

**NOX5 Y SOD3 COMO POTENCIALES BIOMARCADORES DEL ESTRÉS
OXIDATIVO ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD RENAL DIABÉTICA,
UNA REVISIÓN DE LA LITERATURA**

**Universidad El Bosque
Facultad de Medicina
Pregrado de Medicina
Bogotá
2022**

**NOX5 Y SOD3 COMO POTENCIALES BIOMARCADORES DEL ESTRÉS
OXIDATIVO ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD RENAL DIABÉTICA,
UNA REVISIÓN DE LA LITERATURA**

Director: Rafael Antonio Guerrero Rojas

Trabajo de grado para optar por el título médico cirujano.

**Universidad El Bosque
Facultad de Medicina
Pregrado en Medicina
Bogotá D.C
2022**



La Universidad El Bosque no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

Agradecimientos

Agradecemos a nuestros docentes por su apoyo y guía durante este proceso, además y de manera muy especial queremos agradecer a nuestro director por su tiempo, paciencia y conocimiento aportado durante la realización de este trabajo, lo cual nos permitió concluir de manera satisfactoria el objetivo del mismo.

También queremos agradecer a nuestras familias quienes nos brindaron el apoyo necesario para culminar exitosamente este trabajo y esta etapa de nuestras vidas, de ellos es este trabajo.

Tabla de contenido

Tabla de contenido.....	4
Resumen.....	6
Planteamiento del Problema.....	8
Justificación.....	10
Objetivos	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos	11
Marco Conceptual	12
Papel Fisiológico de NOX.....	14
Papel Fisiológico de SOD	17
Biomarcadores Actuales	18
Metodología	21
Bases de datos y Normalización de Términos	21
Resultados	26
Participación de NOX5 en el estrés oxidativo asociado a la enfermedad renal diabética (ERD)	26
NOX5 como biomarcador de lesión glomerular en la ERD	27
NOX5 como biomarcador de lesión tubular y daño intersticial (fibrosis) en la ERD	29
Discusión	41
Conclusiones.....	45
Declaración de Conflicto de Interés	47
Referencias Bibliográficas	48

Lista de Tablas

1. Tabla 1. Subtipos de la superfamilia NADPH oxidasas (NOX).
2. Tabla 2. Subtipos de la superfamilia Superóxido Dismutasa (SOD).
3. Tabla 3: Pregunta PICO: Aspectos utilizados para la búsqueda de información en bases de datos.
4. Tabla 4. Normalización de términos MeSH.
5. Tabla 5. Algoritmos de búsqueda según cada base de datos.
6. Tabla 6. Criterios de exclusión e inclusión (elegibilidad).

Lista de Figuras

1. Figura 1. Diagrama de flujo representativo del proceso de selección de los artículos identificados para la presente investigación:

Resumen

La enfermedad renal diabética (ERD) es la complicación crónica más común de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2), en ella los riñones sufren cambios inflamatorios y fibróticos que terminan en una disminución de la filtración glomerular y disfunción renal. La fisiopatología de la enfermedad se ve influenciada sustancialmente por el desbalance del equilibrio oxido reductor, asociado a un aumento de los productos de glicación avanzada y la hiperproducción de radicales libres de oxígeno secundarios a una hiperactividad de las NADPH oxidasas además de un deterioro de la actividad de la superóxido dismutasa 3. El diagnóstico de la enfermedad renal diabética se realiza tardíamente ya que los biomarcadores disponibles como lo son la albúmina en orina y la creatinina en suero y orina, se presentan cuando el daño microvascular es sustancial. En esta revisión de la literatura se describe el papel de la NADPH oxidasa 5 y la superóxido dismutasa 3 evaluados en modelos animales y celulares experimentales o en muestras de pacientes con ERD, como biomarcadores de diagnóstico, pronóstico o target terapéutico de la ERD a partir de artículos obtenidos en bases de datos como EMBASE y PUBMED lo cuales se seleccionaron de acuerdo a criterios de inclusión.

Palabras clave: Enfermedad Renal Diabética, NOX5, SOD3, biomarcador, Diabetes Mellitus tipo 2, ROS, estrés oxidativo.

Abstract

Diabetic kidney disease (DKD) is the most common chronic complication of patients with type 2 diabetes mellitus (DM2), in which the kidneys undergo inflammatory and fibrotic changes that end in a decrease in glomerular filtration and renal dysfunction. The pathophysiology of the disease is substantially influenced by the imbalance of the redox balance, associated with an increase in advanced glycation products and the hyperproduction of oxygen free radicals secondary to hyperactivity of NADPH oxidases, in addition to a deterioration of the activity of superoxide dismutase 3. The diagnosis of diabetic kidney disease is made late since the available biomarkers such as albumin in the urine, seric and urinary creatinine appear when microvascular damage is substantial. This literature review describes the role of NADPH oxidase 5 and superoxide dismutase 3, evaluated in animal and experimental cell models or in samples from patients with DKD, as biomarkers for diagnosis, prognosis or therapeutic target of DKD from articles obtained from databases such as EMBASE and PUBMED, which were selected according to inclusion criteria.

Key words: Diabetic Kidney Disease, NOX5, SOD3, biomarker, Type 2 Diabetes Mellitus, ROS, oxidative stress.

Planteamiento del Problema

La enfermedad renal diabética (ERD) es la complicación más seria y común de la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) [1]. Ocurre en un 20-40% de los pacientes con DM2 mal controlada y de larga data siendo la principal causa de muerte en este grupo poblacional y la responsable de la mayoría de casos que progresan de enfermedad renal crónica (ERC) a enfermedad renal terminal (ESRD) [1,2]. A pesar de las intervenciones, actualmente el 20% de los pacientes con DM2 desarrollan ESRD, hecho que es preocupante teniendo en cuenta que adicionalmente se espera un aumento de la incidencia de la DM2 en poblaciones más jóvenes y el incremento en la prevalencia global debido al crecimiento de los factores de riesgo tales como la obesidad, las dietas hipercalóricas y los antecedentes de DM2 familiar [3–5]. Además, se espera que la prevalencia de DM2 aumente a 10,2% para 2030 y 10,9% a 2045 a pesar de los diversos programas de prevención desarrollados y la divulgación sobre los factores de riesgo relacionados con esta patología [4].

La fisiopatología y el desarrollo de la ERD están dados por la disfunción hemodinámica, la hipertrofia glomerular, la expansión mesangial, la destrucción podocitaria, la proteinuria progresiva, el engrosamiento de la membrana basal glomerular, la inflamación y la fibrosis que conducen al declive de la tasa de filtración glomerular (TFG) y posteriormente a la atrofia renal [6]. Adicionalmente se relaciona con el estrés oxidativo generado por la acumulación de los productos de glicación avanzada (AGEs), el aumento de la actividad enzimática de las NADPH oxidasas (NOX) y la disminución en la actividad del superóxido dismutasa (SOD) que a través de la hiperproducción de las especies reactivas de oxígeno (ROS), alteran el equilibrio redox, favorecen el daño oxidativo y afectan la función renal [1].

En la actualidad, la ERD es diagnosticada mediante las pruebas de BUN, creatinina, proteinuria, las tasas de microalbuminuria y macroalbuminuria, y la reducción en la tasa de filtración glomerular

(TFG) [7,8] Sin embargo, estas pruebas generan hallazgos tardíos ante un daño que ya está establecido, tienen un valor predictivo positivo (VPP) limitado y su sensibilidad sólo aumenta en relación al avance de la patología [9,10]. Un ejemplo de esto es el uso de la microalbuminuria por tira reactiva a través de orina recolectada en 24 hs, que fue capaz de mostrar que a mayores niveles de microalbuminuria mayor posibilidad de resultar positiva, sin embargo, en el estudio realizado por Polanco, et.al, únicamente mostró una sensibilidad del 50% y una especificidad del 100% en la población estudiada, lo que demuestra que la ERD puede pasar como subdiagnosticada si no está en estadios avanzados [11]. Por esta razón, es importante cuestionar, ¿Cuál es la participación de NOX5 y SOD3 como potenciales biomarcadores de estrés oxidativo asociado a la enfermedad renal diabética? con el fin de delimitar su alcance como biomarcadores complementarios, pero principalmente de detección más temprana, a los actualmente existentes.

Justificación

El tiempo que transcurre desde el inicio del daño renal inducido por estados hiperglucémicos hasta la identificación clínica o con biomarcadores es crucial para establecer un periodo en el cual la enfermedad progresa de manera silente [12]. Desde el comienzo de la ERD se genera un proceso inflamatorio con recambio intersticial típico de la enfermedad, pero con una expresión leve o nula de los marcadores examinados mediante las pruebas de tamizaje que existen en la actualidad, lo que retrasa el diagnóstico [11]. Por esta razón, cuando la ERD se identifica con estas metodologías, el 50% de los pacientes con DM2 desarrollarán estadios avanzados de enfermedad renal que pueden llegar a requerir incluso un reemplazo renal, impactando en la calidad de vida del paciente y en los costos de atención en salud asociados [11].

El primer contacto con un paciente DM2 con o sin ERD es fundamental y debe basarse en la prevención, educación, intervención y seguimiento oportuno para evitar el desarrollo o progresión de las complicaciones, con la indicación de una remisión temprana al nefrólogo una vez se identifican los cambios sugestivos de ERD [8]. Teniendo en cuenta lo anterior y la poca disponibilidad de herramientas diagnósticas clásicas en estadios tempranos de la ERC, diversos autores buscan encontrar e implementar nuevos biomarcadores que tengan ventajas sobre los marcadores tradicionales, con el fin de tener la capacidad de optimizar el diagnóstico y el manejo temprano de la lesión renal con el objetivo de evitar su progresión a estadios terminales irreversibles y de alto costo en salud [8]. En ese sentido, el análisis de los marcadores de estrés oxidativo parece ser promisorio en la ERD, incidiendo a su vez en la calidad de vida de los pacientes que padecen esta condición al proveer un diagnóstico oportuno y temprano.

Objetivos

Objetivo general

- Llevar a cabo una revisión de la literatura para identificar la participación de NOX5 y SOD3 como biomarcadores en la fisiopatología del estrés oxidativo asociado a la enfermedad renal diabética.

Objetivos específicos

- Describir los cambios en el equilibrio oxido reductivo relacionados con los sistemas NOX y SOD asociados a la fisiopatología de la enfermedad renal diabética.
- Distinguir la función de NOX5 y SOD3 en la progresión de la enfermedad renal diabética en relación al estrés oxidativo.
- Delimitar el alcance de NOX5 y SOD3 como biomarcadores de estrés oxidativo para el diagnóstico, pronóstico o diana terapéutica en la enfermedad renal diabética.

Marco Conceptual

Dentro de la fisiopatología de la ERD se ha encontrado que el exceso de ROS a nivel renal generado por los estados hiperglucémicos es responsable en gran medida de los procesos de inflamación, atrofia y disfunción renal característicos de esta patología [1]. Por medio de la interacción con diversas vías de señalización, los ROS son capaces de generar procesos de transdiferenciación de las células tubulares renales, inducción apoptótica podocitaria y mesangial, alterar el equilibrio de la producción y degradación de la matriz extracelular (MEC), así como la de acelerar el proceso esclerótico de la estructura glomerular que termina en pérdida de la función de este órgano [1].

Dentro de estas vías se encuentra la vía de *Janus Quinasa/Signal transducer and activator of transcription* (JAK/STAT), mediante la cual se produce la activación del inmunoproteasoma, un complejo catalítico responsable de la generación de radicales libres que promueven los estados inflamatorios [13]. Por otro lado, se ha encontrado que durante la diabetes, hay un aumento de AGEs a nivel de la membrana basal glomerular y de las células mesangiales y podocitarias que interactúan con su receptor RAGE, lo cual hace que se activen las moléculas NOX que favorecen el aumento de los ROS a nivel intracelular al catalizar la reducción de oxígeno molecular (O_2) a superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) usando el NADPH como donador de electrones, generando estrés oxidativo [14,15]. Además, se ha descrito que el anión superóxido de las NOX, interactúa con el óxido nítrico y genera peroxinitrito, el cual se une posteriormente a los residuos de tirosina de las proteínas intracelulares para crear nitrotirosina un compuesto apoptótico relacionado con la patogénesis de la ERD [16].

Dicho estrés oxidativo a su vez es regulado por medio de la vía de respuesta de las proteínas mal plegadas (UPR), que activa a la proteína *ARN - like ER quinasa* (PERK) y al factor de transcripción ATF4 corriente abajo cuyo fin es tratar de atenuar la producción de proteínas anómalas para mantener

el equilibrio redox a nivel celular [6]. ROS producidos por NOX también estimulan la vía del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB) y de la proteína activadora 1 (AP-1) que inducen a los factores proinflamatorios y proapoptóticos, tales como IL-6, el TNF α , TGF- β quienes favorecen la fibrosis, principalmente mediante el depósito de colágeno y fibronectina [6,17].

En respuesta a estas moléculas y al estrés oxidativo excesivo, se activa adicionalmente la vía de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) p38 que regula la producción de proteínas proinflamatorias [6]. Adicionalmente, se ha visto que el receptor tipo Toll 4 (TRL4) tiene un papel importante en la ERD, activando al factor NF-kB el cual va favorecer la expresión de los genes proinflamatorios antes descritos [17–19] Además, algunos estudios indican durante los estados hiperglucémicos, hay un incremento de ácido lisofosfatídico (LPA) a nivel glomerular el cual ha demostrado ser un activador de TLR4 y mediante sus receptores LPAR1 y LPAR3 participa en la ERD al inducir a TGF- β , participando así en la fibrosis renal [20]. Igualmente, se ha observado una producción adicional de estrés oxidativo con relación al malondialdehído, un producto de la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en las membranas celulares, que al ser una molécula de peroxidación genera radicales libres que favorecen el daño celular, la apoptosis, la remodelación y el daño principalmente a nivel de la membrana celular [21].

Por otro lado, se ha documentado un incremento en la actividad de la vía de la proteína quinasa C (PKC) de manera simultánea al aumento de las isoformas de NOX [1,15]. De hecho, se ha visto que la activación y estimulación continua de esta vía PKC dependiente de su unión al diacilglicerol (PKC-DAG), potencia el estrés oxidativo durante los estados hiperglucémicos, incrementa la TFG (hiperfiltración), disminuye la resistencia arteriolar, elevando la presión de filtración glomerular, mediados por la acción de la prostaglandinas E2 y de la angiotensina II [22]. Además, la PKC en

unión con NfKB favorece la sobreproducción de las moléculas de adhesión endoteliales ICAM-1 que promueve la remodelación mesangial crónica [23].

Finalmente, varios estudios han señalado que la combinación de los ROS, la angiotensina II y las NOX favorece la entrada de calcio a través del canal potencial receptor transitorio de cationes, subfamilia C, miembro 6 (TRPC6), generando hipertrofia podocitaria y borramiento de los pedicelos a nivel de la barrera de filtración glomerular, conduciendo a la albuminuria como marcador de ERD [24,25].

Papel Fisiológico de NOX

La familia de las NOX oxidasas está conformada por un grupo de siete enzimas (NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, Duox 1 y Duox2) multiméricas, cuya función es transferir electrones a través de las membranas citosólicas y mitocondriales, catalizan la reducción del oxígeno molecular (O_2) a superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) usando a NADPH como donador de electrones, por lo que su función está directamente relacionada con la producción de ROS [24]. Adicionalmente, se han atribuido otras características funcionales dependiendo del subtipo enzimático y de su expresión tisular. Las características principales de estos subtipos se amplían en la tabla 1.

Tabla 1. Subtipos de la superfamilia NADPH oxidasas (NOX)

Subfamilia y localización génica	Estructura, función y expresión tisular
<p>NOX1 <i>Homo sapiens</i>: Cromosoma Xq22.1, también NOH-1, MOX1, GP91-2 [26].</p>	<p>Estructura: Composición: 564 aa, peso 55-60 kDa [26].</p> <p>Función: -Enzima oxidorreductasa, multimérica, generadora de superóxido [27]. -Canal de protones (H⁺) dependiente de voltaje que participa en la regulación del pH celular, presente en fagocitos en reposo y otros tejidos, regulado por Zn [27]. -Su alteración se relaciona con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) [27]. -Se involucra en el crecimiento celular, la angiogénesis y a nivel vascular tiene relación con EGF y PKC y a nivel mesangial con el óxido nítrico (ON) [26,28].</p> <p>Expresión tisular: Colón, células carcinomatosas del colon, útero, próstata, placenta, osteoclastos, pericitos retinales, células de músculo liso y endotelio [26,27].</p>
<p>NOX2 <i>Homo sapiens</i>: Cromosoma Xp21.1, también CYBB, gp91 phox [26].</p>	<p>Estructura: Composición: 570 aa, peso: 55 kDa [26].</p> <p>Función: -Generar ROS dependiente de NADPH [29]. -Canal de protones (H⁺) dependiente de voltaje que participa en la regulación del pH celular, presente en fagocitos en reposo y otros tejidos, regulado por Zn [29]. -En alteraciones fagocitarias, se relaciona con la enfermedad granulomatosa [29].</p> <p>Expresión tisular: Neutrófilos (compartimientos intracelulares), fagocitos (intracelular y en la membrana plasmática), timo, intestino delgado, colon, bazo, páncreas, ovarios, placenta, próstata y testículos [26]. Neuronas hipocámpicas (en sitios sinápticos), células de músculo liso (citoesqueleto perinuclear), cardiomiocitos, miocitos, hepatocitos, células endoteliales y células madre hematopoyéticas [26].</p>
<p>NOX3 Cromosoma 6q25.1-26, también GP91-3 [26].</p>	<p>Estructura: Composición: 568 aa, peso: 53-65 kDa [26].</p> <p>Función: -Interviene en la biogénesis de los otolitos/otoconia a nivel del oído interno para la percepción del balance y la gravedad [30]. -Sus mutaciones generan fenotipos en modelos murinos de cabeza inclinada por disminución de otoconias y se ha relacionado con la hipertensión pulmonar [31,32].</p> <p>Expresión tisular: Células epiteliales del oído interno, riñón, pulmón, cráneo y cerebro fetal [26,28].</p>

<p>NOX4 <i>Homo sapiens</i>: Cromosoma 11q14.2-q21 también RENOX, KOX-1, KOX [26].</p>	<p>Estructura: Composición: 578 aa, peso: 65-80 kDa [26].</p>
	<p>Función: -Enzima oxidoreductasa, productora de ROS intracelular e intranuclear que puede ser inhibida por el difenileno yodonio [33,34]. -Funciona como un sensor de oxígeno, regulador de canales de K y de la actividad de HIF1A así como de la síntesis de EPO [33,34]. -Involucrado en la vía de señalización de la insulina, señalización redox en células vasculares, modulación de ERK 1/2 y en la expresión génica, apoptosis y resorción ósea [33]. -Estudios la relacionan con hipertensión pulmonar [31]. -Promueve citoquinas proinflamatorias durante la progresión del cáncer [35].</p>
	<p>Expresión tisular: Células tubulares distales de la corteza renal, células endoteliales y en menor medida en células de músculo liso, células epiteliales de la vía aérea, células hematopoyéticas, corazón, placenta, páncreas, osteoclastos, fibroblastos, queratinocitos, tumores cerebrales severos y adipocitos [26,28,33].</p>
<p>NOX5 Cromosoma 15q22.31 [26].</p>	<p>Estructura: Composición: 747 aa, peso: 85 kDa [26].</p>
	<p>Función: -Enzima oxidoreductasa, dependiente de Ca que genera moléculas de superóxido y peróxido de hidrógeno [36,37]. -Canal de protones dependiente de calcio [37]. -Participa en procesos de crecimiento y proliferación celular, crecimiento endotelial y angiogénesis y apoptosis [37]. -Aumenta la producción de ROS durante estados hiperglucémicos y se ha visto involucrada en la patogénesis del cáncer esofágico [37,38].</p>
	<p>Expresión tisular: Únicamente en humanos, en riñón, testículos (espermatozoides de paquitenio), bazo (en la zona de manto), nódulos linfáticos, músculo liso microvascular, médula ósea, páncreas, placenta, ovario, útero, estómago y en varios tejidos fetales [26,28,37].</p>
<p>DUOX1 Cromosoma 15q21, también Thox1, LNOX1, NOXEF1 [26].</p>	<p>Estructura: Composición: 1551 aa, peso: 160 kDa [26].</p>
	<p>Función: -Oxidasa dual que genera peróxido de hidrógeno requerido para la síntesis de hormonas tiroideas tales como la peroxidasa tiroidea (TPO) y lactoperoxidasa (LPO), útil en la defensa en la superficie de la mucosa [39]. -Inducida en respuesta a IL4 e IL13 en el epitelio respiratorio [26]. -Se ha estudiado su rol como gen selectivo supresor de tumores a nivel pulmonar, tiroideo y hepático [40].</p>
	<p>Expresión tisular: Tirocitos, epitelio respiratorio y en menor medida en placenta, testículos, páncreas, corazón, próstata y glándulas salivales [26,39,40]</p>
	<p>Estructura: Composición: 1.548 aa, peso 160 kDa [26].</p>

DUOX2 Cromosoma 15q15.3-q21, también Thox2, NOXEF2 y p138 lox [26]	Función: -Misma función oxidasa y tiroidea de DUOX1 [41]. -Su alteración se relaciona con la dishormonogénesis tiroidea, hipotiroidismo y la EII [41]. -Contribuye en la homeostasis de la microbiota intestinal y en la respuesta antimicrobiana [42].
	Expresión tisular: Tiroides, glándulas salivales, mucosa rectal, testículos, mucosa del tracto gastrointestinal, epitelio respiratorio, próstata y páncreas [26,41].

Papel Fisiológico de SOD

La familia de las SOD se compone de tres tipos de moléculas SOD1, SOD2 y SOD3 que funcionan como enzimas oxidorreductasas ubicuas que catalizan la reducción del anión superóxido a especies menos reactivas como el peróxido de hidrógeno, junto a la catalasa son importantes antioxidantes celulares [43] Las principales características de las SOD se encuentran enlistadas a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Subtipos de la superfamilia Superóxido Dismutasa (SOD).

Subfamilia y localización génica	Estructura, función y expresión tisular
SOD1 Homo sapiens: Cromosoma 21q22, también Cu/ZnSOD [27].	Estructura: Composición: 154 aa, peso: 88 kDa asociada al Zn y Cu [43,44].
	Función: -Proteína homodimérica involucrada en la destrucción de radicales libres [44]. -Se relaciona con las enfermedades neurodegenerativas como ELA, la tetraplejia espástica y la hipotonía axial progresiva (STAHP) [43,44] -Se asocia a la inhibición del transporte axonal y a la disfunción mitocondrial [44].
	Expresión tisular: Citoplasma, núcleo, membrana mitocondrial [43].
SOD2 Homo sapiens: Cromosoma 6q25.3, también MnSOD [43,45].	Estructura: Composición: 40 aa, peso 32 kDa, asociada al Mn [43,45].
	Función: - Proteína homotetrámerica que destruye radicales de superóxido [45]. -Se relaciona con las complicaciones microvasculares de la diabetes [45]. -Se estudia su papel dual sobre los tumores endocrinos, donde parece promover el crecimiento tumoral en neoplasias benignas, pero a su vez parece disminuir el crecimiento de tumores más agresivos [46].

	Expresión tisular: A nivel de la matriz mitocondrial [43].
SOD3 Homo sapiens: Cromosoma 4q21 también EcSOD [47].	Estructura: Composición: 240 aa, peso 134 kDa [43,47].
	Función: - Glucoproteína homotetramérica que protege el espacio extracelular de los efectos tóxicos de los radicales de oxígeno al convertirlos en peróxido de hidrógeno y oxígeno [47]. - Regula la biodisponibilidad y bioactividad del óxido nítrico y mantiene los niveles de oxígeno vascular [43]. - Se relaciona con enfermedades cardiovasculares, pulmonares y neurológicas [43].
	Expresión tisular: Membrana plasmática, fluidos extracelulares [43]. - Se expresa en vasos sanguíneos, corazón, pulmón, riñón y placenta, así como en fluidos extracelulares como plasma, linfa y líquido sinovial [43]. - Sintetizada por los fibroblastos y las células de la musculatura lisa que actúa sobre la membrana extracelular de las células endoteliales del glomérulo renal [48].

Biomarcadores Actuales

Inicialmente, es importante recordar que un biomarcador se define como un parámetro objetivo de un estado médico que se caracteriza por ser medible y reproducible [49]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) los define como “cualquier sustancia, estructura o proceso que puede ser medido en el cuerpo directa o indirectamente y que permite conocer o predecir el desarrollo natural de las enfermedades” [49]. De acuerdo al programa de seguridad química, los biomarcadores se dividen en biomarcadores de exposición, que se definen como sustancias exógenas o metabolitos con algún marcador celular y es medido dentro de un compartimiento orgánico, los biomarcadores de efecto, que se definen como una alteración dentro del organismo a nivel fisiológico, comportamental o bioquímico, que puede ser medido y evaluado con base en su magnitud y su asociación con las diversas alteraciones y enfermedades que se pueden presentar y por último, están los biomarcadores de susceptibilidad, que funcionan como indicadores de la habilidad adquirida de un organismo para responder ante un daño o exposición determinado [50].

Dentro de los biomarcadores convencionales, disponibles para medir la progresión de la ERD se encuentran aquellos que reparan sobre el daño y la fibrosis glomerular, tubular e intersticial, así como

la disfunción microvascular y la inflamación renal [51,52]. Dentro de estos, se encuentra la albuminuria y la relación albúmina/creatinina (ACR) que desde tiempo atrás ha sido el estándar de oro para el diagnóstico y pronóstico de la ERD, permiten estadificar y medir la afectación renal con una sensibilidad del 0.995 y una especificidad de 0.955 [51]. Sin embargo, este marcador no reconoce los daños generados previos a una albuminuria con niveles menores a < 300 mg/24 h, es decir que su sensibilidad disminuye durante los estadios iniciales de la ERD, es decir aquella que se presenta con una disminución en la TFG previa a la albuminuria [51,53].

Otros de los marcadores disponibles están dados por la relación transferrina/creatinina que tiene una sensibilidad de 0.702 y una especificidad de 0.803 para microalbuminuria y una sensibilidad de 0.939 con una especificidad de 0.925 para macroalbuminuria, lo que indica que su importancia diagnóstica es casi igual a la ARC, pero se encuentra limitada por el hecho de que puede reflejar otros daños concomitantes no asociados al daño renal propiamente diabético [51]. De igual forma está la proteína de unión al retinol urinario (RBP) cuya sensibilidad y especificidad en pacientes con microalbuminuria es apenas significativas y para macroalbuminuria es de 0.756 y 0.930 respectivamente, suponiendo un problema diagnóstico que tiene la ventaja de no verse alterado por el perfil lipídico ni la hipertensión [51]. La cistatina C sérica por su parte no tiene ni una sensibilidad ni una especificidad significativas en los pacientes con microalbuminuria como en los paciente con macroalbuminuria, pero sus niveles pueden empezar a ser detectados incluso en aquellos con normoalbuminuria, además, es superior a la creatinina al no tener relación con patologías musculares aisladas al tejido renal, sin embargo, puede sobreestimar o subestimar los valores durante el cálculo de la TFG, por lo que diversos autores continúan indagando sobre los métodos específicos acordes a la progresión de esta patología antes de significar daños en la barrera podocitaria [51,53].

En un estudio de tipo cohorte transversal, realizado en una población entre los 35 y 75 años con DM2 con al menos 10 años o más de duración, Al-Rubeaan y colaboradores mostraron que la osteopontina, una glicoproteína pleiotrópica que se encuentra en la porción ascendente del asa de Henle y en las nefronas distales, tiene una sensibilidad del 88% y una especificidad del 57% en pacientes con microalbuminuria y una sensibilidad del 100% y una especificidad 80%, incluso más altas para pacientes con macroalbuminuria, útiles en el diagnóstico de la ERD, sin embargo, es dependiente de la TFG y de los niveles de la albúmina [51,54]. Por último, los marcadores proinflamatorios TNF alfa y la IL-6, que se encuentran expresados durante el desarrollo de la ERD a causa de la inflamación crónica y el recambio fibrótico del parénquima renal, como marcadores del daño renal mostraron sólo algún grado de efectividad asociado a los cambios colaterales en la macroalbuminuria [51].

Metodología

Tipo de estudio: Revisión narrativa sobre los biomarcadores de estrés oxidativo NOX5 y SOD3 en la ERD, empleando herramientas de revisión sistemática. A continuación, en la Tabla 3 se registran los elementos para la elaboración de la pregunta PICO.

Tabla 3: Pregunta PICO: Aspectos utilizados para la búsqueda de información en bases de datos.

Población de estudio (P)	Pacientes con ERD por DM2.
Intervención (I)	Uso de biomarcadores de estrés oxidativo NOX5 Y SOD3.
Comparación (C)	No se realiza comparación ya que el objetivo de la pregunta no es comparar entre biomarcadores a pesar de que se mencionan a modo de contextualización.
Outcome	Detección o intervención temprana del estrés oxidativo en la ERD.

Fuente: Elaboración propia.

Bases de datos y Normalización de Términos

Para la búsqueda de los artículos de investigación se realizó la normalización de palabras clave por medio de términos MeSH para EMBASE y PUBMED (Ver Tabla 4) y los algoritmos de búsqueda enunciados en la Tabla 5.

EMBASE: Se utilizó porque está optimizada para la construcción de revisiones de la literatura con la información más actualizada basada en la evidencia médica. En esta base de datos los términos biomédicos se amplían en categorías específicas y usan sinónimos asociados para el término de búsqueda ingresado permitiendo una revisión mucho más completa y especializada.

PUBMED: Es utilizada ya que es una base de datos desarrollada por el Centro Nacional para la

Información Biotecnológica (NCBI por sus siglas en inglés), de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos, es el recurso bibliográfico gratuito más utilizado en el área de la salud en Internet. Cubre los campos de la medicina, la enfermería, la estomatología, la veterinaria, la gestión de salud, las ciencias preclínicas y algunas áreas de las ciencias de la vida. Además, cuenta con un amplio número de artículos e investigaciones en el tema desarrollado.

Tabla 4. Normalización de términos MeSH.

Población de estudio (P)	
Diabetic Nephropathy	Diabetes type 2
1. Nephropathies, Diabetic 2. Nephropathy, Diabetic 3. Diabetic Nephropathy 4. Diabetic Kidney Disease 5. Diabetic Kidney Diseases 6. Kidney Disease, Diabetic 7. Kidney Diseases, Diabetic 8. Diabetic Glomerulosclerosis 9. Glomerulosclerosis, Diabetic 10. Intracapillary Glomerulosclerosis 11. Nodular Glomerulosclerosis 12. Glomerulosclerosis, Nodular	1. Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent 2. Diabetes Mellitus, Ketosis-Resistant 3. Diabetes Mellitus, Ketosis Resistant 4. Ketosis-Resistant Diabetes Mellitus 5. Diabetes Mellitus, Non Insulin Dependent 6. Diabetes Mellitus, Non-Insulin-Dependent 7. Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus 8. Diabetes Mellitus, Stable 9. Stable Diabetes Mellitus 10. Diabetes Mellitus, Type II 11. NIDDM 12. Diabetes Mellitus, Noninsulin Dependent 13. Diabetes Mellitus, Maturity-Onset 14. Diabetes Mellitus, Maturity Onset 15. Maturity-Onset Diabetes Mellitus 16. Maturity Onset Diabetes Mellitus 17. MODY 18. Diabetes Mellitus, Slow-Onset 19. Diabetes Mellitus, Slow Onset 20. Slow-Onset Diabetes Mellitus 21. Type 2 Diabetes Mellitus 22. Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus 23. Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus 24. Maturity-Onset Diabetes 25. Diabetes, Maturity-Onset 26. Maturity Onset Diabetes 26. Type 2 Diabetes 27. Diabetes, Type 2 28. Diabetes Mellitus, Adult-Onset 29. Adult-Onset Diabetes Mellitus 30. Diabetes Mellitus, Adult Onset
Intervención (Uso de biomarcadores de estrés oxidativo NOX5 Y SOD3)	

NADPH Oxidases	NOX5	SOD3 protein, human	Biomarkers
<p>Oxidases, NADPH, NAD(P)H oxidase, NADPH Oxidase, Oxidase, NADPH, Nox Proteins, NAD(P)H Oxidases</p>	<p>NADPH oxidase, EF hand calcium-binding domain 5 protein, human, NOX5-gamma protein, human, NOX5-beta protein, human, NOX5-delta protein, human, NOX5-S protein, human, NOX5-alpha protein, human</p>	<p>superoxide dismutase 3, extracellular protein, human, superoxide dismutase 3 protein, human, EC-SOD protein, human, extracellular superoxide dismutase 3, human</p>	<p>Marker, Biological, Biological Marker, Biologic Marker, Marker, Biologic, Biological Markers, Biologic Markers, Markers, Biologic, Biomarker, Markers, Biological, Markers, Immunologic, Immune Markers, Markers, Immune, Marker, Immunologic, Immunologic Markers, Immune Marker, Marker, Immune, Immunologic Marker, Serum Markers, Markers, Serum, Marker, Serum, Serum Marker, Surrogate Endpoints, Endpoints, Surrogate, Surrogate End Point, End Point, Surrogate, Surrogate End Points, End Points, Surrogate, Surrogate Endpoint, Endpoint, Surrogate, Markers, Clinical, Clinical Markers, Clinical Marker, Marker, Clinical, Viral Markers, Markers, Viral, Viral Marker, Marker, Viral, Biochemical Marker, Markers, Biochemical, Marker, Biochemical, Biochemical Markers, Markers, Laboratory, Laboratory Markers, Laboratory Marker, Marker, Laboratory, Surrogate Markers, Markers, Surrogate, Marker, Surrogate, Surrogate Marker</p>
<p>Comparación: No se realiza comparación ya que el objetivo de la pregunta no es comparar entre biomarcadores a pesar de que se mencionan a modo de contextualización.</p>			
<p>Outcome: Detección o intervención temprana del estrés oxidativo en la ND</p>			
<p>Oxidative stress</p>			
<p>1.Oxidative Stresses, Stress, Oxidative, Antioxidative Stress, Antioxidative Stresses, Stress, Antioxidative, Anti-oxidative Stress, Anti oxidative Stress, Anti-oxidative Stresses, Stress, Anti-oxidative, Oxidative Damage, Damage, Oxidative, Oxidative Damages, Oxidative Stress Injury, Injury, Oxidative Stress, Oxidative Stress Injuries, Stress Injury, Oxidative, Oxidative Injury, Injury, Oxidative, Oxidative Injuries, Oxidative Cleavage, Cleavage, Oxidative, Oxidative Cleavages, Oxidative DNA Damage, DNA Damage, Oxidative, Damage, Oxidative DNA, Oxidative DNA Damages, DNA Oxidative Damage, DNA Oxidative Damages, Damage, DNA Oxidative, Oxidative Damage, DNA, Oxidative and 32.Nitrosative Stress, Oxidative Nitrative Stress, Nitrative Stress, Oxidative, Oxidative Nitrative Stresses, Stress, Oxidative Nitrative, Nitro-Oxidative Stress, Nitro Oxidative Stress, Nitro-Oxidative Stresses, Stress, Nitro-Oxidative, Stresses, Nitro-Oxidative</p>			

Tabla 5. Algoritmos de búsqueda según cada base de datos.

Base de datos	Algoritmos de búsqueda
EMBASE	'diabetic nephropathy' AND 'oxidative stress' OR 'reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 5' OR 'extracellular superoxide dismutase'
PUBMED	Diabetic kidney disease AND diabetic nephropathy AND oxidative stress OR nox5 OR sod3

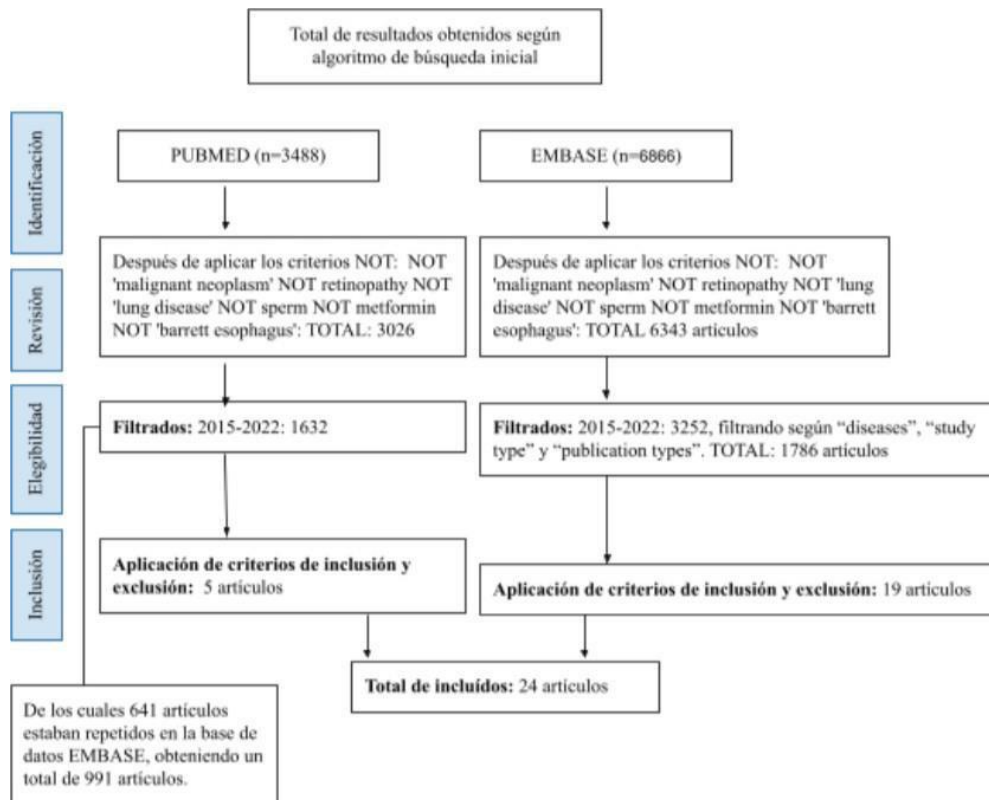
Una vez realizada la búsqueda en las bases de datos se seleccionaron los artículos mediante los siguientes criterios (Ver Tabla 6).

Tabla 6. Criterios de exclusión e inclusión (elegibilidad).

	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
1	Artículos sobre estrés oxidativo en la nefropatía diabética.	Población de estudio con otras comorbilidades adicionales a la DM2, es decir, hipertensión, obesidad, etc.
	Artículos con estudios sobre NOX5 y SOD3 en modelos celulares, animales o clínicos en humanos con nefropatía diabética en cualquiera de sus estados.	Artículos que incluyan a la nefropatía diabética pero además hablen de otras complicaciones de la diabetes como retinopatía, neuropatía u otras macrovasculares.
2	Artículos de investigación original de tipo experimental o clínico sobre biomarcadores de estrés oxidativo en nefropatía diabética.	
	Artículos con evaluación clínica de NOX5 y SOD3 como biomarcadores diagnósticos en sangre u orina en pacientes con nefropatía diabética.	
4	Artículos que demuestran el uso de NOX5 y SOD3 como abordaje terapéutico	

Parámetros de búsqueda y filtros: Se tuvieron en cuenta artículos originales desde el año 2015 hasta el año 2022, escritos en el idioma inglés cuyo tema principal radique en estrés oxidativo en nefropatía diabética. Además, se aplicaron los criterios y parámetros descritos previamente y en general, se recopilan los datos de selección de artículos en el siguiente diagrama de flujo (Figura 1).

Figura 1. Diagrama de flujo representativo del proceso de selección de los artículos identificados para la presente investigación:



Resultados

Esta revisión abarca un periodo temporal de siete años comprendidos entre 2015 y 2022 que gira en torno a los biomarcadores de estrés oxidativo NOX5 y SOD3 en la ERD. Se escoge este periodo de tiempo por la cantidad de hallazgos novedosos y significativos en torno a este tema y por el alto volumen de artículos investigativos originales publicados durante la época. A partir de esto, se obtuvieron 24 artículos dentro de los cuales se establecieron dos categorías, la primera correspondiente a un 88% del total de los artículos, basada en estudios canadienses, españoles y chinos principalmente de experimentación animal en modelos murinos y una segunda categoría correspondiente al 12% restante, basada en estudios de investigación clínica de cohortes en población de predominio asiático con ERD.

Participación de NOX5 en el estrés oxidativo asociado a la enfermedad renal diabética (ERD)

La diabetes y los estados hiperglucémicos responsables de la fisiopatología de la ERD se han relacionado con la hiperproducción de NOX [6]. Dentro de las funciones controversiales de NOX4 (en ratones) y NOX5 (en humanos) se encuentran procesos inmunes y de transducción de señales pero también se ha encontrado una posible asociación entre el aumento patológico de radicales libres de oxígeno (ROS) y los productos de glicación avanzada (AGEs) con la expresión de estas moléculas a nivel de las células mesangiales, endoteliales del músculo liso, túbulo-epiteliales, podocitarias, fibroblásticas intersticiales, en membranas celulares, RE y sitios perinucleares; especialmente durante el desarrollo y durante la patogénesis de la ERD [1,38,55–59].

NOX5 como biomarcador de lesión glomerular en la ERD

Algunos de los cambios estructurales glomerulares de la ERD corresponden al daño podocitario y la hipertrofia celular que conllevan al daño de la barrera podocitaria y a la alteración posterior en la filtración de proteínas como la albúmina [60,61]. Ciertos estudios sugieren la participación de NOX5 en los mecanismos fisiopatológicos primarios de la ERD [60].

Holterman et al en 2014 identificaron la expresión de NOX5 a nivel podocitario en biopsias renales con diabetes comparadas con otro grupo de biopsias sin lesión renal, indicando que NOX5 podría generar la afectación glomerular inicialmente de forma podocitaria puesto que no se encontró expresado a nivel mesangial en conjunto con TGF- β , consecuente al aumento consecutivo en producción de los ROS durante los estados hiperglucémicos [60]. De forma similar, un segundo estudio comparó dos grupos de glomérulos extraídos de biopsias renales humanas, el primero expuesto a altas concentraciones de D-glucosa (diabéticos) y el segundo sin exposición [60]. Los hallazgos mostraron una mayor expresión de mRNA de NOX5 y ROS en los diabéticos en comparación con los no expuestos a D-glucosa [60].

Adicionalmente, Holterman et al, evaluaron modelos murinos transgénicos con expresión heteróloga de NOX5, inducidos a la ERD por medio de STZ en quienes encontraron que durante los estados hiperglucémicos hay una elevación consecuente de la respuesta a la Angiotensina II, capaz de aumentar de forma secundaria la expresión de NOX5 y con ésta, el incremento de los ROS a nivel podocitario, fomentando la progresión de la fibrosis tubulointersticial, la albuminuria y la hipertensión a expensas de la presión sistólica (PAS) [60]. Los hallazgos mencionados también se encontraron de forma independiente a la producción de los ROS [60]. NOX5 además fue capaz de activar a Rac1 y lamelipodios y de inducir el reordenamiento de la actina citoesquelética de forma patológica [60].

NOX4 (homólogo murino de NOX5) por su lado, en un estudio de Holterman et. al 2014 mostró una expresión significativa en biopsias renales diabéticas y no diabéticas con predominio en las diabéticas [60]. Gorin et.al 2005 encontraron en ratas Sprague-Dawley, que primero el aumento de NOX4 es paralelo al aumento de la fibronectina (uno de los marcadores de fibrosis más importantes) y segundo, es capaz de inducir el aumento de los ROS, contribuyendo al daño glomerular, podocitario y mesangial que conduce al desarrollo de una proteinuria secundaria grave [62]. Jandeleit et.al tomó dos grupos de ratones con DM inducida por STZ, el primer grupo tenía la secuencia de NOX4 activada y mostró un mayor daño glomerular- esclerótico asociado a la acumulación de colágeno IV, fibronectina, inhibición de la nefrina podocitaria y disminución de la TFG, por medio del aumento de ROS en comparación con el segundo grupo cuyo gen para NOX4 se eliminó mediante el uso de Cre recombinasa podocitaria [63].

Con relación a lo anterior, Sharma et al, utilizaron ratones Akita transgénicos, con NOX4 y utilizaron una mayor expresión a nivel podocitario con un aumento de H2O2 y fumarato (inductor de estrés oxidativo) mediante la reducción de la enzima fumarato hidratasa y la inducción de HIF 1- α y TGF- β asociados a los daños glomérulos escleróticos característicos de la ERD [36]. Así mismo, a este grupo de ratones se indujo el inhibidor de NOX1/NOX4, GKT137831 durante 4 semanas y se encontró una disminución de la concentración de fumarato, H2O2, HIF 1- α y TGF- β , reduciendo la acumulación proteica en la MEC renal [36].

Por su parte Jha, et al. 2017. encontraron una mayor expresión génica y proteica de NOX5 en células mesangiales humanas en presencia de hiperglucemia en comparación con normoglucemia junto a un aumento en la formación de ROS, mientras que la expresión génica de las isoformas Nox1, Nox2 y Nox4 permaneció sin cambios [64]. Además examinaron la expresión proteica de NOX5 en

las biopsias renales obtenidas de individuos con o sin diabetes, mostrando que Nox5 aumentó en las células mesangiales de los individuos con diabetes frente a los que no la padecían [64]. Por otra parte, al inocular in vitro a las células mesangiales humanas con construcciones de lentivirus que expresan un shRNA específico contra Nox5, arrojó como resultado una menor expresión génica de marcadores pro-fibróticos como fibronectina, CTGF, colágeno IV y α -SMA en asociación con una reducción en la formación de ROS [64]. Estos hallazgos son consistentes en la demostración del papel potencial de NOX5 de las células mesangiales en el desarrollo de la ERD [64].

NOX5 como biomarcador de lesión tubular y daño intersticial (fibrosis) en la ERD

A nivel tubular, NOX5 se expresa en las células del túbulo contorneado proximal en donde tiene un efecto proinflamatorio y pro fibrótico (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25630236/>). En los modelos animales diabéticos inducidos con estreptotóxina (STZ) y de cultivo de células mesangiales de riñones de ratón en estados de hiperglucemia realizados por Gorin, et al. 2013 se encontró un aumento del homólogo NOX4 y de los ROS formados de manera dependiente en la corteza renal, especialmente en las células epiteliales tubulares [65]. Este incremento en la producción de ROS conduce a la activación de factores profibróticos como TGF- β y el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) que conducen al reclutamiento de las células productoras de matriz extracelular y a la acumulación de proteínas como fibronectina, colágeno tipo I y IV, además se ha mostrado que el incremento en la producción de endotelina, urotensina y angiotensina II, conducen a mayor expresión de TGF- β y a una disminución de las metaloproteinasas y de la degradación de la matriz extracelular [6]. Sin embargo, los procesos que conducen a la fibrogénesis son aún más complejos y requieren de la participación de células renales residentes y células infiltrantes [6]. Lo anterior proporciona evidencia respecto al papel crucial de los ROS asociados al proceso fibrótico de la ERD.

NOX5 como biomarcador de disfunción microvascular en la ERD.

Un modelo de ratones Akita diabéticos insulino deficientes con expresión transgénica de NOX5 (Sm22+ NOX5+) en las células de músculo liso vascular (VSMCs)/ células mesangiales mostraron una marcada formación de estrés oxidativo a este nivel en comparación con su grupo control (ratones Sm22+ NOX5-) observada mediante el aumento en la formación de nitrotirosina renal y la intensidad de la fluorescencia de DHE [57]. La expresión de NOX5 en VSMCs/células mesangiales aumentó aún más el área mesangial y la glomeruloesclerosis en presencia de diabetes [57]. Estos cambios se asociaron a un aumento de la inflamación renal por expresión de la proteína quimioatrayente de monocitos 1, el factor NF- κ B y receptor tipo Toll-4, así como la regulación positiva de la proteína quinasa C- α y un aumento de la expresión de genes del colágeno III y IV, fibronectina y α -actina del músculo liso [57]. Los hallazgos clave de este estudio sugieren que además de la hiperglucemia, la expresión de NOX5 en las VSMCs renal en los ratones Akita diabético conduce a efectos aditivos con respecto a la lesión glomerular acelerada [57].

Tada et al, demostraron en células A7r5 de músculo liso vascular de ratón (VSMCs) que los AGEs inducen de manera proporcional un incremento significativo en el mRNA de varios marcadores de estrés oxidativo dentro del que destaca NOX4 (homólogo de NOX5 en humanos) y así mismo una alta expresión del mRNA de genes relacionados con calcificación tales como la osteopontina, osteocalcina y Runx2, resultando en la transición osteoblástica de las VSMCs implicada en la patogénesis de la calcificación vascular inducida por los AGE y un aumento de la inflamación mediada por estrés oxidativo excesivo [66]. Este proceso está mediado en parte a través del receptor para AGEs (RAGE) y activación de la quinasa MAP p38 lo cual permite un aumento de los depósitos de calcio en las VSMCs lo que lleva a una calcificación vascular precursora de la inflamación característica de la ERD [66].

NOX5 como biomarcador de inflamación en ERD

Los pacientes que progresan a ERD muestran signos leves de inflamación durante años, previo a la detección clínica de esta patología [51]. Holterman y colaboradores encontraron que en los glomérulos de los ratones *Nox5*^{pod+} hay un aumento significativo de células inmunes, macrófagos CD68+ y F4/80+, IL-1 e IL-6 y citoquinas proinflamatorias, así como una mayor interacción con la vía de los receptores tipo Toll (TLR-1 y TLR-4), dando como resultado el aumento de la inflamación glomerular [67]. A nivel túbulo epitelial y podocitario se encontró un aumento en la fibrosis y apoptosis dado por la hiperproducción de NOX5 que estimula a MCP-1, que induce a la infiltración de macrófagos M1 y a la expresión de IL-6, TNF- α , IL12, IL-18 y Th17 que promueve la diferenciación, proliferación y quimiotaxis demostrado en un modelo con ratones transgénicos db/db [68]. El uso del inhibidor del marcador proinflamatorio NOX5, siRNA-NOX5 mostró una disminución significativa en la expresión de TNF alfa y la IL-6, activados por las vías de TLR4 en un modelo in vivo con células mesangiales expuestas a altas concentraciones de glucosa [69].

SOD3 como marcador de estrés oxidativo en la enfermedad renal diabética (ERD)

Las moléculas de SOD ante el daño oxidativo, contrarrestan la producción de los ROS al actuar como catalizadores en la conversión de aniones de superóxido (O_2^-) a peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular [70]. El desarrollo de la ERD se ha relacionado particularmente con la disminución de SOD3 extracelular y su expresión a nivel de los capilares glomerulares, túbulos renales y paredes arteriales en diversos modelos murinos [68,71]

Kuo, et al en 2015, indican que niveles elevados de albúmina, ácido úrico y PCR sugieren peor función renal, menor nivel de albúmina sérica y mayor incidencia de hipertensión, indicando que hay una relación predictiva entre una TAS mayor a 126.7 mmHg con un nivel mayor de SOD3 sérico [71]. Por otro lado, establecen que las mutaciones en el gen de SOD, SOD3R23G, pueden afectar la afinidad de esta molécula por el dominio de unión a la heparina en el endotelio vascular [72]. Lo anterior resulta en la susceptibilidad del endotelio al estrés vascular, la hipertensión e incluso la necesidad de hemodiálisis en comparación con pacientes sin mutaciones halladas [72].

Sin embargo, Feng, et al en 2017, en un estudio observacional de 7.7 meses comparó un grupo de pacientes con DMT2 con un grupo control y encontró que los niveles séricos de SOD3 pueden indicar daño microvascular de forma independiente a la albuminuria, incluso, son un factor de riesgo para el desarrollo de esta cuando se encuentran en concentraciones bajas [73]. Un nivel de SOD3 sérico menor de 102.5 U/ml, se relaciona con microalbuminuria (UARC 30-299 mg/g) y uno menor a 89.5 U/ml con macroalbuminuria (UARC > 300 mg/g), dado el exceso de glicación de moléculas de SOD3 sérica durante los estados hiperglucémicos incontrolados [73]. Incluso, se encontró que un 7.3% de los pacientes con DMT2 y normoalbuminuria (UARC < 30mg/g) pasó a microalbuminuria y un 4.3% pasó de microalbuminuria a macroalbuminuria gracias a la disminución en los niveles de SOD3 [73].

Mediante un análisis multivariado, Kuo, et al en 2017 demostraron que en los pacientes con ERC y DM existe una relación entre los niveles de albuminuria, el VEGF, el angiotensinógeno y SOD3 urinario [71]. Adicionalmente sugieren que los dos últimos sirven como indicadores del daño directo generado a nivel tubular y del parénquima renal, de forma previa al deterioro de la TFG y pueden diferenciar los tres estadios de la ERD, mientras que los niveles de SOD3 séricos únicamente perciben los estadios severos de la ERD y tienen una baja especificidad para diferenciarla con la ERC [71].

Aún así SOD3 sérico también mostró relación con la albuminuria, la creatinina sérica (en especial cuando es superior a 2.0 mg/dl) y la severidad de la ERD en pacientes con ERC y DM, a diferencia de pacientes con DM sin ERC que tenían niveles inferiores de SOD3 sérico [71].

Un estudio con modelos murinos C57BLKS/J, Hong et al en 2018, mostraron que la administración intraperitoneal de hEC-SOD3 disminuyó los niveles de albuminuria en 24 hs, TGF β 1, colágeno tipo IV, MCP-1 y macrófagos M1 citotóxicos proinflamatorios, sin alterar a los M2 antiinflamatorios y reparadores [68]. Además, aumentó la biogénesis mitocondrial y a AMPK, moduladora de NOX1, NOX2 y NOX4 [68]. Sin embargo, no mostró efectos sobre la expresión disminuida de SOD1 y SOD2 pero demostró ser efectivo contra la lesión renal a nivel tubular y glomerular [68]. En otro estudio, analizaron el efecto de esta misma molécula en células endoteliales humanas (HGECs) y encontraron que hEC-SOD aumentó los niveles de phospho-Thr/AMPK total, PGC-1 α y SOD3 y disminuyó los niveles de phospho-Ser/FoxO1 total, phospho Ser/FoxO3a total en las HGECs expuestas a altas concentraciones de glucosa en comparación con las HGECs expuesta a bajas concentraciones de glucosa donde no se encontró afectación de las isoformas de SOD ni de los niveles de phospho-Thr/AMPK total [68].

Por otro lado, Tan, et al en 2015 demostraron que EC-SOD fue capaz de revertir los efectos del aumento de NOX2 y NOX4 en modelos murinos BALB/c sometidos a adriamicina como inductor de disfunción renal y de creatinina sérica y albuminuria dada por fibrosis renal por aumento en la fibronectina y la vía Wnt/ β -catenina en ratones C57BL/6 KO (knockout) comparados con ratones Wild-Type (WT) [70]. Incluso, sugieren que la patogénesis de la lesión renal se establece a partir de un modelo de doble hit consistente en un aumento de las NOX asociado a una disminución en los niveles de EC-SOD [70].

Kuo, et al en 2015, también estudiaron el efecto de rh-ECSOD renal recombinante durante los estados hiperglucémicos en 3 grupos de modelos murinos incluyendo uno como grupo control [72].

Encontraron que el grupo de ratones con diabetes y sin rh-ECSOD tenían una disminución general de los niveles de SOD3 y un aumento en los niveles de TAG, Hb1Ac, glucosuria, azoemia pre-renal, colágeno tipo I corticomedular, de TGFB1, genes phox47 y osteopontina, que conducía a una mayor evidencia de fibrosis tubulointersticial, dilatación tubular, expansión mesangial y engrosamiento de la membrana glomerular y por ende, a una menor tasa de supervivencia en comparación con los otros grupos [72]. Por otro lado, con diabetes y administración de rh-ECSOD mostró un menor daño a nivel histológico, especialmente en el epitelio tubular y glomérulo renal donde hubo una mayor expresión de rh-ECSOD y por ende una menor expresión de AT1-R, ERK/MAPK - phox47 y NOX-phox3, lo cual contrarrestó la progresión de la ERD, sin embargo, no fue efectiva en lo que respecta a la reducción de la proteinuria [72].

Estudios similares, realizados por Hong, et al en 2018, sustentan que la actividad antioxidante de hEC-SOD3 es potenciada con el inhibidor de AT1 y el agonista PPAR γ que atenúan la esclerosis glomerular, la infiltración de macrófagos y revierte la disfunción endotelial en modelos animales ERD [68]. Además sugieren que la deficiencia de SOD1 y no la de SOD3 es la que se relaciona con el aumento de la proteinuria y el estrés oxidativo en ratones diabéticos Akita C57BL/6 [68].

En contraparte, Tan, et al en 2016, a través del estudio en biopsias de modelos humanos, encontraron que la expresión de hEC-SOD, se encontraba tanto en biopsias humanas sin proteinuria como también en aquellas con proteinuria, sugiriendo que su efecto es generalizado, inespecífico y ubicuo [70]. Incluso, consideraron que la hEC-SOD podría tener efectos a nivel del receptor de los AGEs a nivel extracelular al tratarse de una molécula que es dependiente de su localización (91). Lo anterior indica que de diversas formas la hEC-SOD es de vital importancia para contrarrestar los efectos del estrés oxidativo a nivel renal, ya sea a través de una disminución de las NOX, de la afectación en la vía de Wnt/ β -catenina o del impacto sobre el receptor de los AGEs a nivel extracelular [70].

NOX Y SOD3 como biomarcadores de target terapéutico

Como resultado de los diferentes estudios se han desarrollado medicamentos que intervienen de manera efectiva en los procesos más tempranos del desarrollo de la ERD, por lo cual se han desarrollado algunas moléculas basadas en NOX4/NOX5 y SOD3 como target terapéutico con el propósito de modular las vías involucradas. Sin embargo, la mayor parte de estos continúan en fases preclínicas para demostrar su eficacia y potencial en modelos in vitro y modelos animales con resultados prometedores para su uso en humanos.

Inhibidores Enzimáticos de NOX

GKT137831- Setanaxib

En primer lugar, se exponen grandes avances en medicamentos inhibidores de enzimas de la familia NOX, principalmente sus isoformas 1 y 4. En este grupo contamos con el GKT137831, también llamado 2-(2-chlorophenyl)-4-[3-(dimethylamino)phenyl]-5-methyl-1H-pyrazolo [4,3-c]pyridine-3,6 (2H,5H)-dione el cual tiene un valor K_i entre 100 - 150 nM y posee una buena disponibilidad vía oral y logra altas concentraciones a nivel plasmático [74,75]. Estudios en ratones Akita, tratados con 30-60 mg/kg/día durante 28 semanas con el inhibidor GKT137831 también conocido como Setanaxib, en donde se evidencia intervención en vías mediadas por el fumarato ya que en ausencia de NOX4 y su subsiguiente producción de H₂O₂, conserva la actividad de la enzima fumarato hidratasa, lo cual disminuye niveles de fumarato favoreciendo el cese de la expansión de matriz y de la activación del TGF- β en el tejido renal, dando como resultado un efecto renoprotector [36].

Así mismo, estudios realizados por Teixeira et al (2016), también demostraron el efecto de GKT137831 en la disminución de la expresión de factores pro fibróticos y proinflamatorios al intervenir en vías de señalización como TGF- β y HIF-1 α , estableciendo a su vez que la dosis mínima

inhibitoria de NOX para evidenciar cambios significativos, se encuentra entre 5 a 60 mg/kg/día [76]. Por otro lado, Gorin Y, Et al (2015), realizaron estudios en ratones OVE26, demostrando que hay una disminución importante de la producción de ROS por parte de NOX4 pero sin modificar la expresión de esta misma ya que GKT137831 actúa como inhibidor alostérico [77]. Adicionalmente, disminuye la expresión de fibronectina y colágeno tipo IV favoreciendo la disminución de la expansión de la MEC. En este último estudio se evidencia disminución en la pérdida de los podocitos ya que se midieron marcadores específicos de los mismos como el WT-1 y la sinaptopodina [77].

Inhibidores de la Expresión o Actividad de NOX

Baoshenfang

El Baoshenfang (BSF) es una fórmula herbal China estudiada en ratones Sprague Dawley a los cuales se les induce la diabetes y fueron tratados con Baoshenfang por 12 días a una dosis de 0.75g/kg/día. Durante el estudio se demostraron efectos importantes como la disminución de la expresión y actividad de NOX4 y ROS lo cual favorece la reducción del estrés oxidativo, y aumenta la nefrina la cual es una molécula renoprotectora para los podocitos que son afectados en la DM2 [2]. Se demostró que tiene efecto inhibitorio en la vía de señalización p38 asociado a la disminución del estrés oxidativo, la cual está relacionada con vías de apoptosis, al inhibir esta vía, aumentan niveles de Bcl-2 y disminuyen los niveles Bax, esto en conjunto genera una disminución de la lesión y apoptosis en los podocitos [2] [78]. Al proteger a los podocitos de lesión secundaria a la DM2, favorece a la mejora de la albuminuria y disminuye la tasa BUN/creatinina [2].

Por otro lado, Cui F. et al (2019), en estudios en ratones KK-Ay alimentados con dieta rica en grasas y ratones C57BL/6J alimentados con dieta regular ambos modelos tratados con BSF por 12 días a una dosis de 0.75g/kg/día, se evidencia una disminución en la acumulación de la matriz mesangial [78]. Además se evidencia que hay un cambio en la forma del citoesqueleto en los podocitos cultivados y una mayor prevalencia de apoptosis en los mismos debido a los estados

hiperglucémicos, mientras que en los tratados con BSF, hay una disminución importante en la apoptosis de los podocitos y favorece al mantenimiento de la forma habitual del citoesqueleto [78]. En cuanto a los efectos oxidativos, se evidencia que la hiperglucemia favorece la expresión de NOX4 y producción de ROS, lo cual es atenuado por la acción de BSF. Cabe resaltar que la hiperglucemia y la producción de ROS también disminuye la expresión de PI3K y AKT en los podocitos, lo cual aumenta la expresión de Bax y caspasa 3 que median la activación de la apoptosis en los podocitos, esta vía es intervenida por BSF al incrementar su expresión disminuyendo en consecuencia la apoptosis de los podocitos [78].

Fluorofenidon (AKF-PD)

También conocido 1- (3-fluorophenyl) -5-methyl – 2 (1H) pyridone, es un fármaco en fase preclínica para el cual su mecanismo no es bien conocido, sin embargo se presume que inhibe la expresión de NADPH lo cual detiene la progresión de la ERD, ya que ha mostrado resultados satisfactorios en el tratamiento de fibrosis intersticial renal [1,79]. Quin J, et al. (2019), encontraron efectos como la reducción de la expansión mesangial en la ERD, reducción del índice Albúmina/creatinina, y aumento en la actividad de SOD [1]. Por otro lado, tiene efectos protectores en la función renal asociados a la inhibición del estrés oxidativo, ya que disminuye significativamente la actividad de NOX hasta niveles basales. Provee protección frente al daño mitocondrial, teniendo en cuenta que es el centro productor de ROS, por lo tanto, al disminuir la producción por medio de la Fluorofenidona se protege la integridad mitocondrial [1].

Xion X, et al (2014). realizaron estudios en ratones C57BL/KsJ db/db dividiendo en grupos de ratones no diabéticos y diabéticos, estos últimos tratados con Fluorofenidona con 500 mg/kg/día, administrando el esquema de tratamiento a las 5, 8 y 12 semanas y finalizando a las 24 semanas en todos los grupos [3]. Durante estos ensayos, se reafirmó la capacidad de este fármaco para inhibir TGF-β1 siendo el principal mediador de la fibrosis renal [3]. Adicionalmente, comprobaron su

efectividad de atenuación desde la semana 5, resaltando que a esta edad los ratones no han desarrollado diabetes ni hipoglucemia, sin embargo muestran signos clínicos de deterioro de la función renal lo cual indica que este fármaco actúa como renoprotector ya que tiene la capacidad de reducir la progresión de lesiones a nivel renal desde estadios tempranos y en consecuencia en etapas posteriores ante la aparición de ERD. Su efecto se demuestra en la reducción significativa de factores como la albuminuria, aspecto que favorece la comprensión del rol de este fármaco manteniendo la integridad glomerular y de células ampliamente comprometidas por la fibrosis como los podocitos en etapas iniciales de la ERD [3].

APX-115

3-Phenyl-4-propyl-1-(pyridin- 2-yl)-1H-pyrazol-5- olhydrochloride, es un potente pan inhibidor oral de NADPH oxidase, tiene valores K_i de 1.08 μM para NOX1, 0.57 μM para NOX2 y 0.63 μM NOX4 [61,80,81]. JJ Cha Et al. demostraron que el tratamiento con APX-115 ejerce un efecto renoprotector en ratones con DM2 [81]. Durante el estudio se demostró efecto en niveles de estrés oxidativo a nivel sistémico lo cual disminuye de manera importante los procesos inflamatorios, fibróticos y de lesión renal inducidos por estos factores oxidativos [81]. Adicionalmente, Lee S, et al. sugieren que APX-115 inhibe el estrés oxidativo, favoreciendo la recuperación y disminución en factores como la albuminuria, la lesión de los podocitos, la inflamación, fibrosis y lesión tubular renal inducida por la ERD, además de mejorar el perfil lipídico al reducir niveles de colesterol total y triglicéridos, y mejorando la sensibilidad, resistencia y los niveles de insulina [61,81].

Estudios demuestran que, en comparación con inhibidores selectivos como *GKT137831*, es similar o mejor en aspectos como la mejora de la función renal y la reducción de la albuminuria, debido a la presencia de diferentes isoformas NOX dentro de la fisiopatología de la lesión renal en DM2 [61,81]. Estos aspectos mencionados, junto con la reducción de los niveles de creatinina en plasma, son los hallazgos más significativos en este estudio como resultado del tratamiento con APX-115 [81].

Teniendo en cuenta los diferentes roles de las moléculas NOX en la lesión renal inducida por diabetes, estos medicamentos que intervienen en varias isoformas son los que tienen atracción en la actualidad para estudios que favorezcan el tratamiento de la ERD. Posiblemente tiene efecto en NOX5 al ser Pan- inhibidor, lo que confiere mayor renoprotección especialmente a los podocitos, pero no se conoce con certeza [81].

Inhibidores de Receptores del Ácido Lisofosfatídico

AM095

En segundo lugar, el AM095, también denominado Sodium (R)-2-(4'-(3-methyl-4-(((1-phenylethoxy)carbonyl)amino)isoxazol-5-yl)-[1,1'-biphenyl]-4-yl)acetate, es un antagonista de receptores del ácido lisofosfatídico (LPA1), el cual está implicado en procesos de reorganización del citoesqueleto, migración diferenciación y proliferación celular, además de contribuir en respuestas de lesión tisular [82]. Lee J. Et al, describe la importancia del receptor TLR4 el cual es activado por moléculas de LPA, la cual es inducida principalmente en estado de hiperglucemia, y va a incidir en vías proinflamatorias, llevando además a la producción y expresión de NADPH oxidasa, considerada la principal vía de producción de ROS, adicionalmente activa el factor nuclear kappa B (NF-kB) y la vía de señalización JNK (por sus siglas en inglés, c-Jun N-terminal kinase) presentes en la ERD [83].

Los resultados indican que en el tratamiento con AM095 en ratones C57BL/6J con diabetes inducida con STZ en quienes administraron dosis de 10 mg/kg día o 30 mg/kg día por 8 semanas, hay una disminución de niveles de triacilgliceroles, glucosa y HbA1C, además de disminución en la tasa de Albúmina/creatinina y BUN/creatinina, disminuyendo la lesión glomerular y disfunción renal en modelos de DM2 [83]. La mayor reducción de estos factores se evidenció en dosis de administración de 30 mg/kg durante 8 días [83]. Adicionalmente, se evidenció disminución en la expresión y activación de factores profibroticos y citocinas como TNF α , IL1 β , IL6, MCP-1 y TGF β 1 implicadas en el desarrollo de la fibrosis renal en ratones con ERD, teniendo en cuenta que IL6 es la que se eleva

de manera importante en ratones tratados con STZ [83]. Por otro lado, favorece el perfil glucémico ya que disminuye los niveles séricos de glucosa, aumentando el número de islotes y la secreción de insulina, generando además aumento de la sensibilidad hepática y periférica a la insulina [83].

Superóxido Dismutasa Recombinante

Superóxido Dismutasa Humana (rhSOD)

En estudios con ratones Sprague Dawley a los que inducen diabetes por medio de la STZ y fueron suplementados con rhEC-SOD con dosis de 3200U/kg/día por 4 semanas, en los cuales se evidencia una disminución en la actividad de SOD3 inicialmente, sin embargo tras el tratamiento con la Superóxido dismutasa humana (rhSOD) mejora su actividad [72]. Se demostró durante el estudio que los daños a nivel tubular como la dilatación y la fibrosis pueden ser reversibles gracias al tratamiento con rhSOD [72]. También reduce la expresión de TGF- β , angiotensina II que es una molécula vasoconstrictora que regula la hemodinamia y causa hipertensión glomerular, además disminuye la expresión de sus receptores AT1 que se ven expresados de manera importante en etapas tempranas de la diabetes [72]. Por otro lado, disminuye la expresión de la subunidad p47 de NADPH que está presente en la nefropatía diabética e inactiva vías de señalización como EPK/MAPK implicadas en la producción de TGF- β 1 que es un mediador inflamatorio, gracias al aumento de la actividad de SOD3 [72]. Los riñones diabéticos hipertróficos se revirtieron mediante el tratamiento con rhSOD, sin embargo la proteinuria no se logró revertir [72]. Younghwa et al, describen que la acción inhibitoria de rhSOD frente a los factores proinflamatorios es mediada por la presencia de Zn²⁺ que favorece la actividad de rhSOD [84].

Discusión

El estrés oxidativo es uno de los principales factores relacionados con la fisiopatología de la enfermedad renal diabética [6,85]. La hiperglucemia desencadena vías moleculares relacionadas con la producción de AGEs que favorecen la activación de cascadas intracelulares, donde se resalta la activación de la vía PERK, que tienen como resultado final la activación o producción celular de receptores NADPH oxidasa tipo 5 que van a generar radicales libres y otros agentes prooxidantes [86–88]. Este desbalance oxidativo se relaciona con mecanismos fisiopatológicos mencionados tales como fibrosis del intersticio glomerular, daño en la barrera podocitaria e hipertrofia glomerular dada por cambios inflamatorios [16,87].

NOX5 es una molécula altamente distribuida en toda la anatomía renal [1,89,90]. Se ha descrito que se encuentra tanto en la región glomerular como en la región tubular teniendo un rol fundamental en el equilibrio oxido reductivo [89,91]. En la mayoría de los estudios esta molécula es medida en biopsias tanto de modelos animales como de biopsias humanas mediante marcadores de identificación [89,90]. Su medición en fluidos corporales aún no está estandarizada y en principio esto pudiese ser una limitante para su estudio universal [90]. De la misma manera se ha encontrado que los kits que permiten detectar la molécula no son estandarizados y muchas veces los valores entre los estudios pueden variar [90].

Cuando se compara NOX5 con otros marcadores de lesión renal actuales tales como la albuminuria y la creatinina se ha encontrado que tiene una participación precoz cuando se compara con estos marcadores [1,64]. A pesar de ser una molécula prometedora, los autores han recomendado su uso como parte complementaria del seguimiento de la enfermedad más que como una sustitución completa [61,64]. Su sensibilidad y especificidad no está determinada clínicamente sobre todo porque, como se dijo, hay discordancia entre los laboratorios y los valores de referencia en cuanto a su expresión en biopsias y fluidos. Sin embargo, sí es un marcador ampliamente estudiado por las

características relacionadas con la génesis de la enfermedad y gran parte del desarrollo de la fisiopatología de la ERD [60,61,64].

El interés que genera NOX5 como biomarcador está dado por estudios recientes que han demostrado que su afinidad por el riñón es mayor cuando se compara con otras formas de NOX [61,64,90]. De la misma manera es la única isoforma de su familia que requiere activación relacionado con el metabolismo del calcio, lo que podría relacionarse con mecanismos de especificidad propios de la molécula [92]. Sin embargo, consideramos que los estudios en humanos son aún escasos para poder determinar su viabilidad real en la fisiopatología de la ERD.

NOX5 no solo se tiene en cuenta como un potencial biomarcador diagnóstico, sino que además ha sido propuesto como target terapéutico para inhibir la carga de radicales libres que se generan secundarios a su sobreexpresión [1,2,61]. A la fecha se reportan al menos dos estudios en fase II con inhibidores de estas proteínas que pudieran ser utilizados en el futuro como terapia para pacientes con ERD [1,61]. Estos estudios han mostrado buenos resultados preliminares relacionados con la disminución de factores proinflamatorios y profibróticos tales como la fibronectina y las interleucinas relacionadas con ERD [2,61].

Para poder reemplazar o al menos complementar las pruebas que usamos en la actualidad tales como la creatinina, se necesita la estandarización de las técnicas mediante las cuales se realiza la medición de este marcador y además de sus valores diagnósticos. La medición de NOX5 se puede realizar mediante diversas técnicas de forma directa e indirecta [89,90]. Por ejemplo, se puede realizar la medición de NOX5 mediante la técnica de ELISA en plasma y otros fluidos corporales como orina, igualmente el índice glomerular de NOX5 determinado mediante inmunohistoquímica en biopsias, permite determinar la expresión comparativa de esta molécula entre las muestras y compararlas contra otros marcadores [90,93].

De manera indirecta, los efectos de la elevación de NOX5 se pueden evaluar mediante la disminución de la albuminuria y del ratio albuminuria/creatinina [57,94]. Así mismo la técnica de western blot permite evaluar los efectos del incremento de la NOX5 al determinar el aumento de proteínas proinflamatorias y profibróticas, entre otras [1,63]. De la misma forma, se necesitan más estudios en humanos que avalen las técnicas de medición directa e indirecta de NOX5 para validar los hallazgos encontrados en modelos animales. De esta manera, se abre la posibilidad práctica de usar a NOX5 como un marcador de lesión renal temprana.

Por su parte, la superóxido dismutasa es una enzima antioxidante, que actúa como un eliminador del anión superóxido el cual causa daño del endotelio vascular secundario a la creación de ROS. En la mayoría de estudios esta molécula es evaluada como biomarcador de target terapéutico, sin embargo se ha demostrado que el declive de la función de la SOD3 genera un desbalance entre el potencial antioxidante y oxidante característico de la ERD [70]. La medición de SOD3 se puede realizar en orina y en sangre por medio de la técnica ELISA para cuantificar sus niveles en estos fluidos corporales [70].

La evaluación sérica de SOD3 permite diferenciar adecuadamente los pacientes sanos, contra los pacientes con diabetes, además permite discernir entre pacientes diabéticos sin ERD contra pacientes con ERD [71]. Sin embargo, la medición en suero no permite estratificar los pacientes con ERD. A diferencia de la medición sérica, la medición urinaria de SOD3 permite estratificar los pacientes con ERD en tres grupos, esto asociado a la relación albúmina/creatinina [71]. Esta diferencia entre los niveles séricos y urinarios de SOD3 permite establecer que el declive en los niveles de SOD3 a nivel glomerular se traduce en un aumento de la concentración de la SOD3 urinaria y hace que su medición sea predictora del daño renal asociado a ERD [71]. En conclusión se evidencia que no hay correlación entre los niveles séricos de SOD3 y los niveles urinarios de SOD3, sugiriendo que el incremento urinario se debe a la liberación renal directa.

La literatura resalta el papel de SOD3 como predictor de la gravedad de la ERD y que a su vez la disminución de niveles de SOD3 en el glomérulo renal se asocia a un aumento de la proteinuria. Sin embargo, los niveles séricos de SOD3 son predictores positivos de la ERD cuando se tiene una ACR > 1.190 mg/g y los niveles urinarios son predictores positivos de la ERD cuando la ACR >300 mg/g, por lo que se evidencia que la SOD3 se encuentra disminuida inclusive en proteinurias leves y permite predecir tempranamente la ERD [71,73].

En esta revisión hemos presentado la relación entre dos moléculas reguladoras del estado oxidorreductor renal. Por un lado, NOX5 como molécula productora de radicales libres que favorecen la remodelación mesangial y el daño de la barrera de filtración glomerular conduciendo así a una enfermedad renal crónica con desenlaces nefastos mencionados. En contraparte, encontramos a SOD3 que es una molécula reguladora de estos mecanismos prooxidativos mediante la neutralización de sus electrones transformando los radicales libres en moléculas con menor reactividad para el organismo.

En la búsqueda realizada en la literatura no se han encontrado estudios en modelos celulares, animales o humanos que hagan relación comparativa y simultánea entre NOX5 y SOD3, que permitan enlazar las dos caras del equilibrio oxido reductivo. Esta comparación entre estos dos marcadores (NOX5 y SOD3) podría servir como base para futuras investigaciones. Finalmente, como se mencionó se requieren mayor cantidad de estudios en humanos que no sean invasivos, así como de evidencia científica más robusta.

Conclusiones

1. A medida que progresa la ERD se evidencia un aumento en la expresión y actividad de la NOX5 y una reducción en la expresión y actividad de la SOD3 tanto en biopsias humanas de pacientes con DM como en modelos murinos a los que se les indujo DM.
2. Las biopsias renales de pacientes con ERD presentan un incremento en los niveles de NOX 5 a nivel glomerular, podocitario y mesangial.
3. La NOX5 localizada en la membrana celular de las células glomerulares, podocitarias y mesangiales genera ROS como respuesta a la formación de AGE's en la ERD.
4. La mayor actividad de NOX5 observada en la ERD se relaciona con la fibrosis tubulointersticial, inflamación, la albuminuria, la hipertensión y la reducción de la TFG.
5. La actividad y expresión de SOD 3 se ven reducidas con el incremento en las concentraciones de ROS generados por la NOX 5 a medida que progresa la ERD.
6. El aumento de las concentraciones de NOX 5 a nivel renal en humanos y NOX4 en ratones se relaciona directamente con los estados hiperglucémicos, la generación de estrés oxidativo y la progresión de la ERD.
7. Se ha observado la expresión específica de NOX5 y no de NOX 1, 2 y 3 en las biopsias de lesiones renales asociadas a ERD.
8. Los niveles urinarios de SOD 3 y angiotensinógeno se relacionan como indicadores de daño directo a nivel tubular y del parénquima renal de forma previa al deterioro de la TFG y pueden diferenciar los estadios de la ERD.
9. Los niveles séricos de SOD 3 solo se aumentan en estados avanzados de la ERD y poseen baja especificidad para diferenciarla de la ERD.
10. Los estudios de ERD desarrollados en modelos murinos muestran y validan la medición sérica, urinaria y en biopsias de NOX 5 y SOD 3 para los estadios tempranos y la progresión de la enfermedad.

11. No se han determinado con precisión los valores séricos y urinarios estándar de NOX 5 como de SOD 3 para poder homogeneizar los resultados entre diferentes cohortes de pacientes. Así mismo, no se encontraron reportes que le confieran una validez clínica a NOX 5 y SOD 3 en lo concerniente a la sensibilidad, especificidad, los valores predictivos y la tasa de falsos positivos.
12. No se encontró ningún estudio que relacionara la expresión sérica o urinaria simultánea de NOX 5 y SOD 3 a la par de otros marcadores de lesión renal convencionales.
13. Gran parte de los estudios analizados proponen a NOX 5 y SOD 3 como biomarcadores de target terapéuticos.
14. La administración de inhibidores de NOX 5 y de SOD 3 recombinante en modelos animales con ERD redujo la progresión de la enfermedad.
15. Los estudios clínicos en pacientes humanos que analizan a NOX 5 y SOD 3 se encuentran aún en una fase exploratoria y la mayor parte de la información analizada corresponde a estudios en modelos animales o in vitro.

Declaración de Conflicto de Interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés asociado con este manuscrito.

Declaración Ética

Este artículo es un documento de revisión de la literatura realizado sobre artículos de investigación original que fueron seleccionados y revisados completamente, respetando las normas de derechos de autor. El documento fue desarrollado con un propósito académico sin fines comerciales.

Referencias Bibliográficas

1. Qin J, Peng Z, Yuan QJ, Li Q, Peng Y, Wen R, et al. AKF-PD alleviates diabetic nephropathy via blocking the RAGE/AGEs/NOX and PKC/NOX Pathways. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-36344-w>
2. Cui FQ, Tang L, Gao Y Bin, Wang YF, Meng Y, Shen C, et al. Effect of baoshenfang formula on podocyte injury via inhibiting the NOX-4/ROS/p38 pathway in diabetic nephropathy. *J Diabetes Res*. 2019;2019.
3. Xiong X, Mei W, Xie Y, Liu J, Lu M, Peng X, et al. Fluorofenidone offers improved renoprotection at early interventions during the course of diabetic nephropathy in db/db mice via multiple pathways. *PLoS One*. 2014;9(10).
4. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;157.
5. Rajeev Goyal; Ishwarlal Jialal. Diabetes Mellitus Type 2. In: *StatPearls* [Internet]. Florida: StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. p. 1–14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513253/#!po=96.4286>
6. De Blasio MJ, Ramalingam A, Cao AH, Prakoso D, Ye JM, Pickering R, et al. The superoxide dismutase mimetic tempol blunts diabetes-induced upregulation of NADPH oxidase and endoplasmic reticulum stress in a rat model of diabetic nephropathy. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2017;807:12–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.04.026>
7. Fineberg D, Jandeleit-Dahm KAM, Cooper ME. Diabetic nephropathy: Diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2013;9(12):713–23.
8. Persson F, Rossing P. Diagnosis of diabetic kidney disease: state of the art and future

- perspective. *Kidney Int Suppl.* 2018;8(1):2–7.
9. Seki M, Nakayama M, Sakoh T, Yoshitomi R, Fukui A, Katafuchi E, et al. Blood urea nitrogen is independently associated with renal outcomes in Japanese patients with stage 3-5 chronic kidney disease: A prospective observational study. *BMC Nephrol.* 2019;20(1):1–10.
 10. Qiu X, Liu C, Ye Y, Li H, Chen Y, Fu Y, et al. The diagnostic value of serum creatinine and cystatin c in evaluating glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease: A systematic literature review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(42):72985–99.
 11. Flores P, Castellanos R, Abdel Polanco Flores N, Rodríguez Castellanos F, Álvarez Macías G, de Allende T. Artículo Original Detección Temprana De Nefropatía Diabética, a Propósito De Su Cribado Early Detection of Diabetic Nephropathy, for the Purpose of Its Screening. *258 Rev Nefrol Dial Traspl [Internet].* 2018;38(4):258–67. Available from: www.renal.org.ar
 12. Kakar M, Shreya, Behl T, Singh S, Sharma N, Sachdeva M. Cross linkage between oxidative stresses in diabetic nephropathy: An updated review. *Plant Arch.* 2020;20:2875–85.
 13. Grimm S, Ott C, Hörlacher M, Weber D, Höhn A, Grune T. Advanced-glycation-end-product-induced formation of immunoproteasomes: Involvement of RAGE and Jak2/STAT1. *Biochem J.* 2012;448(1):127–39.
 14. Vilchis-Landeros MM, Matuz-Mares D, Vázquez-Meza H. Regulation of metabolic processes by hydrogen peroxide generated by NADPH oxidases. *Processes.* 2020;8(11):1–17.
 15. Tan ALY, Forbes JM, Cooper ME. AGE, RAGE, and ROS in Diabetic Nephropathy. *Semin Nephrol.* 2007;27(2):130–43.
 16. Thuraisingham RC, Nott CA, Dodd SM, Yaqoob MM. Increased nitrotyrosine staining in kidneys from patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2000;57(5):1968–72.
 17. Zhu L, Han J, Yuan R, Xue L, Pang W. Berberine ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting TLR4/NF- κ B pathway. *Biol Res [Internet].* 2018;51(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0157-8>

18. Sun LN, Yang ZY, Lv SS, Liu XC, Guan GJ, Liu G. Curcumin prevents diabetic nephropathy against inflammatory response via reversing caveolin-1 Tyr14phosphorylation influenced TLR4 activation. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2014;23(1):236–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2014.08.023>
19. Ma J, Chadban SJ, Zhao CY, Chen X, Kwan T, Panchapakesan U, et al. TLR4 activation promotes podocyte injury and interstitial fibrosis in diabetic nephropathy. *PLoS One*. 2014;9(5).
20. Lee JH, Kim D, Oh YS, Jun HS. Lysophosphatidic acid signaling in diabetic nephropathy. *Int J Mol Sci*. 2019;20(11):1–15.
21. Sauriasari R, Andrajati R, Azizahwati, Dharmeizar, Saputri DA, Muris RU, et al. Marker of lipid peroxidation related to diabetic nephropathy in Indonesian type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2015;108(1):193–200. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2014.12.016>
22. Noh H, King GL. The role of protein kinase C activation in diabetic nephropathy. *Kidney Int* [Internet]. 2007;72(SUPPL. 106):S49–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002386>
23. Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clin Sci*. 2013;124(3):139–52.
24. Staruschenko A, Spires D, Palygin O. Role of TRPC6 in Progression of Diabetic Kidney Disease. *Curr Hypertens Rep*. 2019;21(7).
25. Kim EY, Anderson M, Wilson C, Hagmann H, Benzing T, Dryer SE. NOX2 interacts with podocyte TRPC6 channels and contributes to their activation by diacylglycerol: Essential role of podocin in formation of this complex. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2013;305(9):960–71.
26. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology

and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2007;87(1):245–313.

27. UniProt. UniProtKB - Q9Y5S8 (NOX1_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/Q9Y5S8>
28. Park HS, Park D, Bae YS. Molecular interaction of NADPH oxidase 1 with β pix and Nox Organizer 1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339(3):985–90.
29. UniProtKB. UniProtKB - P04839 (CY24B_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P04839#structure>
30. UniProt. UniProtKB - Q9HBY0 (NOX3_HUMAN). 2022; Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/Q9HBY0>
31. Ueno N, Takeya R, Miyano K, Kikuchi H, Sumimoto H. The NADPH oxidase Nox3 constitutively produces superoxide in a p22 phox-dependent manner: Its regulation by oxidase organizers and activators. *J Biol Chem.* 2005;280(24):23328–39.
32. Yin C, Li K, Yu Y, Huang H, Yu Y, Wang Z, et al. Genome-wide association study identifies loci and candidate genes for non-idiopathic pulmonary hypertension in Eastern Chinese Han population. *BMC Pulm Med.* 2018;18(1):1–8.
33. UniProt. UniProtKB - Q9NPH5 (NOX4_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/Q9NPH5>
34. Shiose A, Kuroda J, Tsuruya K, Hirai M, Hirakata H, Naitoi S, et al. A novel superoxide-producing NAD(P)H oxidase in kidney. *J Biol Chem.* 2001;276(2):1417–23.
35. Chen YH, Lu HI, Lo CM, Hsiao CC, Li SH. NOX4 overexpression is a poor prognostic factor in patients undergoing curative esophagectomy for esophageal squamous cell carcinoma. *Surg (United States)* [Internet]. 2020;167(3):620–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2019.11.017>
36. You YH, Quach T, Saito R, Pham J, Sharma K. Metabolomics reveals a key role for fumarate in mediating the effects of NADPH oxidase 4 in diabetic kidney disease. *J Am Soc*

- Nephrol. 2016;27(2):466–81.
37. UniProt. UniProtKB - Q96PH1 (NOX5_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from:
<https://www.uniprot.org/uniprot/Q96PH1>
 38. Jha JC, Watson AMD, Mathew G, de Vos LC, Jandeleit-Dahm K. The emerging role of NADPH oxidase NOX5 in vascular disease. *Clin Sci*. 2017;131(10):981–90.
 39. UniProt. UniProtKB - Q9NRD9 (DUOX1_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from:
<https://www.uniprot.org/uniprot/Q9NRD9>
 40. Chen S, Ling Q, Yu K, Huang C, Li N, Zheng J, et al. Dual oxidase 1: A predictive tool for the prognosis of hepatocellular carcinoma patients. *Oncol Rep*. 2016;35(6):3198–208.
 41. UniProt. UniProtKB - Q9NRD8 (DUOX2_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from:
<https://www.uniprot.org/uniprot/Q9NRD8>
 42. van der Vliet A, Danyal K, Heppner DE. Dual oxidase: a novel therapeutic target in allergic disease. *Br J Pharmacol*. 2018;175(9):1401–18.
 43. Pauff SM, Miller SC. 基因的改变 NIH Public Access. *Bone* [Internet]. 2012;78(2):711–6.
Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
 44. UniProt. UniProtKB - P00441 (SODC_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from:
<https://www.uniprot.org/uniprot/P00441>
 45. UniProt. UniProtKB - P04179 (SODM_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from:
<https://www.uniprot.org/uniprot/P04179>
 46. Ashtekar A, Huk D, Magner A, La Perle KMD, Boucai L, Kirschner LS. Alterations in SOD2-induced oxidative stress affect endocrine cancer progression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103(11):4135–45.
 47. UniProt. UniProtKB - P08294 (SODE_HUMAN) [Internet]. 2022. Available from:
<https://www.uniprot.org/uniprot/P08294>

48. Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med.* 2003;35(3):236–56.
49. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS.* 2010;5(6):463–6.
50. inchem. Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles [Internet]. 1993. Available from: <https://inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc155.htm>
51. Al-Rubeaan K, Siddiqui K, Al-Ghonaim MA, Youssef AM, Al-Sharqawi AH, Alnaqeb D. Assessment of the diagnostic value of different biomarkers in relation to various stages of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-02421-9>
52. Currie G. Biomarkers in diabetic nephropathy: Present and future. *World J Diabetes.* 2014;5(6):763.
53. Colhoun HM, Marcovecchio ML. Biomarkers of diabetic kidney disease. *Diabetologia.* 2018;61(5):996–1011.
54. Kaleta B. The role of osteopontin in kidney diseases. *Inflamm Res* [Internet]. 2019;68(2):93–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00011-018-1200-5>
55. Muñoz M, López-Oliva ME, Rodríguez C, Martínez MP, Sáenz-Medina J, Sánchez A, et al. Differential contribution of Nox1, Nox2 and Nox4 to kidney vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in obesity. *Redox Biol.* 2020;28(August 2019).
56. Manea SA, Antonescu ML, Fenyo IM, Raicu M, Simionescu M, Manea A. Epigenetic regulation of vascular NADPH oxidase expression and reactive oxygen species production by histone deacetylase-dependent mechanisms in experimental diabetes. *Redox Biol* [Internet]. 2018;16(January):332–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.03.011>
57. Jha JC, Dai A, Holterman CE, Cooper ME, Touyz RM, Kennedy CR, et al. Endothelial or vascular smooth muscle cell-specific expression of human NOX5 exacerbates renal

- inflammation, fibrosis and albuminuria in the Akita mouse. *Diabetologia*. 2019;62(9):1712–26.
58. Montezano AC, Camargo LDL, Persson P, Rios FJ, Harvey AP, Anagnostopoulou A, et al. NADPH Oxidase 5 Is a pro-contractile nox isoform and a point of cross-talk for calcium and redox signaling-implications in vascular function. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(12).
59. Touyz RM, Anagnostopoulou A, Camargo LL, Rios FJ, Montezano AC. Vascular Biology of Superoxide-Generating NADPH Oxidase 5 - Implications in Hypertension and Cardiovascular Disease. *Antioxidants Redox Signal*. 2019;30(7):1027–40.
60. Holterman CE, Thibodeau JF, Towaij C, Gutsol A, Montezano AC, Parks RJ, et al. Nephropathy and elevated BP in mice with podocyte-specific NADPH oxidase 5 expression. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(4):784–97.
61. Lee SR, An EJ, Kim J, Bae YS. Function of NADPH oxidases in diabetic nephropathy and development of nox inhibitors. *Biomol Ther*. 2020;28(1):25–33.
62. Gorin Y, Block K, Hernandez J, Bhandari B, Wagner B, Barnes JL, et al. Nox4 NAD(P)H oxidase mediates hypertrophy and fibronectin expression in the diabetic kidney. *J Biol Chem* [Internet]. 2005;280(47):39616–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M502412200>
63. Jha JC, Thallas-Bonke V, Banal C, Gray SP, Chow BSM, Ramm G, et al. Podocyte-specific Nox4 deletion affords renoprotection in a mouse model of diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 2016;59(2):379–89.
64. Jha JC, Banal C, Okabe J, Gray SP, Hettige T, Chow BSM, et al. NADPH oxidase Nox5 accelerates renal injury in diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2017;66(10):2691–703.
65. Holterman CE, Read NC, Kennedy CRJ. Nox and renal disease. *Clin Sci*. 2015;128(8):465–81.
66. Tada Y, Yano S, Yamaguchi T, Okazaki K, Ogawa N, Morita M, et al. Advanced glycation

end products-induced vascular calcification is mediated by oxidative stress: Functional roles of NAD(P)H-oxidase. *Horm Metab Res.* 2013;45(4):267–72.

67. Holterman CE, Boisvert NC, Thibodeau JF, Kamto E, Novakovic M, Abd-Elrahman KS, et al. Podocyte NADPH Oxidase 5 Promotes Renal Inflammation Regulated by the Toll-Like Receptor Pathway. *Antioxidants Redox Signal.* 2019;30(15):1817–30.
68. Hong YA, Lim JH, Kim MY, Kim Y, Park HS, Kim HW, et al. Extracellular Superoxide Dismutase Attenuates Renal Oxidative Stress Through the Activation of Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase in Diabetic Nephropathy. *Antioxidants Redox Signal.* 2018;28(17):1543–61.
69. Li Y, Li Y, Zheng S. Inhibition of NADPH oxidase 5 (Nox5) suppresses high glucose-induced oxidative stress, inflammation and extracellular matrix accumulation in human glomerular mesangial cells. *Med Sci Monit.* 2020;26.
70. Tan RJ, Zhou D, Xiao L, Zhou L, Li Y, Bastacky SI, et al. Extracellular superoxide dismutase protects against proteinuric kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(10):2447–59.
71. Kuo CW, Chen HL, Tu MY, Chen CM. Serum and urinary SOD3 in patients with type 2 diabetes: Comparison with early chronic kidney disease patients and association with development of diabetic nephropathy. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2019;316(1):F32–41.
72. Kuo CW, Shen CJ, Tung YT, Chen HL, Chen YH, Chang WH, et al. Extracellular superoxide dismutase ameliorates streptozotocin-induced rat diabetic nephropathy via inhibiting the ROS/ERK1/2 signaling. *Life Sci [Internet].* 2015;135:77–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2015.04.018>
73. Feng G, Gao JL, Zhang P, Huang JJ, Huang LZ, Cheng L, et al. Decreased serum extracellular superoxide dismutase activity is associated with albuminuria in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2017;54(11):1047–55.

74. Number P, Information P, Specification T, Information S, Information T. Product Information Product Information. *Opadry*. 1920;(14998):1919–20.
75. Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz-Guzik M, Guzik TJ. NADPH oxidases in vascular pathology. *Antioxidants Redox Signal*. 2014;20(17):2794–814.
76. Teixeira G, Szyndralewicz C, Molango S, Carnesecchi S, Heitz F, Wiesel P, et al. Therapeutic potential of NADPH oxidase 1/4 inhibitors. *Br J Pharmacol*. 2017;174(12):1647–69.
77. Gorin Y, Cavaglieri RC, Khazim K, Lee DY, Bruno F, Thakur S, et al. Targeting NADPH oxidase with a novel dual Nox1/Nox4 inhibitor attenuates renal pathology in type 1 diabetes. *Am J Physiol - Ren Physiol*. 2015;308(11):F1276–87.
78. Cui FQ, Wang YF, Gao Y Bin, Meng Y, Cai Z, Shen C, et al. Effects of BSF on Podocyte Apoptosis via Regulating the ROS-Mediated PI3K/AKT Pathway in DN. *J Diabetes Res*. 2019;2019.
79. Yang H, Zhang W, Xie T, Wang X, Ning W. Fluorofenidone inhibits apoptosis of renal tubular epithelial cells in rats with renal interstitial fibrosis. *Brazilian J Med Biol Res*. 2019;52(11):1–9.
80. Kwon G, Uddin MJ, Lee G, Jiang S, Cho A, Lee JH, et al. A novel pan-Nox inhibitor, APX-115, protects kidney injury in streptozotocin-induced diabetic mice: Possible role of peroxisomal and mitochondrial biogenesis. *Oncotarget*. 2017;8(43):74217–32.
81. Cha DR, Cha JJ, Min HS, Kim KT, Kim JE, Ghee JY, et al. APX-115, a first-in-class pan-NADPH oxidase (Nox) inhibitor, protects db/db mice from renal injury. *Lab Investig*. 2017;97(4):419–31.
82. Summary C. AM-095 Sodium. 2011;1–13.
83. Lee JH, Sarker MK, Choi H, Shin D, Kim D, Jun HS. Lysophosphatidic acid receptor 1 inhibitor, AM095, attenuates diabetic nephropathy in mice by downregulation of TLR4/NF-

- κ B signaling and NADPH oxidase. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2019;1865(6):1332–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.02.001>
84. Kim Y, Jeon YJ, Ryu K, Kim TY. Zinc(II) ion promotes anti-inflammatory effects of rhSOD3 by increasing cellular association. *BMB Rep*. 2017;50(2):85–90.
85. Yang T, Xu C. Physiology and pathophysiology of the intrarenal renin-angiotensin system: An update. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(4):1040–9.
86. Williams ME. Diabetic nephropathy: The proteinuria hypothesis. *Am J Nephrol*. 2005;25(2):77–94.
87. Rhee SY, Kim YS. The role of advanced glycation end products in diabetic vascular complications. *Diabetes Metab J*. 2018;42(3):188–95.
88. Xu Y, Guo H. Role of Advanced Glycation End Products in the Progression of Diabetes Mellitus. *Glob J Obesity, Diabetes Metab Syndr*. 2017;4(1):024–35.
89. Yu P, Han W, Villar VAM, Yang Y, Lu Q, Lee H, et al. Unique role of NADPH oxidase 5 in oxidative stress in human renal proximal tubule cells. *Redox Biol*. 2014;2(1):570–9.
90. Augsburger F, Filippova A, Rasti D, Seredenina T, Lam M, Maghzal G, et al. Pharmacological characterization of the seven human NOX isoforms and their inhibitors. *Redox Biol* [Internet]. 2019;26(June):101272. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101272>
91. Chen S, Meng XF, Zhang C. Role of NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species in podocyte injury. *Biomed Res Int*. 2013;2013.
92. Millana Fañanás E, Todesca S, Sicorello A, Masino L, Pompach P, Magnani F, et al. On the mechanism of calcium-dependent activation of NADPH oxidase 5 (NOX5). *FEBS J*. 2020;287(12):2486–503.
93. Tirone F, Radu L, Craescu CT, Cox JA. Identification of the binding site for the regulatory calcium-binding domain in the catalytic domain of NOX5. *Biochemistry*. 2010;49(4):761–

71.

94. Jay C. Jha^{1*}, Aozhi Dai¹, Jessica Garzarella¹, Amelia Charlton¹, Sofia Urner², Jakob A. Østergaard^{1,10}, Jun Okabe¹, Chet E. Holterman⁴, Alison Skene⁵, David A. Power⁶, Elif I. Ekinci^{7,8}, Melinda T. Coughlan^{1,9}, Harald H. H. W. Schmidt¹¹, Mark E. Cooper¹,
CRKKJ-D. Independent of Renox, NOX5 promotes renal inflammation and fibrosis in diabetes by activating ROS-sensitive pathways. :1–7.