

## Doença Renal do Diabetes: *Cross-Linking* entre Hiperglicemia, Desequilíbrio Redox e Inflamação

*Kidney Disease in Diabetes Mellitus: Cross-Linking between Hyperglycemia, Redox Imbalance and Inflammation*

Rayne Gomes Amorim,<sup>B</sup> Glaucivane da Silva Guedes, Sandra Mary Lima Vasconcelos, Juliana Célia de Farias Santos  
Universidade Federal de Alagoas - Faculdade de Nutrição, Maceió, AL – Brasil

### Resumo

A hiperglicemia crônica é o ponto-chave das complicações macro e microvasculares associadas ao diabetes mellitus. O excesso de glicose é responsável por induzir desequilíbrio redox e inflamação sistêmica e intra-renal, desempenhando um papel crítico na patogênese da doença renal do diabetes, configurada atualmente como a principal causa de doença renal dialítica em todo o mundo. A patogênese da doença é complexa, multifatorial e, não totalmente elucidada, estando vários fatores e mecanismos associados ao seu desenvolvimento, progressão e desfechos clínicos. Apesar dos mecanismos díspares envolvidos nos danos renais durante o diabetes, os caminhos metabólicos pela via oxidativa/inflamatória são amplamente aceitos e discutidos. As evidências acentuam que o estado hiperglicêmico crônico desencadeia o estresse oxidativo e a inflamação mediada por diversas vias metabólicas alteradas em um ciclo-vicioso de auto-perpetuação, promovendo aumento da injúria celular e progressão para a doença renal dialítica. O presente artigo traz, portanto, uma atualização sobre os caminhos metabólicos que envolvem o desequilíbrio redox e a inflamação induzidos pela exposição crônica à hiperglicemia na patogênese da doença renal do diabetes.

### Introdução

A doença renal do diabetes (DRD) é um desfecho devastador do diabetes mellitus (DM) sendo responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade global. Clinicamente, caracteriza-se por anormalidades renais persistentes por período igual ou superior a três meses, evidenciadas por excreção urinária de albumina (EUA) > 30 mg/24h ou relação albumina-creatinina (RAC)  $\geq$  30 mg/g de creatinina ou taxa de filtração glomerular (TGF) < 60 mL/min/1,73 m, após um período de hiperfiltração ou ainda anormalidades estruturais (glomerulosclerose diabética) presentes em indivíduos com diagnóstico prévio de DM.<sup>1,2</sup>

### Palavras-chave

Diabetes Mellitus/complicações; Nefropatias; Hiperglicemia; Oxirredução; Inflamação; Estresse Oxidativo; Diálise Renal.

**Correspondência:** Juliana Célia de Farias Santos •

Universidade Federal de Alagoas Ringgold standard institution - Faculdade de Nutrição - Avenida Lourival de Melo Mota, Km14, CEP 57072-970, Tabuleiro do Martins, Maceió, AL – Brasil  
E-mail: jcfnsnut@hotmail.com

Artigo recebido em 29/08/2018, revisado em 19/12/2018, aceito em 13/02/2019

**DOI:** 10.5935/abc.20190077

Estima-se que aproximadamente 425 milhões de pessoas em todo o mundo apresentem DM, sendo projetado para 2045 um aumento de 48%. No Brasil o número de diagnósticos chega a 12,5 milhões, ocupando a quarta posição no *ranking* mundial no ano de 2017.<sup>3</sup> Cerca de 90% dos portadores de DM desenvolvem complicações micro e macrovasculares, sendo a DRD considerada um dos mais graves desfechos clínicos, acometendo 20 a 40% dos seus portadores, a maioria dos portadores de DRD são diabéticos do tipo 2 (DMT2).<sup>1</sup> A DRD constitui, atualmente, a principal causa de doença renal dialítica em países desenvolvidos, segunda maior no Brasil.<sup>4-6</sup>

De caráter progressivo e irreversível, a patogênese da DRD está associada às alterações funcionais e estruturais dos diferentes tipos de células renais como resposta ao estresse metabólico induzido pelo influxo excessivo de glicose celular, através da ativação de vias metabólicas específicas interligadas ao desequilíbrio redox e inflamação.<sup>7</sup>

Embora vários caminhos clássicos que conduzam ao desenvolvimento e progressão da DRD tenham sido descritos, novos mecanismos moleculares e epigenéticos estão sendo discutidos e explicam o aceleração da perda precoce das funções renais e complicações/desfechos associadas à DRD.<sup>8</sup>

Nesta revisão, discute-se numa perspectiva de atualização, os caminhos metabólicos que envolvem o desequilíbrio redox e a inflamação induzidos pela exposição crônica à hiperglicemia na patogênese da DRD, com o objetivo de suscitar novos paradigmas.

### Fisiopatologia da DRD induzida pela hiperglicemia: novos paradigmas

A DRD é uma doença metabólica crônica na qual a hiperglicemia provoca disfunção e lesões em vários tipos de células renais e vasculares. A fisiopatologia que conduz seu desenvolvimento, bem como da doença renal dialítica resultante é decorrente do meio hiperglicêmico crônico que induz a ativação e alteração de vias metabólicas e disfunção hemodinâmica, algumas de forma combinada e integrada ativando diversas outras. A hiperglicemia diabética é um fator necessário, mas não crucial para o desenvolvimento das lesões glomerulares observadas na DRD. Entretanto, descreveremos as alterações metabólicas induzidas pela exposição intermitente e crônica ao excesso de glicose. Para esta discussão abordaremos aqui a auto-oxidação da glicose, as vias do poliol e das hexosaminas, a formação de produtos de glicação avançada (PGAs), a produção de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase (NOX), a ativação da proteína quinase C (PKC) e a ação anormal da angiotensina II (Ang II).<sup>9,10</sup>

### Influxo de glicose nas células renais diabéticas

A hiperglicemia é a principal manifestação clínica do DM, é a força motriz para o desenvolvimento das complicações crônicas associadas à doença, dentre elas a DRD. Tal condição ocorre por dois mecanismos principais: o primeiro envolve a disfunção e apoptose das células  $\beta$  pancreáticas por processo autoimune (DM tipo I (DMT1)) e o segundo ocorre por hiperestimulação da síntese e secreção de insulina na condição de resistência à ação deste hormônio (resistência à insulina (RI)), decorrente sobretudo do excesso de peso/obesidade, configurando o DMT2.<sup>11</sup>

No contexto da obesidade, comum em pacientes com risco de desenvolver DMT2, a RI acontece por excesso de ácidos graxos livres (AGLs), citocinas pró-inflamatórias e diacilglicerol (DAG), como subproduto dos AGLs extra-hepáticos, que em via comum, inibem a fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1), em domínios de fosforilação (serina/treonina), impedindo a propagação do sinal para a translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT 4) para a membrana celular, o que compromete a interação insulina/receptor e resultando em diminuição da captação celular de glicose por células dependentes de insulina, com consequente hiperglicemia e hiperinsulinemia.<sup>12,13</sup>

Ainda no obeso, mecanismos adicionais estão envolvidos na perturbação do metabolismo da glicose. O acúmulo excessivo de tecido adiposo leva ao estresse das células adiposas por hiperplasia e hipertrofia causando hipóxia e consequente inflamação subclínica, aumento da infiltração de macrófagos e liberação de citocinas pró-inflamatórias [(fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6) e interleucina (IL-1)], responsáveis por exacerbar a RI.<sup>12,14</sup> Dentre estas, o TNF- $\alpha$  ganha destaque por estimular de forma cíclica a secreção de outras citocinas e quimiocinas, além de diretamente ativar o fator de transcrição kappa B (NF- $\kappa$ B), o que compromete ainda mais a captação de glicose, promove a RI e mantém a hiperglicemia crônica.<sup>15</sup>

Na tentativa de retomar a homeostase, ocorre o influxo de glicose para as células não dependentes do GLUT 4 e, portanto, não dependentes de insulina, a exemplo das células renais, que possuem como transportador de glicose os tipos 1 (GLUT 1) e 2 (GLUT 2), incapazes de regular a entrada de glicose nas células, que induz a glicotoxicidade intracelular. Nesta situação, a expressão desses transportadores serão aumentadas, exacerbando a entrada de glicose nas células renais, a exemplo do GLUT 2 que apresenta expressão estimulada pela hiperglicemia (*feedback*) e possui alta afinidade com a glicose, e dos transportadores *sodium glucose co-transporter* (SGLT) 1 (SGLT1) e 2 (SGLT2), que são responsáveis pela reabsorção tubular de glicose.<sup>16,17</sup> Portanto, em pacientes com DM a capacidade de reabsorção de glicose no túbulo proximal é aumentada, contribuindo para a hiperglicemia e consequente hiperfiltração.<sup>18</sup>

### Sistemas de geração de ERONs via hiperglicemia

A glicotoxicidade ocorre pela incapacidade das células de administrar o aumento excessivo do fluxo de glicose em situação de RI/hiperglicemia como observados, por exemplo, no DM. A hiperestimulação das vias de oxidação de glicose em

células não insulino dependentes contribuirá adicionalmente para a ativação de vias alternativas, contribuindo para o aumento da geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs) e indução ao estresse oxidativo (EO) no estado hiperglicêmico.<sup>19</sup>

### Auto-oxidação da glicose

Quando a homeostase glicêmica é mantida, a produção de energia pelas células, na ausência de oxigênio, ocorre prioritariamente pela glicólise. Os intermediários produzidos por estas reações são coenzimas responsáveis por captar elétrons de alta energia, liberados nas reações de oxirredução, que participam de vias energéticas adicionais.<sup>20</sup> A produção de substratos pela glicólise irá ativar duas vias energéticas adicionais à glicólise: o ciclo do ácido tricarbóxico ou ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons (CTE) ou fosforilação oxidativa, nas mitocôndrias, através de complexos proteicos.<sup>20-22</sup>

Durante o DM o meio hiperglicêmico promoverá a superativação das três principais vias celulares de produção de energia, anteriormente descritas. A hiperestimulação da glicólise e do ciclo de Krebs, resultará na produção exacerbada de dinucleotídeo flavina adenina reduzida (FADH<sub>2</sub>) e nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH), superalimentando a CTE.<sup>23</sup>

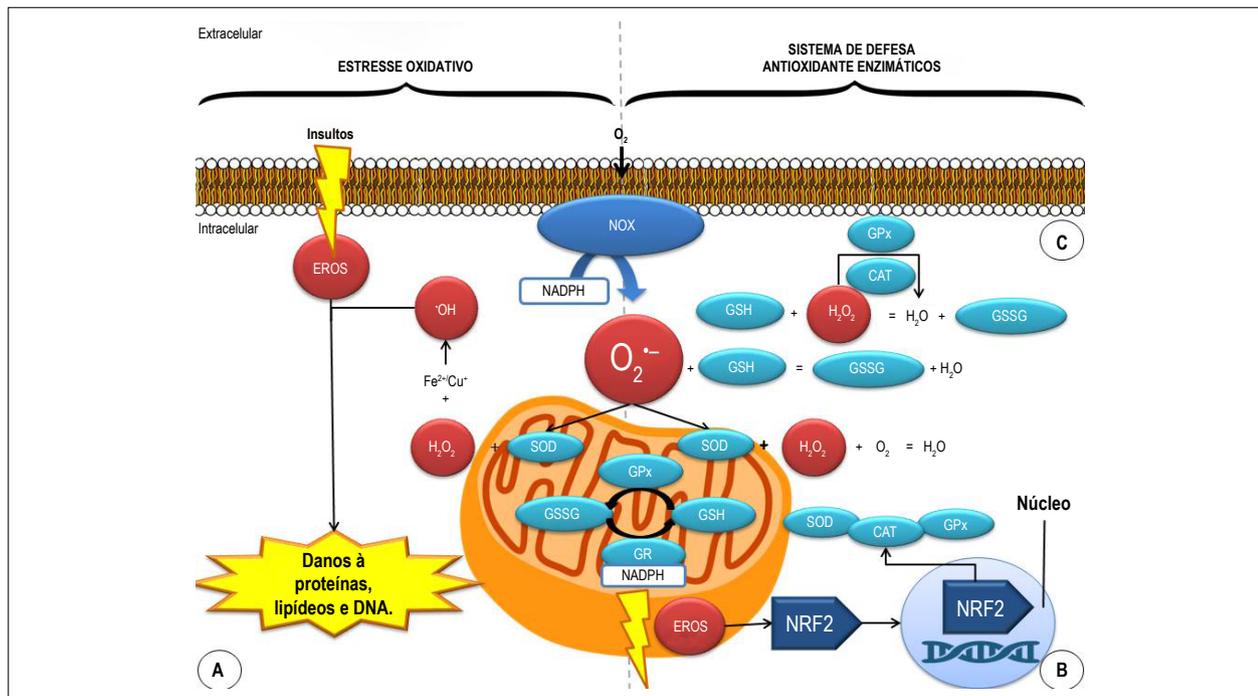
Esta cadeia é uma fonte de geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), sobretudo nas células renais, haja vista o seu grande número de mitocôndrias.<sup>24</sup> Nas células renais diabéticas a estimulação de mitocôndrias hiperpolarizadas com alto potencial redox, produzem mais adenosina trifosfato (ATP) e liberam níveis superiores de ânion radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) através dos complexos I e III. O O<sub>2</sub><sup>•-</sup> dará origem aos demais tipos de ERONs, radiculares e não-radicalares, incluindo o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), radical hidroxila (OH<sup>•</sup>) e o peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), que podem mediar às lesões renais (Figura 1).<sup>25,26</sup>

Tanto no rim diabético quanto no diabético/obeso a energética mitocondrial alterada pela hiperglicemia e hiperlipidemia causa disfunção mitocondrial e produção excessiva de EROS, prejudicial ao DNA mitocondrial (mtDNA), por inibição dos caminhos rapamicina complexo 1 (mTORC1) e proteína quinase ativada por AMP (AMPK). Devido a estas alterações a ativação do co-ativador-1 $\alpha$  do receptor ativado por proliferador do peroxissoma (PGC1 $\alpha$ ) será prejudicada, comprometendo a biogênese mitocondrial, promovendo aumento da fissão mitocondrial e contribuindo para a produção de mitocôndrias defeituosas, o que potencialmente leva à deficiência das funções da CTE com síntese reduzida de ATP e assim à lesão celular e apoptose das células renais.<sup>27</sup>

Ademais, o aumento da glicólise hiperativa as vias metabólicas do polioliol, das hexosaminas, da produção de PGAs e da ativação da PKC, que também resultam em diminuição dos níveis de ATP e contribuem para a disfunção e fragmentação mitocondrial.<sup>28</sup>

### Via do polioliol

Diante do fluxo aumentado de glicose intracelular há um incremento na sua conversão a sorbitol pela enzima



**Figura 1** – Estresse oxidativo e sistema de defesa antioxidante enzimático em células renais diabéticas. CAT: catalase; EROS: espécies reativas de oxigênio; GPx: glutaciona peroxidase; GSH: glutaciona; GSSG: glutaciona oxidada; GR: glutaciona redutase; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peróxido de hidrogênio; NRF2: fator nuclear fator 2 relacionado ao eritróide 2; O<sub>2</sub>: oxigênio molecular; NOX: NADPH oxidase; O<sub>2</sub><sup>•-</sup>: ânion radical superóxido; •OH: radical hidroxila; SOD: superóxido dismutase. Fonte: Autora. Adaptada de Bhargava.<sup>28</sup>

aldose redutase, dependente de NADPH, reduzindo a disponibilidade desta. O processo segue com o sorbitol convertido à frutose, utilizando o dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NAD).<sup>29,30</sup> O NADPH é um cofator importante para a regeneração do antioxidante glutaciona peroxidase (GPx). Assim, na vigência de aumento da atividade de aldose redutase, a baixa disponibilidade de NADPH irá comprometer a defesa antioxidante, induzindo o desequilíbrio redox.<sup>31</sup>

O aumento do O<sub>2</sub><sup>•-</sup> inibe a atividade da enzima da via glicolítica gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH) que inibe a glicólise e estimula as vias alternativas. O aumento da relação NADH:NAD induz a produção de DAG que, por sua vez, ativa a PKC. Como produto final da via, a frutose foi recentemente relacionada aos marcadores de lesão renal.<sup>20</sup>

### Proteína quinase C (PKC)

Hiperglicemia e hiperestimulação dos intermediários glicolíticos induzem o aumento da produção de gliceraldeído-3-fosfato e sua conversão em di-hidroxacetona promovendo a síntese de DAG, fator ativador da PKC (Figura 2).<sup>31</sup>

Nas células renais, o aumento de PKC estimula diversas vias de lesão. A indução e ativação da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) pela PKC, num primeiro momento, irá aumentar a disponibilidade de óxido nítrico (NO) no rim diabético nos estágios iniciais da DRD.<sup>32</sup> O aumento de NO contribui para níveis aumentados de prostaglandinas E<sub>2</sub>, aumento da ação da Ang II e ativação do fator vascular de crescimento (VEGF), aumentando a permeabilidade, disfunção endotelial, hiperfiltração glomerular e albuminúria.<sup>33,34</sup>

No diabetes prolongado, a hiperglicemia constante reduz os níveis de tetrahydrobiopterina (BH<sub>4</sub>), cofator da eNOS, favorecendo a redução da sua atividade com diminuição proporcional da síntese de NO pelo endotélio vascular, promovendo vasoconstrição e aumento da pressão arterial sistêmica e glomerular.<sup>34</sup>

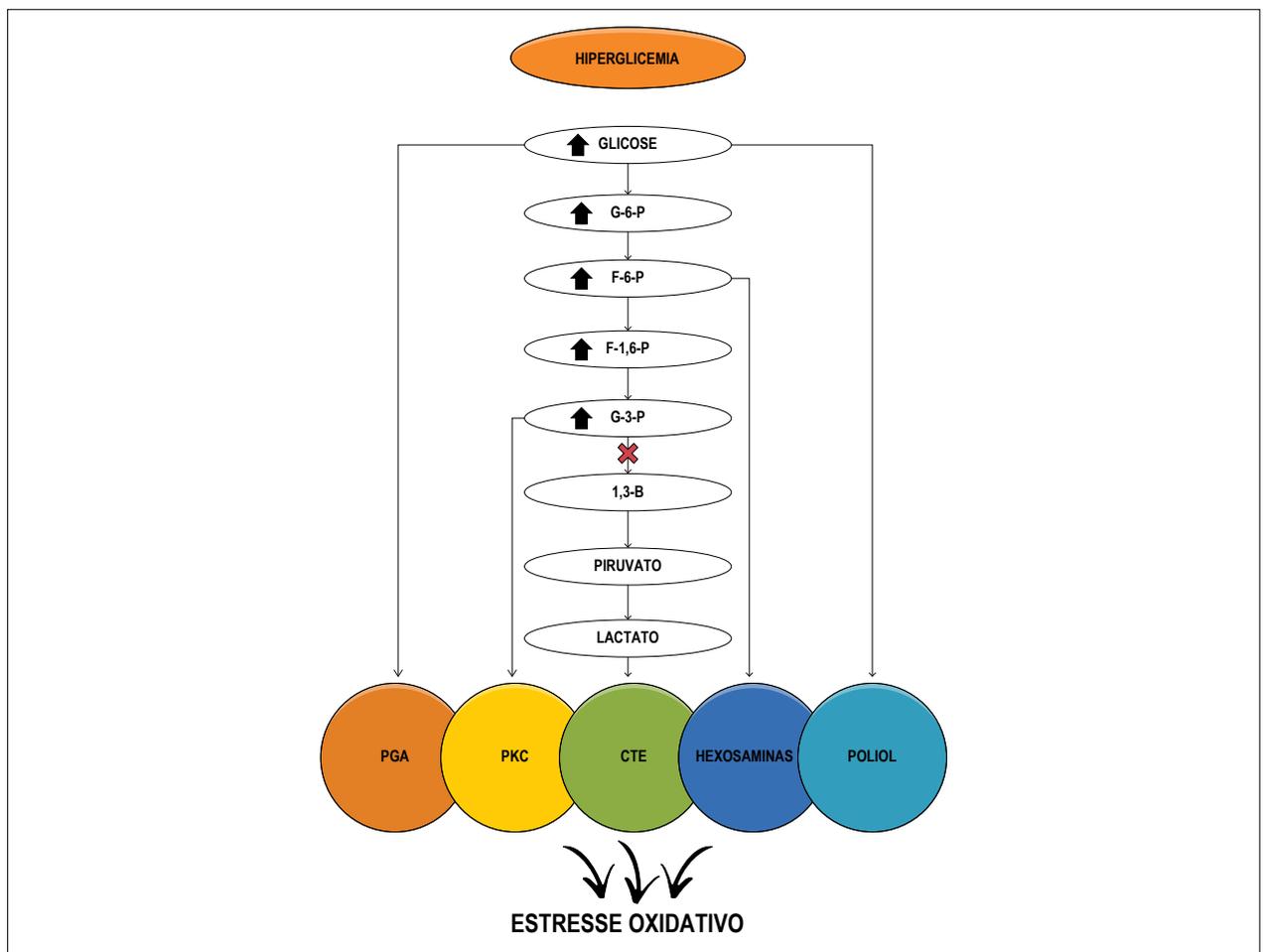
As lesões hiperglicêmicas endoteliais são induzidas pelo desequilíbrio redox-nitroso, pelo aumento das EROs através da interação do O<sub>2</sub><sup>•-</sup> com o NO formando o ONOO- e reduzindo ainda mais a biodisponibilidade de NO vascular, levando a disfunção endotelial e facilitando a progressão da DRD.<sup>35</sup>

A expressão aumentada da PKC induz a ativação do *transforming growth factor-beta* (TGF-β) e do inibidor fibrinolítico ativador de plasminogênio-1 (PAI-1), contribuindo para o aumento da deposição de fibronectina, colágeno tipo I e IV, com acúmulo de matriz extracelular (MEC) e consequente hipertrofia renal, glomeruloesclerose e fibrose renal.<sup>30</sup>

### Hexosaminas

A hiperfunção desta via, estimulada pela hiperglicemia, promove a conversão da frutose-6-fosfato em glucosamina-6-fosfato e, como produto final, a uridina difosfato-N-acetil glucosamina (UDP-GlcNAc), que sofre O-glicosilação para o N-acetil-glucosamina (O-GlcNAc) através da enzima O-GlcNAc transferase.<sup>29,30</sup>

O excesso da O-GlcNAc é responsável pelo estímulo e modificação de proteínas celulares e a alteração na expressão gênica na DRD aumenta a transcrição de TNF-α e TGF-β, induzindo assim danos renais via EO e superprodução de proteínas de MEC.<sup>20,29,36</sup>



**Figura 2** – Representação esquemática das vias intermediárias à glicólise e indução ao estresse oxidativo. CTE: cadeia de transporte de elétrons; 1,3-B: 1,3-bifosfoglicerato; G-6-P: glicose-6-fosfato; G-3-P: gliceraldeído-3-fosfato; GAPDH: gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase; F-6-P: frutose-6-fosfato; F-1,6-P: frutose-1,6-fosfato; PKC: proteína quinase C; PGA: produtos finais de glicação avançada. Fonte: Autora.

### Produtos finais de glicação avançada (PGAs)

Os PGAs são considerados uma classe de toxina urêmica e seu envolvimento com o dano renal pode ser parcialmente explicado por aumento da síntese endógena via hiperglicemia, ingestão dietética e através do *clearance* insuficiente destes produtos, por redução da TGF.<sup>37</sup>

Os PGAs são formados através de reações aminocarbonílicas não-enzimáticas ou reações de *Maillard*, que ocorrem entre o grupo carbonilo da glicose, frutose, galactose e ribose ou por intermediários da via glicolítica, como a glicose-6-fosfato, frutose-6-fosfato, ribose-5-fosfato, desoxirribose-5-fosfato e gliceraldeído ou ainda através do grupamento amina de proteínas e outras moléculas para formar uma base reversível de *Schiff* e posteriormente os produtos *Amadori* que são os produtos iniciais da reação de *Maillard*.<sup>13</sup>

A produção de produtos *Amadori* ocorre aceleradamente sob condições hiperglicêmicas e são altamente reativos com os grupos amino e íons metálicos por reações de glicoxidação de moléculas biológicas, formando compostos como o glyoxal (GO), metilglyoxal (MGO) e malonaldeído (MDA).<sup>38,39</sup>

Após o metabolismo e a remoção dos PGAs dos tecidos, os peptídeos solúveis de baixo peso molecular ou PGAs de segunda geração, exigem excreção urinária. Estes últimos podem ser intermediários altamente reativos, mas seus efeitos são limitados pela excreção renal. No entanto, na insuficiência renal ocorre remoção defeituosa de PGAs, contribuindo para concentrações elevadas em soro e tecidos.<sup>38</sup>

A elevação do *pool* endógeno dos PAGs induzem danos celulares diretos por interação as proteínas extracelulares e aos componentes celulares (proteínas, carboidratos, lipídios e nucleotídeos), modificando suas estruturas e funcionalidades. Os PGAs extracelulares, formados a partir de proteínas de MEC, possuem hidrólise enzimática diminuída por alteração nas estruturas proteicas, responsável por acúmulo no espaço extracelular, aumento de MEC, glomeroesclerose e, consequentemente, fibrose renal.<sup>34</sup>

Além dos danos extra/intracelulares diretos, os PAGs interagem com o seu receptor transmembranar (RPAGs), os quais são expressos em vários tipos de células renais e inflamatórias.<sup>40</sup> Após a interação substrato/receptor é iniciada

uma cascata de reações intracelulares que regulam a transcrição de proteínas, moléculas de adesão e citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , mediada pela ativação de macrófagos via NF- $\kappa$ B, propagando e amplificando a inflamação subclínica e tecidual associada ao DM na DRD.<sup>41,42</sup>

A interação PAGs/RPAGs está associada ao aumento da produção de ERONs e sua contribuição para o EO implica na ativação direta da enzima NOX através do estímulo mitocondrial pelo RPAGs em células renais e células imunológicas infiltradas. Ainda, os PGAs reduzem a expressão da enzima eNOS e aumentam a óxido nítrico sintase induzível (iNOS), desencadeando EO por aumento da produção de ONOO<sup>-</sup> e contribuindo para a redução da biodisponibilidade de NO, promovendo disfunção endotelial direta e através da síntese de moléculas de adesão vascular (VCAM-1), moléculas de adesão intercelular (ICAM-1), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e TGF- $\beta$ .<sup>38,39</sup>

### NADPH-oxidases

A família de NADPH oxidases (enzimas NOXs) é uma importante fonte de ROS no DM. As NOXs possuem sete isoformas: NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, (esta última anteriormente denominada renox por ser altamente expressa no tecido renal), NOX5 e dupla oxidases (DUOX) do tipo 1 e 2.<sup>9</sup> São proteínas transmembranares que transferem elétrons do NADPH citosólico para o O<sub>2</sub>, reduzindo-o O<sub>2</sub><sup>-•</sup>, contribuindo para a perpetuação do EO nas células renais.<sup>9,25</sup>

As EROS derivada das NOXs são responsáveis por regular alguns processos fisiológicos nos rins; entretanto, ocorre regulação positiva nas células renais hiperglicêmicas. Sua ativação anormal é induzida por AGEs, PKC, TGF $\beta$  e Ang II, resultando em superprodução e acúmulo de O<sub>2</sub><sup>-•</sup>, mediador importante do desequilíbrio redox de danos aos diversos tipos de componentes das células renais.<sup>9,43</sup>

### Angiotensina II

A hiperglicemia crônica do DM induz a síntese aumentada de Ang II e seus receptores por células glomerulares, mesangiais e podocitárias e aumenta a expressão de renina e angiotensinogênio nas células mesangiais, elevando a Ang II intra-renal, mecanismo exacerbado pelo acúmulo de EROS e de tecido adiposo, órgão sintetizador de Ang II.<sup>34,44</sup>

A elevação de Ang II contribui para a ativação anormal do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), acentuando os danos mecânicos induzidos pelo aumento da pressão arterial sistêmica e intraglomerular, exacerbando as lesões renais mecânicas. Efeitos adicionais da Ang II ocorrem na mediação direta da produção de ERONs, hiperplasia precoce e hipertrofia tardia das células renais, que ocorrem através do estímulo de TGF- $\beta$ , IL-6 e proteína MCP-1, ativação e *upregulation* do NF- $\kappa$ B.<sup>45</sup>

### Alterações hemodinâmicas na lesão renal diabética

A DRD precoce é evidenciada por alterações na hemodinâmica renal secundária a hiperglicemia.<sup>46</sup> Os eventos hemodinâmicos iniciais são caracterizados por hiperperfusão, hipertensão e hiperfiltração glomerular, responsáveis pelas

alterações funcionais e estruturais dos glomérulos que resultam em EUA, aumento da TGF com subsequente redução, hipertrofia glomerular, expansão mesangial, lesão podocitária, glomerulosclerose e fibrose renal, história natural da DRD.<sup>47,48</sup>

Comumente a hipertensão existe antes da DRD, sobretudo no DMT2, entretanto os distúrbios metabólicos persistentes resultam em elevação sustentada da pressão, descontrole dos níveis pressóricos, induzindo e/ou agravando as lesões renais diabéticas.<sup>45</sup> O mecanismo da hipertensão na DRD é complexo, multifatorial e envolve alterações no controle do sódio como a reabsorção tubular renal de sódio, ativação anormal do SRAA e do sistema nervoso simpático (SNS), disfunção das células endoteliais e aumento do EO, mediando a vasoconstrição e aumento do volume extracelular com consequente elevação da pressão arterial.<sup>49,50</sup>

Dentre os fatores hemodinâmicos que contribuem para a hipertensão e hiperfiltração renal, o SRAA tem sido o mais amplamente aceito como um importante contribuinte para o desenvolvimento da DRD e o seu bloqueio têm demonstrado efeitos positivos em aumentar o tempo de progressão da doença.<sup>51</sup> A tensão mecânica via hipertensão, o excesso de glicose, a inflamação e as EROS aumentam substancialmente a produção de Ang II em células renais e contribuem para a hiperativação do SRAA.<sup>45,51</sup> A ativação anormal do SRAA contribui para vasoconstrição vascular sistêmica e renal, e reabsorção renal de sódio através da interação com o receptor de angiotensina tipo 1 (AT1), via liberação de aldosterona, com consequente aumento da pressão arterial, pressão intraglomerular e lesão renal.<sup>52</sup>

As ações da Ang II sobre o desequilíbrio redox (efeitos adicionais da Ang II sobre a inflamação e desequilíbrio redox, fatores importantes na fisiopatogenia da DRD, foram detalhados no tópico acima), via indução da produção do O<sub>2</sub><sup>-•</sup> pela ativação das enzimas NOXs local, induzem a disfunção endotelial (decorrente do desbalanço entre fatores vasoconstritores e vasodilatadores).<sup>53</sup> Redução da síntese do NO, potente vasodilatador, ocorre pelo aumento das EROS, que interage com o substrato BH<sub>4</sub> que diminui a atividade da enzima eNOS. Além disso, ocorre ação direta do O<sub>2</sub><sup>-•</sup> reduzindo o NO em ONOO<sup>-</sup>, e diminuindo a disponibilidade do NO, o que resulta em vasoconstrição.<sup>50</sup> Ainda, a síntese da endotelina 1 e o aumento da atividade do SNS, através da neuropatia periférica, complicação microvascular relacionada à hiperglicemia, contribui para a vasoconstrição sustentada.<sup>50</sup>

As ações da Ang II, disfunção endotelial, vasoconstrição e resistência vascular, induzidas pelo EO, resultam em um aumento da pressão nas arteríolas aferentes que, por sua vez, causam aumento da pressão arterial sistêmica, hiperperfusão e hiperfiltração glomerular com consequente proteinúria, levando a DRD progressiva.<sup>50</sup>

Efeitos adicionais sobre a hemodinâmica renal e sistêmica durante a DRD são exercidos pelos trocadores iônicos *sodium-hydrogen exchangers* (NHE). Esses são expressos em diversos tipos de células renais e agem na regulação da translocação de sódio (Na<sup>+</sup>) e hidrogênio (H<sup>+</sup>), fundamentais para diversas funções celulares. Entre as quais, a manutenção do pH intracelular, volume de líquido e sobrevivência celular.<sup>54</sup> Nos rins, especificamente nas

células tubulares e nas células da mácula densa, as isoformas 1 (NHE1), 2 (NHE2) e 3 (NHE3) desempenham um papel importante na patogênese da DRD por induzir hipertensão intraglomerular, indução a proliferação mesangial e induzir a promoção ou inibição da morte celular programada (fatores apoptóticos), contribuindo para a fibrose renal.<sup>55</sup>

Nas células da mácula densa os receptores NHE2 estão envolvidos no controle da renina e do sensor de sal, o mecanismo sugerido é que o encolhimento celular (desencadeado pela hipertonicidade) é o provável sinal que ativa a sinalização de liberação de renina (juntamente com a ação da Ang II), induzindo a superativação SRAA e aumento da pressão intraglomerular, ativando a sinalização para o aumento da expressão dos receptores NHE nas células renais (ciclo vicioso).<sup>56</sup> Ademais, o excesso de sal, induzido pelos NHE na mácula densa, resulta em aumento do pH intracelular e despolarização celular e, conseqüentemente, ativação da produção de EROS pelas enzimas Nox.<sup>57</sup>

Os NHEs são alvos de diversas terapias medicamentosas, dentre elas os inibidores do SRAA e do SGLT que estão envolvidos no bloqueio da atividade dos NHEs nos rins, contribuindo para a redução da pressão intraglomerular e atenuando os processos proliferativos e fibróticos.<sup>56</sup>

O bloqueio terapêutico do SRAA e da Ang II, obtidos através dos medicamentos inibidores da enzima conversora da angiotensina e dos bloqueadores dos receptores da Ang II, isolados ou em diversas combinações, se mostraram eficazes na redução da proteinúria e retardo da progressão da DRD pelas ações hemodinâmicas/anti-hipertensivas, bem como por sua ação anti-inflamatória/antifibrótica, terapêutica preditiva para melhora do prognóstico dos pacientes com DRD.<sup>58</sup>

### Instalação do desequilíbrio redox na DRD

O EO é a parte inicial da DRD e ativa diversas vias patológicas em praticamente todos os tipos de células renais, como: células endoteliais, mesangiais, epiteliais, células tubulares e podocitárias.<sup>19</sup> O EO é originado pelo desbalanço entre o aumento de EROs em detrimento da menor eficiência do sistema de defesa antioxidante, enzimático e não enzimático, levando ao desequilíbrio redox entre os pró/antioxidantes.<sup>59,60</sup>

A geração de EROs ocorre em diversos tipos celulares dos rins e células infiltrantes, como as células do sistema imunológico, neutrófilos e macrófagos. Ao passo em que ocorre um aumento substancial da auto-oxidação da glicose pela glicólise, associado a uma maior ativação da CTE e estresse mitocondrial, a síntese de EROs é exacerbada, contribuindo com aproximadamente 80% da produção total de espécies reativas.<sup>25,61</sup> Adicionalmente a essas vias, outros sistemas enzimáticos, como eNOS desacoplada e as NOx, e não enzimáticos, como a Ang II, estão implicados na geração de EROS no rim diabético e diabético-obeso.<sup>62</sup>

A superprodução de EROs induzida por hiperglicemia reduz a expressão das enzimas antioxidantes, dentre elas, a superóxido dismutase (SOD), especificamente o subtipo SOD manganês que tem ação mitocondrial, tireodoxina redutase, catalase (CAT) e menor regeneração da glutathiona reduzida (GSH) pela indução da via do poliol. Ademais, a redução espontânea dos antioxidantes não enzimáticos é secundária

ao aumento das EROs por aumento expressivo da demanda.<sup>63</sup> A SOD é considerada a principal defesa fisiológica contra as EROs, pois inicia o processo de defesa antioxidante enzimático reagindo com o  $O_2^{\cdot-}$  para formar o  $H_2O_2$ , que posteriormente será degradado por ação da CAT e GPx (Figura 1).<sup>21,59</sup>

Em baixos níveis, as EROs modulam os fatores de transcrição de enzimas antioxidantes, fundamentais para a atenuação do EO. Dentre eles, o fator nuclear 2 relacionado ao eritroide (NRF2), que transloca-se ao núcleo para ativar a transcrição de genes que codificam enzimas antioxidantes como SOD, CAT e GPx, suprimindo a atividade de NF- $\kappa$ B. Entretanto, em condição de superprodução de EROs, como durante o DM, essas defesas não são suficientes para bloquear e impedir a instalação do desequilíbrio redox.<sup>64</sup>

A atuação das EROs no rim diabético promove a diminuição da expressão de sirtuínas (SIRT), enzimas responsáveis por modular a regeneração de antioxidantes via acetilação da CTE, fundamental para estimular a SOD mitocondrial, além de induzir fatores de transcrição, tais como o PGC1- $\alpha$ , atenuando o estresse mitocondrial e ativação do NRF2.<sup>62</sup> Ainda, o O-GlcNAc, produto das hexosaminas, atenua a atividade de SIRT contribuindo para exarcebamento deste processo durante o DM.<sup>63</sup> Em rins de ratos diabéticos, a expressão reduzida do PGC-1 $\alpha$ , regulador do metabolismo oxidativo e biogênese mitocondrial, foram associados a maior produção de EROs por intensificar a disfunção e fragmentação mitocondrial.<sup>65</sup>

Um decréscimo gradual das defesas antioxidantes na DRD foi encontrado, *in vivo*, surgindo um novo campo de possível tratamento.<sup>66</sup> Estudos recentes demonstram a eficácia da terapia nutricional rica em antioxidante como um adjuvante ao tratamento da DRD, esta terapia auxilia os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos na defesa de espécies nocivas ao organismo.<sup>67</sup>

Em uma recente metanálise Bolognani, et al.,<sup>68</sup> avaliou em 14 estudos (4.345 participantes) a efetividade da suplementação de antioxidantes (incluindo vitamina C, vitamina E e zinco, isolados ou associados) utilizando como desfecho a progressão da DRD e as alterações nos marcadores de função renal, concluiu que o tratamento com antioxidantes diminuiu significativamente a albuminúria, mas aparentemente não teve efeitos tangíveis na função renal, a evidência mais forte foi para a vitamina E em doses variando de 480 mg a 1200 mg/dia.

Em estudos experimentais a suplementação de vitaminas e minerais antioxidantes isolados, como a vitamina D, vitamina E e o zinco, apresentaram resultados favoráveis na redução dos marcadores de lesão renal, inflamação e EO.<sup>67-70</sup> Além disso, a ação antioxidante dos compostos fenólicos, flavonoides, demonstraram possuir efeitos benéficos como agentes terapêuticos para o tratamento da DRD em estudos com células e animais.<sup>71</sup>

### Desordens imunológicas na DRD: o papel da inflamação

A DRD está associada à inflamação renal sistêmica e intra-renal. Os estímulos metabólicos e hemodinâmicos persistentes dos rins diabéticos resultam em lesões celulares que liberam moléculas conhecidas como padrão molecular

associado ao perigo (DAMPs [do inglês: danger-associated molecular pattern]), dentre eles os PGAs, EROs, AGLs. Esses produtos interagem com receptores celulares de reconhecimento renal, dentre os quais: receptores *Toll-likes* (TLRs), especificamente dos tipos 2 e 4 e o receptor de produtos de glicação avançada (RPGA), regulados positivamente pela hiperglicemia. Quando há interação DAMPs/receptores ocorre ativação da resposta imune inata intra-renal.<sup>5</sup>

A linhagem mieloide das células imunes inatas induz a inflamação renal em condições diabéticas, na qual diversas células imunológicas estão envolvidas tanto na patogênese quanto na gravidade dos danos renais. Contudo, os fatores pró-inflamatórios sintetizados no tecido renal diabético não se limitam às células inflamatórias infiltradas, sendo a secreção de citocinas e quimiocinas encontradas em diversas células não imunes como os diversos tipos de células do parênquima renal (podócitos, células endoteliais, células epiteliais, células mesangiais e tubulares), exacerbando o processo inflamatório que induz aos danos progressivos da DRD (Quadro 1).<sup>19</sup>

Ademais, as ligações dos DAMPs com seus receptores estão associadas à ativação de fatores moleculares e de transcrição que promovem a ativação do NF- $\kappa$ B, que facilita a expressão de uma gama de genes pró-inflamatórios (citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, receptores imunes e fatores de crescimento). Consequentemente, o NF- $\kappa$ B tem sido referido como um regulador mestre de processos imunes e inflamatórios durante a DRD.<sup>26,72</sup>

As principais citocinas pró-inflamatórias são IL-1, IL-6, IL18 e TNF- $\alpha$ . Todas possuem efeitos autócrinos, parácrinos e justácrinos de ações pleiotrópicas que promovem aumento e perpetuação da inflamação e do EO no rim diabético, por regulação da expressão de citocinas, interleucinas, TNF- $\alpha$ , interferons, fatores de crescimento, moléculas de adesão e fatores de transcrição nuclear, desencadeando várias respostas lesivas (Quadro 1).<sup>73,74</sup>

As alterações metabólicas observadas dentro das células, por exemplo, PGAs e EROS, aumentam a secreção de MCP-1 que promove a ativação de monócitos e macrófagos que, por sua vez, estão ligados ao aumento da expressão de moléculas de adesão e da síntese de citocinas pró-inflamatórias, levando a hiperfiltração e lesões glomerulares, típicas da DRD.<sup>75,76</sup>

Devido à íntima ligação com a obesidade, os danos renais dos pacientes com DMT2, estão associados à ativação precoce do sistema imunológico, ligada à inflamação sistêmica crônica e de baixo grau induzida pelo tecido adiposo.<sup>44,50</sup>

### Desequilíbrio redox e inflamação na DRD: um ciclo vicioso

Diversos caminhos hemodinâmicos e metabólicos estão envolvidos na patogênese da DRD. Em via comum, a inter-relação entre o desequilíbrio redox e a inflamação a partir da hiperglicemia processa-se através de mecanismos-chave que unem processos celulares-moleculares em uma cascata de alterações na bioenergética das células renais, causando alterações na morfologia extracelular, celular e mitocondrial, modulando a expressão genética, induzindo lesões, hipertrofia tecidual, fibrose e necrose renal (Figura 3).<sup>74</sup>

A mediação da inflamação ocorre por estímulo da expressão do NF- $\kappa$ B “*up-regulation*” pelo EO, AGEs e TNF- $\alpha$ , que controla

a resposta imunológica através do estímulo à expressão genética de citocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão, NOS, proliferação celular e progressão do ciclo de inflamação e EO.<sup>77,78</sup> Enquanto as EROs e a interação PGA-RPGA, estimuladas pela hiperglicemia do DM, agem como mediadores da ativação do complexo multiproteico inflamassoma, o Nlrp, que regula a clivagem de citocinas pró-inflamatórias para suas formas maduras e ativas em células imunes inatas, células endoteliais renais, células glomerulares e podócitos.<sup>79</sup>

A “*up-regulation*” de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-18, IFN- $\gamma$ ), mediada por PGA/RPAC, TNF- $\alpha$  e NF- $\kappa$ B, promove o aumento de EROs e fatores transcricionais (Quadro 1) que induzem a microinflamação local e sistêmica, lesões glomerulares e tubulares, cursando com albuminúria.<sup>80</sup> Dentre as citocinas, o TNF- $\alpha$  ganha destaque por causar citotoxicidade direta, induzindo apoptose de células renais.<sup>17</sup> Uma recente metanálise mostrou um aumento estatisticamente significativo das concentrações séricas de TNF- $\alpha$  em pacientes DMT2, sendo substancialmente maiores em DMT2 com DRD, sugerindo que um aumento da carga inflamatória na DRD contribui para a maior progressão da doença.<sup>81</sup>

Interligado à inflamação e o desequilíbrio redox, via hiperglicemia, a expressão de fatores de transcrição pró-fibróticos, como o TGF- $\beta$  e o fator de crescimento de tecido conjuntivo, induzem o recrutamento de células produtoras de MEC, impulsionando a esclerose e fibrose renal.<sup>9</sup> O TGF- $\beta$  exerce efeitos pleotrópicos induzindo a hiperplasia e hipertrofia das células renais. Na MEC, o TGF- $\beta$  existe em uma forma latente ligado às proteínas, necessita ser clivado para a sua forma livre e ativa. A ativação do TGF- $\beta$  ocorre por vários mediadores gerados sob alta glicose, tais como PGAs, EROs, DAG, PKC, Ang II, entre outros; uma vez ativado, o TGF- $\beta$  liga-se ao seu receptor celular que, regula a transcrição de genes-alvos, tais como colágeno tipo I, III e IV, fibronectina, plasminogênio e PAI-1, com efeito líquido de síntese de proteínas e expansão de MEC, glomerulosclerose e estímulo à fibrose renal; ainda, ativa o NF- $\kappa$ B contribuindo com a produção de citocinas pró-inflamatórias exacerbando o processo inflamatório local (KANWAR, 2011; DURAN-SALGADO, 2014; RATLIFF, 2016).<sup>34,74,82</sup>

### Conclusão

Nos últimos anos tornou-se evidente o papel do desequilíbrio redox e inflamação pós-exposição intermitente e crônica à hiperglicemia do DM como importante para a iniciação e perpetuação das complicações diabéticas, incluindo a DRD. Hoje apontados como os principais contribuintes para o desenvolvimento da DRD e progressão para doença renal dialítica. Novas vias patológicas estão sendo estabelecidas, associadas à disfunção renal durante o diabetes, especialmente as que exacerbam essas vias metabólicas, como por exemplo, a associação da doença com a obesidade. Assim, os pontos de interferência metabólica, inflamatória e oxidativa relacionados ao DM e demais fatores de risco que desencadeiam e sustentam os eventos patológicos na DRD precisam ser constantemente estudados e atualizados tanto para melhorar a compreensão dos mecanismos quanto para o estabelecimento de alvos terapêuticos.

**Quadro 1 – Citocinas inflamatórias e implicações renais relacionadas ao diabetes mellitus**

Citocinas	Estímulos para síntese	Células produtoras especializadas	Estímulos para a produção	Efeitos na DRD	Células-alvo renais	Ref.
IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$	Inflamassoma, IL-18 e NF- $\kappa$ B	Macrófagos, Granulócitos* Epiteliais tubulares, Endoteliais, Mesangiais <sup>†</sup> Fibroblastos <sup>‡</sup>	↑ ICAM-1, ↑ VCAM-1, ↑ Prostaglandina E2.	↑ Anormalidade hemodinâmica intraglomerular, ↑ Síntese de hialurônios, ↑ Proliferação de células mesangiais e fibroblastos, ↑ Acúmulo de MEC	Epiteliais, mesangiais, Tubulares	[77,83]
IL-6	Hiperglicemia, PGAs, TNF- $\alpha$ , LPS, IL-1, IL-4	Linfócitos T, Macrófagos, Neutrófilos* Endoteliais, Podócitos, Mesangiais, Epiteliais tubulares <sup>†</sup> Fibroblastos <sup>‡</sup>	↑ MCP-1, ↑ Expressão do receptor de Ang II, ↑ EROs	↑ Recrutamento de monócitos, ↑ Diferenciação de macrófagos, ↑ Síntese de fibronectina, ↑ Síntese e acúmulo de MEC, ↑ Proliferação de células mesangiais, ↑ Disfunção endotelial, ↑ Fibrose tubulointersticial	Mesangiais, Podócitos, Endoteliais, Epiteliais tubulares	[84, 85]
IL-18	NF- $\kappa$ B, Inflamassoma, Caspase-1	Linfócitos T e Macrófagos* Epiteliais, Tubulares <sup>†</sup>	↑ IFN- $\gamma$ , ↑ Síntese de IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , iNOS, ICAM-1, TGF- $\beta$ , MCP-1	↑ Apoptose de células endoteliais, ↑ infiltração de macrófagos e neutrófilos	Endoteliais, Epiteliais tubulares	[30, 86,87]
TNF- $\alpha$	NF- $\kappa$ B	Dendríticas, Monócitos, Macrófagos, Linfócitos T* Mesangiais, Endoteliais, Tubulares renais <sup>†</sup>	↑ Resposta imunológica ↑ NF- $\kappa$ B	↑ Infiltração de células, inflamatórias, ↑ Citotoxicidade direta, apoptose, ↑ Permeabilidade endotelial, ↓ Função de barreira da parede capilar, glomerular, ↑ PKC, ↑ NOX, ↑ EROs; ↑ MEC	Mesangiais, Podócitos, Endoteliais, Glomerulares; Epiteliais tubulares	[19, 78, 83]

\*Células imunológicas (infiltrantes); <sup>†</sup>Células renais; <sup>‡</sup>Outros tipos celulares. Ang II: angiotensina 2; EROs: espécies reativas de oxigênio; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; NF- $\kappa$ B: fator de transcrição kappa B; IFN- $\gamma$ : interferon gama; IL-1: interleucina 1; IL-1 $\alpha$ : interleucina 1 alfa; IL-1 $\beta$ : interleucina 1 beta; IL-6: interleucina 6; IL-18: interleucina 18; IL-4: interleucina 4; LPS: lipopolissacarídeos; ICAM-1: moléculas de adesão intercelular; VCAM-1: moléculas de adesão vascular; MEC: matriz extracelular; NOX: NADPH oxidase; PGAs: produtos de glicação avançada; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos; PKC: proteína quinase C; iNOS: óxido nítrico sintase; TGF- $\beta$ : transforming growth factor-beta.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Santos JCF, Amorim RG, Vasconcelos S; Redação do manuscrito e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Santos JCF, Amorim RG, Guedes GS, Vasconcelos S.

## Potencial conflito de interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de financiamento

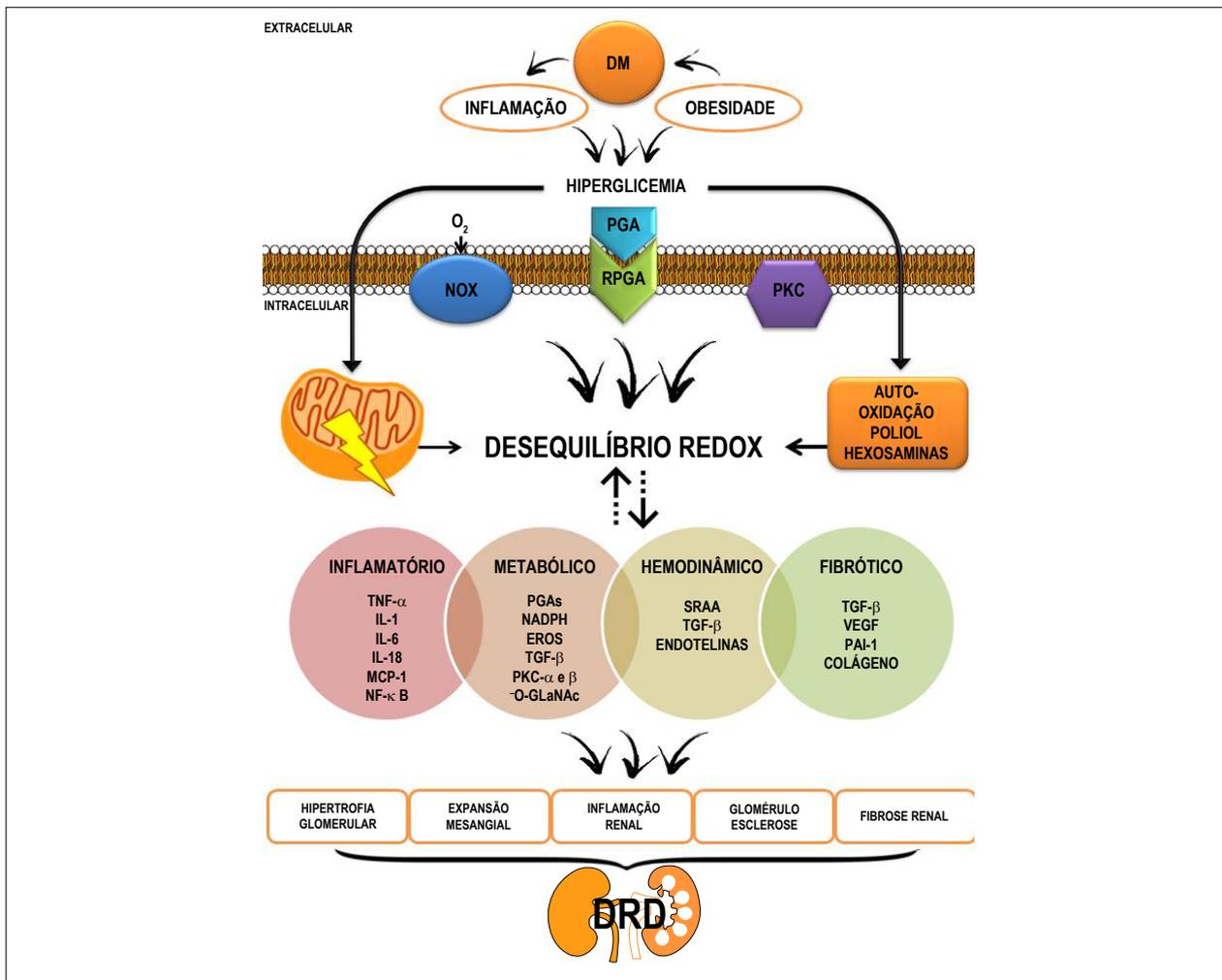
O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

## Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Rayne Gomes Amorim pelo Programa de Pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Alagoas.

## Errata

No artigo de revisão “Doença Renal do Diabetes: Cross-Linking entre Hiperglicemia, Desequilíbrio Redox e Inflamação”, considerar como correta a grafia Sandra Mary Lima Vasconcelos para o nome da autora Sandra Mary de Lima Vasconcelos.



**Figura 3** – Mediadores de lesão renal induzidos por hiperglicemia crônica via desequilíbrio redox e inflamação na patogênese da DRD. ERK: extracellular signal-related kinases; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; NF- $\kappa$ B: fator de transcrição kappa B; VEGF: fator vascular de crescimento; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleucina 6; IL-18: interleucina 18; MEC: matriz extracelular; NOX: NADPH oxidase; O-GlcNAc: O-glicosilação com N-acetil-glucosamina; PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1; PGA: produtos de glicação avançada; PKC: proteína quinase C; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos; RPGA: receptor de produtos de glicação avançada; SRAA: sistema renina angiotensina aldosterona; TGF- $\beta$ : transforming growth factor-beta.

## Referências

- Sociedade Brasileira de Diabetes. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Posicionamento Oficial Tripartite n. 01/2016. Prevenção, Diagnóstico e Conduta terapêutica na doença renal do diabetes [Internet] (Acesso em 2018 jan 100. Disponível em : <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/posicionamento.sbd-sbem-sbn.pdf>)
- Levin A, Stevens PE, Bilous RW, Coresh J, De Francisco ALM, De Jong, PE, et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3(1):1-150.
- International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 8th. ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2017.
- Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet.* 2017; 389(10085):2239-51.
- Tesch GH. Diabetic nephropathy – is this an immune disorder?. *Clin Sci.* 2017;131(16):2183-99.
- American Diabetes Association (ADA). 1. Improving care and promoting health in populations: standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes Care.* 2018;41(Suppl 1):S7-12.
- Turkmen K. Inflammation, oxidative stress, apoptosis, and autophagy in diabetes mellitus and diabetic kidney disease: the Four Horsemen of the Apocalypse. *Int Urol Nephrol.* 2017;49(5):837-44.
- Reidy K, Kang HM, Hostetter T, Susztak K. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease. *J Clin Invest.* 2014;124(6):2333-40.
- Jha JC, Banal C, Chow BSM, Cooper ME, Jandeleit-Dahm K. Diabetes and kidney disease: role of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2016;25(12):657-84.

10. Silva TA, Vasconcelos SML. O controle da glicemia como um fator atenuante do estresse oxidativo da hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens.* 2011;18(3):113-5.
11. Kwon H, Pessin JE. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol.* 2013 Jun 12;4:71.
12. De Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett.* 2008;582(1):97-105.
13. Santos JC de F, Valentim IB, de Araújo ORP, Ataíde TR, Goulart MOF. Development of nonalcoholic hepatopathy: Contributions of oxidative stress and advanced glycation end products. *Int J Mol Sci.* 2013;14(10):19846-66.
14. Queiroz JC, Alonso-Vale MI, Curi R, Lima FB. Control of adipogenesis by fatty acids. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009;53(5):582-94.
15. Freitas MC, Ceschini FL, Ramallo BT. Insulin resistance associated with obesity: anti-inflammatory effects of physical exercise. *R Bras Ci Mov.* 2014;22(3):139-47.
16. Lagranha CJ, Fiorino P, Casarini DE, Schaan BD, Irigoyen MC. Molecular bases of diabetic nephropathy. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51(6):901-12.
17. Machado UF, Schaan BD, Seraphim PM. Glucose transporters in the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(2):177-89.
18. Vallon V. The proximal tubule in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011;300(5):R1009-22.
19. Donate-Correa J, Martín-Núñez E, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Navarro-González JF. Inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Diabetes Res.* 2015;2015:948417.
20. Toth-Manikowski S, Atta MC. Diabetic kidney disease: pathophysiology and therapeutic targets. *J Diabetes Res.* 2015;2015:697010.
21. Barbosa KBF, Costa NMB, Gonçalves RC, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. *Rev Nutr.* 2010;23(4):629-43.
22. Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova.* 2006;29(1):113-23.
23. Higgins GC, Coughlan MT. Mitochondrial dysfunction and mitophagy: the beginning and end to diabetic nephropathy? *Br J Pharmacol.* 2014;171(8):1917-42.
24. Che R, Yuan Y, Huang S, Zhang A. Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014;306(4):F367-78.
25. Sharma K. Obesity and diabetic kidney disease: role of oxidant stress and redox balance. *Antioxid Redox Signal.* 2016;25(4):208-16.
26. Levin A, Djurdjev O. On being better kidney doctors: understanding trajectories, probabilities, predictability, and people. *Am J Kidney Dis.* 2012;59(4):475-7.
27. Han Q, Zhu H, Chen X, Liu Z. Non-genetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Front Med.* 2017;11(3):319-32.
28. Bhargava P, Schnellmann RC. Mitochondrial energetics in the kidney. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13(10):629-46.
29. Reis JS, Veloso CA, Mattos RT, Purish S, Nogueira-Machado JA. Oxidative stress: a review on metabolic signaling in type 1 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(7):1096-105.
30. Aghadavod E, Khodadadi S, Baradaran A, Nasri P, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. Role of oxidative stress and inflammatory factors in diabetic kidney disease. *Iran J Kidney Dis.* 2016;10(6):337-43.
31. Blacker TS, Duchon MR. Investigating mitochondrial redox state using NADH and NADPH autofluorescence. *Free Radic Biol Med.* 2016 Nov;100:53-65.
32. Geraldes P, King LG. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res.* 2010;106(8):1319-31.
33. Noh H, King GL. The role of protein kinase C activation in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl.* 2007 Aug;(106):S49-53.
34. Kanwar YS, Sun L, Xie P, Liu F, Chen S. A Glimpse of various pathogenic mechanism of diabetic nephropathy. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:395-423.
35. Takahashi T, Harris RC. Role of endothelial nitric oxide synthase in diabetic nephropathy: lessons from diabetic eNOS knockout mice. *J Diabetes Res.* 2014;2014:590541.
36. Lima V L. Papel da O-glicosilação com N-acetil-glucosamina (O-GlcNAc) nas alterações vasculares associadas a altos níveis de endotelina-1 [dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2012.
37. Arsov S, Graaff R, Van Oeveren W, Stegmayr B, Sikole A, Rakhorst G, et al. Advanced glycation end-products and skin autofluorescence in end-stage renal disease: a review. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52(1):11-20.
38. Negre-Salvayre A, Salvayre R, Augé N, Pamplona R, Portero-Otín M. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. *Antioxid Redox Signal.* 2009;11(12):3071-109.
39. Castro E. The role of advanced glycosylation end products in diabetic nephropathy. *Arq Med.* 2011;25(1):27-37.
40. Tan ALY, Forbes JM, Cooper ME. AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol.* 2007;27(2):130-43.
41. Stinghen AE, Massy ZA, Vlassara H, Striker GE, Boullier A. Uremic toxicity of advanced glycation end products in CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(2):354-70.
42. Matsui T, Higashimoto Y, Nishino Y, Nakamura N, Fukami K, Yamagishi SI. RAGE-aptamer blocks the development and progression of experimental diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2017;66(6):1683-95.
43. Coughlan MT, Sharma K. Challenging the dogma of mitochondrial reactive oxygen species overproduction in diabetic kidney disease? *Kidney Int.* 2016;90(2):272-9.
44. Zhu Q, Scherer PE. Immunologic and endocrine functions of adipose tissue: implications for kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(2):105-20.
45. Chawla T, Sharma D, Singh A. Role of the renin angiotensin system in diabetic nephropathy. *World J Diabetes.* 2010;1(5):141-5.
46. Carmines PK. The renal vascular response to diabetes. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(1):85-90.
47. Lim AKH. Diabetic nephropathy - complications and treatment. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2014 Oct 15;7:361-81.
48. Bakris GL. Recognition, pathogenesis, and treatment of different stages of nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc.* 2011;86(5):444-56.
49. Van Buren PN, Toto R. Hypertension in diabetic nephropathy: epidemiology, mechanisms, and management. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2011;18(1):28-41.
50. Maric-Bilkan C. Obesity and diabetic kidney disease. *Med Clin North Am.* 2013;97(1):59-74.
51. Márquez E, Riera M, Pascual J, Soler MJ. Renin-angiotensin system within the diabetic podocyte. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2015;308(1):F1-10.
52. Padda RS, Shi Y, Lo CS., Zhang SL, Chan JS. Angiotensin-(1-7): a novel peptide to treat hypertension and nephropathy in diabetes?. *J Diabetes Metab.* 2015;6(10).
53. Nguyen Dinh Cat A, Montezano AC, Burger D, Touyz RM. Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature. *Antioxid Redox Signal.* 2013;19(10):1110-20.
54. Parker MD, Myers EJ, Schelling JR. Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger-1 (NHE1) regulation in kidney proximal tubule. *Cell Mol Life Sci.* 2015;72(11):2061-74.
55. Vallés PC, Bocanegra V, Gil LA, Costantino VV. Physiological functions and regulation of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger [NHE1] in renal tubule epithelial cells. *Kidney Blood Press Res.* 2015;40(5):452-66.

56. Peti-Peterdi J, Harris RC. Macula densa sensig and signaling mechanisms of renin release. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(7):1093-6.
57. Sedeek M, Nasrallah R, Touyz RM, Hébert RL. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and the kidney: friend and foe. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(10):1512-8.
58. Lozano-Maneiro L, Puente-García A. Renin-angiotensin-aldosterone system blockade in diabetic nephropathy. Present evidences. *J Clin Med*. 2015;4(11):1908-37.
59. Miranda-Díaz AG, Pazarín-Villaseñor L, Yanowsky-Escatell FG, Andrade-Sierra J. Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease. *J Diabetes Res*. 2016;2016:7047238.
60. Lindblom R, Higgins C, Coughlan M, De Haan JB. Targeting mitochondria and reactive oxygen species-driven pathogenesis in diabetic nephropathy. *Rev Diabet Stud*. 2015;12(1-2):134-56.
61. Sharaf El Din UAA, Salem MM, Abdulazim DO. Diabetic nephropathy: time to withhold development and progression - a review. *J Adv Res*. 2017;8(4):363-73.
62. Manda G, Checherita AI, Comanescu MV, Hinescu ME. Redox signaling in diabetic nephropathy: hypertrophy versus death choices in mesangial cells and podocytes. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:604208.
63. Johar DR, Bernstein LH. Biomarkers of stress-mediated metabolic deregulation in diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017 Apr;126:222-9.
64. Ruiz S, Pergola PE, Zager RA, Vaziri ND. Targeting the transcription factor Nrf2 to ameliorate oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2013;83(6):1029-41.
65. Guo K, Lu J, Huang Y, Wu M, Zhang L, Yu H, et al. Protective role of PGC-1 $\alpha$  in diabetic nephropathy is associated with the inhibition of ROS through mitochondrial dynamic remodeling. *PLoS One*. 2015;10(4):e0125176.
66. Tavafi M. Diabetic nephropathy and antioxidants. *J Nephrothol*. 2013;2(1):20-7.
67. Mahmoodnia, L, Aghadavod E, Beigrezaei S, Rafieian-Kopaei M. An update on diabetic kidney disease, oxidative stress and antioxidant agents. *J Renal Inj Prev*. 2017;6(2):153-7.
68. Bolignano D, Cernaro V, Gembillo G, Baggetta R, Buemi M, D'Arrigo G. Antioxidant agents for delaying diabetic kidney disease progression: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178699.
69. Barman, S, Pradeep, RP, Srinivasan K. Zinc supplementation alleviates the progression of diabetic nephropathy by inhibiting the overexpression of oxidative-stress-mediated molecular markers in streptozotocin-induced experimental rats. *J Nutr Biochem*. 2018;54:113-29.
70. Khatami PG, Soleimani A, Sharifi N, Aghadavod E, Asemi Z. The effects of high-dose vitamin E supplementation on biomarkers of kidney injury, inflammation, and oxidative stress in patients with diabetic nephropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Lipidol*. 2016;10(4):922-9.
71. Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, Nigris VD, Ceriello, A. The possible role of flavonoids in the prevention of diabetic complications. *Nutrients*. 2016;8(5):E310.
72. Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clin Sci*. 2013;124(3):139-52.
73. Pichler R, Afkarian M, Dieter BP, Tuttle KR. Immunity and inflammation in diabetic kidney disease: translating mechanisms to biomarkers and treatment targets. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2017;312(4):F716-31.
74. Duran-Salgado MB, Rubio-Guerra AF. Diabetic nephropathy and inflammation. *World J Diabetes*. 2014;5(3):393-8.
75. Sharma D, Bhattacharya P, Kalia K, Tiwari V. Diabetic nephropathy: new insights into established therapeutic paradigms and novel molecular targets. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017 Jun;128:91-108.
76. Yap HL. MCP-1: a potential target for diabetic microvascular complications? *Urol Nephrol Open Access J*. 2017;5(3):3-5.
77. Anders H-J. Of inflammasomes and alarmins: IL-1 $\beta$  and IL-1 $\alpha$  in kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(9):2564-75.
78. García-García PM, Getino-Melián MA, Domínguez-Pimentel V, Navarro-González JF. Inflammation in diabetic kidney disease. *World J Diabetes*. 2014;5(4):431-43.
79. Sakai N, Wada T. Revisiting inflammation in diabetic nephropathy: the role of the Nlrp3 inflammasome in glomerular resident cells. *Kidney Int*. 2015;87(1):12-4.
80. Sun L, Kanwar YS. Relevance of TNF- $\alpha$  in the context of other inflammatory cytokines in the progression of diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 2015;88(4):662-5.
81. Chen Y, Qiao Y, Xu Y, Ling W, Pan Y, Huang Y, et al. Serum TNF- $\alpha$  concentrations in type 2 diabetes mellitus patients and diabetic nephropathy patients: a systematic review and meta-analysis. *Immunol Lett*. 2017 Jun;186:52-8.
82. Ratliff BB, Abdulmahdi W, Pawar R, Wolin MS. Oxidant mechanisms in renal injury and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2016;25(3):119-46.
83. Sindhughosa DA, Pranamartha AGMK. The involvement of proinflammatory cytokines in diabetic nephropathy: focus on interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) signaling mechanism. *Bali Med J*. 2017;6(1):44-51.
84. Feigerlová E, Battaglia-Hsu SF. IL-6 signaling in diabetic nephropathy: From pathophysiology to therapeutic perspectives. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017 Oct;37:57-65.
85. Su H, Lei CT, Zhang C. Interleukin-6 signaling pathway and its role in kidney disease: an update. *Front Immunol*. 2017 Apr 21;8:405.
86. Elsherbiny NM, Al-Gayyar MMH. The role of IL-18 in type 1 diabetic nephropathy: the problem and future treatment. *Cytokine*. 2016 May;81:15-22.
87. Fujita T, Ogihara N, Kamura Y, Satomura A, Fuke Y, Shimizu C, et al. Interleukin-18 contributes more closely to the progression of diabetic nephropathy than other diabetic complications. *Acta Diabetol*. 2012;49(2):111-7.

