

חידושים בהבנת מעורבותו של הפטוגלובין כגורם המנבא התפתחות נפרופתיה ורטינופתיה שמקורן מסוכרת

תקציר:

החלבון נוגד החמצון הפטוגלובין מהווה גורם מפתח בהתפתחות סיבוכיה הנפוצים של מחלת הסוכרת, הכוללים נפרופתיה ורטינופתיה. בני אדם ידועים שני הומולוגים של הפטוגלובין: הפטוגלובין 1 והפטוגלובין 2, המאפשרים פולימורפיזם של ביטוי החלבון עם שלושה גנוטיפים אפשריים: 2-2, 2-1 ו-1-1. תוצרי החלבון של גנוטיפים אלו שונים במבנם וביכולתם נוגדת החמצון; להפטוגלובין 1 יש יכולת טובה יותר מהפטוגלובין 2 לנטרל את פוטנציאל החמצון של המוגלובין חופשי ולמנוע את הצטברות הרדיקלים החופשיים של חמצן. לכן הנזק הנגרם לכליה ולרשתית על רקע גנוטיפ 2-2 הוא חמור ונרחב יותר מאשר על רקע גנוטיפ 1-1. מכאן, שלחולי סוכרת בעלי גנוטיפ שונה של הפטוגלובין יש נטייה שונה לפתח סיבוכים אלו ובדרגות חומרה שונות. אחד החידושים בהבנת מעורבותו של הפטוגלובין בהתפתחות סיבוכיה הווסקולאריים של מחלת הסוכרת הוא מעורבותו האפשרית של הפטוגלובין בפגיעה בשיעור ויטמין D בכליה. מנגנון פעולה זה נחקר רבות בימים אלו, כאשר המטרה הסופית היא לאפשר טיפול פארמאקוגנומי עם ויטמין D בהתאם לגנוטיפ הפטוגלובין של הפרט, אשר ימנע את התפתחות הנפרופתיה והרטינופתיה שמקורן מסוכרת ואת סיבוכיהן.

ענבל דהאן¹
נדיה תאוחוכה¹
פריד נח'ול¹
נח'ול נח'ול²
חנין גבאלי²
יבגני פרבר^{3,1}

¹המעבדה לחקר סוכרת ומטבוליזם במרכז הרפואי פדה פוריה, המסונף לפקולטה לרפואה בגליל, אוניברסיטת בר אילן, ³מחלקת נפרולוגיה ויתר לחץ דם, ²מכון עיניים במרכז הרפואי ברוך פדה, פוריה, מסונף לפקולטה לרפואה בגליל, אוניברסיטת בר אילן

מילות מפתח: סוכרת; נפרופתיה; רטינופתיה; הפטוגלובין; ויטמין D.
:KEY WORDS: Diabetes; Haptoglobin; Nephropathy; Retinopathy; Vitamin D

הקדמה

סוכרת היא תסמונת של מספר מחלות מטבוליות המלוות בשיעור גבוה של סיבוכים וסקולאריים שונים [1-3]. שניים מסיבוכיה הנפוצים הם: (1) פגיעה בכליות (נפרופתיה) הנצפית בקרב כ-40% מהחולים, ומתאפיינת בשינויים מבניים ותפקודיים של הכליה, בייחוד באזור הכולל את תאי יחידת התפקוד [2, 4]; (2) פגיעה ברשתית העין המכונה רטינופתיה הנצפית בקרב 99% מחולי סוכרת מסוג 1 ובקרב 60% מחולי סוכרת מסוג 2 אשר חולים למעלה מ-20 שנה, ומאופיינת בשינויים מיקרוסקולאריים ברשתית שעשויים להוביל לעיוורון [5, 6]. אחד מגורמי המפתח שמובילים להתפתחות והתקדמות הנפרופתיה והרטינופתיה שמסוכרת הוא עלייה בייצור רדיקלים חופשיים של חמצן בכליה ובעין, ובעיקר אלו שמקורם מברזל [5]. מכאן, שהחלבון נוגד החמצון הפטוגלובין ממלא תפקיד מכריע במניעת התפתחותם של סיבוכים אלו [4, 7].

מצטבר והולך מידע על תרומתו של הפטוגלובין בהתפתחות סיבוכיה הווסקולאריים של הסוכרת ועל המנגנונים דרכם פולימורפיזם שלו מהווה גורם סיכון בהתפתחותם. הפגיעה בכליה וברשתית מתקדמת בהדרגה לאורך זמן, ולכן המטרה היא למנוע את התפתחותה עוד בשלביה הראשונים, לפני ההגעה לשלב "האין חזור" של אי ספיקת כליות ואובדן הראייה. מכאן, שנודעת חשיבות מרערת בהבנת המנגנונים העומדים מאחורי סיבוכים אלו. בעבודה זו, אנו סוקרים את החידושים בהבנת השפעת הפולימורפיזם של הפטוגלובין על התפתחות הנפרופתיה והרטינופתיה שמסוכרת לאור המחקרים המדעיים שנצברו בשנים האחרונות.

נפרופתיה שמסוכרת

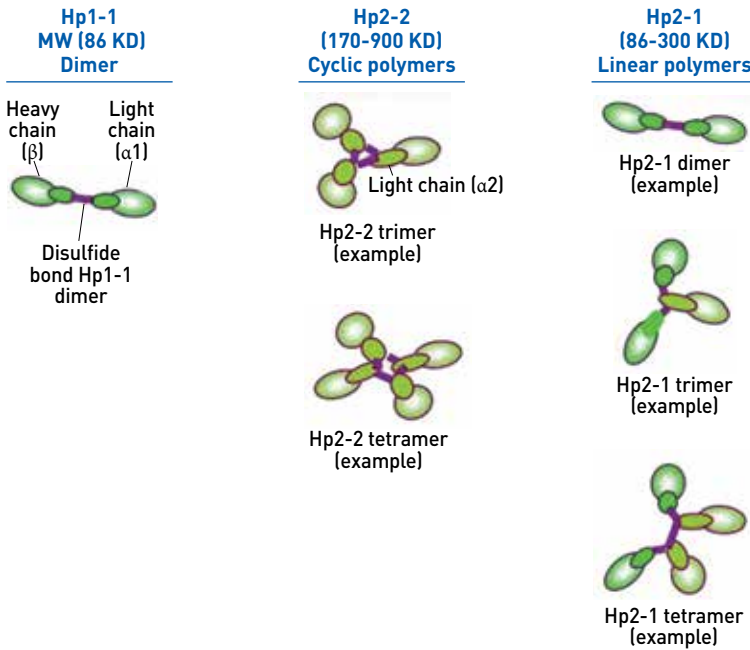
נפרופתיה שמסוכרת נחשבת לסיכון קשה של מחלת הסוכרת. שיעורי התחלואה והתמותה במחלה זו הם בשיעורים גבוהים [5, 8, 9]. שלביה הראשונים של הנפרופתיה מאופיינים בעלייה ביכולת הסינון של מסנן הכליות, היפראלבומינוריה, עיבוי הממבראנה הבזאלית של המסנן, התרחבות המזנוגיום ועם הזמן ירידה הדרגתית בקצב הסינון [2, 4]. לאחר הופעתה, הפגיעה בכליות מתקדמת בהדרגה עד למצב של אי ספיקת כליות סופנית, המצריכה טיפולי דיאליזה קשים או השתלת כליה במידת האפשר [4]. כמו כן, חולים אלו נמצאים בסיכון רב למחלות לב, כלי דם וזיהומים שונים [8].

רטינופתיה שמסוכרת

רטינופתיה שמסוכרת היא אחד הגורמים השכיחים לעיוורון במדינות המערב. ככל שמחלת הסוכרת ממושכת יותר בקרב החולה, כך נצפית עלייה בהתבטאות הרטינופתיה [10, 11]. רטינופתיה שמסוכרת מסווגת לשני סוגים עיקריים: (1) רטינופתיה לא גשוגיית המתבטאת במיקרו-מפרצות, דימומים תוך רטינליים בגדלים שונים, בצקת מקולרית, תפליטים (אקסודטים) קשים ושינויים מיקרו-וסקולאריים בתוך הרשתית הכוללים עיבוי של הממברנה הבזאלית; (2) רטינופתיה גשוגיית שהיא צורת הביטוי הקשה יותר של המחלה ובה צומחת רקמה לייפתית-וסקולרית אשר עוברת את השכבות הפנימיות של הרשתית, ועלולה לדמם או לגרום להיפרדות רשתית משיכתית.

תרשים 1:

שלושת הגנוטיפים השונים של הפטוגלובין אשר שונים זה מזה במבנה החלבון שלהם ובמשקלם המולקולארי



חלבון הפטוגלובין

הפטוגלובין הוא חלבון בעל פעילות נוגדת חמצון, בשל יכולתו להיקשר לברזל המצוי בהמוגלובין חופשי, ובאופן זה למנוע את יצירת הרדיקלים החופשיים ואת הנזק לרקמות הנלווה לכך [1]. כאשר המוגלובין חופשי משחרר לזרם הדם, הוא נקשר באופן מיידי להפטוגלובין והמכלול (קומפלקס) הפטוגלובין-מוגלובין שנוצר מפונה מיידי על ידי מאקרופאגים דרך אנדוציטוזה המתווכת על ידי הקולטן (רצפטור) CD163 [13-15]. ידועים שני הומוגלובים של הפטוגלובין; 1 ו-2. הפטוגלובין 1 מצוי בכל בעלי החיים, בעוד שהפטוגלובין 2 סגולי (ספציפי) לבני אדם ומאפשר פולימורפיזם של ביטוי החלבון עם שלושה גנוטיפים אפשריים: 1-1, 2-1, 2-2 [1, 12, 15]. תוצרי החלבון של גנוטיפים אלו שונים במבנם וביכולת נוגדת החמצון שלהם, וכן בקצב פינוי המכלול המוגלובין-הפטוגלובין (תרשים 1) [15, 16].

מעורבותו של הפטוגלובין בהתפתחות ההתקדמות נפרופתיה ורטינופתיה שמסוכרת

מצטבר והולך מידע על מעורבותו של הפטוגלובין בהתפתחות סיבוכיה הווסקולארים של הסוכרת [17]. במחקרים ראשוניים הוכחה חשיבותו של הפטוגלובין בהגנה הפיזיולוגית של הגוף כנגד פוטנציאל החמצון של ברזל המוגלובין. על ידי שימוש בעכבר החסר את ביטויו של הפטוגלובין, הוכחו חוקרים כי יש לעכבר זה נטייה לפתח פגיעה נרחבת ברקמות הכליה שמקורה מנזקי חמצון. עוד הראו החוקרים, כי בעכברים אלו ההמוגלובין מצטבר בכליה ומופרש דרך השתן [18]. אומנם באופן טבעי עכברים מבטאים רק את הפטוגלובין 1, אולם במסגרת מחקר שנועד בטכניון יצרו לראשונה עכבר מהונדס גנטית אשר מבטא את הפטוגלובין 2, שהוא ההומוגלובין האנושי של הפטוגלובין [15, 19, 20]. באופן זה, חוקרים יצרו לראשונה עכבר מודל שמייצג בצורה נאמנה את התבטאות הנפרופתיה והרטינופתיה שמסוכרת, כפי שהן מתבטאות בבני אדם בכליה וברשתית [15]. מערכת מודל זו איפשרה להעמיק ולבחון את השפעת הפולימורפיזם של הפטוגלובין על התפתחות והתקדמות סיבוכים ואסקולריים אלו. באמצעות מערכת מודל זו הוכח, כי תוצרי החלבון של גנוטיפים אלו שונים בתכונותיהם הביוכימיות והביופיסיקליות הכוללות את היכולת נוגדת החמצון ואת קצב פינוי המכלול (קומפלקס) המוגלובין-הפטוגלובין [21]. להפטוגלובין 1 יש יכולת טובה יותר להיקשר ולנטרל את ברזל ההמוגלובין, ובאופן זה למנוע את היווצרות הרדיקלים החופשיים ואת הנזק לכליות הנלווה לכך [15, 16, 22, 23]. בנוסף, בקרב עכברים בעלי הפטוגלובין 2-2 יש הצטברות של משקעי ברזל בליזוזומים של תאי האבובית (טובולאריים) והנזק שלהם לכליות נרחב יותר (תרשים 2) [21]. באשר לפגיעה ברשתית העין, נמצאה התעבות נרחבת יותר של הממברנה הבאזלית של הרשתית בעכברים סוכרתיים בעלי הפטוגלובין 2-2 לעומת עכברים בעלי הפטוגלובין 1-1 [15, 16, 22, 23].

לחולי סוכרת בעלי גנוטיפ שונה של חלבון הפטוגלובין יש נטייה שונה לפתח נפרופתיה ורטינופתיה שמקורן מסוכרת, ובדרגות חומרה שונות. גנוטיפ 2-2 של הפטוגלובין מוביל לנזק חמור ונרחב יותר בכליה וברשתית לעומת גנוטיפ 1-1.

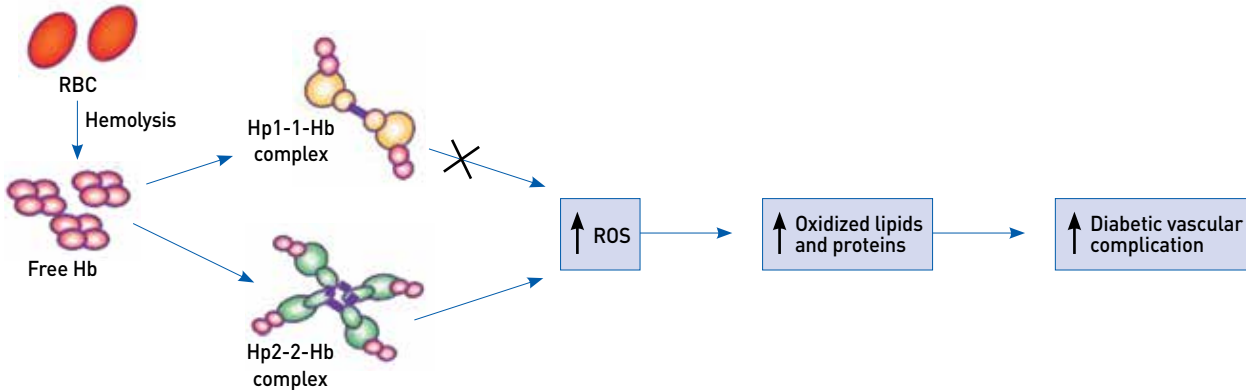
להבנת המנגנונים דרכם פולימורפיזם של הפטוגלובין מהווה גורם סיכון להתפתחות נפרופתיה ורטינופתיה שמסוכרת, נודעת חשיבות מכרעת במניעת התפתחות עוד בשלביה הראשוניים, לפני ההגעה לשלב "האין חזור" של אי ספיקת כליות ואובדן הראייה.

פגיעה בשפעול ויטמין C בכליה מהווה ככל הנראה מנגנון נוסף שדרכו פולימורפיזם של הפטוגלובין עשוי להשפיע על התפתחות והתקדמות הנפרופתיה שמסוכרת.

- משבירות גבוהה של כדוריות הדם האדומות ובשל הירידה ביכולת נוגדת החמצון של חלבון הפטוגלובין כאשר ההמוגלובין עובר גליקוזילציה [21]. מכאן, שלחולי סוכרת בעלי גנוטיפ שונה של הפטוגלובין יש נטייה שונה לפתח נפרופתיה ורטינופתיה שמסוכרת ובדרגות חומרה שונות. מעורבותו של הפטוגלובין בהתפתחות נפרופתיה ורטינופתיה שמסוכרת הוכחה לא רק בעכברים, אלא גם בבני אדם. בעבודות קודמות הוכח, כי הפטוגלובין 2 קשור עם שכחות גבוהה יותר של סיבוכים קרדיאוסקולאריים שונים על רקע סוכרת [20]. כמו כן, קיים מיתאם חיובי חזק בין פולימורפיזם של הפטוגלובין ובין התפתחות והתקדמות הנפרופתיה שמסוכרת. חולי סוכרת עם הפטוגלובין 2-2 נמצאים בסיכון גבוה יותר לפתח נפרופתיה שמסוכרת ובדרגת חומרה קשה יותר מאשר חולים בעלי גנוטיפ 1-1 [24]. כמו כן, בקרב חולי סוכרת, הן מסוג 1 והן מסוג 2 עם הפטוגלובין 2-2, נמצא שיעור גבוה של רטינופתיה שמסוכרת לעומת אלו עם הפטוגלובין 1-1 [20]. עם זאת, בשתי עבודות נוספות נמצא קשר בין הפטוגלובין 2-2 לבין התפתחות

תרשים 2:

ההבדל בפעילות נוגדת החמצון של הפטוגלובין 1-1 לעומת הפטוגלובין 2-2. הפטוגלובין 2-2 נקשר ביעילות נמוכה יותר להמוגלובין חופשי לעומת הפטוגלובין 1-1 ומכאן שהוא מוביל לעלייה בייצור הרדיקלים החופשיים של החמצן. דבר זה גורם לעלייה בחמצון ממברנות וחלבונים בתאי הכליה והרשתית, אשר מוביל בסופו של דבר להתפתחות והתקדמות הנפרופתיה והרטינופתיה שמסוכרת בקרב חולים שהם 2-2.



עוד מתכוונים לבדוק האם מתן ויטמין C פעיל עשוי לשפר את הנזק לתפקוד ואף למבנה שנגרם לכליה ביעילות ובאופן שונה, על רקע גנוטיפ שונה של הפטוגלובין. אנו משערים, כי ההשפעה המגנה של מתן ויטמין C על הכליה עשויה להיות יעילה יותר על רקע גנטי של הפטוגלובין 2-2, ולכן אנו תקווה שמימצאינו יאפשרו בעתיד טיפול פארמאקוגנומי; דהיינו, טיפול המבוסס על גנוטיפ הפרט, כך שיומלץ לחולי נפרופתיה שמסוכרת עם גנוטיפ 2-2 של הפטוגלובין לקבל ויטמין C במינון ובתדירות המרביים, בעוד שחולי נפרופתיה סוכרתית עם גנוטיפ 1-1 יסתפקו במינון הנמוך.

סוכרת מסוג 2, אולם לא נמצא קשר ישיר עם רטינופתיה שמסוכרת [26, 25].

מעורבותו של הפטוגלובין בהתפתחות והתקדמות נפרופתיה שמסוכרת עקב פגיעה בשפעולו של ויטמין C בכליה

ידוע, כי בקרב חולי נפרופתיה שמסוכרת, פרט לעלייה בעקה החמצונית, חלה ירידה משמעותית ברמת ויטמין C פעיל. לאחרונה, החלה להיחקר רבות תרומתו של ויטמין C בהגנת הכשל לכליות הנגרם במחלת הסוכרת [27], ובמספר מחקרים הועלתה ההשערה כי מתן ויטמין C לחולים אלו עשוי להועיל בשיפור חלק מהיבטיה של הנפרופתיה, כגון עיכוב התקדמות הירידה בתפקוד הכליות [29, 28].

ויטמין C נספג דרך העור או נצרך במזון, אולם בצורה זו הוא אינו פעיל מבחינה ביולוגית. על מנת שויטמין C ישופעל ויהפוך לצורתו הפעילה, עליו לעבור שתי מודיפיקציות כימיות: ראשית עליו לעבור הידרוקסילציה ראשונית בכבד בעמדה 25, ושנית עליו לעבור הידרוקסילציה שנייה בעמדה 1 בתאי אבוביות הכליה על ידי α-1- הידרוקסילאזה. צורתו הפעילה של ויטמין C נקשרת לקולטן של ויטמין C המהווה גורם (פקטור) שעתוק של מספר גני מטרה שונים [29, 28].

בימים אלו, קבוצת המחקר שלנו בוחנת את מעורבותו של הפטוגלובין בפגיעה בשפעול ויטמין C בכליה בקרב חולי נפרופתיה שמסוכרת. אנו מניחים כי בקרב חולי סוכרת עם גנוטיפ 2-2 של הפטוגלובין, העלייה במשקעי הברזל בכליה יוצרת סביבה פרו חמצונית שמובילה לשיעור מוות תאי מתוכנת (אפופטוזיס) גבוה של תאי האבובית. בכך למעשה נפגע שפעולו של ויטמין C על ידי α-1 הידרוקסילאזה הפעיל בתאים אלו. מכאן, שגנוטיפ 2-2 של הפטוגלובין בקרב חולים עם נפרופתיה שמסוכרת ייצא במיתאם עם מחסור חמור בוויטמין C פעיל ובנזק נרחב לכליות לעומת גנוטיפ 1-1 של הפטוגלובין.

שתי מערכות המודל המרכזיות של מחקרנו הן עכבר המודל של נפרופתיה שמסוכרת וביופסיות מחולי נפרופתיה שמסוכרת, אשר מסווגים על סמך גנוטיפ הפטוגלובין שלהם באמצעות בדיקת ג'ל אלקטרופורזיס מיוחדת [30]. במסגרת המחקר אנו

לסיכום

חלבון הפטוגלובין מהווה גורם מפתח בהתפתחות סיבוכי הנפוצים של הסוכרת הכוללים נפרופתיה ורטינופתיה. לחולי סוכרת בעלי גנוטיפ שונה של הפטוגלובין יש נטייה שונה לפתח סיבוכים אלו ובדרגות חומרה שונות. הנזק הנגרם לכליה ולרשתית בקרב חולים בעלי גנוטיפ 2-2 של הפטוגלובין הוא חמור ונרחב יותר מאשר בחולים בעלי גנוטיפ 1-1. מאחר שהפגיעה בכליה וברשתית מתקדמת בהדרגה לאורך זמן, נודעת חשיבות מכרעת בהבנת המנגנונים העומדים מאחוריה, במטרה למנוע את התפתחותה עוד בשלביה הראשונים.

כיום, נחקרים מנגנונים נוספים שדרכם הפטוגלובין מעורב בהתפתחות סיבוכים וסקולאריים אלו, ביניהם מעורבותו בפגיעה בשיפעולו הסופי של ויטמין C בכליה בקרב חולי הסוכרת, במטרה לנסות לפתח טיפול פארמקוגנומי המבוסס על גנוטיפ הפרט.

שלמי תודות: תודה והוקרה לפרופ' אנדי לוי על הייעוץ המקצועי לאורך הדרך, ולרביע אסלי על התמונות.

מחברת מכתבת: ענבל דהאן

המעבדה לחקר סוכרת ומטבוליזם במרכז הרפואי פדה פוריה, המסונף לפקולטה לרפואה בגליל, אוניברסיטת בר אילן
טלפון: 04-6652768
דוא"ל: idahan@poria.health.gov.il

ביבליוגרפיה

1. Levy AP, Purushothaman KR, Levy NS & al, Downregulation of the hemoglobin scavenger receptor in individuals with diabetes and the Hp 2-2 genotype: implications for the response to intraplaque hemorrhage and plaque vulnerability. *Circ Res*, 2007; 101: 106-10.
2. Fioretto P & Mauer M, Diabetic nephropathy: diabetic nephropathy-challenges in pathologic classification. *Nat Rev Nephrol*, 2010; 6: 508-10.
3. Abdul-Ghani M, Nawaf G, Nawaf F & al, Increased prevalence of microvascular complications in type 2 diabetes patients with the metabolic syndrome. *Isr Med Assoc J*, 2006; 8: 378-82.
4. Chowdhury TA, Dyer PH, Kumar S & al, Genetic determinants of diabetic nephropathy. *Clin Sci (Lond)*, 1999; 96: 221-30.
5. Pezzolesi MG, Skupien J, Mychaleckyj JC & al, Insights to the genetics of diabetic nephropathy through a genome-wide association study of the GoKinD collection. *Semin Nephrol*, 2010; 30: 126-40.
6. Klein R, Recent developments in the understanding and management of diabetic retinopathy. *Med Clin North Am*, 1988; 72: 1415-37.
7. Asleh R & Levy AP, In vivo and in vitro studies establishing haptoglobin as a major susceptibility gene for diabetic vascular disease. *Vasc Health Risk Manag*, 2005; 1: 19-28.
8. Zimmet P, Alberti KG & Shaw J, Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 2001; 414(6865): 782-7.
9. Conway BR & Maxwell AP, Genetics of diabetic nephropathy: are there clues to the understanding of common kidney diseases? *Nephron Clin Pract*, 2009; 112: 213-21.
10. Klein R, Klein BE, Moss SE & al, The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is 30 or more years. *Arch Ophthalmol*, 1984; 102: 527-32.
11. Klein R, Klein BE, Moss SE & al, The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch Ophthalmol*, 1984; 102:520-6.
12. Costacou T, Ferrell RE & Orchard TJ, Haptoglobin genotype: a determinant of cardiovascular complication risk in type 1 diabetes. *Diabetes*, 2008; 57: 1702-6.
13. Langlois MR & Delanghe J, Delanghe. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans. *Clin Chem*, 1996; 42: 1589-600.
14. Moestrup SK & Moller HJ, CD163: a regulated hemoglobin scavenger receptor with a role in the anti-inflammatory response. *Ann Med*, 2004; 36: 347-54.
15. Levy AP, Asleh R, Blum S & al, Haptoglobin: basic and clinical aspects. *Antioxid Redox Signal*, 2010; 12: 293-304.
16. Asleh R, Nakhoul FM, Miller-Lotan R & al, Poor lysosomal membrane integrity in proximal tubule cells of haptoglobin 2-2 genotype mice with diabetes mellitus. *Free Radic Biol Med*, 2012; 53:779-86.
17. Levy AP, Haptoglobin: a major susceptibility gene for diabetic cardiovascular disease. *Isr Med Assoc J*, 2004; 6: 308-10.
18. Miller YI, Altamentova SM & Shaklai N, Oxidation of low-density lipoprotein by hemoglobin stems from a heme-initiated globin radical: antioxidant role of haptoglobin. *Biochemistry*, 1997; 36: 12189-98.
19. Nakhoul F, Nakhoul N, Asleh R & al, Is the Hp 2-2 diabetic mouse model a good model to study diabetic nephropathy? *Diabetes Res Clin Pract*, 2013; 100: 289-97.
20. Levy AP, Levy JE, Kalet-Litman S & al, Haptoglobin genotype is a determinant of iron, lipid peroxidation, and macrophage accumulation in the atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007; 27: 134-40.
21. Asleh R, Marsh S, Shilkrut M & al, Genetically determined heterogeneity in hemoglobin scavenging and susceptibility to diabetic cardiovascular disease. *Circ Res*, 2003; 92: 1193-200.
22. Melamed-Frank M, Lache O, Enav BI & al, Structure-function analysis of the antioxidant properties of haptoglobin. *Blood*, 2001; 98: 3693-8.
23. Asleh R, Guetta J, Kalet-Litman S & al, Haptoglobin genotype- and diabetes-dependent differences in iron-mediated oxidative stress in vitro and in vivo. *Circ Res*, 2005; 96: 435-41.
24. Nakhoul FM, Zoabi R, Kanter Y & al, Haptoglobin phenotype and diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 2001; 44: 602-4.
25. Goldenberg-Cohen N, Gabbay M, Dratviman-Storobinsky O & al, Does haptoglobin genotype affect early onset of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes? *Retina*, 2011; 31: 1574-80.
26. Amiri AA, Hashemi-Soteh MB, Haghshenas MR & al, Haptoglobin polymorphism in individuals with type 2 diabetic microangiopathy. *N Am J Med Sci*, 2013; 5: 529-35.
27. Tian Y, Lv G, Yang Y & al, Effects of vitamin D on renal fibrosis in diabetic nephropathy model rats. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014; 7: 3028-37.
28. Al-Badr W & Martin KJ, Vitamin D and kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008; 5:1555-60.
29. Levin A, Bakris GL, Molitch M & al, Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int*, 2007; 71: 31-8.
30. Koch W, Latz W, Eichinger M & al, Genotyping of the common haptoglobin Hp 1/2 polymorphism based on PCR. *Clin Chem*, 2002; 48: 1377-82.