стан, пов'язаний із сповільненням кровотоку та підвищенням венозним тиском, ризик розвитку тромбозу зростає більш ніж на 50%. Методики ендоваскулярного відновлення просвіту стенозованої вени є дорогими та потребують відповідного технічного устаткування (ангіограф та ендоваскулярні девайси). Враховуючи цей факт, досвід ендоваскулярних реконструкцій такого роду в Україні обмежений.

У цій статті ми представляємо випадок пацієнтки О., 72 р. Діагноз: Хронічна хвороба нирок V стадії: гіпертензивна та діабетична нефропатія. Стеноз (70 %) фістульної вени в правій передній ліктьовій ділянці. Виконана операція: інтерпозиційне аутовенозне шунтування артеріовенозної фістули кондуїтом з великої підшкірної вени нижньої кінцівки. Артеріовенозний шунт функціонує. Швидкість кровотоку через діалізатор до 300 мл/хв. Період спостереження 6 місяців.

Цей випадок підкреслює ефективність інтерпозиційного аутовенозного шунтування як доступної та ефективної альтернативи ендоваскулярним втручанням у хворих зі стенозом артеріовенозної фістули. Індивідуальне прийняття рішень і ретельна передопераційна оцінка є важливими для оптимізації результатів лікування. Вибір методу хірургічної корекції стенозу фістульної вени має бути персоналізованим та з пріоритетною нативною ангіореконструкцією.

**Ключові слова:** хронічна хвороба нирок, гемодіаліз, постійний судинний доступ, артеріовенозна фістула, стеноз.

**Вступ.** Гемодіаліз є найпоширенішим методом лікування пацієнтів з термінальною стадією ниркової недостатності [1]. Адекватно функціонуючий постійний судинний доступ є запорукою проведення ефективної процедури гемодіалізу, яка безпосередньо впливає на якість життя даної категорії хворих [2]. Судинний доступ є «рятувальним колом», але ускладнення пов'язані з ним залишаються вагомою причиною зростання захворюваності та смертності у хворих на гемодіалізі [3]. Мультидисциплінарний командний підхід разом із покращеними шляхами догляду є ключем до створення та підтримки судинного доступу. Ідеальним судинним доступом вважається такий, що дозволяє канюляцію за допомогою двох голок, забезпечує мінімальний кровотік щонайменше 600 мл/хв через «штучну нирку», довго функціонує (багато років), є стійким до інфекції, тромбозу та має мінімум несприятливих подій [4]. Обсерваційні дослідження демонструють, що серед усіх видів судинного до-

ступу найкращим є створення нативної артеріовенозної фістули, котра демонструє найкращі результати прохідності у віддаленому періоді, більш низький ризик розвитку ускладнень та меншу кількість ендоваскулярних і хірургічних ревізій з приводу недостатності доступу [5]. Незважаючи на це, далеко не завжди цей вид доступу призводить до високого рівня остаточного успіху замісної ниркової терапії. За даними літератури показник первинного виживання артеріовенозної фістули становить >50% протягом п'яти років із формування [6, 7].

На сьогодні у хірургії залишається безліч питань, присвячених створенню адекватного постійного судинного доступу та підтриманню його функціонування. Прогнозування результатів хірургічних втручань, динамічне спостереження та об'єктивна оцінка факторів ризику ускладнень, своєчасне виявлення причин дисфункції та оперативне вжиття заходів щодо їх усунення згідно з міжнародними рекомендаціями дозволить підтримувати сформований судинний доступ у функціональному стані на максимально можливий термін [8].

**Клінічний випадок.** Пацієнтка О., 72 р. Діагноз: Гіпертонічна хвороба III стадії (наслідки перенесеного ішемічного інсульту в лівій півкулі головного мозку, в руслі ЛСМА від 2022 р, легка правобічна пірамідна недостатність), артеріальна гіпертензія 3

Сергій Вільданов  
vildanov009@gmail.com

ступеня, дуже високого кардіоваскулярного ризику (IV). Цукровий діабет, тип 2, середнього ступеня важкості, стадія субкомпенсації. Хронічна хвороба нирок V ГД: гіпертензивна та діабетична нефропатія. Сечокам'яна хвороба: двобічний нефромікролітиаз. Стан після операції від 1984: черезшкірна літотомія зліва, черезшкірна літотомія в проекції правого сечоводу. Функціонуюча артеріовенозна фістула в проекції лівої передньої ліктвової ямки від 04.07.2023 року. Анемія. ІХС: дифузний кардіосклероз. Персистуюча форма фібриляції передсердь, EHRA II клас, CHA2DS2-VASc-7 балів, HAS-BLED-6 балів. Незріла катаракта OU. Ангіопатія сітківки OU.

Госпіталізована в КНП «Запорізька обласна клінічна лікарня» ЗОР з метою хірургічної корекції судинного доступу для гемодіалізу у зв'язку зі зниженням швидкості кровотоку через діалізатор до 150 мл/хв.

05.06.2024 р. – Ультразвукове дуплексне сканування судин: У проекції кубітальної ямки ліворуч визначається артеріовенозна фістула. Медіальніше за артеріовенозну фістулу визначається локальне розширення (аневризма), без ознак кровотоку. Латеральніше за артеріовенозну фістулу визначається відвідна вена з ділянкою стенозу до 70%. Престенотична ділянка – діаметр 7 мм, пульсова систолічна швидкість 27 см/с, об'ємна швидкість 463 мл/хв. Постстенотична ділянка – діаметр 3 мм, пульсова систолічна швидкість 34 см/с, об'ємна швидкість 223 мл/хв. Діаметри великої підшкірної вени на рівні гомілки праворуч 1,9 мм, ліворуч – 1,8 мм; на рівні стегна – праворуч 3,8 мм, ліворуч – 2,6 мм. Висновок: Ознаки афункціонуючої аневризми. Ознаки стенозу відвідної вени (70 %).

Враховуючи клінічну картину та дані обстеження, 06.06.2024 р. прийнято рішення щодо виконання інтерпозиційного аутовенозного шунтування артеріовенозної фістули кондуїтом з великої підшкірної вени правої нижньої кінцівки.

#### *Опис оперативного втручання:*

В ділянці передньо-медіальної поверхні проксимальної третини правого стегна на 1 см нижче пахвинної зв'язки в проекції стегового трикутника на 2 см медіальніше лобкового горбка медіальніше пульсації стегової артерії виконано поздовжній розріз довжиною 10 см. Виділена *v. saphenamagna* в ділянці сафенофemorального співустя. Притоки великої підшкірної вени (*v. epigastrica superficialis*, *vv. pudendae externae*, *v. circumflexa ilium superficialis*) поетапно виділені, перетиснуті, перетнуті, перев'язані. *V. saphena magna* мобілізована протягом 10 см. В ділянці каудального кута рани дистальний кінець великої підшкірної вени перетиснутий, перетнутий, перев'язаний. Приблизно на 0,5 см. дистальніше впадання в стегову вену велика підшкірна вена перетиснута, перетнута, проксимальний кінець перев'язаний. Рана тампонована марлевою серветкою.

Проксимальний кінець аутовенозного кондуїту перетиснутий судинною клемою. В дистальний кінець кондуїту введено центральний венозний катетер, притиснутий пальцями. Через канюлю катетера шприцом введено гепаринізований фізіологічний розчин (гепарин 5000 МО (1,0 мл), розведений в розчині натрію хлориду 0,9 %-200,0 мл) 3,0 мл. Венозний кондуїт дилатувався, екстравазація відсутня, дефекти венозної стінки не визначаються. Венозний кондуїт поміщений у ємність з гепаринізованим фізіологічним розчином.

В лівій передній ліктвовій ділянці від середини ліктвового згину до зовнішнього краю передпліччя над пульсацією плечової артерії виконано косопоzdовжній розріз довжиною 5 см. Визначається післяопераційний рубцевий процес. Частково тупим, частково гострим шляхами з використанням біполярної діатермокоагуляції виділена проксимальніше біфуркації та артеріовенозного анастомоза *a. brachialis*. Плечова артерія мобілізована, взята на турнікет. В лівій передній ліктвовій ділянці по передньо-латеральній поверхні в проекції фістульної латеральної підшкірної вени руки виконано косопоzdовжній розріз довжиною 5 см. Визначається постпункційний (після підключень на гемодіалізі) рубцевий процес. Частково тупим, частково гострим шляхами з використанням біполярної діатермокоагуляції виділена *v. cephalica*, мобілізована проксимальніше ділянки стенозу, взята на турнікет.

Між розрізами затискачем Billroth сформовано підшкірний тунель, в якому розміщено реверсований ауто венозний кондуїт (дистальний кінець – до плечової артерії, проксимальний – до латеральної підшкірної вени). Кінці венозного кондуїту дилатовані за допомогою затискача типу «москіт», на 3 мм поздовжньо надсичені ножицями Kelly. *A. brachialis* перетиснута 2 судинними клемами DeBakey. Артеріотомія скальпелем № 11, краї висичені мікросудинними ножицями Castroviejo з формуванням овального «віконця» 5 x 2 мм. Артерія промита гепаринізованим фізіологічним розчином. Аутовенозний кондуїт анастомозували із плечовою артерією за типом «кінець в бік» безперервним судинним швом атравматичною поліпропіленовою ниткою 7-0 з двома колючими голками (довжина голки 9,3 мм, радіус кривизни 3/8 кола). Фістульна латеральна підшкірна вена руки перетиснута 2 судинними клемами DeBakey. Артеріотомія скальпелем № 11, краї висичені мікросудинними ножицями Castroviejo з формуванням овального «віконця» 5 x 2 мм. Стінка фістульної вени гіпертрофована. Вена промита гепаринізованим фізіологічним розчином. Аутовенозний кондуїт анастомозували із фістульною латеральною підшкірною веною руки за типом «кінець в бік» безперервним судинним швом атравматичною поліпропіленовою ниткою 7-0 з двома колючими голками (довжина голки 9,3 мм, радіус кривизни 3/8 кола). Послі-

довно зняті судинні клеми: 1 – дистальна з вени, 2 – проксимальна з вени, 3 – дистальна з артерії, 4 – проксимальна з артерії. Анастомози спроможні, прохідні. (рис. 1). В проекції аутовенозного кондуїта і латеральної підшкірної вени руки пальпаторно визначається задовільне систоло-діастолічне тремтіння. Контроль на гемостаз, чужорідні тіла. Рани дреновані гумовими випускниками, ушиті.

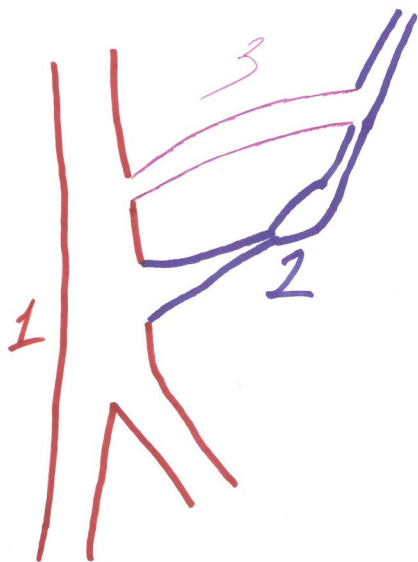


Рис. 1. Схема операції. 1 – A. brachialis, 2 – V. cephalica, 3 – Аутовенозний кондуїт з v. saphenamagna

Артеріовенозний шунт функціонує. Швидкість кровотоку через діалізатор до 300 мл/хв. Період спостереження 6 місяців.

**Обговорення.** Стенози часто виникають через гіперплазію неоінтими у відповідь на гемодинамічні зміни через те, що артеріальна кров спрямовується через венозну систему [9]. Як тільки значення стенозу набувають гемодинамічно значимого характеру (> 70% просвіту судини), виникає стан, пов'язаний із сповільненням кровотоку, підвищеним венозним тиском або аномальним фізикальним обстеженням (зменшення тремтіння або пульсації кровотоку), ризик розвитку тромбозу зростає більш ніж на 50% [10]. При формуванні артеріовенозної фістули потрібно забезпечувати візуальний контроль за судинним доступом, використовувати інструментальні методи контролю, такі як ультразвукове дуплексне сканування судинного доступу [11]. Варіації в результатах обстеження зазвичай представляють собою ускладнення і можуть вказувати на функціональні порушення, що погрожують недостатністю артеріовенозної фістули. Конкретні ускладнення та пов'язані з ними результати обстеження наведені в табл. 1 [8, 12].

Таблиця 1

#### Потенційні ускладнення з боку вен відтоку та відповідні результати обстеження

Ускладнення вен відтоку	Опис результату обстеження
Стеноз притоку артерії або незріла виносна вена	Буде представлено у вигляді малокаліберної виносної вени зі слабким тремтінням або його відсутністю.
Стеноз венозного відтоку (за участю вени відтоку або центральної вени)	Виявлятиметься як гіперпульсуюча виносна вена вгору за течією від обструкції з втратою або зміною характеру тремтіння. Крім того, вена відтоку не спадається при піднятті руки.
Аневризми або псевдоаневризми вени відтоку	Виявлятиметься у вигляді вогнищового розширення виносної вени. Це розширення може бути пов'язане з місцями канюляції, але, як варіант, можуть бути наслідком стенозу вени відтоку.

Для корекції стенозу «фістульної» підшкірної вени використовується ендovasкулярна ре каналізація (шляхом через шкірної транслюмінальної ангиопластики [13], або стентування), яка дозволяє відновити венозний відтік [14]. Але обидві методи ендovasкулярного відновлення просвіту стенозованої вени є дорогавартісними і потребують відповідного технічного устаткування (ангіограф та ендovasкулярні девайси). Враховуючи цей факт, досвід ендovasкулярних реконструкцій такого роду в Україні обмежений.

Натомість, запропонований нами спосіб є доступним і виправдано ефективним. Необхідною умовою реалізації є попереднє ультразвукове дуплексне сканування судин для визначення як патології судинного доступу для гемодіалізу

(локалізація, протяжність, ступінь стенозу), так і можливостей ангіореконструкції (у запропонованому нами способі – діаметр (не менше 2,5 мм) та прохідність великої підшкірної вени нижньої кінцівки для визначення її придатності в якості кондуїту).

**Висновки.** Ультразвукове дуплексне сканування судин необхідне для визначення як патології судинного доступу для гемодіалізу, так і можливостей ангіореконструкції. Своєчасне виконання реконструктивних втручань на ускладненому постійному судинному доступі дозволяє значно продовжити термін його функціонування. Вибір методу хірургічної корекції стенозу фістульної вени має бути персоналізованим та з пріоритетною нативною ангіореконструкцією.

**Декларація етики.** Під час збору, аналізу та оприлюднення даних забезпечено конфіденційність пацієнтки, яка надала добровільну письмову згоду на використання її даних у науковій публікації.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Джерела фінансування.** Стаття підготовлена згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри госпітальної хірургії ВНЗ «Запорізький державний

медико-фармацевтичний університет» (м. Запоріжжя) «Реконструктивно-відновлювальні операції з використанням міні-інвазивних технологій в торако-абдомінальній, серцево-судинній та ендокринній хірургії» (держреєстрація № 0117U006963).

**Інформація про внесок кожного учасника.**

**С. Р. Вільданов:** збір та аналіз даних, написання рукопису;

**В. О. Губка:** концепція та редактування статті.

## Література (References)

1. Nykonenko A, Vildanov S. Vplyv intradializnoi hipotenzii na funktsionuvannia arteriovenoznoi fistuly. *Khark khir shkola*. 2021;3:12-15. doi: 10.37699/2308-7005.3.2021.03. [In Ukrainian].
2. Sun CY, Zhong M, Song L, Chen YG, Quan ZL, Zhao LY, et al. Direct arterial puncture for hemodialysis, a neglected but simple and valuable vascular access. *BMC Nephrol*. 2022;23(1):221. doi: 10.1186/s12882-022-02836-1.
3. Vachharajani TJ, Taliencio JJ, Anvari E. New Devices and Technologies for Hemodialysis Vascular Access: A Review. *Am J Kidney Dis*. 2021;78(1):116-24. doi: 10.1053/ajkd.2020.11.027.
4. Almasri J, Alsawas M, Mainou M, Mustafa RA, Wang Z, Woo K, et al. Outcomes of vascular access for hemodialysis: A systematic review and meta-analysis. *J Vasc Surg*. 2016;64(1):236-43. doi: 10.1016/j.jvs.2016.01.053.
5. Al-Jaishi AA, Liu AR, Lok CE, Zhang JC, Moist LM. Complications of the Arteriovenous Fistula: A Systematic Review. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(6):1839-1850. doi:10.1681/ASN.2016040412.
6. Thomas SD, Sideris A, Narroway H, McLachlan R, Robertson C, Crowe P, et al. Arteriovenous fistula formation with adjuvant endovascular maturation. *J Vasc Surg*. 2022;75(2):641-650.e2. doi: 10.1016/j.jvs.2021.08.072.
7. Wongmahisorn Y. Survival and Prognostic Predictors of Primary Arteriovenous Fistula for Hemodialysis. *Ann Vasc Dis*. 2019;12(4):493-499. doi: 10.3400/avd.oa.19-00058.
8. Nykonenko A, Vildanov S, Hubka V, Budahov R. Arteriovenozna fistula dlia hemodialisu: suchasni rekomendatsii ta stratehii dogladu. *Ukr J Nephrol Dialys*. 2024;1(81):86-93. doi: 10.31450/ukrjnd.1(81).2024.10. [In Ukrainian].
9. Sarioglu O, Capar AE, Belet U. Relationship of arteriovenous fistula stenosis and thrombosis with the platelet-lymphocyte ratio in hemodialysis patients. *J Vasc Access*. 2020;21(5):630-635. doi: 10.1177/1129729819894113.
10. Cheung AK, Imrey PB, Alpers CE, Robbin ML, Radeva M, Larive B, et al. Intimal Hyperplasia, Stenosis, and Arteriovenous Fistula Maturation Failure in the Hemodialysis Fistula Maturation Study. *JASN*. 2017;28(10):3005-13. doi: 10.1681/ASN.2016121355.
11. Chytilova E, Jemcov T, Malik J, Pajek J, Fila B, Kavan J. Role of Doppler ultrasonography in the evaluation of hemodialysis arteriovenous access maturation and influencing factors. *J Vasc Access*. 2021;22(1\_suppl):42-55. doi: 10.1177/1129729820965064.
12. Arasu R, Jegatheesan D, Sivakumaran Y. Overview of hemodialysis access and assessment. *Can Fam Physician*. 2022;68(8):577-582. doi: 10.46747/cfp.6808577.
13. Khan T, Bhat M, Shah OA, Choh NA, Maqsood S, Shera TA. Percutaneous Transluminal Angioplasty of Dysfunctional Hemodialysis Vascular Access: Can Careful Selection of Patients Improve the Outcomes? *Indian J Nephrol*. 2022;32(3):233-239. doi: 10.4103/ijn.IJN\_113\_21.
14. Dolmatch B, Cabrera T, Pergola P, Balamuthusamy S, Makris A, Cooper R, et al. Prospective, randomized, multicenter clinical study comparing a self-expanding covered stent to percutaneous transluminal angioplasty for treatment of upper extremity hemodialysis arteriovenous fistula stenosis. *Kidney Int*. 2023;104(1):189-200. doi: 10.1016/j.kint.2023.03.015.



## 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

**Ibtihal Kadhim Mazyed, Fatima Aziz Mahdi Al-badry**

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.03

### Functional and structural kidney alterations associated with fertility drug administration in rats

Department of Biology, College of Education for Pure Sciences, University of Thi-Qar, Thi-Qar, Iraq

Citation:

Mazyed IK, Al-badry FAM. Functional and structural kidney alterations associated with fertility drug administration in rats. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85):15-22. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.03.

**Abstract.** Fertility stimulants are medications used to enhance reproductive fertility in both men and women. Clomiphene citrate (Clomid), Duphaston, and Procreation V are commonly used fertility drugs. However, their prolonged use has been associated with adverse effects, including histological and biochemical changes in the liver and kidney. This study aimed to evaluate renal changes in structure and function following infertility drug administration.

**Methods.** Forty-two adult female rats were divided into seven groups, including a control group and six experimental groups receiving Clomid (50 mg), Duphaston (10 mg), or Procreation V (500 mg) for one or two months. Kidney function was assessed by measuring urea, creatinine, and uric acid levels in sera. Ion levels (potassium, sodium, and calcium) were also analyzed. Histopathological examinations were conducted to identify tissue injuries.

**Results** Renal function markers (urea, creatinine, and uric acid) significantly increased in rats treated with Clomid and Duphaston for two months compared to controls ( $p < 0.05$ ). Procreation V caused mild, non-significant changes. Ion analysis showed significant increases in potassium and sodium levels ( $p < 0.05$ ), while calcium levels declined across all drug-treated groups. Histopathological findings revealed hemorrhage, necrosis, congestion, fibrosis, inflammation, and glomerular structural alterations, with more severe damage observed in Clomid and Duphaston groups following prolonged exposure.

**Conclusions.** Prolonged use of Clomid and Duphaston leads to significant kidney function impairment and structural damage, while Procreation V showed milder effects. These findings suggest potential renal risks associated with long-term fertility drug use, necessitating caution in clinical applications.

**Keywords:** rats, kidney function, urea, histological changes, Clomid, Duphaston.

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

© Ibtihal Kadhim Mazyed, Fatima Aziz Mahdi Al-badry, 2025.

Correspondence should be addressed to Ibtihal Kadhim Mazyed: [ibtihalkazem.bio@utq.edu.iq](mailto:ibtihalkazem.bio@utq.edu.iq)

**Article history:**

Received November 10, 2024

Received in revised form  
December 09, 2024

Accepted December 14, 2024



© Мазієд І. К., Фль-Бадрі Ф. З. М., 2025.

УДК: 616.61-008.6:599.323.4:612.663

Ібтіхал Кадхім Мазієд, Фатіма Азіз Махді Аль-Бадрі

## Функціональні та структурні зміни нирок, асоційовані з прийомом лікарських засобів для лікування безпліддя у щурів

Факультет біології, Освітній коледж природничих наук, Університет Ті-Кар, Ті-Кар, Ірак

**Резюме.** Стимулятори фертильності – це лікарські засоби, які використовуються для підвищення репродуктивної здатності як у чоловіків, так і у жінок. До найбільш поширених препаратів для стимуляції фертильності відносяться кломіфенцитрат (Кломід), Дюфастон та Прокацеяція V. Однак їх тривале застосування асоціюється з негативними ефектами, включаючи гістологічні та біохімічні зміни в печінці та нирках. Метою цього дослідження було оцінити структурні та функціональні зміни в нирках після застосування препаратів для лікування безпліддя.

**Методи.** Сорок дві дорослі самки щурів були розподілені на сім груп, включаючи контрольну групу та шість експериментальних груп, які отримували Кломід (50 мг), Дюфастон (10 мг) або Прокацеяція V (500 мг) протягом одного або двох місяців. Функція нирок оцінювалася за рівнями сечовини, креатиніну та сечової кислоти в сироватці крові. Також були проаналізовані рівні іонів (калію, натрію та кальцію). Проведені гістопатологічні дослідження для виявлення ушкоджень тканин.

**Результати.** Маркери функції нирок (сечовина, креатинін та сечова кислота) значно збільшилися у щурів, які отримували Кломід та Дюфастон протягом двох місяців, порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ). Прокацеяція V спричинила незначні зміни, що не були статистично значущими. Аналіз іонів показав значне підвищення рівнів калію та натрію ( $p < 0,05$ ), тоді як рівні кальцію знижувалися в усіх групах, які отримували препарати. Гістопатологічні результати виявили геморагії, некроз, конгестію, фіброз, запалення та зміни структури клубочків, при цьому більш важкі пошкодження спостерігалися в групах Кломіду та Дюфастону після тривалого застосування.

**Висновки.** Тривале застосування Кломіду та Дюфастону призводить до значних порушень функції нирок та структурних ушкоджень, в той час як Прокацеяція V має м'якші ефекти. Ці результати свідчать про потенційні ризики для нирок, пов'язані з тривалим використанням препаратів для стимуляції фертильності, що вимагає обережності при клінічному застосуванні.

**Ключові слова:** щури, функція нирок, сечовина, гістологічні зміни, Кломід, Дюфастон.

**Introduction.** Introduction. Fertility stimulants are medications that help enhance fertility levels in women and men. They enhance reproductive fertility for women by stimulating the growth of ovarian follicles [1]. Clomiphene citrate (CC) or Clomid, Duphaston, and Procreation V are examples of these drugs. Clomid is a selective modulator of estrogen receptors and is the most widely used fertility drug [2]. It stimulates ovulation by inhibiting the endogenous negative estrogen feedback on the hypothalamic-pituitary axis, leading to an increase in FSH [3]. Duphaston contains the active ingredient dydrogesterone, which is a synthetic chemical compound similar to the natural female progesterone hormone. It performs the same function by binding to progesterone receptors in the uterus and does not affect the progesterone hormone naturally secreted by the body [4].

Procreation V is a fertility supplement that improves reproductive function based on its natural components of herbs, vitamins, minerals, and antioxidants. These ingredients work to enhance ovarian function and fertility, as well as support uterine health and fetal development in the early stages of pregnancy. Studies have shown that consuming high oral doses of these drugs causes ovarian dysfunction, enlargement, vasomotor flashes, nausea, vomiting, weight gain, and shortness of breath [5], as well as histological and biochemical changes in the liver and kidneys [6]. Additionally, Procreation V affects the digestive system, causing flatulence, diarrhea, and temporary colic [7].

Despite the known side effects of these drugs on various organs, the long-term impact of fertility stimulants on kidney structure and function remains insufficiently explored. While existing studies have focused on ovarian and liver effects, the renal consequences of these treatments have not been extensively studied, especially in terms of chronic use and associated structural damage. The current study aims to fill this knowledge gap by determining renal changes in both the structure and function of the kidney following infertility drug administration.

Ibtihal Kadhim Mazyed  
ibtihalkazem.bio@utq.edu.iq

**Materials and Methods.** Drugs of infertility. In this study, three infertility drugs were utilized: clomiphene citrate (50 mg, France), Duphaston (10 mg, Netherlands), and Procreation V (500 mg, USA). The drugs were administered orally via stomach tube to the experimental groups as outlined below.

**Ethical statement.** The study was approved by the Ethical Committee Board of the Department of Biology, College of Education for Pure Sciences, University of Thi-Qar (Protocol No. 6110, Date: 09/06/2022).

**Animals.** Forty-two adult female rats (*Rattus norvegicus*), aged 11-13 weeks and weighing between 215 and 225 grams, were selected for this experiment. The rats were sourced from the animal facility of the University of Thi-Qar, College of Education for Pure Sciences, and were housed under controlled laboratory conditions with a 12-hour light/dark cycle and a room temperature of  $21 \pm 3^\circ\text{C}$ .

**Experimental design.** The rats were randomly divided into seven experimental groups, with six animals per group. The groups were as follows:

Control Group: Animals received distilled water and standard feed.

Clomid Groups:

Group 2: Animals received Clomid (50 mg) for one month.

Group 3: Animals received Clomid (50 mg) for two months.

Duphaston Groups:

Group 4: Animals received Duphaston (10 mg) for one month.

Group 5: Animals received Duphaston (10 mg) for two months.

Procreation V Groups:

Group 6: Animals received Procreation V (500 mg) for one month.

Group 7: Animals received Procreation V (500 mg) for two months.

All drugs were administered orally via stomach tube at a consistent dose throughout the experiment.

**Kidney function assessment.** To evaluate kidney function, blood samples were collected from the rats and centrifuged at 2000 rpm for 20 minutes to separate the serum. The concentrations of urea, creatinine, and uric acid were determined using commercially available kits (Biolabo, Biomerieux, France) according to the manufacturer's instructions [8]. The levels of electrolytes, including potassium, sodium, and calcium, were measured using an OPTILION analyzer. The analyzer utilized refrigerated cassettes, which were equilibrated at room temperature ( $18\text{-}30^\circ\text{C}$ ) for 14 days before use. Ion concentrations were calculated using the calibration curve, with the final results printed automatically by the device.

**Histopathological examination.** Following the experimental period, kidneys from all groups were harvested, fixed in 10% formalin, and processed for histopathological examination. The tissue samples were dehydrated in a graded ethanol series, cleared in xylene, and embedded in paraffin wax. Sections of  $4 \mu\text{m}$  thickness were cut from each tissue block and stained with hematoxylin and eosin for microscopic evaluation [9].

**Statistical analysis.** Data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (S.D.). Statistical analysis was performed using SPSS software (Version 25). Differences between groups were considered statistically significant at a p-value of  $\leq 0.05$ .

**Results.** Table 1 reports elevated kidney function parameters (urea, creatinine, and uric acid) following infertility drug administration compared to the control group.

Table 1

Effect of infertility drugs on kidney functions of female rats

Groups	Uric acid (g/dl)	Creatinine (mg/dl)	Urea (mg/dl)
Control groups	4.28 $\pm$ 0.34d	0.61 $\pm$ 0.07b	46.50 $\pm$ 6.28d
Clomid group for one month	6.96 $\pm$ 0.66b	0.68 $\pm$ 0.24b	54.00 $\pm$ 5.40c
Clomid group for two months	9.73 $\pm$ 0.58a	0.88 $\pm$ 0.07a	77.00 $\pm$ 1.89a
Duphaston group for one month	5.73 $\pm$ 0.70c	0.66 $\pm$ 0.17b	51.61 $\pm$ 4.53cd
Duphaston group for two months	7.50 $\pm$ 0.50b	0.86 $\pm$ 0.08a	68.33 $\pm$ 1.96b
Procreation V for one month	5.58 $\pm$ 0.67c	0.61 $\pm$ 0.07b	50.33 $\pm$ 1.63cd
Procreation V for two months	5.93 $\pm$ 0.74c	0.66 $\pm$ 0.18b	50.83 $\pm$ 3.81cd

Notes: Different letters indicate differences significantly ( $P \leq 0.05$ ).

Urea concentration was significantly increased ( $P \leq 0.05$ ) in the Clomid and Duphaston 2-month groups, while this increase was not significant in the Duphaston 1-month and Procreation V groups (both 1 and 2 months) compared to the control group. Addi-

tionally, a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in urea levels was observed in the Clomid and Duphaston 2-month groups compared to their respective 1-month groups. In contrast, the Procreation V 2-month group showed no significant difference in urea concentration when

compared to the 1-month group. The Clomid 2-month group exhibited the highest increase in urea levels, while the Procreation V 1-month group had the lowest.

Creatinine concentration significantly increased ( $P \leq 0.05$ ) after Clomid and Duphaston treatment for two months compared to the control group, while no significant changes were observed in the other drug groups. Treatment with Clomid and Duphaston for two months led to a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in creatinine levels compared to the 1-month treatment with these drugs. However, no significant increase was observed in the Procreation V 2-month group compared to the Procreation V 1-month group. When comparing across drug groups, a higher increase in creatinine levels was found after two months of treatment compared to one month.

Regarding uric acid, a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) was observed in all drug-treated groups compared to the control group. Comparison between the 2-month and 1-month treatments with Clomid and Duphaston showed a significant increase, except in the Procreation V 2-month group, which did not show a significant change compared to the Procreation V 1-month group. When comparing across drug groups, the Clomid 2-month group exhibited the highest elevation in uric acid levels, while the Procreation V 1-month group had the lowest concentration.

Table 2 shows a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in potassium levels in the Clomid and Duphaston treatment groups compared to the control group.

Table 2

### Effect of infertility drugs on the level of ions of female rats

Groups	Calcium (mg/dl)	Sodium mMol / L	Potassium mMol / L
Control group	9.49±0.48a	131.80±0.81g	4.55±0.48e
Clomid group for one month	7.87±0.75b	145.24±0.72c	5.93±0.38bc
Clomid group for 2 months	3.78±0.41d	165.52±0.94a	6.66±0.54a
Duphaston group for one month	8.40±0.45b	143.46±1.02d	5.60±0.30bcd
Duphaston group for 2 months	5.03±0.64c	151.95±0.85b	6.17±0.58ab
Procreation V for one month	8.32±0.81b	135.68±1.56f	5.13±0.62de
Procreation V for 2 months	8.51±0.29b	140.88±1.18e	5.39±0.16cd

Notes: Different letters indicate differences significantly ( $P \leq 0.05$ ).

A significant elevation ( $P \leq 0.05$ ) in potassium levels was also observed when comparing the Clomid and Duphaston 2-month groups with their respective 1-month groups. However, no significant increase in potassium levels was found in the Procreation V 2-month group compared to the Procreation V 1-month group. The highest potassium level was observed in the Clomid 2-month group, while the lowest level was found in the Procreation V 1-month group.

Sodium levels were significantly increased ( $P \leq 0.05$ ) in all infertility drug-treated groups compared to the control group. Additionally, a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in sodium levels was noted when comparing the 2-month treatment groups with the 1-month treatment groups for all infertility drugs. The highest sodium level was found in the Clomid 2-month group, while the lowest level was observed in the Procreation V 1-month group.

Furthermore, a significant decrease ( $P \leq 0.05$ ) in calcium levels was observed in all drug-treated groups compared to the control group. A significant decrease ( $P \leq 0.05$ ) was also noted in the Clomid and Duphaston 2-month groups compared to their respective 1-month groups, while no significant decrease was observed in the Procreation V 2-month group compared to the Pro-

creation V 1-month group. The smallest decrease in calcium was found in the Clomid 2-month group, while the greatest decrease was observed in the Procreation V 1-month group.

There is histopathological tissue injury in the kidney that happens after drugs of infertility treatment. Normal structures of the kidney are shown in Figure 1.

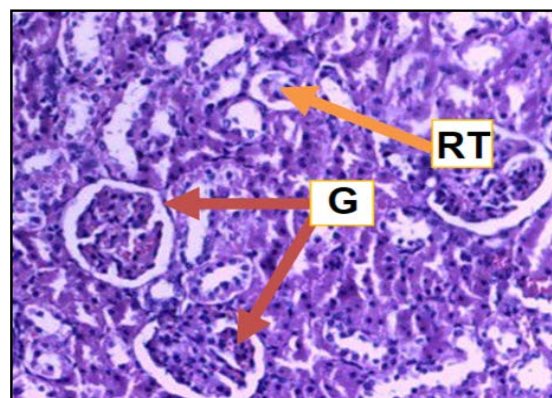


Fig. 1. Normal kidney structure in the control group. The figure shows the normal structure of the kidney in the control group, including glomeruli (G) and renal tubules (RT) (H&E, 100X).

Tissue damage observed includes hemorrhage, necrosis, congestion, fibrosis, inflammation, edema, and structural changes in the glomeruli, such as break-

down, absence, death, and bleeding. The histopathological findings for each treatment group are shown in Fig. 2-6.

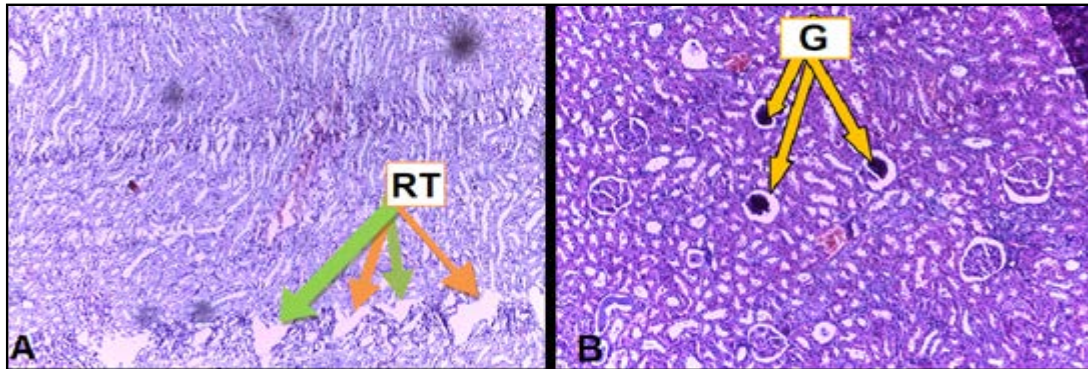


Fig. 2. Histopathological tissue injury in the Clomid 1-month Group.  
 A) Necrosis of renal tubules (RT) in the Clomid 1-month group.  
 B) Glomerular degeneration (G) in the Clomid 1-month group (H&E, 100X).

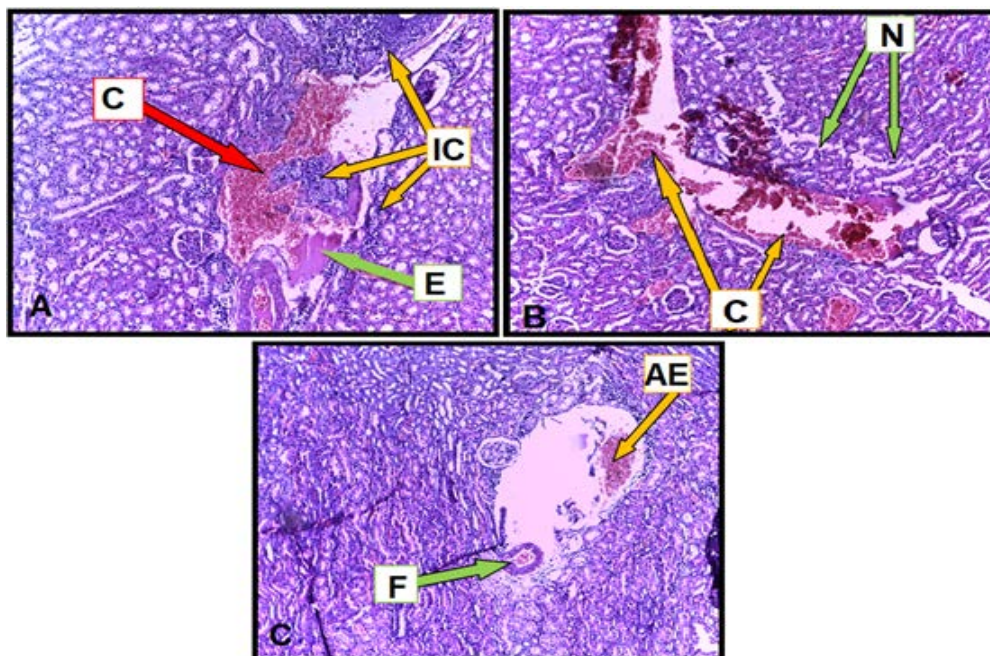


Fig. 3. Histopathological tissue injury in the Clomid 2-month Group.  
 A) Various tissue injuries, including congestion (C), edema (E), and infiltration of inflammatory cells (IC).  
 B) Severe congestion (C) and necrosis (N).  
 C) Aggregation of erythrocytes (AE) and fibrosis (F) in the Clomid 2-month group (H&E, 100X).

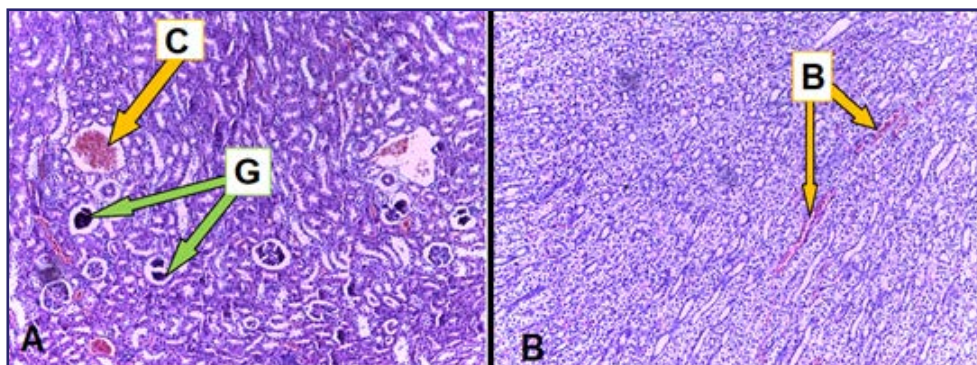


Fig. 4. Histopathological tissue injury in the Duphaston 1-month Group.  
 A) Glomerular degeneration (G) and congestion (C).  
 B) Bleeding in tubules (B) in the Duphaston 1-month group (H&E, 100X).

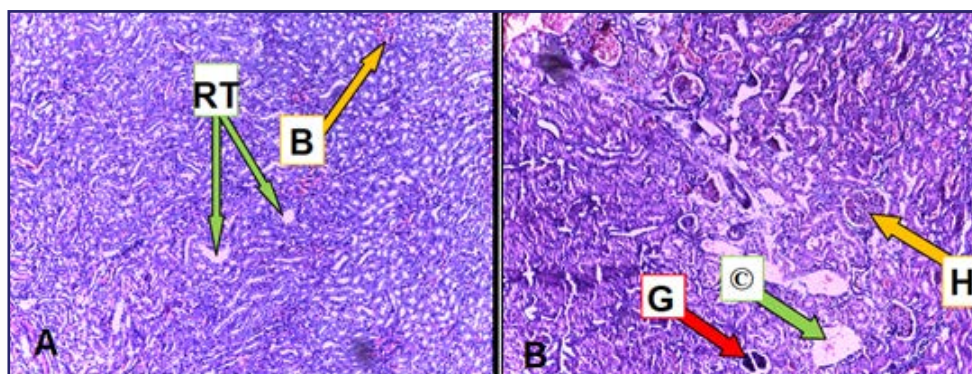


Fig. 5. Histopathological tissue injury in the Duphaston 2-month Group.

A) Dilation of renal tubules (RT) and bleeding (B).

B) Hemorrhage (H), absence (C), and glomerular degeneration (G) in the Duphaston 2-month group (H&E, 100X).

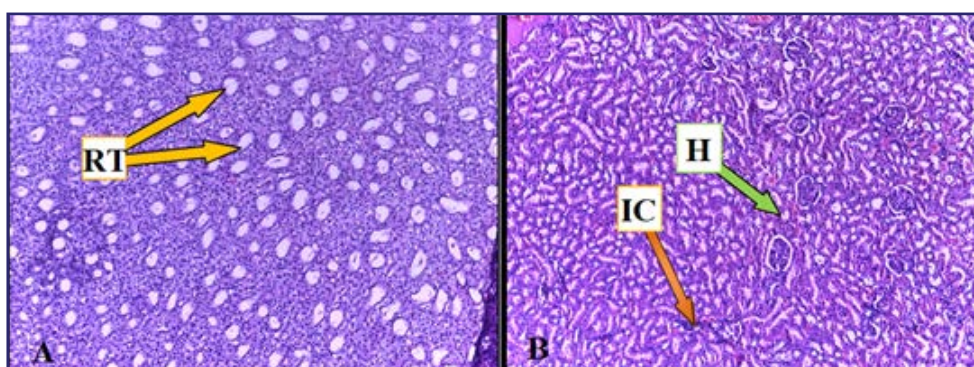


Fig. 6. Histopathological tissue injury in the Procreation V 1-month and 2-month Groups.

A) Normal tubules (RT) in the Procreation V 1-month group.

B) Hemorrhage (H) and mild infiltration of inflammatory cells (IC) in the Procreation V 2-month group (H&E, 100X).

**Discussion.** An increased number of kidney parameters were observed in all groups treated with infertility drugs compared to the control group. Notably, significant elevations in urea, creatinine, and uric acid were found, particularly in the groups treated with Clomid and Duphaston for an extended duration (two months). These increases are associated with the use of infertility drugs, which affect kidney function, leading to altered markers of kidney performance. This finding is consistent with the study by Gowda et al. [10], which highlighted that kidney disorders can lead to impaired function indicators such as creatinine and uric acid. The elevated levels of urea and uric acid may also be linked to increased blood glucose levels induced by infertility stimulants, as suggested by Dabala [11], who reported that renal failure could result from vasodilation and elevated glucose levels.

Regarding the effect of infertility drugs on electrolytes, the current results indicate an increase in potassium and sodium levels following treatment. This may be related to elevated estrogen levels, which is consistent with the findings of Wong et al. [12], who demonstrated that steroid hormones like estrogen have differential effects on potassium channels. Additionally, changes in the permeability of cellular membranes due to estrogen disturbances may also explain the elevated ion levels. This observation aligns with the work of Carolyn and Peter [13], who noted that variations in estrogen levels influence the movement and passage of ions, particularly potassium, across membranes. The observed de-

cline in calcium levels is likely due to ion imbalances induced by infertility drug treatment, which is in agreement with Wei et al. [14], who reported that reduced calcium levels can indirectly affect potassium levels.

Histopathological analysis revealed tissue injuries in the groups treated with infertility drugs, including inflammation, necrosis, congestion, hemorrhage, fibrosis, edema, and damage to the glomeruli, such as death, bleeding, absence, and breakdown. These injuries are likely linked to the use of infertility drugs. Mahimainthan et al. [15] reported glomerular hypertrophy due to hyperplasia of glomerular epithelial cells. The enlargement of glomeruli could be attributed to the infiltration of inflammatory cells, which is supported by the findings of Dervisoglu et al. [16], who observed that inflammation leads to hypertrophy, a process potentially induced by the use of infertility stimulants.

Necrosis observed in histological sections of the kidney may be linked to hyperglycemia resulting from the drug treatment, a finding consistent with Marcheix et al. [17], who reported that elevated blood glucose levels contribute to necrosis. Additionally, hyperglycemia can stimulate oxidation enzymes, as noted by Rabol et al. [18]. These pathological changes could also be a consequence of ovarian hyperstimulation syndrome, which is induced by infertility drugs. This is in agreement with Kobak et al. [19], who demonstrated that Clomiphene citrate can cause ovarian hyperstimulation syndrome, potentially leading to renal complications.

Clomid is widely prescribed to women with ovulatory issues, particularly in the case of polycystic ovary syndrome (PCOS), and is considered an affordable first-line treatment compared to more invasive fertility procedures. Clomid is also occasionally used in men to treat infertility by stimulating testosterone production. Duphaston is prescribed for conditions such as dysmenorrhea, irregular menstrual cycles, luteal phase deficiency, recurrent miscarriage, endometriosis, and hormone replacement therapy. Procreation V is utilized in advanced assisted reproductive technologies, including in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, and cryopreservation techniques. It is also used in genetic screening and editing through preimplantation genetic testing, personalized medicine in fertility, fertility preservation, and third-party reproduction.

Our study has several limitations. The primary limitations include the small sample size and the short duration of the study. Additionally, Clomid is associated with a low pregnancy success rate, limited effectiveness after 3-6 cycles, and potential side effects. Furthermore, all the agents used in this study are less effective in cases of severe ovulatory dysfunction or the presence of tubal or uterine factors.

**Conclusions.** The intake of infertility stimulants over two months led to impaired kidney function, evidenced by elevated levels of urea, creatinine, and uric acid, with more pronounced tissue damage. Additionally, these drugs caused an increase in potassium and sodium levels, alongside a decrease in calcium levels. Histopathological analysis revealed significant kidney tissue injuries, including edema, infiltration of inflammatory cells, necrosis, fibrosis, congestion, bleeding, and renal tubule dilation. Structural alterations in the glomeruli, such as shrinkage, cell death, bleeding, and breakdown, were also observed.

**Conflicts of interest statement.** The authors have no competing interests to declare.

**Funding source.** The authors declare that there is no funding source.

**Author contributions:**

**Ibthil Kadhim Mazyed:** Conceptualization; data curation; investigation; methodology; project administration; software; supervision; visualization; writing – original draft and writing – review & editing;

**Fatima Aziz Mahdi Al-badry:** Conceptualization; investigation; methodology; project administration; resources; supervision; validation; visualization; writing – original draft and writing – review & editing.

## References

1. Walker MH, Tobler KJ. Female Infertility. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556033/>.
2. Fauser BC. Reproductive endocrinology: revisiting ovulation induction in PCOS. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(12):704-5. doi: 10.1038/nrendo.2014.156.
3. Jungheim ES, Odibo AO. Fertility treatment in women with polycystic ovary syndrome: a decision analysis of different oral ovulation induction agents. *Fertil Steril*. 2010;94(7):2659-64. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.03.077.
4. Groom KM. Preterm labour. Pharmacological prevention of prematurity. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007;21(5):843-56. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2007.03.010.
5. Mbi Feh MK, Patel P, Wadhwa R. Clomiphene. In: StatPearls. [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559292/>.
6. Al-Amoudi WM. Biochemical and Histological Effects of Clomiphene citrate on Liver of Female Albino Rat. *J Am Sci*. [Internet]. 2012;8(5):646-651. Available from: [https://www.jofamericanscience.org/journals/amsci/am0805/069\\_9187am0805\\_646\\_651.pdf](https://www.jofamericanscience.org/journals/amsci/am0805/069_9187am0805_646_651.pdf).
7. Yi Z, Yang X, Liang Y, Tong S. Iron oxide nanozymes enhanced by ascorbic acid for macrophage-based cancer therapy. *Nanoscale*. 2024;16(30):14330-14338. doi: 10.1039/d4nr01208a.
8. Mickiewicz B, Thompson GC, Blackwood J, Jenne CN, Winston BW, Vogel HJ, Joffe AR. Biomarker Phenotype for Early Diagnosis and Triage of Sepsis to the Pediatric Intensive Care Unit. *Sci Rep*. 2018;8(1):16606. doi: 10.1038/s41598-018-35000-7.
9. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practices of histological technique. 2nd ed. Churchill Elsevier. London, 2008:56-60.
10. Gowda S, Desai PB, Kulkarni SS, Hull VV, Math AA, Vernekar SN. Markers of renal function tests. *N Am J Med Sci*. [Internet]. 2010;2(4):170-3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22624135/>.
11. Dabla PK. Renal function in diabetic nephropathy. *World J Diabetes*. 2010;1(2):48-56. doi: 10.4239/wjd.v1.i2.48.
12. Wong CM, Tsang SY, Yao X, Chan FL, Huang Y. Differential effects of estrogen and progesterone on potassium channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Steroids*. 2008;73(3):272-9. doi: 10.1016/j.steroids.2007.10.010.
13. Webb C, Collins P. Estrogen and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Circulation*. 2003;107(24):e221; author reply e221. doi: 10.1161/01.CIR.0000077524.24975.02.

14. *Wei AD, Gutman GA, Aldrich R, Chandy KG, Grissmer S, Wulff H.* International Union of Pharmacology. LII. Nomenclature and molecular relationships of calcium-activated potassium channels. *Pharmacol Rev.* 2005;57(4):463-72. doi: 10.1124/pr.57.4.9.
15. *Mahimainathan L, Das F, Venkatesan B, Choudhury GG.* Mesangial cell hypertrophy by high glucose is mediated by the downregulation of the tumor suppressor PTEN. *Diabetes.* 2006;55(7):2115-25. doi: 10.2337/db05-1326.
16. *Dervisoglu E, Kozdag G, Etiler N, Kalender B.* Association of glomerular filtration rate and inflammation with left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease patients. *Hippokratia.* [Internet]. 2012;16(2):137-42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3738415/>.
17. *Marcheix B, Vanden Eynden F, Demers P, Bouchard D, Cartier R.* Influence of diabetes mellitus on long-term survival in systematic off-pump coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg.* 2008;86(4):1181-8. doi: 10.1016/j.athoracsur.2008.06.063.
18. *Rabøl R, Boushel R, Dela F.* Mitochondrial oxidative function and type 2 diabetes. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2006;31(6):675-83. doi: 10.1139/h06-071.
19. *Kobak S, Hacivelioglu S, Gungor S.* Scleroderma renal crisis and ovarian hyperstimulation syndrome related to the use of clomiphene in a patient with scleroderma. *Reumatol Clin.* 2014;10(1):51-3. doi: 10.1016/j.reuma.2012.11.003.



## 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

Ievgeniia A. Burlaka

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.04

### Oxidative stress and hypoxia parameters in children with nephrotic syndrome

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Citation:

Burlaka Ie. Oxidative stress and hypoxia parameters in children with nephrotic syndrome. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85):23-28. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.04.

**Abstract.** Nephrotic syndrome (NS) is a kidney disorder caused by increased permeability of the glomerular filtration barrier. The diagnosis is based on four main clinical features: edema, hyperlipidemia, hypoalbuminemia, and proteinuria. The pathogenesis of NS is linked to multiple pathways, including inflammation and apoptosis. The present study aimed to assess oxidative stress and hypoxia parameters in children with NS.

**Methods.** This cross-sectional study included 88 patients with NS at different stages of chronic kidney disease (CKD) and 25 healthy individuals (control group). Plasma samples were used to measure intracellular hypoxia-inducible factor alpha (HIF-1 $\alpha$ ) and manganese superoxide dismutase (Mn-SOD). The levels of superoxide radicals were assessed using the electron paramagnetic resonance (EPR) method. ANOVA, followed by the post hoc Kruskal-Wallis test for multiple comparisons, was used to determine statistical significance. Statistical analysis was performed using Past4 software for Windows. A  $p$ -value  $<0.05$  was considered statistically significant.

**Results.** A significant increase in the generation rate of superoxide radical anions ( $O_2^{\cdot-}$ ) by neutrophils was detected in all children with NS ( $1.55 \pm 0.7$  nmol/ $1 \times 10^3$  cells/min in the CKD I stage group and  $2.79 \pm 0.22$  nmol/ $1 \times 10^3$  cells/min in the CKD II–III stage group,  $p < 0.01$ ). The expression of Mn-SOD was reduced to  $76.57 \pm 4.62\%$  in the CKD I stage group and further decreased to  $59.03 \pm 3.23\%$  in the CKD II–III stage group, compared to the control group ( $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively). Individual analysis of plasma HIF-1 $\alpha$  levels and Mn-SOD levels revealed a significant inverse correlation between these biomarkers ( $r = -0.71$ ,  $p < 0.0001$ , CI:  $-0.8003$  to  $-0.5878$ ).

**Conclusions.** This study demonstrates that oxidative stress activation leads to a significant reduction in antioxidative capacity in children with nephrotic syndrome. An inverse correlation was observed between Mn-SOD levels and plasma HIF-1 $\alpha$  levels, suggesting a potential interplay between oxidative stress and hypoxia in NS pathogenesis.

**Key words:** oxidative stress, anti-oxidative defense, hypoxia, nephrotic syndrome, children.

**Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

#### Article history:

Received December 02, 2024

Received in revised form

February 07, 2025

Accepted February 09, 2025

© Ie. Burlaka, 2025.

Correspondence should be addressed to Ievgeniia Burlaka: [evgbur1982@gmail.com](mailto:evgbur1982@gmail.com)



© Бурлака Є. А., 2025

УДК: 616.61-008.6:577.152.1]-053.2

Є. А. Бурлака

## Показники окисного стресу та гіпоксії у дітей з нефротичним синдромом

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

**Резюме.** Нефротичний синдром (НС) є захворюванням нирок, яке виникає в результаті підвищення проникності клубочкового фільтраційного бар'єру. набряки, гіперліпідемія, гіпоальбумінемія та протеїнурія є чотирма основними клінічними ознаками, які використовуються для встановлення діагнозу. Патогенез НС пов'язаний з кількома шляхами, включаючи запалення, апоптоз, тощо. Метою цього дослідження було вивчення показників окислативного стресу та гіпоксії у дітей з НС.

**Методи.** Проведено одномоментне дослідження, в яке включено 88 пацієнтів з НС з різною стадією хронічної хвороби нирок (ХХН) та 25 здорових дітей (контрольна група). Зразки плазми використовували для вимірювання маркера внутрішньоклітинної гіпоксії, - гіпоксія-індукованого фактора 1-альфа (HIF-1 $\alpha$ ) та антиоксидантного маркера манганцевої супероксиддисмутази (Mn-SOD). Метод електронного парамагнітного резонансу (ЕПР), використаний для вимірювання рівнів супероксидних радикалів. ANOVA з тестом Краскела-Уолліса для порівняння незалежних змінних, застосовано для перевірки значущості відмінностей. Програмне забезпечення Past4 для Windows використано для статистичної обробки даних. Значення  $P < 0,05$  вважаються статистично значущими.

**Результати.** Значне прискорення швидкості генерації супероксидних радикалів ( $O_2^-$ ) нейтрофілами, виявлено в усіх дітей із НС ( $1.55 \pm 0.7$  нмоль/л  $\cdot 10^3$  клітин  $\cdot$  хв у групі ХХН I стадії та  $2.79 \pm 0.22$  нмоль/л  $\cdot 10^3$  клітин  $\cdot$  хв у групі з ХХН II-III стадії,  $p < 0.01$ ). Експресія Mn-SOD знизилася до  $76.57 \pm 4.62\%$  порівняно з контролем у групі ХХН I стадії та до  $59.03 \pm 3.23\%$  у групі з ХХН II-III стадії ( $p < 0.01$  та  $p < 0.001$  відповідно, порівняно з групою контролю). Індивідуальний аналіз рівня HIF-1 в плазмі крові та рівня антиоксидантного ферменту Mn-SOD у виявив наявність негативної кореляції між цими біомаркерами ( $r = -0.71$ ,  $p < 0.0001$ , ДІ: від  $-0.8003$  до  $-0.5878$ ).

**Висновки.** Було показано, що фоновий стан, пов'язаний з активацією окислативного стресу, викликає значну втрату антиоксидантної здатності у дітей з нефротичним синдромом. Індивідуальний аналіз показників виявив зворотний негативний кореляційний зв'язок між рівнями антиоксидантного ферменту Mn-SOD і HIF-1.

**Ключові слова:** окислативний стрес, антиоксидантний захист, гіпоксія, нефротичний синдром, діти.

**Introduction.** Heavy proteinuria, hypoalbuminemia, hyperlipidemia, and edema are caused by the glomerular filtration barrier's enhanced permeability in nephrotic syndrome. It has been reported that there are two to seven instances per 100,000 children, mainly affecting the pediatric population [1]. Inflammation and oxidative stress have been linked to the pathophysiology and consequences of neuropathy, even though the condition is frequently idiopathic in juvenile patients [1, 2]. The majority of individuals with idiopathic NS experience clinical remission after 4 weeks of therapy with glucocorticoids. No matter how long they have been exposed to glucocorticoids or whether they are in remission, children with NS have more cardiovascular risk factors than other pediatric patients [1, 3].

Hypoxia in those kids is associated with inflammation and oxidative damage. Reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant system that neutralizes them are out of balance in an oxidative stress state, which impairs cellular signaling and causes cell damage [4]. By weakening the glomerular filtration barrier, encouraging inflammation, changing lipid metabolism, compromising endothelial function, and inducing cellular damage, oxidative stress can play a role in the onset and progression of NS [5]. Numerous investigations have demonstrated that NS patients have significant levels of oxidative stress during the acute stage of the illness, and other research has found that oxidative stress indicators are elevated even after the disease has responded to steroid treatment [6–8].

Despite their resource-intensive and time-consuming nature as well as their limitations in capturing the combined prooxidant and antioxidant impact, previous NS research predominantly assessed individual prooxidant and antioxidant indicators [2, 8, 9]. Previous research mostly concentrated on lipid peroxidation in NS, particularly malondialdehyde (MDA) [8, 9].

Ievgeniia Burlaka  
evgbur1982@gmail.com

Evaluation of both damaged stable molecules and antioxidant molecules, including enzymatic and non-enzymatic antioxidants, is required for the assessment of oxidative stress.

This study's goal is to assess the parameters of hypoxia and oxidative stress status in kids with hormone-sensitive forms of NS to look for any potential correlations between them.

**Material and methods.** Patients. This cross-sectional study was carried out on 88 children with nephrotic syndrome. Informed written consent was obtained from the parents of all participants. The study was approved by the local ethical committee of the Medical University and the research complied with the Helsinki Declaration. The inclusion criteria were as follows: children with steroid-sensitive nephrotic syndrome (SSNS) (proteinuria  $>3$  gm/day, hypoalbuminemia, and edema; patients who were informed and agreed to participate in this study. The exclusion criteria were the following: patients with steroid-resistant forms of NS; patients with missing clinical data, patients with other proteinuric diseases; and patients with concomitant inflammatory, autoimmune diseases, cancer, diabetes, and allergy. The steroid-sensitive nephrotic syndrome (SSNS) group were those who responded to steroid treatment within 8 weeks. The control group consists of 25 healthy individuals. We used an online calculator to determine body mass index (BMI) from weight (kg) and height (cm) for children. Blood pressure measurement was measured in a sitting position by using a mercury sphygmomanometer with an appropriate cuff size. The glomerular filtration rate (GFR) was evaluated using the online calculator.

**Immunoblotting for detection of HIF-1 $\alpha$ .** Plasma samples were used to measure marker intracellular hypoxia HIF-1 $\alpha$  and Mn-SOD. Proteins solubilized in Laemmli sample buffer were resolved in polyacrylamide gels by SDS-PAGE and transferred to a polyvinylidene difluoride membrane. Membranes were then blocked in 5% non-fat milk in TBS-T (136 mM NaCl, 10 mM Tris, 0.05% Tween 20) and immunoblotted using the HIF-1 $\alpha$  Ab (Cell Signaling Technology, Danvers, MA USA) for 1 hour at room temperature. The actin mouse mAb was used as a loading control. After three washes with TBS-T, the membranes were incubated with secondary anti-rabbit or anti-mouse antibodies labeled with horseradish peroxidase for 1 hour at room temperature. Membranes were washed three times with TBS-T. The protein bands were visualized by chemiluminescent substrate ECL. Quantification of the protein content was done by densitometric analysis.

**Superoxide detection.** The method of determining the rate of the superoxide generation is carried out as follows. Neutrophils are isolated from 2 ml of venous blood of the studied patients with 3% trilon B according to a known method. The resulting cells used to measure the generation of superoxide radical anions using the spin trap 1-hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-4-oxopiperidine hydrochloride (TEMPONE-H) and the

method electron paramagnetic resonance (EPR) in a special paramagnetically clean quartz cuvette at room temperature.

**Statistics.** The data is expressed as means  $\pm$  SEM and as frequencies and percentages when appropriate. ANOVA followed by the post hoc Kruskal-Wallis test for multiple comparisons used to test the significance of differences. Pearson correlation was run to study the correlation between factors. The sample size was calculated by online calculator. The power equaled 0.9 used in this study. Data processed using Past4 Software for Windows (USA). P values  $<0,05$  are considered statistically significant.

**Results.** Patients. The main causes of NS in the examined children were glomerulopathies (focal segmental glomerulosclerosis, membranous glomerulonephritis) – 92%, IgA nephropathy – 5%, rapidly progressive glomerulonephritis – 3%. Examination of children with NS included general clinical examination; complete blood count; urinalysis; daily proteinuria measurement; blood glucose test; biochemical parameters measurement – blood protein, Serum creatinine and urea, blood serum cholesterol; instrumental examination - electrocardiography (ECG), ultrasound examination of abdominal organs and kidneys (USD), daily blood pressure monitoring.

The average age of patients is  $12.25 \pm 0.85$  years, and the average duration of the disease is  $7.65 \pm 0.33$  years. 55.3% of the patients included in the study were boys and 44.7% were girls. The average value of BMI was  $21.8 \pm 0.73$ . Values of heart rate and blood pressure were measured at the reception before inclusion in the study. The heart rate value was  $84.67 \pm 3.02$  bpm. Systolic blood pressure in the group was  $126.5 \pm 2.44$  mmHg, diastolic blood pressure was  $81.22 \pm 1.08$  mmHg. Edema was detected in all examined subjects, and hypertension in 48.6%.

All patients underwent a complete blood count test. Indicators of erythrocytes, leukocytes, platelets, Hb, and ESR were analyzed. Erythrocytes number was  $4.02 \pm 0.3 \cdot 10^{12}/l$ , leukocytes  $8.37 \pm 0.65 \cdot 10^9/l$ , platelets  $297.6 \pm 8.64 \cdot 10^9/l$ , hemoglobin –  $118.2 \pm 1.62$  g/l, ESR –  $13.8 \pm 1.13$  mm/h.

The main biochemical indicators of all children with NS were evaluated. Proteinuria level, GFR, and serum creatinine level were selected as indicators for kidney function assessment. The average level of proteinuria was  $8.12 \pm 0.8$  g/24 h, GFR -  $95.4 \pm 4.04$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, serum creatinine  $70.23 \pm 2.38$   $\mu$ mol/l. The level of cholesterol in the blood serum as a marker of lipid metabolism disorders was recorded at the level of  $10.24 \pm 1.33$  mmol/l, total blood protein  $49.17 \pm 1.5$  g/l, blood alpha2 globulins  $25.57 \pm 0.3$  g/l.

In the course of the study, it was established that the main complaints of patients with NS were: edema - in 88 (100%) of the examined, headaches - in 67 (76.1%) patients, lack of appetite - in 61 (68.9%), thirst – in 69 (78.9%) examinees (Fig. 1).

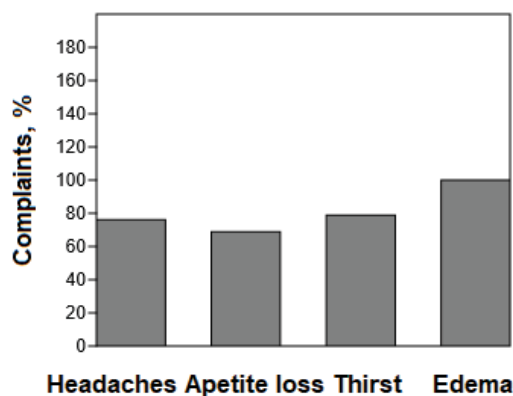


Fig. 1. Complaints in examined children with nephrotic syndrome.

#### Markers of oxidative stress in nephrotic children.

A study of the levels of activation of blood neutrophils in children with NS revealed a significant acceleration of the rate of generation of superoxide radical anions ( $O_2^-$ ), characteristic of chronic inflammation (Fig. 2).

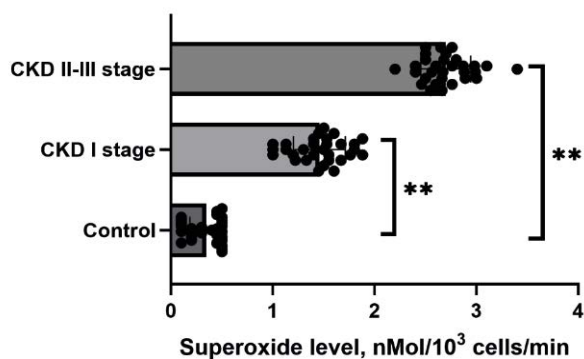


Fig. 2. Levels of inflammatory activation of blood neutrophil granulocytes in children with NS and controls depending on the CKD stage. Note: \*\* –  $p < 0.01$  – statistically significant level.

At the same time, the degree of inflammatory activation of cells depended on the presence of a violation of the filtering function of the kidneys - more pronounced changes were recorded in patients with a slowing of the rate of GFR in CKD II-III stage ( $2.79 \pm 0.22$  nmol/1·10<sup>3</sup> cells·min versus  $1.55 \pm 0.7$  nmol/1·10<sup>3</sup> cells·min in the group with CKD I stage,  $p < 0.01$ ).

Oxidative stress is an important pathogenetic component in the development of inflammation in kidney pathologies that have a chronic course. Oxidative stress develops as a result of an imbalance between the level of production of radical forms of oxygen and the state of activity of antioxidant protection. The development of oxidative stress is the primary disturbance in the occurrence of the following. The following signaling reactions are associated with the activation of cellular signaling, which triggers cell apoptosis, a decrease in their regenerative capacity, and fibrosis. These factors have a stochastic damaging effect on kidney function.

ROSs are very destructive molecules for cells. At the same time, these ROSs play an important physiological role in kidney physiology, acting as activators in signaling pathways. However, even with their formation

in the processes of normal mitochondrial respiration, RFK can accumulate excessively, which ultimately leads to the loss of positive aspects of their cellular and tissue functions and, ultimately, to the development of a pathological process.

The kidney is a highly functional organ, the functioning of which relies heavily on aerobic metabolism for the production of ATP by oxidative phosphorylation. Recovery of molecular  $O_2$  in the mitochondrial respiratory chain is vital for kidney cell function, but potentially disruptive in the long term. The mitochondrial respiratory chain consists of five multi-enzyme complexes, which are responsible for maintaining mitochondrial membrane potential and ATP synthesis. Each of these complexes is a ROS generation site; however, the main ones are complexes I and III, which are defined as the main  $O_2$  sites of generation. Damage to respiratory complexes and substrates leads to ineffective electron transfer, and the subsequent increase in ROS synthesis, decrease in ATP synthesis, and loss of mitochondrial membrane potential. The above-described processes take place in diseases that are associated with chronic inflammation, which is accompanied by the activation of oxidative stress.

The state of antioxidant protection in children with nephrotic syndrome. The levels of Mn-SOD were analyzed in all patients. A decrease in the level of antioxidant protection was found in all children with NS. At the same time, the degree of inhibition of antioxidant protection in NS depends on the presence of impaired kidney function. Thus, with preserved function (CKD I stage), the expression of Mn-SOD was reduced to  $76.57 \pm 4.62\%$ , compared to the control. With a more prominent decrease in GFR (CKD II-III stage), a decrease in the level of the indicator was observed down to  $59.03 \pm 3.23\%$  ( $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively, compared to the control group) (Fig. 3).

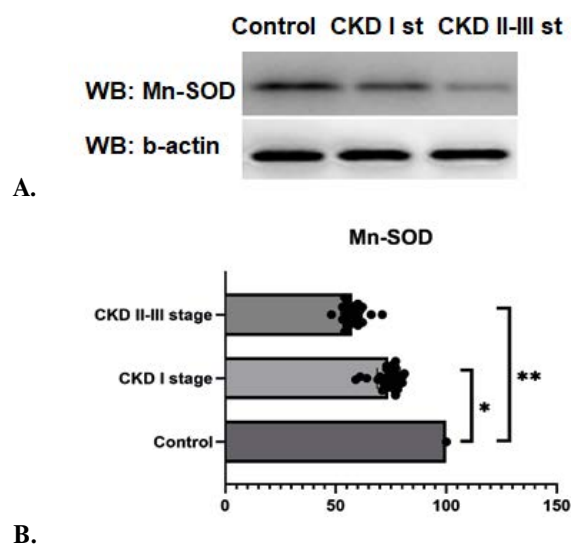


Fig. 3. (A) Western blot of the antioxidant biomarker Mn-SOD in children with NS and various stages of CKD. (B) Indicators of Mn-SOD levels in children with NS and various stages of CKD. \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  – statistically significant levels. WB – Western Blotting.

Individual analysis of the level of HIF-1 $\alpha$  plasma and the level of the antioxidant enzyme Mn-SOD in patients determined the presence of an inverse negative correlation ( $r=-0.71$ ,  $p<0.0001$ , CI:  $-0.8003$  to  $-0.5878$ ) (Fig. 4). These data indicate the dependence of the level of chronic hypoxia on the degree of damage to the filtration barrier of the kidneys and confirm the direct involvement of hypoxic damage in the progression of NS.

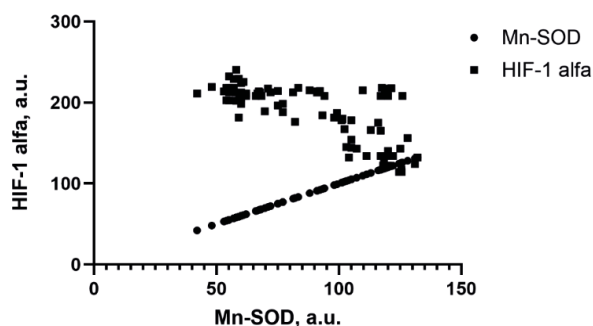


Fig. 4. The relationship between the plasma HIF-1 $\alpha$  level and the antioxidant enzyme Mn-SOD in children with nephrotic syndrome.

**Discussion.** The inflammation underlying the pathogenesis of NS is manifested both in the form of an isolated local inflammatory reaction and as part of a systemic inflammatory disorder that leads to interstitial fibrosis, tubular atrophy, and glomerulosclerosis [2-4].

Cellular reactions that take part in the implementation of this inflammation include activation, migration, and adhesion of pro-inflammatory cells (neutrophils, monocytes/macrophages, lymphocytes) with the implementation of a wide range of inflammatory mediators, including adhesion molecules, proteases, enzymes, oxygen free radicals, chemokines, growth factors, pro- and anti-inflammatory cytokines [10]. We have previously shown that pediatric patients with NS have high levels of hypoxia and this parameter gradually progresses with decreased kidney function [11, 12].

Numerous diseases have been linked to oxidative stress, which is an imbalance between the body's antioxidant defenses and the creation of ROS. Numerous illnesses, such as autoimmune disorders, metabolic diseases, and cardiovascular pathologies, demonstrate the significant influence of oxidative stress on cellular homeostasis and tissue integrity. Disturbance of redox balance is a major factor in the initiation of inflammatory reactions and exacerbation of various medical disorders, including rheumatoid arthritis, diabetes mellitus, atherosclerosis, obesity, and hypertension [13].

Because hypoxia plays a major role in renal fibrosis, it may be possible to prevent or delay the illness by therapeutically modifying the hypoxic response. Hypoxia-inducible factors (HIFs), such as HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$ , are the main agents that trigger the cellular hypoxic response [14].

Oxygen level has a specific impact on HIF-1 $\alpha$  stability, subcellular localization, and transcriptional activity. Hypoxia, on the other hand, prevents the HIF-

1 $\alpha$  protein from degrading and increases HIF-1 $\alpha$  levels, which then bind to HIF-1 $\beta$  and activate target genes through transcription [15].

Oxidative stress and increased generation of reactive oxygen species (ROS) have also been linked to hypoxia [16]. ROS is a tool with two sides. Low ROS concentrations are crucial signaling molecules in a variety of pathological mechanisms. On the other hand, too much ROS causes cellular damage and starts the cell death process. HIF-1 is a heterodimer consisting of an O<sub>2</sub>-regulated  $\alpha$  subunit and a constitutively produced  $\beta$  subunit that plays a crucial role in cellular responses to hypoxia.  $\alpha$  subunit levels are controlled by ubiquitin-dependent proteasomal degradation in a normoxic environment [14-16].

The production of ROS under physiological conditions is in balance with the activity of antioxidant systems, such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione (GSH). It is shown that the accumulation of oxidative damage occurs mainly due to a decrease in the level of endogenous antioxidants, in parallel with an increase in the production of ROS. Thus, adequate activity levels of the body's antioxidant systems are vitally important for normal cell function [13].

Mitochondria have their own system of antioxidants, such as mitochondrial manganese-SOD (Mn-SOD), and copper/zinc-SOD (Cu/Zn-SOD), which converts O<sub>2</sub><sup>-</sup> into H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which then decomposes into H<sub>2</sub>O and O<sub>2</sub>. GPX is also present in mitochondria [17].

Inflammation, and activation of ROS generation by mitochondrial, cytoplasmic, and extracellular sources leads to the development of oxidative stress [13]. Endogenous antioxidants, ensure the termination of the lipid peroxidation reaction in the phospholipid bilayer of cell membranes.  $\omega$ -3 fatty acids displace arachidonic acid in the cell membrane and thereby reduce the formation of ROS, which are derivatives of arachidonic acid, thereby significantly reducing inflammation and subsequent fibrosis [13-17]. Significant consequences of oxidative stress in plasma proteins are called advanced oxidation protein products (AOPP), which cause glomerular podocyte dysfunction and proteinuria by stimulating the Wnt/b-catenin signaling pathway [8].

The levels of Mn-SOD were analyzed in all patients. A decrease in the level of antioxidant protection was found in all children with NS. Individual analysis of the level of HIF-1 $\alpha$  plasma and the level of the antioxidant enzyme Mn-SOD in patients determined the presence of an inverse negative correlation ( $r=-0.71$ ,  $p<0.0001$ , CI:  $-0.8003$  to  $-0.5878$ ) (Fig. 4). These data indicate the dependence of the level of chronic hypoxia on the degree of damage to the filtration barrier of the kidneys and confirm the direct involvement of hypoxic damage in the progression of NS.

This study has certain limitations that must be presented. Our study was cross-sectional, at a single center with somewhat limitations in patients including a con-

trol group. Moreover, factors that potentially can affect oxidative stress, i.e. variability in steroid therapy or nutritional status, have not been presented in this study.

**Conclusions.** In children with NS a background condition dealing with the activation of oxidative stress, a pronounced decrease in anti-oxidative capacity has been studied. Individual analysis of the level of HIF-1 $\alpha$  plasma and the level of the antioxidant enzyme Mn-SOD in patients determined the presence of an inverse negative correlation. We suggest that monitoring of oxidative stress marker (superoxide), a marker of chronic hypoxia (HIF-1 $\alpha$ ), and an antioxidative marker (Mn-SOD) in children with NS may have a potential clinical significance in terms of further distinguishing groups for the additional therapeutic interventions.

### References:

1. Verma PR, Patil P. Nephrotic Syndrome: A Review. *Cureus*. 2024;16(2):e53923. doi: 10.7759/cureus.53923.
2. Mulat SY, Mihajlović M, Antonić T, Miloševski-Lomić G, Peco-Antić A, Jovanović D, et al. Pediatric nephrotic syndrome: The interplay of oxidative stress and inflammation. *J Med Biochem*. 2024;43(4):424-435. doi: 10.5937/jomb0-46526.
3. Busuioc RM, Mircescu G. Nephrotic Syndrome Complications - New and Old. Part 2. *Maedica (Bucur)*. 2022;17(2):404-414. doi: 10.26574/maedica.2022.17.2.404.
4. Afzal S, Abdul Manap AS, Attiq A, Albokhadaim I, Kandeel M, Alhojaily SM. From imbalance to impairment: the central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration. *Front Pharmacol*. 2023;14:1269581. doi: 10.3389/fphar.2023.1269581.
5. Daehn IS, Duffield JS. The glomerular filtration barrier: a structural target for novel kidney therapies. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(10):770-788. doi: 10.1038/s41573-021-00242-0.
6. Tomo S, Birdi A, Yadav D, Chaturvedi M, Sharma P. Klotho: A Possible Role in the Pathophysiology of Nephrotic Syndrome. *EJIFCC*. [Internet]. 2022;33(1):3-10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35645691/>.
7. Al-Eisa A, Dhaunsi G. NOX-mediated impairment of PDGF-induced DNA synthesis in peripheral blood lymphocytes of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Res*. 2017;82(4):629-633. doi: 10.1038/pr.2017.122.
8. Duni A, Liakopoulos V, Roumeliotis S, Peschos D, Dounousi E. Oxidative Stress in the Pathogenesis and Evolution of Chronic Kidney Disease: Untangling Ariadne's Thread. *Int J Mol Sci*. 2019;20(15):3711. doi: 10.3390/ijms20153711.
9. Micangeli G, Menghi M, Profeta G, Tarani F, Mariani A, Petrella C, et al. The Impact of Oxidative Stress on Pediatrics Syndromes. *Antioxidants*. 2022; 11(10):1983. doi: 10.3390/antiox11101983.
10. Megha KB, Joseph X, Akhil V, Mohanan PV. Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders. *Phytomedicine*. 2021; 91:153712. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153712.
11. Burlaka I, Mityuryayeva I, Bagdasarova I. Chronic intracellular hypoxia as a clustering and stratifying factor for clinical severity grade in nephrotic syndrome in children. *Ukr J Nephrol Dial*. 2021;(1(73):3-11. doi: 10.31450/ukrjnd.1(73).2022.01.
12. Burlaka I, Mityuryayeva I, Bagdasarova I. Clinical and Apoptotic Factors Defining and Predicting Steroid Resistance in Nephrotic Syndrome in Children. *Glob Pediatr Health*. 2022;9:2333794X221085392. doi: 10.1177/2333794X221085392.
13. Reddy VP. Oxidative Stress in Health and Disease. *Biomedicines*. 2023;11(11):2925. doi: 10.3390/biomedicines11112925.
14. Liu H, Li Y, Xiong J. The Role of Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha in Renal Disease. *Molecules*. 2022;27(21):7318. doi: 10.3390/molecules27217318.
15. Albanese A, Daly LA, Mennerich D, Kietzmann T, Sée V. The Role of Hypoxia-Inducible Factor Post-Translational Modifications in Regulating Its Localisation, Stability, and Activity. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(1):268. doi: 10.3390/ijms22010268.
16. Bae T, Hallis SP, Kwak MK. Hypoxia, oxidative stress, and the interplay of HIFs and NRF2 signaling in cancer. *Exp Mol Med*. 2024;56(3):501-514. doi: 10.1038/s12276-024-01180-8..
17. Palma FR, He C, Danes JM, Paviani V, Coelho DR, Gantner BN, Bonini MG. Mitochondrial Superoxide Dismutase: What the Established, the Intriguing, and the Novel Reveal About a Key Cellular Redox Switch. *Antioxid Redox Signal*. 2020;32(10):701-714. doi: 10.1089/ars.2019.7962.



## 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

**Muna F. Jihad, Manal B. Salih**

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.05

### **Molecular identification, virulence gene profiling, and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from women with urinary tract infections**

Department of Biology, College of Science, University of Thi-Qar, Thi-Qar, Iraq

Citation:

Jihad MF, Salih MB. Molecular identification, virulence gene profiling, and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from women with urinary tract infections. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1 (85):29-38. doi: 10.31450/ukrjnd.1 (85).2025.05.

**Abstract.** *Candida species are increasingly recognized as causative agents of urinary tract infections (UTIs), particularly in immunocompromised individuals. Among them, Candida albicans is the most prevalent and exhibits virulence factors that enhance adhesion, biofilm formation, and antifungal resistance. This study investigates the molecular identification, antifungal resistance profiles, and virulence gene prevalence (ALS1, ALS3, HWPI) in C. albicans isolates from women with UTIs in Thi-Qar Province, Iraq.*

*Methods.* A total of 150 urine samples were collected from women with UTIs and control groups. *Candida species* were isolated on Sabouraud Dextrose Agar and identified using phenotypic (Gram staining, germ tube test, CHROM agar) and molecular methods (PCR using ITS1 and ITS4 primers). Antifungal susceptibility testing was performed against seven antifungal agents using the disc diffusion method. Virulence genes (ALS1, ALS3, HWPI) were detected via PCR, and sequencing was conducted for ALS1 and ALS3 genes to assess genetic variation.

*Results.* *C. albicans* was the most frequently isolated species (54%), followed by *C. krusei* (24%), *C. glabrata* (16%), and *C. tropicalis* (6%). Antifungal resistance was highest against itraconazole (96.3%), fluconazole (88.9%), and voriconazole (85.2%), whereas amphotericin B (29.6%) and nystatin (18.5%) exhibited the lowest resistance rates. PCR analysis revealed high prevalence rates for virulence genes: HWPI (96.3%), ALS1 (88.8%), and ALS3 (77.7%). DNA sequencing confirmed the presence of genetic diversity among isolates.

*Conclusion.* The study highlights the significant role of *C. albicans* in UTIs and its increasing resistance to azole antifungals. The high prevalence of virulence genes suggests a strong pathogenic potential, emphasizing the need for effective antifungal stewardship and molecular surveillance to manage *Candida* infections in clinical settings.

**Key words:** *Candida albicans*, urinary tract infection, antifungal resistance, virulence genes, identification.

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

© Muna F. Jihad, Manal B. Salih, 2025.

Correspondence should be addressed to Muna Faisal Jihad: [muna.jihad@sci.utq.edu.iq](mailto:muna.jihad@sci.utq.edu.iq)



© Джихад М. Ф., Саліх М. Б., 2025

УДК: 616.61/63-022.7:616.992.282]-055.2

Муна Ф. Джихад, Манал Баді Саліх

## Молекулярна ідентифікація, профілювання генів вірулентності та чутливість до протигрибкових засобів ізолятів *Candida albicans*, виділених у жінок із інфекцією сечової системи

Факультет біології, Науковий коледж, Університет Ті-Кар, Ті-Кар, Ірак

**Резюме.** Види *Candida* дедалі частіше визначаються як збудники інфекцій сечової системи (ІСС), особливо у імунокомпрометованих осіб. Серед них *Candida albicans* є найпоширенішим видом і проявляє фактори вірулентності, що сприяють адгезії, утворенню біоплівки та протигрибковій резистентності. Це дослідження присвячене молекулярній ідентифікації, профілю резистентності до протигрибкових засобів та поширеності генів вірулентності (*ALS1*, *ALS3*, *HWP1*) серед ізолятів *C. albicans*, виділених у жінок із ІСС у провінції Ді-Кар, Ірак.

**Методи.** Було досліджено 150 зразків сечі жінок із ІСС та контрольної групи. Види *Candida* ізолювано на агарі Сабуро та ідентифіковано за допомогою фенотипових методів (фарбування за Грамом, *CHROM-agar*) і молекулярних методів (ПЛР із використанням праймерів *ITS1* та *ITS4*). Чутливість до протигрибкових засобів визначали методом дискового дифузійного тесту проти семи антимікотиків. Гени вірулентності (*ALS1*, *ALS3*, *HWP1*) виявляли за допомогою ПЛР, а секвенування генів *ALS1* та *ALS3* проводили для оцінки генетичних варіацій.

**Результати.** Найчастіше визначали *C. albicans* (54%), *C. krusei* (24%), *C. glabrata* (16%) та *C. tropicalis* (6%). Найвищий рівень резистентності спостерігався до ітраконазолу (96,3%), флуконазолу (88,9%) та вориконазолу (85,2%), тоді як амфотерицин В (29,6%) і ністатин (18,5%) мали найнижчі показники резистентності. Аналіз ПЛР показав високу поширеність генів вірулентності: *HWP1* (96,3%), *ALS1* (88,8%) і *ALS3* (77,7%). Секвенування ДНК підтвердило наявність генетичного поліморфізму серед ізолятів.

**Висновки.** Дослідження підкреслює значну роль *C. albicans* у розвитку ІСС та її зростаючу резистентність до азольних антимікотиків. Висока поширеність генів вірулентності свідчить про значний патогенний потенціал цього збудника, що підкреслює необхідність ефективного протигрибкового контролю та молекулярного моніторингу для оптимального лікування *Candida*-асоційованих ІСС в клінічній практиці.

**Ключові слова:** *Candida albicans*, інфекції сечової системи, протигрибкова резистентність, гени вірулентності, ідентифікація.

**Introduction.** *Candida* species are an uncommon cause of urinary tract infections (UTIs) in healthy individuals but are frequently found in hospital settings or among patients with predisposing illnesses and anatomical abnormalities of the urinary system [1, 2]. UTIs are inflammatory disorders caused by the abnormal presence and proliferation of microorganisms in the urinary system, and they represent the most common infection across all age groups [3]. Community-acquired UTIs are a frequent problem affecting both genders, but women are more susceptible due to differences in urogenital and reproductive anatomy, the proximity of the urethra to the gastrointestinal opening, physiology, and lifestyle [4-6]. The manifestation of a UTI varies depending on the specific pathogen involved, the extent of the illness, and the immune response of the affected

individual [7]. Clinically, UTI symptoms include dysuria, hematuria, fever, chills, flank pain, and bacteremia, which can lead to serious complications such as hypertension, septicemia, and death [8, 9].

The incidence of fungal UTIs caused by *Candida* species (candiduria) has increased significantly by two to three times in recent years, along with an increase in resistance to antifungal drugs used to treat them [10-12]. *Candida* species, particularly *Candida albicans*, are considered an important part of the normal vaginal microflora of most healthy women, colonizing the external genitalia in premenopausal and healthy females [13, 14]. In immune-deficient conditions, *Candida* may convert into an opportunistic pathogen, leading to *Candida* urinary tract infections (UTIs) in the host [15]. *Candida albicans* has become a significant health concern in immunocompromised patients and can cause a wide variety of mucosal and systemic infections [16].

Many virulence factors encoded by *C. albicans* genes play a central role in its pathogenicity, facilitating its invasion into host tissues and leading to infections [17]. Other factors include adherence to different tissues, biofilm formation, phenotypic switching, dimorphism, and hydrolytic enzyme production [18].

Muna Faisal Jihad:  
muna.jihad@sci.utq.edu.iq

Secreted aspartyl proteinases, agglutinin-like sequence (ALS) genes, hyphal wall protein (HWP), and cell wall glycoproteins (adhesions) mediate adherence to various targets, including other microorganisms' cells, abiotic surfaces, and different host cells. This is a critical step in biofilm production and the development of infection [15, 19].

In *C. albicans*, the agglutinin-like sequence (ALS) gene family is the largest known gene family and is considered one of the significant traits in adhesion and biofilm formation [20]. The ALS gene family consists of eight genes, including ALS1-ALS7 and ALS9, which encode large glycosylphosphatidylinositol (GPI)-linked cell surface glycoproteins important for the production of cell surface glycoproteins, leading to increased adhesion to host cells [21, 22]. ALS1 and ALS3 genes have similar sequences and functions that mediate attachment to epithelial and endothelial cells and also play an important role in hyphal formation [23-26].

Another protein that affects adhesion and regulation during biofilm formation in *C. albicans* is hyphal wall protein (HWP1), produced by the HWP1 gene present in the hyphae [27, 28]. HWP1 is a manno-protein-linked glycosyl-phosphatidylinositol that resembles the agglutinin-like sequence (ALS) proteins encoded by the ALS family of genes [29, 30]. Additionally, it is the substrate for transglutaminase activity derived from the host and plays a major role in contributing to the covalent attachment of *Candida albicans* to several tissue and host cell surfaces [29-33]. Several studies have shown that the HWP1-producing gene is highly expressed in the early stages of biofilm formation [20]. Therefore, hyphal wall protein 1 (HWP1) has shown a significant association with the pathogenicity and virulence of *C. albicans* [30].

The presence of virulence genes and the increasing prevalence of resistance to antifungal agents contribute to the pathogenicity of *Candida albicans* [34]. Antifungal resistance is rising due to empirical management, the overuse of selective therapies, and the frequent use of antifungal agents for fungal infection prophylaxis in humans [35]. The relationship between virulence genes and the resistance profiles of antifungal therapies in *Candida albicans* has not been adequately investigated; new studies are still needed on these issues [32, 36].

Many studies in Iraq focus on the role of pathogenic bacteria in the occurrence of UTIs, with only a few addressing the role of *C. albicans*. Therefore, our study aims to investigate the molecular identification, antifungal resistance profiles, and the prevalence of virulence genes (ALS1, ALS3, HWP1) in *C. albicans* isolates from women with UTIs in Thi-Qar Province, Iraq.

**Materials and methods.** Ethical approval. Ethical approval for this study was obtained from the Institutional Review Board (IRB) and the Ethics Committee of the Department of Biology, College of Science,

University of Thi-Qar (approval number 3/11/29, dated 08/01/2023). Permission for patient participation was granted by the respective hospitals, with patient selection facilitated by gynecologists at Al Nasiriyah Teaching Hospital, Bint Al Huda Hospital, and private clinics in Thi-Qar Governorate, Iraq.

**Sample collection.** A total of 150 urine samples were collected from women (both patients and healthy controls) aged 15-60 years attending Al Nasiriyah Teaching Hospital, Bint Al Huda Hospital, and private clinics in Thi-Qar Province, southern Iraq, between December 2022 and March 2023. The samples were transported to the Microbiology Laboratory in sterile containers and cultured within 3 hours of collection.

**Isolation and identification of *Candida* species.** Urine samples were inoculated onto Sabouraud Dextrose Agar (SDA) and Malt Extract Agar (MEA) supplemented with chloramphenicol to inhibit bacterial growth. *Candida* species colonies were purified by subculturing on SDA and incubated at 30°C for 48-72 hours. Identification of *Candida* isolates was performed based on colony morphology, Gram staining, and the germ tube test in serum. Further confirmation was achieved by subculturing on CHROM Agar *Candida* (CONDA, Spain), where colonies were identified based on their characteristic color, as per the manufacturer's guidelines, after 72 hours of incubation [37].

**Antifungal susceptibility testing by disk diffusion method.** Antifungal susceptibility testing was performed on all *Candida albicans* isolates using the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar supplemented with 2% glucose and 0.5 µg/mL of methylene blue. The following antifungal agents were tested: Amphotericin B, Clotrimazole, Itraconazole, Voriconazole, Fluconazole, Ketoconazole, and Nystatin. The methodology followed the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines (2019) for antifungal resistance testing [38].

**Control strains.** The standard *C. albicans* strain (ATCC 10231) was used as a quality control for antifungal susceptibility testing.

**Molecular study of isolated *C. albicans* isolates DNA extraction.** Genomic DNA was extracted from the *C. albicans* isolates using the Geneaid Genomic DNA Extraction Kit (Geneaid, Taiwan) according to the manufacturer's instructions. DNA quality was assessed by running the samples on a 1.5% agarose gel.

**Molecular identification.** Conventional PCR was employed for molecular identification of *C. albicans* using specific primers targeting the Internal Transcribed Spacer (ITS1, ITS4) regions of the rDNA. PCR conditions were as described by previous studies [36], and the primers used are listed in Table 1.

Table 1

**Primer sequences and PCR product sizes for molecular study of *C. albicans* isolates**

Gene	Primer Sequence (5'–3')	Product Size (bp)	Reference
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	500	[40]
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
HWP1-F	ATGACTCCAGCTGGTT	572	[32]
HWP1-R	TAGATCAAGAATGCGC		
ALS3-F	CCAAGTGTTCACAACTGAA	185	[20]
ALS3-R	GAACCGGTTGTTGCTATGGT		
ALS1-F	GACTAGTGAACCAACAAATACCAGA	318	[36]
ALS1-R	CCAGAAGAAACAGCAGGTGA		

**PCR Amplification Procedure.** The PCR amplification was conducted using a thermal cycler with the program outlined in Table 2.

Table 2

**PCR amplification program**

Cycle	Time	Temperature	Step
1	5 min	95°C	Initial Denaturation
35	30 sec	95°C	Denaturation
	30 sec	50-58°C	Annealing (specific temperatures for each primer: 58°C for ITS, 52°C for HWP1, 55°C for ALS3, 50°C for ALS1)
	1 min	72°C	Extension
1	10 min	72°C	Final Extension

**Validation of molecular assays.** Twenty-five *Candida* isolates were confirmed by sequencing and recorded in the NCBI database (Accession Numbers LC791623 to LC791648). Results were verified using the NCBI BLAST tool to detect any sequence alterations.

**Detection of virulence genes (HWP1, ALS1, ALS3).** PCR amplification was conducted to detect the virulence genes HWP1, ALS1, and ALS3 using the primers listed in Table 1. PCR reactions were performed in a 25 µL mixture containing 2 µL genomic DNA, 2 µL each forward and reverse primers, 5 µL Master Mix, and nuclease-free water. The amplification protocol involved an initial denaturation at 95°C for 5 minutes, followed by 35 cycles of 30 seconds at 95°C for denaturation, 30 seconds of annealing at temperatures ranging from 50°C to 55°C, and a 10-second extension at 72°C. A final extension step was performed at 72°C for 10 minutes. The PCR products were visualized using 1.5% agarose gel electrophoresis at 70V for 45 minutes, with sizes compared against a 100-3000 bp DNA ladder (Bioneer, South Korea).

**DNA sequencing of ALS1 and ALS3 virulence genes.**

The PCR products for ALS1 and ALS3 were sent to Macrogen Inc. (South Korea) for sequencing. Sequencing results were analyzed using NCBI BLAST for alignment and comparison to reference sequences.

**Statistical analysis.** Statistical analyses were performed using SPSS software (version 26). Data were presented as frequencies and percentages. Chi-square tests and independent sample t-tests were used to assess associations, with a significance level set at  $p < 0.05$ .

**Results.** Identification of *Candida albicans* isolates. A total of 50 *Candida* species isolates were obtained from 150 urine samples, representing four species within the *Candida* genus. The most prevalent species was *Candida albicans* (54%), followed by *Candida krusei* (24%), *Candida glabrata* (16%), and *Candida tropicalis* (6%). Of the *Candida albicans* isolates, 27 clinical isolates were identified using the germ tube test, Gram staining, and chromogenic agar, and confirmed by PCR amplification of the ITS1 and ITS4 regions. A significant difference in the distribution of *Candida* species was observed ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1).

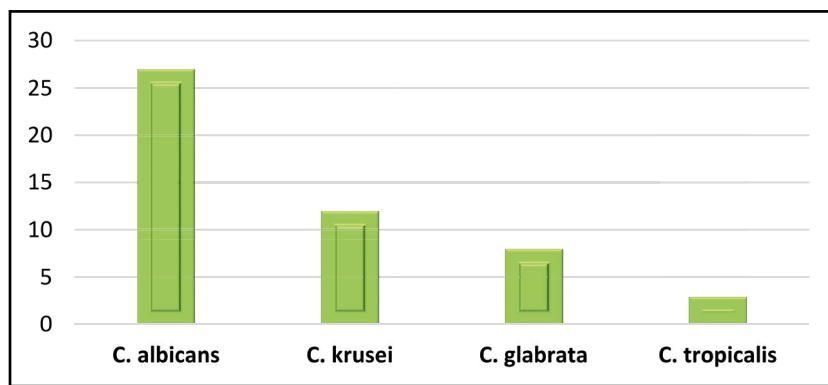


Fig. 1. Frequency of *Candida albicans* isolated from total urine samples.

Antifungal resistance of *Candida albicans*. Resistance patterns of *Candida albicans* isolates to seven selected antifungal agents were assessed. The highest resistance was observed to Itraconazole (96.3%), Fluconazole (88.9%), Voriconazole (85.2%), Clotrima-

zole (85.2%), Ketoconazole (77.8%), Amphotericin B (29.6%), and Nystatin (18.5%). Statistical analysis revealed significant differences in antifungal resistance ( $p < 0.05$ ) (Table 3, Fig. 2).

Table 3

**Antifungal resistance patterns of *Candida albicans* in the present study**

Antifungal agent	Susceptible	Intermediate	Resistant	P-value
Voriconazole	4 (14.8%)	0	23 (85.2%)	<0.001
Amphotericin B	12 (44.4%)	7 (25.9%)	8 (29.6%)	<0.001
Clotrimazole	3 (11.1%)	1 (3.7%)	23 (85.2%)	<0.001
Fluconazole	3 (11.1%)	0	24 (88.9%)	<0.001
Itraconazole	1 (3.7%)	0	26 (96.3%)	<0.001
Ketoconazole	4 (14.8%)	2 (7.4%)	21 (77.8%)	<0.001
Nystatin	19 (70.4%)	3 (11.1%)	5 (18.5%)	<0.001

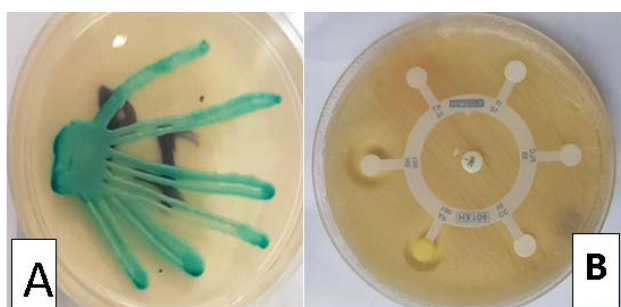


Fig. 2. A. *Candida albicans* on Candida chromogenic agar. B. Antifungal susceptibility pattern of *Candida albicans*.

Frequency of virulence genes in *Candida albicans*. The frequency of virulence genes, including HWP1, ALS1, and ALS3, was assessed in 27 *Candida albicans* isolates using PCR. Gel electrophoresis showed the presence of the following genes: HWP1 (96.29%), ALS1 (88.88%), and ALS3 (77.77%). The most frequently detected gene was HWP1, followed by ALS1, while ALS3 was the least frequent. The prevalence of these genes in *Candida albicans* isolates is shown in Table 4, and representative gel images are presented in Figures 3-5.

Table 4

**Prevalence of virulence genes in *Candida albicans* isolates by PCR**

Gene Type	Positive	Negative	t-test P-Value
ALS1	24 (88.88%)	3 (11.11%)	0.273
ALS3	21 (77.77%)	6 (22.22%)	0.852
HWP1	26 (96.29%)	1 (3.70%)	0.059

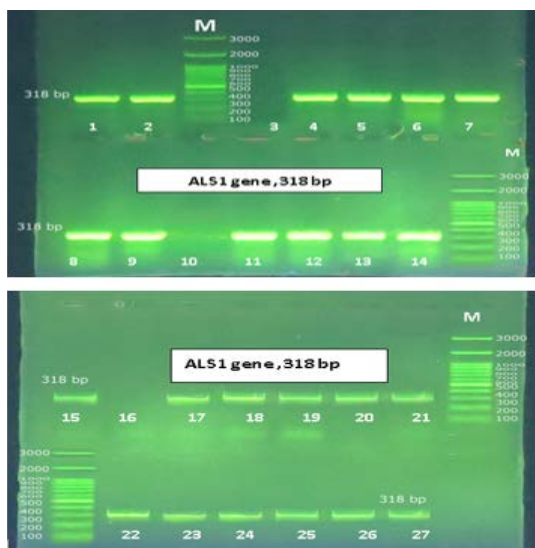


Fig. 3. Agarose gel electrophoresis of PCR products for ALS1 gene amplification (318 bp). Lane L: DNA ladder (3000-100 bp); lanes 1-15, 17-21, and 22-27 show positive results, while lanes 3, 10, and 16 show negative results.

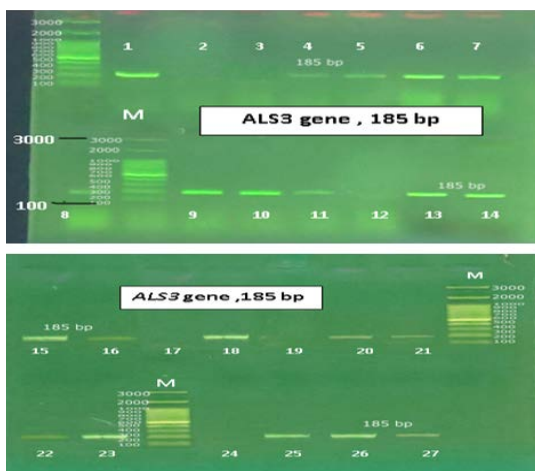


Fig. 4. Agarose gel electrophoresis showing PCR product analysis of the ALS3 gene (185 bp) in *Candida albicans* isolates. Lane L: DNA ladder (3000-100 bp); lanes 1-27 show positive results for the ALS3 gene.

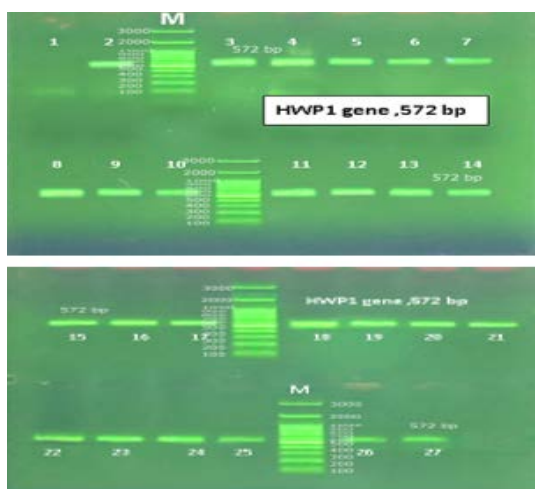


Fig. 5. Agarose gel electrophoresis showing PCR product analysis of the HWP1 gene (572 bp) in *Candida albicans* isolates. Lane L: DNA ladder (3000-100 bp); lanes 1-27 show positive results for the HWP1 gene.

Sequencing and alignment of *Candida albicans* genes. The nucleotide sequences of the ALS1, ALS3, and ITS regions were aligned using BioEdit software (v. 7.2.5) and compared to available sequences in the NCBI GeneBank using the BLAST tool. Phylogenetic trees were constructed for the ALS1 and ALS3 genes using Mega X software. Sequencing of the ITS region confirmed the identification of *C. albicans* isolates, while the sequencing results for ALS1 and ALS3 genes revealed genetic diversity within the isolates.

**Discussion.** *Candida albicans* has emerged as a significant nosocomial uropathogen, with morbidity and mortality often linked to the presence of virulence genes and antifungal resistance [36]. In the present study, *Candida albicans* was the most prevalent species, accounting for 54% of the isolates, followed by *Candida krusei* at 24%, *Candida glabrata* at 16%, and *Candida tropicalis* at 6%. These findings align with a study in Iraq, which also found *Candida albicans* to be dominant over other species [37]. However, they contrast with other studies that reported non-albicans *Candida* species as the more frequently isolated from urine samples [41]. The recovery rate of *Candida* species from urinary tract infection (UTI) patients can vary across studies, likely due to regional and population-specific factors, as multiple variables contribute to the development of UTIs [4].

Antifungal susceptibility testing is a crucial tool for determining antifungal resistance and guiding appropriate therapy for fungal infections [42]. The emergence of multidrug-resistant (MDR) strains of *Candida* presents a significant challenge in the treatment of invasive infections, as it limits available antifungal treatment options [43]. Prolonged use of antifungals, especially in the treatment of *Candida albicans* infections, has led to the development of resistance [44]. In our study, in vitro antifungal susceptibility testing using the disc diffusion method revealed resistance of *Candida albicans* isolates to seven selected antifungal agents: Itraconazole, Clotrimazole, Fluconazole, Voriconazole, Ketoconazole, Amphotericin B, and Nystatin. Our results demonstrated that Nystatin and Amphotericin B were the most effective agents, while resistance was most commonly observed to Itraconazole, Clotrimazole, and Fluconazole. These findings are consistent with studies by [45, 46], but contradict others [47-49]. The resistance of *Candida albicans* to antifungal drugs, including azoles and polyenes (e.g., Nystatin and Amphotericin B), varies in different studies. The underlying cellular and molecular mechanisms of antifungal resistance may differ depending on the drug's mode of action [50]. For example, resistance may be linked to a decrease in ergosterol content in the fungal cell membrane. Additionally, resistance to azole antifungals may result from mitochondrial dysfunction and the presence of specific *Candida* drug resistance genes [18].

The pathogenicity of *Candida albicans* is enhanced by its ability to produce hyphae, adhere to host cells, produce extracellular enzymes, and form biofilms, which allow the fungus to evade host immunity and fa-

celite tissue invasion [51, 52]. In this study, the ALS1, ALS3, and HWP1 genes, which are critical for adhesion to epithelial cells, mucosal surfaces, and biofilm formation, were examined. These genes also play a role in the fungus's resistance to antifungal agents such as Fluconazole [53]. Our study revealed that the most frequently detected virulence gene was HWP1 (96.29%), followed by ALS1 (88.88%) and ALS3 (77.77%). A similar study in Iran reported a higher prevalence of HWP1 (96%), ALS3 (94%), and ALS1 (92%) [19], while another study found different prevalence rates: HWP1 (89.4%), ALS3 (91.5%), and ALS1 (78.7%) [20]. In Iraq, a previous study reported a higher prevalence of HWP1 (100%) but a lower prevalence of ALS1 (45.71%) [48]. The variations in the prevalence of these virulence genes can be attributed to differences in the number of isolates studied and the isolation sites of *C. albicans* [54].

The presence of ALS1, ALS3, and HWP1 genes in *Candida albicans* not only facilitates the transition of *Candida* from a commensal to a pathogenic organism but also plays a critical role in the formation of biofilms, which may hinder treatment efficacy. These genes also enhance the production of fungal hyphae, which enable tissue penetration and infection. Thus, the detection of these genes is valuable for accurate diagnosis and the selection of appropriate treatments.

In terms of patient management and public health, increased attention to the presence of *Candida albicans* in urine is necessary. If left untreated, infections may progress from acute to chronic forms, lead to ureteral obstruction due to fungal ball formation, or progress to candidemia, which increases the economic burden on healthcare systems.

Our study has several limitations. First, the sample size of 150 urine samples, although providing valuable insights, may not fully represent the diversity of *Candida* species and their antifungal resistance patterns in the broader population. Second, the study was conducted in a single geographic region, Thi-Qar Province, which limits the generalizability of our findings to other regions with different demographic and environmental factors. Third, while phenotypic and molecular methods were used for identification and resistance testing, some species of *Candida* may not have been detected due to limitations in the diagnostic methods, particularly for less common or atypical *Candida* species. Additionally, the study focused primarily on the prevalence of three virulence genes (ALS1, ALS3, and HWP1), but

other important virulence factors were not included in the analysis, potentially overlooking other pathogenic mechanisms. Finally, the antimicrobial resistance testing was performed using the disc diffusion method, which may not be as precise as other techniques, such as broth microdilution, for determining minimal inhibitory concentrations (MICs). Future studies should address these limitations by including larger and more diverse populations, exploring additional virulence factors, and utilizing more advanced diagnostic techniques.

**Conclusions.** The study highlights the prevalence of antifungal resistance in *Candida albicans*, as well as the high expression rates of virulence genes, reflecting the high pathogenicity of this species. The study found *Candida albicans* to be the most frequent *Candida* species, with clinical isolates identified by germ tube testing, Gram staining, chromogenic agar, and PCR. The isolates exhibited significant resistance to all selected antifungal agents. The frequency of ALS1, ALS3, and HWP1 genes among *Candida albicans* isolates was found to be high, with HWP1 being the most commonly detected gene and ALS3 the least prevalent.

Further molecular sequencing studies of ALS1 and HWP1 genes should be conducted to explore their potential for identifying *C. albicans* isolates. Additionally, gene expression studies of these virulence genes using real-time PCR should be performed. Greater attention should be paid to *Candida* in urine samples, and antifungal treatment should not be overlooked, as infections can progress from acute to chronic forms, cause ureteral obstruction, or lead to candidemia.

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

**Acknowledgment.** We would like to thank all the investigators and supervisors who contributed to the development of our manuscript.

**Funding statement.** None.

#### Contributions.

**Muna F. Jihad:** Conceptualization, data curation, investigation, methodology, project administration, resources, software, validation, visualization, writing – original draft, writing – review & editing.

**Manal B. Salih:** Conceptualization, data curation, investigation, methodology, project administration, resources, supervision, writing – review & editing.

#### References:

1. Fisher JF, Kavanagh K, Sobel JD, Kauffman CA, Newman CA. *Candida* urinary tract infection: pathogenesis. Clin Infect Dis. 2011;52(suppl\_6):S437-51. doi: 10.1093/cid/cir110.
2. Odabasi Z, Mert A. *Candida* urinary tract infections in adults. World J Urol. 2020;38(11):2699-707. doi: 10.1007/s00345-019-02991-5.
3. Malik S, Rana JS, Nehra K. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of uropathogenic *Escherichia coli* strains in Sonapat region of Haryana in India. Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ).2021;5(1):80-7. doi: 10.4103/bbrj.bbrj\_212\_20.

4. Shaheen G, Akram M, Jabeen F, Ali Shah SM, Munir N, Daniyal M, et al. Therapeutic potential of medicinal plants for the management of urinary tract infection: A systematic review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2019;46(7):613-24. doi: 10.1111/1440-1681.13092.
5. Fazly Bazzaz BS, Darvishi Fork S, Ahmadi R, Khameneh B. Deep insights into urinary tract infections and effective natural remedies. *African Journal of Urology*. 2021;27:1-3. doi: 10.1186/s12301-020-00111-z.
6. Deltourbe L, Mariano LL, Hreha TN, Hunstad DA, Ingersoll MA. The impact of biological sex on diseases of the urinary tract. *Mucosal Immunology*. 2022;15(5):857-66. doi: 10.1038/s41385-022-00549-0.
7. Al-Badr A, Al-Shaikh G. Recurrent urinary tract infections management in women: a review. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2013;13(3):359. doi: 10.12816/0003256.
8. Wagenlehner FM, Bjerklund Johansen TE, Cai T, Koves B, Kranz J, Pilatz A, Tandongu Z. Epidemiology, definition and treatment of complicated urinary tract infections. *Nat Rev Urol*. 2020;17(10):586-600. doi: 10.1038/s41585-020-0362-4.
9. Al-Rubaeae A, Hameed ZC, Al-Tamemi S. Estimation of Some Plant Extract Activity against Bacterial Cystitis Isolated from Urinary Tract Infection. In *Update on Bladder Cancer*. 2023. doi: 10.5772/intechopen.107514.
10. Alenzi FQ. Virulence factors of candida species isolated from patients with urinary tract infection and obstructive uropathy. *Pak J Med Sci*. 2016;32(1):143-6 doi: 10.12669/pjms.321.8559.
11. Gharanfoli A, Mahmoudi E, Torabizadeh R, Katirae F, Faraji S. Isolation, characterization, and molecular identification of Candida species from urinary tract infections. *Curr Med Mycol*. 2019;5(2):33-36. doi: 10.18502/cmm.5.2.1159.
12. Dias V. Candida species in the urinary tract: is it a fungal infection or not? *Future microbiology*. 2020;15(2):81-3. doi: 10.2217/fmb-2019-0262.
13. Kudair TT, Al-yasiri MH, Atya AK. Characterization of pathogens community in women with vaginal infections. *University of Thi-Qar Journal of Science*. [Internet]. 2021;8(1):77-81. Available from: <https://jsci.utq.edu.iq/index.php/main/article/view/764>.
14. Sun Z, Ge X, Qiu B, Xiang Z, Jiang C, Wu J, Li Y. Vulvovaginal candidiasis and vaginal microflora interaction: Microflora changes and probiotic therapy. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1123026. doi: 10.3389/fcimb.2023.1123026.
15. Hosseini SS, Ghaemi E, Noroozi A, Niknejad F. Zinc oxide nanoparticles inhibition of initial adhesion and ALS1 and ALS3 gene expression in *Candida albicans* strains from urinary tract infections. *Mycopathologia*. 2019;184:261-71. doi: 10.1007/s11046-019-00327-w.
16. Macias-Paz IU, Pérez-Hernández S, Tavera-Tapia A, Luna-Arias JP, Guerra-Cárdenas JE, Reyna-Beltrán E. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Rev Argent Microbiol*. 2023;55(2):189-98. doi: 10.1016/j.ram.2022.08.003.
17. Galocha M, Pais P, Cavalheiro M, Pereira D, Viana R, Teixeira MC. Divergent Approaches to Virulence in *C. albicans* and *C. glabrata*: Two Sides of the Same Coin. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2345. doi: 10.3390/ijms20092345.
18. Hadi HS, AlSultany SJ. Isolation and identification Candida species among renal failure Iraqi patients. *Drug Invent Today*. [Internet]. 2020;14(6):812-16. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/346084711\\_Isolation\\_and\\_identification\\_Candida\\_species\\_among\\_renal\\_failure\\_Iraqi\\_patients](https://www.researchgate.net/publication/346084711_Isolation_and_identification_Candida_species_among_renal_failure_Iraqi_patients).
19. Ardehali SH, Azimi T, Fallah F, Aghamohammadi N, Alimehr S, Karimi AM, Azimi L. Molecular detection of ALS1, ALS3, HWP1 and SAP4 genes in Candida Genus isolated from hospitalized patients in Intensive Care Unit, Tehran, Iran. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. [Internet]. 2019;65(4):15-22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31078147/>.
20. Mohammadi F, Hemmat N, Bajalan Z, Javadi A. Analysis of Biofilm-Related Genes and Antifungal Susceptibility Pattern of Vaginal *Candida albicans* and Non-*Candida albicans* Species. *Biomed Res Int*. 2021;2021(1):5598907. doi: 10.1155/2021/5598907.
21. Murciano C, Moyes DL, Runglall M, Tobouti P, Islam A, Hoyer LL, Naglik JR. Evaluation of the role of *Candida albicans* agglutinin-like sequence (Als) proteins in human oral epithelial cell interactions. *PLoS one*. 2012;7(3):e33362. doi: 10.1371/journal.pone.0033362.
22. Hoyer LL, Cota E. *Candida albicans* agglutinin-like sequence (Als) family vignettes: a review of Als protein structure and function. *Front Microbiol*. 2016;7:280. doi: 10.3389/fmicb.2016.00280.
23. Nobile CJ, Schneider HA, Nett JE, Sheppard DC, Filler SG, Andes DR, Mitchell AP. Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation. *Curr Biol*. 2008;18(14):1017-24. doi: 10.1016/j.cub.2008.06.034.
24. Nailis H, Vandebroucke R, Tillemans K, Deforce D, Nelis H, Coenye T. Monitoring ALS1 and ALS3 gene expression during in vitro *Candida albicans* biofilm formation under continuous flow conditions. *Mycopathologia*. 2009;167:9-17. doi: 10.1007/s11046-008-9148-6.
25. Monroy-Pérez E, Paniagua-Contreras GL, Rodríguez-Purata P, Vaca-Paniagua F, Vázquez-Villaseñor M, Díaz-Velásquez C, et al. High virulence and antifungal resistance in clinical strains of *Candida albicans*. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2016;2016(1):5930489. doi: 10.1155/2016/5930489.

26. Sun W, Zhang L, Lu X, Feng L, Sun S. The synergistic antifungal effects of sodium phenylbutyrate combined with azoles against *Candida albicans* via regulating Ras/cAMP/PKA signalling pathway and virulence. *Can J Microbiol.* 2019;65(2):105-115. doi: 10.1139/cjm-2018-0337.
27. Martin R, Albrecht-Eckardt D, Brunke S, Hube B, Hünninger K, Kurzai O. A core filamentation response network in *Candida albicans* is restricted to eight genes. *PloS one.* 2013;8(3):e58613. doi: 10.1371/journal.pone.0058613.
28. Desai JV, Mitchell AP. *Candida albicans* biofilm development and its genetic control. *Microbiol Spectr.* 2015;3(3):99-114. doi: 10.1128/microbiol-spec.MB-0005-2014.
29. Staab JF, Bahn YS, Tai CH, Cook PF, Sundstrom P. Expression of transglutaminase substrate activity on *Candida albicans* germ tubes through a coiled, disulfide-bonded N-terminal domain of Hwp1 requires C-terminal glycosylphosphatidylinositol modification. *J Biol Chem.* 2004;279(39):40737-47. doi: 10.1074/jbc.M406005200.
30. Fathy FE, Ahmed YM, Abdel Salam SA. Hyphal wall protein 1 gene and Biofilm formation among *Candida albicans* isolates from Ain Shams University Hospitals. *Egypt J Med Microbiol.* 2023;32(1):163-8. doi: 10.21608/ejmm.2023.277800.
31. Nas T, Kalkanç AY, Fidan İŞ, Hizel K, Bolat S, Yolbakan S, et al. Expression of ALS1, HWP1 and SAP4 genes in *Candida albicans* strains isolated from women with vaginitis. *Folia Microbiol (Praha).* [Internet]. 2008;53(2):179-83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18837169/>.
32. İnci M, Atalay MA, Özer B, Evirgen Ö, Duran N, KOÇ AN, et al. Investigations of ALS1 and HWP1 genes in clinical isolates of *Candida albicans*. *Turkish Journal of Medical Sciences.* 2013;43(1):125-30. doi: 10.3906/sag-1205-90.
33. Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, Škrlec I. *Candida albicans* - the virulence factors and clinical manifestations of infection. *J Fungi (Basel).* 2021;7(2):79. doi: 10.3390/jof7020079.
34. Soliman MM, Kandil MM, Sa E, Abuelnaga AS. Prevalence of virulence genes and antifungal resistance in *Candida albicans* isolated from raw goat milk. *World's Veterinary J.* 2020(4):670-7. doi: 10.54203/scil.2020.vwj81.
35. Mendes JF, Gonçalves CL, Ferreira GF, Esteves IA, Freitas CH, Villarreal JP, et al. Perfil de suscetibilidade antifúngica de diferentes leveduras isoladas da microbiota de animais silvestres, leite com mastite subclínica e ambiente hospitalar. *Brazilian J Biol.* 2017;78:68-75. doi: 10.1590/1519-6984.04916.
36. Shrief R, Zaki ME, El-Sehsah EM, Ghaleb S, Mofreh M. Study of antifungal susceptibility, virulence genes and biofilm formation in. *The Open Microbiology Journal.* 2019;13(1). doi: 10.2174/1874285801913010241.
37. Jabar D, Aljaza D. Conventional and Molecular Identification of *Candida* spp. And Antifungals Susceptibility Test in Pregnant Women. *University of Thi-Qar Journal of Science.* 2022;9(2):13-20. doi: 10.32792/utq/utjsci.v9i2.898.
38. Zafar S, Fatima K, Faryal R. Prevalence of virulent *Candida* spp. in complicated urinary tract infection of nephrolithiatic patients from surgical units of tertiary care hospitals Islamabad. *J Mycol Med.* 2020;30(4):101024. doi: 10.1016/j.mycmed.2020.101024.
39. Joudah R, Hamim S. Molecular characterization of *Klebsiella pneumoniae* associated with Thalassemia in Thi-Qar Governorate. *University of Thi-Qar Journal of Science.* 2023;10(1). doi: 10.32792/utq/utjsci/v10i1.1052.
40. Yin G, Zhang Y, Pennerman KK, Wu G, Hua SS, Yu J, et al. Characterization of blue mold *Penicillium* species isolated from stored fruits using multiple highly conserved loci. *J Fungi (Basel).* 2017;3(1):12. doi: 10.3390/jof3010012.
41. Alastruey-Izquierdo A, Melhem MS, Bonfietti LX, Rodriguez-Tudela JL. Susceptibility test for fungi: clinical and laboratorial correlations in medical mycology. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2015;57:57-64. doi: 10.1590/S0036-46652015000700011.
42. Peyclit L, Yousfi H, Rolain JM, Bittar F. Drug repurposing in medical mycology: Identification of compounds as potential antifungals to overcome the emergence of multidrug-resistant fungi. *Pharmaceuticals.* 2021;14(5):488. doi: 10.3390/ph14050488.
43. Kadry AA, El-Ganiny AM, El-Baz AM. Relationship between Sap prevalence and biofilm formation among resistant clinical isolates of *Candida albicans*. *Afr Health Sci.* 2018;18(4):1166-74. doi: 10.4314/ahs.v18i4.37.
44. Sheneef A, Hassan H, Ali KA, Saad-Eldin M, Esmail A. Identification and in vitro Susceptibility Pattern of Fungal Infection Isolated from Patients with Otomycosis. *Egypt J Med Microbiol.* [Internet]. 2017;26(3):53-59. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/344749348\\_Identification\\_and\\_in\\_vitro\\_Susceptibility\\_Pattern\\_of\\_Fungal\\_Infection\\_Isolated\\_from\\_Patients\\_with\\_Otomycosis](https://www.researchgate.net/publication/344749348_Identification_and_in_vitro_Susceptibility_Pattern_of_Fungal_Infection_Isolated_from_Patients_with_Otomycosis).
45. Ahmed MM, Hanan H, Sohair KS, Maha M, Doaa M, Mohammed Z. Identification and in vitro susceptibility pattern of fungal pathogens in immunocompromised patients with pulmonary fungal infections. *The Medical Journal of Cairo University.* 2018;86(12):4307-16. doi: 10.21608/mjcu.2018.62818.

46. *Kadhun SK*. Study of Some Virulence Factors of *Candida Albicans* Causing Intestinal Infection. *Indian Journal of Public Health Research*. 2020;11(01):1544-49. doi: 10.37506/v11/i1/2020/ijphrd/194065.
47. *Alwaeli ER, Chelab RL, Jawad ES*. Virulence Factors of *Candida albicans* Isolated from Vaginitis. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(2). doi: 10.31838/ijpr/2020.12.02.189.
48. *Samy R, Aljaza D*. Morphology and molecular identification of *Candida* Species isolated from oral pediatric. *University of Thi-Qar Journal of Science*. 2023;10(1):111-116. doi: 10.32792/utq/utjsci/v10i1.1038.
49. *Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE*. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. *Chem Rev*. 2020;121(6):3390-411. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00199.
50. *Lok B, Adam MA, Kamal LZ, Chukwudi NA, Sandai R, Sandai D*. The assimilation of different carbon sources in *Candida albicans*: Fitness and pathogenicity. *Med Mycol*. 2021;59(2):115-25. doi: 10.1093/mmy/myaa080.
51. *Gheit MI, Mohamed TM, Abdelwahab MA*. Evaluation of Polyclonal Antiserum Against Secretory Aspartyl Proteinase of *Candida albicans* as a Potential Serodiagnostic Tool for Invasive Candidiasis. *Turk J Immunol* 2023;11(2):66-73. doi: 10.4274/tji.galenos.2023.83702.
52. *Hosseini Por M, Roudbarmohammadi S, Roudbary M, Bakhshi B, Farhadi Z*. Hwp1 gene expression of *Candida albicans* and study its role in adherence. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*. [Internet]. 2013;3(2):320-24. Available from: [https://ijmcm.tonekabon.iau.ir/article\\_513697.html](https://ijmcm.tonekabon.iau.ir/article_513697.html).
53. *Chen J, Hu N, Xu H, Liu Q, Yu X, Zhang Y, et al*. Molecular epidemiology, antifungal susceptibility, and virulence evaluation of *Candida* isolates causing invasive infection in a tertiary care teaching hospital. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:721439. doi: 10.3389/fcimb.2021.721439.



# 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

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.06

Hetaf Shallal<sup>1</sup>, Nagam Khudhair<sup>2</sup>, Maryam I. Salman<sup>1</sup>

### MicroRNA expression and GPX-1 genetic polymorphisms in patients undergoing hemodialysis: Implications for oxidative stress in a cross-sectional study

<sup>1</sup>Department of Biology, Collage of Science, University Of Anbar, Ramadi, Anbar, Iraq

<sup>2</sup>Department of Biology, Education College for Women, University Of Anbar, Ramadi, Anbar, Iraq

#### Citation:

Shallal H, Khudhair N, Salman MI. MicroRNA expression and GPX-1 genetic polymorphisms in patients undergoing hemodialysis: Implications for oxidative stress in a cross-sectional study. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85):39-48. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.06.

**Abstract.** *MicroRNAs (miRNAs) are crucial regulators of gene expression and have been implicated in renal pathology. The glutathione peroxidase-1 (GPX-1) gene, particularly the rs1050450 single nucleotide polymorphism (SNP), may modulate oxidative stress responses in hemodialysis patients. This study examines the interplay between miRNA expression, oxidative stress, and GPX-1 genetic polymorphisms in hemodialysis patients.*

**Methods.** *A total of 60 hemodialysis patients and 40 healthy controls were recruited. Blood samples were collected and analyzed for miRNA expression (miRNA-143, miRNA-145, miRNA-155, and miRNA-192) using RT-qPCR. GPX-1 rs1050450 polymorphism was detected via conventional PCR and sequencing. Oxidative stress biomarkers, malondialdehyde (MDA), and 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHDG) were measured using ELISA. Statistical analyses included Pearson correlation and chi-square tests, with significance set at  $p < 0.05$ .*

**Results.** *Hemodialysis patients exhibited significantly upregulated miRNA-143 (4.31-fold) and miRNA-155 (1.79-fold) compared to controls ( $p = 0.04$ ). miRNA-192 expression was downregulated (0.27-fold), though not statistically significant ( $p = 0.12$ ). Pearson correlation analysis showed a significant positive correlation between oxidative stress markers (8-OHDG, MDA) and miRNA-145, miRNA-155, and miRNA-192 ( $p \leq 0.001$ ). Genetic analysis of GPX-1 rs1050450 revealed CC, CT, and TT genotypes in hemodialysis patients, with Hardy-Weinberg equilibrium maintained ( $p = 0.46$  for patients,  $p = 0.8$  for controls).*

**Conclusions.** *The differential expression of miRNAs in hemodialysis patients suggests a role in oxidative stress regulation and renal disease progression. Upregulation of miRNA-143, miRNA-145, and miRNA-155 may contribute to inflammatory and fibrotic pathways, while miRNA-192 downregulation may reflect altered renal function. The GPX-1 rs1050450 polymorphism may modulate oxidative stress responses in these patients. Further studies are needed to explore the therapeutic potential of miRNA-based interventions in CKD management.*

**Keywords:** *gene expression, microRNAs, hemodialysis, GPX-1 gene, hemodialysis.*

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

© H. Shallal, N. Khudhair, M. I. Salman, 2025

Correspondence should be addressed to Hetaf Shallal: [het22s1004@uoanbar.edu.iq](mailto:het22s1004@uoanbar.edu.iq)



© Шаллял Г., Худхайр Н., Салман М. І., 2025

УДК: 616.61-085.38-073.27:575.113

Гетаф Шаллял<sup>1</sup>, Нагам Худхайр<sup>2</sup>, Мар'ям І. Салман<sup>1</sup>

## Експресія мікроРНК та генетичний поліморфізм GPX-1 у пацієнтів, які лікуються методом гемодіалізу: зв'язок з оксидативним стресом в рамках поперечного дослідження

<sup>1</sup>Кафедра біології, факультет природничих наук, університет Анбара, Рамаді, Анбар, Ірак

<sup>2</sup>Кафедра біології, педагогічний коледж для жінок, університет Анбара, Рамаді, Анбар, Ірак

**Резюме.** МікроРНК (miRNA) є ключовими регуляторами експресії генів і відіграють важливу роль у розвитку патологій нирок. Ген глутатіонпероксидази-1 (GPX-1), зокрема однонуклеотидний поліморфізм rs1050450 (SNP), може модулювати реакції на окислювальний стрес у пацієнтів, які проходять гемодіаліз. Це дослідження спрямоване на вивчення взаємозв'язку між експресією miRNA, рівнем оксидативного стресу та поліморфізмами гена GPX-1 у пацієнтів, які лікуються методом гемодіалізу (ГД).

**Методи.** У дослідженні взяли участь 60 ГД пацієнтів та 40 здорових осіб (контрольна група). Було зібрано зразки крові для аналізу експресії miRNA (miRNA-143, miRNA-145, miRNA-155 та miRNA-192) методом RT-qPCR. Поліморфізм rs1050450 у гені GPX-1 визначали за допомогою традиційної ПЛР та секвенування. Рівень маркерів оксидативного стресу, малонового діальдегіду (МДА) та 8-гідрокси-дезоксигуанозину (8-OHdG), оцінювали методом ІФА. Статистичний аналіз включав кореляцію Пірсона та  $\chi^2$ -тест, рівень значущості встановлено на рівні  $p < 0.05$ .

**Результати.** У ГД пацієнтів спостерігалось значне підвищення експресії miRNA-143 (у 4,31 раза) та miRNA-155 (у 1,79 раза) порівняно з контрольною групою ( $p = 0,04$ ). Експресія miRNA-192 була зниженою (0,27-кратне зменшення), проте ця різниця не була статистично значущою ( $p = 0,12$ ). Кореляційний аналіз Пірсона визначив значущу позитивну асоціацію між рівнями маркерів оксидативного стресу та експресією miRNA-145, miRNA-155 і miRNA-192 ( $p \leq 0,001$ ). Генетичний аналіз rs1050450 у GPX-1 виявив наявність генотипів CC, CT та TT серед ГД пацієнтів, причому рівновага Гарді-Вайнберга зберігалася ( $p = 0,46$  для пацієнтів,  $p = 0,8$  для контролю).

**Висновки.** Диференційна експресія miRNA у ГД пацієнтів свідчить про їхню роль у регуляції оксидативного стресу. Підвищена експресія miRNA-143, miRNA-145 і miRNA-155 може сприяти активації запальних і фібротичних шляхів, тоді як зниження рівня miRNA-192 може відображати порушення функції нирок. Поліморфізм rs1050450 у GPX-1 може модулювати реакції на оксидативний стрес у цих пацієнтів. Подальші дослідження необхідні для оцінки терапевтичного потенціалу miRNA-орієнтованих підходів у лікуванні хронічної хвороби нирок.

**Ключові слова:** експресія генів, мікроРНК, гемодіаліз, ген GPX-1, гемодіаліз.

**Introduction.** Understanding kidney disease's molecular causes improves diagnosis and treatment. Stability and specificity make miRNA biomarkers. In hemodialysis patients, the GPX-1 SNP rs1050450 influences miRNA regulation and disease susceptibility. The CC genotype at rs1050450, the Pro198Pro form of GPX-1, is common in hemodialysis patients and healthy controls, with low or no T allele (198Leu). Over 800 million individuals worldwide suffer from CKD, a degenerative illness that causes death and suffering in the 21st century. CKD affects kidney shape and function [1]. Membrane incompatibility and endotoxin exposure increase oxidative damage during hemodialysis. Pro-oxidant and

antioxidant imbalances begin early in renal injury and are especially prominent in dialysis patients [2]. Laboratory tests employ serum creatinine and albuminuria to estimate glomerular filtration rate (GFR) to diagnose CKD. The KDIGO report defines CKD as kidney injury (albuminuria) or impaired kidney function (GFR  $< 60$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) lasting 3 months or more. CKD is divided into five stages based on GFR levels. End-stage kidney disease (ESKD) is stage 5, indicated by a GFR  $< 15$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> and necessitating dialysis due to nephron destruction and functional loss. CKD lowers GFR, reducing the kidneys' ability to eliminate metabolic waste and pollutants [3]. ESKD may expose renal tubular epithelial cells to high quantities of xenobiotics, metabolic wastes, and nephrotoxins, which may damage DNA due to inflammation and chronic illness. ESKD can result from acute or chronic kidney failure and renal replacement treatment [4]. By degrading or blocking mRNA translation into proteins, miRNAs influence gene expression. They are essential for kidney growth and function and cellular activities include dif-

Hetaf Shallal

het22s1004@uoanbar.edu.iq

ferentiation, proliferation, development, and apoptosis [5]. Alterations in miRNA expression are associated with the initiation and progression of kidney illnesses like diabetic nephropathy, renal malignancy, and renal damage, suggesting they play a role in CKD [6]. Glutathione peroxidase-1 (GPX-1), discovered in 1957 as an enzyme in red blood cells that protects hemoglobin from oxidative stress, needs selenium [7]. The GPX-1 gene on chromosome 3p21.31 encodes GPX-1, an enzyme with 1178 base pairs and two exons. GPX-1 is a homotetramer with four identical subunits that are 208 amino acids and 22-23 kDa. The glutathione peroxidase family's GPX-1 converts hydrogen peroxide into water, making it one of the most essential antioxidant enzymes in humans [8]. Many tissues express GPX-1, which protects cells from oxidative damage. Both the cytoplasm and mitochondria contain it [9].

However, despite advancements in understanding CKD and its complications, gaps remain in elucidating the molecular mechanisms underlying oxidative stress in hemodialysis patients. While previous studies have highlighted the role of miRNAs in renal pathology and the impact of oxidative stress, limited research has specifically explored the expression patterns of miRNAs (e.g., Mir-143, Mir-145, Mir-155, and Mir-192) in hemodialysis patients. Furthermore, the clinical significance of the GPX-1 SNP rs1050450 (Pro198Leu) in modulating oxidative stress and influencing disease susceptibility in this population remains underexplored. This study addresses the gap by investigating the interplay between miRNA expression, oxidative stress, and genetic polymorphisms in hemodialysis patients.

**Materials and Methods.** The study was approved by the Ethical Committee of the University of Anbar (Ref: 129, December 11, 2023).

**Study population.** The study included 60 patients undergoing hemodialysis at the AL-Ramadi Hospital Hemodialysis Center, under the supervision of nephrology specialists. Additionally, 40 healthy individuals without kidney disease were recruited as controls. Blood samples were collected from all participants between October 2023 and January 2024. Each participant completed a brief questionnaire covering demographic and clinical data, including age, height, weight, BMI, treatment history, symptom duration, and other relevant factors.

*Inclusion criteria.*

**Patient Group:**

Diagnosed with kidney failure and undergoing hemodialysis at AL-Ramadi Hospital.

Under the care of nephrology specialists.

Age range: 40.17–67.81 years.

**Control Group:**

Individuals with no history of kidney disease.

Age range: 39.7–57.96 years.

*Exclusion criteria.*

Presence of other chronic diseases that could significantly influence miRNA levels (e.g., cancer, autoimmune diseases).

History of kidney transplantation.

Acute infections or inflammatory conditions at the time of blood sample collection.

*Blood sample collection and processing.*

Each participant provided 5 mL of venous blood, which was processed as follows:

**miRNA analysis:**

300 µL of whole blood was stored in Eppendorf tubes containing 500 µL of TRIzol reagent and preserved at -20 °C for miRNA extraction.

Expression levels of miRNA-143, miRNA-145, miRNA-155, and miRNA-192 were analyzed.

**Genetic analysis:**

2 mL of blood was collected in sterile EDTA tubes and stored at -20 °C for genetic polymorphism analysis of the GPX-1 gene (SNP rs1050450).

**miRNA Expression Analysis via RT-qPCR**

Total RNA, including miRNAs, was extracted using the TRIzol Reagent Protocol (TransGen, China). Reverse transcription was performed using the ProtoScript® II Reverse Transcription System (NEB, England) following the manufacturer's guidelines.

Quantitative PCR (qPCR) was conducted using a SYBR Green-based assay to measure DNA amplification. Specific lyophilized primers for miRNA targets were obtained from Macrogen (Korea) and prepared as follows:

**Stock solution (100 pmol/µL):** Primers were reconstituted in nuclease-free water.

**Working solution (10 pmol/µL):** Prepared by diluting 10 µL of stock solution in 90 µL of nuclease-free water. Table 1 presents the primer sequences used for RT-qPCR.

Table 1

**Primer Sequences Used for RT-qPCR Analysis of miRNA Expression**

Primer Name	Primer Sequences	Ref.
mir143-RT	5'- GTCGTATCCAGTGCCTGTCTGGAGTTCGGCAATTGCACTGGATACGACGAGCTA-3'	[10]
mir143-F	5'- CACGCATGAGATGAAGCACTG-3'	
mir143-R	5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTA-3'	
mir145-RT	5'- GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAGGGAT-3'	[11]
mir145-F	5'-GTCCAGTTTTCCAGGAATCC-3'	
mir145-R	5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGTAT-3'	

Continuation of Table 1

Primer Name	Primer Sequences	Ref.
mir155-RT	5'-GCGAGGCGGTGGCAGTGAAGCGTGATTTATTCACCGCCTCGCACCCCTAT-3'	[12]
mir155-F	5'-CTCAGACTCGGTTAATGCTAATCGTGATAGG-3'	
mir155-R	5'-GCTGTGGCAGTGAAGCGTGATTTATT-3'	
mir192-RT	5'-GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACGGCTGT-3'	[13]
mir192-F	5'-CGGTCCTGACCTATGAATTG-3'	
mir192-R	5'-GTGCAGGGTCCGAGGTATTC-3'	

**Realtime quantitative polymerase chain reaction protocol.** This project consists of two phases. In the first phase, a Protoscript cDNA synthesis kit was used to synthesise miRNA cDNA with primers for miRNA-143, -145, -155, and -192 (Table 1). The PCR mixture was prepared by combining the components in a sterile 1.5 mL microcentrifuge tube on ice, excluding the cDNA sample. The cDNA mixture was then added to the PCR mixture, resulting in a final reaction volume of 29  $\mu$ L. The mixture was incubated in a thermocycler at 42 °C for 1 hour, followed by enzyme inactivation at 80 °C. The cDNA product was stored for relative quantitative PCR analysis after measurement using a Qubit 4.0 fluorometer.

In the second phase, patient and control cDNA samples were processed simultaneously. Each sample was tested in two PCR tubes: one for the target miRNAs (143, 145, 155, and 192) and one for U6 snRNA, the housekeeping gene. The Luna<sup>®</sup> Universal QPCR Master Mix (M3003S) (NEB, England) was used to quantify sample expression levels based on fluorescence intensity. Gene expression levels of miRNA-143, miRNA-145, miRNA-155, and miRNA-192 were quanti-

fied using the comparative Ct method. U6 was used as the housekeeping gene (HKG) for normalization. The relative expression levels of the miRNAs were calculated using the formula  $2^{-\Delta Ct}$ , where  $\Delta Ct$  represents the difference between the mean Ct of the gene of interest (GOI) and the mean Ct of the housekeeping gene (HKG).

**Molecular detection of the GPX-1 gene rs1050450 by conventional PCR and sequencing.** Genomic DNA was extracted using the EasyPure Genomic DNA Kit (with RNase A) from TransGen (China). Following extraction, DNA fragments were confirmed by electrophoresis, verifying their presence and integrity. The GPX-1 gene rs1050450 polymorphism was detected using conventional PCR and sequencing. The primers were designed by the author and obtained as lyophilised primers from Macrogen. To prepare the working primer solution, 10  $\mu$ L of the stock primer was diluted with 90  $\mu$ L of nuclease-free water. Each lyophilised primer was dissolved according to the manufacturer's instructions (Macrogen, Korea) in an appropriate volume of nuclease-free water. Stock and diluted primer solutions were stored at -20 °C until use, as shown in Table 2.

Table 2

#### Primer sequences for detecting the GPX-1 gene rs1050450

SNP	Primer Sequences	Reference
GPX-1 rs1050450 F	5'-AGAGATTCTGAATTCCTCAA-3'	New Synthesis
GPX-1 rs1050450 R	5'-CGAGGTGGTATTTCTGTAAG-3'	New Synthesis

Following DNA extraction from the patient and control groups, GPX-1 was amplified with a fresh primer set to produce a 471 bp fragment for sequencing. A 25  $\mu$ L PCR mixture included 12.5  $\mu$ L OneTaq<sup>®</sup> Master

Mix (NEB, England), 4  $\mu$ L DNA sample, 1  $\mu$ L primers, and 6.5  $\mu$ L nuclease-free water. Response followed optimal PCR conditions (Table 3).

Table 3

#### PCR conditions for amplification of GPX-1 gene

Cycle Step	Temperature	Time	Cycles
Initial Denaturation	95 °C	3 Minutes	1
Denaturation	95 °C	30 Seconds	30
Annealing	51 °C	45 Seconds	
Extension	68 °C	30 Seconds	
Final Extension	68 °C	5 Minutes	1

At Macrogen, Korea, Sanger sequencing was used to detect single nucleotide polymorphisms in over 20  $\mu\text{L}$  of PCR output from each sample. Geneious Prime matched the sequences to GPX-1 (NG-051308). This molecular technique is widely applied in the medical field, it is used to diagnose urinary tract disorders [16-18], In addition, polymerase chain reaction (PCR) has been utilized to research the functions that enzymes play in the interactions between cancer cells in vivo [19, 20], to investigate mutations in gastric cancer [21], and to evaluate the levels of gene expression of biomarkers in a variety of disorders [22, 23]. Furthermore, the molecular techniques have also been used to investigate meta-

bolic reprogramming of small nuclear RNA as a breast cancer therapeutic target [24], quantify mitochondrial DNA for blastocyst transfer potential [25], and use miRNA-126 as a cancer stem cell biomarker [26].

**Measurement of oxidative stress markers.** The measurement of malondialdehyde (MDA) and 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHDG) was conducted according to standardized procedures, as summarized in Tables 4 and 5.

The standards were diluted in small tubes before pipetting 50  $\mu\text{L}$  from each dilution into the corresponding microplate wells. Each standard dilution was tested in duplicate, requiring a total of ten wells.

Table 4

#### Standard dilution for malondialdehyde (MDA)

Concentration	Standard No.	Preparation Method
360 ng/mL	1	300 $\mu\text{L}$ Original Standard + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
240 ng/mL	2	300 $\mu\text{L}$ Standard No.1 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
120 ng/mL	3	150 $\mu\text{L}$ Standard No.2 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
60 ng/mL	4	150 $\mu\text{L}$ Standard No.3 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
30 ng/mL	5	150 $\mu\text{L}$ Standard No.4 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent

Table 5

#### Standard dilution for 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHDG)

Concentration	Standard No.	Preparation Method
2400 pg/mL	1	300 $\mu\text{L}$ Original Standard + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
1600 pg/mL	2	300 $\mu\text{L}$ Standard No.1 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
800 pg/mL	3	150 $\mu\text{L}$ Standard No.2 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
400 pg/mL	4	150 $\mu\text{L}$ Standard No.3 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent
200 pg/mL	5	150 $\mu\text{L}$ Standard No.4 + 150 $\mu\text{L}$ Standard Diluent

ELISA procedure:

1. Sample Preparation: In the microplate strip wells, one well was left empty as a blank control. In the sample wells, 40  $\mu\text{L}$  of sample dilution buffer and 10  $\mu\text{L}$  of the sample were added (dilution factor: 5). The samples were carefully loaded onto the bottom of the wells without touching the walls and mixed gently.
2. Incubation: The plate was sealed with a closure membrane and incubated at 37°C for 30 minutes.
3. Washing Buffer Preparation: The concentrated washing buffer was diluted with distilled water (30-fold for 96T plates and 20-fold for 48T plates).
4. Washing Procedure: The closure membrane was removed, and the wells were aspirated and refilled with the wash solution. After a 30-second resting period, the solution was discarded. This washing step was repeated five times.
5. HRP-Conjugate Addition: 50  $\mu\text{L}$  of HRP-conjugate reagent was added to each well, except the blank control.
6. Second Incubation: The plate was incubated again at 37°C for 30 minutes, as described in Step 2.
7. Second Washing Step: The washing process was repeated as described in Step 4.
8. Color Development: 50  $\mu\text{L}$  of Chromogen Solution A and 50  $\mu\text{L}$  of Chromogen Solution B were added to each well. The plate was gently shaken and incubated at 37°C for 15 minutes in the dark to prevent light interference.
9. Reaction Termination: 50  $\mu\text{L}$  of stop solution was added to each well, causing the color to change from blue to yellow.
10. Optical Density (OD) Measurement: The absorbance was read at 450 nm using a microplate reader. The OD value of the blank control well was set to zero. The assay was completed within 15 minutes after adding the stop solution (Sunlong, China).

**Statistical analysis.** Statistical analyses were performed using SPSS version 20. In addition to Pearson correlation analysis to examine the association between

biochemical variables and miRNA expression, genotype distribution and allele frequencies were assessed using the chi-square test. Hardy-Weinberg equilibrium was tested, with p-values < 0.05 considered statistically significant.

**Results.** Gene expression of miRNAs. The housekeeping gene (U6) was assessed in both patients (30 samples) and controls (15 samples) after the correct

primer was bound to the appropriate target microRNAs (miRNA-143, -145, -155, and -192) at the optimal temperature. The results showed that, in this study, patients had 4.31 times more miRNA-143, 1.79 times more miRNA-145, and 2.27 times more miRNA-155 compared to controls. Table 6 indicates that patients downregulated miRNA-192 by 0.27-fold relative to controls.

Table 6

#### Fold change in gene expression for miRNA-143, miRNA-145, miRNA-155, and miRNA-192

Groups	Gene	Mean Ct of GOI (Gene of Interest)	Mean Ct of HKG (Housekeeping Gene)	$\Delta$ Ct (GOI - HKG)	Relative Expression ( $2^{-\Delta$ Ct)	$2^{-\Delta$ Ct Patients / $2^{-\Delta$ Ct Controls	Fold Change in Expression (Patients vs. Controls)	P-value
Patients	miRNA-143	29.76	20.54	9.22	0.00168	0.00240 / 0.00097	4.31	0.04
Controls		29.49	18.17	11.32	0.00039	0.00039 / 0.00039	1.00	
Patients	miRNA-145	31.66	20.57	11.09	0.000459	0.000459 / 0.000821	1.79	0.92
Controls		28.36	18.11	10.25	0.000821	0.000821 / 0.000821	1.00	
Patients	miRNA-155	17.25	20.54	-3.29	9.79	9.79 / 4.32	2.27	0.04
Controls		16.06	18.17	-2.11	4.32	4.32 / 4.32	1.00	
Patients	miRNA-192	32.22	21.50	10.73	0.00059	0.00059 / 0.002176	0.27	0.12
Controls		27.43	18.58	8.84	0.002176	0.002176 / 0.002176	1.00	

*Relationship among miRNAs with products of oxidative stress.* The Pearson correlation test was used to compare the mean  $\Delta$ Ct values of the four miRNAs of interest with two oxidative stress indicators (8-OHDG and MDA). The results showed that:

- 8-OHDG and MDA were positively correlated ( $p \leq 0.001$ ) with miRNA-145 and miRNA-192 ( $r = 0.705$ ,  $r = 0.639$ ,  $r = 0.586$ ,  $r = 0.589$ ).

- miRNA-155 was positively correlated with 8-OHDG and MDA ( $p = 0.023$ ,  $r = 0.414$ ;  $p = 0.018$ ,  $r = 0.428$ ).
- miRNA-143 had a small, non-significant positive correlation with 8-OHDG and MDA ( $p = 0.131$ ,  $r = 0.282$ ;  $p = 0.137$ ,  $r = 0.278$ ).

Genetic polymorphisms of the GPX-1 gene. Figure 1 presents the 471-bp gel electrophoresis band for the GPX-1 rs1050450 SNP identified by conventional PCR.

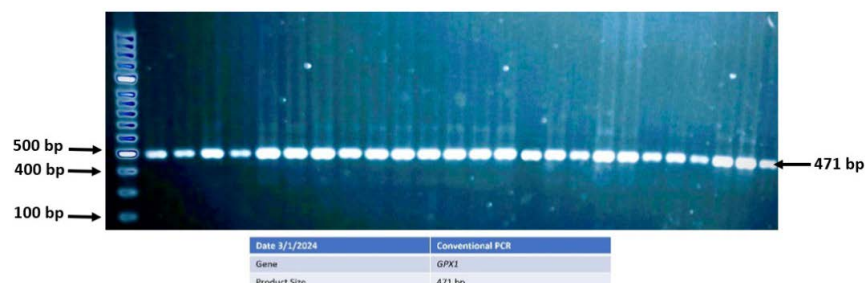


Fig. 1. Gel Electrophoresis of GPX-1 rs1050450 SNP. Agarose gel electrophoresis (1%) of the 471-bp GPX-1 rs1050450 amplicon from patient and control groups. The gel was run in 1X TAE buffer at 100V for 1 hour and stained with red stain. A 100-bp DNA ladder was used as a marker.

The analysis revealed that hemodialysis patients exhibited CC, CT, and TT genotypes. The distribution of these genotypes in patients and controls was consis-

tent with Hardy-Weinberg equilibrium ( $P = 0.46$  for patients,  $P = 0.8$  for controls), indicating genetic stability in the population (Table 7).

Table 7

## Genotypes of GPX-1 rs1050450 and allele frequencies in patients and controls

GPX-1 Genotyping	Patients		Controls	
	Observed (%)	Expected (%)	Observed (%)	Expected (%)
CC	33 (68.75)	32 (66.7)	23 (76.7)	23.41 (78.0)
CT	12 (25.00)	15 (31.22)	7 (23.3)	6.2 (20.7)
TT	3 (6.25)	1 (2.08)	0 (00.0)	0.3 (1.3)
Total	78 (100.0)	78 (100.0)	30 (100.0)	30 (100.0)
p-HWE	P = 0.46		P = 0.8	

**Discussion.** MiRNAs contribute to fibrosis in various organs [27], including renal fibrosis, which has been extensively studied. Certain miRNAs induce mRNA degradation and/or inhibit protein translation, playing a role in kidney pathophysiology, including inflammation, nephritic syndrome, renal fibrosis, lupus nephritis (LN), and cancer [28, 29].

The miR-143/145 cluster is now recognized as multifunctional. MiRNAs 143 and 145 inhibit cancer progression by promoting cell death, cell cycle regulation, and apoptosis [30]. In this study, renal failure patients exhibited a 4.31-fold higher expression of miRNA-143 than controls. MiRNA-143 is essential for cell growth, differentiation, and apoptosis, and its upregulation is associated with the progression of chronic kidney disease (CKD) and renal failure, which are driven by fibrosis and inflammation [31]. Similarly, miRNA-145 expression was 1.79 times higher in patients than in controls, consistent with findings by Brignat et al. (2017), who reported elevated miRNA-145 levels in CKD patients compared to healthy individuals [32]. Hemodialysis patients have also been shown to overexpress miRNA-145 compared to healthy controls [33].

MiRNA-155, encoded by the MIR155 host gene, is involved in various physiological and pathological processes, including cancer, viral infections, and cardiovascular diseases. It plays a crucial role in hematopoiesis, immunity, and inflammation [34]. Hypoxia-induced overexpression of miRNA-155 in proximal tubule cells contributes to renal fibrosis while increasing evidence links miRNA-155 to hematopoiesis, inflammation, and immunological responses. Renal failure patients demonstrate increased miRNA-155 expression, which correlates with inflammatory responses and immune regulation. IL-6 and hs-CRP levels are significantly elevated in the serum of uremic dialysis patients expressing miRNA-155 [35].

MiRNA-192 regulates differentiation, proliferation, apoptosis, epithelial-mesenchymal transition (EMT), angiogenesis, metabolism, inflammation, oxidative stress, and drug resistance by affecting mRNA degradation and protein translation [36, 37]. In this study, patients exhibited a 0.27-fold lower expression of miRNA-192 than controls. The kidneys express miRNA-192, which regulates renal function and structural genes, such as E-cadherin. In CKD mouse models,

miRNA-192 downregulation promotes fibrosis and reduces renal function, as profibrotic and proinflammatory genes become upregulated [38].

The differential expression of miRNA-143, miRNA-145, miRNA-155, and miRNA-192 in renal failure patients compared to controls suggests their role in disease pathogenesis. The overexpression of miRNA-143, miRNA-145, and miRNA-155 in patients may indicate their involvement in renal failure progression through inflammation, fibrosis, or apoptosis [39]. Conversely, the downregulation of miRNA-192 in patients may serve a protective or regulatory function in renal pathology [38]. These findings underscore the complexity of miRNA dysregulation in renal failure and highlight the need for further research to elucidate the underlying mechanisms.

A significant moderate positive correlation ( $p \leq 0.001$ ) was observed between miRNA-145, miRNA-192, 8-OHDG, and MDA, indicating their essential role in oxidative stress responses. The overexpression of protective miRNAs may have therapeutic potential in chronic kidney disease, where oxidative damage is a key contributor [40]. Although miRNA-155 showed a moderate correlation with oxidative stress markers, miRNA-143 did not exhibit a significant association with oxidative stress indicators ( $r=0.282$  for 8-OHDG,  $r=0.278$  for MDA) [41, 42]. However, miRNA-143 may influence renal vascular disease by affecting vascular smooth muscle cell proliferation and apoptosis. The lack of correlation with oxidative stress remains unexplored. Further research is necessary to determine whether this is due to miRNA-143's role in fibrosis or apoptosis, which may be unrelated to oxidative stress, or if other factors influence its expression [43, 44].

The moderate positive correlation between miRNA-155 and both oxidative stress markers ( $r=0.414$  for 8-OHDG;  $r=0.428$  for MDA) suggests that miRNA-155 may contribute to renal injury via inflammation. MiRNA-155 is associated with kidney disease, macrophage activation, and cytokine production [45].

Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) analysis confirmed that genotype frequencies in both patient and control groups align with HWE expectations, suggesting genetic stability. The CC genotype was more prevalent in the control group (76.7%) than in the patient group (68.75%), while the CT genotype was

slightly more frequent in patients (25.00%) compared to controls (23.3%). The TT genotype was absent in controls but detected in 6.25% of patients. Both groups had more C alleles than T alleles, with the control group exhibiting a higher frequency of the C allele [46].

These findings suggest that GPX-1 Pro198Pro (CC genotype at rs1050450) is the predominant variant, which is associated with normal GPX-1 activity. Since all participants—both patients and controls—carry this genotype [46], differences in oxidative stress are unlikely due to SNP variations. Instead, genetic, environmental, or disease-specific factors may contribute to the increased oxidative stress observed in hemodialysis patients [47].

The absence of CT and TT genotypes in some hemodialysis patients and controls suggests that the T allele (198Leu) is rare in this population. Genotype distribution is significantly influenced by population genetics. According to HWE principles, genotype frequencies remain constant unless affected by natural selection, genetic drift, gene flow, or mutations. The low frequency of the CT and TT genotypes in this study sample may be due to population-specific allele distributions [48].

Previous research indicates that the T allele is associated with reduced GPX-1 activity and increased oxidative stress. However, because the CC genotype (Pro198Pro) is predominant in this study, GPX-1 enzyme activity remains stable, offering protection against oxidative stress [49].

Despite this, hemodialysis patients still exhibit elevated oxidative stress levels, likely due to uremic conditions and treatment-related factors. Additional contributors may include reduced antioxidant levels, increased ROS production, or impaired antioxidant defense mechanisms [50]. Given the high oxidative stress levels observed in hemodialysis patients without SNP polymorphisms, other factors must be responsible. This underscores the complex nature of oxidative stress regulation and the need for comprehensive genetic, en-

vironmental, and biochemical investigations in hemodialysis patients [50].

This study has several limitations. First, the small sample size may have influenced the results. Second, the study focused solely on patients from Ramadi, limiting the generalizability of the findings; future research should include diverse populations. Third, while real-time PCR was used for gene expression analysis, incorporating conventional PCR, electrophoresis, and sequencing could provide additional insights into the effects of GPX-1 SNP rs1050450 in hemodialysis patients. Finally, this study did not investigate immunological changes in hemodialysis patients, which could be explored in future research.

**Conclusion.** Hemodialysis patients exhibited significantly higher overexpression of miRNA-143, miRNA-145, and miRNA-155 compared to healthy controls. The downregulation of miRNA-192 in patients suggests its potential role in renal function modification. Additionally, hemodialysis patients without the rs1050450 mutation experienced elevated oxidative stress. The overexpression of miRNA-143, miRNA-145, and miRNA-155 in renal failure patients indicates their potential as diagnostic biomarkers. Their high expression levels may facilitate non-invasive monitoring of disease progression and therapeutic responses. A deeper understanding of the roles of miRNA-143, miRNA-145, miRNA-155, and miRNA-192 in renal failure could pave the way for personalized treatment approaches.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

**Funding source.** This study received no financial support.

**Author contributions.** Both authors contributed equally to the research proposal, manuscript writing, and implementation of the research plan.

**Data availability.** The datasets used and analyzed in this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## References:

1. Jager KJ, Kovesdy C, Langham R, Rosenberg M, Jha V, Zoccali C. A single number for advocacy and communication—worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases. *Kidney Int.* 2019;96(5):1048-1050. doi: 10.1016/j.kint.2019.07.012.
2. Gyuraszova M, Gurecka R, Babickova J, Tothova L. Oxidative Stress in the Pathophysiology of Kidney Disease: Implications for Noninvasive Monitoring and Identification of Biomarkers. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:5478708. doi: 10.1155/2020/5478708.
3. Biljak VR, Honovic L, Matica J, Kresic B, Vojak SS. The role of laboratory testing in detection and classification of chronic kidney disease: national recommendations. *Biochem Med (Zagreb).* 2017;27(1):153-176. doi: 10.11613/BM.2017.019.
4. Al-Mohani SK, Abdo Al-Awadi RH, Tajaldeem ME, AlMogammer AM, Al-Shaghdari MM, Osama Foud Alshopi OF, et al. Associated risk factors of renal failure among patients attending Hemodialysis center at Al-Thwara Authority Hospital in IBB city, Yemen: A cross sectional study. *World J Adv Res Rev.* 2023;18(3): 446–454. doi: 10.30574/wjarr.2023.18.3.1038.
5. Motshwari DD, Matshazi DM, Erasmus RT, Kengne AP, Matsha TE, George C. MicroRNAs Associated with Chronic Kidney Disease in the General Population and High-Risk Subgroups—A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1792. doi: 10.3390/ijms24021792.
6. Ren D, Cai Y, Xu G. Potential of microRNA expression profile in predicting renal impair-

- ment risk in multiple myeloma patients. *Transl Cancer Res.* 2020;9(3):1495-1505. doi: 10.21037/tcr.2020.01.41.
7. *Seale LA, Torres DJ, Berry MJ, Pitts MW.* A role for selenium-dependent GPX1 in SARS-CoV-2 virulence. *Am J Clin Nutr.* 2020;112(2):447-448. doi: 10.1093/ajcn/nqaa177.
  8. *Brigelius-Flohe R, Flohe L.* Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxid Redox Signal.* 2020;33(7):498-516. doi: 10.1089/ars.2019.7905.
  9. *Corredor Z, Filho MIDS, Rodriguez-Ribera L, Velazquez A, Hernandez A, Catalano C, et al.* Genetic Variants Associated with Chronic Kidney Disease in a Spanish Population. *Sci Rep.* 2020;10(1):144. doi: 10.1038/s41598-019-56695-2.
  10. *Chen X, Luo J, Liu J, Chen T, Sun J, Zhang Y, Xi Q.* Exploration of the Effect on Genome-Wide DNA Methylation by miR-143 Knock-Out in Mice Liver. *Int J Mol Sci.* 2021;22(23):13075. doi: 10.3390/ijms222313075.
  11. *Hua M, Qin Y, Sheng M, Cui X, Chen W, Zhong J, et al.* miR 145 suppresses ovarian cancer progression via modulation of cell growth and invasion by targeting CCND2 and E2F3. *Mol Med Rep.* 2019;19(5):3575-3583. doi: 10.3892/mmr.2019.10004.
  12. *Jia J, Li X, Guo S, Xie X.* MicroRNA-155 Suppresses the Translation of p38 and Impairs the Functioning of Dendritic Cells in Endometrial Cancer Mice. *Cancer Manag Res.* 2020;12:2993-3002. doi: 10.2147/CMAR.S240926.
  13. *Lou L, Tian M, Chang J, Li F, Zhang G.* MiRNA-192-5p attenuates airway remodeling and autophagy in asthma by targeting MMP-16 and ATG7. *Biomed Pharmacother.* 2020;122:109692. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109692.
  14. *Schmittgen TD, Livak KJ.* Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* 2008;3(6):1101-8. doi: 10.1038/nprot.2008.73.
  15. *Zou XZ, Liu T, Gong ZC, Hu CP, Zhang Z.* MicroRNAs-mediated epithelial-mesenchymal transition in fibrotic diseases. *Eur J Pharmacol.* 2017;796:190-206. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.12.003.
  16. *Mohsin MR, Al-Rubaii BAL.* Bacterial growth and antibiotic sensitivity of *Proteus mirabilis* treated with anti-inflammatory and painkiller drugs. *Biomedicine.* 2023;43(2):728-34. doi: 10.51248/v43i02.2693.
  17. *Ibrahim GJ, Laftaah BA.* The Efficiency of Certain Amino Acids in regulating chABCI Gene Expression in *Proteus mirabilis*. *Iraqi Journal of Science.* 2024; 56(9). doi: 10.24996/ijcs.2024.65.9.15.
  18. *Abdullah MM, AL-Rubaii BAL.* Effect of Lactobacillus supernatant on swarming-related gene expression in *Proteus mirabilis* isolated from urinary tract infections. *Ukr J Nephrol Dial.* 2024; 4(84): 39-48. doi: 10.31450/ukrjnd.4(84).2024.05.
  19. *Ali SM, Lafta h BA, Al-Shammary AM, Salih HS.* Study the role of bacterial neuraminidase against adenocarcinoma cells in vivo. *AIP Conf Proc.* 2021; 2372(1): 030009. doi: 10.1063/5.0067193.
  20. *Salih HS, Al-Shammari AM, Laftaah BA.* Intratumoral co-administration of oncolytic newcastle disease virus and bacterial hyaluronidase enhances virus potency in tumor models. *Journal of Global Pharma Technology.* [Internet].2018; 10(10):303-310. Available from: <https://www.jgpt.co.in/index.php/jgpt/article/view/1510>.
  21. *Bresam S, Alhumairi RM, Hade IM, Al-Rubaii BA.* Genetic mutation rs972283 of the KLF14 gene and the incidence of gastric cancer. *Biomedicine.* 2023; 43(4):1256-60. doi: 10.51248/v43i4.3112.
  22. *Al-Jumaily RM, AL-Sheakli II, Muhammed HJ, Al-Rubaii BA.* Gene expression of Interleukin-10 and Foxp3 as critical biomarkers in rheumatoid arthritis patients. *Biomedicine.* 2023;43(4):1183-7. doi: 10.51248/v43i4.3107.
  23. *Muhsin HY, Al-Humairi RM, Alshareef DQ, Ad'hiah AH.* Interleukin-22 is up-regulated in serum of male patients with ankylosing spondylitis. *The Egyptian Rheumatologist.* 2022;44(4):351-355. doi: 10.1016/j.ejr.2022.07.002.
  24. *Sultan RS, Al Khayali BD, Abdulmajeed GM, Al-Rubaii BA.* Exploring small nucleolar RNA host gene 3 as a therapeutic target in breast cancer through metabolic reprogramming. *Opera Medica et Physiologica.* 2023;10(4):36-47. doi: 10.24412/2500-2295-2023-4-36-47.
  25. *Hassoon AH.* Evaluating the role of mitochondrial DNA quantification in blastocyst transfers potential. *AIP Conference Proceedings 2022;* 2386(1): doi: 10.1063/5.0067093.
  26. *Hamoode RH, Alkubaisy SA, Sattar DA, Hamzah SS, Saleh TH, Al-Rubaii BA.* Detection of anti-testicular antibodies among infertile males using indirect immunofluorescent technique. *Biomedicine.* 2022; 42(5):978-982. doi: 10.51248/v42i5.1963.
  27. *Ishii H, Vodnala SK, Achyut BR, So JY, Hollander MC, Greten TF, et al.* miR-130a and miR-145 reprogram Gr-1+CD11b+ myeloid cells and inhibit tumor metastasis through improved host immunity. *Nat Commun.* 2018;9(1):2611. doi: 10.1038/s41467-018-05023-9.
  28. *Zhao X, Zhang W, Ji W.* MYO5A inhibition by miR-145 acts as a predictive marker of occult neck lymph node metastasis in human laryngeal squamous cell carcinoma. *Onco Targets Ther.* 2018;11:3619-3635. doi: 10.2147/OTT.S164597.
  29. *Zhu X, Zhu R.* Curcumin suppresses the progression of laryngeal squamous cell carcinoma through the upregulation of miR-145 and inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Onco Targets Ther.* 2018;11:3521-3531. doi: 10.2147/OTT.S159236.

30. *Franczyk B, Gluba-Brzozka A, Olszewski R, Parolczyk M, Rysz-Gorzyńska M, Rysz J.* miRNA biomarkers in renal disease. *Int Urol Nephrol.* 2022;54(3):575-588. doi: 10.1007/s11255-021-02922-7.
31. *Brigant B, Metzinger-Le Meuth V, Massy ZA, McKay N, Liabeuf S, Pelletier M, et al.* Serum microRNAs are altered in various stages of chronic kidney disease: a preliminary study. *Clin Kidney J.* 2017;10(1):30-37. doi: 10.1093/ckj/sfw060.
32. *Citak E, Yalin SF, Altiparmak MR, Guven M.* Investigation of XPD, miR-145 and miR-770 expression in patients with end-stage renal disease. *Mol Biol Rep.* 2023;50(8):6843-6850. doi: 10.1007/s11033-023-08608-w.
33. *Ji H, Tian D, Zhang B, Zhang Y, Yan D, Wu S.* Overexpression of miR-155 in clear-cell renal cell carcinoma and its oncogenic effect through targeting FOXO3a. *Exp Ther Med.* 2017;13(5):2286-2292. doi: 10.3892/etm.2017.4263.
34. *Zhang W, Shi L, Zhang H, Wang C, Gao S, Ma Y, et al.* Effect of alprostadil on serum level of miRNA-155 in uremic patients. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2015;40(7):735-41. doi: 10.11817/j.issn.1672-7347.2015.07.006. [In Chinese].
35. *Mishan MA, Tabari MAK, Parnian J, Fallahi J, Mahrooz A, Bagheri A.* Functional mechanisms of miR-192 family in cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 2020; 59(12):673-735. doi: 10.1002/gcc.22889.
36. *Chien HY, Chen CY, Chiu YH, Lin YC, Li WC.* Differential microRNA Profiles Predict Diabetic Nephropathy Progression in Taiwan. *Int J Med Sci.* 2016;13(6):457-65. doi: 10.7150/ijms.15548.
37. *Krupa A, Jenkins R, Luo DD, Lewis A, Phillips A, Fraser D.* Loss of MicroRNA-192 promotes fibrogenesis in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(3):438-47. doi: 10.1681/ASN.2009050530.
38. *Tsuji K, Nakanoh H, Fukushima K, Kitamura S, Wada J.* MicroRNAs as Biomarkers and Therapeutic Targets for Acute Kidney Injury. *Diagnostics (Basel).* 2023;13(18):2893. doi: 10.3390/diagnostics13182893.
39. *Ho HJ, Shirakawa H.* Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Chronic Kidney Disease. *Cells.* 2022;12(1):88. doi: 10.3390/cells12010088.
40. *Tugasworo D, Prasetyo A., Kurnianto A, Retnaningsih R, Andhitara Y, Ardhini R, et al.* Malondialdehyde (MDA) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in ischemic stroke: a systematic review. *Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg.*2023;59,87. doi: 10.1186/s41983-023-00688-6.
41. *Zhang C.* MicroRNA and vascular smooth muscle cell phenotype: new therapy for atherosclerosis? *Genome Med.*2009;1(9):85. doi: 10.1186/gm85.
42. *Graille M, Wild P, Sauvain JJ, Hemmendinger M, Guseva Canu I, Hopf NB.* Urinary 8-OHdG as a Biomarker for Oxidative Stress: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3743. doi: 10.3390/ijms21113743.
43. *Ling XC, Kuo KL.* Oxidative stress in chronic kidney disease. *Ren Replace Ther.*2018;4:53. doi: 10.1186/s41100-018-0195-2.
44. *O'Connell RM, Kahn D, Gibson WS, Round JL, Scholz RL, Chaudhuri AA, et al.* MicroRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development. *Immunity.* 2010;33(4):607-19. doi: 10.1016/j.immuni.2010.09.009.
45. *Donadio JL, Guerra-Shinohara EM, Rogero MM, Cozzolino SM.* Influence of Gender and SNPs in GPX1 Gene on Biomarkers of Selenium Status in Healthy Brazilians. *Nutrients.* 2016;8(5):81. doi: 10.3390/nu8050081.
46. *Forsberg L, de Faire U, Marklund SL, Andersson PM, Stegmayr B, Morgenstern R.* Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. *Blood Cells Mol Dis.* 2000;26(5):423-6. doi: 10.1006/bcmd.2000.0325.
47. *Hartl DL, Clark AG.* Principle of population Genetics. 4th. Sinauer Associates. 2007;14(4):544-545. doi:10.2980/1195-6860(2007)14[544b:POPG]2.0.CO;2.
48. *Ravn-Haren G, Olsen A, Tjønneland A, Dragsted LO, Nexø BA, Wallin H, et al.* Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. *Carcinogenesis.* 2006;27(4):820-5. doi: 10.1093/carcin/bgi267.
49. *Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, Dounousi E, Mertens PR.* Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxid Med Cell Longev.*2017;2017:3081856. doi: 10.1155/2017/3081856.
50. *Dahiya K, Dhankhar R, Dahiya P, Ahlawat R, Hooda N.* Role of Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease. In book: Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Diseases. 2020;259-276. doi:10.1007/978-981-15-1568-2\_15.



# 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

V. Antoniuk<sup>1</sup>, S. Pavlovych<sup>1</sup>, B. Dzhuran<sup>2</sup>, O. Kondratska<sup>1</sup>,  
R. Yanchii<sup>1</sup>

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.07

## Histopathological alterations in kidney tissue following experimental endotoxemia in a murine model

<sup>1</sup>Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Citation:

Antoniuk V, Pavlovych S, Dzhuran B, Kondratska O, Yanchii R. Histopathological alterations in kidney tissue following experimental endotoxemia in a murine model. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85): 49-54. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.07.

**Abstract.** *Acute kidney injury (AKI) is a clinical syndrome characterized by a rapid decline in kidney function and represents a serious threat to human health. One of the most common causes of AKI is endotoxemia or sepsis, triggered by the hyperactivation of the immune system in response to gram-negative bacterial infections. The pathogenesis of AKI is highly complex and not yet fully understood. The present study aimed to investigate histopathological changes in kidney tissue using a model of inflammation induced by lipopolysaccharide (LPS), a key component of the outer membrane of gram-negative bacteria.*

**Methods.** *Systemic endotoxemia was induced in mice by intraperitoneal injection of LPS (E. coli O111:B4, Sigma, USA) at a dose of 3 mg/kg body weight. Control animals received saline injections. After 24 hours, the animals were anesthetized with ether, and kidney tissue samples were collected for analysis. For histological evaluation, kidney tissue specimens were fixed in 10% neutral formalin, processed using standard histological techniques, embedded in paraffin, sectioned, stained with hematoxylin-eosin, and examined under a light microscope.*

**Results.** *LPS injection resulted in pronounced neutrophilia in the blood leukogram: the percentage of rod-shaped neutrophils increased 3.6-fold while the percentage of segmented neutrophils increased 2.7-fold ( $p < 0.05$ ), which indicates systemic inflammatory response. Significant histopathological damage to kidney tissue was detected under these conditions. Dystrophic and necrotic changes were observed in Bowman's capsules. Circulatory disturbances were evident, with morphological alterations in all layers of the vascular walls and destruction of the epithelium in the proximal and distal convoluted tubules.*

**Conclusions.** *The findings indicate that systemic inflammation induced by LPS leads to substantial morphological alterations in kidney tissue. These changes include circulatory disturbances, structural damage to vascular glomeruli, and epithelial injury in the proximal and distal convoluted tubules. The observed damage results in a reduction in the number of functioning nephrons, which may contribute to the progression of kidney failure.*

**Key words:** *lipopolysaccharides, endotoxemia, acute kidney injury, mice, histological techniques.*

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

© V. Antoniuk, S. Pavlovych, B. Dzhuran, O. Kondratska, R. Yanchii, 2025.

Correspondence should be addressed to Vitaliy Antoniuk: [v\\_antonyuk22@ukr.net](mailto:v_antonyuk22@ukr.net)

### Article history:

Received January 23, 2025

Received in revised form  
February 22, 2025

Accepted February 24, 2025



© Антонюк В. М., Павлович С. І., Джуран Б. В., Кондрацька О. А., Янчій Р. І., 2025

УДК: 612.017: 616-092.9:616.6

В.М. Антонюк<sup>1</sup>, С.І. Павлович<sup>1</sup>, Б.В. Джуран<sup>2</sup>, О.А. Кондрацька<sup>1</sup>, Р.І. Янчій<sup>1</sup>

## Гістоструктурні зміни тканини нирок за умов експериментальної ендотоксемії

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця, НАНУ, Київ, Україна

<sup>2</sup>Національний університет охорони здоров'я України П.Л. Шупика, Київ, Україна

**Резюме.** Вступ. Гостре пошкодження нирок (ГПН) – це клінічний синдром, який характеризується стримким порушенням ниркової функції і являє собою серйозну загрозу для здоров'я людини. Однією з найбільш поширених причин його виникнення є ендотоксемія або сепсис, індуковані гіперактивізацією імунної системи грам-негативними бактеріями. Патогенез ГПН надзвичайно складний та недостатньо вивчений. Метою представленої роботи було дослідити гістоструктурні зміни тканини нирок на моделі запалення, індукованого ліпололісахаридом (ЛПС) – компонентом мембрани грам-негативних бактерій.

**Методи.** Системну ендотоксемию моделювали за допомогою внутрішньоочеревинного введення ЛПС (*E. coli* 0111:B4, Sigma, USA) в дозі 3 мг/кг маси миші. Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин. Через 24 год тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для досліджень. Для гістологічної оцінки шматочки тканини нирок фіксували 10% нейтральним формаліном, потім обробляли за загальноприйнятою гістологічною методикою і заливали у парафін. Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином і аналізували під світловим мікроскопом.

**Результати.** Введення ЛПС призводило до вираженої нейтрофілії в лейкограмі крові: відсоток паличкоядерних нейтрофілів збільшувався у 3,6 рази, а сегментоядерних – у 2,7 рази ( $p < 0,05$ ), що свідчить про системну запальну відповідь. За цих умов виявлено значні гістоструктурні пошкодження тканини нирок. Спостерігались дистрофічні та некротичні зміни в капсулах Боумена. Виявлялось порушення кровообігу з морфологічними змінами всіх шарів судинних стінок та деструкцією епітелію проксимальних та дистальних звивистих каналців.

**Висновки.** Аналіз отриманих даних свідчить про те, що за умов системного запального процесу, індукованого ЛПС, відбуваються значні морфологічні зміни тканини нирок, які включають порушення кровообігу з вираженим пошкодженням гістоструктури судинних клубочків та епітелія проксимальних і дистальних звивистих каналців, що веде до зменшення рівня маси діючих нефронів та в подальшому може призвести до ниркової недостатності.

**Ключові слова:** ліпололісахариди, ендотоксемія, гостре ураження нирок, миші, гістологічні методи.

**Introduction.** The kidneys function to remove waste products and toxins from the bloodstream (approximately 20–25% of cardiac output) and maintain fluid and electrolyte homeostasis. Additionally, the kidneys play a crucial role in regulating blood pressure and hormone secretion. Toxic damage and ischemia of the kidneys lead to structural and functional disruptions [1]. In particular, toxic effects on the kidneys can result from urinary tract infections (UTIs), which, in the vast majority of cases, are caused by uropathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) [2–4]. According to bacteriological studies, *E. coli* is responsible for approximately 70–80% of UTIs [5–9]. The presence of pathogenic microorganisms can trigger systemic inflammation. Under these conditions, macrophage infiltration into kidney tissue occurs, pro-inflammatory mediator expression is activated, and oxidative stress develops, potentially leading to acute kidney injury (AKI) [10–12].

AKI is a common clinical complication associated with increased morbidity and mortality [13]. In clinical practice, AKI is defined as a rapid decline in kidney function, impairing the ability to maintain water-electrolyte and acid-base balance. It is characterized by a sudden decrease in the glomerular filtration rate, resulting in the retention of creatinine, urea, and other metabolic waste products, along with impaired excretion. Additionally, AKI leads to reduced urine output (oliguria) and increased concentrations of potassium and phosphate in the body, which contribute to serious complications [14].

AKI induced by bacterial endotoxins is a syndrome of systemic inflammation that not only affects the kidneys but can also lead to multiple organ failure [15]. During the early excessive inflammatory response triggered by endotoxins in the bloodstream, T cells, B cells, and dendritic cells become severely depleted, leading to immune suppression. As a result, immunosuppression develops, which is one of the primary causes of high mortality in affected patients [16].

Significant attention has been given to studying the mechanisms underlying renal inflammation. However, investigations into the morphological changes in the kidneys associated with endotoxins from gram-negative bacteria remain limited.

**Vitaliy Antoniuk:**

**v\_antonyuk22@ukr.net**

**The present study aimed** to investigate histostructural changes in kidney tissue using a lipopolysaccharide (LPS)-induced model of experimental acute kidney injury associated with endotoxemia.

**Materials and methods.** The study protocol was reviewed and approved by the Biomedical Ethics Committee of the Bohomolets Institute of Physiology, NASU, Kyiv (Protocol No. 1/25, dated 08.01.2025).

The study was conducted using Albino mice (weighing 18–22 g), housed under standard conditions in the vivarium of the Bohomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine. All procedures followed the International Principles of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986), the EU Council Directive 2010/63/EU on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes (22.09.2010), and the Law of Ukraine “On the Protection of Animals from Cruelty” (No. 3447-IV, 21.02.2006).

The use of LPS is a well-established model for studying both systemic and organ-specific immune-induced processes. However, variations in species and strains of laboratory animals, as well as differences in LPS preparations from various *Escherichia coli* serotypes, can lead to differing responses to endotoxin exposure [17]. In this study, female mice were maintained in a temperature-controlled room ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) under a 12-hour light/dark cycle and provided with a certified rodent diet, along with ad libitum access to filtered water. The mice were randomly assigned into two groups (9 mice per group):

- Experimental group: received intraperitoneal injections of LPS (3 mg/kg body weight; *E. coli* O111:B4, Sigma, St. Louis, MO, USA).
- Control group: received intraperitoneal injections of an equivalent volume of saline.

After 24 hours, the animals were anesthetized with ether, and kidney tissue samples were collected for histological analysis. Blood leukogram changes were also recorded at this time.

For histological examination, kidney tissue sections were fixed in 10% neutral formalin, processed using standard histological techniques, and embedded in paraffin [18]. Sections were stained with hematoxylin-eosin [19] and examined under a light microscope.

**Statistical Analysis.** Statistical analysis was performed using GraphPad Prism version 5.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). The Kolmogorov-Smirnov test confirmed that all data followed a normal distribution. Results were expressed as mean  $\pm$  SEM. Group comparisons were conducted using Student's *t*-test, with  $P < 0.05$  considered statistically significant.

**Results.** The blood leukogram revealed that the percentage of rod-shaped neutrophils increased 3.6-fold (from  $5.3 \pm 1.5\%$  in the control group to  $19.1 \pm 1.9\%$  in the LPS group,  $p < 0.05$ ), while the percentage of segmented neutrophils increased 2.7-fold (from

$14.0 \pm 2.2\%$  in the control group to  $37.6 \pm 3.7\%$  in the LPS group,  $p < 0.05$ ). This indicated significant neutrophilia with a left shift in the leukogram, a hallmark of a systemic inflammatory response.

Histological examination of kidney tissue from control mice revealed no morphological abnormalities. Bowman's capsules retained a regular shape and contained vascular glomeruli, with capillary loops arranged in freely positioned spherical structures. The blood supply was consistent and moderate. The tubular basement membranes were well-defined. The epithelial cells of the proximal convoluted tubules were cuboidal or columnar, with spherical nuclei and eosinophilic cytoplasm. The lumens of the proximal tubules were minimal. In contrast, the distal tubules exhibited significantly enlarged lumens, which appeared empty (Fig. 1).

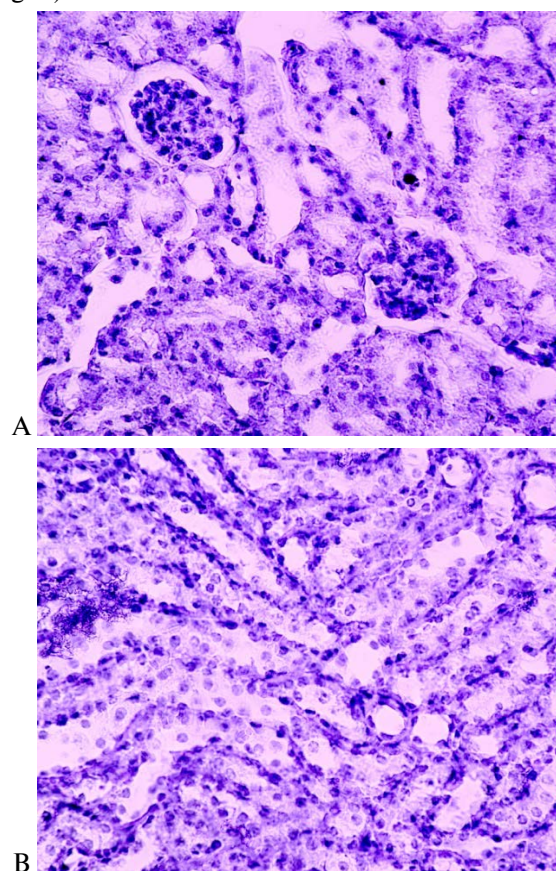


Fig. 1. Micrograph of a section of kidney tissue in the control. Staining with hematoxylin and eosin. Objective lens 40, Ocular lens 10. (A): The histological structure of the kidney is preserved. Bowman's capsules, renal glomeruli, and tubules are not changed. (B): The distal tubules have a significant lumen, which is free of content.

Histological examination of kidney tissue under conditions of LPS-induced inflammation revealed morphological changes in both the Bowman's capsules and the proximal and distal tubules. The Bowman's capsules were reduced in size, with vascular glomeruli occupying nearly the entire volume of the capsule. Some glomeruli were compressed against one edge of the capsule. In the central zone of the glomerular lobule, the number of nuclei was reduced. Additionally, some Bow-

man's capsules contained glomeruli that had become a homogeneous mass with separate nuclei, showing signs of dystrophic and necrotic changes. Erythrocytes were detected in the cavity of some Bowman's capsules (Fig. 2A).

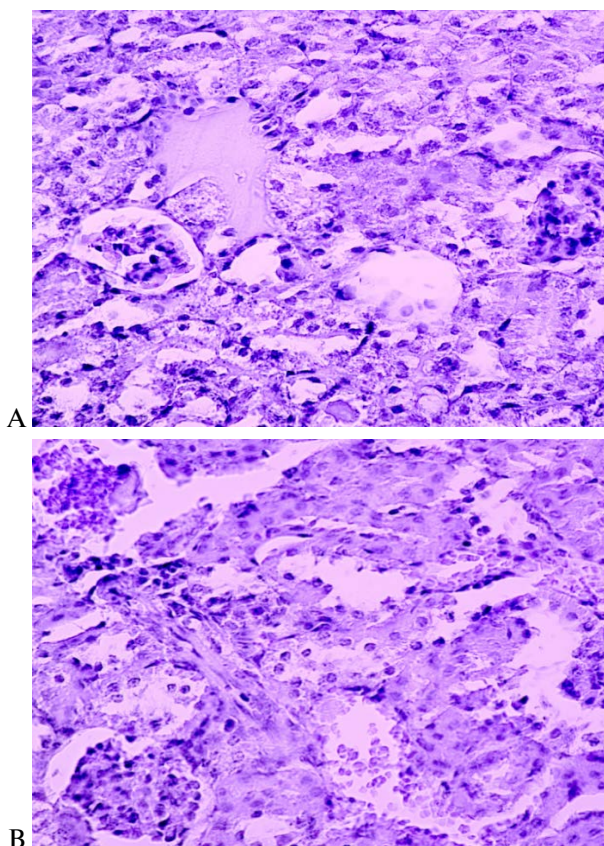


Fig. 2. Micrograph of a kidney tissue section under LPS-induced inflammation conditions. Staining with hematoxylin and eosin. Objective lens 40x, ocular lens 10x. (A): Bowman's capsules are reduced, glomeruli are deformed and compressed to one edge; some glomeruli have transformed into a homogeneous mass with dystrophic and necrotic nuclei. Some proximal tubules have no lumen. (B): Distal tubules are severely dilated, with signs of epithelial destruction and desquamation, along with hyperchromatic nuclei.

Significant changes also occurred in the capillary network of the kidneys. In some areas of the kidneys, there were areas where the proximal tubules had no lumen at all or were filled with eosinophilic content. Near the Bowman's capsules, as a result of blood stasis in the afferent vessels, areas with an accumulation of a small number of erythrocytes were observed. A significant number of epithelial cells were marked by intensely stained cytoplasm with signs of granular dystrophy. Expansion of the distal tubules was observed, while the cells of the epithelial layer were flattened with signs of destruction. Areas with desquamation of epithelium were noted. In addition, the nuclei of both proximal and distal tubules often acquired an irregular shape and became hyperchromic (see Fig. 2B).

**Discussion.** Although AKI induced by endotoxemia is a well-studied phenomenon, this study provides detailed histological insights into kidney tissue dam-

age caused by LPS, specifically highlighting structural alterations in Bowman's capsules, vascular walls, and renal tubules. Using LPS as a model for AKI gives important insights into how inflammation affects kidney structure, which can help guide future studies on the cellular and molecular mechanisms behind endotoxemia-induced AKI.

Our results are consistent with those of other studies [20, 21], which show that renal tubular epithelial cell injury and vascular dysfunction are key factors in the development of AKI [22]. One mechanism of cell damage is mitochondrial dysfunction, which leads to the disruption of energy metabolism and ultimately results in cell death [23]. Damaged mitochondria contribute to the accumulation of reactive oxygen species and the development of oxidative stress [24]. We have previously shown that the injection of LPS into mice results in a pronounced inflammatory response. This includes an increase in the functional and metabolic activity of immune cells, activation of nonspecific resistance cells, and enhanced ROS generation, which causes significant DNA damage in the thymus and lymph node cells. Excessive DNA damage promotes genotoxic stress and immune cell death through a pro-inflammatory and immunogenic necrotic pathway [25]. In the liver of mice under these conditions, a significant increase in the content of TBA-reactive products was detected, with malondialdehyde comprising the overwhelming majority. This compound serves as a marker of oxidative stress and cellular damage. In addition, a disruption of the antioxidant system was observed [26]. These endotoxin-induced changes may be important factors in the development of AKI.

Our previous report have shown that the use of an HMGB1 inhibitor (ammonium glycyrrhizinate) reduced the necrosis of thymus and lymph node cells and contributed to the attenuation of LPS-induced inflammation [28]. HMGB1 inhibition also reduced the metabolic activity of neutrophils, the accumulation of reactive oxygen species, and the development of oxidative stress, while improving the state of antioxidant protection. The data obtained regarding the morphological manifestations of AKI under conditions of endotoxemia, along with the results of previous investigations, are planned to serve as a basis for further experimental studies aimed at clarifying the molecular and cellular mechanisms involved in the development of AKI in the context of endotoxemia.

*Our study has several limitations.* First, the research was conducted in a murine model, and although mice are a widely used model for studying human diseases, further studies in larger animal models or human-derived tissues would help confirm the relevance of these findings. Second, the study primarily focused on histological analysis and did not explore the underlying molecular mechanisms, which could provide a deeper understanding of the pathophysiology of AKI. Third, the study was conducted over 24

hours, and longer follow-up studies would be necessary to assess the full progression and potential long-term effects of endotoxemia on kidney function. Future studies addressing these limitations will be essential to further elucidate the mechanisms of AKI in the context of endotoxemia.

**Conclusions.** The results obtained indicate that under conditions of a systemic inflammatory process induced by LPS, significant morphological changes occur in the kidney tissue. These changes include circulatory disorders with pronounced damage to the histostructure of the vascular glomeruli and the epithelium of the proximal and distal convoluted tubules, leading to a decrease in the mass of functioning nephrons. One potential cause of kidney tissue damage may be the development of oxidative stress, due to the excessive formation of secondary products from lipid peroxidation and the overactivation of inflammatory effector cells. The data obtained could be important for further studies aimed at elucidating the molecular and cellular mechanisms involved, which would deepen our understanding of the pathogenesis of AKI.

#### References:

1. *Palipoch S.* A review of oxidative stress in acute kidney injury: protective role of medicinal plants-derived antioxidants. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2013;10(4):88-93. doi: 10.4314/ajtcam.v10i4.15.
2. *Ching C, Schwartz L, Spencer JD, Becknell B.* Innate immunity and urinary tract infection. *Pediatr Nephrol.* 2020;35(7):1183-1192. doi: 10.1007/s00467-019-04269-9.
3. *Ternes B, Wagenlehner FME.* Leitliniengerechte Therapie von Harnwegsinfektionen [Guideline-based treatment of urinary tract infections]. *Urologe A.* 2020;59(5):550-558. [In German]. doi: 10.1007/s00120-020-01174-0.
4. *Kolman KB.* Cystitis and pyelonephritis: diagnosis, treatment, and prevention. *Prim Care.* 2019;46(2):191-202. doi: 10.1016/j.pop.2019.01.001.
5. *Schwartz L, de Dios Ruiz-Rosado J, Stonebrook E, Becknell B, Spencer JD.* Uropathogen and host responses in pyelonephritis. *Nat Rev Nephrol.* 2023;19(10):658-671. doi: 10.1038/s41581-023-00737-6.
6. *Saxena V, Gao H, Arregui S, Zollman A, Kamocka MM, Xuei X, et al.* Kidney intercalated cells are phagocytic and acidify internalized uropathogenic *Escherichia coli*. *Nat Commun.* 2021;12(1):2405. doi: 10.1038/s41467-021-22672-5.
7. *Ruiz-Rosado JD, Robledo-Avila F, Cortado H, Rangel-Moreno J, Justice SS, Yang C, et al.* Neutrophil-macrophage imbalance drives the development of renal scarring during experimental pyelonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2021;32(1):69-85. doi: 10.1681/ASN.2020030362.
8. *Hreha TN, Collins CA, Cole EB, Jin RJ, Hunstad DA.* Androgen exposure impairs neutrophil maturation and function within the infected kidney. *mBio.* 2024;15(2):e0317023. doi: 10.1128/mbio.03170-23.
9. *Cortado H, Kerckmar M, Li B, Vasquez-Martinez G, Gupta S, Ching C, et al.* Murine ribonuclease 6 limits bacterial dissemination during experimental urinary tract infection. *J Innate Immun.* 2024;16(1):283-294. doi: 10.1159/000539177.
10. *Kerr AW, Efron PA, Larson SD, Rincon JC.* T-Cell activation and LPS: a dangerous duo for organ dysfunction. *J Leukoc Biol.* 2022;112(2):219-220. doi: 10.1002/JLB.3CE0122-019R.
11. *Yoo JY, Cha DR, Kim B, An EJ, Lee SR, Cha JJ, et al.* LPS-Induced Acute Kidney Injury Is Mediated by Nox4-SH3YL1. *Cell Rep.* 2020;33(3):108245. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108245.
12. *Li Y, Yuan Y, Huang ZX, Chen H, Lan R, Wang Z, et al.* GSDME-mediated pyroptosis promotes inflammation and fibrosis in obstructive nephropathy. *Cell Death Differ.* 2021;28(8):2333-2350. doi: 10.1038/s41418-021-00755-6.
13. *Zang D, Li W, Cheng F, Zhang X, Rao T, Yu W, et al.* Accuracy and sensitivity of high mobility group box 1 (HMGB1) in diagnosis of acute kidney injury caused by sepsis and relevance to prognosis. *Clin Chim Acta.* 2022;535:61-67. doi: 10.1016/j.cca.2022.07.015.
14. *Jha AK, Gairola S, Kundu S, Doye P, Syed AM, Ram C, et al.* Toll-like receptor 4: An attractive therapeutic target for acute kidney injury. *Life Sci.* 2021;271:119155. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119155.

**Conflict of interest statement.** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Funding sources.** The work was carried out within the framework of the departmental research topic of the Department of Immunophysiology № 6541030/2024-2028.

#### Authors' contribution.

**Vitaliy Antoniuk** and **Svitlana Pavlovysh:** design of the study, data acquisition, analysis and interpretation of the data, literature search, drafting the manuscript;

**Bogdan Dzhuran:** conceptualization, design of the study, review and editing;

**Olena Kondratska:** formal analysis, literature search, drafting the manuscript;

**Roman Yanchii:** conceptualization, project administration, funding acquisition, critical comments on the manuscript.

All authors read and approved the final manuscript.

**Data availability statement.** The data that support the findings of this study are available upon reasonable request from the corresponding author.

15. Wang S, Zeng M, Li B, Kan Y, Zhang B, Zheng X, et al. Raw and salt-processed *Achyranthes bidentata* attenuate LPS-induced acute kidney injury by inhibiting ROS and apoptosis via an estrogen-like pathway. *Biomed Pharmacother.* 2020;129:110403. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110403.
16. Zhang B, Zeng M, Li M, Kan Y, Li B, Xu R, et al. Protopine Protects Mice against LPS-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting Apoptosis and Inflammation via the TLR4 Signaling Pathway. *Molecules.* 2019;25(1):15. doi: 10.3390/molecules25010015.
17. Kondratska OA, Grushka NG, Kaplunenko VG, Pavlovysh SI, Sribna VO, Yanchii RI. Protective effect of germanium citrate in endotoxin-induced ovarian dysfunction in mice. *Med. perspekt.* 2018;23(1(part1):71-77. [In Ukrainian]. doi:10.26641/2307-0404.2018.1(part1).127240.
18. Vareniuk I.M., Dzerzhynskiy M.E. *Methods of cyto-histological diagnosis: a study guide.* Kyiv. Interservice. 2019.
19. Luna LG. (Ed). *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology.* 3 ed. New York: Mac Graw Hill, 1968.
20. Hu Z, Chen D, Yan P, Zheng F, Zhu H, Yuan Z, et al. Puerarin suppresses macrophage M1 polarization to alleviate renal inflammatory injury through antagonizing TLR4/MyD88-mediated NF- $\kappa$ B p65 and JNK/FoxO1 activation. *Phytomedicine.* 2024;132:155813. doi: 10.1016/j.phymed.2024.155813.
21. Li J, Wang L, Wang B, Zhang Z, Jiang L, Qin Z, et al. NOX4 is a potential therapeutic target in septic acute kidney injury by inhibiting mitochondrial dysfunction and inflammation. *Theranostics.* 2023;13(9):2863-2878. doi: 10.7150/thno.81240.
22. Ludes PO, de Roquetaillade C, Chousterman BG, Pottecher J, Mebazaa A. Role of damage-associated molecular patterns in septic acute kidney injury, from injury to recovery. *Front Immunol.* 2021;12:606622. doi: 10.3389/fimmu.2021.606622.
23. Jian Y, Yang Y, Cheng L, Yang X, Liu H, Li W, et al. Sirt3 mitigates LPS-induced mitochondrial damage in renal tubular epithelial cells by deacetylating YME1L1. *Cell Prolif.* 2023;56(2):e13362. doi: 10.1111/cpr.13362.
24. Zhang M, Dong W, Li Z, Xiao Z, Xie Z, Ye Z, et al. Effect of forkhead box O1 in renal tubular epithelial cells on endotoxin-induced acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2021;320(3):F262-F272. doi: 10.1152/ajprenal.00289.2020.
25. Pavlovysh S.I., Grushka N.G., Kondratska O.A., Krasutska N.O., Yanchii R.I. The state of the cells of the immune system in experimental immune-mediated inflammation of various genesis. *Medical Science of Ukraine.* 2021;17 (2): 20-26. [In Ukrainian]. doi:10.32345/2664-4738.2.2021.03.
26. Grushka N.G., Pavlovysh S.I., Kondratska O.A., Pilkevich N.O., Yanchii R.I. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase contributes to the reduction of oxidative stress in murine liver under the conditions of experimental endotoxemia. *Pathologia.* 2019;16(3):323-327. [In Ukrainian]. doi:10.14739/2310-1237.2019.3.188796.
27. Tonnus W, Gemhardt F, Latk M, Parmentier S, Hugo C, Bornstein SR, et al. The clinical relevance of necroinflammation-highlighting the importance of acute kidney injury and the adrenal glands. *Cell Death Differ.* 2019;26(1):68-82. doi: 10.1038/s41418-018-0193-5.
28. Kondratska OA, Grushka NG, Pavlovysh SI, Stovbun YuR, Plyska OI, Yanchii RI. Ammonium glycyrrhizinate has a protective effect on oogenesis and reduces genotoxic stress and death of immune cell in lipopolysaccharide-induced endotoxemia. *Experimental and clinical physiology and biochemistry, ECPB.* 2020;3/4(91):5-11. [In Ukrainian]. doi:10.25040/ecpb2020.03-04.005.



## 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/1.73m<sup>2</sup>) 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](mailto:nesen.andr@gmail.com)



© 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/1,73м<sup>2</sup>, 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  $\chi^2$  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, домінантна, 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);  $p=0,044$ ; домінантній моделі успадкування 0,36 (0,15-0,89);  $p=0,024$ ; над-домінантній моделі успадкування 0,32 (0,12-0,80);  $p=0,012$ .

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).

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);  $p=0,05$ ).

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 <sup>2</sup>	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 <sup>2</sup>	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]	$p_{2-3} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$

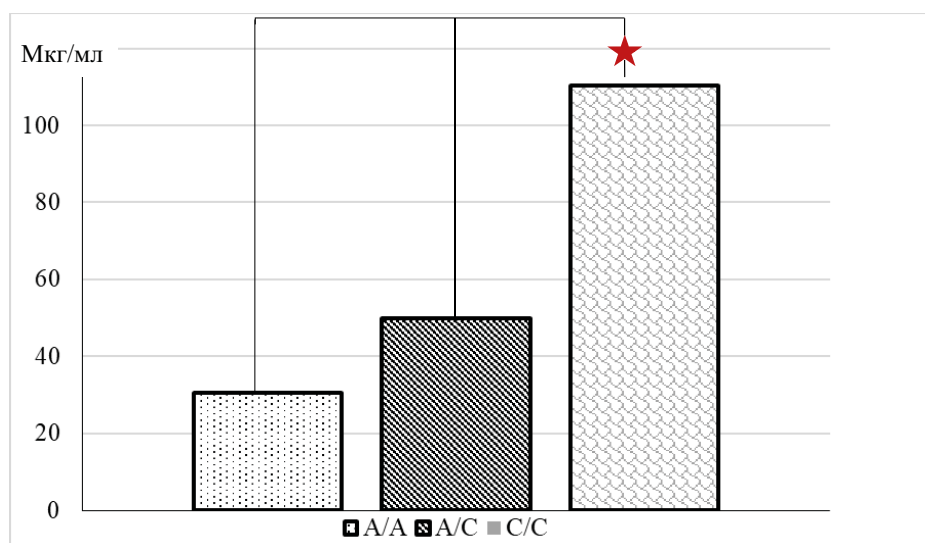
Примітки: ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

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/1,73м<sup>2</sup>, 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/1,73м<sup>2</sup>. 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/1,73м<sup>2</sup> (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).

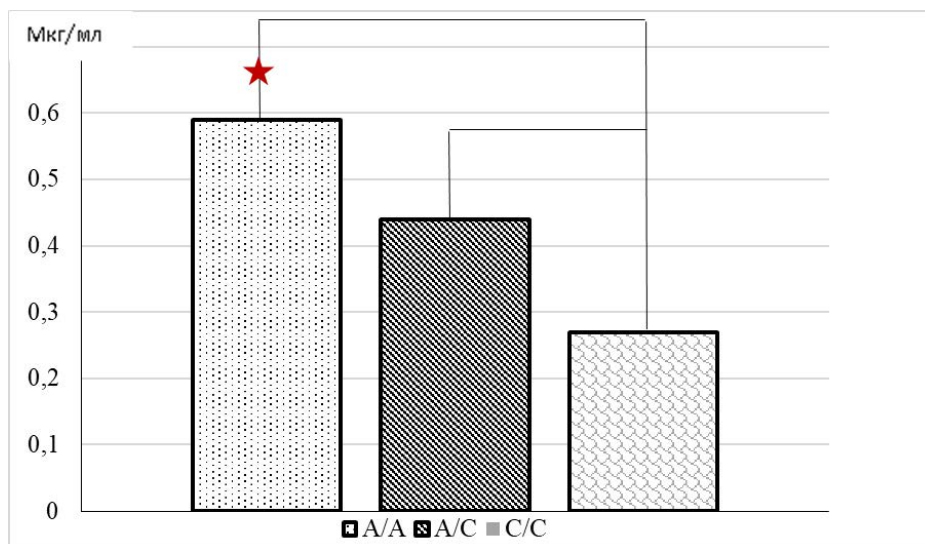


Примітка. ★ -  $p < 0,05$

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/1,73м<sup>2</sup>. Наглядне зображення отриманих результатів представлено на рис. 3.

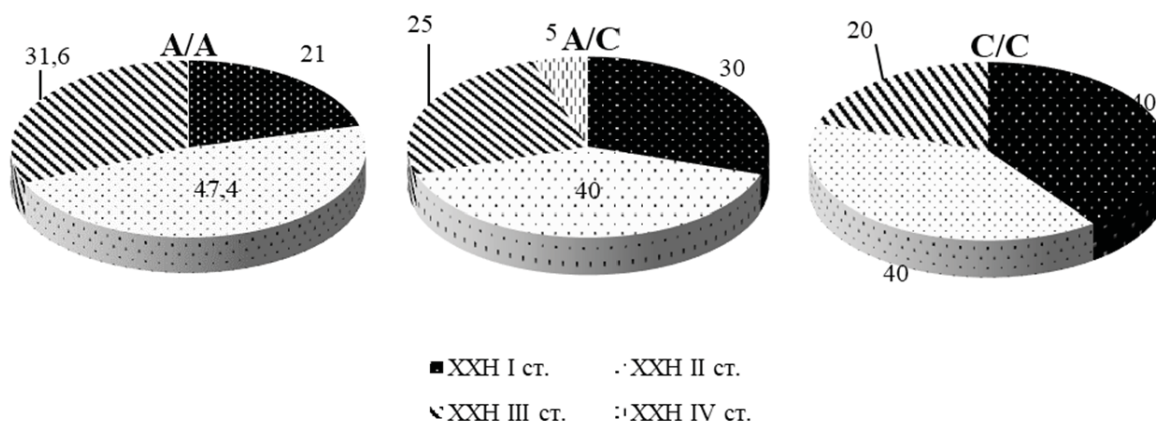


Рис. 3. Ступінь ураження нирок у хворих на ДН, носіїв різних поліморфних варіантів rs5186 гена *AT1R*.

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 A1166C 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 A1166C 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 виразна 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 A1166C 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 розвитку 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 доміантним типом успадкування з розвитком ДН у азійській популяції [12]. У дослідженні V.N. Shah була визначена достовірно вища частота зустрічальності С алелі A1166C 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 A1166C 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: 10.2174/157339981466180709100411.
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, Luijambio 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 $\beta$  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/>.



## 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>

### Case Reporte

**Elmukhtar Habas<sup>1</sup>, Amnna Rayani<sup>2</sup>, Aml Habas<sup>2</sup>, Kalifa Farfar<sup>3</sup>, Eshrak Habas<sup>4</sup>, Khaled Alarbi<sup>3</sup>, Ala Habas<sup>4</sup>, Elmehdi Errayes<sup>3</sup>, Gamal Alfitori<sup>3</sup>**

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.09

### **Advances in understanding and managing diabetic kidney disease: An updated review**

<sup>1</sup>Hamad General Hospital, Open Libyan University, Doha, Qatar

<sup>2</sup>Tripoli Pediatric Hospital, Open Libyan University, Tripoli, Libya

<sup>3</sup>Hamad General Hospital, Doha, Qatar

<sup>4</sup>Tripoli Central Hospital, Tripoli University, Tripoli-Libya

Citation:

Habas E, Rayani A, Habas A, Farfar K, Habas E, Alarbi K, et al. Advances in understanding and managing diabetic kidney disease: An updated review. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85):66-80. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.09.

**Abstract.** *Chronic kidney disease (CKD) and end-stage kidney disease (ESKD) are common complications of diabetes. Proteinuria is an early indicator of glomerular basement membrane damage caused by diabetes, leading to diabetic kidney disease (DKD). Edema, hypoproteinemia, and proteinuria are common characteristics of DKD. Blood sugar and blood pressure control, along with early detection, are the primary strategies for preventing DKD and slowing its progression.*

*This review examines and updates the epidemiology, pathogenesis, and prevention of DKD. Various keywords and phrases are used to search Google, EMBASE, PubMed, Scopus, and Google Scholar for the most recent articles published from January 2023 to December 2024.*

*Despite advancements in understanding DKD pathogenesis and the development of novel therapies, the disease remains highly prevalent with poor outcomes. The pathophysiology is still not fully understood, leading to gaps in prevention and treatment strategies. Therefore, this review aims to explore these gaps and propose potential new therapies and future research directions.*

**Keywords:** *diabetic kidney disease, diabetic nephropathy, pathogenesis, treatment, prevention.*

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

© Elmukhtar Habas, Amnna Rayani, Aml Habas, Kalifa Farfar, Eshrak Habas, Khaled Alarbi, Ala Habas, Elmehdi Errayes, Gamal Alfitori, 2025.

Correspondence should be addressed to Elmukhtar Habas: [habas1962@gmail.com](mailto:habas1962@gmail.com)

#### Article history:

Received January 11, 2025

Received in revised form

February 02, 2025

Accepted February 03, 2025



© Хабас Е., Райяні А., Хабас А., Фарфар К., Хабас І., Алярбі Х., Хабас А., Еррайєс Е., Альфіторі Г., 2025.

УДК: 616.61-036.12:616.379-008.64]-039.3-085

Ельмухтар Хабас<sup>1</sup>, Амнна Райяні<sup>2</sup>, Амль Хабас<sup>2</sup>, Каліфа Фарфар<sup>3</sup>, Ішрак Хабас<sup>4</sup>,  
Халед Алярбі<sup>3</sup>, Аля Хабас<sup>4</sup>, Ельмехді Еррайєс<sup>3</sup>, Гамаль Альфіторі<sup>3</sup>

## Сучасний погляд на патогенез та лікування діабетичної хвороби нирок: огляд літератури

<sup>1</sup>Загальний госпіталь Хамад, Відкритий Лівійський університет, Доха, Катар

<sup>2</sup>Дитяча лікарня Тріполі, Відкритий Лівійський університет, Тріполі, Лівія

<sup>3</sup>Загальна лікарня Хамад, Доха, Катар

<sup>4</sup>Центральна лікарня, Університет Тріполі, Тріполі, Лівія

**Резюме.** Хронічна хвороба нирок (ХХН) та її термінальна стадія є одними з найпоширеніших і найсерйозніших ускладнень цукрового діабету. Одним із ранніх маркерів ушкодження гломерулярної базальної мембрани, спричиненого гіперглікемією, є протеїнурія, що слугує ключовим предиктором розвитку діабетичної хвороби нирок (ДХН). Основними клінічними ознаками ДХН є набряковий синдром, гіпопротеїнемія та стійка протеїнурія.

Контроль рівня глікемії та артеріального тиску, а також раннє виявлення ураження нирок залишаються наріжними принципами профілактики ДХН та уповільнення її прогресування.

Цей огляд узагальнює та оновлює сучасні дані щодо епідеміології, патогенезу та стратегії профілактики ДХН. Для аналізу використано найновіші наукові публікації, опубліковані у період із січня 2023 року по грудень 2024 року, шляхом пошуку в базах даних Google, EMBASE, PubMed, Scopus і Google Scholar.

Попри значний прогрес у дослідженні патогенезу ДХН та впровадження новітніх терапевтичних підходів, захворювання зберігає високу поширеність і залишається основною причиною розвитку термінальної ниркової недостатності. Невизначеність деяких аспектів патофізіології ДХН створює прогалини у сучасних методах профілактики та лікування. У цьому контексті даний огляд спрямований на висвітлення цих прогалин та обговорення потенційних терапевтичних стратегій і перспективних напрямів подальших досліджень.

**Ключові слова:** діабетична хвороба нирок, діабетична нефропатія, патогенез, лікування, профілактика.

**Introduction.** Diabetic nephropathy or diabetic kidney disease (DKD) represents the predominant etiology of nephrotic syndrome (NS) in adults [1]. DKD is a clinical syndrome delineated by persistent albuminuria (>300 mg/day or >200 µg/min) confirmed on a minimum of two occasions of 3 to 6 months apart, gradual reduction in glomerular filtration rate (GFR), increased intraglomerular hydrostatic pressure [2]. Proteinuria was initially identified in diabetes mellitus (DM) in the late 18th century. In the 1930s, the characteristic nodular glomerulosclerosis lesions linked to DM were characterized and connected with proteinuria and hypertension (HTN). By the 1950s, kidney involvement was recognized as a prevalent complication of DM, affecting up to 50% of people with diabetes with DM for > 20 years. Recent studies have highlighted atypical presentations of DKD, characterized by a dissociation between proteinuria and decreased kidney function. However, it is important to note that microalbuminuria does not consistently predict DKD [3]. Most cases of DKD exhibit proteinuria, which worsens as the disease advances and is consistently linked to HTN.

DKD is presently the primary etiology of CKD in the USA and other Western societies. It represents a major long-term complication regarding coexisting diseases and death in diabetics. DKD represents the predominant etiology of end-stage kidney disease (ESKD) in different parts of the world [4]. It represents approximately 80% of ESKD's underlying causes in the USA. The prevalence of renal failure (RF) is approximately a sequence of DM-associated injury in 40% in type 1, and 20 to 30% in type 2 DM patients. However, these estimates may be underestimated [5].

RF in diabetics is notably prevalent among specific ethnic groups, including Black individuals, Mexican Americans, Polynesians, and Pima Indians. Risk factors include hyperglycemia severity and chronicity, HTN, and dyslipidemia, including elevated serum cholesterol and triglycerides [1]. Cigarette consumption, renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) dysregulation, strong family history of DM, and genetic factors associated with reduced glomerular count are other risk factors for RF in diabetics. Type 2 DM frequently remains undiagnosed for several years, leading to DKD within less than 10 years post-diagnosis [6]. Additionally, ESKD typically requires at least 10 years following the onset of nephropathy for its development [7]. DKD pathophysiology is a multifactorial and complex process, including metabolic, hemodynamic mechanisms, dysbiosis, vascular, molecular, and inflammatory intermediates and reactions [8]. DKD prevention or at least

Elmukhtar Habas

habas1962@gmail.com

delaying its occurrence by good control of arterial blood pressure and blood sugar are the typical measures [9].

In this concise review, we will review the epidemiology, pathophysiology, prevention, and management plans to prevent or minimize DKD occurring to improve the outcomes, explore the gaps of all the mentioned topics, and propose solutions and prospective research projects. EMBASE, Google, Scopus, Google Scholar, and PubMed were searched with different phrases and keywords, such as diabetic nephropathy, DM renal or kidney complication, DM and kidney, proteinuria in DM, novel DKD therapies, and pathogenesis of DKD. We concise the search period for published reviews and original articles between January 2022 and 31 December 2024.

**Epidemiology of DKD.** DKD increases steeply in correlation with the rapid increase of DM incidence worldwide [6], especially in underdeveloped countries where resources are limited [10]. Diabetes represents a significant global health challenge. In 2021, 10% of adults (537 million) were diagnosed with diabetes, with projections indicating an increase to 783 million by 2045, representing a 46% rise [1], although approximately 50% of individuals with diabetes remain undiagnosed [11].

European nations have striking epidemiologic disparities, ranging from Greece to 29/million population in Ukraine [12]. European nations, notably Germany, have more renal replacement treatment patients than the US. DM was present in 59% of renal replacement treatment patients in southwest Germany in 1995, with 90% having type 2 DM [13]. Even Denmark and Australia, which have low rates of type 2 DM, have seen a rise in ESKD. Asia has lower occurrence rates and prevalence of published data. Netherlands's research suggested DKD is underdiagnosed. It was noted that histopathologic changes consistent with DKD in 106 of 168 individuals who have type 1 or 2 DM were confirmed by renal tissue examination from autopsies. In 20 of 106 individuals, DKD was not noted [14].

In 2021, the prevalence of diabetes among adults in the Middle East and North Africa (MENA) region was 73 million, with projections indicating an increase to 136 million by 2045, representing an 87% rise [11]. A study in Saudi Arabia reported that DKD prevalence among Type 1 DM patients in Taif City was 23.7%, higher than the Saudi Arabian cohort average of 20.59%, which can be reduced by sugar and blood pressure control [15]. In Qatar, DM prevalence is expected to rise from 17.8% in 2023 to 29.5% by 2050 among adults aged 20–79 [16], and obesity causes 57.5% of Qatar's DM pandemic [17]. The increased rate of DM is associated with an increase in DKD risk, CKD, and ESKD, increasing healthcare costs by more than a third of the national health budget by 2050 [17].

In retrospective Chinese research, type 2 diabetics with renal damage had a significant frequency of nondiabetic renal illness. Renal biopsy revealed that 72.73% of 88 type 2 diabetics had non-diabetic renal

disease (NDRD), compared to 20.46% for DKD and 6.82% for complex NDRD. Most NDRDs were membranous, IgA, and focal segmental glomerulosclerosis [18]. In The Gulf Cooperation Council countries, more than 30% of diabetics develop kidney disease, making DKD a cause in 41% of dialysis-dependent ESKD [19].

The average age of ESKD linked to DM is 60 years. Although DKD is more common in elderlies who have had type 2 DM for a longer time, the significance of age in DKD development is uncertain. Early-onset type 2 diabetes among Pima Indians was connected with an increased incidence of ESKD [20]. Furthermore, Blacks, Mexican Americans, and Pima Indians with type 2 DM had a 3- 6-fold greater rate of DKD than Whites [4]. The significant prevalence of DKD in these genetically diverse groups shows that socioeconomic variables, including nutrition, poor hyperglycemia balance, HTN, and obesity, are key to its development. It also suggests family grouping in certain people. Around 50% of Pima Indians with diabetes develop DKD by age 20, and 15% get ESKD. A systematic review of 32 studies from 16 nations [21]. Urban environments dominated the research (90.6%). The assessment and classification of CKD varied greatly. Most studies (62.5%) assessed kidney injury using urine protein. CKD prevalence ranged from 11% to 83.7%. Proteinuria caused 94.9% of incidents at 10 years, ESKD 34.7% at 5 years, and nephropathy mortality 18.4% at 20 years. Diabetes duration, blood pressure, age, obesity, and poor glucose management often impact renal damage [21]. Another review reported that in Africa, the CKD prevalence varied from 2% to 41%, and among diabetics, it was 11 to 90%, and CKD is 11–20% prevalent in North Africa [22].

Type 1 diabetes seldom causes DKD before 10 years. Overt nephropathy affects 3% of newly diagnosed type 2 DM. Peak incidence (3%/year) occurs in people with DM for 10–20 years, then falls. Patients without proteinuria after 20–25 years had a 1%-year chance of renal disease [4].

**Pathophysiology of DKD.** The pathophysiology of DKD involves a complex interplay mainly between metabolic, molecular, and hemodynamic mechanisms that lead to kidney damage [23]. DKD pathogenesis is still unspecific due to its complicated etiology, and understanding the pathophysiology helps tailor DKD therapy [24]. Different pathways and mediators contribute to DKD development [25]. Renal hemodynamic changes, overactive RAAS, inflammation processes, gut microbiota, and oxidative stress are the main mechanisms of DKD and kidney tissue fibrosis [25, 26]. Hyperglycemia releases vasoactive mediators that dilate afferent arteriolar walls, while high local angiotensin II levels constrict efferent arterioles, causing glomerular hypertension and kidney injury [27]. RAAS activation alters intraglomerular hemodynamics and glomerulus and tubulointerstitium structure [28]. Oxidative stress damages kidney cells and activates im-

munological pathways like inflammation and immune reactions, causing proteinuria, faster tubulointerstitial

fibrosis, and ESKD [28]. The possible mechanisms of interplay in DKD are represented in Figure 1.

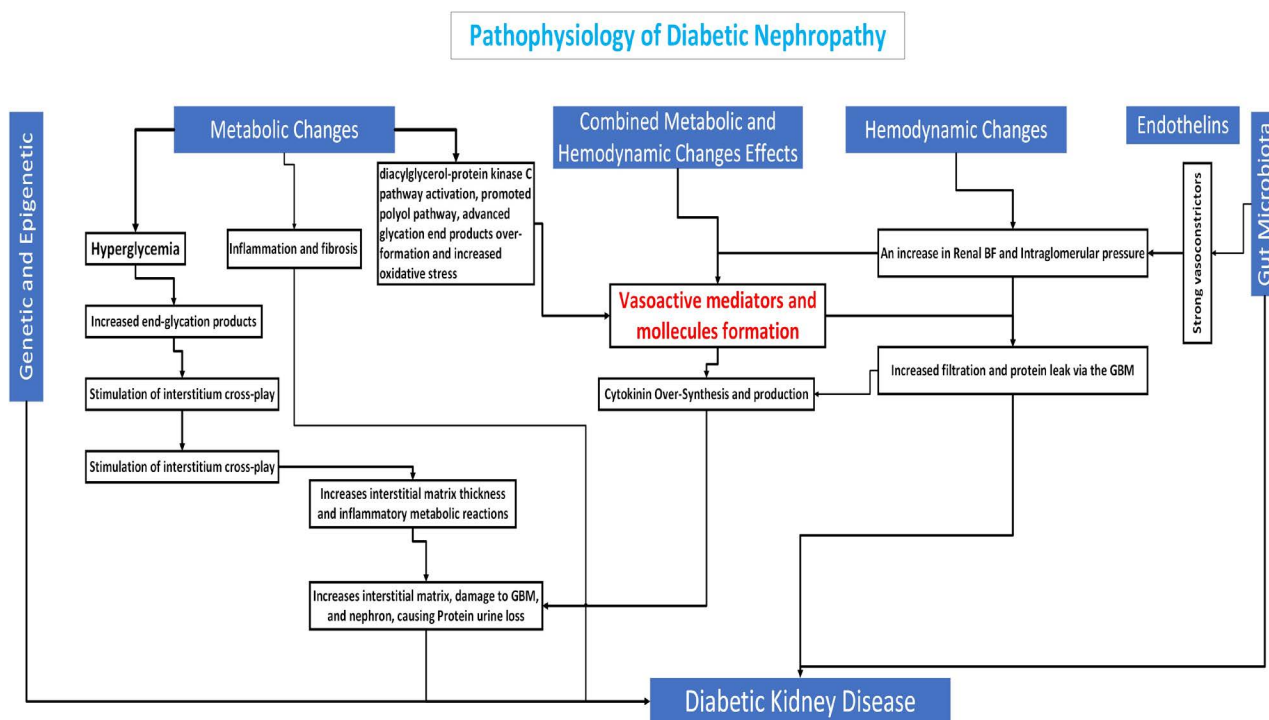


Fig. 1. Pathophysiological mechanisms of DKD. Abbreviation: GBM, glomerular basement membrane.

**Metabolic mechanism for DKD.** For a while, it has been known that hyperglycemia induces glomerular hyperfiltration, resulting in increased pressure and subsequent injury to the glomeruli concept, which is accepted as the primary mechanism of DKD. The accumulation of advanced glycation end products and activation of the RAAS exacerbates the DKD process [23]. The pathophysiology is intricate, encompassing protein glycosylation, hormonally regulated cytokine formation and release (e.g., transforming growth factor-beta), mesangial matrix deposition, and changes in glomerular hemodynamics, causing small vessel disease [23]. Hyperfiltration is the earliest functional abnormality that can serve as a predictor for DKD progression to CKD and ESKD [29].

Hyperglycemia induces glycosylation of glomerular proteins, potentially leading to mesangial cell proliferation, vascular endothelial damage, and matrix expansion [30]. The glomerular basement membrane typically exhibits thickening. Lesions associated with diffuse or nodular intercapillary glomerulosclerosis are characterized by their distinct morphology; the nodular glomerulosclerosis regions are commonly termed Kimmelstiel-Wilson lesions [23, 31]. Marked hyalinosis is observed in afferent and efferent arterioles, accompanied by arteriosclerosis with extracapillary hypercellularity and podocyte phenotype significant loss plus severe podocyte-foot processes effacement [32]. Additionally, tubular atrophy and interstitial fibrosis may be

present. Mesangial matrix expansion is the sole factor that correlates with the progression to ESKD, severe proteinuria, and poor outcome [33].

Hemodynamic consequences of DM compromise of increased intraglomerular and systematic blood pressure [34], causing hyperfiltration [35]. Although the mechanism is unknown, glomerular hyperfiltration is the initial step in DKD, leading to increasing albuminuria, falling GFR, CKD, and ESKD. The possible mechanism is an increased efferent arteriole and decreased afferent arteriole tone that raises the intraglomerular hydrostatic pressure, mostly due to RAAS activation [23].

**Hemodynamic mechanisms for DKD.** These mechanisms of DKD depend mainly upon the regional and systemic RAAS activation [36].

Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) activation and intraglomerular pressure. The RAAS activation strongly affects intrarenal hemodynamic function. Furthermore, RAAS activation increases oxidative stress, and inflammation [23]. In early DKD, these mechanisms cause glomerular hypertrophy and mechanical stress, which starts a profibrotic cascade [37]. RAAS inhibition was reported to slow DKD development and progression [38]. The activated local renin system in the kidneys or enhanced intrarenal angiotensin II (AngII) sensitivity may cause glomeruli hyperperfusion and increased intraglomerular hydrostatic pressure [39].

DKD experimental models consistently show higher RAAS activation than confined paracrine RAAS activation, including all cascade constituents and phases. Juxtaglomerular cells produce prorenin, which stimulates renin to activate the RAAS cascade, activating angiotensinogen conversion to AngI and then to AngII by angiotensin-converting enzyme. RAAS blocking was reported to improve DM-induced renal injury outcomes, mostly due to its impact on systemic blood pressure and intraglomerular hydrostatic pressure [23]. It is documented that dual blockade is potentially more effective than single blockage since angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEis) and ARBs operate on distinct RAAS sites [23]. Early research revealed ACEis and ARB may help DKD [23]; however, hyperkalemia and AKI make this combination risky [23].

AngII stimulates an inhibitory G protein to activate the luminal membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter and increases phosphatidylinositol turnover [23]. The adrenal cortex secretes more aldosterone, which boosts salt transport by the renal cortex collecting ducts. In the proximal convoluted tubule (PCT), AngII decreases proteinase activity and increases mesangial cell size by reducing the plasminogen activator. Additionally, AngII increases vascular endothelial (ET) growth factor and TGF- $\beta$ 1 release from the glomeruli epithelial and mesangial cells, producing mesangial matrix expansion [23]. Renal fibroblasts have AngII type 1 (ATI) receptors and react to stimulation by proliferating, extending the matrix, and manufacturing fibronectin, predominantly via TGF- $\beta$  [23].

In DKD, AngII directly stimulates inflammatory cells, leading to chemotaxis and the synthesis of different proinflammatory mediators. These factors involve proliferation, differentiation, inflammation, and fibrosis [23]. Additionally, it was described that AngII enhances insulin resistance [40]. In addition, DKD in humans causes kidney RAAS changes, including enhanced local AngII synthesis, proinflammatory marker induction, and tubular cell activation, suggesting AngII is a mediator for initiating renal inflammation that may explain RAAS blockade's benefits [23].

**Molecular mechanism of DKD.** Hyperfiltration may be caused by circulatory molecules that act mostly within the glomeruli. Multiple mediators increase intraglomerular hydrostatic pressure by affecting efferent and efferent arterioles' tone. High levels of AngII, endothelin (ET) 1, reactive oxygen species (ROS), and thromboxane A<sub>2</sub> may increase efferent arteriole vascular tone [35]. Conversely, decreasing nitric oxide, high cyclooxygenase-2 prostanoids, atrial natriuretic peptide, activating the kallikrein-kinin system, increasing insulin levels and sensitivity, and angiotensin 1–7 might reduce afferent arteriole resistance [35].

Another suggestion is that tubular processes drive intraglomerular hydrostatic pressure [41]. At the early stages of DM, glucose transport routes are activated in the PCT, enhancing glucose and salt reabsorption [41]. Moreover, sodium transport to the nephron's late

portions diminishes, initiating tubule-glomerular feedback mechanisms that stimulate the afferent dilation and constrict the efferent arteriole [42]. Furthermore, SGLT2 enhances glucose reabsorption in the PCTs, decreasing the macula densa sodium chloride concentration [43], and leading to renin release and RAAS activation. Additionally, reduced tubuloglomerular feedback, dilated afferent arterioles, and elevated AngII in efferent arterioles cause vasoconstriction [44].

It was mentioned that insulin secretion increases in the earlier phases of DKD. Insulin directly reduces afferent arteriole tone. Hence, it was proposed that insulin contributes to hyperfiltration by directly or indirectly altering the intraglomerular hydrostatic pressure [23]. Furthermore, insulin increase alone may boost PCT salt and glucose transport and reabsorption by PCT cells, promoting tubule-glomerular feedback [23].

**Gut microbiota and DKD pathogenesis.** Growing evidence indicates that gut microbiota plays a sizable role in DKD progression, contributing to insulin resistance, RAAS activation, immune responses, oxidative stress, and inflammation. Therapies targeting gut microbiota encompass dietary fiber, prebiotics, probiotics, fecal microbiota transplantation, and diabetic agents that influence gut microbiota, including metformin, sodium-glucose transporter-2 (SGLT-2) inhibitors, glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor antagonists (GLP-1RAs), and dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors [25].

The gut microbiota maintains a symbiotic (mutualistic) relationship with the host under healthy conditions [45]. Alterations in the normal microbiota composition, called gut dysbiosis, disrupt the balance and lead to various disease conditions [46], including DKD development and its progression [47].

Inflammation and fibrosis mechanisms in DKD. DKD development involves interrelated pathways, and inflammation is a key factor. DM causes inflammation via oxidative stress, ischemia, obesity, and cellular damage [48]. These mechanisms produce inflammatory molecules. The research found that CCL11 (a chemokine) may negatively impact DKD patients' GFR and interstitial inflammation [49].

A new study found that IL-1 $\alpha$  produced by renal tubule cells, drives renal inflammation in DKD [50]. Additionally, IL-1 $\alpha$  levels in DM patients' urine and plasma are related to and can be indicators of podocyte and PCT epithelial cell damage [51]. Even without urine albumin, urinary IL-6 may help to diagnose DKD [52]. IL-6 levels in DKD patients are elevated and associated with increased glomerular basement membrane thickness [23]. Additionally, The IL-6 and mRNA expression in the interstitial and glomerular cells in DKD patients was linked to mesangial proliferation and renal damage [23].

Furthermore, TNF- $\alpha$  is a vital transcriptional regulator for inflammation induction [53]. High serum TNF- $\alpha$  levels and its receptor in DKD patients indicate renal deterioration and increased ESKD risk [54]. In-

flammation causes macrophage and polymorphous infiltration, immune complex formation, and lipoprotein oxidation [55]. This chronic inflammation increases amyloid A protein synthesis and deposition, indicating disease progression [55].

In addition, complement system activation strongly affects DKD development. Persistent hyperglycemia increases glycan and galactosamine-bound molecules identified, activating complement [56]. New complement inhibitors may assist DKD patients, but they must be carefully monitored for effects on infection and immunological complex disease vulnerability [23].

Deposition of extracellular matrix in the kidney tissues may cause tubulointerstitial fibrosis or glomerulosclerosis [55]. DM causes activated myofibroblast infiltration, which is rare in healthy people. However, myofibroblasts, notably epithelial to mesenchymal transition when tubular epithelial cells become myofibroblasts in DKD, are still debated [23]. In late-stage DKD, renal fibrosis is a major pathological change that increases mortality. Different pathways and mechanisms are involved in fibrosis in DKD patients [23]. These mechanisms or pathways significantly affect extracellular matrix formation, collagen and fibronectin expression, and protein secretion [57].

**Genetics and epigenetics of DKD.** Histone modifications play a dedicated role in adjusting gene expression patterns associated with DKD progression [58]. It was noted that specific histone modifications, including acetylation and methylation, correlate with gene dysregulation with inflammation, oxidative stress responses, and fibrosis in DKD [23]. The histone modifications establish a molecular environment, facilitating pro-inflammatory and pro-fibrotic pathway activation, resulting in structural and functional alterations in diabetic kidneys. Kidney tissues of DKD patients exhibited decreased H3 lysine 4 mono-methylation levels in podocytes, glomerular, and tubular cells [59]. Additionally, exposure to high plasma glucose levels during early life, especially in fetal development, increases the likelihood of adulthood type 2 DM [59]. Evidence indicates that sustained hyperglycemia induces a “metabolic memory” via epigenetic changes in DKD, affecting gene expression [59]. The genetic and pregenetic role in DKD pathogenesis might have a role; however, further large cohort studies worldwide are required to prove this interplay in DKD pathogenesis.

**Endothelin 1 role in DKD pathophysiology.** Endothelin system activation produces endothelin (ET) peptides, of which ET-1 acts on ET A and B receptors [60]. Endothelin system activation is tightly linked to different chronic disease pathogenesis, including CKD pathogenesis and progression, irrespective of the primary cause [61]. ET-1 is a strong vasoconstrictor generated by endothelial, vascular smooth muscle, epicardial, mesangial, kidney glomerular epithelial, and medullary collecting duct cells [61]. ET-1 acts in an autocrine or paracrine manner on two types of endothelin receptors: ET-A receptors, which are found

on glomerular arterioles, podocytes, arcuate arteries, mesangial cells, and the vasa recta in the kidneys. On the other hand, ET-B receptors are present in the collecting system of the nephrons [61]. ET-A receptor activation induces vasoconstriction of efferent and afferent vessels, matrix deposition, and cell proliferation. Conversely, ET-B receptor activation leads to efferent vasodilation, antifibrotic, and antiproliferative effects [62]. Most forms of CKD enhance endogenous kidney ET-1 synthesis, promoting CKD development largely via ET-A receptor-mediated effects on the renal microenvironment [62]. It was described that plasma ET-1 levels are potentially linked to decreased kidney function, albuminuria in DKD, and higher ET-1 staining in kidney biopsies from IgAN patients with proteinuria [61]. Furthermore, ET-1 activation via the ET-A receptor causes renovasoconstriction and angiotensin II overproduction, which increases kidney ET-1 synthesis [61]. This positive feedback loop promotes hypertension, endothelial damage, and podocyte. In addition, ET-1 synthesis causes ETA receptor-mediated mitochondrial oxidative stress in glomeruli endothelial cells and glycocalyx loss [63], promoting further kidney disease in diabetics and even non-diabetics [61].

**Clinical presentation of DKD.** DKD has different presentations that depend upon the stage of kidney injuries [64]. The following conditions should always be considered in differential diagnosis of proteinuria: light-chain deposition disease, nephrosclerosis, idiopathic and secondary nephrotic syndrome, multiple myeloma, myeloma kidney, renal vein thrombosis, renal artery stenosis, HTN, especially renovascular HTN, and tubular and interstitial kidney diseases.

Family history, personal history of DM, frothy urine, increased urine frequency, and blurred vision are indicators for DM, and they might be clues for diabetes-kidney complications' appearance. Edema of the face, lower limb, or the whole body with increased body weight can be evidence for proteinuria and increased interstitial fluid content. DKD is typically diagnosed following albumin detection by routine urinalysis in diabetics.

Patients may exhibit physical findings related to chronic DM, including the following: the presence of HTN and its complications, and peripheral vascular occlusive illness that is characterized by diminished peripheral pulses and carotid bruits new occurrence. The presence of the fourth heart sound is noted during cardiac auscultation, due to mainly overload and heart failure. Diabetic neuropathy is evidenced by reduced fine sensations and decreased tendon reflexes. Chronic skin ulcers and osteomyelitis appear in some patients. Type 1 diabetics with DKD exhibit indicators of diabetic microvascular disease, including retinopathy and neuropathy [65]. Retinopathy in these patients, the condition generally occurs before overt nephropathy development [65], and the converse does not hold. In advanced retinopathy, a minority of patients exhibit glomeruli his-

tologic changes and increased proteinuria, typically within the microalbuminuric range. At the same time, the majority show minimal or no renal disease, as determined by renal biopsy. On the contrary, diabetic type 2 patients exhibit significant proteinuria and retinopathy generally present with diabetic nephropathy, whereas individuals lacking retinopathy often demonstrate non-diabetic glomerular disease [66].

Other long-term complications, including diabetic foot disease and cardiovascular (CV) manifestations like atherosclerosis, large and small peripheral blood vessel diseases, and diabetes-induced chronic comorbidities, should be thoroughly assessed. Regular checkups for these complications improve early detection, lifestyle, and survival rates and diminish diabetic complications. Regular urine check-up for albuminuria is a good cheap screen test for DKD. Protein (albumin)/creatinine ratio and 24-hour total urine protein are evident measures of the total protein loss. There are different approaches for early detection and diagnosis of DKD. We found

different flow charts in different literature. After careful consideration, the best of all most probably is the one suggested by McGrath K & Edi R, 2019 review [67]; however, others have almost some recommendations with some minor differences.

**Management of DKD.** The prevention of DKD should be the objective for all diabetic patients [68]. While attaining this objective is challenging and may be unfeasible for many diabetics, effective management of the contributing variables would undoubtedly reduce the onset of early DKD. Regular follow-up and multidisciplinary team collaboration are always required to manage DM. Most experts and recommendations advocate maintaining glycosylated hemoglobin (HbA1C)  $\leq 7.0\%$ . Sustaining euglycemia diminishes microalbuminuria but may not impede disease advancement once DKD is established [64]. Normalization of lipid profiles is essential for all diabetics to avert CV events, fatty liver, and stroke risk [69]. Table 1 summarizes the DKD therapy outlines.

Table 1

Summary of therapeutic options for DKD prevention and therapies

Intervention	Description
Diet and lifestyle	A high-fiber diet, low carbohydrates, low salt intake, and regular exercise.
Glycemia control	Tight glycemic control using oral hypoglycemic agents (e.g., GLP-1 receptor agonists, SGLT-2 inhibitors), insulin, and diet, along with regular exercise.
Blood pressure control	Aggressive BP control aiming for BP < 130/80 mmHg. ACE inhibitors and ARBs are first-line therapies. Calcium channel blockers are second-line options.
Erythropoiesis-stimulating agents	Reduce the risk of fluid overload and heart failure. Evidence suggests that erythropoiesis-stimulating agents may reduce the progression of CKD in both diabetic and non-diabetic patients. Further studies are required due to limited data.
Non-steroidal mineralocorticoid receptor antagonists	Lower the rate of eGFR decline and progression to CKD and ESKD. Can be used with a maximum dose of RAAS inhibitors.
Microbiota	Intermittent fasting, dietary composition control, high-fiber diet, and healthy fecal microbiota transplantation.
Kidney transplantation	Indicated in patients with ESKD who have well-controlled blood pressure and glycemia. Can be performed along with pancreas transplantation.

Abbreviations: GLP-1, Glucagon-like peptide-1; SGLT-2, sodium-glucose co-transporter 2; ACE, angiotensin-converting enzyme; ARB, angiotensin receptor blocker; CKD, chronic kidney disease; NS-MRA, non-steroidal mineralocorticoid receptor antagonists; eGFR, estimated glomerular filtration rate; RAAS, renin-angiotensin-aldosterone system; ESKD, end-stage kidney disease.

**Diet and lifestyle modification.** Diet modification is an important intervention in DKD prevention and progression reduction [47]. Restricting dietary protein has varied outcomes. The American Diabetes Association advises those with diabetes and evident DKD to limit protein intake to 0.8 - 1.2 grams/kilogram of body weight/day; however, extensive protein restriction is inadvisable. Supplementation of vitamin D3 (partially

activated vitamin D), and sodium bicarbonate, administered to sustain a blood bicarbonate content above 22 mmol/L, may decelerate DKD and CKD development. Therapeutic interventions for edema include the following: salt restriction (e.g., < 2 g/day), fluid intake restriction, and use of loop diuretics, when necessary, with wise titration to prevent hypovolemia. Regular exercise is always advisable for DM and hypertension.

Diet is the key external factor affecting gut microbiota composition [70]. High-fat and high-fructose diets enhance uremic toxins, gut Lipopolysaccharides microbiota, and insulin resistance [71]. Conversely, high-fiber diets reduce systemic inflammation, lower blood uremic toxins, and proinflammatory cytokines, and reverse renal damage in CKD [79]. Recent research showed that dietary fiber promotes short-chain fatty acids-producing bacteria (hallii and Odoribacter), reduces inflammatory and oxidative stress, ameliorates diabetes-related dysbiosis, and prevents DKD.

Intermittent fasting or time-restricted food has also been proven to prevent DKD by improving gut microbiota [71, 72].  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $\beta$ -HB), a key ketone body produced by time-restricted eating (either by fasting or eating fatty food), may reduce oxidative stress and podocyte senescence in diabetic mice [72].

Fecal microbiota transplantation from healthy donors restores microbiome dysbiosis [73]. Fecal microbiota transplantation from lean donors may enhance insulin sensitivity and gut microbiota composition in obese metabolic syndrome patients [74]. Current data suggests Fecal microbiota transplantation may be safe and successful for inflammatory and immunological illnesses linked to gut microbiota changes [75], although, in DKD treatment, the available data is very limited [25].

**Blood sugar control.** Strict blood sugar control is an essential strategy to decrease risk and prevent the progression of DKD [68]. Intensive glycemic control delays albuminuria and eGFR decrease in type 1 and type 2 diabetes [68]. In early DKD stages, glycemic control is fundamental to delay DKD development. Based on the CKD stage, life expectancy, comorbidity load, and hypoglycemia risk, KDIGO guidelines suggest a customized HbA1C goal of <6.5% to <8.0% for DKD patients not on dialysis [76]. DKD glucose-lowering medications are chosen and dosed based on kidney function assessment by eGFR, and agents having renal and CV benefits [77]. Different agents can achieve glycemic results. We will restrict our discussion to SGLT2 inhibitors and GLP1 agonists only.

**SGLT2 inhibitors and GLP-1Ras.** SGLT2 inhibitors are indicated for type 2 diabetics but not for those with type 1 DM or an eGFR of less than 20 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. Inhibition of the sodium-glucose transporter has shown a decline along with kidney disease progression, even post-kidney transplantation [78–80]. For most type 2 diabetics with DKD, SGLT2 inhibitors with renal benefits are advised for eGFR  $\geq$  20 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, regardless of HbA1C or glucose reduction needs [81]. Strong evidence intimates that SGLT2 inhibitors and RAAS inhibitors reduce DKD development, heart failure, and atherosclerotic CV disease risk in DKD patients due to type 2 DM [80].

DKD is a CV disease risk factor. Kidney GLP-1R distribution is contentious. GLP-1Rs are described in the kidney cortex and PCT; however, others did find GLP-1R in the nephron tubules [82]. Another report

revealed that the renal tubules lack GLP-1R, while the renal vasculature does [83]. Monoclonal antibodies against GLP-1R showed that it is mostly in renal vasculature [84]. Interestingly, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase inhibition via averting renal oxidative stress by GLP-1RAs reduces further DKD progression [82].

A Comparative Effectiveness (GRADE) Study found no differences in kidney outcomes for type 2 diabetics receiving sulfonylureas, DPP-4 inhibitors, GLP-1 receptor agonists, or insulin glargine with metformin [85]. A meta-analysis showed that SGLT2 inhibitors and GLP-1RAs improve cardiorenal outcomes in type 2 DM [86].

GLP-1RAs are frequently utilized to treat type 2 DM. Clinical and experimental research showed that GLP-1RAs benefit DKD via natriuresis, anti-inflammatory, and anti-oxidative stress, regardless of their glucose-lowering ability. Furthermore, GLP-1RAs inhibit kidney fibrosis. In T2D patients at elevated risk for CVD, GLP-1RAs improve kidney outcomes in recent clinical studies. These data imply that GLP-1RAs may reduce DKD development and progression. GLP-1RAs lower albuminuria but their impact on ESKD development is unknown [82], and this issue is worth investigating.

In major CV outcome studies [68, 87], GLP-1 receptor agonists improved secondary kidney outcomes (albuminuria progression), but primary renal outcome data is unavailable. As an add-on to first-line glucose-lowering treatment (SGLT2 inhibitor plus metformin), GLP-1 receptor agonists are preferred in type 2 DM and DKD patients who do not reach glucose objectives or have persistent albuminuria [68, 81]. Although SGLT2 inhibitors' glucose-lowering effects decrease with eGFR, their cardiorenal advantages remain.

GLP-1RAs increase glucose-dependent insulin secretion and decrease glucagon release to enhance glucose metabolism, and SGLT2i acts mainly by impairing the filtered glucose and sodium by the PCT cells. The SGLT2i and LP-1Ras are recommended over sulfonylureas, which have a higher risk of hypoglycemia adverse effects, especially in CKD.

In summary, despite the conflicting reported data about the effectiveness of GLP-1Ras, they benefit DKD prevention and progression. Hence, further projects are required to explore these issues in large studies.

**Blood pressure control.** Aggressive management of HTN, commencing with RAAS inhibition, is strongly advised for all diabetic patients, with a target of blood pressure  $\leq$  120/80 mmHg. Blood pressure below 130/80 mm Hg was recommended by some authors, while several experts now advocate for a threshold of < 140/90 mmHg. Others advocate for a blood pressure range of 110 - 120/65 - 80 mm Hg, especially in individuals with protein excretion over 1 gm/day. Interestingly, others assert that blood pressure levels below 120/85 mmHg correlate with heightened CV mortality and heart failure [88].

**RAAS inhibition.** RAAS system activation is a main player in DKD pathogenesis because it causes systemic and intraglomerular hypertension. Consequently, ACEis or ARBs are the preferred antihypertensives because they lower blood pressure and proteinuria while decelerating the advancement of DKD. ACEis are often more cost-effective; however, ARBs may be utilized as an alternative if ACEis induce intolerable adverse effects. Treatment should begin at the detection of microalbuminuria, irrespective of the presence of HTN; several specialists advocate the use of these drugs even before the manifestation of kidney involvement by DKD. Most individuals require diuretics with angiotensin inhibition to achieve the targeted blood pressure levels. The dosage should be reduced if orthostatic hypotension symptoms or serum creatinine persistently rises above > 30% of the baseline levels.

**Calcium channel blockers.** Non-dihydropyridine calcium channel blockers, like verapamil and diltiazem, possess antiproteinuric and renoprotective properties and may be utilized if proteinuria does not significantly diminish upon achieving target blood pressure or as alternatives for patients who have contraindications to ACE inhibitors or ARBs, like hyperkalemia or chronic non-productive cough. On the contrary, the dihydropyridine calcium channel blockers (e.g., amlodipine, nifedipine, and felodipine) do not diminish proteinuria; nevertheless, they serve as beneficial adjuncts for blood pressure management and provide cardioprotection when used with ACEis. Nondihydropyridine calcium channel blockers and ACEis have augmented antiproteinuric and renoprotective effects when administered together, with their antiproteinuric efficacy further augmented by sodium restriction, leading to leg edema. Nondihydropyridine calcium channel blockers must be used cautiously in individuals on beta-blockers due to the risk of exacerbating bradycardia.

**Endothelin receptor antagonists (EtRA).** EtRAs represent a potential therapeutic option due to their effects on the pathophysiological processes involved in diabetes mellitus (DM)-associated kidney injuries. Endothelin-1 (ET-1) is primarily generated by the endothelium of small blood vessels, vascular smooth muscle, epicardium, mesangial layers, kidney glomerular epithelial cells, and medullary collecting duct cells [61]. It exerts its effects autocrinely or paracrinely on two types of endothelin receptors: ETA and ETB receptors, as described in the pathogenesis section.

There is good evidence about the benefit impacts of ETRAs in heart failure with excessive fluid retention [61]; in contrast, there is not much data in CKD about the ETRAs, and the study period was short (on average 16 weeks). All seven previously reported studies showed consistent albuminuria effects but not eGFR effects. Only the SONAR and ENABLE studies give long-term renal endpoint data, and the ENABLE study uses severe adverse event reporting for kidney failure data. The DUPLEX, PROTECT, and ALIGN studies will give long-term proteinuria reduction and eGFR decrease

data to understand ERA kidney protection better [61]. New therapies that slow CKD progression are intriguing. Strong clinical evidence shows that ERAs, particularly selective ERAs, added to standard-of-care may reduce albuminuria and preserve the kidneys over time, making them an appealing therapy for non-diabetic and diabetes-associated CKD. Therefore, further studies are required to investigate the long-term impact of ETRAs on CKD and DKD development and progression.

**Non-steroidal mineralocorticoid receptor antagonists (NS-MRA) therapy.**

Type 2 diabetics with DKD may reduce renal and CV risk using the NS-MRA agent, such as finerenone. Finerenone lowers the risk of sustained eGFR decline, progression to ESKD, nonfatal myocardial infarction, CV death, and heart failure hospitalization for type 2 diabetics who have CKD [68]. Finerenone can be used in type 2 diabetics with eGFR  $\geq 25$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, normal serum potassium, and albuminuria (UACR  $\geq 30$  mg/g) even with maximally tolerated RAAS inhibitors [68].

**Kidney transplantation.** Kidney transplantation, without or with concurrent or later pancreas transplantation, is a viable alternative for individuals with ESKD. Studies reported variable results. The five-year survival rate for type 2 diabetics after kidney transplantation is around 77%, in contrast to 88% for patients without diabetes. At five years, kidney graft survival rates are more than 97% for life and 77% for dead donor transplant recipients [89–91] Swanson KJ, Aziz F, Garg N, et al. Outcomes after simultaneous kidney-pancreas versus pancreas after kidney transplantation in the current era. Clin Transplant. 2019;33(12).

**Outcomes.** Proteinuria predicts morbidity and death risk. Microalbuminuria and macroalbuminuria are 30–35% common in the two main types of DM. In DM, microalbuminuria and macroalbuminuria raise the death rate from any cause and independently predict CV morbidity. In the non-diabetic population, microalbuminuria increases coronary disease and CV mortality risk. The low relative death rate is in patients without proteinuria, whereas those with proteinuria have a 40-fold higher risk [92]. Type 1 DM patients with proteinuria had a bell-shaped connection between DM duration/age and death, peaking at 34–38 years. ESKD kills 59–66% of type 1 DM and nephropathy patients. The 5-year survival rate in Germany reported research was fewer than 10% for elderly type 2 diabetics and 40% for younger type 1 patients. Type 1 diabetics with proteinuria had a 50% cumulative rate of ESKD 10 years from proteinuria start, compared to 3–11% in European type 2 DM patients [93].

A study found in type 2 diabetics that diabetic retinopathy is a strong predictor for ESKD progression [94]. Jiang et al. found that type 2 DM patients with more comorbidities had a greater risk of DKD progression. After dividing the study's patients into four groups—low comorbidity/low treatment, low/high treatment, moderate/high insulin use, and high/moderate treat-

ment. The researchers found 5-year DK progression rates of 11.8%, 18%, 16.5%, and 27.7%, respectively [95]. Another study found that type 1 diabetics with macroalbuminuria are at increased risk for ESKD despite transplantation and dialysis [96]. Although both types 1 and 2 DM cause ESKD, most individuals have type 2. The percentage of type 1 DM patients who suffer renal failure has decreased in recent decades. However, 20-40% still have the ESKD risk. On the other hand, 10-20% of type 2 diabetics develop uremia. In contrast, 15-25% of DKD and type 1 DM patients die from CV disease despite the early age of type 1 development. Another newer study reported the cumulative ESKD risk was 2.2% and 7% after 20 and 30 years respectively from the DM diagnosis [97]. The last study concluded that ESKD cumulative risk has diminished noticeably during the last 50 years, emphasizing the critical role of advancements in DM and DKD therapy.

**Gaps and prospects in DKD.** DKD is poorly understood and needs more studying. Although important determinants and biomarkers have been identified, understanding molecular processes, and developing tailored therapeutics is still challenging. The intricate relationship between genetic predisposition and environmental variables in DKD development and progression is interesting. Future DKD management requires a comprehensive strategy. This involves adapting therapies to genetic, molecular, and clinical traits.

In DKD, precision glucose management and novel inflammatory and fibrosis treatments are essential. RAAS pathway regulation is crucial. Further research has shown significant promises for SGLT2is and GLPRAs receptor agonists, despite the different gaps discussed earlier.

Studying combo therapy, such as ETRAs and SGLT2is, may improve results in DKD patients. The clinical feasibility of novel medicines depends on rigorous efficacy and safety needs for further research projects.

A ntOPN (a glycoprotein) increases kidney tissue injuries. The ntOPN can be used as an early biomarker and possible therapeutic target to reduce DKD fibrosis and inflammation. Pharmacological interventions must be accompanied by patient education and collaborative care. Diversity in clinical trials must be fostered. These comprehensive strategies that combine medication, customized medicine, and modern technology to enhance DKD outcomes and quality of life require further research.

In summary, delayed diabetes diagnosis, late DKD discovery, inefficient glycemic and blood pressure control, insufficient kidney protection, and inadequate care for severe CKD increase ESKD risk. Although novel treatment models and procedures have been built to overcome these issues, they are not routinely and efficiently used. To improve patients' care, we recommend focusing on DKD awareness, access to timely evidence-based care, inclusive patient-centered care, and complex disease management evidence. Patients and

their families must be central to these activities. New interventions are available, but due to DKD pathogenesis gaps and scanty research data in DKD, further investigatory projects for pathogenesis and new therapies are highly recommended.

**Limitations.** Composing one review on a prevalent condition is arduous. The incidence of this condition is escalating in correlation with the growing frequency of DM. A good volume of literature has been published about DKD. It is exceptionally hard to include the published studies on epidemiology, etiology, prevention, and therapy options in a single complete review. While certain aspects were overlooked, we tried to focus on the facts, gaps, and foundations of DKD pathophysiology, prevention, and essential therapies to the greatest extent feasible.

**Conclusions.** Diabetes is a global affliction that continues to increase annually. The prevalence of diabetic kidney injury in diabetics continues to rise. Diabetic kidney disease physiologically arises from alterations and imbalances in metabolic and hemodynamic variables, yet other factors may also contribute. The interplay of several elements in DKD is the most widely accepted view, rather than attributing it to one cause. Preventing DKD is the optimal strategy; nevertheless, it is often not feasible. Therefore, controlling blood sugar, managing blood pressure, and controlling other parameters are optimal strategies to postpone the most severe impacts of diabetes. New biomolecular-based research projects are necessary to assess the pathogenesis, treatment, and outcome of DKD.

**Conflict of interest.** The authors have no conflicts of interest related to the topics discussed in this review.

**Funding source.** The authors declare that there is no funding source.

**Acknowledgment.** We acknowledge the support provided by the Open Libyan University.

**Author contributions.**

**Elmukhtar Habas:** Principal author, conceptualization, project manager, original draft preparation;

**Amna Rayani:** Conceptualization, review and editing;

**Aml Habas:** Literature analysis;

**Kalifa Farfar:** Literature analysis;

**Eshrak Habas:** Literature analysis, figure preparation;

**Khaled Alarbi:** Literature analysis;

**Ala Habas:** Literature analysis, table preparation;

**Elmehdi Errayes:** Review and editing;

**Gamal Alfitori:** Review and editing.

## References:

1. *Varghese RT, JI*. Diabetic Nephropathy. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. [Internet]; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534200/>.
2. *Tang SC, Chan GC, Lai KN*. Recent advances in managing and understanding diabetic nephropathy. *F1000Res*. 2016;5:F1000 Faculty Rev-1044. doi: 10.12688/f1000research.7693.1.
3. *Moriya T, Yamagishi T, Matsubara M, Ouchi M*. Serial renal biopsies in normo- and microalbuminuric patients with type 2 diabetes demonstrate that loss of renal function is associated with a reduction in glomerular filtration surface secondary to mesangial expansion. *J Diabetes Complicat*. 2019;33(5):368-373. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2019.02.002.
4. *Gheith O, Farouk N, Nampoory N, Halim MA, Al-Otaibi T*. Diabetic kidney disease: world wide difference of prevalence and risk factors. *J Nephropharmacol*. [Internet]. 2015;5(1):49-56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28197499/>.
5. *Feng XS, Farej R, Dean BB, Xia F, Gaiser A, Kong SX, et al*. CKD Prevalence Among Patients With and Without Type 2 Diabetes: Regional Differences in the United States. *Kidney Med*. 2021;4(1):100385. doi: 10.1016/j.xkme.2021.09.003.
6. *Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR*. Diabetic Kidney Disease: Challenges, Progress, and Possibilities. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(12):2032-45. doi: 10.2215/CJN.11491116.
7. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 11. Chronic Kidney Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care*. 2022 ;45(1):175-184. doi: 10.2337/dc22-S011.
8. *Sugahara M, Pak WLW, Tanaka T, Tang SCW, Nangaku M*. Update on diagnosis, pathophysiology, and management of diabetic kidney disease. *Nephrology (Carlton)*. 2021;26(6):491-500 doi: 10.1111/nep.13860.
9. Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee; McFarlane P, Cherney D, Gilbert RE, Senior P. Chronic Kidney Disease in Diabetes. *Can J Diabetes*. 2018;42(1):201-209. doi: 10.1016/j.cjcd.2017.11.004.
10. *Kengne AP, Sobngwi E, Echouffo-Tcheugui JB, Mbanya JC*. New insights on diabetes mellitus and obesity in Africa-Part 2: prevention, screening and economic burden. *Heart*. 2013;99(15):1072-7. doi: 10.1136/heartjnl-2013-303773.
11. IDF Diabetes Atlas. Tenth edition. [Internet]. 2021:137. Available from: [https://diabetesatlas.org/idfawp/resourcefiles/2021/07/IDF\\_Atlas\\_10th\\_Edition\\_2021.pdf](https://diabetesatlas.org/idfawp/resourcefiles/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf).
12. *Stel VS, de Jong RW, Kramer A, Andrusev AM, Baltar JM, Barbullushi M, et al*. Supplemented ERA-EDTA Registry data evaluated the frequency of dialysis, kidney transplantation, and comprehensive conservative management for patients with kidney failure in Europe. *Kidney Int*. 2021 Jul;100(1):182-195. doi: 10.1016/j.kint.2020.12.010.
13. *Claessen H, Narres M, Kvitkina T, Wilk A, Friedel H, Günster C, et al*. Renal Replacement Therapy in People With and Without Diabetes in Germany, 2010-2016: An Analysis of More Than 25 Million Inhabitants. *Diabetes Care*. 2021;44(6):1291-9. doi: 10.2337/dc20-2477.
14. *Klessens CQ, Woutman TD, Veraar KA, Zandbergen M, Valk EJ, Rotmans JJ, et al*. An autopsy study suggests that diabetic nephropathy is underdiagnosed. *Kidney Int*. 2016;90(1):149-56. doi: 10.1016/j.kint.2016.01.023.
15. *Al-Zahrani N, AlSwat HK, AlQarni AM, Alzahrani SS, Boubshait LA, Alassaf LA, et al*. Prevalence and Risk Factors of Diabetic Nephropathy Among Saudi Type-1 Diabetic Patients in Taif City, Saudi Arabia. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2023;16:3609-3616. doi: 10.2147/DMSO.S432700.
16. *Awad SF, A Toumi A, A Al-Mutawaa K, A Alyafei S, A Ijaz M, A H Khalifa S, et al*. Type 2 diabetes epidemic and key risk factors in Qatar: a mathematical modeling analysis. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2022;10(2):e002704. doi: 10.1136/bmj-drc-2021-002704.
17. *Awad SF, O'Flaherty M, Critchley J, Abu-Raddad LJ*. Forecasting the burden of type 2 diabetes mellitus in Qatar to 2050: A novel modeling approach. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018;137:100-108. doi: 10.1016/j.diabres.2017.11.015.
18. *Fan JZ, Wang R*. Non-diabetic renal disease in patients with type 2 diabetes: a single centre study. *Intern Med J*. 2018;48(4):451-456. doi: 10.1111/imj.13708.
19. *AlSahow A*. Demographics and key clinical characteristics of hemodialysis patients from the gulf co-operation council (GCC) participating in DOPPS. *Nephrol Dialysis Transplant*. 2016;31:i279-i297. doi: 10.1093/ndt/gfw175.29.
20. *Pavkov ME, Bennett PH, Knowler WC, Krakoff J, Sievers ML, Nelson RG*. Effect of youth-onset type 2 diabetes mellitus on incidence of end-stage renal disease and mortality in young and middle-aged Pima Indians. *JAMA*. 2006;296(4):421-6. doi: 10.1001/jama.296.4.421.
21. *Noubiap JJ, Naidoo J, Kengne AP*. Diabetic nephropathy in Africa: A systematic review. *World J Diabetes*. 2015;6(5):759-73. doi: 10.4239/wjd.v6.i5.759.

22. *Abd ElHafeez S, Bolignano D, D'Arrigo G, Dounousi E, Tripepi G, Zoccali C.* Prevalence and burden of chronic kidney disease among the general population and high-risk groups in Africa: a systematic review. *BMJ Open.* 2018;8(1):e015069. doi: 10.1136/bmjopen-2016-015069.
23. *Sinha SK, Nicholas SB.* Pathomechanisms of Diabetic Kidney Disease. *J Clin Med.* 2023;12(23):7349. doi: 10.3390/jcm12237349.
24. *Chen W, Zhang M, Guo Y, Wang Z, Liu Q, Yan R, et al.* The Profile and Function of Gut Microbiota in Diabetic Nephropathy. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2021;14:4283-4296. doi: 10.2147/DMSO.S320169.
25. *Wu X, Zhao L, Zhang Y, Li K, Yang J.* The role and mechanism of the gut microbiota in the development and treatment of diabetic kidney disease. *Front Physiol.* 2023;14:1166685. doi: 10.3389/fphys.2023.1166685.
26. *Zhang L, Wang Z, Zhang X, Zhao L, Chu J, Li H, et al.* Alterations of the Gut Microbiota in Patients with Diabetic Nephropathy. *Microbiol Spectr.* 2022;10(4):e0032422. doi: 10.1128/spectrum.00324-22.
27. *Lin YC, Chang YH, Yang SY, Wu KD, Chu TS.* Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease. *J Formos Med Assoc.* 2018;117(8):662-75. doi: 10.1016/j.jfma.2018.02.007.
28. *Samsu N.* Diabetic Nephropathy: Challenges in Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Biomed Res Int.* 2021;2021:1497449. doi: 10.1155/2021/1497449.
29. *Oh SW, Yang JH, Kim MG, Cho WY, Jo SK.* Renal hyperfiltration as a risk factor for chronic kidney disease: A health checkup cohort study. *PLoS One.* 2020;15(9):e0238177. doi: 10.1371/journal.pone.0238177.
30. *Wu T, Ding L, Andoh V, Zhang J, Chen L.* The Mechanism of Hyperglycemia-Induced Renal Cell Injury in Diabetic Nephropathy Disease: An Update. *Life (Basel).* 2023;13(2):539. doi: 10.3390/life13020539.
31. *Maezawa Y, Takemoto M, Yokote K.* Cell biology of diabetic nephropathy: roles of endothelial cells, tubulointerstitial cells and podocytes. *J Diabetes Investig.* 2015;6(1):3-15. doi: 10.1111/jdi.12255.
32. *Han W, Zheng Q, Zhang Z, Wang X, Gao L, Niu D, et al.* Association of the podocyte phenotype with extracapillary hypercellularity in patients with diabetic kidney disease. *J Nephrol.* 2024;37(8):2209-22. doi: 10.1007/s40620-024-01981-0.
33. *Watanabe K, Sato E, Mishima E, Miyazaki M, Tanaka T.* What's New in the Molecular Mechanisms of Diabetic Kidney Disease: Recent Advances. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;24:570. doi: 10.3390/ijms24010570.
34. *Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, Fitchett D, von Eynatten M, Mattheus M, et al.* Empagliflozin and Progression of Kidney Disease in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016;375(4):323-34. doi: 10.1056/NEJMoa1515920.
35. *Tonneijck L, Muskiet MH, Smits MM, van Bommel EJ, Heerspink HJ, van Raalte DH, et al.* Glomerular Hyperfiltration in Diabetes: Mechanisms, Clinical Significance, and Treatment. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(4):1023-39. doi: 10.1681/ASN.2016060666.
36. *Mende CW, Samarakoon R, Higgins PJ.* Mineralocorticoid Receptor-Associated Mechanisms in Diabetic Kidney Disease and Clinical Significance of Mineralocorticoid Receptor Antagonists. *Am J Nephrol.* 2023;54(1-2):50-61. doi: 10.1159/000528783.
37. *Kataoka H, Nitta K, Hoshino J.* Glomerular hyperfiltration and hypertrophy: an evaluation of maximum values in pathological indicators to discriminate "diseased" from "normal". *Front Med (Lausanne).* 2023;10:1179834. doi: 10.3389/fmed.2023.1179834.
38. *Leoncini G, Viazzi F, De Cosmo S, Russo G, Fioretto P, Pontremoli R.* Blood pressure reduction and RAAS inhibition in diabetic kidney disease: therapeutic potentials and limitations. *J Nephrol.* 2020;33(5):949-63. doi: 10.1007/s40620-020-00803-3.
39. *Pelle MC, Provenzano M, Busutti M, Porcu CV, Zaffina I, Stanga L, et al.* Up-Date on Diabetic Nephropathy. *Life (Basel).* 2022;12(8):1202. doi: 10.3390/life12081202.
40. *Premilovac D, Attrill E, Rattigan S, Richards SM, Kim J, Keske MA.* Acute, local infusion of angiotensin II impairs microvascular and metabolic insulin sensitivity in skeletal muscle. *Cardiovasc Res.* 2019;115(3):590-601. doi: 10.1093/cvr/cvy225.
41. *Hallow KM, Gebremichael Y, Helmlinger G, Vallon V.* Primary proximal tubule hyperreabsorption and impaired tubular transport counter-regulation determine glomerular hyperfiltration in diabetes: a modeling analysis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2017;312(5):F819-F835. doi: 10.1152/ajprenal.00497.2016.
42. *Wang H, Romero CA, Masjoan Juncos JX, Monu SR, Peterson EL, Carretero OA.* Effect of salt intake on afferent arteriolar dilatation: role of connecting tubule glomerular feedback (CTGF). *Am J Physiol Renal Physiol.* 2017;313(6):1209-15. doi: 10.1152/ajprenal.00320.2017.
43. *Koh ES, Kim GH, Chung S.* Intrarenal Mechanisms of Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors on Tubuloglomerular Feedback and Natriuresis. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2023;38(4):359-372. doi: 10.3803/EnM.2023.1764.

44. Yoshimoto T, Furuki T, Kobori H, Miyakawa M, Imachi H, Murao K, Nishiyama A. Effects of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors on urinary excretion of intact and total angiotensinogen in patients with type 2 diabetes. *J Investig Med*. 2017;65(7):1057-61. doi: 10.1136/jim-2017-000445.
45. Chen YY, Chen DQ, Chen L, Liu JR, Vaziri ND, Guo Y, et al. Microbiome-metabolome reveals the contribution of gut-kidney axis on kidney disease. *J Transl Med*. 2019;17(1):5. doi: 10.1186/s12967-018-1756-4.
46. Mosterd CM, Kanbay M, van den Born BJH, van Raalte DH, Rampanelli E. Intestinal microbiota and diabetic kidney diseases: the Role of microbiota and derived metabolites in modulation of renal inflammation and disease progression. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2021;35(3):101484. doi: 10.1016/j.beem.2021.101484.
47. Nagase N, Ikeda Y, Tsuji A, Kitagishi Y, Matsuda S. Efficacy of probiotics on the modulation of gut microbiota in the treatment of diabetic nephropathy. *World J Diabetes*. 2022;13(3):150-160. doi: 10.4239/wjd.v13.i3.150.
48. Xiong Y, Zhou L. The Signaling of Cellular Senescence in Diabetic Nephropathy. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:7495629. doi: 10.1155/2019/7495629.
49. Araújo LS, Torquato BGS, da Silva CA, Dos Reis Monteiro MLG, Dos Santos Martins ALM, et al. Renal expression of cytokines and chemokines in diabetic nephropathy. *BMC Nephrol*. 2020;21(1):308. doi: 10.1186/s12882-020-01960-0.
50. Salti T, Khazim K, Haddad R, Campisi-Pinto S, Bar-Sela G, Cohen I. Glucose Induces IL-1 $\alpha$ -Dependent Inflammation and Extracellular Matrix Proteins Expression and Deposition in Renal Tubular Epithelial Cells in Diabetic Kidney Disease. *Front Immunol*. 2020. 11:1270. doi: 10.3389/fimmu.2020.01270.
51. Milas O, Gadalean F, Vlad A, Dumitrascu V, Velcirov S, Gluhovschi C, et al. Pro-inflammatory cytokines are associated with podocyte damage and proximal tubular dysfunction in the early stage of diabetic kidney disease in type 2 diabetes mellitus patients. *J Diabetes Complicat*. 2020;34(2):107479. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2019.107479.
52. Sangoi MB, de Carvalho JA, Tatsch E, Hausen BS, Bollick YS, Londero SW, et al. Urinary inflammatory cytokines as indicators of kidney damage in type 2 diabetic patients. *Clin Chim Acta*. 2016;460:178-83. doi: 10.1016/j.cca.2016.06.028.
53. McGeough MD, Wree A, Inzaugarat ME, Haimovich A, Johnson CD, Peña CA, et al. TNF regulates transcription of NLRP3 inflammasome components and inflammatory molecules in cryopyrinopathies. *J Clin Invest*. 2017;127(12):4488-97. doi: 10.1172/JCI90699.
54. Coca SG, Nadkarni GN, Huang Y, Moledina DG, Rao V, Zhang J, et al. Plasma Biomarkers and Kidney Function Decline in Early and Established Diabetic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(9):2786-93. doi: 10.1681/ASN.2016101101.
55. Bonner R, Albajrami O, Hudspeth J, Upadhyay A. Diabetic Kidney Disease. *Prim Care*. 2020;47(4):645-59. doi: 10.1016/j.pop.2020.08.004.
56. Flyvbjerg A. The role of the complement system in diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13(5):311-8. doi: 10.1038/nrneph.2017.31.
57. Zhang Y, Jin D, Kang X, Zhou R, Sun Y, Lian F, Tong X. Signaling Pathways Involved in Diabetic Renal Fibrosis. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:696542. doi: 10.3389/fcell.2021.696542.
58. Kourtidou C, Tziomalos K. The Role of Histone Modifications in the Pathogenesis of Diabetic Kidney Disease. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6):6007. doi: 10.3390/ijms24066007.
59. Majumder S, Thieme K, Batchu SN, Alghamdi TA, Bowskill BB, Kabir MG, et al. Shifts in podocyte histone H3K27me3 regulate mouse and human glomerular disease. *J Clin Invest*. 2018 Jan 2;128(1):483-99. doi: 10.1172/JCI95946.
60. Barton M, Yanagisawa M. Endothelin: 30 Years From Discovery to Therapy. *Hypertension*. 2019;74(6):1232-65. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12105.
61. Chung EYM, Badve SV, Heerspink HJL, Wong MG. Endothelin receptor antagonists in kidney protection for diabetic kidney disease and beyond? *Nephrology (Carlton)*. 2023;28(2):97-108. doi: 10.1111/nep.14130.
62. Benigni A, Buelli S, Kohan DE. Endothelin-targeted new treatments for proteinuric and inflammatory glomerular diseases: focus on the added value to anti-renin-angiotensin system inhibition. *Pediatr Nephrol*. 2021;36(4):763-775. doi: 10.1007/s00467-020-04518-2.
63. Ebfors K, Wiener RJ, Yu L, Azeloglu EU, Yi Z, et al. Endothelin receptor-A mediates degradation of the glomerular endothelial surface layer via pathologic crosstalk between activated podocytes and glomerular endothelial cells. *Kidney Int*. 2019;96(4):957-70. doi: 10.1016/j.kint.2019.05.007.
64. Chen Y, Lee K, Ni Z, He JC. Diabetic Kidney Disease: Challenges, Advances, and Opportunities. *Kidney Dis (Basel)*. 2020;6(4):215-25. doi: 10.1159/000506634.
65. Kulkarni A, Thool AR, Daigavane S. Understanding the Clinical Relationship Between Diabetic Retinopathy, Nephropathy, and Neuropathy: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2024;16(3):e56674. doi: 10.7759/cureus.56674.
66. Fang J, Luo C, Zhang D, He Q LL. Correlation between diabetic retinopathy and diabetic nephropathy.

- thy: a two-sample Mendelian randomization study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1265711. doi: 10.3389/fendo.2023.1265711.
67. *McGrath K, Edi R*. Diabetic Kidney Disease: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Am Fam Physician*. [Internet]. 2019;99(12):751-759. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31194487/>.
  68. *ElSayed NA, Bannuru RR, Bakris G, Bardsley J, de Boer IH, Gabbay RA, et al*. Diabetic Kidney Disease Prevention Care Model Development. *Clin Diabetes*. 2024;42(2):274-94. doi: 10.2337/cd23-0063.
  69. *Feingold KR*. Dyslipidemia in Patients with Diabetes. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305900/>.
  70. *Zaky A, Glastras SJ, Wong MYW, Pollock CA, Saad S*. The Role of the Gut Microbiome in Diabetes and Obesity-Related Kidney Disease. *Int J Mol Sci*. 2021;22(17):9641. doi: 10.3390/ijms22179641.
  71. *Yang G, Wei J, Liu P, Zhang Q, Tian Y, Hou G, et al*. Role of the gut microbiota in type 2 diabetes and related diseases. *Metabolism*. 2021;117:154712. doi: 10.1016/j.metabol.2021.154712.
  72. *Fang Y, Chen B, Gong AY, Malhotra DK, Gupta R, Dworkin LD, et al*. The ketone body  $\beta$ -hydroxybutyrate mitigates the senescence response of glomerular podocytes to diabetic insults. *Kidney Int*. 2021;100(5):1037-53. doi: 10.1016/j.kint.2021.06.031.
  73. *Gulati AS, Nicholson MR, Khoruts A, Kahn SA*. Fecal Microbiota Transplantation Across the Lifespan: Balancing Efficacy, Safety, and Innovation. *Am J Gastroenterol*. 2023;118(3):435-439. doi: 10.14309/ajg.0000000000002167.
  74. *Kootte RS, Levin E, Salojärvi J, Smits LP, Hartstra AV, Udayappan SD, et al*. Improvement of Insulin Sensitivity after Lean Donor Feces in Metabolic Syndrome Is Driven by Baseline Intestinal Microbiota Composition. *Cell Metab*. 2017;26(4):611-619.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2017.09.008.
  75. *Ni Y, Zheng L, Nan S, Ke L, Fu Z, Jin J*. Enterorenal crosstalks in diabetic nephropathy and novel therapeutics targeting the gut microbiota. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2022;54(10):1406-20. doi: 10.3724/abbs.2022140.
  76. *Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Diabetes Work Group*. KDIGO 2020 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2020;98(4S):S1-S115. doi: 10.1016/j.kint.2020.06.019.
  77. *ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al*. Chronic Kidney Disease and Risk Management: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care*. 2023;46(1):191-202. doi: 10.2337/dc23-S011.
  78. *Elmukhtar Habas, Ala Habas, Islam Elzouki, Gamal Alfitri, Elmehdi Arrayes, Amna Rayani, et al*. Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors' Mechanism of Action and Use in Kidney Transplantation Recipients: Extended Review and Update. *J Diabetes Endocrine Practice* 2024;7:66-76. doi: 10.1055/s-0044-1782673.
  79. *Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, Bompoint S, Heerspink HJL, Charytan DM, et al*. CREDENCE Trial Investigators. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *N Engl J Med*. 2019;380(24):2295-2306. doi: 10.1056/NEJMoa1811744.
  80. *Heerspink HJL, Stefánsson BV, Correa-Rotter R, Chertow GM, Greene T, Hou FF, et al*. Dapagliflozin in Patients with Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med*. 2020;383(15):1436-46. doi: 10.1056/NEJMoa2024816.
  81. *de Boer IH, Khunti K, Sadusky T, Tuttle KR, Neumiller JJ, et al*. Diabetes Management in Chronic Kidney Disease: A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Diabetes Care*. 2022;45(12):3075-90. doi: 10.2337/dci22-0027.
  82. *Kawanami D, Takashi Y*. GLP-1 Receptor Agonists in Diabetic Kidney Disease: From Clinical Outcomes to Mechanisms. *Front Pharmacol*. 2020;11:967. doi: 10.3389/fphar.2020.00967.
  83. *Hviid AVR, Sørensen CM*. Glucagon-like peptide-1 receptors in the kidney: impact on renal autoregulation. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2020;318(2):F443-F454. doi: 10.1152/ajprenal.00280.2019.
  84. *Ronn J, Jensen EP, Wewer Albrechtsen NJ, Holst JJ, Sørensen CM*. Glucagon-like peptide-1 acutely affects renal blood flow and urinary flow rate in spontaneously hypertensive rats despite significantly reduced renal expression of GLP-1 receptors. *Physiol Re*. 2017;5(23):e13503. doi: 10.14814/phy2.13503.
  85. *GRADE Study Research Group; Nathan DM, Lachin JM, Balasubramanyam A, et al*. Glycemia reduction in type 2 diabetes: glycemic outcomes. *N Engl J Med* 2022;387: 1063-74. doi: 10.1056/NEJMoa2200433.
  86. *Kristensen SL, Rørth R, Jhund PS, Docherty KF, Sattar N, Preiss D, et al*. Cardiovascular, mortality, and kidney outcomes with GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019;7(10):776-85. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30249-9.

87. Gerstein HC, Colhoun HM, Dagenais GR, Diaz R, Lakshmanan M, Pais P, et al. Dulaglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes (REWIND): a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2019;394(10193):121-30. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31149-3.
88. Seidu S, Lawson CA, Kunutsor SK, Khunti K, Rosano GMC. Blood pressure levels and adverse cardiovascular outcomes in heart failure: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Heart Fail*. 2024;26(5):1111-24. doi: 10.1002/ejhf.3108.
89. Parajuli S, Arunachalam A, Swanson KJ, Aziz F, Garg N, et al. Outcomes after simultaneous kidney-pancreas versus pancreas after kidney transplantation in the current era. *Clin Transplant*. 2019;33(12):e13732. doi: 10.1111/ctr.13732.
90. Sampaio MS, Kuo HT, Bunnapradist S. Outcomes of simultaneous pancreas-kidney transplantation in type 2 diabetic recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(5):1198-206. doi: 10.2215/CJN.06860810.
91. Ventura-Aguiar P, Ruiz JC, Sequeira P, Domínguez-Gil B. Kidney-pancreas transplantation - An excellent treatment alternative for the patient with insulin-dependent diabetes and advanced chronic kidney disease. *Nefrologia (Engl Ed)*. 2023;43(4):383-385. doi: 10.1016/j.nefro.2022.06.009.
92. Hishida M, Shafi T, Appel LJ, Maruyama S, Inaguma D, Matsushita K. Lower levels of proteinuria are associated with elevated mortality in incident dialysis patients. *PLoS One*. 2019;14(12):e0226866. doi: 10.1371/journal.pone.0226866.
93. Costacou T, Orchard TJ. Cumulative Kidney Complication Risk by 50 Years of Type 1 Diabetes: The Effects of Sex, Age, and Calendar Year at Onset. *Diabetes Care*. 2018;41(3):426-33. doi: 10.2337/dc17-1118.
94. Zhang J, Wang Y, Li L, Zhang R, Guo R, Li H, et al. Diabetic retinopathy may predict the renal outcomes of patients with diabetic nephropathy. *Ren Fail*. 2018;40(1):243-51. doi: 10.1080/0886022X.2018.1456453.
95. Jiang R, Law E, Zhou Z, Yang H, Wu EQ, Seifeldin R. Clinical Trajectories, Healthcare Resource Use, and Costs of Diabetic Nephropathy Among Patients with Type 2 Diabetes: A Latent Class Analysis. *Diabetes Ther*. 2018;9(3):1021-36. doi: 10.1007/s13300-018-0410-8.
96. Rosolowsky ET, Skupien J, Smiles AM, Niewczas M, Roshan B, Stanton R, et al. Risk for ESKD in type 1 diabetes remains high despite renoprotection. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(3):545-53. doi: 10.1681/ASN.2010040354.
97. Helve J, Sund R, Arffman M, Harjutsalo V, Groop PH, et al. Incidence of End-Stage Renal Disease in Patients With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2018;41(3):434-39. doi: 10.2337/dc17-2364.



## 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

**M. Kolesnyk, N. Stepanova, L. Korol, I. Shifris, R. Zograban, O. Voronyak**

doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.10

### Non-immunological determinants of transplanted kidney function longevity

State Institution «O.O. Shalimov National Scientific Center of Surgery and Transplantology of the National Academy of Medical Science of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Citation:

Kolesnyk M, Stepanova N, Korol L, Shifris I, Zograban R, Voronyak O. Non-immunological determinants of transplanted kidney function longevity. Ukr J Nephrol Dialys. 2025;1(85):81-96. doi: 10.31450/ukrjnd.1(85).2025.10.

**Abstract.** *Despite significant advancements in prolonging transplanted kidney function, its survival remains limited to approximately 10–12 years. Notably, the transplanted kidney function begins to decline progressively after the first post-transplantation year. The deterioration in graft function is driven by two primary categories of factors: immunologically mediated and non-immunologically mediated causes.*

*Delayed graft function (DGF) serves as a quantitative and qualitative integrative manifestation of both immunological and non-immunological mechanisms, exerting a profound influence on both short-term and long-term transplant outcomes. The contribution of each factor is highly individualized for every recipient and fluctuates throughout the post-transplantation period. However, studies specifically addressing the non-immunological determinants of graft longevity, including the onset of DGF, remain scarce.*

*This review systematizes key non-immunological determinants as potential therapeutic targets, which are crucial for timely intervention and the extension of transplanted kidney function. Maximizing graft longevity requires the identification of therapeutic targets and effective strategies to modulate both immunological and non-immunological factors in both the donor and the recipient.*

*This analytical review aims to identify non-immunological determinants whose retrospective and prospective investigation may help establish therapeutic targets for prolonging transplanted kidney function.*

**Keywords:** *kidney transplantation, delayed graft function, ischemia-reperfusion injury, therapeutic targets.*

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

© M. Kolesnyk, N. Stepanova, L. Korol, I. Shifris, R. Zograban, O. Voronyak, 2025.

Correspondence should be addressed to Mykola Kolesnyk: [mykola.kolesnyk@outlook.com](mailto:mykola.kolesnyk@outlook.com)

**Article history:**

Received December 25, 2024

Received in revised form  
January 27, 2025

Accepted January 30, 2025



© Колесник М. О., Степанова Н. М., Король Л. В., Шіфріс І. М., Зограб'ян Р. А., Вороняк О. С., 2025

УДК: 616.61-089.843-036

М. Колесник, Н. Степанова, Л. Король, І. Шіфріс, Р. Зограб'ян, О. Вороняк

## Неімуноопосередковані детермінанти тривалості функціонування трансплантованої нирки

ДУ «Національний центр хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН України»,  
Київ, Україна

**Резюме.** Незважаючи на успіхи щодо подовження тривалості функціонування трансплантованої нирки, вона складає, у середньому, лише 10-12 років. При цьому тривалість функціонування трансплантованої нирки прогресивно знижується вже після першого року трансплантації. Прогресуюче зниження функціональної здатності трансплантованої нирки обумовлюється двома основними групами причин: неімуноопосередкованими та імуноопосередкованими.

Відстрочена функція трансплантата (ВФТ) є кількісним і якісним інтегральним проявом як імуноопосередкованих так і неімуноопосередкованих механізмів, котра суттєво впливає на короткострокові та довгострокові результати трансплантації. Питома вага кожної складової у конкретного реципієнта індивідуальна і змінюється протягом усього післятрансплантаційного періоду. Робіт, присвячених визначенню неімуноопосередкованих детермінант тривалості функціонування трансплантата загалом і виникнення ВФТ у тому числі, небагато. У цьому огляді систематизовані ключові неімуноопосередковані детермінанти як можливі терапевтичні мішені, що є визначальним для своєчасного початку лікування та подовження терміну функціонування трансплантованої нирки.

Очевидно, що на сьогодні максимального результату щодо тривалості функціонування трансплантованої нирки можна досягти встановивши терапевтичні мішені та ефективні способи впливу на імуно та неімуноопосередковані складові як донора так і реципієнта.

Мета аналітичного огляду — визначити неімуноопосередковані детермінанти ретро та проспективне вивчення яких дозволить запропонувати терапевтичні мішені для подовження функціонування трансплантованої нирки.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, відстрочена функція трансплантата, ішемічно-реперфузійне пошкодження, терапевтичні мішені.

**Вступ.** Незважаючи на успіхи щодо подовження тривалості функціонування трансплантованої нирки, вона складає, у середньому, лише 10-12 років. При цьому тривалість функціонування трансплантованої нирки прогресивно знижується вже після першого року трансплантації. Прогресуюче зниження функціональної здатності трансплантованої нирки обумовлюється двома основними групами причин: неімуноопосередкованими та імуноопосередкованими.

Відстрочена функція трансплантата (ВФТ) є кількісним і якісним інтегральним проявом як імуноопосередкованих так і неімуноопосередкованих механізмів, котра суттєво впливає на короткострокові та довгострокові результати трансплантації. Питома вага кожної складової у конкретного реципієнта індивідуальна і змінюється протягом усього післятрансплантаційного періоду. Робіт, присвячених визначенню неімуноопосередкованих детер-

мінант тривалості функціонування трансплантата загалом і виникнення ВФТ у тому числі, небагато.

Неімунологічні детермінанти включають широкий спектр складових, асоційованих з донором та реципієнтом: гостре чи хронічне запалення, оксидативно-антиоксидантні порушення, стан мікробіоти дихальних шляхів, кішківника і т.п. [1-3]. Ініціальним є ішемічно-реперфузійне пошкодження (ІРП), яке є пусковим механізмом оксидативного стресу, запалення та пошкодження клітин канальцевого епітелію нирки [1, 4, 5]. Крім того, вікова та клінічна характеристика донора і реципієнта, тривалість теплової і холодової ішемії та методи консервації нирки, також відіграють важливу роль у розвитку ВФТ [1, 6].

На відміну від імунологічних, більшість неімунологічних факторів є модифікованими, що створює можливості для цільових втручань, спрямованих на покращення результатів лікування [2, 3].

**Мета** цього аналітичного огляду робіт, присвячених неімунологічним детермінантам тривалості функціонування трансплантата, сформувати програму подальшого реторо та проспективного дослідження для встановлення терапевтичних мішеней подовження тривалості функціонування трансплантата.

Микола Колесник  
mykola.kolesnyk@outlook.com

**Визначення та клінічна значущість ВФТ.**

Термін «ВФТ» використовується для опису нездатності трансплантованої нирки функціонувати безпосередньо після трансплантації внаслідок ішемічно-реперфузійного або іншого пошкодження [2, 7, 8]. Клінічно, ВФТ є гострим пошкодженням нирки (ГПН) після трансплантації нирки та потребує застосування діалітичної ниркової замісної терапії (ДНЗТ) [3, 9, 10]. Це ускладнення виникає у 4% – 50% реципієнтів [7, 8, 11, 12], така суттєва варіативність частоти ВФТ за даними різних досліджень пояснюється відсутністю єдиної стандартизованої дефініції цього стану. Наявні підходи до діагностики ВФТ базуються на швидкості підвищення концентрації креатиніну сироватки, об'єму виділенні сечі та необхідності діалізу у різних співвідношеннях [13].

Найпоширенішим діагностичним критерієм є необхідність проведення діалізу протягом перших 7 днів після трансплантації [1, 2, 3]. Проте, такий підхід має значні обмеження, оскільки показання до діалізу у ранньому післятрансплантаційному періоді не стандартизовані та варіюють залежно від протоколу трансплантаційного центру [14]. Крім того, деякі показання до діалізу, такі як гіперкаліємія, гіперволемія або ацидоз, не обов'язково свідчать про порушення функції трансплантата. Модальність та тривалість діалізу перед трансплантацією також можуть вплинути на потребу в діалізі після трансплантації [15]. Насамкінець, керуючись таким визначенням, діагноз ВФТ може бути встановлено із затримкою до одного тижня, що знижує своєчасність лікування та ускладнює виключення інших причин зниження функції трансплантата, таких як гостре відторгнення або токсичність інгібіторів кальциневрину [13].

Одним із основних діагностичних критеріїв ВФТ за кінетикою елімінації креатиніну, слугує відсутність його зниження в сироватці крові на 10% протягом трьох днів поспіль у перший тиждень після трансплантації [10, 13]. Проте, у пацієнтів з високим початковим рівнем креатиніну або наявними супутніми захворюваннями кінетика креатиніну може не відповідати типовим показникам. Крім того, гідратація, об'єм циркулюючої крові та прийом ліків можуть впливати на рівень креатиніну і т.ч. на оцінку функції трансплантата [10, 13].

Об'єм сечовиділення в перші 24 години після трансплантації також є важливим діагностичним критерієм ВФТ [13, 16]. Однак, відсутність єдиного підходу до визначення ефективного рівня діурезу та варіації граничних значень у різних дослідженнях, ускладнюють його застосування [17]. Додатковими перешкодами є варіабельність об'єму сечі через залишкову функцію нативних нирок та можливість неолігуричного ГПН; для визначення ВФТ об'єм сечі поєднують з додатковими критеріями, - динаміка креатиніну сироватки та/або необхідність діалізу [10, 13, 16, 17].

Відсутність єдиного стандартизованого визначення ВФТ ускладнює порівняння результатів досліджень та розробку ефективних терапевтичних стратегій. Аналіз 22 критеріїв ВФТ виявив значну варіативність частоти цього ускладнення залежно від обраного підходу [13], що ще раз підкреслило необхідність стандартизації визначення ВФТ.

Зі зростанням кількості трансплантацій від донорів із зупинкою кровообігу (donors with circulatory death, DCD) і таких, які відповідають розширеним критеріям (expanded criteria donors, ECD), частота ВФТ збільшилась [18]. ВФТ суттєво ускладнює ранній післятрансплантаційний період, подовжуючи тривалість госпіталізації та підвищуючи витрати на лікування [19]. Проте, клінічне значення ВФТ виходить за рамки раннього післяопераційного періоду. Окрім ГПН з необхідністю діалізу, ВФТ підвищує ризик хронічного відторгнення трансплантата [1, 6, 7, 20], а також асоціюється із розвитком хронічної нефропатії алотрансплантата та передчасною втратою його функції [21, 22]. Так, нещодавній мета-аналіз 38 досліджень виявив, що пацієнти, які перенесли ВФТ, мали підвищений ризик гострого (OR 1,84; 95% CI, 1,30-2,61; P < 0,01) і хронічного (OR 3,38; 95% CI, 1,85-6,17; P < 0,01) відторгнення алотрансплантата та смертності (OR 2,32; 95% CI, 1,53-3,50; P < 0,01) через рік після трансплантації [23]. Ретроспективне дослідження, проведене з використанням даних реєстрів Фінляндії та США, яке охоплювало понад 64 000 пацієнтів, показало, що 10-річна виживаність трансплантата була значно нижчою у пацієнтів з ВФТ (51%) порівняно з тими, хто мав адекватну ранню функцію трансплантата (66%) [11]. Імовірність втрати або смерті трансплантата була вищою у пацієнтів з ВФТ, навіть після коригування таких факторів, як час холодової ішемії, індекс донорського профілю нирки і характеристики реципієнта [11].

Таким чином, ВФТ значно впливає на клінічні результати трансплантації нирки через зниження виживаності трансплантата, підвищення частоти гострого та хронічного відторгнення [23]. Розуміння патофізіологічних механізмів та ризик-факторів ВФТ має вирішальне значення для оптимізації перитрансплантаційного періоду та довгострокових стратегій лікування.

**Патофізіологія ВФТ.** ВФТ є наслідком патофізіологічних процесів, обумовлених ІРП (рис. 1).

## Ішемічно-реперфузійне пошкодження

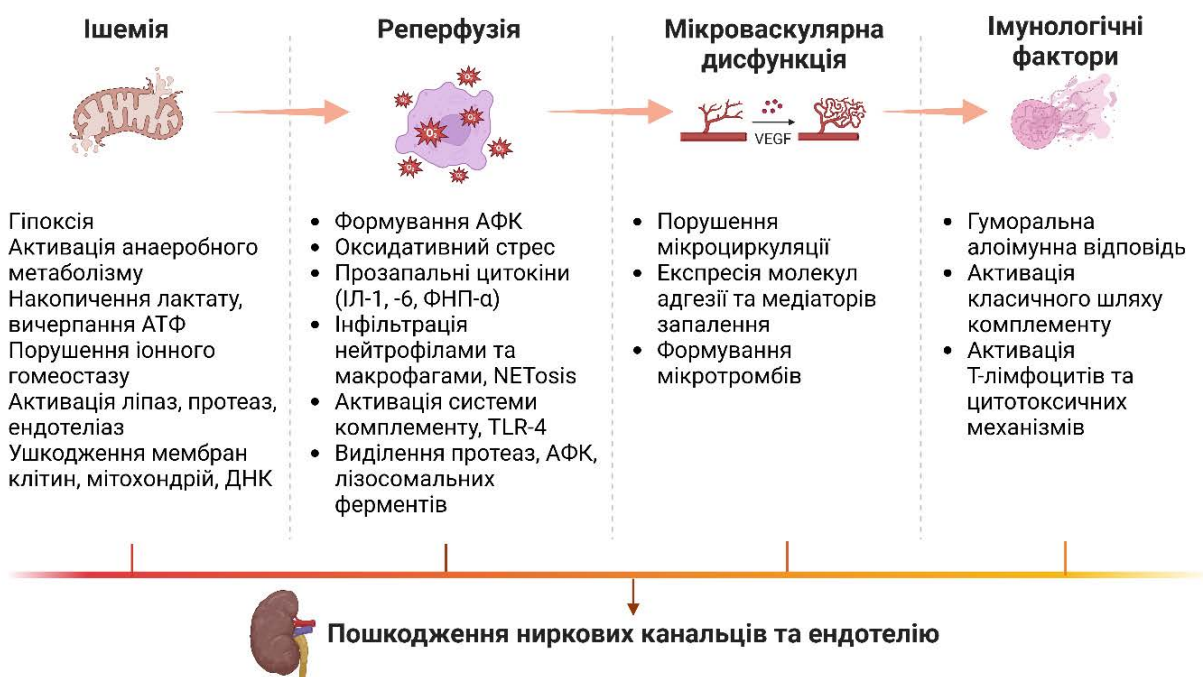


Рис. 1. Патологічні механізми ІРП.

ІРП виникає внаслідок припинення кровотоку до трансплантату під час вилучення органу та його збереження в умовах холодової ішемії, а також під час відновлення перфузії після трансплантації [4, 5, 24]. На етапі ішемії порушення кровотоку до трансплантованої нирки спричиняє дефіцит кисню та енергії, що активує анаеробний метаболізм і призводить до накопичення лактату, вичерпання запасів аденозинтрифосфату (АТФ) і порушення іонного гомеостазу [1, 4, 5]. Підвищений внутрішньоклітинний рівень кальцію активує протеази, ліпази та ендонуклеази, що спричиняє ушкодження мембран, мітохондрій і ядерної ДНК [1, 4, 5].

Реперфузія супроводжується масивним утворенням активних форм кисню (АФК), ініціює оксидативний стрес [25, 26]. Це, у свою чергу, активує запальні реакції, які включають секрецію прозапальних цитокинів, таких як інтерлейкін (ІЛ) -1, -6, фактор некрозу пухлин альфа (ФНП- $\alpha$ ), а також активацію системи комплементу [1, 4, 24]. Зокрема, активація Toll-подібних рецепторів (TLR), наприклад TLR-4, ініціює інтенсивну запальну відповідь, що посилює ушкодження клітин трансплантату. У відповідь на ІРП ендотеліальні клітини також продукують хемокини, які залучають нейтрофіли та макрофаги. Ці клітини інфільтрують трансплантат, виділяючи протеази, АФК і лізосомальні ферменти, що додатково посилює пошкодження тканин [4, 24, 25].

Мікрovasкулярна дисфункція є важливим компонентом патології ВФТ. ІРП спричиняє

ушкодження ендотелію судин трансплантату, що призводить до порушення мікроциркуляції [24, 25, 27]. Активация ендотелію призводить до експресії молекул адгезії та вивільнення медіаторів запалення. Ця ендотеліальна дисфункція порушує нормальну функцію судин, сприяючи розвитку ВФТ та довгостроковій дисфункції трансплантата [1, 3, 24, 27]. Крім того, ендотеліальна дисфункція супроводжується підвищеним утворенням факторів згортання крові, таких як фактор Віллебранда, що сприяє тромбоутворенню [28]. Порушення балансу між прокоагулянтними та антикоагулянтними факторами сприяє формуванню мікротромбів, які блокують кровообіг і перешкоджають відновленню ниркових структур [27, 28]. В подальшому це спричинює значне порушення гомеостазу рідини в організмі, активацію ренін-ангіотензинової системи (РАС) та зміни електролітного і кислотно-лужного балансу [29].

Метаболічний ацидоз є одним з факторів ризику дисфункції трансплантата в довгостроковій перспективі. У реципієнтів метаболічний ацидоз спричинений здебільшого імуносупресивною терапією, ішемією та відторгненням алотрансплантата [2]. Свого часу, Парк та ін. провели дослідження, що показало залежність між тяжкістю метаболічного ацидозу та прогресуючою дисфункцією алотрансплантата [30]. В іншому дослідженні автори довели, що метаболічний ацидоз підвищує ризик смертності [31]. В недавньому рандомізованому дослідженні Preserve-Transplant Study щодо корек-

ції метаболічного ацидозу за допомогою бікарбонату натрію у реципієнтів ниркових трансплантатів дослідники не виявили переваг в спробі уповільнити зниження розрахункової швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) [32].

Епітелій каналців та ендотеліальні клітини судин трансплантату є основними мішенями ІРП, а їх пошкодження є характерною ознакою ВФТ [1, 4, 5, 24]. Внаслідок ішемії каналцевої епітелій переходить на анаеробний метаболізм, що призводить до накопичення лактату, зниження рівня АТФ та порушення іонного гомеостазу [4, 5, 24]. Це, в свою чергу, викликає набряк клітин, порушення функції іонних насосів (наприклад,  $\text{Na}^+$ / $\text{K}^+$ -АТФази) [5, 25, 26].

У свою чергу, пошкодження каналців призводить до накопичення токсичних продуктів метаболізму, які пошкоджують ендотелій і посилюють запальну відповідь. Дисфункція ендотелію спричиняє погіршення кровообігу та гіперперфузію каналців, що ускладнює їх відновлення та сприяє подальшому порушенню функції трансплантату [4, 25, 27].

**Неімунологічні детермінанти ВФТ.** Їх умовно класифікують за трьома основними категоріями: донор-асоційована, реципієнт-асоційована та периопераційна ВФТ. На сьогодні існує значна кількість досліджень, присвячених прогнозуванню ризику ВФТ, що охоплюють як традиційні, так і нетрадиційні фактори. Найбільш досліджені з них узагальнено в таблиці 1.

Таблиця 1

## Неімунологічні фактори ризику ВФТ

Фактор ризику	Опис	Відношення шансів (OR) або відносний ризик (RR) та 95% ДІ	Джерело
<b>Донор-асоційовані</b>			
Вік донора	>60 років	OR: 1,79 (1,49; 2,16) RR: Підвищений	[8, 29]
Індекс маси тіла донора	Підвищення на кожен кг	OR: 1.06 (1,01; 1,12) на кожен кг/м	[30]
Креатинін донора	> 177 мкмоль/л	OR: 2,75 (1,08, 3,73)	[31]
Індекс профіля донора	>85%	OR: 1,01 (1,01; 1,01)	[4]
ECD донор	Донор віком > 60 років або старше 50 років з 2 із наступних 3 ознак: (1) високий артеріальний тиск в анамнезі, (2) креатинін сироватки $\geq 132,6$ мкмоль/л та (3) смерть внаслідок інсульту.	OR: 2,24 (1,13; 4,45) RR: Підвищений	[18, 32, 33]
Час теплової ішемії	20–40 хвилин	OR: 1,11 (1,03; 1,17)	[34]
Дистанція транспортування органа	Довший час транспортування	RR: Підвищений	[1]
<b>Реципієнт-асоційовані</b>			
Етнічна приналежність	Афроамериканська	OR: 1,26 (1,14; 1,40)	[35]
Стать	Чоловіки	OR: 1,43 (1,31; 1,57)	[35]
Модальність діалізу	Перитонеальний діаліз знижує ризик ВФТ в порівнянні з гемодіалізом	OR: 0,54 (0,41; 0,63)	[36]
Час перебування на діалізі	Понад 3 роки	OR: 1,07 (1,02; 1,12)	[15, 37, 38]
Індекс маси тіла реципієнта	$\geq 30$ кг/м <sup>2</sup>	OR: 1,41 (1,25; 1,59)	[35]
Супутні захворювання	Діабет та артеріальна гіпертензія	OR: 1,37 (1,32; 1,54) RR: Підвищений	[8, 35]
Попередні трансплантації	Ретрансплантація	OR: 2,56 (1,29; 5,07) RR: Підвищений	[37, 38]

Продовження таблиці 1

Фактор ризику	Опис	Відношення шансів (OR) або відносний ризик (RR) та 95% ДІ	Джерело
<b>Периопераційні</b>			
Холодова ішемія	> 18 годин	OR: 3,38 (1,57; 7,27)	[39, 40]
Гіпотермічна машинна перфузія	Знижує ризик ВФТ	OR: 0,45 (0,24; 0,84)	[41]
Гемодинамічна нестабільність	Інтраопераційна гіпотензія <55 мм рт. ст. >5 хв	OR: 1,85 (1,47; 2,32)	[42]
	Кардіальний індекс $\geq 4,25$ л/хв/м знижує ризик ВФТ	OR: 0,42; (0,19; 0,94)	[43]
	ЦВТ <8 та >11,7 mmHg	OR: Підвищений	[44, 45]
	Гідратація <50 мл/кг	OR: 3,71 (1,68; 8,61)	[46]
	Кристаліди знижують ризик ВФТ	RR: 0,82 (0,69; 0,98)	[47]
	Застосування фенілефрину	OR: 2,22 (1,04; 4,82)	[48]
Комбінована анестезія	Загальна + регіонарна анестезія	OR: 3,81 (1,71; 9,19)	[46]
Нефротоксичні лікарські засоби	Інгібітори кальциневрину, антибіотики	OR 3,34 (1,14; 10,48) RR: Підвищений	[46, 49]

Більшість з наведених у таблиці 1 факторів є добре задокументованими, тоді як деякі з них залишаються суперечливими або відрізняються між дослідженнями, що ускладнює формування єдиної стратегії прогнозування.

**Донор-асоційовані детермінанти ВФТ.** Якість донорського органу визначає вірогідність виникнення ВФТ [1, 3]. Зокрема, значну увагу дослідників привертає вік донора, оскільки є важливим предиктором результату трансплантації [33]. Ранні дослідження переконливо демонструють гірші безпосередні результати трансплантації від старшого віку донора [34]. Вік донора понад 50 років часто асоціюється зі зниженням ШКФ та з коморбідною патологією, включаючи діабет і артеріальну гіпертензію [33, 35]. Однак сучасні дані свідчать, що похилий вік сам по собі не є визначальним фактором, а його важливість посилюється в поєднанні з іншими несприятливими характеристиками, такими як високий індекс профілю донора нирки (KDPI) і тривалий час холодової ішемії [11, 36]. Проте і в цьому питанні існують певні розбіжності. Moreso зі співавторами, продемонстрували, що у реципієнтів ниркового трансплантату від літніх донорів вплив тривалості холодової ішемії на ризик виникнення ВФТ не був вищим порівняно з нирками від донорів віком 50-64 років або навіть DCD донорів [34]. Gallinat та інші в одноцентровому ретроспективному дослідженні визначили, що органи навіть від донорів старших за 75 років, але з коротким часом холодової ішемії та відсутністю ішемічної хвороби серця і злоякісних новоутворень, мають низький ризик ВФТ [37]. Більше того, Nassiri та інші визначили, що вік донора та час холодової ішемії не були

прогностичними ознаками ВФТ (OR 0,86 (95% ДІ 0,33; 2,25) та OR 1,19 (95% ДІ 0,58; 2,26) відповідно) [38].

Тип донорства також відіграє вирішальну роль у ризику розвитку ВФТ. Продемонстровано, що DCD донорство має значно вищий ризик ВФТ порівняно з донорством після смерті мозку, що пояснюється додатковим часом теплової ішемії та, відповідно, розвитком ІРП [39, 40]. Водночас, за даними окремих досліджень, довгострокові результати таких трансплантацій можуть бути порівнянними з результатами від донорів за стандартними критеріями, за умови короткого періоду теплої ішемії [40]. Подібним чином ECD донори та донори з високим KDPI асоціюються з підвищеним ризиком ВФТ, що відображає загальну знижену якість цих органів [41, 42]. У цьому контексті, передтрансплантаційна біопсія нирки може бути використана як складова оцінки якості органу [43]. Передтрансплантаційну біопсію нирки зазвичай оцінюють за допомогою спеціальних шкал або їхніх модифікацій, які включають аналіз відсотку гломерулосклерозу, ступеня інтерстиційного фіброзу, атрофії канальців та артеріального склерозу [44, 45]. Втім, достовірність і прогностична цінність цих даних залишаються предметом дискусій. Більшість попередньо запропонованих моделей прогнозування не мали прямого зв'язку із виживаністю трансплантата [43]. Проте важливо зазначити, що гістологічне дослідження тканини нирки забезпечує об'єктивну оцінку стану органу, яке не можна отримати лише з клінічних даних або функціональних досліджень нирок, для цього зазвичай застосовується шкала Карпінського-Ремуці [46].

Хірургічні фактори ризику ВФТ:

- виконання трансплантації нирки із кількома нирковими артеріями (КНА) є потенційним фактором ризику ВФТ за рахунок збільшення часу теплової ішемії та збільшує частоту виникнення судинних ускладнень [47, 48];
- виконання трансплантації правої нирки частіше призводить до ВФТ порівняно з трансплантацією лівої нирки від того ж донора, що пов'язано з технічними труднощами під час трансплантації правої донорської нирки, у зв'язку з коротшою нирковою веною правої нирки. Однак ці відмінності не є значними, багато в чому залежать від хірургічної техніки, а довгострокове виживання трансплантата лівої та правої нирки є еквівалентним [49];
- техніка нефректомії у донора - лапароскопічна, робот-асистована чи відкрита. Донорська нефректомія достовірно не впливала на частоту ВФТ, незважаючи на те що робот-асистована нефректомія супроводжується найдовшим часом теплової ішемії [50].

Лапароскопічна або робот-асистована донорська нефректомія мала певні переваги. Спостерігали менш інтенсивний больовий синдром у донора та тривалість його перебування в стаціонарі. Частота периопераційних ускладнень з необхідністю подальшого втручання, була еквівалентною за будь-якої методики донорського вилучення нирок [51].

**Реципієнт-асоційовані детермінанти ВФТ.**

Одним із найважливіших предикторів ВФТ вважається тривалість та модальність діалізу до трансплантації. Продемонстровано, що ризик ВФТ значно підвищується після 2,9-3,1 років ДНЗТ [15, 52], тоді як ПД-лікування значно його знижує [53]. Крім того, чоловіча стать та афроамериканська етнічна приналежність асоціюються з вищим ризиком ВФТ, що пояснюється складною взаємодією біологічних, імунологічних та соціально-економічних факторів [1, 6, 52, 54].

Згідно з даними досліджень, частота ВФТ у чоловіків значно вища, ніж у жінок (27,1% проти 21,8%) [55], що пов'язують з фізіологічними та метаболічними відмінностями між статями [56]. Гормональні відмінності між чоловіками та жінками також можуть відігравати роль, хоча прямий вплив цього механізму залишається недостатньо вивченим [56].

Дослідження демонструють, що частота ВФТ серед афроамериканських реципієнтів становить 34,3%, тоді як серед білих — 10,2% [57]. Вищий рівень сенсibiliзації через попередні трансплантації, переливання крові та часті вагітності, збільшують ризик посттрансплантаційних ускладнень [57]. Крім того, біологічні відмінності між етнічними групами, значно вища захворюваність на діабет і артеріальну гіпертензію та соціально-економічні фактори, такі як обмежений доступ до медичної допомоги, довші тривалість діалізу та очікування

трансплантації можуть впливати на частоту ВФТ цієї етнічної групи [58].

Іншими доведеними реципієнт-асоційованими факторами ризику ВФТ є дисліпідемія та ожиріння. Дисліпідемія може розвинути як *de novo* після трансплантації, так і може бути ускладненням хронічної хвороби нирок [59]. Потенційні причини гіперліпідемії у реципієнтів включають дієту, генетичну схильність та імуносупресивні лікарські засоби. Надмірне споживання насичених жирів з їжею та розлади харчування, низька фізична активність та малорухливий спосіб життя сприяють підвищенню індексу маси тіла (ІМТ) або ожирінню [60]. Іншим вагомим фактором розвитку дисліпідемії є застосування імуносупресивних засобів. Так, показано, що застосування циклоспорину підвищує рівень загального холестерину, холестерину ЛПДНЩ і холестерину ЛПНЩ шляхом зниження експресії рецепторів ЛПНЩ [61], а такролімус може значно підвищити рівень тригліцеридів у плазмі та знизити концентрацію і активність ліпопротеїніліпази у реципієнтів [62]. Крім того, призначення глюкокортикоїдів, також може сприяти підвищенню активності ацетилкоензимконвертази, збільшенню печінкового синтезу ЛПДНЩ, знижуючи активність рецепторів ЛПНЩ та інгібуючи ліпопротеїніліпазу, що призводить до накопичення ліпідів у нирках і може призвести до дисфункції трансплантата [63].

Ожиріння є іншим доведеним реципієнт-асоційованим фактором ризику ВФТ. Численні дослідження демонструють сильний зв'язок між ІМТ та ризиком ВФТ, який поступово зростає зі збільшенням ІМТ [64, 65]. У нещодавньому аналізі даних 3044 реципієнтів, проведеному на основі реєстру діалізу та трансплантації Австралії та Нової Зеландії, Shi та його колеги показали, що пацієнти із надмірною вагою, помірним та важким ожирінням мають підвищений ризик розвитку ВФТ на 30%, 42% та 118% відповідно, у порівнянні з реципієнтами з нормальним ІМТ (22–24,99 кг/м<sup>2</sup>) [65]. Декілька механізмів можуть пояснити цю асоціацію. До них відносяться більш тривалий ішемічний період, пов'язаний з ожирінням, підвищена симпатична активність, яка призводить до ниркової вазоконстрикції, вищі дози інгібіторів кальциневрину, які потенційно посилюють вазоконстрикцію через посилення експресії вазоконстрикторних факторів (ангіотензин II, ендотелін-1, тромбоксан А2 і лейкотрієни) з одночасним зниженням вироблення вазодилаторів (простациклін, простагландин Е2 і оксид азоту [63]), а також підвищена протромботична активність та ендотеліальна дисфункція, які сприяють мікротромбозу трансплантата [66]. Крім того, реципієнти з ожирінням часто мають коморбідні захворювання, такі як цукровий діабет та артеріальну гіпертензію, які самі по собі є факторами ризику ВФТ [6, 67].

Відомо, що застосування імуносупресії може викликати гіпертензію *de novo* або погіршити по-

передню гіпертензію. Побічний ефект імуносупресії полягає у активації РАС та дезактивації передсердного натрійуретичного пептиду, що призводить до артеріолярної вазоконстрикції з подальшим зниженням ШКФ та експансії позаклітинної рідини. Додатковими причинами гіпертензії є затримка води та солі, викликана стероїдами, що ще більше посилюється збільшенням позаклітинного об'єму та виробленням реніну, викликаного порушенням функції трансплантата. Інші причини також можуть сприяти розвитку посттрансплантаційної гіпертензії: похилий вік донора, хронічне відторгнення та стеноз ниркової артерії після трансплантації. Усі ці фактори сприяють розширенню позаклітинної тканини та збільшенню серцевого викиду. Тим часом спостерігається підвищення опору периферичних судин, спричинене невідповідною секрецією гормонів РАС [68].

Необхідно також враховувати той факт, що ВФТ є формою ГПН і у розвитку цієї форми ГПН важливу роль відіграє активація РАС. Ще у померлих донорів нирок під час серцевої або мозкової смерті спостерігається активація РАС і може подальше посилюватися під час забору та збереження органів, а під час імплантації ниркового трансплантата та реперфузії реципієнту РАС надалі активується. Особливий інтерес у цій ситуації становить стан ангіотензинперетворювального ферменту 2, ключового ферменту РАС, необхідного для метаболізму ангіотензину II і присутнього на апікальному полюсі проксимальних каналців, який є місцем переважного ураження у разі розвитку ГПН та формування ВФТ, тому втручання спрямовані на безпечно зниження активності РАС з використанням відповідних коротших форм ангіотензинперетворюючого ферменту 2, є одним із способів забезпечення захисту від ВФТ [69].

Реципієнти, які раніше перенесли трансплантацію нирки, мають суттєво вищий ризик розвитку ВФТ під час повторних трансплантацій [11, 38, 52]. Цей ризик обумовлений комплексом взаємозалежних факторів, які збільшують імовірність виникнення ускладнень як у периопераційному періоді, так і на ранніх етапах післяопераційного відновлення. Ключову роль у цьому процесі відіграє попередня сенсibilізація [70]. Продемонстровано, що поєднання попередньої сенсibilізації та ВФТ має синергічний несприятливий вплив на результати алотрансплантації та асоційовано з високим ризиком гострого антитіл-опосередкованого відторгнення [71].

Окрім вище зазначених, у науковій літературі обговорюється низка менш досліджених, проте потенційних реципієнт-асоційованих факторів, таких як залишкова функція нирок [72, 73], концентрація гемоглобіну [74, 75] та оксалової кислоти крові [72], рівень паратгормону та вітаміну D [63], дефіцит магнію та підвищення концентрації сечової кислоти крові [2], м'язова слабкість [76] та

генетичний поліморфізм [77]. Post Hospers та інші продемонстрували, що залишковий діурез  $\leq 150$  мл/хв асоціюється з вищим ризиком ВФТ [72]. Jahn зі співавторами визначили, що підвищення діурезу на кожні 100 мл зменшує ризик ВФТ з OR 0,92 (95% ДІ 0.88; 0.96) [73]. Механізм, імовірно, включає накопичення уремичних токсинів, у тому числі й оксалової кислоти. Підвищений рівень оксалової кислоти та її прекурсорів (гліоксилової та гліцеринової кислот) був асоційований з більшою частотою ВФТ [72]. Продемонстровано, що оксалова кислота і її метаболіти збільшують інтенсивність оксидативного стресу, сприяючи утворенню вільних радикалів, які пошкоджують мембрани клітин, білки та ДНК, що може призвести до мітохондріальної дисфункції та порушення енергетичного метаболізму клітин [78]. Цей каскад пошкоджень, у свою чергу, сприяє розвитку запальної реакції та ІРП трансплантата [26].

Виконання додіалізної трансплантації нирки показало менший рівень ВФТ, а також зниження частоти субклінічного відторгнення та хронічної нефропатії трансплантата в посттрансплантаційному періоді [10, 79].

Низький рівень гемоглобіну також може сприяти гіпоксії тканин і підвищеній сприйнятливості до ІРП. Molnar зі співавторами продемонстрували, що порівняно з рівнем гемоглобіну 120-129 г/л, реципієнти з гемоглобіном 100-109 г/л мали на 25% вищий ризик ВФТ [75]. Проте в іншому дослідженні було виявлено, що ВФТ частіше визначалась у реципієнтів з рівнем гемоглобіну  $>135$  г/л, що автори пов'язують зі збільшеним ризиком тромбоемболії [74].

Іншим вагомим та суперечливим фактором ризику ВФТ та несприятливих віддалених результатів трансплантації нирки є порушення метаболізму магнію у реципієнтів. Гіпомагніємія часто спостерігається після трансплантації та пов'язана із застосуванням інгібіторів кальциневрину. У нещодавньому дослідженні Hod зі співавторами, провели ретроспективний одноцентровий аналіз (2000–2013 рр., N = 726), щоб дослідити взаємозв'язок між гіпомагніємією та віддаленим результатом алотрансплантації у реципієнтів трансплантованої нирки [80]. Автори встановили, що для кожного збільшення Mg на 0,1 мг/дл, ШКФ зменшувалася на 1,1 мл/хв через 3 роки після трансплантації ( $p < 0,01$ ) і на 1,5 мл/хв через 5 років після трансплантації. Встановлено, що середній рівень Mg крові  $\geq 1,7$  мг/дл є незалежним предиктором ШКФ  $<60$  мл/хв через 3 роки після трансплантації і, що гіпомагніємія від 1 до 12 місяців після трансплантації нирки пов'язана з кращою функцією алотрансплантата до 5 років після трансплантації [80]. В іншому дослідженні, Odler та співавтори показали, що для пацієнтів з дефіцитом магнію в крові характерний підвищений ризик розвитку інфекцій сечовивідних шляхів і вірусних інфекцій, що негативно впливає

на ВФТ [81], а Cheungpasitporn зі співаторами продемонстрували, що дефіцит магнію має діабетогенний ефект і є доведеним незалежним фактором ризику цукрового діабету після трансплантації [82]. В іншому дослідженні був встановлений зв'язок між вмістом магнію в сироватці крові та смертністю у реципієнтів після трансплантації нирки від серцево-судинних захворювань [83].

Ще одним метаболічним фактором, що впливає на функції ниркового трансплантата є сечова кислота. Так, Hagirian та співавтори продемонстрували зв'язок між рівнями сечової кислоти у сироватці крові та результатами алотрансплантації нирки, і дійшли висновків, що середній рівень сечової кислоти впродовж перших 6 місяців після трансплантації є незалежним предиктором довгострокової виживаності трансплантата та короткострокової функції трансплантата [84]. Як відомо, гіперурикемія може активувати РАС разом із пригніченням синтезу оксиду азоту в нирках, що призводить до медіального потовщення прегломерулярних артеріол, ниркової вазоконстрикції та підвищення системного артеріального тиску [85], що може впливати на ВФТ. З іншого боку, сечова кислота є ендogenousним молекулярним патерном, що пов'язаний з пошкодженням клітин, розвитком запалення та активацією прозапального інтерлейкіну-1 $\beta$  і інтерлейкіну-18 [86].

Передопераційна м'язова слабкість також була незалежно асоційована з майже дворазовим підвищенням ризику розвитку ВФТ (OR 1,94; 95% ДІ 1,13–3,36), що може бути обумовлено передбачуваним зв'язком між підвищеними рівнями запальних цитокінів та порушенням функції трансплантата [76]. Крім того, специфічні генетичні варіації, такі як поліморфізм одного нуклеотиду TLR3 та варіанти генів, що кодують прооксидантні білки, зокрема алель NADPH оксидази p22(phox) 242T (CT+TT), були асоційовані з підвищеною частотою розвитку ВФТ [77]. Ці генетичні фактори можуть впливати на імунну відповідь або інші фізіологічні процеси, безпосередньо пов'язані з функціонуванням трансплантата.

**Периопераційні детермінанти.** Попри суттєві розбіжності даних і відсутність консенсусу щодо оптимальної тривалості холодової ішемії, безперечним є факт її суттєвого значення для розвитку ВФТ [6, 52, 73]. Дослідження Varba зі співавторами вперше продемонструвало, що кожна додаткова година холодової ішемії понад 18 годин збільшує ризик ВФТ на 10% [87]. Ці висновки були пізніше підтверджені Nieto-Ríos та інш., які визначили, що холодова ішемія понад 12 годин підвищує ризик ВФТ (OR 1,1; 95% ДІ 1,04–1,16) із подальшим зростанням ризику за тривалості 12–18 годин (OR 2,06; 95% ДІ 1,02–4,15) і максимальною частотою розвитку ВФТ за тривалості понад 18 годин (OR 3,38; 95% ДІ 1,57–7,27) [88]. У нещодавньому ретроспективному аналізі 25 831 пар нирок від одно-

го донора, трансплантованих із різницею холодової ішемії до 20 годин, 71% пар мали однакові результати щодо ВФТ [89]. У 16% випадків ВФТ спостерігалася лише в нирці з довшою холодовою ішемією, а в 13% — лише в нирці з коротшою. Аналіз пар із різними результатами показав, що довша тривалість холодової ішемії суттєво підвищувала ризик ВФТ. Однак у парах, де орган зазнавав перфузії, цей ризик був нижчим порівняно з таким з коротшою тривалістю холодової ішемії [78]. Автори дійшли висновку, що навіть незначне збільшення холодової ішемії підвищує ризик ВФТ, тоді як використання органної перфузії суттєво знижує негативний вплив пролонгованої холодової ішемії [89].

Крім абсолютної тривалості, вплив холодової ішемії залежить від типу донора. Повідомляється, що трансплантати від DBD донорів мають більшу толерантність до холодової ішемії порівняно з трансплантатами від DCD донорів [90, 91]. Проте навіть для DBD донорів з високим індексом донорського профілю нирки (KDPI >85%) тривалість холодової ішемії понад 22–24 години асоціюється з високим ризиком ВФТ [90, 92]. Слід зазначити, що результати досліджень з цього питання є суперечливими. Так, дослідження Lum зі співавторами демонструє найбільший вплив холодової ішемії на ризик ВФТ за KDPI >85% [92], тоді як Helantera та інші не визначили статистично значущого збільшення сприйнятливості до холодової ішемії нирок з високим індексом донорського профілю нирки [36]. Ці дані свідчать про те, що фактори, які впливають на ризик ВФТ, є більш комплексними і залежать від індивідуальних особливостей донора, реципієнта та технології зберігання органів.

На сьогодні є загальновідомим, що використання гіпотермічної машинної перфузії (ГМП) порівняно зі статичним холодним зберіганням, знижує частоту ВФТ нирки та забезпечує кращу виживаність трансплантата. В цьому контексті цікавими є дані, отримані в нещодавньому когортному ретроспективному дослідженні, проведеному у США. Результати дослідження демонструють що забезпечення температури перфузату в межах цільового діапазону 4–10 °C може вплинути на частоту ВФТ [93]. При проведенні однофакторного регресійного аналізу старший вік донора (OR 1,08, P = 0,002), вищий показник індексу профілю донора нирки (OR 1,03, P = 0,024) і температура перфузату понад 10 °C протягом перших 5-ти хвилин перфузії були достовірно пов'язані із затримкою функції трансплантата. Однак, за результатами мультифакторного регресійного аналізу виявлено, що лише вища температура розчину в ранньому періоді перфузії є незалежним предиктором ВФТ (OR 1,58, P = 0,005; OR 1,37, P = 0,08). Окрім того, ВФТ спостерігалася частіше за температури перфузату >10 °C проти T5 min <10 °C (OR 4,5, P = 0,006) [93].

За результатами великого ретроспективного дослідження Ahlmark зі співавторами, проведено-

го на підставі аналізу реєстрів Фінляндії та США (SRTR), встановлено що ВФТ та високий індекс профілю донора нирки були незалежними факторами ризику втрати трансплантата [HR 1,32 (95% ДІ 1,14–1,53),  $p < 0,001$ , і HR 1,01 на один бал (95% ДІ 1,01–1,01),  $p < 0,001$  відповідно]. Слід зазначити, що тривалість періоду холодової ішемії, за результатами цього дослідження, не впливала на ризик втрати трансплантата. Зв'язок ВФТ із гіршою виживаністю НТ був сильнішим у разі трансплантації від маргінальних донорів [11].

ГМП є однією з найбільш перспективних технологій для збереження нирки від померлого донора, яка дозволяє знизити шкідливий вплив тривалої холодової ішемії [94]. Порівняно з традиційним статичним холодним зберіганням, використання ГМП зменшує ризик розвитку ВФТ та покращує загальні результати трансплантації [94, 95]. Нещодавній метааналіз 22 досліджень, що включав 4007 пацієнтів, продемонстрував, що використання ГМП значно знижує ймовірність розвитку ВФТ як для нирок від DBD донорів, так і від DCD донорів, незалежно від тривалості холодової ішемії [95].

Підтримка стабільної гемодинаміки під час трансплантації, особливо в момент реперфузії трансплантата, є ключовим фактором для запобігання ВФТ. Відомо, що артеріальна гіпотензія негативно впливає на перфузію трансплантата, зумовлюючи ІРП. Продемонстровано, що середній артеріальний тиск (САТ) нижче 110 мм рт. ст. перед трансплантацією удвічі підвищує ризик ВФТ (OR 2,2; 95% ДІ 1,1 – 4,33) [96]. За результатами Вайраї та інших, зниження САТ на кожні 5 мм рт. ст. протягом періопераційного періоду підвищує ризик ВФТ у 1,5 рази [97]. Гіпотензія  $< 55$  mmHg протягом 5–10 хвилин майже удвічі підвищує ризик ВФТ, визначеної як відсутність адекватної редукції креатиніну ( $< 30\%$ ) протягом перших двох днів після трансплантації (OR 2,41; 95% ДІ 1.65–3.53) [98].

Кардіальний індекс, показник, який характеризує ефективність роботи серця відносно площі поверхні тіла людини, є репрезентативними для ниркового кровотоку та може частково інтерпретувати фактичну ниркову перфузію [99]. Продемонстровано, що підвищений кардіальний індекс під час реперфузії трансплантата асоціюється з нижчим ризиком ВФТ. Зокрема, значення кардіального індексу на рівні 4,25 л/хв/м<sup>2</sup> або вище під час реперфузії трансплантата достовірно знижує ризик ВФТ (OR 0,42; 95% ДІ 0,19 – 0,94) [99].

Неадекватний волемічний статус також є важливим фактором ризику ВФТ. Центральний венозний тиск (ЦВТ) менше 8 mmHg [100] та вище 11,7 mmHg [101] підвищує ймовірність розвитку ВФТ. Оптимальний ЦВТ у межах 8–12 mmHg сприяє зниженню ризику гіпоперфузії та забезпечує трансплантату адекватний кровотік [101]. Крім того, об'єм гідратації та тип розчинів має бути адаптований до індивідуальних характеристик пацієнта;

недостатня гідратація ( $< 50$  мл/кг) достовірно підвищує ризик ВФТ (OR 3,71; 95% ДІ 1,68; 8,61 [102]. Щодо вибору типу розчинів, то кристалоїди, зокрема розчин Рінгера чи плазмаліт, продемонстрували статистично значуще зниження ризику ВФТ порівняно з фізіологічним розчином [103, 104].

Методика анестезії під час трансплантації нирки впливає на гемодинамічну стабільність, перфузію трансплантата і, як наслідок, ризик розвитку ВФТ [102]. Загальна анестезія є найбільш поширеним підходом, де застосування інгаляційних анестетиків (ізофлуран, севофлуран) може зменшувати ІРП [105, 106]. Проте гіпотензія, викликана анестетиками, підвищує ризик ВФТ і вимагає ретельного контролю [107]. Комбіновані методики (загальна + регіонарна анестезія) були вивчені, але їх вплив на ризик ВФТ остаточно не встановлено. Деякі дослідження свідчать, що комбіновані спинально-епідуральні методи можуть бути успішно використані для трансплантації нирки та донорської нефректомії [108]. Інші дослідники визначають підвищений ризик ВФТ за застосування комбінованих методик (загальна + регіонарна анестезія) через більш виражену гемодинамічну нестабільність (OR 3,81; 95% ДІ 1,71; 9,19). Використання вазоактивних засобів, таких як фенілефрин або добутамін, може допомогти підтримувати адекватний артеріальний тиск, але вимагає обережного застосування через вплив на нирковий кровотік [107]. Продемонстровано, що застосування фенілефрину асоціювалось з вдвічі вищим ризиком ВФТ (OR 2,2; 95% ДІ 1.04–4.82) [96].

Слід зазначити, що окрім анестетиків та вазопресорів, періопераційне застосування інших нефротоксичних засобів, таких як імуносупресанти, антибіотики та анальгетики, може значно вплинути на ризик розвитку ВФТ. Зокрема, базиліксимаб асоціюється з підвищенням ризиком ВФТ (OR 3,34; 95% ДІ 1,14–10,48) через індуковану нефротоксичність та вивільнення цитокінів [102]. Інгібітори кальциневрину, такі як циклоспорин та такролімус, можуть також сприяти розвитку ВФТ завдяки своїм нефротоксичним властивостям [109]. Аміноглікозиди та ванкоміцин, особливо в комбінації з піперациліном-тазобактамом, можуть значно підвищити ризик розвитку нефропатії, що, в свою чергу, збільшує ймовірність виникнення ВФТ [109, 110]. Навпаки, періопераційне застосування дексметомідину знижує частоту розвитку ВФТ у разі трансплантації нирки від DCD донора (OR 0,41; 95% ДІ, 0,17–0,98) [111].

Таким чином, ретельне збалансування потенційних ризиків та переваг перитрансплантаційних втручань, є важливою складовою мінімізації ризику ВФТ.

Висновки. Наведений перелік неімуніопосередкованих детермінант ВФТ, складність патофізіологічних механізмів їх формування у донора і реципієнта, а також поєднання їх з періоперацій-

ними факторами, унеможливають формування уніфікованої моделі ВФТ. Очевидно, що така модель повинна вибудовуватись на принципах прецизійності.

Вкрай необхідним є удосконалення ранньої діагностики ВФТ, оскільки це обмежує можливість своєчасного та ефективного втручання. У цьому контексті розробка дефініції ВФТ є нагально важливим кроком.

Попри надзвичайно широкий спектр порушень, які є детермінантами неімунноопосередкованої ВФТ переважна більшість з них можуть бути модифікованими, що відкриває перспективи для суттєвого покращення трансплантаційної практики.

Таким чином, встановлення терапевтичних мішеней донора та адекватний вплив на них, модифікація підготовки трансплантата, мінімізація негативних впливів організму реципієнта на трансплантовану нирку, сукупно подовжать термін її ефективного функціонування.

**Конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність конфлікту інтересів. Автори брали участь в супроводі пацієнтів в якості консультантів.

**Джерела фінансування.** Робота виконана в рамках НДР «Визначити імунологічні, запальні та

метаболичні детермінанти тривалості функціонування ниркового трансплантата та запропонувати способи його подовження» (номер держреєстрації 0124U003704).

#### **Інформація про внесок кожного учасника.**

**М. Колесник:** концептуалізація, збір та систематизація даних, коригування тексту та фінальне редагування рукопису;

**Н. Степанова:** концептуалізація, збір та систематизація даних, написання основного тексту, технічне редагування;

**Л. Король:** критичний аналіз наукових публікацій, внесення пропозицій щодо структури статті, рецензування рукопису;

**І. Шіфріс:** критичний аналіз наукових публікацій, внесення пропозицій щодо структури статті, рецензування рукопису;

**Р. Зограб'ян:** критичний аналіз наукових публікацій, внесення пропозицій щодо структури статті, рецензування рукопису;

**О. Вороняк:** критичний аналіз наукових публікацій, внесення пропозицій щодо структури статті, рецензування рукопису.

**Усі автори погодили фінальну версію рукопису.**

#### **Література (References):**

1. Ponticelli C, Reggiani F, Moroni G. Delayed Graft Function in Kidney Transplant: Risk Factors, Consequences and Prevention Strategies. *J Pers Med.* 2022;12(10):1557. doi: 10.3390/jpm12101557.
2. Andrian T, Siriteanu L, Covic AS, Ipate CA, Miron A, Morosanu C, et al. Non-Traditional Non-Immunological Risk Factors for Kidney Allograft Loss-Opinion. *J Clin Med.* 2023;12(6):2364. doi: 10.3390/jcm12062364.
3. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant.* 2011;11(11):2279-96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03754.x.
4. Lasorsa F, Rutigliano M, Milella M, d'Amati A, Crocetto F, Pandolfo SD, et al. Ischemia-Reperfusion Injury in Kidney Transplantation: Mechanisms and Potential Therapeutic Targets. *Int J Mol Sci.*;25(8):4332. doi: 10.3390/ijms25084332.
5. Nieuwenhuijs-Moeke GJ, Pischke SE, Berger SP, Sanders JSF, Pol RA, Struys MMRF, et al. Ischemia and Reperfusion Injury in Kidney Transplantation: Relevant Mechanisms in Injury and Repair. *J Clin Med.* 2020;9(1):253. doi: 10.3390/jcm9010253.
6. Tirtayasa PMW, Situmorang GR, Duarsa GWK, Mahadita GW, Ghinorawa T, Myh E, et al. Risk factors of delayed graft function following living donor kidney transplantation: A meta-analysis. *Transpl Immunol.* 2024;86:102094. doi: 10.1016/j.trim.2024.102094.
7. Kim SG, Hong S, Lee H, Eum SH, Kim YS, Jin K, et al. Impact of delayed graft function on clinical outcomes in highly sensitized patients after deceased-donor kidney transplantation. *Korean J Transplant.* 2021;35(3):149-160. doi: 10.4285/kjt.21.0014.
8. Yarlagadda SG, Coca SG, Garg AX, Doshi M, Poggio E, Marcus RJ, et al. Marked variation in the definition and diagnosis of delayed graft function: a systematic review. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(9):2995-3003. doi: 10.1093/ndt/gfn158.
9. Castro Filho JBS, Pompeo JC, Machado RB, Gonçalves LFS, Bauer AC, Manfro RC. Delayed Graft Function Under the Microscope: Surveillance Biopsies in Kidney Transplantation. *Transpl Int.* 2022;35:10344. doi: 10.3389/ti.2022.10344.
10. Mallon DH, Summers DM, Bradley JA, Pettigrew GJ. Defining delayed graft function after renal transplantation: simplest is best. *Transplantation.* 2013;96(10):885-9. doi: 10.1097/TP.0b013e3182a19348.
11. Ahlmark A, Sallinen V, Eerola V, Lempinen M, Helanterä I. Characteristics of Delayed Graft Function and Long-Term Outcomes After Kidney Transplantation From Brain-Dead Donors: A Single-Center and Multicenter Registry-Based Retrospective Study. *Transpl Int.* 2024;37:12309. doi: 10.3389/ti.2024.12309.
12. Kurian SM, Stewart DE, Toll A, Checchi K, Case J, Marsh CL. Renal Function at Discharge Among Kidney Recipients Experiencing Delayed Graft

- Function and Its Associations With Long-term Outcomes. *Transplant Direct.* 2022;8(12):e1414. doi: 10.1097/TXD.0000000000001414.
13. *Decruyenaere P, Decruyenaere A, Peeters P, Vermassen F.* A Single-Center Comparison of 22 Competing Definitions of Delayed Graft Function After Kidney Transplantation. *Ann Transplant.* 2016;21:152-159. doi: 10.12659/aot.896117.
  14. *Akkina SK, Connaire JJ, Israni AK, Snyder JJ, Matas AJ, Kasiske BL.* Similar outcomes with different rates of delayed graft function may reflect center practice, not center performance. *Am J Transplant.* 2009;9(6):1460-6. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02651.x.
  15. *Ha NTT, Van Manh B, Dung NTT, Kien TQ, Van Duc N, Van DT, et al.* Long Hemodialysis Duration Predicts Delayed Graft Function in Renal Transplant Recipients From Living Donor: A Single-Center Study. *Transplant Proc.* 2021;53(5):1477-1483. doi: 10.1016/j.transproceed.2021.03.034.
  16. *Malyszko J, Lukaszyc E, Glowinska I, Durlik M.* Biomarkers of delayed graft function as a form of acute kidney injury in kidney transplantation. *Sci Rep.* 2015;5:11684. doi: 10.1038/srep11684.
  17. *Seja IA, Santoso B, Rasyid N, Situmorang GR.* Association of Postoperative Urinary Output in the First 24 Hours with Delayed Graft Function After Living and Deceased Donor Kidney Transplant: A Systematic Review. *Nephro-Urology Monthly.* 2022;14(1):e119447. doi: 10.5812/numonthly.119447.
  18. *Barreda Monteoliva P, Redondo-Pachón D, Miñambres García E, Rodrigo Calabria E.* Kidney transplant outcome of expanded criteria donors after circulatory death. *Nefrologia (Engl Ed).* 2021;S0211-6995(21)00104-1. English, Spanish. doi: 10.1016/j.nefro.2021.01.014.
  19. *Kim DW, Tsapepas D, King KL, Husain SA, Corvino FA, Dillon A, et al.* Financial impact of delayed graft function in kidney transplantation. *Clin Transplant.* 2020;34(10):e14022. doi: 10.1111/ctr.14022.
  20. *Helper MS, Pompeo JC, Costa ORS, Vicari AR, Ribeiro AR, Manfro RC.* Long-term effects of delayed graft function duration on function and survival of deceased donor kidney transplants. *J Bras Nefrol.* 2019;41(2):231-241. doi: 10.1590/2175-8239-jbn-2018-0065.
  21. *Lacquaniti A, Caccamo C, Salis P, Chirico V, Buemi A, Cernaro V, et al.* Delayed graft function and chronic allograft nephropathy: diagnostic and prognostic role of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Biomarkers.* 2016;21(4):371-8. doi: 10.3109/1354750X.2016.1141991.
  22. *Gaston RS, Fieberg A, Hunsicker L, Kasiske BL, Leduc R, Cosio FG, et al.* Late graft failure after kidney transplantation as the consequence of late versus early events. *Am J Transplant.* 2018;18(5):1158-1167. doi: 10.1111/ajt.14590.
  23. *Li MT, Ramakrishnan A, Yu M, Daniel E, Sandra V, Sanichar N, et al.* Effects of Delayed Graft Function on Transplant Outcomes: A Meta-analysis. *Transplant Direct.* 2023;9(2):e1433. doi: 10.1097/TXD.0000000000001433.
  24. *Zhao H, Alam A, Soo AP, George AJT, Ma D.* Ischemia-Reperfusion Injury Reduces Long Term Renal Graft Survival: Mechanism and Beyond. *EBioMedicine.* 2018;28:31-42. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.01.025.
  25. *Granger DN, Kvietys PR.* Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol.* 2015;6:524-551. doi: 10.1016/j.redox.2015.08.020.
  26. *Rashid H, Jali A, Akhter MS, Abdi SAH.* Molecular Mechanisms of Oxidative Stress in Acute Kidney Injury: Targeting the Loci by Resveratrol. *Int J Mol Sci.* 2023;25(1):3. doi: 10.3390/ijms25010003.
  27. *Cardinal H, Dieudé M, Hébert MJ.* Endothelial Dysfunction in Kidney Transplantation. *Front Immunol.* 2018;9:1130. doi: 10.3389/fimmu.2018.01130.
  28. *Strandberg G, Öberg CM, Blom AM, Slivca O, Berglund D, Segelmark M, et al.* Prompt Thrombo-Inflammatory Response to Ischemia-Reperfusion Injury and Kidney Transplant Outcomes. *Kidney Int Rep.* 2023;8(12):2592-2602. doi: 10.1016/j.ekir.2023.09.025.
  29. *Kellum JA, Romagnani P, Ashuntantang G, Ronco C, Zarbock A, Anders HJ.* Acute kidney injury. *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7(1):52. doi: 10.1038/s41572-021-00284-z.
  30. *Park S, Kang E, Park S, Kim YC, Han SS, Ha J, et al.* Metabolic Acidosis and Long-Term Clinical Outcomes in Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(6):1886-1897. doi: 10.1681/ASN.2016070793.
  31. *Schulte K, Püchel J, Schüssel K, Borzikowsky C, Kunzendorf U, Feldkamp T.* Effect of Sodium Bicarbonate in Kidney Transplant Recipients With Chronic Metabolic Acidosis. *Transplant Direct.* 2019;5(7):e464. doi: 10.1097/TXD.0000000000000910.
  32. *Mohebbi N, Ritter A, Wiegand A, Graf N, Dahdal S, Sidler D, et al.* Sodium bicarbonate for kidney transplant recipients with metabolic acidosis in Switzerland: a multicentre, randomised, single-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2023;401(10376):557-567. doi: 10.1016/S0140-6736(22)02606-X.
  33. *Dayoub JC, Cortese F, Anžič A, Grum T, de Magalhães JP.* The effects of donor age on organ transplants: A review and implications for aging research. *Exp Gerontol.* 2018;110:230-240. doi: 10.1016/j.exger.2018.06.019.

34. Moreso F, Serón D, Gil-Vernet S, Riera L, Fulladosa X, Ramos R, et al. Donor age and delayed graft function as predictors of renal allograft survival in rejection-free patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14(4):930-5. doi: 10.1093/ndt/14.4.930.
35. Padayachee S, Adam A, Fabian J. The impact of diabetes and hypertension on renal allograft survival-A single center study. *Curr Urol.* 2023;17(4):286-291. doi: 10.1097/CU9.0000000000000068.
36. Helanterä I, Ibrahim HN, Lempinen M, Finne P. Donor Age, Cold Ischemia Time, and Delayed Graft Function. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2020;15(6):813-821. doi: 10.2215/CJN.13711119.
37. Gallinat A, Feldkamp T, Schaffer R, Radünz S, Treckmann JW, Minor T, et al. Single-center experience with kidney transplantation using deceased donors older than 75 years. *Transplantation.* 2011;92(1):76-81. doi: 10.1097/TP.0b013e31821d2687.
38. Nassiri N, Kwan L, Bolagani A, Thomas AG, Sinacore J, Ronin M, Cooper M, Segev DL, Cecka JM, Veale JL. The "oldest and coldest" shipped living donor kidneys transplanted through kidney paired donation. *Am J Transplant.* 2020;20(1):137-144. doi: 10.1111/ajt.15527.
39. Elmer A, Rohrer ML, Benden C, Krugel N, Beyeler F, Immer FF. Organ donation after circulatory death as compared with organ donation after brain death in Switzerland - an observational study. *Swiss Med Wkly.* 2022;152:w30139. doi: 10.4414/sm.w.2022.w30132.
40. Singh RP, Farney AC, Rogers J, Zuckerman J, Reeves-Daniel A, Hartmann E, et al. Kidney transplantation from donation after cardiac death donors: lack of impact of delayed graft function on post-transplant outcomes. *Clin Transplant.* 2011;25(2):255-64. doi: 10.1111/j.1399-0012.2010.01241.x.
41. Argani H. Expanded Criteria Donors. *Exp Clin Transplant.* 2022;20(Suppl 4):13-19. doi: 10.6002/ect.DonorSymp.2022.L13.
42. Zens TJ, Danobeitia JS, Levenson G, Chlebeck PJ, Zitun LJ, Redfield RR, et al. The impact of kidney donor profile index on delayed graft function and transplant outcomes: A single-center analysis. *Clin Transplant.* 2018;32(3):e13190. doi: 10.1111/ctr.13190.
43. Eccher A, Becker JU, Pagni F, Cazzaniga G, Rossi M, Gambaro G, et al. The Puzzle of Preimplantation Kidney Biopsy Decision-Making Process: The Pathologist Perspective. *Life (Basel).* 2024;14(2):254. doi: 10.3390/life14020254.
44. Liapis H, Gaut JP, Klein C, Bagnasco S, Kraus E, Farris AB 3rd, et al. Banff Histopathological Consensus Criteria for Preimplantation Kidney Biopsies. *Am J Transplant.* 2017;17(1):140-150. doi: 10.1111/ajt.13929.
45. Snoeijs MG, Boonstra LA, Buurman WA, Goldschmeding R, van Suylen RJ, van Heurn LW, et al. Histological assessment of pre-transplant kidney biopsies is reproducible and representative. *Histopathology.* 2010;56(2):198-202. doi: 10.1111/j.1365-2559.2009.03469.x.
46. Marletta S, Di Bella C, Catalano G, Mastrosimini MG, Becker J, Ernst A, et al. Pre-Implantation Kidney Biopsies in Extended Criteria Donors: From On Call to Expert Pathologist, from Conventional Microscope to Digital Pathology. *Crit Rev Oncog.* 2023;28(3):7-20. doi: 10.1615/CritRevOncog.2023049007.
47. Zоргdrager M, Krikke C, Hofker SH, Leuvenink HG, Pol RA. Multiple Renal Arteries in Kidney Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Transplant.* 2016;21:469-78. doi: 10.12659/aot.898748.
48. Fitzpatrick J, Chmelo J, Nambiar A, Fuge O, Page T, Sen G, et al. Recipient outcomes in total laparoscopic live donor nephrectomy with multiple renal vessels. *Urol Ann.* 2020 Jul-Sep;12(3):266-270. doi: 10.4103/UA.UA\_96\_19.
49. Kulkarni S, Wei G, Jiang W, Lopez LA, Parikh CR, Hall IE. Outcomes From Right Versus Left Deceased-Donor Kidney Transplants: A US National Cohort Study. *Am J Kidney Dis.* 2020;75(5):725-735. doi: 10.1053/j.ajkd.2019.08.018.
50. Wang L, Zhu L, Xie X, Wang H, Yin H, Fang C, et al. Long-term outcomes of laparoscopic versus open donor nephrectomy for kidney transplantation: a meta-analysis. *Am J Transl Res.* 2020 Oct 15;12(10):5993-6002.
51. Kourounis G, Tingle SJ, Hoather TJ, Thompson ER, Rogers A, Page T, et al. Robotic versus laparoscopic versus open nephrectomy for live kidney donors. *Cochrane Database Syst Rev.* 2024;5(5):CD006124. doi: 10.1002/14651858.CD006124.pub3.
52. Willicombe M, Rizzello A, Goodall D, Papalois V, McLean AG, Taube D. Risk factors and outcomes of delayed graft function in renal transplant recipients receiving a steroid sparing immunosuppression protocol. *World J Transplant.* 2017;7(1):34-42. doi: 10.5500/wjt.v7.i1.34.
53. Joachim E, Gardezi AI, Chan MR, Shin JI, Astor BC, Waheed S. Association of Pre-Transplant Dialysis Modality and Post-Transplant Outcomes: A Meta-Analysis. *Perit Dial Int.* 2017;37(3):259-265. doi: 10.3747/pdi.2016.00011.
54. Doshi MD, Garg N, Reese PP, Parikh CR. Recipient risk factors associated with delayed graft function: a paired kidney analysis. *Transplantation.* 2011;91(6):666-71. doi: 10.1097/TP.0b013e318209f22b.
55. Levine M, Thomasson A, Aufhauser D, Redfield R, Abt P, Reese P. Gender Differences in Kidney Transplant Delayed Graft Function Are

- Independent of Donor-Recipient Size Mismatch [abstract]. *Am J Transplant.* 2015;15 (suppl 3). Available at: <https://atcmeeetingabstracts.com/abstract/gender-differences-in-kidney-transplant-delayed-graft-function-are-independent-of-donor-recipient-size-mismatch/>.
56. *Aufhauser DD Jr, Wang Z, Murken DR, Bhatti TR, Wang Y, Ge G, Redfield RR 3rd, et al.* Improved renal ischemia tolerance in females influences kidney transplantation outcomes. *J Clin Invest.* 2016;126(5):1968-77. doi: 10.1172/JCI184712.
  57. *Williams A, Richardson C, McCready J, Anderson B, Khalil K, Tahir S, et al.* Black Ethnicity is Not a Risk Factor for Mortality or Graft Loss After Kidney Transplant in the United Kingdom. *Exp Clin Transplant.* 2018;16(6):682-689. doi: 10.6002/ect.2018.0241.
  58. *Hakeem AR, Asthana S, Johnson R, Brown C, Ahmad N.* Impact of Asian and Black Donor and Recipient Ethnicity on the Outcomes After Deceased Donor Kidney Transplantation in the United Kingdom. *Transpl Int.* 2024;37:12605. doi: 10.3389/ti.2024.12605.
  59. *Chmielnicka K, Heleniak Z, Dębska-Ślizień A.* Dyslipidemia in Renal Transplant Recipients. *Transplantology.* 2022;3(2):188-199. doi: 10.3390/transplantology3020020.
  60. *Zhang Y, Yang J, Ye J, Guo Q, Wang W, Sun Y, et al.* Separate and combined associations of physical activity and obesity with lipid-related indices in non-diabetic and diabetic patients. *Lipids Health Dis.* 2019;18(1):49. doi: 10.1186/s12944-019-0987-6.
  61. *Tavori H, Rashid S, Fazio S.* On the function and homeostasis of PCSK9: reciprocal interaction with LDLR and additional lipid effects. *Atherosclerosis.* 2015;238(2):264-70. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.12.017.
  62. *Tory R, Sachs-Barrable K, Goshko CB, Hill JS, Wasan KM.* Tacrolimus-induced elevation in plasma triglyceride concentrations after administration to renal transplant patients is partially due to a decrease in lipoprotein lipase activity and plasma concentrations. *Transplantation.* 2009;88(1):62-8. doi: 10.1097/TP.0b013e3181aa7d04.
  63. *Ponticelli C, Citterio F.* Non-Immunologic Causes of Late Death-Censored Kidney Graft Failure: A Personalized Approach. *J Pers Med.* 2022;12(8):1271. doi: 10.3390/jpm12081271.
  64. *Jarrar F, Tennankore KK, Vinson AJ.* Combined Donor-Recipient Obesity and the Risk of Graft Loss After Kidney Transplantation. *Transpl Int.* 2022;35:10656. doi: 10.3389/ti.2022.10656.
  65. *Shi B, Ying T, Xu J, Wyburn K, Laurence J, Chadban SJ.* Obesity is Associated With Delayed Graft Function in Kidney Transplant Recipients: A Paired Kidney Analysis. *Transpl Int.* 2023;36:11107. doi: 10.3389/ti.2023.11107.
  66. *Molnar MZ, Kovesdy CP, Mucsi I, Bunnapradist S, Streja E, Krishnan M, Kalantar-Zadeh K.* Higher recipient body mass index is associated with post-transplant delayed kidney graft function. *Kidney Int.* 2011;80(2):218-24. doi: 10.1038/ki.2011.114.
  67. *Parekh J, Bostrom A, Feng S.* Diabetes mellitus: a risk factor for delayed graft function after deceased donor kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2010;10(2):298-303. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02936.x.
  68. *Alexandrou ME, Ferro CJ, Boletis I, Papagianni A, Sarafidis P.* Hypertension in kidney transplant recipients. *World J Transplant.* 2022;12(8):211-222. doi: 10.5500/wjt.v12.i8.211.
  69. *Yamani F, Cianfarini C, Batlle D.* Delayed Graft Function and the Renin-angiotensin System. *Transplantation.* 2024;108(6):1308-1318. doi: 10.1097/TP.0000000000004934.
  70. *Christianson A, Kaul H, Parsikia A, Chandolias N, Khanmoradi K, Zaki R.* Delayed Graft Function in Kidney Retransplantation: United Network for Organ Sharing Data With Linked Primary and Retransplant. *J Surg Res.* 2023;292:289-296. doi: 10.1016/j.jss.2023.07.033.
  71. *Lee H, Park Y, Ban TH, Song SH, Song SH, Yang J, et al;* Korean Organ Transplantation Registry Study Group. Synergistic impact of pre-sensitization and delayed graft function on allograft rejection in deceased donor kidney transplantation. *Sci Rep.* 2021;11(1):16095. doi: 10.1038/s41598-021-95327-6.
  72. *Post Hospers G, Visser WJ, Verhoeven JGHP, Laging M, Baart SJ, Mertens Zur Borg IRAM, et al.* Delayed Graft Function After Kidney Transplantation: The Role of Residual Diuresis and Waste Products, as Oxalic Acid and Its Precursors. *Transpl Int.* 2024;37:13218. doi: 10.3389/ti.2024.13218.
  73. *Jahn L, Rüster C, Schlosser M, Winkler Y, Foller S, Grimm MO, et al.* Rate, Factors, and Outcome of Delayed Graft Function After Kidney Transplantation of Deceased Donors. *Transplant Proc.* 2021;53(5):1454-1461. doi: 10.1016/j.transproceed.2021.01.006.
  74. *Ye BM, Hyeon JM, Kim SJ, Kim MJ, Kim SR, Kim IY, et al.* Analysis of Risk Factors for Delayed Graft Function After Kidney Transplantation. *Transplant Proc.* 2022;54(8):2154-2158. doi: 10.1016/j.transproceed.2022.07.014.
  75. *Molnar MZ, Kovesdy CP, Rosivall L, Bunnapradist S, Hoshino J, Streja E, et al.* Associations of pre-transplant anemia management with post-transplant delayed graft function in kidney transplant recipients. *Clin Transplant.* 2012;26(5):782-91. doi: 10.1111/j.1399-0012.2012.01598.x.
  76. *Garonzik-Wang JM, Govindan P, Grinnan JW, Liu M, Ali HM, Chakraborty A, et al.* Frailty and

- delayed graft function in kidney transplant recipients. *Arch Surg.* 2012;147(2):190-3. doi: 10.1001/archsurg.2011.1229.
77. *Huart J, Krzesinski JM, Jouret F.* Genetic susceptibility to delayed graft function following kidney transplantation: a systematic review of the literature. *Clin Kidney J.* 2018;11(4):586-596. doi: 10.1093/ckj/sfy020.
  78. *Stepanova N.* Oxalate Homeostasis in Non-Stone-Forming Chronic Kidney Disease: A Review of Key Findings and Perspectives. *Biomedicines.* 2023;11(6):1654. doi: 10.3390/biomedicines11061654.
  79. *Moura AF, Moura-Neto JA, Requião-Moura LR, Pacheco-Silva Á.* Preemptive kidney transplantation: why, when, and how? *J Bras Nefrol.* 2023;45(3):357-364. doi: 10.1590/2175-8239-JBN-2022-0085en.
  80. *Hod T, Isakov O, Patibandla BK, Christopher KB, Hershkoviz R, Schwartz IF, et al.* Posttransplantation Hypomagnesemia as a Predictor of Better Graft Function after Transplantation. *Kidney Blood Press Res.* 2020;45(6):982-995. doi: 10.1159/000510797.
  81. *Odler B, Deak AT, Pregartner G, Riedl R, Bozic J, Trummer C, et al.* Hypomagnesemia Is a Risk Factor for Infections after Kidney Transplantation: A Retrospective Cohort Analysis. *Nutrients.* 2021;13(4):1296. doi: 10.3390/nu13041296.
  82. *Cheungpasitporn W, Thongprayoon C, Harindhanavudhi T, Edmonds PJ, Erickson SB.* Hypomagnesemia linked to new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Endocr Res.* 2016;41(2):142-7. doi: 10.3109/07435800.2015.1094088.
  83. *Panthofer AM, Lyu B, Astor BC, Singh T, Aziz F, Mandelbrot D, Parajuli S, Mohamed M, Djamali A, Garg N.* Post-kidney transplant serum magnesium exhibits a U-shaped association with subsequent mortality: an observational cohort study. *Transpl Int.* 2021 Oct;34(10):1853-1861. doi: 10.1111/tri.13932.
  84. *Haririan A, Nogueira JM, Zandi-Nejad K, Aiyer R, Hurley H, Cooper M, et al.* The independent association between serum uric acid and graft outcomes after kidney transplantation. *Transplantation.* 2010;89(5):573-9. doi: 10.1097/TP.0b013e3181c73c18.
  85. *Imasuen UJ, Swanson KJ, Parajuli S.* Serum uric acid levels in kidney transplant recipients: A cause for concern? A review of recent literature. *Transplantation Reviews (Orlando, Fla.).* 2023;37(3):100775. doi: 10.1016/j.trre.2023.100775.
  86. *Isaka Y, Takabatake Y, Takahashi A, Saitoh T, Yoshimori T.* Hyperuricemia-induced inflammatory and kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(6):890-6. doi: 10.1093/ndt/gfv024.
  87. *Barba J, Zudaire JJ, Robles JE, Tienza A, Rosell D, Berián JM, et al.* ¿Existe un intervalo de tiempo de isquemia fría seguro para el injerto renal? [Is there a safe cold ischemia time interval for the renal graft?]. *Actas Urol Esp.* 2011;35(8):475-80. Spanish. doi: 10.1016/j.acuro.2011.03.005.
  88. *Nieto-Ríos JF, Ochoa-García CL, Serna-Campuzano A, Benavides-Hermosa B, Calderón-Puentes LL, Aristizabal-Alzate A, et al.* Time of Cold Ischemia and Delayed Graft Function in a Cohort of Renal Transplant Patients in a Reference Center. *Indian J Nephrol.* 2019;29(1):8-14. doi: 10.4103/ijn.IJN\_162\_18.
  89. *Husain SA, Khanna S, Yu M, Adler JT, Cron DC, King KL, et al.* Cold Ischemia Time and Delayed Graft Function in Kidney Transplantation: A Paired Kidney Analysis. *Transplantation.* 2024;108(9):e245-e253. doi: 10.1097/TP.0000000000005006.
  90. *Peters-Sengers H, Houtzager JHE, Idu MM, Heemskerk MBA, van Heurn ELW, Homan van der Heide JJ, et al.* Impact of Cold Ischemia Time on Outcomes of Deceased Donor Kidney Transplantation: An Analysis of a National Registry. *Transplant Direct.* 2019;5(5):e448. doi: 10.1097/TXD.0000000000000888.
  91. *Luo Y, Dong Z, Hu X, Tang Z, Zhang J, Deng W, et al.* Donor Death Category Is an Effect Modifier Between Cold Ischemia Time and Post-transplant Graft Function in Deceased-Donor Kidney Transplant Recipients. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:743085. doi: 10.3389/fmed.2021.743085.
  92. *Lum EL, Homkrais P, Abdalla B, Danovitch GM, Bunnapradist S.* Cold Ischemia Time, Kidney Donor Profile Index, and Kidney Transplant Outcomes: A Cohort Study. *Kidney Med.* 2022;5(1):100570. doi: 10.1016/j.xkme.2022.100570.
  93. *Sweet AL, Connelly CR, Dewey EN, Scott DL.* The Effect of Perfusate Temperature on Delayed Graft Function in Deceased Donor Renal Transplantation. *Prog Transplant.* 2023;33(4):341-347. doi: 10.1177/15269248231212920.
  94. *Axelsson M, Lindnér P, Pehrsson NG, Baid-Agrawal S.* Long and Short-Term Effects of Hypothermic Machine Perfusion vs. Cold Storage on Transplanted Kidneys from Expanded Criteria Donors-A Matched Comparison Study. *J Clin Med.* 2023;12(17):5531. doi: 10.3390/jcm12175531.
  95. *Tingle SJ, Thompson ER, Figueiredo RS, Moir JA, Goodfellow M, Talbot D, et al.* Normothermic and hypothermic machine perfusion preservation versus static cold storage for deceased donor kidney transplantation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2024;7(7):CD011671. doi: 10.1002/14651858.CD011671.pub3.
  96. *Mendez NV, Raveh Y, Livingstone JJ, Ciancio G, Guerra G, Burke Iii GW, et al.* Perioperative risk fac-

- tors associated with delayed graft function following deceased donor kidney transplantation: A retrospective, single center study. *World J Transplant.* 2021;11(4):114-128. doi: 10.5500/wjt.v11.i4.114.
97. *Bajpai D, Muthukumar T.* Post-Transplant Hypotension in Kidney Recipients-Vasopressin to the Rescue? *Kidney Int Rep.* 2022;7(6):1161-1164. doi: 10.1016/j.ekir.2022.05.001.
98. *Sicova M, McGinn R, Emerson S, Perez P, Gonzalez R, Li Y, et al.* Association of Intraoperative Hypotension With Delayed Graft Function Following Kidney Transplant: A Single Centre Retrospective Cohort Study. *Clin Transplant.* 2024;38(10):e70000. doi: 10.1111/ctr.70000.
99. *Lin PT, Lin KJ, Pan PY, Chu SH, Chiang YJ, Lin CT, et al.* Intraoperative Hemodynamic Parameters Associated With Delayed Graft Function in Kidney Transplant Patients. *Transplant Proc.* 2023;55(4):727-732. doi: 10.1016/j.transproceed.2023.03.050.
100. *Campos L, Parada B, Furriel F, Castelo D, Moreira P, Mota A.* Do intraoperative hemodynamic factors of the recipient influence renal graft function? *Transplant Proc.* 2012;44(6):1800-3. doi: 10.1016/j.transproceed.2012.05.042.
101. *Ahn H, Bang JB.* Intraoperative central venous pressures related to early graft function in deceased donor kidney transplant recipients with low immunological risks. *Sci Rep.* 2024;14(1):24505. doi: 10.1038/s41598-024-75474-2.
102. *Freitas MHB, Lima LC, Couceiro TCM, Silva WBD, Andrade JM, Freitas MHB.* Perioperative factors associated with delayed graft function in renal transplant patients. *J Bras Nefrol.* 2018;40(4):360-365. doi: 10.1590/2175-8239-JBN-2018-0020.
103. *Chang T, Shih MC, Wu YL, Wu TT, Yang JT, Wu CY.* Comparative efficacy of balanced crystalloids versus 0.9% saline on delayed graft function and perioperative outcomes in kidney transplantation: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Anaesth.* 2024;133(6):1173-1182. doi: 10.1016/j.bja.2024.08.008.
104. *Collins MG, Fahim MA, Pascoe EM, Hawley CM, Johnson DW, Varghese J, et al;* BEST-Fluids Investigators; Australasian Kidney Trials Network. Balanced crystalloid solution versus saline in deceased donor kidney transplantation (BEST-Fluids): a pragmatic, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet.* 2023;402(10396):105-117. doi: 10.1016/S0140-6736(23)00642-6.
105. *Calixto-Flores A, Moreno-Arias JA.* Effect of Intravenous Total Anesthesia on Hemodynamic Changes in Renal Transplant. *Transplant Proc.* 2020;52(4):1106-1109. doi: 10.1016/j.transproceed.2020.02.012.
106. *Aditianingsih D, Sukmono B, Agung TA, Kartolo WY, Adiwongso ES, Mochtar CA.* Comparison of the Effects of Target-Controlled Infusion of Propofol and Sevoflurane as Maintenance of Anesthesia on Hemodynamic Profile in Kidney Transplantation. *Anesthesiol Res Pract.* 2019;2019:5629371. doi: 10.1155/2019/5629371.
107. *Kim H, Jung H.* Considerations regarding anesthesia for renal transplantation. *Anesth Pain Med (Seoul).* 2024;19(1):5-11. doi: 10.17085/apm.23153.
108. *Ander M, Mugve N, Crouch C, Kassel C, Fukazawa K, Izaak R, et al.* Regional anesthesia for transplantation surgery - A white paper part 1: Thoracic transplantation surgery. *Clin Transplant.* 2023;37(8):e15043. doi: 10.1111/ctr.15043.
109. *Brauer RB, Marx T, Ulm K, Stangl MJ.* Effect of perioperative administration of a drug regimen on the primary function of human renal allografts. *Transplant Proc.* 2010;42(5):1523-5. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.01.057.
110. *Bamgbola O.* Review of vancomycin-induced renal toxicity: an update. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2016;7(3):136-47. doi: 10.1177/2042018816638223.
111. *Shan XS, Hu LK, Wang Y, Liu HY, Chen J, Meng XW, et al.* Effect of Perioperative Dexmedetomidine on Delayed Graft Function Following a Donation-After-Cardiac-Death Kidney Transplant: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw Open.* 2022;5(6):e2215217. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.15217.

## ВИМОГИ ДО РОБІТ, ЩО ПОДАЮТЬСЯ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В “УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ НЕФРОЛОГІЇ ТА ДІАЛІЗУ”

У зв'язку з індексуванням журналу міжнародними пошуковими системами та підвищенням вимог до оформлення наукового матеріалу, редколегія формалізує вимоги до видання для ефективного розповсюдження матеріалів у світовій мережі Інтернет та приєднання до міжнародних наукових баз даних.

Правила для авторів складені відповідно до «Єдиних вимог до рукописів, що подаються у біомедичні журнали» (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals), які сформульовані Міжнародним комітетом редакторів медичних журналів (International Committee of Medical Journal Editors) та містяться на ресурсі ICMJE.org.

### ЖУРНАЛ СТРУКТУРОВАНО ЗА 5 ОСНОВНИМИ РОЗДІЛАМИ:

1. Точка зору
2. Проблеми організації та економіки нефрологічної допомоги
3. Оригінальні наукові роботи
4. Школа нефролога
5. Редакційна інформація, інформація про наукові форуми, коментарі, рецензії, знаменні дати.

Перший розділ. В цьому розділі друкуються статті, які відображають точку зору на конкретну проблему автора чи авторів.

Другий розділ висвітлює можливі шляхи покращення організаційної складової діяльності нефрологічної служби в Україні на всіх етапах надання спеціалізованої медичної допомоги та її економічний аналіз.

У третьому розділі розміщуються статті, які знайомлять з результатами оригінальних досліджень.

Розділ “Школа нефролога” друкує роботи, метою яких є підвищення нефрологічної грамотності читачів.

Останній розділ інформує про основні науково-практичні події, публікує рецензії, редакційну інформацію і т.п.

**Рукопис разом з дозволом на його використання направляється до редакції тільки в електронному варіанті через он-лайн систему, яка міститься на сайті журналу. У редакції здійснюється двостороннє сліпе (анонімність рецензента та автора) наукове рецензування і літературне редагування статей.**

**Дозвіл на використання рукопису можна завантажити за посиланням**

Статті, оформлені без додержання правил не приймаються, авторам не повертаються.

У разі негативної наукової рецензії, статті не публікуються, авторам ел. поштою надсилається відгук з можливістю доопрацювання статті чи заміни її іншим матеріалом.

До публікації приймаються оригінальні роботи, огляди літератури, лекції, короткі повідомлення, рекомендації практичним лікарям, опис випадків з практики, інформація про наукові форуми.

Редакція не приймає раніше опубліковані роботи або статті, прийняті до друку в інших виданнях.

Статті публікуються українською, російською та англійською мовами. Файл зі статтею представляти у форматі Microsoft Word (розширення \*.doc, \*.docx, \*.rtf).

### ПОСЛІДОВНІСТЬ РОЗМІЩЕННЯ МАТЕРІАЛУ НАСТУПНА:

1. Ініціали та прізвища авторів англійською мовою;
2. Назва статті англійською мовою;
3. Назва установи та організації, в якій працюють автори англійською мовою;
4. Резюме статті англійською мовою;
5. Ключові слова (8-10 слів чи словосполучень, що розкривають зміст статті) англійською мовою;
6. УДК;
7. Ініціали та прізвища авторів мовою, якою написана стаття;
8. Назва статті (мовою оригіналу);
9. Назва установи та організації, в якій працюють автори, місто (мовою статті);
10. Ключові слова (8-10 слів чи словосполучень, що розкривають зміст статті) мовою статті;
11. Резюме мовою статті;
12. Текст статті;
13. Розкриття потенційних конфліктів інтересів;
14. Інформація про внесок кожного учасника;
15. Список використаних джерел під назвою «Література (References)», оформлений відповідно до стандарту Vancouver style;
16. Відомості про відповідального автора: ПІБ, наукове звання, посада та місце роботи; e-mail (обов'язково) та робочий телефон.

**Формат тексту рукопису.** Текст статті друкується шрифтом Times New Roman, розмір 14 pt, з полуторним міжрядковим інтервалом. Відступи з кожного боку сторінки 2 см. На всі ілюстрації, графіки і таблиці мають бути посилання в тексті.

Виділення в тексті можна робити курсивом або напівжирним шрифтом, НЕ підкресленням. З тексту слід видалити всі перенесення, повторювані пропуски, зайві розриви рядків (в автоматичному режимі через сервіс Microsoft Word “знайти і замінити”).

Файл з текстом статті містить всю інформацію для публікації, у тому числі рисунки і таблиці після їх першого згадування.

**Структура рукопису** має відповідати наведеному шаблону (залежно від типу роботи).

УДК розміщується у верхньому лівому куті.

**Автори.** Прізвище авторів вказувати після ініціалів (**О. С. Іванов, С. І. Петров**), жирним шрифтом, мовою оригіналу та англійською мовою, вирівнювання за центром. ПІБ авторів англійською необхідно вказувати відповідно з закордонним паспортом, або як в раніше опублікованих зарубіжних журнальних статтях. Автори, які публікуються вперше і не мають закордонного паспорта, мають скористатися стандартом транслітерації КМУ—2010.

Бажано додати посилання на власні офіційні інтернет сторінки автора(ів) (<https://.....>), Scopus ID, Researcher ID або ORCID ID для розміщення гіперпосилання на сайті журналу та pdf-версії статті.

**Назва статті** англійською мовою та мовою оригіналу розміщується за центром після прізвищ авторів жирним шрифтом («**Оцінка резидуальної функції нирок у хворих на ХХН VД СТ. та підходи до її збереження**»). Англійська назва має бути грамотною з точки зору англійської мови та повністю відповідати україно/російськомовній назві за змістом.

**Установа.** Необхідно наводити офіційну повну назву установи (без скорочень). Після назви установи через кому зазначити назву міста та країни. Якщо у дослідженні брали участь автори з різних установ, слід співвіднести назви установ і прізвища авторів за допомогою цифрових індексів у верхньому реєстрі. Під назвою необхідно додати інтернет адресу (<https://.....>) офіційної сторінки установи.

**Реферат** (якщо робота оригінальна) має бути структурованим: мета, матеріали і методи, результати, висновки. Реферат має повністю відповідати змісту роботи, **обсяг тексту не менше 1 800 знаків** (з пропусками). Резюме до публікацій, що подаються в інші розділи журналу (1,2,4,5) оформляється довільно, але з таким самим обсягом.

Англійська версія резюме статті за змістом і структурою (Aim, Methods, Results, Conclusions) повністю відповідає україно/російськомовній.

**Ключові слова.** Необхідно вказати ключові слова — від 3 до 10 для індексування статті в пошукових системах. Ключові слова повністю відповідають українською/російською та англійською мовою. Для вибору ключових слів англійською використовують тезаурус Національної медичної бібліотеки США (Medical Subject Headings — MeSH).

**Текст статті** (українською або російською мовою) структурований за розділами: вступ (актуальність), мета, матеріали і методи, результати, обговорення, висновки.

**Розділ «Обговорення» є обов'язковим та має включати 3000–3500 знаків без пробілів.**

#### **Розкриття потенційних конфліктів інтересів**

Автори повинні розкривати всі відносини або інтереси, які можуть мати прямий або потенційний вплив чи надати упередженість в роботі. Хоча автор, можливо, не відчуває, що існує який-небудь конфлікт, розкриття відносин і інтересів забезпечує більш повний і прозорий процес, що призводить до точної і об'єктивної оцінки роботи.

Усвідомлення реального або передбачуваного конфлікту інтересів — це перспектива, на яку мають право читачі. Це не означає, що фінансові відносини з організацією, яка спонсорувала дослідження або компенсацію, отриману за консультаційну роботу є недоречними.

Приклади потенційних конфліктів інтересів, які прямо або побічно пов'язані з дослідженням, можуть включати, але не обмежуються наступним:

- Наукові гранти від фінансових агентств (прохання надати дані про спонсора дослідження та номер гранту)
- Гонорари за виступи на симпозиумах
- Фінансова підтримка участі в симпозиумах
- Фінансова підтримка освітніх програм
- Зайнятість або консультації
- Підтримка з боку спонсора проекту
- Посада в консультативній раді або раді директорів або в інших відносинах управління
- Кілька філій
- Фінансові відносини, наприклад, пайову участь або інвестиційний інтерес
- Права інтелектуальної власності (наприклад, патенти, авторські права і роялті від таких прав)
- Утримання чоловіка і / або дітей, які можуть мати фінансовий інтерес до роботи

Крім того, слід розкривати інтереси, що виходять за рамки фінансових інтересів і компенсації (нефінансові інтереси), які можуть бути важливі для читачів. Вони можуть включати, але не обмежуються, особисті відносини або конкуруючі інтереси, прямо або побічно пов'язані з цим дослідженням, або професійні інтереси або особисті переконання, які можуть вплинути на ваше дослідження.

Відповідальний автор збирає форми розкриття конфлікту інтересів від усіх авторів. В авторській співпраці, де допускаються формальні угоди про представництво, для відповідного учасника досить підписати форму розкриття від імені всіх авторів.

#### **Приклади розкриття інформації**

Дослідження фінансувалося X (грант № X).

Конфлікт інтересів: автор А отримав дослідні гранти від компанії А. Автор В отримав гонорар доповідача від компанії X і володіє акціями в компанії Y. Автор С є членом комітету Z.

Конфлікт інтересів: автори заявляють, що у них немає конфлікту інтересів.

**Подяка.** Автори можуть висловити подяку особам та організаціям, що сприяли публікації статті, але не її авторами.

Інформація про внесок кожного учасника (і осіб, зазначених у розділі “подяка”).

**Приклад:** О.С. Іванов — концепція та дизайн дослідження, І.П. Петров — аналіз отриманих даних, оформлення тексту роботи.

Автори висловлюють подяку (Прізвище І. Б.) за оформлення ілюстрацій.

**Список літератури.** У бібліографії (пристатейному списку літератури) кожне джерело зазначають з нового рядка під порядковим номером. Вимоги до оформ-

лення літературних джерел за Vancouver style детально представлено на сайті журналу. **Після кожного джерела ОBOB'ЯЗКОВИМ є додавання його інтернет адреси** (<https://ukrjnd.com.ua/index.php/journal/article/view/22>).

Перед відправкою автори мають здійснити **самоперевірку тексту наукової статті** на:

1. **Плагіат.** Україно та російськомовні тексти статті перевіряють на плагіат за допомогою програми eTXT Антиплагиат <https://www.etxt.ru/antiplagiat>, що є необхідною умовою для передачі статті для подальшого рецензування. Рівень індивідуальності дослідження має бути не нижчий 80%.
2. Науковий стиль викладення матеріалу.
3. Тавтологію – повторювання у тексті.
4. Універсальність викладення матеріалу (читабельність). Текст статті має легко та просто сприйматися, не бути переобтяженим аббревіатурами, спеціальною вузькопрофільною термінологією або такою, що не набула міжнародної адаптації. Речення мають бути простими, лаконічними і нести завершений зміст.
5. Кількість посилань на статті та наукові матеріали з ідентифікатором DOI (не менше 80 %).
6. Відповідність вимогам видання.

### **ПОМИЛКИ, ЩО НАЙЧАСТІШЕ ВИНΙΚЮТЬ У ПОДАНИХ РУКОПИСАХ:**

1. Використовують у реченнях «зайві» слова і вирази. Усього зайвого треба уникати. Керуйтеся правилом: «Якщо слово з речення можна викинути і при цьому зміст не втрачено – слово треба викинути». Це саме стосується і більших за обсягом фрагментів тексту.
2. Не вірно вказують одиниці виміру. Системні одиниці виміру системи СІ наводять без крапки (м, г, га, моль), а нестандартизовані одиниці – за скороченнями.

3. Треба розрізняти символи «—», «-» та «-». Перший із них у рукописах не використовують.
4. Більшість редакторських правок обумовлені невірним вживанням слів «в», «у», «і», «та», «з», «із», «зі».
5. У статтях не використовують вирази «на протязі» – заміняємо «протягом», «найбільш потужний» – «найпотужніший», «при» – «у разі» і т. п.
6. Зайве використання слова «було». Треба уникати слова «було»: без нього, зазвичай, зміст речення не зміниться.
7. Скорочення наукових термінів у статті треба звести до мінімуму.
8. Назви таблиць і рисунків (та примітки до них) повинні бути «вичерпними». Читач не повинен додатково перечитувати «Матеріал і методи досліджень» або назву роботи, щоб розібратися у змісті таблиці чи рисунка.
9. Статті найчастіше відхиляються редколегією через відсутність статистичного опрацювання первинних даних (загальні вимоги до фахових публікацій).
10. Не рекомендовано вживати в тексті пасивний залог: «проби відбиралися», замість цього – «проби відбирали»; «дослідження здійснювалися» – «дослідження здійснили».
11. Якщо виникають питання щодо оформлення чи представлення певних даних у статті – можна брати зразок останнього номеру журналу.
12. Відсутня можливість редагування рисунків, таблиць, формул, наведених у роботі. Необхідно надати редакції змогу їх редагувати, тобто не використовувати нестандартні програми.

**Статті, оформлені без додержання правил не приймаються, авторам не повертаються.**

**У разі негативної наукової рецензії, статті не публікуються, авторам ел. поштою надсилається відгук з можливістю доопрацювання статті чи заміни її іншим матеріалом.**

