

# Biomarcadores traslacionales de modelos *in vitro* e *in vivo* de daño renal: Una perspectiva para abordar nefrotoxicidad desde múltiples factores etiológicos

*Translational biomarkers from in vitro and in vivo models of kidney injury: A perspective to address kidney disease from multiple etiological factors*

Rodrigo Castañeda<sup>1,2,\*</sup>, Emily Ortiz<sup>1</sup>, Caroline Aldana<sup>1</sup>, Sully M. Cruz<sup>2,3</sup>, Armando Cáceres<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de investigación farmacológica experimental y bioterio y <sup>2</sup>Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Escuela de Química Farmacéutica Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala; y <sup>3</sup>Laboratorios de Productos Naturales Farmaya, Guatemala

\*Autor al que se dirige la correspondencia: castaneda.rodrigo@usac.edu.gt.

Recibido: 25 de marzo 2020 / Revisión: 29 de marzo 2020 / Aceptado: 01 de abril 2020

## Resumen

La prevalencia de enfermedad renal ha aumentado considerablemente en la última década y está previsto que crezca en los próximos años. Recientemente, diversos modelos se han utilizado para entender los procesos fisiopatológicos de daño renal y para la búsqueda de futuros candidatos farmacológicos. El objetivo de esta revisión es proporcionar una descripción de la evidencia actual de modelos *in vitro* e *in vivo* de nefrotoxicidad, nefropatía diabética y deshidratación, y los fundamentos de las principales vías de señalización fisiopatológicas, con el fin de proponer biomarcadores candidatos para futura investigación farmacológica. Actualmente, los roedores constituyen un pilar importante en estudios de daño renal, existiendo diferencias específicas según el estímulo nocivo, lo que sugiere considerar para un modelo relevante aspectos como especie, cepa, género y estructuras renales objetivo. Diversas estructuras renales se han complementado *in vitro*, principalmente a partir de líneas celulares, como del epitelio tubular, podocitos, células mesangiales glomerulares y conducto colector medular interno. Este enfoque se ha utilizado como complementario en modelos de nefrotoxicidad por exposición a aminoglucósidos (principalmente), deshidratación por cloruro de sodio hiperosmolar, y nefropatía diabética por medio de glucosa alta y productos derivados de glucólisis y glicación. Recientemente, estos modelos han mostrado similitud en diversas rutas de señalización celular, con algunos biomarcadores en común, entre múltiples causas de daño renal como el daño oxidativo, disfunción mitocondrial, procesos inflamatorios, desregulación de sistemas de defensa y sobrevivencia celular, y apoptosis. El enfoque en seleccionar biomarcadores relevantes contribuirá al diseño de estrategias terapéuticas de nefroprotectores sobre múltiples factores etiológicos.

Palabras claves: Diabetes, deshidratación, aminoglucosidos, farmacología experimental, señalización celular

## Abstract

The prevalence of kidney disease has increased considerably in the last decade and is expected to growth in the coming years. Recently, various models have been used to understand the pathophysiological processes of kidney damage and to search for future pharmacological candidates. The aim of this review is to provide a description of the current evidence of *in vitro* and *in vivo* models of nephrotoxicity, diabetic nephropathy and dehydration, and the foundations of the main pathophysiological signaling pathways, in order to propose candidate biomarkers for future drug discovery. Currently, rodents are an important pillar in studies of kidney damage, with specific differences depending on the noxious stimulus, which suggests considering aspects such as species, strain, gender and target structures for a relevant model. Several renal structures have been complemented through *in vitro* approaches, mainly using cell lines, such as the tubular epithelium, podocytes, glomerular mesangial cells and inner medullary collecting duct. These cells have been used as models of nephrotoxicity by exposure to aminoglycosides (mainly), dehydration by exposure to hyperosmolar sodium chloride, and diabetic nephropathy by exposure to high glucose and products derived from glycolysis and glycation. Recently, these models have shown common cell signaling pathways on multiple etiologies of kidney injury, sharing several biomarkers such as oxidative damage, mitochondrial dysfunction, inflammatory processes, dysregulation of defense systems and cell survival, and apoptosis. Approaching kidney injury based on the selection of relevant biomarkers will contribute to the design of therapeutic strategies for nephroprotection on multiple etiological factors.

Keywords: Diabetes, dehydration, aminoglycosides, experimental pharmacology, cell signaling



## Introducción

El estudio *Global Burden of Disease* determinó que la enfermedad renal crónica (ERC) presentó 1.2 millones de muertes en 2015, con un aumento global del 32 % desde 2005 (Luyckx, Tonelli, & Stanifer, 2018). En este reporte, se estimó que cada año, alrededor de 1.7 millones de personas mueren a causa de una lesión renal aguda. En general, se proyecta que entre 5 y 10 millones de personas mueren anualmente por enfermedad renal, asociada con una tremenda carga económica para muchos países, sobre todo en países en vías de desarrollo (Nugent, Fathima, Feigl, & Chyung, 2011).

En general, distintos países gastan más del 2-3 % de los presupuestos anuales de atención de salud en el tratamiento de la enfermedad renal terminal, aunque los que reciben dicho tratamiento representan menos del 0.03 % de la población total. ERC es una patología terminal severa que afecta principalmente a la población adulta hipertensa y diabética. Diversos estímulos nocivos producen una pérdida de células renales que pueden inducir daño renal e insuficiencia renal (Devajaran, 2006). La causa de la insuficiencia renal puede ser extrínseca (enfermedad cardiovascular, obesidad, diabetes, sepsis e insuficiencia pulmonar y hepática) o intrínsecas (nefritis glomerular, enfermedad renal poliquística, fibrosis renal, muerte de células tubulares y cálculos).

Mundialmente la nefropatía es la complicación más frecuente producida por diabetes, con 27.8 % de incidencia, seguida de pie diabético con 22.9 %, y de problemas visuales con 18.9 % (Deshpande, Harris-Hayes, & Schootman, 2008). Esto lo hace una complicación relevante a nivel mundial, sobre todo en países donde el índice de diabetes tiende a aumentar, como el caso de Guatemala (Bream et al., 2018). Adicionalmente, el riñón desempeña un papel destacado en la mediación de la toxicidad de numerosos fármacos, contaminantes ambientales y sustancias naturales. Entre los principales fármacos nefrotóxicos se encuentran varias terapias contra el cáncer, fármacos contra el abuso, antibióticos y agentes de radiocontraste. Existen características comunes entre los mecanismos de insuficiencia renal inducidos por nefrotóxicos y causas extrínsecas.

Durante las dos últimas décadas, en Centroamérica y otros países tropicales se han reportado en forma creciente, altos índices de incidencia, prevalencia y mortalidad por ERC de etiología desconocida o no tradicional (ERCnT), que afecta a las comunidades agrícolas de la costa sur donde la pobreza y las opor-

tunidades de trabajo son limitadas (Laux et al., 2016). La mayoría de los trabajadores afectados por ERCnT son hombres jóvenes entre los 18 y 35 años, trabajadores agrícolas, inmigrantes y trabajadores temporales, concentrados en la costa del Pacífico de Mesoamérica. Recientemente ha habido un creciente número de reportes donde la deshidratación recurrente, especialmente cuando se relaciona con el estrés por calor, puede conducir a una ERC (Johnson et al., 2017). Durante muchos años, se ha concebido a la deshidratación como un tipo de lesión renal aguda, ya que la condición se ha visto como completamente reversible y no asociada con daño renal permanente. Sin embargo, la creciente epidemia de ERC entre los trabajadores manuales en los campos agrícolas y otras ocupaciones externas ha propuesto que el principal factor de riesgo es la deshidratación recurrente y el estrés por calor (Johnson & Sanchez-Lozada, 2013; Weiner, McClean, Kaufman, & Brooks, 2013; Wesseling et al., 2014). Recientemente se han reconocido epidemias de ERC con características similares en otras áreas del mundo, como India y Sri Lanka, lo que lleva a la sugerencia de “nefropatía por estrés por calor” pudiendo representar un riesgo mundial por el cambio climático (Glaser et al., 2016).

En los últimos años, se han iniciado exploraciones de mecanismos de daño renal *in vivo* producido por deshidratación. Los roedores siguen siendo el pilar de los estudios *in vivo* de nefrototoxicidad y nefropatía diabética (Rodríguez Salgueiro & Gonzalez Nunez, 2016). Recientemente, se han desarrollado modelos animales de ERC exponiendo a los ratones a estrés por calor y deshidratación recurrentes (Roncal Jimenez et al., 2013). Modelos de daño renal *in vivo* por distintas etiologías, han determinado la conexión de diversos aspectos anatómicos y en rutas metabólicas de daño, como generación de estrés oxidativo, inflamación y apoptosis. Sin embargo, a la fecha estudios de comparación entre modelos son escasos y no abordan marcadores moleculares que puedan utilizarse como puntos en común.

Es por ello que siendo Guatemala un país que presenta dentro de las principales 10 causas de mortalidad la insuficiencia renal crónica, además de poseer una patología de etiología desconocida, es fundamental conocer los modelos que permitan abordar similitudes y diferencias de distintas causas de daño renal. A partir de ésta perspectiva se podrán proponer biomarcadores involucrados en regular el funcionamiento renal a corto plazo de distintas patologías, del significado traslacional entre modelos y de diseño de futuros nefroprotectores.

En esta revisión se exploraran diversos aspectos fisiopatológicos y moleculares involucrados en nefro-

toxicidad, nefropatía diabética y deshidratación, a partir de una perspectiva de modelos *in vitro* e *in vivo* de daño renal. Se excluirá el daño renal por hipertensión, debido fundamentalmente a aspectos característicos que desean ser abordados posteriormente. Esto contribuirá al entendimiento del proceso fisiopatológico de daño renal en el proceso traslacional y al establecimiento de modelos que permitan una eficiente búsqueda de nuevos tratamientos que puedan prevenir y disminuir el daño renal.

## Modelos de daño renal

Los roedores siguen siendo el pilar de los estudios *in vivo* de nefrotoxicidad (Rodríguez Salgueiro & Gonzalez Nunez, 2016). Sin embargo, la especie de roedores y el género tienen importantes diferencias cuando se trata de evaluar nefrotoxicidad. Entre estas diferencias, la expresión de la microglobulina- $\alpha_2u$ , la cual es dependiente de la especie y el género, siendo significativamente mayor en ratas que en ratones y siendo mayor en machos (Swenberg, 1993).

Se cree que estas diferencias explican la mayor toxicidad de varios nefrotóxicos en ratas en comparación con los otros modelos. Se han desarrollado varios modelos animales utilizando numerosos métodos en el área de la ERC para aproximarse a la enfermedad humana (Calvin, Misra, & Pflueger, 2010). Sin embargo, diversas cepas de ratones han demostrado ser más útiles en modelos en nefropatía diabética. Esto sugiere que además de especie, cepa y género, el estímulo de daño y las estructuras renales afectadas son muy importante en la elaboración de un modelo de daño renal. Además, modelos *in vitro* a partir de cultivo celular primario y en distintas líneas celulares (Tabla 1) ha complementado mucho el entendimiento del daño renal explorado *in vivo* a partir de distintos estímulos nocivos (Tabla 2). A continuación se abordarán aspectos generales de éstos modelos.

## Nefrotoxicidad por aminoglucósidos

La gentamicina (GM) es un antibiótico aminoglucósido comúnmente utilizado para abordar infecciones bacteriana gramnegativo. Debido al alto flujo sanguíneo relativo, el riñón es propenso al daño inducido por fármacos. GM es una de las principales causas de nefrotoxicidad inducida por fármacos, ya que todavía es

ampliamente utilizada en clínica y muy eficiente en el tratamiento de infecciones. Estos efectos adversos han permitido el establecimiento de modelos animales basados en daño renal. Dosis de GM en roedores de 40-200 mg/kg administradas vía intraperitoneal durante 4-10 días pueden inducir insuficiencia renal aguda (Abdel-Azeem, Hegazy, Zeidan, Ibrahim, & El-Sayed, 2017; Arjinajarn et al., 2016; Bae et al., 2013; El-Kashef, El-Kenawi, Suddek, & Salem, 2015; Guo et al., 2013; P. Liu et al., 2014; Mahmoud, 2017; Morales et al., 2010; Pedraza-Chaverri et al., 2004, 2018). Este modelo agudo se caracteriza por niveles elevados de urea y creatinina séricas, disminución de la tasa de filtración glomerular, lesiones tubulares y fibrosis (Al-Shabanah et al., 2009; Romero, Perez, Chavez, Parra, & Durante, 2009). Los datos experimentales sugieren que esta nefrotoxicidad inducida incluye múltiples mecanismos que pueden clasificarse en glomerulares, tubulares y vasculares.

El glomérulo es la primera parte de la nefrona que entra en contacto con GM. Múltiples mecanismos son responsables de los cambios de filtración. La GM causa contracción mesangial y reducción de la filtración glomerular (Martinez-Salgado, Lopez-Hernandez, & Lopez-Novoa, 2007). La pérdida de selectividad de la membrana de filtración conduce a proteinuria, especialmente en situaciones de reabsorción reducida como se observa en la necrosis tubular (de-Barros-e-Silva, Varanda, Lachat, Alves-da-Silva, & Coimbra, 1992). Al comienzo del proceso de daño por GM, cuando no hay una obstrucción tubular significativa, se pueden detectar un aumento en los niveles séricos de urea y creatinina, lo que apunta a una reducción en la filtración glomerular. En ausencia de una obstrucción marcada de la nefrona, el aumento observado en el nivel de creatinina en plasma solo puede explicarse por la reducción en la filtración glomerular. Algunos modelos *in vitro* se han desarrollado a partir de líneas celulares para evaluar biomarcadores y potenciales candidatos en células de esta región de la nefrona, como podocitos murinos (MPC5) expuestos a GM (Yan et al., 2012). En modelos *in vivo* es ampliamente utilizado por el corto tiempo de duración para producir daño renal, siendo considerado un modelo de daño renal agudo.

GM causa daño tubular principalmente a través de la necrosis de las células epiteliales tubulares, predominantemente en el segmento proximal, y la alteración de la función de los principales componentes celulares involucrados en el transporte de agua y solutos. El tejido o las células dañadas se liberan en la luz de los túbulos

Tabla 1  
Modelos *in vitro* de distintos factores etiológicos de daño renal

Línea celular	Estimulo	Agente inductor (concentración, duración)	Referencia
Células embrionarias de riñón humano (HEK293)	Aminoglucósidos	Gentamicina (4-15 mM, 24 h)	(Campos, de Almeida, Grossi, & Tagliati, 2018; Sun et al., 2018)
	Diabetes	Productos finales de glicación avanzada (200 µg/mL, 12-48 h)	(Serban, Stanca, Geicu, & Dimischiotu, 2015)
Células caninas del epitelio tubular renal Madin-Darby (MDCK)	Deshidratación	150 mM NaCl (osmolaridad 500mOsm/kg H <sub>2</sub> O, 24 h)	(Wang et al., 2014)
	Aminoglucósidos	Gentamicina (2-3 mM, 96 h)	(El Mouedden, Laurent, Mingot-Leclercq, & Tulkens, 2000; Peyrou & Cribb, 2007)
	Diabetes	Glucosa alta (30 mM, 24-48 h)	(Shrikanth & Chilkunda, 2017)
	Deshidratación	Osmolaridad 650 mOsm/kg H <sub>2</sub> O.	(Wang et al., 2014)
Células de podocitos murinos (MPC5)	Aminoglucósidos	Puromicina (2-20 mM, 24 h)	(Yan et al., 2012)
	Diabetes	Glucosa alta (30 mM, (24-72 h)	(Bai, Geng, Li, Yang, & Tian, 2014; Lei, Zhang, Li, & Ren, 2018; Paeng et al., 2014)
Células epiteliales renales de rata (NRK-52)	Aminoglucósidos	Gentamicina (3 mM, 24 h)	(Chen et al., 2015; Peyrou & Cribb, 2007)
	Diabetes	Metilglucosa (0.2-1 mM, 24 h), glucosa (30 mM, 48 h)	(Shopit et al., 2020; Tong et al., 2019)
	Deshidratación	150 mM NaCl NaCl (osmolaridad 600mOsm/kg)	(Kojima et al., 2010)
Células murinas del epitelio tubular renal (MCT)	Diabetes	Glucosa alta (25 mM, 48 h)	(Habib, Yadav, Kidane, Weiss, & Liang, 2016)
Células mesangiales glomerulares de rata (HBZY-1)	Diabetes	Productos finales de glicación avanzada (200 µg/mL), Glucosa alta (25 mM, 24-72 h)	(Lu et al., 2015; Zhang et al., 2014)
Células murinas del conducto colector medular interno (mIMCD3)	Deshidratación	100-150 mM NaCl (osmolaridad 500-600 mOsm/kg H <sub>2</sub> O, 48-72 h)	(Leroy et al., 2000; Neuhof et al., 2004)
Células humanas del epitelio del túbulo proximal (HK2)	Aminoglucósidos	Gentamicina (2-8 mM, 24 h)	(Bae et al., 2013; Campos et al., 2018)
	Diabetes	Glucosa alta (25 mM , 48 h-168 h)	(Hills et al., 2018)
	Deshidratación	120 mM NaCl	(Berry et al., 2017)
Células porcinas del epitelio de riñones (LLC-PK1)	Aminoglucósidos	Gentamicina (2-3 mM, 96 h)	(El Mouedden et al., 2000; Peyrou & Cribb, 2007)

Tabla 2  
Modelos in vivo de distintos factores etiológicos de daño renal

Organismo	Estimulo	Características del modelo	Referencia
Ratas macho <i>Wistar, Sprague Dawley</i>	Aminoglucósidos	Gentamicina (80-150 mg/Kg/d IP, 4-10 d)	(Abdel-Azeem et al., 2017; Arjajarn et al., 2016; Bae et al., 2013; El-Kashef et al., 2015; Guo et al., 2013; P. Liu et al., 2014; Mahmoud, 2017; Morales et al., 2010; Pedraza-Chaverri et al., 2004, 2018)
<i>Wistar-STZ, Sprague Dawley-STZ</i> , obesas diabéticas Zucker, Wistar obesas, Otsuka Long-Evans Tokushima obesas	Diabetes	STZ (60-70 mg/Kg x 1d IP), nefropatía diabética moderada después de 5-12 semanas). STZ (55 mg/Kg)+dieta alta en glucosa, nefropatía diabética severa después de 4 semanas) STZ (35 mg/Kg)+ Dieta alta en grasa, nefropatía diabética leve después de 5 semanas) Obesas diabéticas Zucker (nefropatía diabética moderada después de 12-36 semanas) Obesas Wistar (nefropatía diabética severa después de 24-44 semanas) Otsuka Long-Evans Tokushima obesas (nefropatía diabética severa después de 20-30 semanas)	(Bai et al., 2014; Lei et al., 2018; C. Li, Matavelli, Akhtar, & Siragy, 2019; Luo et al., 2009; Paeng et al., 2014; Shopit et al., 2020; Tong et al., 2019; Zhang et al., 2014)
<i>Wistar, Sprague Dawley</i>	Deshidratación	Calor (37 °C, 1 h/d x 5 d x 4 semanas). Privación de agua (2 d)	(García-Arroyo et al., 2016; García-Arroyo et al., 2019; García-Arroyo et al., 2017; K. Itoh et al., 2014; Sanchez-Lozada et al., 2018)
Ratones macho <i>ICR</i>	Aminoglucósidos	Gentamicina (100 mg/kg/d IP, 7-8 d)	(Mahmoud, 2017; Sun et al., 2018)
<i>ICR-STZ, DBA/2-STZ, db/db, Akita Ins2+/C96Y, KK-STZ, KK-Ay, C57BL/6 (Dieta alta en grasa)</i>	Diabetes	STZ 65-70 mg/kg x 1d IP STZ 50-55 mg/Kg x 5d IP (desarrollo de diabetes 5-8 semanas) db/db (nefropatía diabética después de 4-12 semanas) Akita Ins2+/C96Y (nefropatía diabética después de 20-30 semanas) KK-STZ & KK-Ay (nefropatía diabética después de 16-35 semanas) Dieta alta en grasa (nefropatía diabética después 8-12 semanas)	(Habib et al., 2016; Kiriada, Ogura, & Koya, 2016; Li et al., 2019; Song et al., 2020; Zhang et al., 2014)
C57BL/6 J	Deshidratación	Calor (39.5 °C 30 min/h x 7-8/d x 5 d x 5 semanas)	(Miliagres et al., 2018; Roncal-Jimenez et al., 2017; Roncal Jimenez et al., 2013)

Nota. Abreviaturas: IP: Intraperitoneal, STZ: Streptozotocina

y conducen a una obstrucción parcial o completa que resulta en una disminución de la función excretora (Rivas-Cabanero, Garcia-Bastos, Arevalo, Rodriguez-Barbero, & Lopez-Novoa, 1993). La obstrucción aumenta la presión hidrostática en los túbulos y la cápsula de Bowman, lo que conduce a una disminución de la presión de filtración y la filtración glomerular. El daño estructural de los túbulos conduce a un deterioro de la reabsorción que causa acumulación de agua y solutos en las partes distales de la nefrona, activando el circuito de retroalimentación tubuloglomerular. Este mecanismo fisiológico se logra mediante la angiotensina II y la arteriola aferente y eferente, lo que resulta en una disminución de la filtración glomerular (Blantz, Deng, Miracle, & Thomson, 2007). Esta retroalimentación se activa como un mecanismo de protección para evitar una gran pérdida de agua y solutos (Komlosi, Bell, & Zhang, 2009).

La función renal reducida se ve cuando el proceso de regeneración no puede compensar el daño tisular causado por el agente tóxico. Algunos modelos *in vitro* se han desarrollado a partir de líneas celulares expuestas a GM para evaluar biomarcadores y potenciales candidatos en células de esta región de la nefrona, como células caninas del epitelio tubular renal Madin-Darby (MDCK), epiteliales renales de rata (NRK-52) y humanas del epitelio del túbulo proximal (HK2) (Bae et al., 2013; Campos et al., 2018; Chen et al., 2015; El Mouedden et al., 2000; Peyrou & Cribb, 2007).

El proceso de GM es seguido de disminución en el flujo sanguíneo renal como resultado del aumento de la resistencia vascular (Morales et al., 2002). Al principio, la disminución del flujo sanguíneo es el resultado de la activación del circuito de retroalimentación tubuloglomerular debido a la alteración de la reabsorción tubular, para evitar la pérdida de líquidos y electrolitos. Después de la adaptación de este mecanismo fisiológico, el flujo se reduce debido a la producción de vasoconstrictores en los vasos sanguíneos renales y por efecto directo de GM en las células vasculares. GM también interfiere en la relajación de las células vasculares del músculo liso al estimular la vasoconstricción y reducir el flujo sanguíneo renal (Secilmis et al., 2005).

## Nefropatía diabética

Se han establecido diferentes modelos crónicos de roedores (generalmente machos) para diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) en el estudio de nefropatía diabética. El subcomité de ne-

fropatía del Consorcio de Modelos Animales de Complicaciones Diabéticas (AMDCC) ha sugerido que un modelo ideal debe representar la nefropatía diabética humana con albuminuria progresiva (más de 10 veces los valores normales de albumina), disminución de la función renal (menor al 50 %), y cambios histológicos en glomérulos y lesiones tubulointersticiales (expansión avanzada de la matriz mesangial, engrosamiento de la membrana basal glomerular, hialinosis arteriolar y fibrosis tubulointersticial).

Entre los modelos diabéticos más utilizados se encuentran por inducción a partir de administración intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) como modelo de DM1, al ser tóxica para las células  $\beta$  pancreáticas produciendo deficiencia de insulina (Wilson & Leiter, 1990). En ratones, la administración intraperitoneal de STZ es a partir de una dosis alta, preferentemente en ayuno y acompañada de suplementación oral de glucosa en los primeros días, o múltiples dosis a menor dosis para disminuir el índice de mortalidad en la inducción diabética. Diferentes cepas de roedores se usan a partir de inducción con STZ para producir daño renal, con significativas diferencias en la lesión renal, albuminuria y cambios histológicos en diferentes cepas. Los ratones C57BL/6 son una de las cepas más utilizada en la investigación preclínica, sin embargo, esta cepa es relativamente resistente al desarrollo de daño renal en modelos experimentales de enfermedades renales, incluida la nefropatía diabética (Breyer et al., 2005).

Por el contrario, los ratones DBA/2 desarrollan albuminuria 5 semanas después de inducción con STZ y exhiben algunas de las características patológicas de nefropatía diabética humana a las 25 semanas, incluida la glomeruloesclerosis nodular, la hialinosis arteriolar, el engrosamiento de la membrana basal glomerular y la expansión grave de la matriz mesangial (Qi et al., 2005). Los ratones CD1 inducidos por una dosis de STZ desarrollan después de 6 meses albuminuria, daño renal crónico asociado con fibrosis tubulointersticial y disminución de la función renal (Sugimoto, Grahovac, Zeisberg, & Kalluri, 2007).

Las ratas diabéticas inducidas por STZ también se han utilizado para estudiar la nefropatía diabética. Ratas macho Sprague-Dawley o Wistar mediante una sola inyección intravenosa de STZ (50-70 mg/kg) ha demostrado albuminuria aumentada a las 24 semanas después de la inducción de DM, sin embargo, no se ha observado acumulación grave de matriz mesangial, lesiones nodulares en los glomérulos, daño severo de las células tubulares o fibrosis tubulointersticial (Hayashi

et al., 2001; Kitada et al., 2003). Es por ello que cambios morfológicos inducidos por hiperglucemia en los riñones de roedores han sido sugeridos al ratón como un mejor modelo, siendo los ratones CD1 diabéticos inducidos por STZ los que presentan patologías asociadas con la nefropatía diabética humana avanzada.

Otro modelo utilizado en DM1 es a partir de ratones diabéticos Akita, los cuales tienen una mutación que causa un plegamiento anormal de la proteína de la insulina y lesiones tóxicas a las células  $\beta$  pancreáticas, así como una capacidad disminuida para secretar insulina. Diferentes cepas con esta mutación desarrollan grados similares de hiperglucemia, pero diferentes manifestaciones de daño renal (Susztak, Raff, Schiffer, & Bottinger, 2006). Sin embargo, independientemente de la cepa, esta mutación no está asociada a alteraciones estructurales de nefropatía diabética humana avanzada, como mesangiólisis, esclerosis mesangial y la fibrosis tubulointersticial, limitándose a cambios morfológicos renales moderados.

Otro modelo es la cepa OVE26, basada en una sobreexpresión de calmodulina en las células  $\beta$  pancreáticas que desencadena una producción deficiente de insulina, produciendo la mayoría de las características de la nefropatía diabética humana avanzada con hiperglucemia crónica (Teiken et al., 2008). En esta cepa la filtración glomerular disminuye considerablemente a partir de los 5 meses y la albuminuria incrementa progresivamente desde los 9 meses, lo que resulta en un engrosamiento de la membrana basal glomerular, pérdida de podocitos, un marcado aumento en el área mesangial con expansión difusa y nodular de la matriz mesangial y fibrosis tubulointersticial.

En DM2, los ratones db/db y KK-Ay, y las ratas obesas diabéticas Zucker, Wistar obesas, obesas Otsuka Long-Evans Tokushima y Goto-Kakizaki, han servido como modelos con daño renal. Los ratones db/db constituyen el modelo más utilizado de DM2, basados en una mutación en el gen del receptor de leptina lo que afecta las respuestas hipotalámicas. Esto produce obesidad, hiperlipidemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y DM a partir de 6-10 semanas de edad y albuminuria moderada a severa a las 8-25 semanas. Esto produce cambios histológicos progresivos en riñones, incluido un aumento del engrosamiento de la lámina basal glomerular, pérdida de podocitos, y una expansión moderada de la matriz mesangial (Koya et al., 2000). Sin embargo, no se desarrollan procesos avanzados como mesangiólisis, esclerosis mesangial nodular, fibrosis tubulointersticial grave o insuficiencia renal progresiva.

Por lo tanto, es un modelo útil de cambios morfológicos tempranos a moderadamente avanzados de nefropatía diabética humana.

Otro modelo utilizado es a partir de ratones KK, que exhiben leve resistencia a la insulina y presentan obesidad, acompañados de albuminuria después de las 10-15 semanas de edad y un ligero aumento en la expansión de la matriz mesangial y el engrosamiento de la membrana basal glomerular (Tomino et al., 2005). En contraste el ratón KK-Ay, que se produce al transferir el gen obeso alelo Ay al ratón KK es más obeso y tiene más probabilidades de desarrollar hiperglucemia y albuminuria, con mayor severidad en la expansión de la matriz mesangial, esclerosis segmentaria y disminución del número de podocitos (Omote et al., 2014).

Adicionalmente la obesidad puede inducirse en roedores a partir de una dieta alta en grasas que induce diversas alteraciones metabólicas sistémicas en ratones, incluyendo obesidad, resistencia a la insulina, hiperglucemia y perfiles lipídicos anormales. Se ha demostrado que después de 12 semanas de sobrecarga lipídica sistémica los ratones C57BL/6 muestran un aumento leve en la excreción de albúmina urinaria y cambios histológicos en sus riñones, como la acumulación de proteínas de la matriz extracelular, engrosamiento del basamento glomerular, estrés oxidativo e ingestión, expansión del área mesangial, la fibrosis intersticial y la albuminuria (Deji et al., 2009).

Por otro lado, modelos en ratas también han demostrado relevancia en nefropatía diabética. Las ratas obesas diabéticas Zucker desarrollan resistencia progresiva a la insulina e intolerancia a la glucosa entre las 8-10 semanas de edad, presentando albuminuria desde las 6 semanas, y lesiones moderadas como glomeruloesclerosis, daño de células tubulares, fibrosis, y producción mesangial de proteínas de la matriz extracelular (Chander et al., 2004). Similarmente, las ratas Wistar Obesas (WF) desarrollan resistencia progresiva a la insulina, intolerancia a la glucosa y obesidad entre las 3-10 semanas de edad, exhibiendo pérdida de podocitos, expansión del área mesangial, daño de células tubulares y fibrosis tubulointersticial a las 24-44 semanas (Kitada, Ogura, Suzuki et al., 2016).

Las lesiones renales inducidas por DM en las ratas WF son progresivas y severas para lesiones glomerulares y fibrosis tubulointersticial. Las ratas macho Otsuka Long-Evans Tokushima obesas muestran intolerancia a la glucosa a partir de las 8 semanas de edad, altos niveles de glucosa en plasma a partir de las 18 semanas de edad, albuminuria, proteinuria, aumento de la filtra-

ción glomerular entre 20-30 semanas de edad, y glomerulosclerosis difusa y lesiones nodulares (Lee et al., 2012). Después de las 40 semanas de edad, se observa una expansión moderada de la matriz mesangial acompañada de la acumulación de la matriz extracelular y el engrosamiento de las paredes capilares glomerulares, lo que sugiere glomerulosclerosis difusa. Además, se observan características de nefropatía diabética avanzada a las 55-65 semanas de edad, con expansión de las lesiones nodulares glomerulares y un aumento severo en la expansión de la matriz mesangial.

### Deshidratación por calor

Diferentes modelos de roedores se han utilizado para evaluar el impacto de la deshidratación en el daño renal crónico, con una intervención a partir de privación de agua y exposición a calor. Un estudio en ratones C57BL/6 J evaluó el efecto de deshidratación por calor, proponiendo un modelo con intervalos de deshidratación por calor durante 30 min/h durante 7 h en 5 días/semana, comparando hidratación durante los 30 min de descanso entre periodos de deshidratación contra la privación de agua en este periodo (Roncal Jimenez et al., 2013). Este estudio demostró en ratones sin hidratación durante los 30 min de descanso, una mayor pérdida de peso por deshidratación y un significativo aumento en los niveles de creatinina sérica, presión arterial, y activación de la vía del poliol (sorbitol en corteza renal, fructuosa en corteza renal, ácido úrico en corteza renal), comparado con los ratones que fueron hidratados durante las horas de deshidratación por calor. Esto sugiere que en la construcción del modelo, el daño renal es más pronunciado al privar a los animales de hidratación.

En otros estudios, este modelo, elaborado con intervalos de deshidratación por calor durante 30 min/h durante 7-8 h (con privación de agua en periodos de descanso) en 5 días por semana, ha evidenciado aumento en la creatinina sérica, lesiones en el túbulo proximal (con pérdida de células en el borde en cepillo) e infiltración de macrófagos y fibrosis renal temprana tanto en la corteza renal como en la médula externa (Milagres et al., 2018; Roncal-Jimenez et al., 2017). También se han observado cambios glomerulares. Sin embargo, el estrés por calor no resulta en mesangiolisis. Adicionalmente, este modelo ha demostrado un aumento significativo en la expresión de proteína aldosa reductasa cortical y fructoquinasa, y niveles más altos de fructosa, sorbitol.

Estos modelos con deshidratación aguda relativa-

mente severa, resultan aproximadamente en un 14 % de pérdida de peso diaria al final de cada período de deshidratación por calor, con un impacto en su reducción de peso a las 5 semanas de aproximadamente 4 % comparadas con control. Esto está acompañado de un marcado aumento de la osmolalidad sérica en asociación con un aumento de la coceptina sérica y un aumento de la osmolalidad urinaria y creatinina urinaria, consistente con la concentración urinaria.

Estudios en ratas Wistar expuestas a deshidratación por calor 1 h diaria con inmediata rehidratación posterior, han confirmado daño renal después de 4 semanas, al evidenciar aumento en los niveles de coceptina, aumento en la expresión de receptores de vasopresina, expresión de lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL) (García-Arroyo et al., 2017, 2019; Sanchez-Lozada et al., 2018). Similarmente, este daño ha confirmado la activación de la vía de poliol observada en ratones, al presentar niveles más altos de fructosa, sorbitol, ácido úrico en corteza renal, peroxidación lipídica y proteica, junto a un aumento en expresión de aldosterona reductasa, sorbitol deshidrogenasa, fosfoquinasa y xantina oxidasa.

Adicionalmente, la relevancia fisiopatológica del aumento en la osmolaridad se ha explorado en modelos *in vitro* en distintas líneas celulares expuestas a altas concentraciones de cloruro de sodio para evaluar biomarcadores y potenciales candidatos en distintas estructuras renales, como en células MDCK, podocitos (MPC5) y células del conducto colector medular interno (mIMCD3) (Leroy et al., 2000; Neuhofer et al., 2004; Wang et al., 2014).

### Mecanismos de daño renal y principales biomarcadores

Modelos de daño renal *in vivo* por distintas etiologías, han determinado la conexión en vías metabólicas de daño, como generación de estrés oxidativo, inflamación y apoptosis (Tabla 3). Finalmente, en este terreno común de mecanismos fisiopatológicos existen similitudes en los mecanismos moleculares que median la muerte de las células renales. Diferentes estudios han demostrado que tales enfoques son necesarios para abordar principales estrategias de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la insuficiencia renal aguda y crónica (Bao, Yuan, Chen, & Lin, 2018).

#### Daño oxidativo



Tabla 3  
Principales mecanismos de señalización de daño renal en modelos *in vitro* e *in vivo* a partir de distintos factores etiológicos

Mecanismo de daño renal	Factores activadores	Modelo	Marcadores moleculares	Referencia
Reducción de la capacidad antioxidante sobre radicales libres	GM	Células HEK-293, Células HK-2, células NRK-52, ratones machos ICR, Ratas Wistar Macho, Ratas macho Sprague-Dawley, Rata topo lampiña	Disminución en enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GSH, GPx, NQO1) Daño oxidativo (ROS, PCC, 3-NT) Productos de peroxidación lipídica (4-HNE, MDA) Alteración de la membrana por peroxidación (LDH) Activación de enzimas que producen daño oxidativo (NOX2)	(Arjinajam et al., 2016; Ay-can-Ustlyol et al., 2017; Bae et al., 2013; El-Kashef et al., 2015; Liu et al., 2016; Mahmoud, 2017; Morales et al., 2010; Pedraza-Chaverri et al., 2004; Sener et al., 2002; Shin, Yu, Kim, Choi, & Kang, 2014; Sun et al., 2018; Yan et al., 2012)
		Ratas macho Sprague-Dawley, ratas macho Wistar (deshidratación por calor y frutuosa)	Disminución en enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GCLM, QO1) Daño oxidativo (TBARS, ST) Productos de peroxidación lipídica (4-HNE, MDA) Activación de enzimas que producen daño oxidativo (P22phox, NOX2)	(Cheng et al., 2018; Das, Pratim Chakraborty, Ghosh, & Kumar Nandi, 2010; García-Arroyo et al., 2016; García-Arroyo et al., 2019; García-Arroyo et al., 2017; T. Q. Liu et al., 2014; Sanchez-Lozada et al., 2018)
Activación de la vía pro-inflamatoria	DM	Ratas macho Sprague-Dawley (STZ); ratones machos db/db, Ratas macho Sprague-Dawley (STZ+HFD); células NRK-52 (glucosa alta, metilglucosal); células MCT (glucosa alta), células HBZY-1 (productos finales de glicación), células HEK-293 (productos finales de glicación)	Disminución en enzimas antioxidantes o de reparación (SOD, CAT, GPx, OGG1) Daño oxidativo (ROS, 8-oxodG) Productos de peroxidación lipídica (MDA) Activación de enzimas que producen daño oxidativo (p47phox, p67phox, NOX2)	(Habib et al., 2016; Kitada et al., 2003; Serban et al., 2015; Shopit et al., 2020; Tong et al., 2019; Zhang et al., 2014)
		Ratones macho ICR, Ratas macho Sprague-Dawley, rata macho topo lampiña	Liberación de mediadores pro-inflamatorios (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ e IFN- $\gamma$ ), Aumento en moléculas de adhesión (MCP-1, ICAM-1 y VCAM-1, CCL5, MIP-2, CD-68) Inflamasoma: NLRP3	(Bae et al., 2013; El-Kashef et al., 2015; Li et al., 2016; P. Liu et al., 2014; Liu et al., 2016; Sun et al., 2018)
Activación de la vía pro-inflamatoria	Deshidratación	Células HEK-293 (NaCl), Células mIMCD3, Ratas macho Sprague-Dawley (deshidratación, calor), ratones C57BL/6 J macho (deshidratación por calor recurrente)	Liberación de mediadores pro-inflamatorios (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), Inflamasoma: HMGB1, ED-1, NLRP3, LC3II, PINK1/ Parkin, IL-18 Aumento en moléculas de adhesión (MCP-1) NFAT	(Cheng et al., 2018; T. Q. Liu et al., 2014; Milagres et al., 2018; Sanchez-Lozada et al., 2018; Wang et al., 2017)
		Células HEK-293 (productos finales de glicación), ratones db/db, células HBZY-1 (glucosa alta)	Liberación de mediadores pro-inflamatorios (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) Aumento en moléculas de adhesión (MCP-1) Inflamasoma: NLRP3	(Li et al., 2019; Serban et al., 2015; Tang & Yiu, 2020; Zhang et al., 2019)

Tabla 3 (Continuación)

Mecanismo de daño renal	Factores activadores	Modelo	Marcadores moleculares	Referencia
	GM	Ratas macho	Liberación de citocromo c al citosol, apertura de PTP Activación de enzimas que producen daño oxidativo (NOX4)	(Morales et al., 2010)
Disfunción mitocondrial	Deshidratación	Ratas macho Sprague-Dawley	Liberación de citocromo c al citosol, apertura de PTP Activación de enzimas que producen daño oxidativo (NOX4)	(Cheng et al., 2018; H. Itoh et al., 2002; Sanchez-Lozada et al., 2018; Turner, Sazonova, Wang, Pozzi, & Wagner, 2010)
DM		Células NRK-52E (metilgloxal)	Permeabilización de la membrana mitocondrial Activación de enzimas que producen daño oxidativo (NOX4)	(Li et al., 2019; Shopit et al., 2020; Zhang et al., 2014)
GM		Ratas macho Sprague-Dawley	Activación del elemento de respuesta antioxidante (HO-1, NRF2, Keap1) Respuesta mediadora (COX-2, HSP70)	(Arjinajam et al., 2016; Bae et al., 2013; Sue et al., 2009)
Reducción en la regulación de sistemas de defensa, mantenimiento y reparación celular	Deshidratación	Células mIMCD3, células HEK-293, ratas macho Wistar (deshidratación)	Activación del elemento de respuesta antioxidante (HO-1, NRF2, Keap1) Respuesta mediadora (COX-2, HSP70)	(Kuper, Bartels, Beck, & Neuhof, 2011; Neuhof et al., 2004; Turner et al., 2010; Wang et al., 2014)
DM		Células HPTECS (glucosa alta), células HK2 (glucosa alta), Ratas macho Sprague-Dawley (STZ+HFD)	Activación/supresión del elemento de respuesta antioxidante (HO-1, NRF2, Keap1) Respuesta mediadora (HSP27, HSP60, HSP70)	(Hills et al., 2018; Serban et al., 2015; Zhang et al., 2014)
GM		Células HK-2, Ratas Wistar Macho	NF-κB, ERK1/2, JAK-STAT, PKC, TGF-β1, SMAD2/3	(Bae et al., 2013)
Regulación de cascadas asociadas a activación de la muerte celular	Deshidratación	Ratones y conejos	NF-κB, ERK1, activación de la vía poli(ol-fructoquinasa (AR, KHK, SDH, XO), receptores de vasopresina V1a	(García-Arroyo et al., 2017; Hao et al., 2000; Sanchez-Lozada et al., 2018; Wang et al., 2014)
DM		Células MCT (glucosa alta), HEK-293 (productos finales de glicación), Células NRK-52 (metilgloxal)	NF-κB, disminución en la regulación de energía celular (disminución de AMPK, aumento de mTORC1), ERK1/2	(Habib et al., 2016; Serban et al., 2015; Shopit et al., 2020; Zhang et al., 2019)

Tabla 3 (Continuación)

Mecanismo de daño renal	Factores activadores	Modelo	Marcadores moleculares	Ref.
Apoptosis	GM	Células HEK293, células HK-2, fibroblastos aislados del túbulo proximal de ratas, riñones de ratones machos ICR Ratones macho nudes	Cas3, Cas8, Cas9, BAX, BCL-2, P53	(Bae et al., 2013; El Mouedden et al., 2000; P. Liu et al., 2014; Liu et al., 2016; Sue et al., 2009; Sun et al., 2018)
	Deshidratación	Células MDCK (medio hipertónico), ratas macho Wistar (deshidratación), Ratas macho Sprague-Dawley (expuestas a deshidratación y furosemida), células LLC-PK	BAX, Cas3, Cas9, BAX, BCL-2	(Kuper et al., 2011; Neuhof et al., 2004; Varlam, Siddiq, Parton, & Russmann, 2001; Wang et al., 2017)
	DM	Ratas macho Sprague-Dawley (STZ), Células MPC5 (glucosa alta), Células NRK-52 (metil-glioxal)	BAX, Cas3, Cas9, BCL2, P53	(Bai et al., 2014; Habib et al., 2016; Lei et al., 2018; Paeng et al., 2014; Tong et al., 2019)

*Nota.* Abreviaturas: 3-NT: 3-nitrotirosina; 4-NHE: 4-hidroxi-2-nonenal; 8-oxo-dG: 8-oxo-2'-desoxiguanosina; AR: Aldosterona reductasa; BAX: Proteína apoptótica; BCL-2: proteína antiapoptótica; Cas: Caspasa; CAT: Catalasa; CCL5: quimioquina CCL5; CD68: cúmulo de diferenciación 68; complex I-II: cadena transportadora de electrones; COX1: Ciclooxigenasa 1; db/db: mutante de los genes del receptor de la leptina; DNP: dinitrofenol; GCLM: Ligasa glutamato-cisteína; GM: gentamicina; GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; GPx: glutatión peroxidasa; GR: glutatión reductasa; GSH: Glutión; HBZY-1: Células mesangiales glomerulares de rata; HEK-293: Células embrionarias de riñón humano 293; HFD: Dieta alta en grasa; HK2: Células humanas del epitelio del túbulo proximal; HO-1: hemo-oxigenasa 1; HPTCS: Células epiteliales tubulares proximales humanas; HSP: proteínas de choque de calor; ICAM: Moléculas de adhesión intercelular; IFN- $\gamma$ : Interferon gamma; IL: interleucina; Keap1: Proteína Asociada a ECH de Tipo Kelch 1; KHK: fructoquinasa; KIM-1: Molécula de daño renal 1; LC3: Cadena ligera de proteína asociada a microtúbulos 3; LDH: lactato deshidrogenasa; LLC-PK1: Células porcinas del epitelio de riñones; MCP: proteína quimioatrayente de monocitos 1; MCT: Células murinas del epitelio tubular renal; MDA: malondialdehído; MDCK: Células caninas del epitelio tubular renal Madin-Darby; mIMCD3: Células murinas del conducto colector medular interno; MIP-2: proteínas inflamatorias de macrófagos; mpe5: Células de podocitos murinos; NDUFB8: ubiquinona oxidoreductasa subunidad B8; NGAL: lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos; NLRP3: Criopirina; NOX4: NAD(P)H quinona oxidoreductasa 1; NRF2: factor nuclear eritroide 2; NRK-52: Células epiteliales renales de rata; P53: proteína supresora de tumores; PCC: Carbonilos presentes en proteína; PGC-1 $\alpha$ : coactivador 1 $\alpha$  del receptor activado gamma del promotor de peroxisoma; PINK1: Quinasa putativa inducida por PTEN 1; PKC $\alpha$ : proteína quinasa C  $\alpha$ ; PTP: poro de transición de permeabilidad mitocondrial; ROS: Especies reactivas de oxígeno; SDH: sorbitol deshidrogenasa; SOD: superóxido dismutasa; ST: TioI serico; STC-1: estamiocalcina-1; STZ: Estreptozotocina; TAS: sistema total antioxidante; TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; TGF- $\beta$ 1: Factor de crecimiento transformante beta 1; TNF- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral alfa; TRAF: Factor 1 asociado al receptor de TNF; TUG1: gen regulado por taurina; UCP2: proteína desacoplante 2; V2R: receptor de vasopresina; VCAM: Molécula de adhesión vascular; XO: xantina oxidasa

El daño oxidativo ocurre después de la interacción entre las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS, respectivamente) y los lípidos en las membranas celulares y mitocondriales en un proceso conocido como peroxidación lipídica. Diferentes estructuras del riñón están involucradas en la producción de agentes que causan daño oxidativo que perturba la función renal, afectando la vasculatura renal, glomérulo y túbulo renales (Ratliff, Abdulmahdi, Pawar, & Wolin, 2016).

Por otro lado, el daño oxidativo puede producirse por activación de enzimas que producen ROS y NOS, como la activación de complejos enzimáticos como nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasas (NOX) que su principal función es producir aniones superóxido y ROS a expensas de NADPH (Rastogi, Geng, Li, & Ding, 2016). Cabe resaltar que ROS proveniente de NOX están implicado en procesos fisiológicos renales, incluidos la gluconeogénesis, transporte de glucosa, retroalimentación tubuloglomerular, la hemodinámica y el transporte de electrolitos (Sedeek, Nasrallah, Touyz, & Hebert, 2013).

Más allá de su papel en la defensa y señalización, NOX juega un papel principal en el estrés oxidativo, regulando los niveles de ROS que exceden los mecanismos de defensa antioxidantes del cuerpo. La producción excesiva de ROS a partir de NOX2, así como la regulación positiva de NOX y sus subunidades se observa en numerosos estados de lesión renal, como GM, DM y deshidratación (Kitada et al., 2003; Li et al., 2019). Así mismo, el daño oxidativo es neutralizado constantemente por captadores de radicales y enzimas antioxidantes, como glutatión reducido (GSH), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX), glutatión reductasa (GR) y hemo oxigenasa (HO) (J. Li, O, Li, Jiang, & Ghanbari, 2013). Diversos estímulos, como GM, deshidratación y glucosa alta, descompensan este sistema antioxidante, evidenciando una reducción en la expresión de estas enzimas y esta sobrecarga oxidativa producen la activación de cascadas que continúan promoviendo el daño en la célula renal (Serban et al., 2015; Sun et al., 2018).

La evidencia de daño oxidativo en estructuras renales a partir de GM, DM y deshidratación ha sido demostrada también por el aumento en los niveles de productos de peroxidación lipídica, como 4-hidroxineal (4-HNE) o malondialdehído (MDA) y oxidación proteica (García-Arroyo et al., 2017; Pedraza-Chaverri et al., 2004; Tong et al., 2019). Esta peroxidación dentro de la célula conlleva una alteración de la membrana,

la cual puede evidenciarse por liberación de enzimas citosólicas como lactato deshidrogenasa (LDH) tras exposición a Gentamicina (Servais, Jossin, Van Bambeke, Tulkens, & Mingeot-Leclercq, 2006).

### Activación de la vía pro-inflamatoria.

Todas las células asociadas con la vasculatura renal, incluidas las células endoteliales, las células vasculares del músculo liso, fibroblastos y las células inflamatorias residentes e infiltrantes, parecen ser capaces de producir niveles de ROS y/o RNS que promueven la fisiopatología (Ratliff et al., 2016). El endotelio es particularmente vulnerable al estrés oxidativo y sufre cambios a medida que los niveles de ROS se vuelven moderados a severos, promoviendo inflamación por producción de citoquinas y la expresión de moléculas de adhesión superficial que promueven la remodelación vascular. A medida que la inflamación avanza en el riñón, las células mesangiales y endoteliales estresadas ayudan a reclutar leucocitos hacia el glomérulo y las regiones perivasculares mediante la liberación de citoquinas proinflamatorias, como interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) (Satriano, Banas, Luckow, Nelson, & Schlondorff, 1997). Las células mieloides y macrófagos que ingresan al riñón desde la circulación también liberan citoquinas proinflamatorias debido a la activación inducida dependiente de ROS de los inflamasomas (Cruz et al., 2007).

En modelos de GM, DM y deshidratación por calor se ha evidenciado aumento en niveles de mediadores pro-inflamatorios (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) y aumento en moléculas de adhesión (MCP-1), acompañado de activación del inflamasoma, demostrado por activación de NLRP3 y expresión de IL-18 e IL-1 $\beta$  (Bae et al., 2013; El-Kashef et al., 2015; García-Arroyo et al., 2017; Hills et al., 2018; Milagres et al., 2018; Roncal Jimenez et al., 2013; Sun et al., 2018).

Adicionalmente, la expresión de iNOS es regulada en células mesangiales por varias citoquinas incluyendo IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$ , lo que produce generación de óxido nítrico (NO), que genera una competencia con SOD por la eliminación de superóxido, generando peroxinitrito y otros RNS, los cuales son inhibidores irreversible muy potente de la respiración mitocondrial (Ratliff et al., 2016).

## Disfunción mitocondrial

La capacidad antioxidante reducida contribuye al estrés oxidativo que conduce a la disfunción de la cadena de transporte de electrones mitocondrial. Las mitocondrias es una de las dos principales fuentes de ROS, pero también es susceptible al estrés oxidativo. La capacidad antioxidante reducida contribuye al estrés oxidativo que conduce a la disfunción de la cadena de transporte de electrones mitocondriales. Citoquinas pro-inflamatorias, como interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), activa a NOX2 generando más estrés oxidativo. Entre estas, uno de los mecanismos se produce a partir de NOX4, que contribuye a la generación de ROS dentro del compartimento mitocondrial. Se ha demostrado que un componente esencial en la generación oxidativa mitocondrial es a partir del sistema NOX4. La activación de NOX4 por p22-phox y NOX2 (gp91-phox) se ha sugerido en fracciones mitocondriales de corteza renal en ratas expuestas a deshidratación con estrés por calor (García-Arroyo et al., 2017).

A su vez se ha observado una mayor expresión de otras subunidades de NOX en varias patologías renales y su regulación negativa se ha relacionado con efectos en la salud renal (Kitada et al., 2003; Li et al., 2019). Otro proceso importante, es el daño a la membrana mitocondrial producido por el estrés oxidativo, lo que resulta en la liberación de varias proteínas, como la endonucleasa G (EndoG), el factor inductor de apoptosis (AIF) y el citocromo c (CytC). Se ha evidenciado de la liberación de CytC en las células renales en respuesta a gentamicina, DM y deshidratación en diferentes estructuras renales (Morales et al., 2010; Wang et al., 2019).

## Reducción en la regulación de sistemas de defensa, mantenimiento y reparación celular

El factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) regulado por la vía de la proteína asociada a ECH tipo Kelch (Keap1) es el regulador maestro de las enzimas antioxidantes y desintoxicantes y su desregulación se ha asociado con varias formas de daño renal asociado con el estrés oxidativo (Ratcliff et al., 2016). Nrf2 se transloca al núcleo en presencia de ROS como mecanismo protector, mediando la respuesta transcripcional de las células al estrés oxidativo y aumentando el nivel de HO-1, lo que está relacionado con un aumento en la expresión de SOD y CAT. Nrf2 juega un papel protector contra el daño en estructuras rena-

les al regular las enzimas antioxidantes y las proteínas desintoxicantes en distintos estímulos como GM, DM y deshidratación (Kim, Sato, Rodríguez-Iturbe, & Vaziri, 2011; Mahmoud, 2017; Tong et al., 2019).

Diversos estudios han demostrado que después de la deshidratación, el mantenimiento de la función renal normal se vuelve dependiente de la síntesis de prostaglandinas. En respuesta a la privación de agua, los niveles de mRNA de COX2 (pero no COX1) aumentan significativamente en la médula renal, específicamente en las células intersticiales medulares renales (Hao et al., 2000).

Curiosamente, COX2 ha demostrado estar involucrado en un mecanismo de protección de las células intersticiales medulares renales que ayudan a sobrevivir el estrés hiperosmótico al igual que juegan un papel crítico en el mantenimiento del flujo sanguíneo medular renal. Entre otros sistemas de protección, las células papilares se adaptan a su entorno hiperosmótico al acumular osmolitos orgánicos y mediante una síntesis mejorada de la proteína de choque térmico 70 (HSP70), que protege contra altas concentraciones de solutos, urea, DM y sustancias químicas (Serban et al., 2015). En este proceso COX-2 parece jugar un papel importante en la prevención de apoptosis y en la osmoadaptación celular, ya que se ha demostrado que ésta prostaglandina estimula la expresión de HSP70 (Neuhofer et al., 2004).

## Regulación de cascadas asociadas a activación de la muerte celular

Los altos niveles de óxido nítrico generado por iNOS median los efectos pro-inflamatorios activando el factor nuclear kappa-potenciador de la cadena ligera de las células B activadas (NF- $\kappa$ B), el cual es liberado de una subunidad inhibitoria I- $\kappa$ B y es translocado al núcleo donde promueve la activación transcripcional de distintos genes. Esta activación se ha visto en estímulos como GM, los productos finales de glicación avanzada en DM y deshidratación (Bae et al., 2013; Hao et al., 2000; Mahmoud, 2017; Neuhofer et al., 2004; Serban et al., 2015).

Se conocen múltiples mecanismos intracelulares renales posibles para regular la inflamación y las cascadas de fibrosis en los riñones (Ratcliff et al., 2016). TGF- $\beta$ 1 es una molécula clave en estos procesos, ya que las células epiteliales tubulares son capaces de activar varias vías de transducción de señales, como las que involucran MAPK. Se ha demostrado que una de

estas vías, la vía de señalización de ERK, se activa por TGF- $\beta$ , la cual juega un papel importante en la fibrosis mediada por TGF- $\beta$  en exposición por GM y DM (Bae et al., 2013; Hills et al., 2018). Las señales de TGF- $\beta$ 1 son transducidas por receptores transmembrana y mediadores intracelulares conocidos como Smads, que a su vez se translocan al núcleo.

Otro mecanismo importante incluye la activación la vía de poliol (aldosa reductasa-sorbitol deshidrogenasa) inducida por la deshidratación térmica, involucrada en estrés oxidativo, liberación de quimiocinas y generación de ácido úrico (Cirillo et al., 2009). En el modelo de deshidratación asociada a la ERC en ratones, se ha demostrado que la fructosa producida de manera endógena en la corteza renal, es responsable de lesión tubular proximal. Estos estudios han sugerido que la activación de la vía de poliol-fructoquinasa es probablemente uno de los sistemas mediadores que conducen el estrés por calor en la ERC asociada a la deshidratación. A su vez, la deshidratación también es un potente estímulo para la liberación de vasopresina, que a su vez ayuda a la concentración urinaria (Bouby & Fernandes, 2003).

Mientras que la vasopresina ha sido propuesta inicialmente como una hormona estrictamente beneficiosa para ayudar a prevenir la pérdida de agua, también se ha implicado como un mediador de la lesión renal y aguda. Se han reportado efectos que incluyen hiperfiltración glomerular y albuminuria (Bardoux et al., 1999, 2003). De hecho, también hay evidencia que la supresión de la vasopresina puede retardar la progresión de la ERC en modelos *in vivo* (Bouby, Bachmann, Bichet, & Bankir, 1990), lo que lleva al reconocimiento de que la vasopresina también puede ser un mediador importante para el estrés por calor. Existe literatura emergente que vincula el metabolismo de la fructosa con la vasopresina (Johnson et al., 2016). Por ejemplo, se sabe que la infusión de fructosa hipertónica estimula la liberación de vasopresina en humanos, mientras que esto no se observa con la glucosa equimolar (Wolf, Nguyen, Dumoulin, & Berthelay, 1992).

## Apoptosis

Varios estímulos desencadenan la muerte celular programada en las células renales, ya sea por estímulos extrínsecos a través de los receptores de muerte de la superficie celular (como TNF- $\alpha$ ) mediados por caspasa 8 o por estímulos intrínsecos a través de la vía de señalización mitocondrial. La permeabilización

de la membrana externa mitocondrial por proteínas pro-apoptóticas, provoca la liberación de cyt-c desde la membrana mitocondrial al citosol, seguido de la formación de apoptosoma, activación de caspasas y, en consecuencia muerte celular (Ratliff et al., 2016). Varios mediadores regulan la apoptosis, incluidas las c-Jun N terminal kinasas (JNK), que activan la apoptosis a través de la regulación positiva de la transcripción de genes pro-apoptóticos, incluido p53 y la fosforilación de c-Jun. La activación de JNK por ROS da como resultado la estimulación tanto de la quinasa de señalización de apoptosis pro-apoptótica 1 como de la poliperasa de poli (ADP-ribosil) promotor necrótico de muerte.

Diversos estímulos inducen la agregación de Bax y la translocación a las mitocondria, provocando la activación de caspasa-9, que luego escinde y activa la caspasa efectora, caspasa-3, lo que conduce a una pérdida del potencial transmembrana mitocondrial y a la muerte celular apoptótica (Bae et al., 2013; Campos et al., 2018; Hao et al., 2000; Milagres et al., 2018; Tong et al., 2019).

## Conclusiones

Los mecanismos que median la muerte celular renal inducida por nefrotoxicantes y patologías renales crónicas son sorprendentemente similares. En este terreno común de mecanismos fisiopatológicos existen similitudes en los mecanismos moleculares que median la muerte de las células renales. Diferentes estudios han demostrado que tales enfoques son necesarios para abordar principales estrategias de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la insuficiencia renal aguda y crónica.

El estudio de líneas celulares *in vitro* han sido utilizado para estudiar daño renal a partir distintos factores etiológicos y diversos estudios demuestran con extensa evidencia que gran variedad de marcadores moleculares de daño pueden tener utilidad terapéutica. Esto es particularmente importante en descubrimiento de nuevas moléculas, tomando en cuenta que la diferencia en tiempo para los modelos *in vivo* de aminoglicosidos y otros modelos crónicos es considerable menor, lo que permite su utilización como modelos de tamizaje. Sin embargo, es importante el abordaje de modelos *in vivo* en situaciones crónicas adecuadas para abordar la traslación a la fisiopatología humana.

## Referencias

- Abdel-Azeem, A. S., Hegazy, A. M., Zeidan, H. M., Ibrahim, K. S., & El-Sayed, E. M. (2017). Potential renoprotective effects of rosemary and thyme against gentamicin toxicity in rats. *Journal of Dietary Supplements*, *14*(4), 380-394. <https://doi.org/10.1080/19390211.2016.1253632>
- Al-Shabanah, O. A., Aleisa, A. M., Al-Yahya, A. A., Al-Rejaie, S. S., Bakheet, S. A., Fatani, A. G., & Sayed-Ahmed, M. M. (2009). Increased urinary losses of carnitine and decreased intramitochondrial coenzyme A in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *25*(1), 69-76. <https://doi.org/10.1080/10.1093/ndt/gfp457>
- Arjinajarn, P., Pongchaidecha, A., Chueakula, N., Jaikumkao, K., Chatsudthipong, V., Mahatheerant, S., ... Lungkaphin, A. (2016). Riceberry bran extract prevents renal dysfunction and impaired renal organic anion transporter 3 (Oat3) function by modulating the PKC/Nrf2 pathway in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Phytomedicine*, *23*(14), 1753-1763. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.10.014>
- Aycan-Ustyol, E., Kabasakal, M., Bekpinar, S., Alp-Yildirim, F. I., Tepe, O., Giris, M., ... Uysal, M. (2017). Vascular function and arginine and dimethylarginines in gentamicin-induced renal failure: a possible effect of heme oxygenase 1 inducer hemin. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*, *95*(12), 1406-1413. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0578>
- Bae, E. H., Kim, I. J., Joo, S. Y., Kim, E. Y., Choi, J. S., Kim, C. S., ... Kim, S. W. (2013). Renoprotective effects of the direct renin inhibitor aliskiren on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone Systems*, *15*(4), 348-361. <https://doi.org/10.1177/1470320312474853>
- Bai, X., Geng, J., Li, X., Yang, F., & Tian, J. (2014). VEGF-A inhibition ameliorates podocyte apoptosis via repression of activating protein 1 in diabetes. *American Journal of Nephrology*, *40*(6), 523-534. <https://doi.org/10.1159/000369942>
- Bao, Y. W., Yuan, Y., Chen, J. H., & Lin, W. Q. (2018). Kidney disease models: tools to identify mechanisms and potential therapeutic targets. *Zoological Research*, *39*(2), 72-86. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2017.055>
- Bardoux, P., Bichet, D. G., Martin, H., Gallois, Y., Marre, M., Arthus, M. F., ... Bankir, L. (2003). Vasopressin increases urinary albumin excretion in rats and humans: involvement of V2 receptors and the renin-angiotensin system. *Nephrology, Dialysis and Transplantation*, *18*(3), 497-506. <https://doi.org/10.1093/ndt/18.3.497>
- Bardoux, P., Martin, H., Ahloulay, M., Schmitt, F., Bouby, N., Trinh-Trang-Tan, M. M., ... Bankir, L. (1999). Vasopressin contributes to hyperfiltration, albuminuria, and renal hypertrophy in diabetes mellitus: study in vasopressin-deficient Brattleboro rats. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, *96*(18), 10397-10402. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.10397>
- Berry, M. R., Mathews, R. J., Ferdinand, J. R., Jing, C., Loudon, K. W., Wlodek, E., ... Clatworthy, M. R. (2017). Renal sodium gradient reconstitutes a dynamic antibacterial defense zone. *Cell*, *170*(5), 860-874 e819. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.022>
- Blantz, R. C., Deng, A., Miracle, C. M., & Thomson, S. C. (2007). Regulation of kidney function and metabolism: a question of supply and demand. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, *118*, 23-43.
- Bouby, N., Bachmann, S., Bichet, D., & Bankir, L. (1990). Effect of water intake on the progression of chronic renal failure in the 5/6 nephrectomized rat. *American Journal of Physiology*, *258*(4 Pt 2), F973-979. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1990.258.4.F973>
- Bouby, N., & Fernandes, S. (2003). Mild dehydration, vasopressin and the kidney: animal and human studies. *European Journal of Clinical Nutrition*, *57*(Suppl 2), S39-S46. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601900>
- Bream, K. D. W., Breyre, A., Garcia, K., Calgua, E., Chuc, J. M., & Taylor, L. (2018). Diabetes prevalence in rural Indigenous Guatemala: A geographic-randomized cross-sectional analysis

- of risk. *PLoS One*, 13(8), e0200434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200434>
- Breyer, M. D., Bottinger, E., Brosius, F. C., Coffman, T. M., Harris, R. C., Heilig, C. W., & Sharma, K. (2005). Mouse models of diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(1), 27-45. <https://doi.org/10.1681/ASN.2004080648>
- Calvin, A. D., Misra, S., & Pflueger, A. (2010). Contrast-induced acute kidney injury and diabetic nephropathy. *Nature Review Nephrology*, 6(11), 679-688. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2010.116>
- Campos, M. A. A., de Almeida, L. A., Grossi, M. F., & Tagliati, C. A. (2018). In vitro evaluation of biomarkers of nephrotoxicity through gene expression using gentamicin. *Journal of Biochemistry and Molecular Toxicology*, 32(9), e22189. <https://doi.org/10.1002/jbt.22189>
- Chander, P. N., Gealekman, O., Brodsky, S. V., Elitok, S., Tojo, A., Crabtree, M., ... Goligorsky, M. S. (2004). Nephropathy in Zucker diabetic fat rat is associated with oxidative and nitrosative stress: prevention by chronic therapy with a peroxynitrite scavenger ebselen. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15(9), 2391-2403. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000135971.88164.2C>
- Chen, C. H., Chen, T. H., Wu, M. Y., Chen, J. R., Hong, L. Y., Zheng, C. M., ... Hsu, Y. H. (2015). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha protects renal tubular cells from gentamicin-induced apoptosis via upregulating Na(+)/H(+) exchanger NHE1. *Molecular Medicine*, 21(1), 886-889. <https://doi.org/10.2119/molmed.2015.00196>
- Cheng, W., Zhao, F., Tang, C.Y., Li, X.W., Luo, M., & Duan, S.B. (2018). Comparison of iohexol and iodixanol induced nephrotoxicity, mitochondrial damage and mitophagy in a new contrast-induced acute kidney injury rat model. *Archives in Toxicology*, 92(7), 2245-2257. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2225-9>
- Cirillo, P., Gersch, M. S., Mu, W., Scherer, P. M., Kim, K.M., Gesualdo, L., ... Sautin, Y. Y. (2009). Ketohexokinase-dependent metabolism of fructose induces proinflammatory mediators in proximal tubular cells. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(3), 545-553. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008060576>
- Cruz, C. M., Rinna, A., Forman, H. J., Ventura, A. L., Persechini, P. M., & Ojcius, D. M. (2007). ATP activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages. *Journal of Biological Chemistry*, 282(5), 2871-2879. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608083200>
- Das, K., Pratim Chakraborty, P., Ghosh, D., & Kumar Nandi, D. (2010). Protective effect of aqueous extract of *Terminalia arjuna* against dehydrating induced oxidative stress and uremia in male rat. *Iranian Journal Pharmacology Research*, 9(2), 153-161.
- de-Barros-e-Silva, M. L., Varanda, W. A., Lachat, J. J., Alves-da-Silva, C. G., & Coimbra, T. M. (1992). Glomerular permeability to macromolecules in gentamicin-treated rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 25(4), 409-417.
- Deji, N., Kume, S., Araki, S., Soumura, M., Sugimoto, T., Isshiki, K., ... Uzu, T. (2009). Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 296(1), F118-126. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00110.2008>
- Deshpande, A. D., Harris-Hayes, M., & Schootman, M. (2008). Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical Therapy*, 88(11), 1254-1264. <https://doi.org/10.2522/ptj.20080020>
- Devarajan, P. (2006). Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(6), 1503-1520. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006010017>
- El-Kashef, D. H., El-Kenawi, A. E., Suddek, G. M., & Salem, H. A. (2015). Flavocoxid attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 388(12), 1305-1315. <https://doi.org/10.1007/s00210-015-1164-8>
- El Mouedden, M., Laurent, G., Mingeot-Leclercq, M. P., & Tulkens, P. M. (2000). Gentamicin-induced apoptosis in renal cell lines and embryonic rat fibroblasts. *Toxicological Sciences*, 56(1), 229-239. <https://doi.org/10.1093/toxsci/56.1.229>



- Garcia-Arroyo, F. E., Cristobal, M., Arellano-Buendia, A. S., Osorio, H., Tapia, E., Soto, V., ... Sánchez-Lozada (2016). Rehydration with soft drink-like beverages exacerbates dehydration and worsens dehydration-associated renal injury. *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, *311*(1), R57-65. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00354.2015>
- Garcia-Arroyo, F. E., Gonzaga, G., Munoz-Jimenez, I., Osorio-Alonso, H., Iroz, A., Vecchio, M., ..., Sánchez-Lozada, L. G. (2019). Antioxidant supplements as a novel mean for blocking recurrent heat stress-induced kidney damage following rehydration with fructose-containing beverages. *Free Radical Biology and Medicine*, *141*, 182-191. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.06.016>
- Garcia-Arroyo, F. E., Tapia, E., Blas-Marron, M. G., Gonzaga, G., Silverio, O., Cristobal, M., ... Sánchez-Lozada, L. G. (2017). Vasopressin mediates the renal damage induced by limited fructose rehydration in recurrently dehydrated rats. *International Journal of Biological Sciences*, *13*(8), 961-975. <https://doi.org/10.7150/ijbs.20074>
- Glaser, J., Lemery, J., Rajagopalan, B., Diaz, H. F., Garcia-Trabanino, R., Taduri, G., Johnson, R. J. (2016). Climate change and the emergent epidemic of CKD from heat stress in rural communities: The case for heat stress nephropathy. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, *11*(8), 1472-1483. <https://doi.org/10.2215/CJN.13841215>
- Guo, X., Meng, Q., Liu, Q., Wang, C., Sun, H., Peng, J., & Liu, K. (2013). JBP485 improves gentamicin-induced acute renal failure by regulating the expression and function of Oat1 and Oat3 in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *271*(2), 285-295. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.04.029>
- Habib, S. L., Yadav, A., Kidane, D., Weiss, R. H., & Liang, S. (2016). Novel protective mechanism of reducing renal cell damage in diabetes: Activation AMPK by AICAR increased NRF2/OGG1 proteins and reduced oxidative DNA damage. *Cell Cycle*, *15*(22), 3048-3059. <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1231259>
- Hao, C. M., Yull, F., Blackwell, T., Komhoff, M., Davis, L. S., & Breyer, M. D. (2000). Dehydration activates an NF-kappaB-driven, COX2-dependent survival mechanism in renal medullary interstitial cells. *Journal of Clinical Investigation*, *106*(8), 973-982. <https://doi.org/10.1172/JCI19956>
- Hayashi, K., Haneda, M., Koya, D., Maeda, S., Isshiki, K., & Kikkawa, R. (2001). Enhancement of glomerular heme oxygenase-1 expression in diabetic rats. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *52*(2), 85-96. [https://doi.org/10.1016/s0168-8227\(01\)00218-2](https://doi.org/10.1016/s0168-8227(01)00218-2)
- Hills, C., Price, G. W., Wall, M. J., Kaufmann, T. J., Chi-Wai Tang, S., Yiu, W. H., & Squires, P. E. (2018). Transforming growth factor beta 1 drives a switch in connexin mediated cell-to-cell communication in tubular cells of the diabetic kidney. *Cell Physiology and Biochemistry*, *45*(6), 2369-2388. <https://doi.org/10.1159/000488185>
- Itoh, H., Komatsuda, A., Ohtani, H., Wakui, H., Imai, H., Sawada, K., ... Hamada, F. (2002). Mammalian HSP60 is quickly sorted into the mitochondria under conditions of dehydration. *European Journal of Biochemistry*, *269*(23), 5931-5938. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.03317.x>
- Itoh, K., Izumi, Y., Inoue, T., Inoue, H., Nakayama, Y., Nonoguchi, H., Uematsu, T., ... (2014). Expression of three isoforms of Na-K-2Cl cotransporter (NKCC2) in the kidney and regulation by dehydration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *453*(3), 356-361. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.09.089>
- Johnson, R. J., Rodriguez-Iturbe, B., Roncal-Jimenez, C., Lanasa, M.A., Ishimoto, T., Nakagawa, T., ... Sánchez-Lozada, L. G. (2017). Hyperosmolarity drives hypertension and CKD-water and salt revisited. *Nature Reviews. Nephrology*, *10*(7), 415-420. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2014.76>
- Johnson, R. J., & Sanchez-Lozada, L. G. (2013). Chronic kidney disease: Mesoamerican nephropathy-new clues to the cause. *Nature Review. Nephrology*, *9*(10), 560-561. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2013.174>

- Johnson, R. J., Stenvinkel, P., Jensen, T., Lanaspa, M. A., Roncal, C., Song, Z., ... Sánchez-Lozada, L. G. (2016). Metabolic and kidney diseases in the setting of climate change, water shortage, and survival factors. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(8), 2247-2256. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015121314>
- Kim, H. J., Sato, T., Rodriguez-Iturbe, B., & Vaziri, N.D. (2011). Role of intrarenal angiotensin system activation, oxidative stress, inflammation, and impaired nuclear factor-erythroid-2-related factor 2 activity in the progression of focal glomerulosclerosis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 337(3), 583-590. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.175828>
- Kitada, M., Koya, D., Sugimoto, T., Isono, M., Araki, S., Kashiwagi, A., & Haneda, M. (2003). Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C-beta activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy. *Diabetes*, 52(10), 2603-2614. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.10.2603>
- Kitada, M., Ogura, Y., & Koya, D. (2016). Rodent models of diabetic nephropathy: their utility and limitations. *International Journal on Nephrology and Renovascular Diseases*, 9, 279-290. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S103784>
- Kitada, M., Ogura, Y., Suzuki, T., Sen, S., Lee, S. M., Kanasaki, K., ... Koya, D. (2016). A very-low-protein diet ameliorates advanced diabetic nephropathy through autophagy induction by suppression of the mTORC1 pathway in Wistar fatty rats, an animal model of type 2 diabetes and obesity. *Diabetologia*, 59(6), 1307-1317. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-3925-4>
- Kojima, R., Taniguchi, H., Tsuzuki, A., Nakamura, K., Sakakura, Y., & Ito, M. (2010). Hypertonicity-induced expression of monocyte chemoattractant protein-1 through a novel cis-acting element and MAPK signaling pathways. *Journal of Immunology*, 184(9), 5253-5262. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901298>
- Komlosi, P., Bell, P. D., & Zhang, Z. R. (2009). Tubuloglomerular feedback mechanisms in nephron segments beyond the macula densa. *Current Opinion on Nephrology and Hypertension*, 18(1), 57-62. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32831daf54>
- Koya, D., Haneda, M., Nakagawa, H., Isshiki, K., Sato, H., Maeda, S., ... Kikkawa, R. (2000). Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC beta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes. *FASEB Journal*, 14(3), 439-447. <https://doi.org/10.1096/fasebj.14.3.439>
- Kuper, C., Bartels, H., Beck, F. X., & Neuhofer, W. (2011). Cyclooxygenase-2-dependent phosphorylation of the pro-apoptotic protein Bad inhibits tonicity-induced apoptosis in renal medullary cells. *Kidney International*, 80(9), 938-945. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.199>
- Laux, T. S., Barnoya, J., Cipriano, E., Herrera, E., Lopez, N., V., & Rothstein, M. (2016). Prevalence of chronic kidney disease of non-traditional causes in patients on hemodialysis in southwest Guatemala. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 39(4), 186-193.
- Lee, E. Y., Kim, G. T., Hyun, M., Kim, S., Seok, S., Choi, R., ... Chung, C. H. (2012). Peroxisome proliferator-activated receptor-delta activation ameliorates albuminuria by preventing nephrin loss and restoring podocyte integrity in type 2 diabetes. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 27(11), 4069-4079. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs358>
- Lei, X., Zhang, L., Li, Z., & Ren, J. (2018). Astragaloside IV/lncRNA-TUG1/TRAF5 signaling pathway participates in podocyte apoptosis of diabetic nephropathy rats. *Drug Design Development and Therapy*, 12, 2785-2793. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S166525>
- Leroy, C., Basset, G., Gruel, G., Ripoche, P., Trinh-Trang-Tan, M.M., & Rousselet, G. (2000). Hyperosmotic NaCl and urea synergistically regulate the expression of the UT-A2 urea transporter in vitro and in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 271(2), 368-373. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2640>
- Li, C., Matavelli, L.C., Akhtar, S., & Siragy, H.M. (2019). (Pro)renin receptor contributes to renal mitochondria dysfunction, apoptosis and fibrosis in diabetic mice. *Science Reports*, 9(1), 11667. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47055-1>

- Li, J., O, W., Li, W., Jiang, Z.G., & Ghanbari, H. A. (2013). Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(12), 24438-24475. <https://doi.org/10.3390/ijms141224438>
- Li, R., Yang, X., Yu, Y., Zhou, M., Tian, X., Feng, S., & Wang, H. (2016). [C1q/tumor necrosis factor related protein 6 (CTRP6) is involved in gentamicin-induced acute kidney injury in rats]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 32(11), 1458-1461.
- Liu, P., Feng, Y., Dong, C., Yang, D., Li, B., Chen, X., ... Zhao, L. (2014). Administration of BMSCs with muscone in rats with gentamicin-induced AKI improves their therapeutic efficacy. *PLoS One*, 9(5), e97123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097123>
- Liu, P., Feng, Y., Dong, D., Liu, X., Chen, Y., Wang, Y., & Zhou, Y. (2016). Enhanced renoprotective effect of IGF-1 modified human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on gentamicin-induced acute kidney injury. *Scientific Reports*, 6, 20287. <https://doi.org/10.1038/srep20287>
- Liu, T. Q., Luo, W. L., Tan, X., Fang, Y., Chen, J., Zhang, H., ... Ding, X. Q. (2014). A novel contrast-induced acute kidney injury model based on the 5/6-nephrectomy rat and nephrotoxicological evaluation of iohexol and iodixanol in vivo. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 427560. <https://doi.org/10.1155/2014/427560>
- Lu, X., Fan, Q., Xu, L., Li, L., Yue, Y., & Xu, Y. (2015). Ursolic acid attenuates diabetic mesangial cell injury through the up-regulation of autophagy via miRNA-21/PTEN/Akt/mTOR suppression. *PLoS One*, 10(2), e0117400. doi: 10.1371/journal.pone.0117400
- Luo, P., Zhou, Y., Chang, H.H., Zhang, J., Seki, T., ..., Wang, C. Y. (2009). Glomerular 20-HETE, EETs, and TGF-beta1 in diabetic nephropathy. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 296(3), F556-563. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.90613.2008>
- Luyckx, V. A., Tonelli, M., & Stanifer, J. W. (2018). The global burden of kidney disease and the sustainable development goals. *Bulletin of the World Health Organization*, 96(6), 414-422D. <https://doi.org/10.2471/BLT.17.206441>
- Mahmoud, Y. I. (2017). Kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*) ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in albino mice via the activation of Nrf2 and the inhibition of NF-kappaB (Kiwi & gentamicin-induced nephrotoxicity). *Biomedical Pharmacotherapy*, 94, 206-218. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.079>
- Martinez-Salgado, C., Lopez-Hernandez, F. J., & Lopez-Novoa, J. M. (2007). Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 223(1), 86-98. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.05.004>
- Milagres, T., Garcia-Arroyo, F. E., Lanaspá, M. A., Garcia, G., Ishimoto, T., Andres-Hernando, A., ... Roncal-Jimenez, C. (2018). Rehydration with fructose worsens dehydration-induced renal damage. *BMC Nephrology*, 19(1), 180. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0963-9>
- Morales, A. I., Buitrago, J. M., Santiago, J. M., Fernandez-Tagarro, M., Lopez-Novoa, J. M., & Perez-Barriocanal, F. (2002). Protective effect of *trans*-resveratrol on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Antioxidants & Redox Signaling*, 4(6), 893-898. <https://doi.org/10.1089/152308602762197434>
- Morales, A. I., Detaille, D., Prieto, M., Puente, A., Briones, E., Arevalo, M., ... El-Mir, M. Y. (2010). Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney International*, 77(10), 861-869. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.11>
- Neuhofer, W., Holzappel, K., Fraek, M. L., Ouyang, N., Lutz, J., & Beck, F. X. (2004). Chronic COX-2 inhibition reduces medullary HSP70 expression and induces papillary apoptosis in dehydrated rats. *Kidney International*, 65(2), 431-441. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00387.x>
- Nugent, R. A., Fathima, S. F., Feigl, A. B., & Chyung, D. (2011). The burden of chronic kidney disease on developing nations: a 21st century challenge in global health. *Nephron Clinical Practice*, 118(3), c269-277. <https://doi.org/10.1159/000321382>
- Omote, K., Gohda, T., Murakoshi, M., Sasaki, Y., Kazuno, S., Fujimura, T., ... Tomino, Y. (2014). Role of the TNF pathway in the progression of diabetic nephropathy in KK-A(y) mice. *American Journal Physiology Renal Physiology*,

- 306(11), F1335-1347. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00509.2013>
- Paeng, J., Chang, J. H., Lee, S. H., Nam, B. Y., Kang, H. Y., Kim, S., ... Kang, S. W. (2014). Enhanced glycogen synthase kinase-3 $\beta$  activity mediates podocyte apoptosis under diabetic conditions. *Apoptosis*, 19(12), 1678-1690. <https://doi.org/10.1007/s10495-014-1037-5>
- Pedraza-Chaverri, J., Barrera, D., Maldonado, P. D., Chirino, Y. I., Macias-Ruvalcaba, N. A., Medina-Campos, O. N., ... Hernández-Pando, R. (2004). S-allylmercaptocysteine scavenges hydroxyl radical and singlet oxygen in vitro and attenuates gentamicin-induced oxidative and nitrosative stress and renal damage in vivo. *BMC Clinical Pharmacology*, 4, 5. <https://doi.org/10.1186/1472-6904-4-5>
- Peyrou, M., & Cribb, A. E. (2007). Effect of endoplasmic reticulum stress preconditioning on cytotoxicity of clinically relevant nephrotoxins in renal cell lines. *Toxicology In Vitro*, 21(5), 878-886. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.03.001>
- Qi, Z., Fujita, H., Jin, J., Davis, L.S., Wang, Y., Fogo, A. B., & Breyer, M. D. (2005). Characterization of susceptibility of inbred mouse strains to diabetic nephropathy. *Diabetes*, 54(9), 2628-2637. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.9.2628>
- Rastogi, R., Geng, X., Li, F., & Ding, Y. (2016). NOX Activation by Subunit Interaction and Underlying Mechanisms in Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 10, 301. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00301>
- Ratliff, B. B., Abdulmahdi, W., Pawar, R., & Wolin, M. S. (2016). Oxidant mechanisms in renal injury and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 25(3), 119-146. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6665>
- Rivas-Cabanero, L., Garcia-Bastos, J. L., Arevalo, M., Rodriguez-Barbero, A., & Lopez-Novoa, J. M. (1993). Effect of gentamicin treatment on glutamine and lactate metabolism by the renal cortex of the rat. *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique*, 101(3), 193-196. <https://doi.org/10.3109/13813459309046474>
- Rodriguez Salgueiro, S., & Gonzalez Nunez, L. (2016). Animal models mimicking aminoglycoside-induced renal damage. *Journal of Nephro pharmacology*, 5(1), 1-3.
- Romero, F., Perez, M., Chavez, M., Parra, G., & Durante, P. (2009). Effect of uric acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats - role of matrix metalloproteinases 2 and 9. *Basic Clinical Pharmacology and Toxicology*, 105(6), 416-424. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2009.00466.x>
- Roncal-Jimenez, C. A., Milagres, T., Andres-Hernando, A., Kuwabara, M., Jensen, T., Song, Z., ... Sato, Y. (2017). Effects of exogenous desmopressin on a model of heat stress nephropathy in mice. *American Journal Physiology Renal Physiology*, 312(3), F418-F426. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00495.2016>
- Roncal Jimenez, C. A., Ishimoto, T., Lanaspá, M. A., Rivard, C. J., Nakagawa, T., Ejaz, A. A., ... Johnson, R. J. (2013). Fructokinase activity mediates dehydration-induced renal injury. *Kidney International*, 86(2), 294-302. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.492>
- Sanchez-Lozada, L. G., Garcia-Arroyo, F. E., Gonzaga, G., Silverio, O., Blas-Marron, M. G., Munoz-Jimenez, I., ... Johnson, R. J. (2018). Kidney injury from recurrent heat stress and rhabdomyolysis: Protective role of allopurinol and sodium bicarbonate. *American Journal of Nephrology*, 48(5), 339-348. <https://doi.org/10.1159/000494663>
- Satriano, J. A., Banas, B., Luckow, B., Nelson, P., & Schlondorff, D. O. (1997). Regulation of RANTES and ICAM-1 expression in murine mesangial cells. *Journal of the American Society of Nephrology*, 8(4), 596-603.
- Seçilmiş, M. A., Karataş, Y., Yorulmaz, Ö., Büyükafşar, K., Singirik, E., Doran, F., ... Dikmen, A. (2005). Protective effect of L-arginine intake on the impaired renal vascular responses in the gentamicin-treated rats. *Nephron. Physiology*, 100(2), p13-20. <https://doi.org/10.1159/000084657>
- Sedeek, M., Nasrallah, R., Touyz, R. M., & Hebert, R. L. (2013). NADPH oxidases, reactive oxygen species, and the kidney: friend and foe. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(10), 1512-1518. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012111112>

- Sener, G., Sehirli, A. O., Altunbas, H. Z., Ersoy, Y., Paskaloglu, K., Arbak, S., & Ayanoglu-Dulger, G. (2002). Melatonin protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Pineal Research*, 32(4), 231-236. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2002.01858.x>
- Serban, A. I., Stanca, L., Geicu, O. I., & Dinischiotu, A. (2015). AGEs-induced IL-6 synthesis precedes RAGE up-regulation in HEK 293 cells: An alternative inflammatory mechanism? *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 20100-20117. <https://doi.org/10.3390/ijms160920100>
- Servais, H., Jossin, Y., Van Bambeke, F., Tulkens, P. M., & Mingeot-Leclercq, M. P. (2006). Gentamicin causes apoptosis at low concentrations in renal LLC-PK1 cells subjected to electroporation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(4), 1213-1221. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1213-1221.2006>
- Shin, H. S., Yu, M., Kim, M., Choi, H. S., & Kang, D. H. (2014). Renoprotective effect of red ginseng in gentamicin-induced acute kidney injury. *Laboratory Investigation*, 94(10), 1147-1160. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.101>
- Shopit, A., Niu, M., Wang, H., Tang, Z., Li, X., Tesfaldet, T., Tanbg, Z. (2020). Protection of diabetes-induced kidney injury by phosphocreatine via the regulation of ERK/Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Life Sciences*, 242, 117248. [10.1016/j.lfs.2019.117248](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117248)
- Shrikanth, C. B., & Chilkunda, N. D. (2017). Zerumbone ameliorates high glucose-induced reduction in AMP-activated protein kinase phosphorylation in tubular kidney cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 65(42), 9208-9216. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02379>
- Song, Y., Liu, W., Tang, K., Zang, J., Li, D., & Gao, H. (2020). Mangiferin alleviates renal interstitial fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice through regulating the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway. *Journal of Diabetes Research*, 2020, 9481720. <https://doi.org/10.1155/2020/9481720>
- Sue, Y. M., Cheng, C. F., Chang, C. C., Chou, Y., Chen, C. H., & Juan, S. H. (2009). Antioxidation and anti-inflammation by haem oxygenase-1 contribute to protection by tetramethylpyrazine against gentamicin-induced apoptosis in murine renal tubular cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(3), 769-777. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn545>
- Sugimoto, H., Grahovac, G., Zeisberg, M., & Kalluri, R. (2007). Renal fibrosis and glomerulosclerosis in a new mouse model of diabetic nephropathy and its regression by bone morphogenic protein-7 and advanced glycation end product inhibitors. *Diabetes*, 56(7), 1825-1833. <https://doi.org/10.2337/db06-1226>
- Sun, H., Yang, H., Ruan, H., Li, W., He, X., Wang, L., ... Zhang, J. (2018). The protective effect of Sika deer antler protein on gentamicin-induced nephrotoxicity in vitro and in vivo. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 50(3), 841-850. <https://doi.org/10.1159/000494471>
- Susztak, K., Raff, A. C., Schiffer, M., & Bottinger, E. P. (2006). Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes*, 55(1), 225-233.
- Swenberg, J. A. (1993).  $\alpha_2$ -globulin nephropathy: review of the cellular and molecular mechanisms involved and their implications for human risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 101 Supplements 6, 39-44. <https://doi.org/10.1289/ehp.93101s639>
- Tang, S. C. W., & Yiu, W. H. (2020). Innate immunity in diabetic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0234-4>
- Teiken, J. M., Audettey, J. L., Laturmus, D. I., Zheng, S., Epstein, P. N., & Carlson, E. C. (2008). Podocyte loss in aging OVE26 diabetic mice. *Anatomical Record (Hoboken)*, 291(1), 114-121. <https://doi.org/10.1002/ar.20625>
- Tomino, Y., Tanimoto, M., Shike, T., Shiina, K., Fan, Q., Liao, J., ... Funabiki, K. (2005). Pathogenesis and treatment of type 2 diabetic nephropathy: lessons from the spontaneous KK/Ta mouse model. *Current Diabetes Reviews*, 1(3), 281-286. <https://doi.org/10.2174/157339905774574374>
- Tong, Y., Liu, S., Gong, R., Zhong, L., Duan, X., & Zhu, Y. (2019). Ethyl vanillin protects against kidney

- injury in diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress and apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 2129350. <https://doi.org/10.1155/2019/2129350>
- Turner, J., Sazonova, O., Wang, H., Pozzi, A., & Wagner, G. F. (2010). Induction of the renal stanniocalcin-1 gene in rodents by water deprivation. *Molecular and Cell Endocrinology*, 328(1-2), 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.06.002>
- Varlam, D. E., Siddiq, M. M., Parton, L. A., & Russmann, H. (2001). Apoptosis contributes to amphotericin B-induced nephrotoxicity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), 679-685. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.679-685.2001>
- Wang, H., Ferraris, J. D., Klein, J. D., Sands, J. M., Burg, M. B., & Zhou, X. (2014). PKC-alpha contributes to high NaCl-induced activation of NFAT5 (TonEBP/OREBP) through MAPK ERK1/2. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 308(2), F140-148. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00471.2014>
- Wang, X., Tang, D., Zou, Y., Wu, X., Chen, Y., Li, H., Niu, H. (2019). A mitochondrial-targeted peptide ameliorated podocyte apoptosis through a HOCl-alb-enhanced and mitochondria-dependent signalling pathway in diabetic rats and in vitro. *Journal Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 394-404. <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1488697>
- Wang, X.-L., Zhang, T., Hu, L.-H., Sun, S.-Q., Zhang, W. F., ..., He, B. (2017). Comparison of effects of different statins on contrast-induced acute kidney injury in rats: histopathological and biochemical findings. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 6282486. <https://doi.org/10.1155/2017/6282486>
- Weiner, D. E., McClean, M. D., Kaufman, J. S., & Brooks, D. R. (2013). The Central American epidemic of CKD. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 8(3), 504-511. <https://doi.org/10.2215/CJN.05050512>
- Wesseling, C., Crowe, J., Hogstedt, C., Jakobsson, K., Lucas, R., & Wegman, D. H. (2014). Resolving the enigma of the mesoamerican nephropathy: a research workshop summary. *American Journal of Kidney Disease*, 63(3), 396-404. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2013.08.014>
- Wilson, G. L., & Leiter, E. H. (1990). Streptozotocin interactions with pancreatic beta cells and the induction of insulin-dependent diabetes. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 156, 27-54. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-75239-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-75239-1_3)
- Wolf, J. P., Nguyen, N. U., Dumoulin, G., & Berthelay, S. (1992). Influence of hypertonic monosaccharide infusions on the release of plasma arginine vasopressin in normal humans. *Hormone and Metabolic Research*, 24(8), 379-383. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1003340>
- Yan, Q., Gao, K., Chi, Y., Li, K., Zhu, Y., Wan, Y., ... Yao, J. (2012). NADPH oxidase-mediated upregulation of connexin43 contributes to podocyte injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(6), 1286-1297. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.07.012>
- Zhang, M., Feng, L., Gu, J., Ma, L., Qin, D., Wu, C. & Jia, X. (2014). The attenuation of moutan cortex on oxidative stress for renal injury in AGEs-induced mesangial cell dysfunction and streptozotocin-induced diabetic nephropathy rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 463815. <https://doi.org/10.1155/2014/463815>
- Zhang, P., Sun, Y., Peng, R., Chen, W., Fu, X., Zhang, L., ... Zhang, Z. (2019). Long non-coding RNA Rpph1 promotes inflammation and proliferation of mesangial cells in diabetic nephropathy via an interaction with gal-3. *Cell Death & Disease*, 10(7), 526. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1765-0>