

Explorations biochimiques en néphrologie

cours de troisième année médecine

,

A . Chinar (Pr en médecine interne)
Algérie ,Université de Batna 2, faculté de médecine, département de médecine
Chu Batna, Service de Néphrologie, Dialyse, Et Transplantation Rénale
a.chinar-univ@batna2.dz
chinarathmane@yahoo.fr
http://staff.univ-batna2.dz/chinar_athmane
Fax: 213 33308317 - Tel 0772121991 - 08/02/2024 à 13h





Ringuette/Le coeur du bouleau blanc

*« La richesse attire les amis,
la pauvreté, elle, les sélectionne. »*

AGENDA

- Introduction
- Intérêt pédagogique
- Rappel anatomique
- Quand demander un bilan biochimique
- Comment interpréter un bilan biochimique
- Conclusion
- références bibliographiques

INTRODUCTION

- L'exploration fonctionnelle rénale repose sur l'interprétation de variables biologiques urinaires et plasmatiques, qui sont des marqueurs indirects de la fonction rénale.
- Sa mise en œuvre doit reposer sur l'identification de signes cliniques, peu spécifiques, ou de facteurs de risques.
- L'analyse d'urine est essentielle en néphrologie clinique, mais elle ne permet pas la quantification de la perte fonctionnelle rénale.
- Les fluctuations physiologiques de la composition urinaire nécessitent de répéter l'analyse d'urine pour confirmer une anomalie

Intérêt pédagogique

- S'avoir demander une exploration rénale
- Connaitre les paramètres à contrôler
- S'avoir interpréter un bilan biochimique
- S'avoir évaluer la fonction rénale

La mission de l'étudiant ?

Débuter par l'examen simple à réaliser, rapide, moins agressif possible, non couteux...

S'avoir tirer la valeur sémiologique , en interprétant chaque résultat

S'avoir attacher l'anomalie biochimique à la clinique partant des données physiologiques....

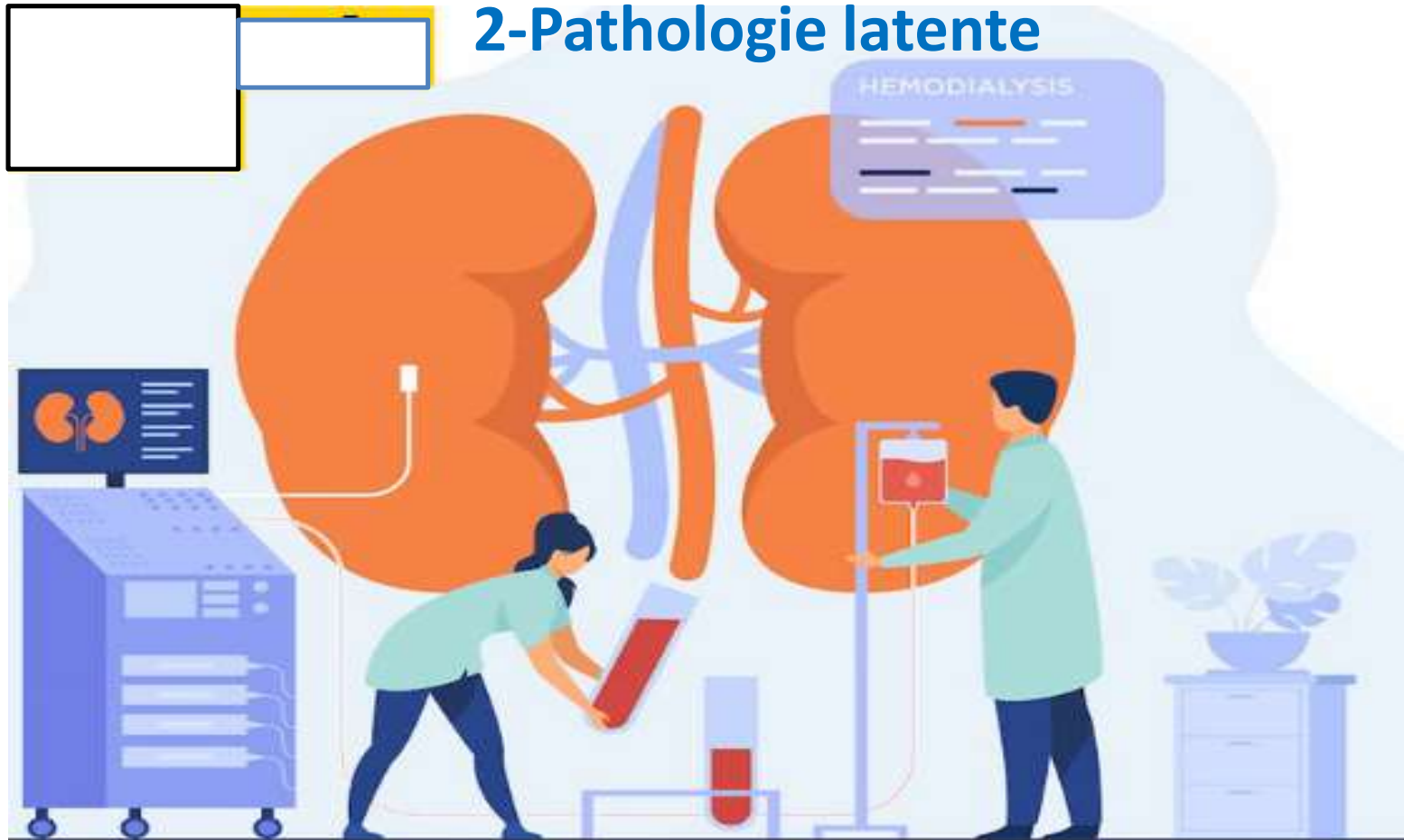
Recours à la répétition en cas de doute

Problématique !

Rein : organe timide

1-Sémiologie pauvre

2-Pathologie latente



La tour de contrôle de notre corps, est le rein



RAPPEL PHYSIOLOGIQUE

Anatomie

Les reins sont des organes en forme d'haricot, situés à l'arrière de l'abdomen au niveau de la région lombaire. Chaque rein adulte mesure en moyenne 12 cm de longueur, 7 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur.

Il est surmonté d'une glande surrénale, totalement indépendante sur le plan fonctionnel.

Le hile rénal est constitué d'une artère et d'une veine rénale. L'unité structurale et fonctionnelle du rein est le néphron.

Chaque néphron comprend : Un glomérule, un tube proximal, une anse de Henlé, un tube distal et un tube collecteur

2 Régule
l'équilibre en eau et en sels minéraux
dans le corps, en filtrant jusqu'à
180 litres d'eau par jour

**1 Épure
le sang**
des déchets produits
par l'organisme, qu'il
élimine dans l'urine

**3 Produit
des protéines**
qui agissent sur la pression
artérielle (rénine) ou
la formation des globules
rouges (EPO)



Reins

Artère
rénale

Veine
rénale

Bassinnet

Néphrons

Urètre

Vers la
vessie



**Insuffisance
chronique**

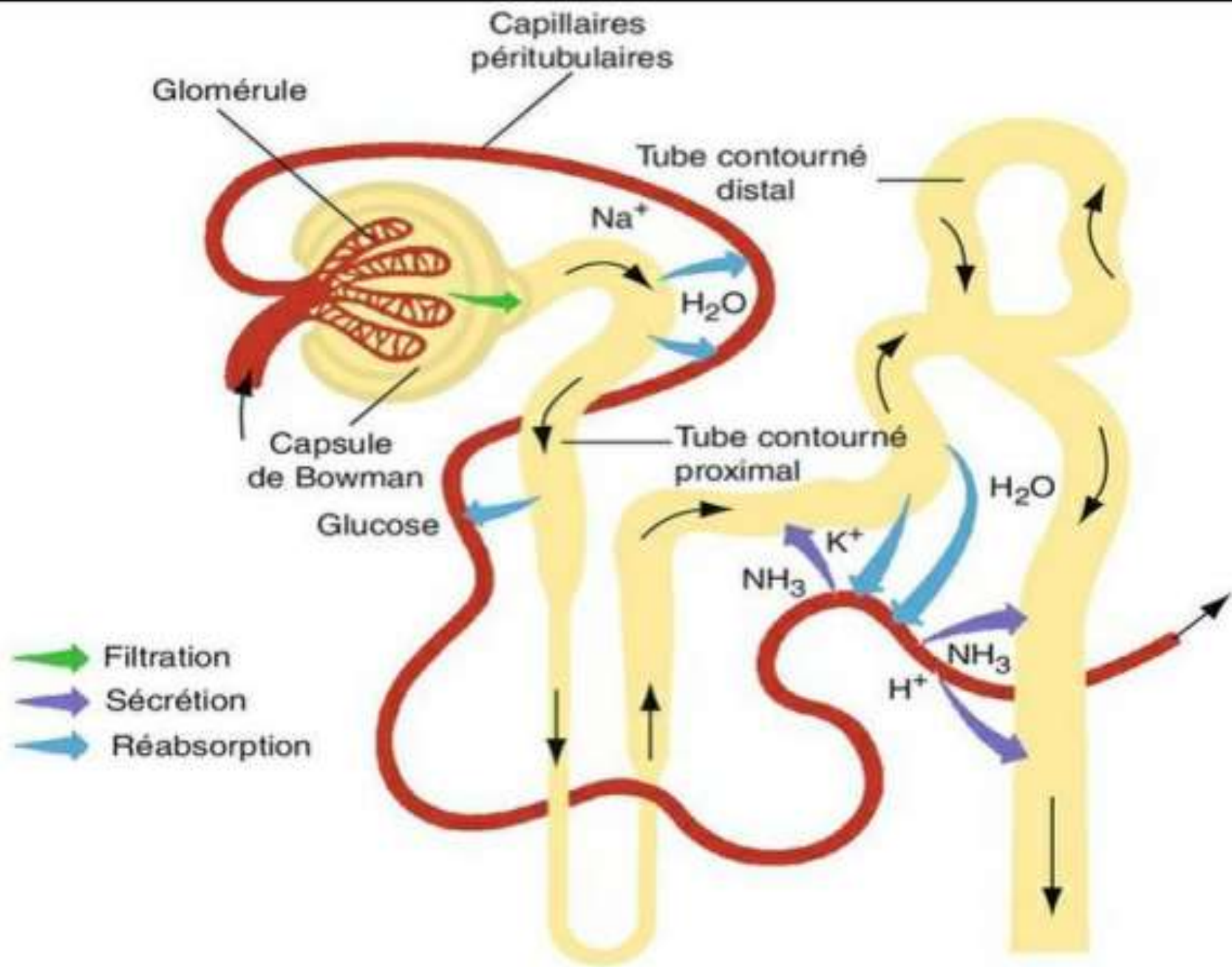
PERTE PROGRESSIVE DE GLOMÉRULES =

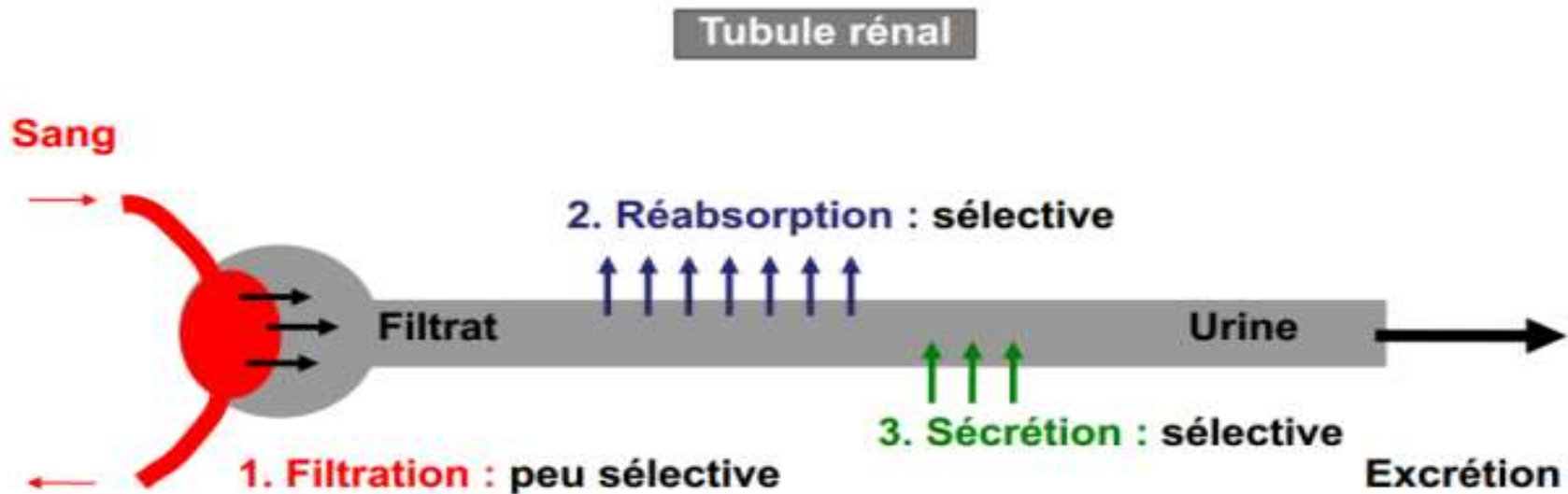
- Élévation du taux sanguin de créatinine et d'urée
- Présence de protéines dans l'urine
- Dysrégulation de la pression artérielle

Les
3 fonctions
des reins

1 million
de glomérules
agissent
comme
des filtres







Quantité excrétée = quantité filtrée – quantité réabsorbée + quantité sécrétée

Physiologie rénale

Le rein contribue au maintien de l'homéostasie de l'organisme, dont les principales fonctions sont :

Le maintien du volume et de la composition ionique des liquides extracellulaires

Le maintien de la pression artérielle grâce au système rénine-angiotensine (SRA)

L'excrétion des déchets métaboliques terminaux (urée, créatinine, acide urique, etc.)

L'élimination de certains médicaments et/ou de leurs métabolites

Le catabolisme des protéines de petits poids moléculaire ($\beta 2$ microglobuline, chaînes légères) et des hormones polypeptidiques.

Il possède en outre des fonctions endocrines majeures, à savoir
Le contrôle endocrine de la masse érythrocytaire grâce à l'érythropoïétine

La synthèse de certains facteurs de croissance

La synthèse du 1,25 dihydroxycholécalférol (forme active de la vitamine D) à partir du 25(OH)D.

Le volume urinaire habituellement, de l'ordre de 1500 ml/24 heures, est le résultat de la : filtration glomérulaire, la réabsorption et l'excrétion tubulaires.

Au total :

Le rein assure des fonctions indispensables à l'équilibre du milieu intérieur :

1- fonction d'excrétion (équilibre de l'eau, électrolytes, acide/base , protéines)

2- fonction endocrine (équilibre de la PA, érythropoeitine, vitD, prostaglandines...)

3- Subit l'action d'autres hormones : PTH, insuline, NAF, ADH...)

4-Stockage de glucose

Quand demander un bilan biochimique rénal ?

- **Devant une sémiologie médicale d'orientation, exemples:**
 - **trouble qualitatif de la miction
 - **anomalie quantitative de la diurèse
 - **trouble macroscopique urinaire
- **Après une anamnèse et examen clinique :
Lombalgie,rénalgie,Œdème ,**

Un œdème matinal de la face est très marquant de la maladie rénale



Il es au niveau des chevilles dans l'après midi

- Les examens complémentaires en néphrologie comporte :

- **Bilan sanguin**
- **Analyse des urines**
- **Imagerie**
- **Biopsie rénale**

Comment et pourquoi faire un bilan biochimique rénal ?

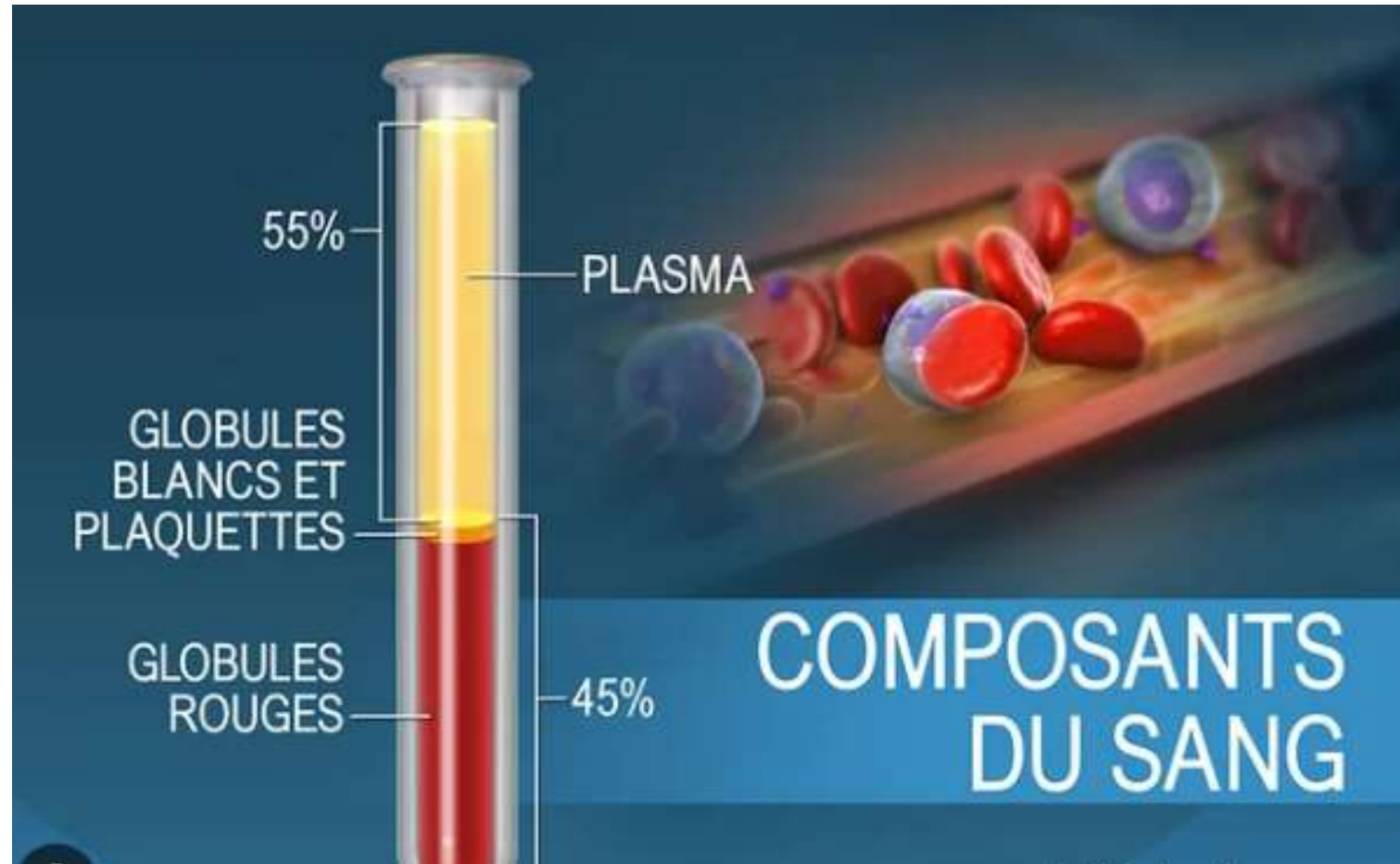
Le bilan rénal biochimique vise les paramètres suivants :

- 1- Dans le sang (bilan sérique)
- 2- Dans les urines (bilan urinaire)

L'ensemble de ces tests a pour but l'estimation des fonctions glomérulaire et tubulaire.

Ayant pour but ultime : Faire avec les autres tests paracliniques non biochimiques une approche diagnostique de la maladie rénale

Au niveau sanguin:



C'est quoi ?

- Urémie
- Créatininémie
- Uricémie
- Natrémie
- Kaliémie
- Chlorémie
- Sédiment urinaire

***** En fin estimation de la fonction rénale (en calculant la clairance à la créatinine sérique),**

Dosage statique de l'urée sérique

Urémie : toxique, très soluble, elle s'élimine à 90 % dans les urines après filtration glomérulaire puis réabsorption partielle

Son dosage constitue donc un précieux élément de l'évaluation du fonctionnement du rein

Prélèvement:

À jeun, sur tube sec ou hépariné

valeurs : 0.45 - 0.55 g/l

Variations pathologiques:

↑ : insuffisance rénale,
Déplétion volémique,
Les états cataboliques (sepsis, corticostéroïdes).

↓ : Les pathologies hépatiques,
** Diminution de la ration protéique alimentaire,
** L'acidose

La créatinine sérique

Créatininémie

*** La créatinine est éliminée dans les urines par filtration glomérulaire, elle n'est ni réabsorbée ni sécrétée!

*** Indépendante de l'état d'hydratation et de l'alimentation, elle constitue le marqueur de choix pour l'évaluation de la fonction rénale

*Valeur physiologique chez un adulte : 6 à 8 mg/l

Variations physiologiques:

** Elle varie avec l'âge, le sexe et l'ethnie

Sexe: $H > F$

Âge: ↑

Masse musculaire: ↑

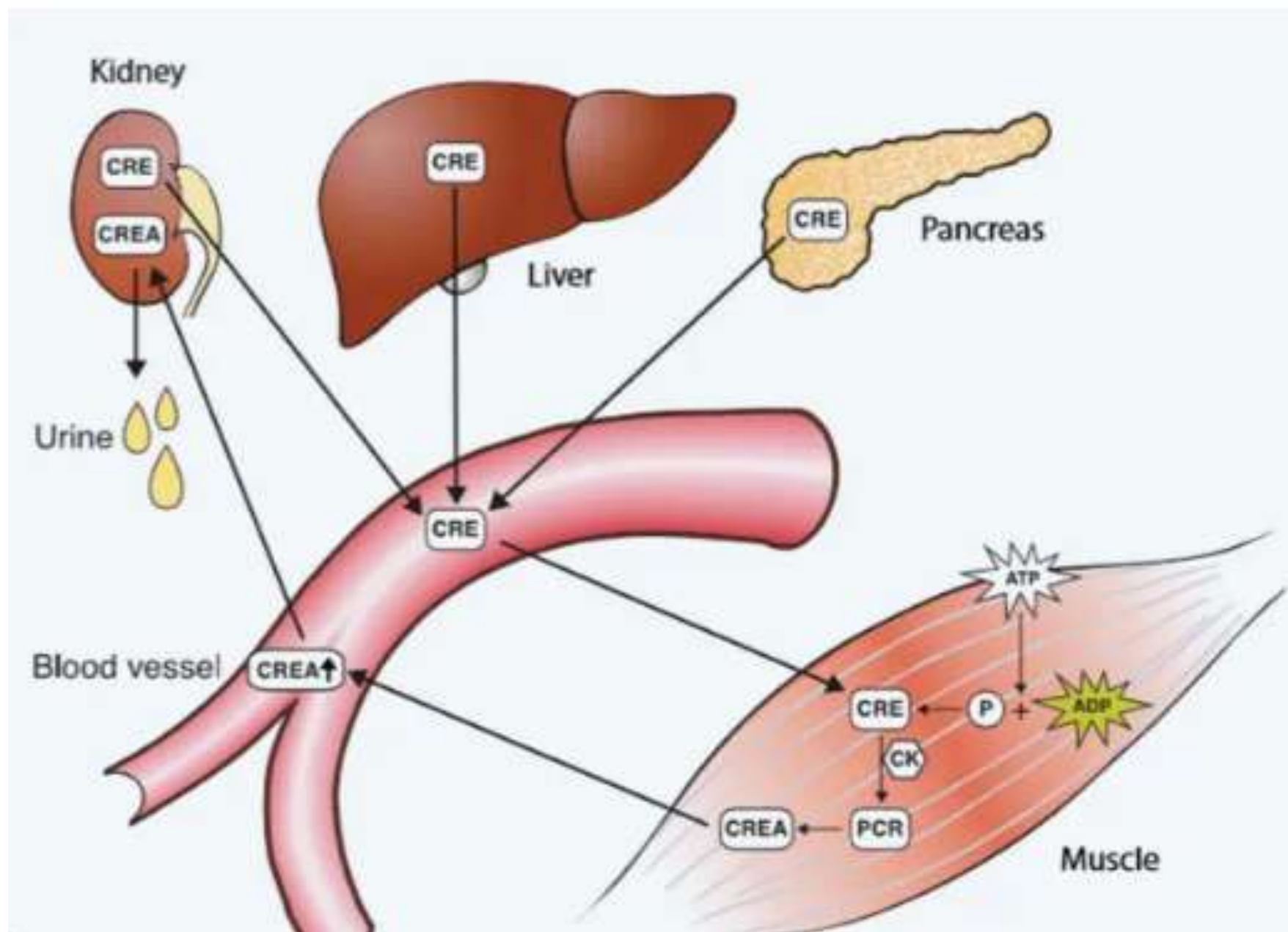
Exercice musculaire: ↑

Grossesse: ↓ (hyper volémie)

Variations pathologiques:

↓: myopathie avec atrophie musculaire importante

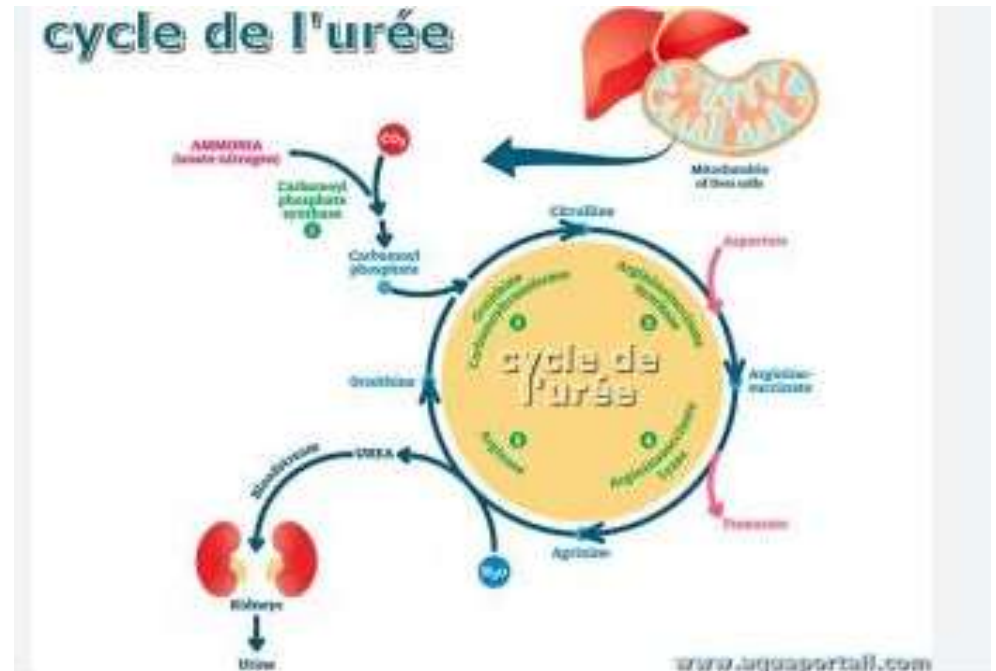
↑: insuffisance rénale



Acide urique

Uricémie:

Produits de dégradations des bases puriques, éliminé par le rein, sa concentration s'élève dans l'insuffisance rénale



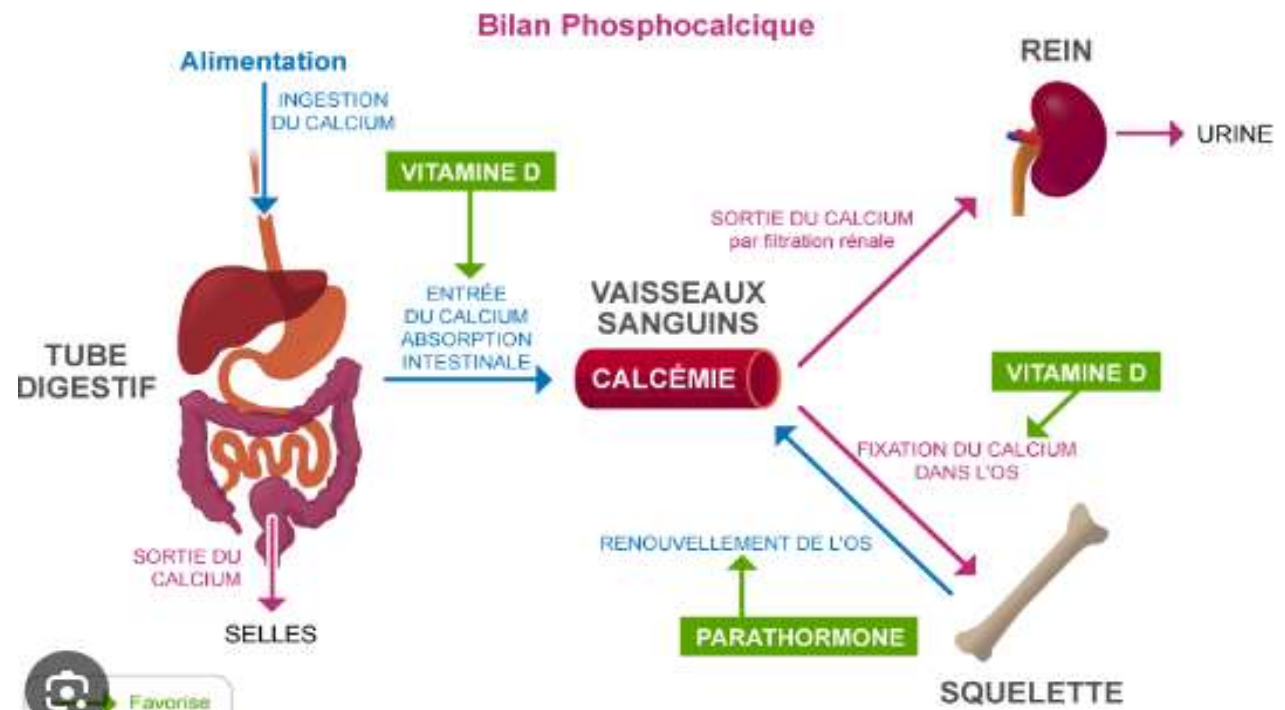
Ionogramme sanguin :

Apprécie l'équilibre hydro électrolytique

IONOGRAMME	
Ions	Valeurs de référence
Cations	
Na ⁺	135 à 145 mmol/l (ou mEq/l)
K ⁺	3,5 à 4,5 mmol/l (ou mEq/l)
Ca ²⁺	2,25 à 2,62 mmol/l (90 à 105 mg/l)
Mg ²⁺	0,75 à 1 mmol/l (18 à 24 mg/l)
Anions	
Cl ⁻	95 à 105 mmol/l (ou mEq/l)
HCO ₃ ⁻	22 à 28 mmol/l (ou mEq/l)

Source : Guide de l'adulte ou pédiatrie, 1^{er} édition (Novembre 2004)

Bilan phosphocalcique: les perturbations apparaissent dans les atteintes chroniques



Dysnatrémies : en cherchant son origine rénale, avec ses conséquences sur la volémie, l'état d'hydratation, aux troubles neurologiques

La dyscalcémie : en cherchant sa cause rénale, connue par sa réputation neuromusculaire et essentiellement cardiaque, de même pour la Dyskaliémie

Valeurs de références:

La calcémie : 85 à 105mg/l

2,25 à 2,60 mmol/l

La calciurie : 150 à 250 mg/24h

3,75 à 6,25 mmol/24h

Interprétation des résultats de la calcémie

Calcium plasmatique total = « Calcémie » dosée au laboratoire

2,20 - 2,60 mmol/L

Patient 1

Calcémie : 2,50 mmol/L

Albuminémie : 42 g/L

Calcémie corrigée = 2,45 mmol/L

→ calcémie normale

Patient 2

Calcémie : 2,50 mmol/L

Albuminémie : 28 g/L

Calcémie corrigée = 2,80 mmol/L

→ hypercalcémie

Patient 3

Calcémie : 1,96 mmol/L

Albuminémie : 28g/L

Calcémie corrigée = 2,26 mmol/L

→ calcémie normale

Calcémie corrigée

= calcémie mesurée + $\frac{(40 - \text{albuminémie})}{40}$

la vitamine D

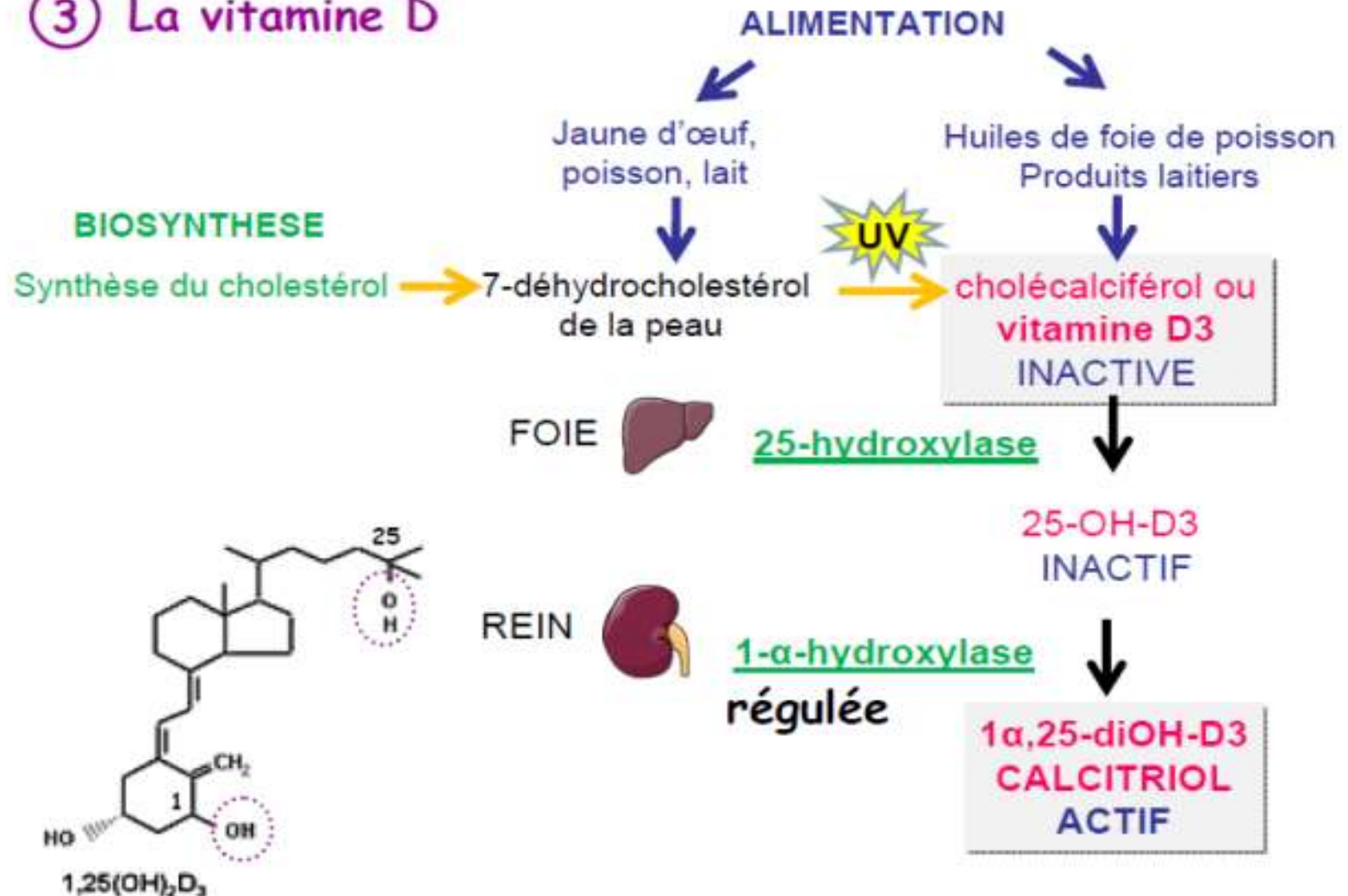
Le rein régule le métabolisme du calcium et des phosphates par divers mécanismes, dont la synthèse du dérivé actif de la vitamine D.

Dans le cadre de l'exploration biologique on dose le calcium et les phosphates plasmatiques et urinaires (bilan phosphocalcique), ainsi que les hormones de régulation (PTH, calcitriol, calcidiol, vitamine D3...).

La surveillance de ces paramètres dépend de la sévérité des anomalies constatées et de la vitesse de progression de **l'insuffisance rénale chronique**.

Vitamine D

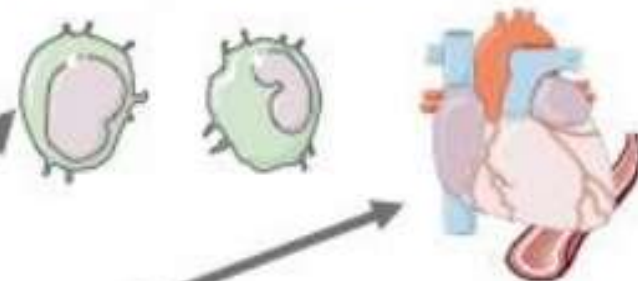
③ La vitamine D



Hématopoïèse: ↑ Prolifération des précurseurs érythroïdes, Action anti-leucémique

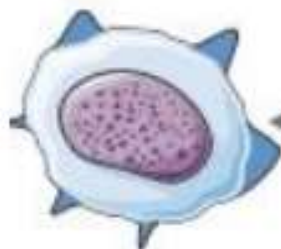


Monocytes, macrophages: Immunomodulation, Elimination des agents pathogènes invasifs



Pancréas:

↑ synthèse et de la sécrétion d'insuline



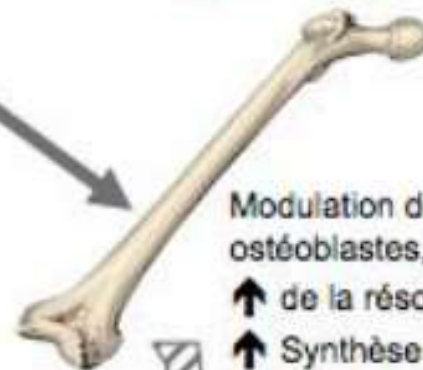
Prostate, sein, poumons kératinocytes:

↑ Différenciation cellulaire
Action antiproliférative

1,25 (OH)₂D



Intestin: ↑ Absorption du calcium et du phosphate



Os:

Modulation de l'activité des ostéoblastes,
↑ de la résorption / RANKL
↑ Synthèse de FGF23

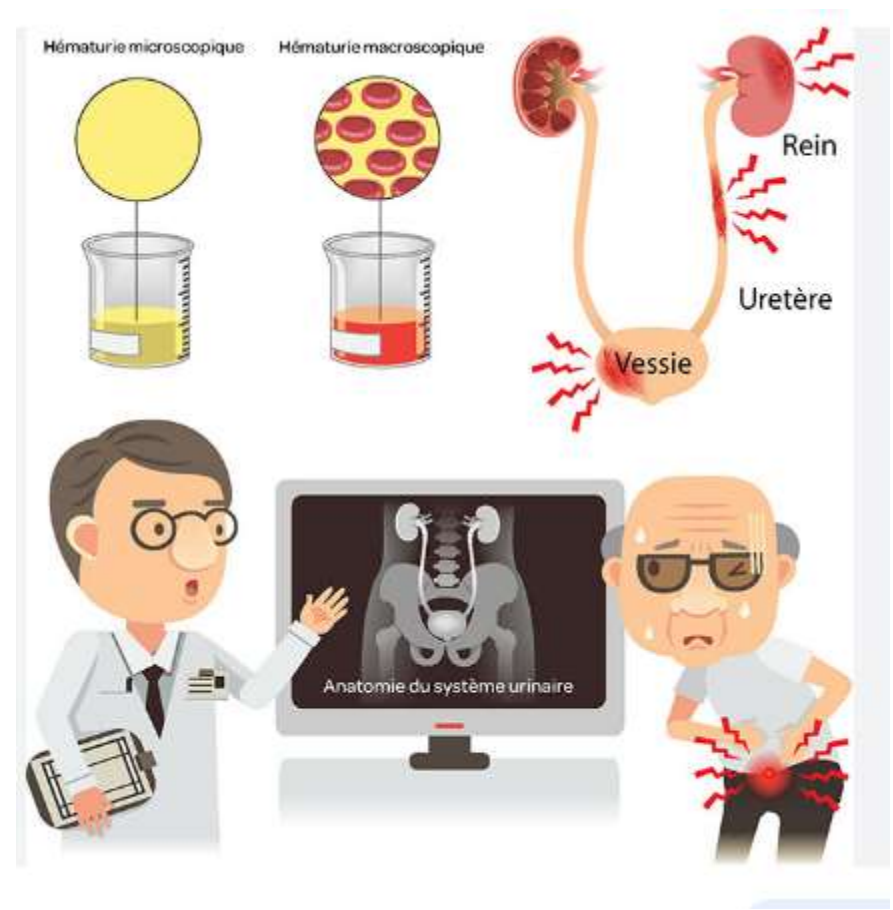


Rein: ↑ Réabsorption tubulaire distale du calcium, ↓ activité de la 1α-hydroxylase



Parathyroïdes: ↓ Synthèse de PTH

II - Dans les urines



Hippocrate, le plus grand médecin de l'Antiquité (460-v.377 av JC), mirant les urines. Miniature du XIVe siècle.

Examen direct des urines

Aspect de l'urine:

L'urine normale est claire de couleur jaune paille

Cette couleur varie avec la quantité et la concentration d'urine émise.

Elle devient plus sombre, en cas de diurèse réduite et pratiquement incolore en cas de diurèse augmentée.

(examen macroscopique) :

L'aspect de l'urine fraîche peut apporter de nombreuses informations orientant souvent le diagnostic.

L'urine normale est d'aspect clair, légèrement colorée (coloration due aux urochromes).

Un aspect trouble des urines doit faire suspecter soit une infection urinaire, soit un syndrome néphrotique : passage des lipoprotéines de faible poids moléculaire

L'aspect rougeâtre ou noirâtre est en faveur d'une hémoglobinurie, myoglobinurie, la présence de globules rouges.

Par ailleurs, une forte odeur acide est fréquemment observée dans les infections urinaires.

La diurèse normale varie entre 0.75 à 1.5 L
On parle de : polyurie si la diurèse est >2.5 L

Une oligurie si la diurèse est < 0.6 L Une anurie si < 0.1 L

Analyse chimique par les bandelettes réactives:

- La bandelette urinaire ou tige urinaire est un dispositif médical destiné à **détecter et mesurer certains éléments dans l'urine**.
- Elle est composée d'une tige en plastique qu'il faut tremper dans l'urine afin de procéder à son analyse.
- Les bandelettes urinaires **peuvent être utilisées chez soi**, dans des laboratoires d'analyses médicales, en consultation pour le diagnostic du patient, durant une hospitalisation

Analyse chimique par bandelettes réactives

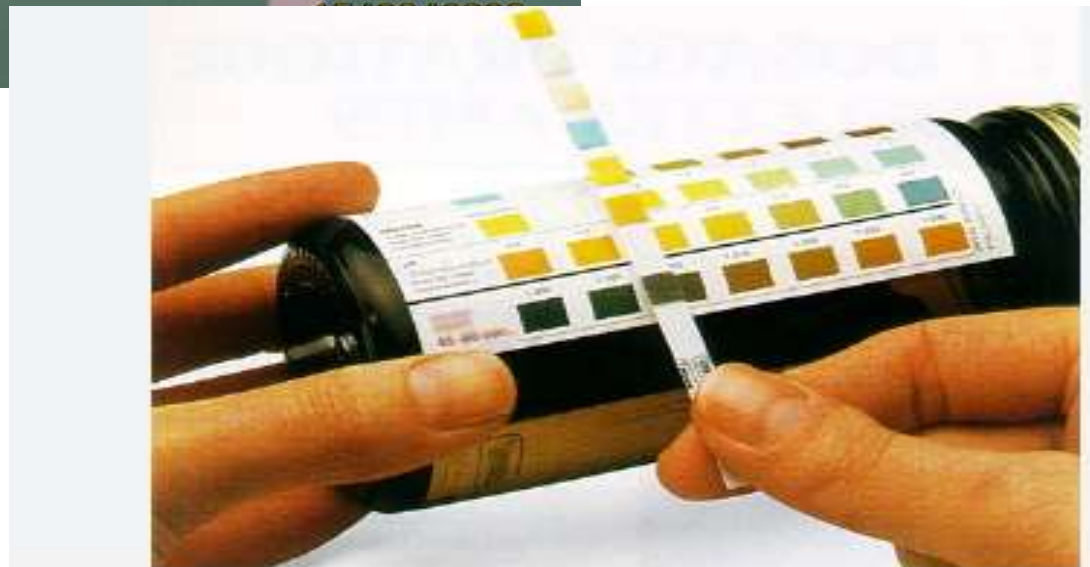
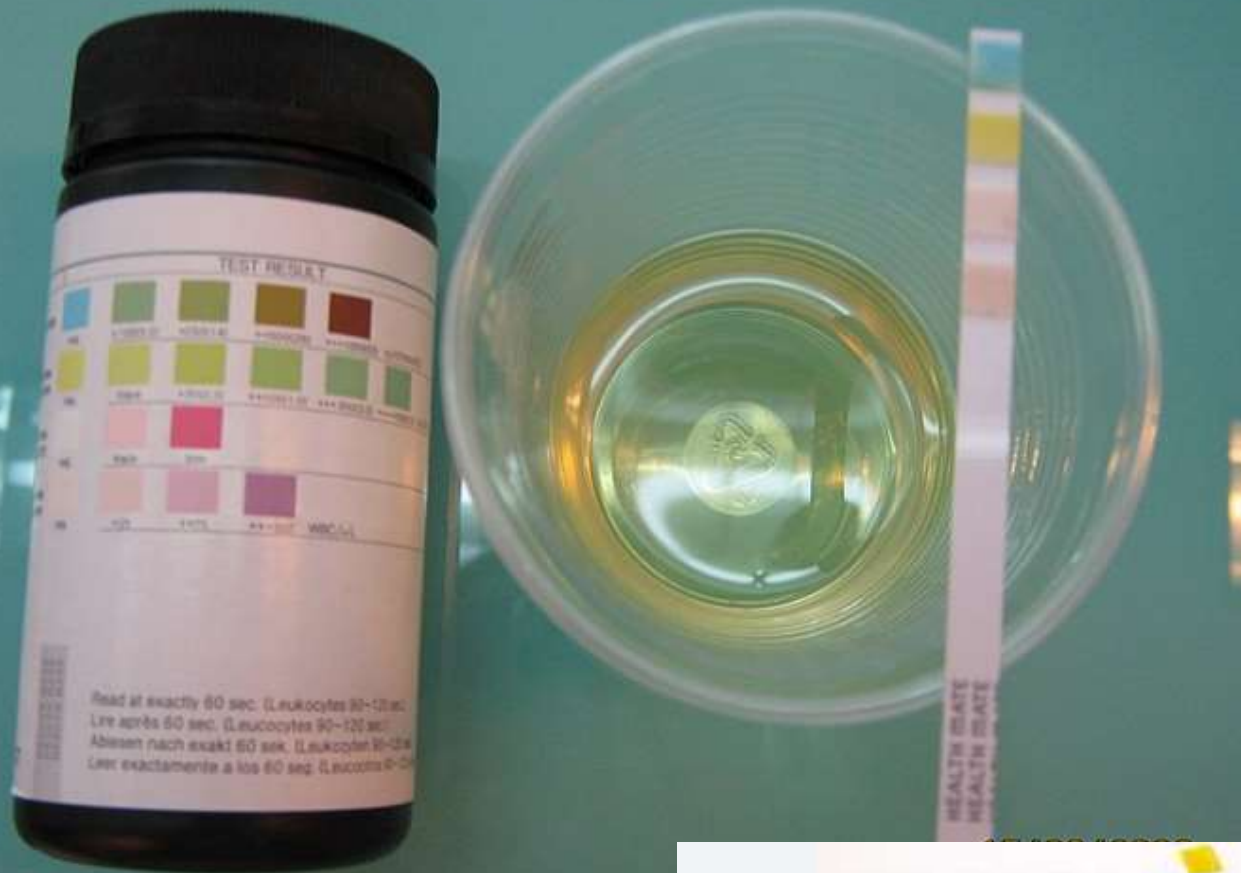
Les bandelettes sont constituées par un support plastique rigide sur lequel sont fixées des plages réactives distinctes prêtes à l'emploi.

Les différents paramètres que l'on peut apprécier actuellement sont les suivants : pH, densité, sang, protéines, corps cétoniques, bilirubine, urobilinogène, nitrites et.

Le temps de lecture est de 60 secondes environs.

Pour obtenir de bons résultats, il est recommandé d'utiliser une urine fraîche, en recueillant les urines après la toilette génitale et au milieu du jet.

LEU 120 s						Leu/ μ L	
NIT 60 s			pink rose rosado	rosada rosa poł	rosa różowy rosa	lysered rosasasin roz	
URO 60 s							mg/dL(μ mol/L)
PRO 60 s							mg/dL(g/L)
pH 60 s							
BLO 60 s							
SG 45 s							
KET 40 s							mg/dL(mmol/L)
BIL 30 s					mg/dL(μ mol/L)		
GLU 30 s							mg/dL(mmol/L)



- Le recueil des urines:
- Urine fraîche recueillie dans un récipient propre, Bandelette à usage unique.
- Opération: Les bandelettes sont constituées par un support plastique rigide sur lequel sont fixées des plages réactives distinctes
- Tremper la bandelette dans l'urine, éliminer l'excès et la tenir horizontale pendant 30 s à 2min

Résultats:

Le bloc change de couleur si le composant est présent;

Le virage de la couleur est proportionnel a sa concentration.

- Les composants testés sont:

Glucose -bilirubine -corps cétoniques -densité

Protéine –sang -pH -nitrites -leucocytes

LEU 120 s						Leu/ μ L	
NIT 60 s			pink rose rosado	rosada rosa poł	rosa różowy rosa	lysered rosasasin roz	
URO 60 s							mg/dL(μ mol/L)
PRO 60 s							mg/dL(g/L)
pH 60 s							
BLO 60 s							
SG 45 s							
KET 40 s							mg/dL(mmol/L)
BIL 30 s					mg/dL(μ mol/L)		
GLU 30 s							mg/dL(mmol/L)

L'ionogramme urinaire

Les principaux ions étudiés sont :

- le sodium (natriurèse)
 - le potassium (kaliurèse)
 - le chlore (chlorurèse)
 - le calcium (calciurèse)
-
- Notons que les taux de bicarbonates, de phosphore, de magnésium, mais aussi d'urée ou encore de créatinine peuvent aussi être dosés au cours d'un ionogramme urinaire.

Sodium (natriurie) : entre 50 et 300 mmol/24 h
(millimoles par 24 heures)

Une augmentation peut être le signe d'une insuffisance surrénalienne (maladie d'Addison), une atteinte du tissu rénal interstitiel (néphropathie interstitielle) ou encore d'une alimentation trop salée.

Une diminution peut signifier une insuffisance rénale, des pertes digestives (diarrhées, vomissements) ou encore d'une forte transpiration.

Potassium (kaliurie) : entre 20 et 120 mmol/24

Un taux élevé de potassium dans les urines peut être associé à une insuffisance rénale, un syndrome de Cushing ou encore un régime trop riche en potassium.

Un taux bas peut signifier un problème d'absorption ou encore une anomalie digestive.

Chlore (chlorurie) :

Entre 50 et 220 mmol/24 h

Un taux élevé de chlore dans les urines peut traduire une insuffisance surrénalienne.

Un taux bas peut être le signe d'une déshydratation ou encore de vomissements abondants.

Calcium (calciurie) : entre 100 et 400 mg/24 h
(milligrammes par 24 heures)

Une augmentation peut être le signe d'une affection osseuse, de calculs rénaux ou encore d'une intoxication à la vitamine D.

Une diminution peut être associée à une insuffisance rénale ou encore un rachitisme.

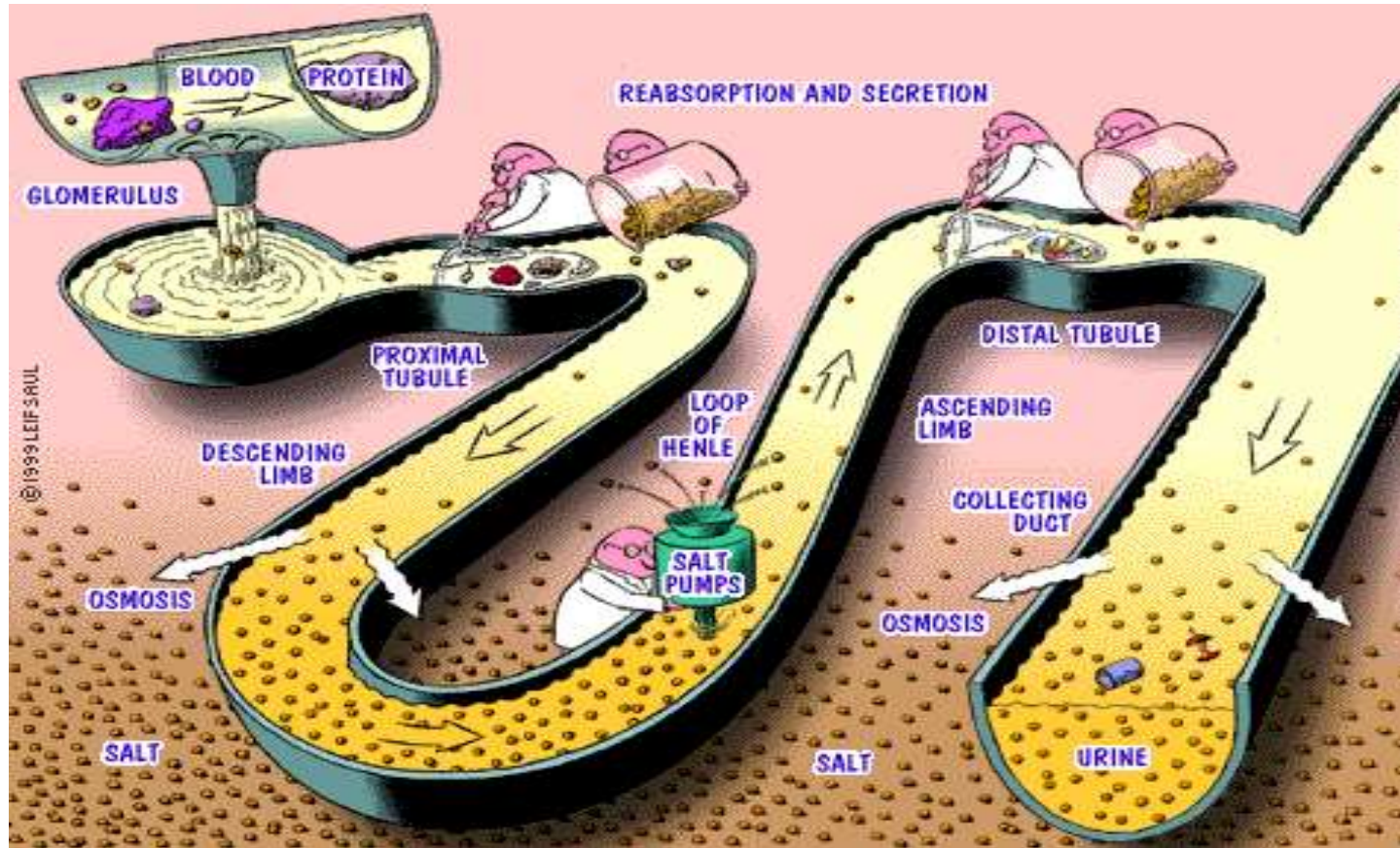
Autre

Glucose L'urine normale ne contient pas de glucose
Bilirubine et urobilinogène La plus grande partie de l'urobilinogène est éliminée dans les selles (urobilinogène fécal), mais on en retrouve dans la circulation sanguine et normalement pas dans les urines.

Corps cétoniques La recherche de corps cétoniques dans les urines est un test de dépistage du diabète, conjointement avec la recherche de glucose.

Si la glycosurie peut augmenter dans le diabète rénal, les corps cétoniques sanguins et urinaires ne le sont pas.

NEPHRON



Recherche d'une protéinurie :

- La protéinurie est un symptôme biologique qui traduit le plus souvent une anomalie fonctionnelle ou une lésion organique rénale.

a)-Protéinurie physiologique

Dans les conditions normales, l'urine recueillie en 24 heures, chez l'adulte sain, contient 80 ± 25 mg de protéines.

La valeur limite habituellement reconnue est de 150 mg/24 heures.

Elle est constituée de nombreuses protéines, dont le poids moléculaire est le plus souvent inférieur à 69000 Da.

L'albumine représente 20 à 55% de la protéinurie physiologique, on reconnaît les protéinuries fonctionnelles et orthostatiques

b)-protéinurie pathologique :

Elle est définie par une excrétion journalière de protéines supérieure à 150 mg/24h.

Peut résulter d'une :

- ** Altération de la barrière glomérulaire : c'est la protéinurie glomérulaire

- ** Saturation ou altération de la réabsorption tubulaire : c'est la protéinurie tubulaire ;

- ** Absence d'altérations des structures rénales : protéinurie de surcharge ou de débordement, faite de protéines de faible poids moléculaire

- **NB :** Des concentrations urinaires d'albumine supérieures à 30 mg/24 heures constituent la micro albuminurie.
- La détection d'une micro albuminurie est le premier signe d'une néphropathie débutante.
- Au-dessus, il s'agit d'une « macro albuminurie » qui est évaluée par la mesure de la protéinurie totale (> 300 mg/24h).

Comment classer la protéinurie pathologique ?

- Les protéinuries sont classées en fonction de la présence ou absence d'atteinte rénale

1 Protéinuries glomérulaires :

- Elles sont dues le plus souvent à une altération de la perméabilité glomérulaire.
- Elles sont quantitativement importantes, généralement supérieures à 2 g/24 h, constituées essentiellement d'albumine et de protéines de poids moléculaire \pm élevé.
- Elles peuvent se voir chez l'enfant et l'adulte.

2 Protéinurie tubulaire :

Elles sont plus rares que les protéinuries glomérulaires .

Sur le plan quantitatif elles sont d'expression faible (< 1g/24h)

composées de protéines de faible poids moléculaire en l'occurrence, l' α 1 microglobuline, rétinol binding protein (RBP).

Typage des Protéinuries

5 types

 > 200 kDa (IgM, α_2 M)
 90 - 200 kDa (hapto, IgG)
 70 - 90 kDa (**alb**, sidéroP)
 5 - 70 kDa (lysozyme, β_2 m, κ , λ)

1



Physiologique

< 30 mg / 24h
 < 20 μ g / mn alb

2



Tubulaire

< 1 g / 24h
 lysozyme
 κ , λ

3



Glomérulaire Sélective

Alb
 sidéroP

4



Glomérulaire NON Sélective

> 200 kD

5



Mixte
 Glomérulaire & Tubulaire

lysozyme
 κ , λ **alb**



3- Méthodes d'investigation de la protéinurie

3-1-Méthode semi quantitative : par des bandelettes réactives.

La présence de protéines se traduit par un virage de l'indicateur coloré du jaune-vert au bleu

Le seuil de détection est de 150 mg/24h

Les résultats sont exprimés en croix : Négatif (

3-2--Méthodes quantitatives : il est recommandé de travailler sur les urines de 24 heures.

Le recueil des urines doit se faire dans un récipient propre sans conservateur.

3-3- Evaluation qualitative de la protéinurie L'étude qualitative de la protéinurie est d'une importance capitale afin de déterminer son origine.

Par ailleurs, cette étude permettra d'apprécier la gravité de l'atteinte rénale (sélectivité de la protéinurie).

- Plusieurs méthodes existent pour l'évaluation qualitative de la protéinurie :

- _ Méthodes électrophorétiques

- _ Immunofixation : peut se faire en complément à l'électrophorèse .

Elle permet de typer avec précision la protéinurie pathologique et sa composante monoclonale.

- _ Immuonturbidimétrie et immunononéphélémétrie :
elles permettent la quantification précise de la plupart des protéines urinaires

La clairance de la créatinine sérique

FORMULE DE COCKCROFT

Créatininémie exprimée en $\mu\text{mol/l}$

Clairance de la créatinine estimée en ml/min :

$$\frac{F \times (140 - \text{âge}) \times \text{poids (kg)}}{0,814 \times \text{créatininémie } (\mu\text{mol/l})}$$

Créatininémie exprimée en mg/l

Clairance de la créatinine estimée en ml/min :

$$\frac{F \times (140 - \text{âge}) \times \text{poids (kg)}}{7,2 \times \text{créatininémie (mg/l)}}$$

N.B. : F = 1 chez l'homme et 0,85 chez la femme

Clairance = (100+/-20 ml/min/1,73m²)

Clairance de la créa...

Clairance de la créatinine
Calcul avec la formule MDRD simplifiée

Sexe du patient
☒ Homme ☐ Femme

Origine afro-américaine du patient
☐ Oui ☒ Non

Unité de la créatinine sérique
☒ mg/l ☐ µmol/l

Informations sur le patient
Créatinine sérique (mg/l) :
Âge (années) :

Résultat
Clairance de la créatinine (ml/min/1,73 m²) : **33,603**

[Association Amula](#)

Clairance rénale 22:20

Sexe : ☐ Homme ☒ Femme

Afro-amér. : ☒ Oui ☐ Non

Unité CR : ☒ mg/l ☐ µmol/l

Créatinine sérique (mg/l) : ...

Age (années) : ...

Clairance de la créatinine : **9,175**
(mg/min/1.73m²)

[Association Amula](#)

Au total: pour explorer le rein

Pronostic de progression de la MRC en fonction du stade (GxAx)				Description et classification en fonction de l'albuminurie (rapport albumine/créatinine)		
				A1	A2	A3
				Optimale à normale haute	Albuminurie modérée	Albuminurie sévère
				< 30 mg/g	30 – 300 mg/g	> 300 mg/g
Catégorie DFG estimé (mL/min/1.73m ²)	G1	Normal ou hyperfiltration	≥ 90			
	G2	Légèrement abaissé	60 – 89			
	G3a	Légèrement à modérément abaissé	45 – 59			
	G3b	Modérément à sévèrement abaissé	30 – 44			
	G4	Sévèrement abaissé	15 – 29			
	G5	IRT	< 15			

Conclusion

L'exploration biochimique en néphrologie est l'ensemble des explorations destinées à compléter l'examen clinique afin d'asseoir un diagnostic, au même titre que les autres explorations déployées en matière d'exploration en néphrologie.

Il est conseillé de débiter par les examens les plus simples, moins agressifs pour le rein, et moins coûteux

NB: ***Place de la tigelette urinaire ***

Merci de votre attention



References

1. Monika B, Piotr K, Andrzej D, Wojciech Z, Danuta S and Andrzej K. Genetic polymorphisms of the renin–angiotensin system in end-stage renal disease Nephrol Dial Transplant 2006; 21: 979–983.
2. Michael E, Joris AA, Klaas K, Hans JB, Emile DH and Jan AB. Genetic factors in progressive renal disease: the good ones, the bad ones and the ugly ducklings. Nephrol Dial Transplant 2006; 21: 257–260.
3. Gumprecht J, Zychma MJ, Grzeszczak W and Zukowska SE. Angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion and angiotensinogen M235T polymorphisms: risk of chronic renal failure. Kidney Int 2000; 58: 513–519.
4. Kim S and Iwao W. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. Pharmacol Rev 2000; 52: 11–34.
5. Vasudevan R, Patimah I, Johnson S and Norashikin S. Analysis of renin–angiotensin aldosterone system gene polymorphisms in Malaysian essential hypertensive and type 2 diabetic subjects. Cardiovasc Diabetol 2009; 8: 11.
6. Ittersum FJ, Man AM, Thijssen S, Knijff P, Slagboom E, Smulders Y, et al. Genetic polymorphisms of the renin– angiotensin system and complications of insulin-dependent diabetes mellitus. Nephrol Dial Transplant 2000; 15: 1000–1007