

Aplicação das quimiocinas no diagnóstico, prognóstico e tratamento da doença renal do diabetes

Application of chemokines in the diagnosis, prognosis and treatment of diabetic kidney disease

Isabela Martins Rodrigues, Jordânia Ferreira Martins, William Neves Oliveira, Caroline Pereira Domingueti

Universidade Federal de São João Del Rei - Campus Centro Oeste

Endereço para correspondência:

Caroline Pereira Domingueti

Campus Centro Oeste Dona Lindu, Universidade Federal de São João Del Rei, Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400 – Chanadour, CEP: 35501-296 - Divinópolis - MG

E-mail: caroldomingueti@ufsj.edu.br

Resumo

As quimiocinas consistem em potenciais marcadores para o diagnóstico e prognóstico da doença renal do diabetes (DRD), além de serem alvos terapêuticos interessantes para o desenvolvimento de fármacos mais eficazes para o tratamento desta complicação do diabetes mellitus (DM). Esse foi um estudo de revisão narrativa, com o objetivo de descrever as quimiocinas como possíveis marcadores e alvos terapêuticos na DRD. O entendimento do papel das quimiocinas nos mecanismos fisiopatológicos da DRD é crucial para o desenvolvimento de tratamentos farmacológicos mais eficazes. Além disso, algumas quimiocinas têm demonstrado consistirem em marcadores precoces para o diagnóstico da DRD, já que seus níveis parecem aumentar antes da redução da TFG ou do aumento da albuminúria. Os níveis de algumas quimiocinas ainda parecem refletir a gravidade da DRD, indicando seu potencial como marcadores para o monitoramento e avaliação do prognóstico desta complicação do DM.

Palavras-chave: Nefropatias Diabéticas, Quimiocinas, Biomarcadores.

Abstract

Chemokines consist of potential markers for the diagnosis and prognosis of renal diabetes disease (DRD), in addition to being interesting therapeutic targets for the development of more effective drugs for the treatment of this complication of diabetes mellitus (DM). This was a narrative review study, with the aim of describing chemokines as possible therapeutic markers and targets in DRD. Understanding the role of chemokines in the pathophysiological mechanisms of DRD is crucial for the development of more effective pharmacological treatments. In addition, some chemokines have been shown to consist of early markers for the diagnosis of DRD, as their levels appear to increase before the reduction in GFR or the increase in albuminuria. The levels of some chemokines still seem to reflect the severity of DRD, indicating its potential as markers for monitoring and assessing the prognosis of this DM complication.

Keywords: Diabetic Nephropathies, Chemokines, Biomarkers.

INTRODUÇÃO

Estima-se que 537 milhões de indivíduos adultos convivem com o diabetes mellitus (DM), o que representa cerca de 10,5% da população mundial na faixa etária de 20 a 79 anos. O DM é responsável direta ou indiretamente por cerca de 8,0% das mortes em indivíduos com menos de 60 anos nas Américas do Sul e Central, consistindo em uma das principais causas de mortalidade no mundo⁽¹⁾.

Se não tratado adequadamente, o DM é uma doença progressiva que pode causar diversas complicações micro e macrovasculares, tais como retinopatia, insuficiência renal, infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular encefálico (AVE), amputação de membros inferiores e óbito⁽²⁾.

Dentre as principais complicações associadas ao DM não controlado, destaca-se a doença renal do diabetes (DRD), que consiste no comprometimento da função renal em decorrência de danos causados às células e vasos sanguíneos. Tal morbidade é desencadeada principalmente devido ao descontrole dos índices glicêmicos e ao estado inflamatório constante em que o paciente com DM descompensado está exposto. Devido a isso, reafirma-se a importância do controle glicêmico através da reeducação alimentar, prática de exercícios físicos, acompanhamento farmacoterapêutico e multidisciplinar, monitoramento dos sinais clínicos e realização de exames laboratoriais^(2,3).

Sabe-se que a DRD reflete um estado inflamatório, tornando-se vital compreender o papel dos mediadores inflamatórios na fisiopatologia da doença e de suas complicações⁽⁴⁾. Dentre os mediadores inflamatórios, destacam-se as quimiocinas, as quais consistem em potenciais marcadores para o diagnóstico e prognóstico da DRD, além de serem alvos terapêuticos interessantes para o desenvolvimento de fármacos mais eficazes para o tratamento desta complicação do DM.

Nesse contexto, esse presente trabalho teve como objetivo descrever o papel das quimiocinas na patogênese, bem como suas potenciais aplicações no diagnóstico e tratamento da DRD.

MATERIAIS E MÉTODOS

A fim de realizar uma revisão narrativa sobre o papel das quimiocinas na patogênese da DRD e suas aplicações para o diagnóstico e tratamento da doença, foram utilizadas as bases de dados *Web of Science*, *PubMed* e *Scielo*.

Os descritores “nefropatias diabéticas”, “doença renal do diabetes” e “quimiocinas” foram empregados para a busca dos artigos científicos. Dentre os estudos encontrados, foram selecionados os mais relevantes que abordavam o tema e esses foram utilizados para a revisão de literatura.

REVISÃO DA LITERATURA E DISCUSSÕES

Doença Renal do Diabetes

De acordo com a International Diabetes Federation (IDF), 15,7 milhões de pessoas na faixa etária de 20 a 79 anos convivem com o DM no Brasil, o qual consiste no sexto país com maior número de indivíduos acometidos pela doença no mundo⁽¹⁾. De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes, a DRD consiste no comprometimento renal diretamente

relacionado ao diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2). A DRD acomete 20% a 40% dos pacientes com DM1 e DM2 e consiste em uma das principais causas de doença renal crônica (DRC) no Brasil e no mundo. O DM está intimamente relacionado às complicações microvasculares - destacando-se a DRD – e essas, ocasionam aumento da mortalidade e grandes custos aos sistemas de saúde⁽²⁾.

Diagnóstico da Doença Renal do Diabetes

O diagnóstico da DRD é estabelecido quando a taxa de filtração glomerular (TFG) se encontra inferior a 60 mL/min/1,73m² e/ou a excreção urinária de albumina (EUA) se encontra ≥ 30 mg/g ou ≥ 30 mg/24 horas. A triagem da DRD deve ser realizada anualmente em seguida do diagnóstico de DM2 e após 5 anos do diagnóstico de DM1, exceto em pacientes com DM1 descompensado ou que estejam na puberdade, quando esse rastreamento deve ser iniciado mais precocemente. A DRD não albuminúrica, caracterizada pela redução isolada da TFG, é observada em aproximadamente um quinto dos casos. Portanto, ambos os marcadores, TFG e EUA, devem ser avaliados anualmente^(2,3).

A EUA pode ser medida pela concentração de albumina em amostra de urina de 24 horas ou pela relação albumina/creatinina em amostra de urina aleatória ou primeira urina da manhã. Um resultado de albuminúria aumentada deve ser confirmado em duas de três amostras coletadas em um período de três a seis meses, para se excluir a albuminúria transitória na ausência de lesão renal⁽⁵⁾.

A TFG deve ser determinada por meio do cálculo do *clearance* de creatinina ou estimada por meio de equações que utilizem a creatinina sérica, ajustando em relação à idade, gênero e etnia. A creatinina sérica não deve ser avaliada isoladamente devido aos vários fatores interferentes, tais como massa muscular, dieta e uso de alguns medicamentos. As equações atualmente recomendadas pelo *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) para estimar a TFG foram descritas em importantes estudos, como Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) e Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI)⁽⁵⁾.

Os marcadores atualmente empregados para avaliação da função renal nos pacientes com DM possuem algumas limitações. A albuminúria pode sofrer interferência de diversos fatores, como mau controle glicêmico, hipertensão arterial sistêmica (HAS) não controlada, prática de atividade física intensa antes da coleta da amostra de urina, obesidade mórbida, insuficiência cardíaca descompensada, presença de infecção do trato urinário (ITU), doença aguda, febre, sobrecarga proteica ou hídrica e gestação. Com relação às equações utilizadas para estimar a TFG, ambas apresentam limitações, nas quais a equação MDRD tende a subestimar a TFG na faixa da normalidade, enquanto a equação CKD-EPI tende a superestimar a TFG em indivíduos que possuem TFG inferior a 60 mL/min/1,73m²⁽⁶⁾.

Portanto, torna-se necessária a descoberta de novos marcadores que possibilitem o diagnóstico precoce e o monitoramento adequado da DRD, considerando que o estabelecimento de terapias nefroprotetoras pode evitar ou retardar a progressão da DRD⁽⁶⁾. Dentre os marcadores que têm sido estudados, destacam-se a transferrina, ceruloplasmina, adiponectina, laminina, proteínas podocitárias e as quimiocinas⁽²⁾.

Tratamento da Doença Renal do Diabetes

Em relação ao tratamento da DRD, ainda não existem fármacos capazes de proporcionar o retorno da função renal à normalidade, apenas a finalidade de diminuir a EUA e retardar a redução da TFG. Além disso, recomendada-se o controle da pressão arterial (< 140/90 mmHg) e da glicemia (hemoglobina glicada < 7,0%) para diminuir o risco de progressão da DRD. Os fármacos que bloqueiam o sistema renina-angiotensina aldosterona (SRAA), como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) e os bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRA) são os mais indicados para o tratamento da DRD, já que estes possuem efeito nefroprotetor, diminuindo a EUA e evitando que a DRD progrida para fases mais avançadas⁽²⁾.

Neste contexto, a busca por novos medicamentos mais eficazes para o tratamento da DRD é extremamente importante. Como algumas quimiocinas têm sido associadas com a patogênese da DRD, as mesmas consistem em alvos terapêuticos promissores para o tratamento desta complicação do DM.

Quimiocinas

O processo inflamatório decorre da exposição dos tecidos e órgãos aos estímulos nocivos, componentes tóxicos, lesão celular ou tecidual. A resposta a esse processo envolve as diferentes células do sistema imune. A atração dos leucócitos, um processo controlado por quimiocinas, é extremamente importante para o estabelecimento da inflamação e da resposta do hospedeiro à infecção⁽⁷⁾.

As quimiocinas são caracterizadas como pequenas proteínas, altamente conservadas, com tamanho aproximado de 8 a 12 kDa, que tem como principal função a regulação da migração de leucócitos em condições basais e inflamatórias⁽⁸⁾. As quimiocinas foram divididas em 4 subfamílias (C, CC, CXC e CX₃C) com base no posicionamento sequencial dos dois primeiros de quatro resíduos de cisteína N-terminais dessas moléculas. A subfamília de quimiocina C consiste em uma exceção, em que há apenas um resíduo de cisteína N-terminal. Nas duas principais subfamílias CC e CXC, as duas primeiras cisteínas são adjacentes (motivo CC) ou separadas por um resíduo de aminoácido (motivo CXC). Já as quimiocinas CX₃C possuem três aminoácidos entre os dois primeiros resíduos de cisteína. Apesar das quimiocinas apresentarem diferenças na homologia das sequências gênicas, todas apresentam uma mesma dobra. A estrutura é composta de uma região N-terminal curta, uma região de N-loop estendida, seguida de três cadeias β e uma α -hélice⁽⁹⁾.

Além da classificação com base na estrutura, as quimiocinas podem ser divididas de acordo com a função. Com base nas características funcionais, as quimiocinas podem ser classificadas em dois grupos: as homeostáticas que são responsáveis pelo controle e migração celular durante a manutenção/reparação celular, hematopoese e angiogênese; e as inflamatórias, que podem ser induzidas por fatores inflamatórios de necrose tumoral, interferon- γ , produtos microbianos ou trauma, que direcionam a migração e ativação de leucócitos⁽⁸⁾. As quimiocinas CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL7 e CXCL8 são classificadas como inflamatórias, já a CXCL12 e a CXCL13 como homeostáticas. A interleucina 8 (IL-8/CXCL8) é um potente quimioatratante de neutrófilos, que está presente nas doenças inflamatórias e altos níveis dessa quimiocina são encontrados após choque séptico⁽¹⁰⁾.

As duas principais famílias de quimiocinas são a CC e a CXC. Na família CC, as quimiocinas atuam principalmente na ativação de monócitos, linfócitos, basófilos e eosinófilos, possuindo um papel relevante nos processos alérgicos e inflamações

crônicas. Já a família CXC atua sobre neutrófilos, e se subdivide em dois grupos com base na sequência de aminoácidos, E-L-R (glutamato-leucina-arginina, próximo ao terminal N da molécula). As quimiocinas ELR-CXC são capazes de atrair e ativar neutrófilos, reparar tecidos e também são consideradas como potentes fatores angiogênicos. Por estimular a quimiotaxia, quimiocinas ELR-CXC são fatores angiostáticos e atuam na inibição do crescimento tumoral. Em relação a família CX₃C, a única quimiocina é a fractalina, que é considerada quimiotática para células mononucleares do sangue periférico. Já na família C, destaca-se a linfotactina, que é uma quimiocina quimioatratora para linfócitos efetores (células Natural Killer (NK) e TCD8+) e auxiliares (linfócitos T CD4+)⁽¹¹⁾.

Aproximadamente cinquenta quimiocinas e vinte receptores acoplados a proteína G já foram descritos na literatura. Os receptores de quimiocinas são designados pela subfamília seguido da letra R (que correspondem à receptores) e um número. Os receptores de quimiocinas são membros da família de receptores com 7 domínios transmembrana acoplados à proteína G, que é uma classe de proteínas transdutoras de sinais. Eles podem ser considerados específicos, que se ligam apenas a um único ligante; ou promíscuos, ligando-se a diferentes quimiocinas com afinidade similar⁽¹¹⁾. As quimiocinas, seus respectivos receptores e funções estão apresentados no Quadro 1⁽¹⁰⁾.

Quimiocinas no Tratamento da Doença Renal do Diabetes

Diversas quimiocinas, tais como CCL2, CX₃C (fractalina) e CCL5/RANTES, demonstraram possuir provável envolvimento na fisiopatologia da DRD. A CCL2 atua na mediação da migração de monócitos e macrófagos para o tecido renal, além disso, células renais também são capazes de sintetizar essa quimiocina. Pacientes com DM2 e nefropatia apresentam aumento gradativo nos níveis urinários dessa quimiocina, de acordo com a gravidade do quadro clínico e o estágio da doença. A quimiocina CX₃C atua como um fator quimiotático para monócitos e células NK, além de induzir a adesão celular. É a única quimiocina existente tanto na forma solúvel quanto ligada à membrana. A maioria dos leucócitos que se infiltram no rim, nas doenças renais em humanos, expressa CX₃CR1. Já a quimiocina CCL5/RANTES atrai monócitos, macrófagos, granulócitos e células T sendo expressa por diferentes tipos de células, como fibroblastos e células epiteliais tubulares renais. Os pacientes com DM2 podem apresentar níveis séricos elevados desta quimiocina⁽¹²⁾.

O entendimento dos mecanismos de patogênese da DRD e sua associação a processos de inflamação têm-se demonstrado vital para o desenvolvimento de novos medicamentos e abordagens de tratamento da DRD. Diversos estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* tem avaliado a possibilidade de utilizar abordagens diretas e indiretas das quimiocinas envolvidas na patogênese da DRD ⁽¹⁴⁻³⁶⁾. Alguns estudos utilizando inibidores de receptores de quimiocinas têm-se mostrado promissores⁽¹³⁾. O Quadro 2 apresenta os principais estudos que demonstraram o potencial uso das quimiocinas no tratamento da DRD.

A disfunção do endotélio glomerular desempenha um papel importante na patogênese da DRD inicial. Já foi observado que em células endoteliais glomerulares primárias de rato, a quimiocina CXCL7 (derivada de micropartículas plaquetárias) atua na promoção de lesões do endotélio glomerular. Entretanto, esse quadro que pode ser revertido pela inibição de CXCL7 com um anticorpo neutralizante⁽¹⁴⁾. Em um estudo realizado em 2016, observou-se aumento na expressão de CXCL1 em podócitos através de modelos experimentais *in vivo* utilizando-se camundongos diabéticos⁽¹⁵⁾.

Quadro 1. Quimiocinas, seus respectivos receptores e funções.

QUIMIOCINAS CC			
Quimiocina	Nome original	Receptor de quimiocina	Principal função
CCL1	1-309	CCR8	Recrutamento de monócitos e migração de célula endotelial
CCL2	MCP-1	CCR2	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL3	MIP-1 α	CCR1, CCR5	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL4	MP-1 β	CCR5	Célula T, Célula dendrítica, monócito e recrutamento de NK, correceptor de HIV
CCL5	RANTES	CCR1, CCR3, CCR5	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL7	MCP-3	CCR1, CCR2, CCR3	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL8	MCP-2	CCR3, CCR5	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL9	MIP-1 γ	CCR1	Recrutamento de DC, diferenciação de osteoclastos
CCL11	Eotaxina	CCR3	Recrutamento de eosinófilos, basófilos e células T _{H2}
CCL12	Desconhecido	CCR2	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL13	MCP-4	CCR2, CCR3	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL14	HHC-1	CCR1, CCR5	Quimiotaxia de eosinófilos, linfoblastos T e monócitos
CCL15	MIP-1 δ	CCR1, CCR3	Recrutamento de diferentes leucócitos
CCL16	HHC-4	CCR1, CCR2	Recrutamento de linfócitos e monócitos
CCL17	TARC	CCR4	Recrutamento de células T
CCL18	DC-CK1	CCR8	Migração de linfócitos e células dendríticas
CCL19	MIP-3 β /ELC	CCR7	Migração de células T e células dendríticas para zonas parafoliculares dos gânglios linfáticos
CCL20	MIP-3 α	CCR6	Recrutamento de células T _{H17} , posicionamento de DC nos tecidos
CCL21	SLC	CCR7	Migração de células T e células dendríticas para zonas parafoliculares dos gânglios linfáticos
CCL22	MDC	CCR4	Recrutamento de células NK e células T
CCL23	MPIF-1	CCR1	Recrutamento de monócitos, neutrófilos, migração de células T
CCL24	Eotaxina 2	CCR3	Recrutamento de Eosinófilos, basófilos e células T _{H2}
CCL25	TECK	CCR9	Recrutamento de linfócitos para o intestino
CCL26	Eotaxina 3	CCR3	Recrutamento de eosinófilos, basófilos e células T _{H2}
CCL27	CTACK	CCR10	Migração de células dérmicas
CCL28	MEC	CCR10	Migração de células dérmicas
QUIMIOCINAS CXC			
Quimiocina	Nome original	Receptor de quimiocina	Função principal
CXCL1	GRO α	CXCR2	Recrutamento de neutrófilo
CXCL2	GRO β	CXCR2	Recrutamento de neutrófilo
CXCL3	GRO γ	CXCR2	Recrutamento de neutrófilo
CXCL4	PF4	CXCR3B	Agregação plaquetária
CXCL5	ENA-78	CXCR2	Recrutamento de neutrófilo
CXCL6	GCP-2	CXCR1, CXCR2	Recrutamento de neutrófilo
CXCL7	NAP-2	CXCR2	Recrutamento de neutrófilo
CXCL8	IL-8	CXCR1, CXCR2	Recrutamento de neutrófilo
CXCL9	Mig	CXCR3	Recrutamento de células T efetoras
CXCL10	IP-10	CXCR3, CXCR3B	Recrutamento de células T efetoras
CXCL11	I-TAC	CXCR3, CXCR7	Recrutamento de células T efetoras
CXCL12	SDF-1 $\alpha\beta$	CXCR4	Recrutamento de diferentes leucócitos, correceptor do HIV
CXCL13	BCA-1	CXCR5	Migração de células B para folículos, migração de células T auxiliar folicular para os folículos
CXCL14	BRAK		Migração de monócitos e células dendríticas
CXCL16	-	CXCR5	Receptor "Scavenger" de macrófago
QUIMIOCINAS C			
Quimiocina	Nome original	Receptor de quimiocina	Função principal
XCL1	Linfotactina	XCR1	Recrutamento de células T e NK
XCL2	SCM-1 β	XCL1	Recrutamento de células T e NK
QUIMIOCINAS CX ₃ C			
Quimiocina	Nome original	Receptor de quimiocina	Função principal
CX3CR1	Fractalcina	CX3CR1	Recrutamento de células T, NK e monócitos, ativação de CLT e células NK.

Adaptado de: Palomino e Marti, 2015 (10).

Quadro 2. Principais estudos que demonstraram o potencial uso das quimiocinas no tratamento da DRD.

Quimiocina	Tipo de Estudo	Resultados	Autor e ano
CXCL1	<i>In vitro</i>	Aumento da expressão em podócitos	Xu J et al., 2016(15)
CXCL7	<i>In vivo e in vitro</i>	Promove lesões no endotélio glomerular	Zhang et al., 2018(14)
CXCL8	Pré-clínico	O tratamento com fragmentos do CXCL8 ₃₋₇₂ (G31P), o qual inibe os receptores CXCR1 e CXCR2, melhora a função renal O tratamento com fragmentos do CXCL8 ₃₋₇₂ (G31P), o qual inibe os receptores CXCR1 e CXCR2 promoveu redução da ureia sérica, albuminúria, inflamação e fibrose renal e aumento do <i>clearance</i> da creatinina	Cui et al., 2017(16)
CXCL9	<i>In vitro</i>	A inibição de CXCL9 resulta em efeitos anti-apoptóticos e antiinflamatórios em podócitos	Yu et al., 2017(17)
CXCL10	<i>In vivo e in vitro</i>	Reduz a expansão da matriz mesangial e peritubular, albuminúria e hipertrofia glomerular e inibe o colágeno de fibroblastos renais e a produção de TGF- β	Zhang et al., 2018(18)
	Ensaio clínico de fase 2	O baricitinibe, um inibidor de JAK1 e JAK2, diminui os níveis de CXCL10 na urina, promovendo uma redução da relação albumina/creatinina	Tuttle et al., 2018(19)
CXCL12	Pré-clínico	O inibidor de DPP-4 reduziu os níveis de CXCL12 renal, albuminúria, glomeruloesclerose, fibrose, perda de podócitos e ROS, e aumentou a excreção de sódio e a TFG	Takashima et al., 2016(20)
CX3CL1	<i>In vitro</i>	Anticorpo anti-TGF- β atenua a expressão de CX3CL1 e diminui o acúmulo de matriz extracelular em células mesangiais	Song et al., 2013(23)
CCL2	<i>In vitro</i>	AGEs e DPP-4 induzem a expressão de NF- κ B e CCL2 em células tubulares	Kaifu et al., 2018(26)
	<i>In vitro</i>	A aldosterona induz uma resposta inflamatória mediante a ativação de NF- κ B e CCL2 em células mesangiais sob a condição de glicose elevada por meio das vias dos receptores de angiotensina II	Hao et al., 2015(27)
	<i>In vitro</i>	A inibição de CCL2 por meio do bloqueio da via de sinalização do complexo proteico NF- κ B atenua a lesão de podócitos induzida por altos níveis de glicose	Chen et al., 2016(28)
	<i>In vitro</i>	Altos níveis de glicose induzem o aumento de IL-6 e CCL2 dose e tempo dependente em células HK-2	Wang et al., 2018(29)
	<i>In vitro</i>	Foi observada a exacerbação da morte de podócitos induzida por ácido palmítico, acompanhada pela regulação positiva de CCL2	Orellana et al., 2017(30)
	<i>In vivo</i>	O acúmulo de macrófagos renais, albuminúria, lesões túbulo-intersticiais e a fibrose renal são menos pronunciados em camundongos CCL2 ^{-/-} em relação ao tipo selvagem	Chow et al., 2007(24)
	Pré-clínico	A associação de um antagonista de CCR2 associado a um IECA proporcionou maior proteção renal em comparação à administração de IECA isoladamente	Tesch et al., 2019(33)
	Pré-clínico	A inibição de CCR2 por um antagonista atenuou a proteinúria, glomeruloesclerose e insuficiência renal	Sayyed et al., 2011(34)
	Ensaio clínico de fase 2	O baricitinibe diminuiu a expressão de CCL2 na urina e a relação albumina/creatinina na urina	Tuttle et al., 2018(32)
	Ensaio clínico de fase 2	Um antagonista do receptor CCR2 diminuiu a relação albumina/creatinina na urina de pacientes com DRD	Gale et al., 2018(35)
CCL5	Ensaio clínico de fase 2	Um antagonista do receptor CCR5 diminuiu a relação albumina/creatinina na urina de pacientes com DRD	Gale et al., 2018(35)
CCL18	<i>In vitro</i>	A administração de CCL18 e altas doses de glicose promove aumento da expressão de fibronectina em células renais humanas do tipo 2	Montero et al., 2016(36)

O tratamento com fragmentos do CXCL8₃₋₇₂ (G31P), o qual inibe os receptores CXCR1 e CXCR2 (receptores do CXCL8), promoveu uma redução da ureia sérica e da albuminúria e um aumento do *clearance* da creatinina em camundongos com DM induzido por dieta rica em gordura associado a administração de estrepto-zocina, além de

atenuar a inflamação, fibrose renal, expansão mesangial, glomeruloesclerose e deposição de matriz extracelular. Além disso, a inibição de CXCL8 atenua proteínas inflamatórias e fibróticas induzidas por níveis elevados de glicose em células mesangiais renais humanas, demonstrando a provável participação de CXCL8 na patogênese da DRD. O mecanismo molecular sugerido de ação desse composto foi a inibição das vias de sinalização dependentes de JAK2/STAT e ERK1/2, as quais são associadas à ativação dos receptores CXCR1/2. Assim sendo, esse estudo sugere que a inibição dos receptores CXCR1/2 pelo composto G31P confere efeitos nefroprotetores de maneira a oferecer uma nova possibilidade terapêutica para a DRD⁽¹⁶⁾.

Os produtos finais da glicação avançada diminuem a proliferação de podócitos em camundongos e aumentam a expressão de CXCL9 por meio da ativação do transdutor de sinal e do ativador da transcrição 3 (STAT3). A inibição de CXCL9 leva à diminuição da expressão de Bax / Bcl-2 e à inativação da via Janus quinase 2 (JAK2) / STAT3, resultando em efeitos anti-apoptóticos e antiinflamatórios em um modelo de lesão de podócito de camundongo com DM⁽¹⁷⁾.

Ao se avaliar camundongos com DM, observa-se um declínio nos níveis plasmáticos de CXCL10 ao se comparar com animais saudáveis. Além disso, observou-se ao se empregar CXCL10 murino recombinante, que o mesmo pode reduzir a expansão da matriz mesangial e peritubular, albuminúria e hipertrofia glomerular *in vivo*. Avaliações *in vitro* demonstraram que CXCL10 pode inibir o colágeno de fibroblastos renais e a produção de fator de crescimento transformante beta (TGF- β) em condições de níveis elevados de glicose⁽¹⁸⁾. O baricitinibe, um inibidor de JAK1 e JAK2, demonstrou capacidade de diminuir os níveis de CXCL10 na urina, promovendo uma redução da relação albumina/creatinina em um ensaio clínico de fase 2 em pacientes com DRD⁽¹⁹⁾.

O inibidor de DPP-4, ao ser testado em camundongos com DM, demonstrou capacidade de reduzir os níveis de CXCL12 renal, albuminúria, glomeruloesclerose, fibrose, perda de podócitos e ROS. Em conjunto, a inibição de DPP-4 pode fornecer efeitos de proteção renal por meio das vias de sinalização dependentes de CXCL12 na DRD, aumentando a excreção de sódio e a TFG⁽²⁰⁾.

A quimiocina fractalcina (CX3CL1) é produzida principalmente pelas células endoteliais glomerulares e pelo epitélio tubular. Essa quimiocina pode ser observada ainda em podócitos, células mesangiais, células tumorais renais e células estromais⁽²¹⁾. Foi observado que esta quimiocina é expressa em tecidos renais com processos inflamatórios ativos em humanos⁽²²⁾.

A fractalcina pode induzir formação de matriz extracelular mesangial por meio da ativação de seu receptor CX3CR1, espécies reativas de oxigênio (ROS) e map quinase (MAPKs). Um estudo conduzido com camundongos administrando um anticorpo anti-TGF- β , demonstrou que este consegue atenuar a expressão de CX3CL1 sob condições de níveis elevados de glicose e diminuir o acúmulo de matriz extracelular induzido por CX3CL1 em células mesangiais⁽²³⁾.

O acúmulo de macrófagos renais, albuminúria, lesões túbulo-intersticiais e a fibrose renal são menos pronunciados em camundongos CCL2^{-/-} em relação ao tipo selvagem⁽²⁴⁾. A inibição de CCL2 demonstrou influenciar o prognóstico positivamente em diferentes modelos *in vitro* e *in vivo*, bem como em ensaios clínicos de doença renal, achados que sugerem que sua inibição tem grande potencial para um tratamento da DRD no futuro⁽²⁶⁻³²⁾.

A ativação de receptores tipo toll (TLRs) estimulam a expressão de moléculas inflamatórias, incluindo a quimiocina CCL2 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), o que está intimamente relacionado com a progressão da DRD. O aumento dos níveis de glicose induz elevação dos níveis de expressão de CCL2, que por sua vez, ativa a

fosforilação do fator nuclear kappa (NF- κ B), I κ B quinase (IKK) β , I κ B α , MAPK e a translocação nuclear de p65 em podócitos. A regulação positiva de NF- κ B induz a uma exacerbação da resposta inflamatória em podócitos mediante altos níveis de glicose⁽²⁵⁾.

Os produtos finais de glicosilação avançada e dipeptidil peptidase-4 (DPP-4) demonstraram possuir a capacidade de induzir a regulação positiva dos níveis de mRNA de NF- κ B e CCL2 em células tubulares⁽²⁶⁾. Sabe-se ainda que a aldosterona consegue induzir uma resposta inflamatória mediante a ativação de NF- κ B e CCL2 em células mesangiais sob a condição de glicose elevada por meio das vias dos receptores de angiotensina II⁽²⁷⁾.

Dentre as estratégias que podem ser adotadas para se obter o bloqueio de CCL2 encontra-se o bloqueio da via de sinalização do complexo proteico NF- κ B, a exemplo do que ocorre com o siRNA de RANK, que atenua a lesão de podócitos induzida por altos níveis de glicose ao inibir a ativação das vias de sinalização de NF- κ B e MAPK⁽²⁸⁾.

Testes realizados com HK-2 demonstraram que altos níveis de glicose induzem o aumento de IL-6 e CCL2 dose e tempo dependente⁽²⁹⁾. Ao se testar a exposição de podócitos a lipopolissacarídeo percebeu-se a ocorrência de exacerbação da morte destes induzida por ácido palmítico, acompanhada pela regulação positiva de CCL2 e quimioatratador de queratinócitos⁽³⁰⁾.

Ensaios clínicos utilizando o inibidor de CCL2 (emapticap pegol) e o inibidor JAK 1/JAK2 (baricitinibe) obtiveram resultados promissores no que diz respeito ao tratamento da DRD⁽³¹⁾. Em um ensaio clínico randomizado de fase 2, o baricitinibe apresentou efeito regulador negativo na expressão de CCL2 na urina, obtendo-se ainda uma redução da relação albumina/creatinina na urina em pacientes com DM2 que apresentavam alto risco de DRD progressiva. Além disso, os inibidores de CCL2 produziram resultados promissores no que diz respeito ao controle dos níveis de HbA1c⁽³²⁾.

Um estudo *in vivo* utilizando camundongos com HA, em um modelo de DM induzida por STZ, demonstrou que a associação de um antagonista de CCR2 associado a um IECA, garantiu maior proteção renal em comparação à administração do IECA isoladamente⁽³³⁾. Outro estudo *in vivo*, também em camundongos, demonstrou que a inibição de CCR2 por um antagonista administrado por via oral pode atenuar a proteinúria, glomeruloesclerose e insuficiência renal⁽³⁴⁾.

Em estudo clínico de fase 2, um antagonista dos receptores CCR2 e CCR5 foi utilizado para o tratamento da DRD. Após administração antagonista dos receptores CCR2 e CCR5, a relação albumina/creatinina urinária foi reduzida em pacientes com DM2 que também receberam tratamento padrão, contudo, essa redução foi discreta e estudos de maior duração se fazem necessários para atestar a manutenção destes efeitos⁽³⁵⁾.

Ao se combinar a administração de CCL18 recombinante a altas doses de glicose, observou-se o aumento da expressão de fibronectina, proteína associada ao processo de fibrose em células renais humanas do tipo 2 (HK-2)⁽³⁶⁾.

Quimiocinas no Diagnóstico e no Monitoramento da Doença Renal do Diabetes

É de suma importância compreender como se comportam os marcadores biológicos mediante qualquer alteração fisiopatológica do organismo. Estudos tem sido realizados a fim de avaliar o potencial das quimiocinas como prováveis marcadores para o diagnóstico e monitoramento da DRD. Diversos desses, têm demonstrado que a dosagem laboratorial dos níveis séricos ou urinários de diferentes quimiocinas podem contribuir para um diagnóstico precoce e assertivo, além de auxiliar na avaliação do prognóstico e

monitoramento da DRD⁽³⁷⁻⁵¹⁾. O Quadro 3 apresenta os principais estudos que demonstraram o potencial uso das quimiocinas no diagnóstico e monitoramento da DRD.

Um estudo de 2015 demonstrou que os níveis séricos e urinários de CXCL9 tendem a aumentar em pacientes com DRD ao se comparar com pacientes saudáveis. Os níveis urinários de mRNA de CXCL9 e CXCL11 se correlacionam com a função renal basal e a taxa de declínio da função renal está associada ao nível de mRNA de CXCL9 urinário na DRD⁽³⁷⁾.

Wong e colaboradores em 2007 demonstraram que pacientes com DRD apresentaram níveis séricos significativamente maiores de CXCL8, CXCL9 e CXCL10 em comparação com os pacientes sem DRD. Os níveis séricos destas quimiocinas ainda foram positivamente correlacionados com a relação albumina/creatinina na urina nos pacientes com DRD⁽³⁸⁾. Os níveis urinários de CXCL8 ainda foram significativamente maiores em portadores de DM2 que possuem albuminúria moderadamente e intensamente aumentada se comparado aos pacientes com albuminúria normal⁽³⁹⁾. Outro estudo ainda demonstrou um aumento dos níveis urinários de CXCL5, CXCL8 e CXCL9 com o aumento da excreção urinária de albumina⁽⁴⁰⁾.

Quadro 3. Principais estudos que demonstraram o potencial uso das quimiocinas no diagnóstico e monitoramento da DRD.

Quimiocina	Resultados	Autor e ano
CXCL5	Os níveis urinários de CXCL5 aumentam com a elevação da albuminúria	Higurashi et al., 2009(40)
CXCL8	Pacientes com DRD apresentaram níveis séricos maiores de CXCL8 e os níveis de CXCL8 foram positivamente correlacionados com a albuminúria	Wong et al., 2007(38)
	Os níveis urinários de CXCL8 foram maiores em pacientes com DM2 que possuem albuminúria moderadamente e intensamente aumentada	Tashiro et al., 2002(39)
	Os níveis urinários de CXCL8 aumentam com a elevação da albuminúria	Higurashi et al., 2009(40)
CXCL9	Os níveis séricos e urinários de CXCL9 são maiores em pacientes com DRD e a taxa de declínio da função renal está associada aos níveis de mRNA de CXCL9 urinário	Wang et al., 2015(37)
	Pacientes com DRD apresentaram níveis séricos maiores de CXCL9 e os níveis de CXCL9 foram positivamente correlacionados com a albuminúria	Wong et al., 2007(38)
	Os níveis urinários de CXCL9 aumentam com a elevação da albuminúria	Higurashi et al., 2009(40)
CXCL10	Pacientes com DRD apresentaram níveis séricos maiores de CXCL10 e os níveis séricos de CXCL10 foram positivamente correlacionados com a albuminúria	Wong et al., 2007(38)
CXCL16	Níveis plasmáticos aumentados de CXCL16 estão associados com valores reduzidos da TFG e albuminúria aumentada em pacientes com DRD	Sayyed et al., 2011(34)
	Pacientes com DRD apresentaram níveis séricos de CXCL16 maiores e os níveis séricos de CXCL16 foram negativamente correlacionados com a TFG e positivamente correlacionados com a proteinúria, os níveis séricos de ureia e de creatinina	Zhao et al., 2014(41)
	Níveis plasmáticos aumentados de CXCL16 foram independentemente preditivos de microalbuminúria	Scurt et al., 2019(42)
	Níveis urinários de CXCL16 podem refletir o grau de fibrose intersticial e atrofia tubular em pacientes com DRD	Lee et al., 2019(43)
	Os níveis séricos de CXCL16 foram inversamente correlacionados com a TFG e diretamente proporcionais à albuminúria	Elewa et al., 2016(44)
CCL2	Pacientes com DRD que apresentavam hiperglicemia e aumento de ROS apresentaram aumento dos níveis séricos de CCL2	Elmarakby et al., 2012(47)
	Os níveis basais e após 24 meses da CCL2 dos pacientes com DM2 que apresentaram um declínio da TFG $\geq 40\%$ foram maiores do que dos pacientes que apresentaram um declínio $\leq 10\%$	Nadkarni et al., 2016(51)
CCL4	Os níveis plasmáticos de CCL4 são maiores em pacientes com DRD	Kolseth et al., 2017(45)
CCL5	Pacientes com DRD que apresentavam hiperglicemia e aumento de ROS apresentaram aumento dos níveis séricos de CCL5	Elmarakby et al., 2012(47)
CCL7	Os níveis séricos de CCL7 são maiores em pacientes com DM1 que possuem lesão renal em um estágio precoce	Cummings et al., 2018(46)

Observou-se que os níveis plasmáticos aumentados de CXCL16 estão relacionados a valores reduzidos da TFG e albuminúria aumentada em pacientes com DRD(34). Um estudo ainda demonstrou que pacientes com DRD apresentaram maiores níveis séricos de CXCL16 que portadores de DM2 com função renal preservada. Além disso, os níveis séricos de CXCL16 foram negativamente correlacionados com a TFG e positivamente correlacionados com a proteinúria, os níveis séricos de ureia e de creatinina⁽⁴¹⁾. Em pacientes com DM2 inscritos no ROADMAP (Estudo Randomizado para avaliação da prevenção de Diabetes e Microalbuminúria utilizando-se olmesartana) e estudos de acompanhamento observacional, níveis aumentados de CXCL16 no plasma, angiopoietina-2 e TGF- β 1 mostraram-se independentemente preditivos de microalbuminúria, indicando que a dosagem laboratorial desses marcadores é promissora para o diagnóstico precoce da DRD⁽⁴²⁾.

Níveis urinários da quimiocina CXCL16 e endostatina podem refletir o grau de fibrose intersticial e atrofia tubular, que é um fator de risco para pior prognóstico em pacientes com DRD, consistindo em potenciais biomarcadores para o monitoramento da DRD⁽⁴³⁾. Um estudo transversal que incluiu 134 pacientes com DRD mostrou que os níveis séricos de CXCL16 são inversamente correlacionados a TFG e diretamente proporcionais à gravidade da albuminúria⁽⁴⁴⁾.

Observou-se que os níveis plasmáticos do inibidor do ativador de plasminogênico-1, syndecan-1, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), IL-1 β , antagonista do receptor interleucina-1 e CCL4 são maiores em pacientes com DM1 que possuem DRD⁽⁴⁵⁾. Em um estudo envolvendo adolescentes com DM1 observou-se que os níveis de CCL7 ou proteína monocito-quimotática -3 (MCP-3), são maiores em pacientes com lesão renal em um estágio precoce⁽⁴⁶⁾.

Um estudo envolvendo pacientes com DRD, que apresentavam hiperglicemia e aumento de ROS, demonstrou a ocorrência do aumento dos níveis séricos de CCL2 e CCL5⁽⁴⁷⁾. A CCL2 tem sido descrita como uma mediadora chave das doenças renais uma vez que, ao se analisar tecidos renais de pacientes com diferentes nefropatias, evidenciou-se nos mesmos, altos níveis de CCL2⁽⁴⁸⁾. Um estudo recente verificou que os níveis plasmáticos de CCL2 foram significativamente maiores em pacientes com DRC em comparação com o grupo controle e que os níveis plasmáticos de CCL2 foram inversamente correlacionados com a TFG nos pacientes com DRC⁽⁴⁹⁾.

Estudos envolvendo indivíduos sem sucesso em transplantes renais ao se comparar com transplantes que obtiveram êxito, observaram um aumento nos índices de CCL2 nos indivíduos onde os transplantes não foram exitosos. Além disso, estudos anteriores já haviam demonstrado que pacientes com rejeição aguda a enxertos renais apresentavam altos índices desta quimiocina. Em contrapartida, indivíduos que responderam bem à terapia antirrejeição, apresentam baixos índices de CCL2^(50,51).

Outro estudo que comparou pacientes com DM2 que apresentaram um declínio da TFG $\geq 40\%$ com pacientes que apresentara um declínio $\leq 10\%$, revelou que os níveis basais e após 24 meses da CCL2 foram significativamente maiores no grupo com maior declínio da TFG e que a razão CCL2/creatinina na urina foi cerca de cinco vezes maior nesse grupo, sugerindo que os níveis dessa quimiocina são fortemente associados ao declínio na função renal, destacando assim o seu grande potencial para o diagnóstico precoce da DRD⁽⁵²⁾.

CONCLUSÃO

O entendimento do papel das quimiocinas nos mecanismos fisiopatológicos da DRD é crucial para o desenvolvimento de tratamentos farmacológicos mais eficazes. Percebe-se o grande potencial do uso de inibidores de receptores de quimiocinas na redução da mortalidade, aumento da sobrevida e até mesmo redução da necessidade de terapia renal substitutiva. Além disso, algumas quimiocinas têm demonstrado consistirem em marcadores precoces para o diagnóstico da DRD, já que seus níveis parecem aumentar antes da redução da TFG ou do aumento da albuminúria. Os níveis de algumas quimiocinas ainda parecem refletir a gravidade da DRD, indicando seu potencial como marcadores para o monitoramento e avaliação do prognóstico dessa complicação do DM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Magliano DJ, Boyko EJ, IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee. IDF DIABETES ATLAS [Internet]. 10th edition. Brussels: International Diabetes Federation; 2021.
2. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. São Paulo: Clanad Editora científica, 489 p, 2019.
3. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Posicionamento Oficial Tripartite nº01/2016 SBD / SBEM / SBN: Prevenção, diagnóstico e conduta terapêutica na doença renal do diabetes, 100p, 2016.
4. Gomes BF, Accardo CM. Immuno inflammatory mediators in the pathogenesis of diabetes mellitus. *Einstein*, 17(1): eRB4596, 2019. doi: 10.31744 / einstein_journal / 2019RB4596.
5. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Intern Suppl*, 3: 1-150, 2013. doi:10.1038/kisup.2012.76
6. Porto JR, Gomes KB, Fernandes AP, Domingueti CP. Avaliação da função renal na doença renal crônica. *Rev Bras Anal Clin*, 49(1): 26-35, 2017. doi: 10.21877/2448-3877.201500320.
7. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*, 1843(11): 2563-2582, 2014. doi: 10.1016/j.bbamcr.2014.05.014.
8. Simões e Silva AC, Pereira BA, Teixeira MM, Teixeira AL. Chemokines as potential markers in pediatric renal diseases. *Dis Markers*, 2014: 278715, 2014. doi: 10.1155/2014/278715.

9. Miller MC, Mayo KH. Chemokines from a Structural Perspective. *Int J Mol Sci*, 18(10), 2088: 1-16, 2017. doi: 10.3390/ijms18102088.
10. Palomino DCT, Marti LC. Chemokines and immunity. *Einstein*, 13(3): 469-473, 2015. doi: 10.1590/S1679-45082015RB3438.
11. Guerreiro R, Santos-Costa Q, Azevedo-Pereira JM. As quimiocinas e os seus receptores: Características e funções fisiológicas. *Acta Med Port*, 24 S4: 967-976, 2011.
12. Navarro-González JF, Mora-Fernández C, De Fuentes MM. García-Pérez J. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol*, 7(6): 327-340, 2011. doi: 10.1038/nrneph.2011.51.
13. Cui S, Zhu Y, Du J, Khan MN, Wang B, Wei J, et al. CXCL8 Antagonist Improves Diabetic Nephropathy in Male Mice With Diabetes and Attenuates High Glucose-Induced Mesangial Injury. *Endocrinology*, 158(6): 1671-1684, 2017. doi: 10.1210/en.2016-1781.
14. Zhang Y, Ma KL, Gong YX, Wang GH, Hu ZB, Liu L, et al. Platelet Microparticles Mediate Glomerular Endothelial Injury in Early Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 29(11): 2671-2695, 2018. doi: 10.1681/ASN.2018040368.
15. Xu J, Zheng S, Kralik PM, Krishnan L, Huang H, Hoying JB, et al. Diabetes Induced Changes in Podocyte Morphology and Gene Expression Evaluated Using GFP Transgenic Podocytes. *Int J Biol Sci*, 12(2): 210-218, 2016. doi:10.7150/ijbs.13057.
16. Cui S, Zhu Y, Du J, Khan MN, Wang. B, Wei J, et al. CXCL8 antagonist improves diabetic nephropathy in male mice with diabetes and attenuates high glucose-induced mesangial injury. *Endocrinology*, 158(6): 1671–1684, 2017. doi: 10.1210/en.2016-1781.
17. Yu J, Wu H, Liu ZY, Zhu Q, Shan C, Zhang KQ. Advanced glycation end products induce the apoptosis of and inflammation in mouse podocytes through CXCL9-mediated JAK2/STAT3 pathway activation. *Int J Mol Med*, 40(4): 1185-1193, 2017. doi: 10.3892/ijmm.2017.3098.
18. Zhang Y, Thai K, Kepecs DM, Winer D, Gilbert RE. Reversing CXCL10 Deficiency Ameliorates Kidney Disease in Diabetic Mice. *Am. J Pathol*, 188(12): 2763-2773, 2018. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.08.017.
19. Tuttle KR, Brosius FC, Adler SG, Kretzler M, Mehta RL, Tumlin JA, et al. JAK1/JAK2 inhibition by baricitinib in diabetic kidney disease: Results from a Phase 2 randomized controlled clinical trial. *Nephrol Dial Transplant*, 33(11): 1950-1959, 2018. doi: 10.1093/ndt/gfx377.
20. Takashima S, Fujita H, Fujishima H, Shimizu T, Sato T, Morii T, et al. Stromal cell-derived factor-1 is upregulated by dipeptidyl peptidase-4 inhibition and has protective roles in progressive diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 90(4): 783-796, 2016. doi: 10.1016/j.kint.2016.06.012.

21. Kim KW, Vallon-Eberhard A, Zigmond E, Farache J, Shezen E, Shakhar G, et al. In vivo structure/function and expression analysis of the CX3C chemokine fractalkine. *Blood*, 118(22): e156-167, 2011. doi: 10.1182/blood-2011-04-348946.
22. Cockwell P, Chakravorty SJ, Girdlestone J, Savage COS. Fractalkine expression in human renal inflammation. *J Pathol*, 196(1): 85-90, 2002. doi: 10.1002/path.1010.
23. Song KH, Park J, Park JH, Natarajan R, Ha H. Fractalkine and its receptor mediate extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy in mice. *Diabetologia*, 56: 1661–1669, 2013. doi: 10.1007/s00125-013-2907-z.
24. Chow FY, Nikolic-Paterson DJ, Ma FY, Ozols E, Rollins BJ, Tesch GH. Monocyte chemoattractant protein-1-induced tissue inflammation is critical for the development of renal injury but not type 2 diabetes in obese db/db mice. *Diabetologia*, 50(2): 471-480, 2007. doi: 10.1007/s00125-006-0497-8.
35. Garibotto G, Carta A, Picciotto D, Viazzi F, Verzola D. Toll-like receptor-4 signaling mediates inflammation and tissue injury in diabetic nephropathy. *J Nephrol*, 30(6): 719-727, 2017. doi: 10.1007/s40620-017-0432-8.
26. Kaifu K, Ueda S, Nakamura N, Matsui T, Yamada-Obara N, Ando R, et al. Advanced glycation end products evoke inflammatory reactions in proximal tubular cells via autocrine production of dipeptidyl peptidase-4. *Microvasc Res*, 120: 90-93, 2018. doi: 10.1016/j.mvr.2018.07.004.
27. Hao J, Ren L, Zhang L, Kong D, Hao L. Aldosterone-induced inflammatory response of mesangial cells via angiotension II receptors. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 16(4): 739-748, 2015. doi: 10.1177/1470320313519486.
28. Chen XW, Liu WT, Wang YX, Chen WJ, Li HY, Chen YH, et al. Cyclopropanyldehydrocostunolide LJ attenuates high glucose-induced podocyte injury by suppressing RANKL/RANK-mediated NF-kappaB and MAPK signaling pathways. *J Diabetes Complications*, 30(5): 760-769, 2016. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2016.03.013.
29. Wang J, Yan W, Peng X, Jiang Y, He L, Peng Y, et al. Functional Role of SUV39H1 in Human Renal Tubular Epithelial Cells Under High-glucose Ambiance. *Inflammation*, 41(1): 1-10, 2018. doi: 10.1007/s10753-017-0657-7.
30. Orellana JM, Kampe K, Schulze F, Sieber J, Jehle AW. Fetuin-A aggravates lipotoxicity in podocytes via interleukin-1 signaling. *Physiol Rep*, 5(10): e13287, 2017. doi: 10.14814/phy2.13287.
31. Perez-Gomez MV, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Zheng B, Martín-Cleary C, Ruiz-Ortega M, et al. Targeting inflammation in diabetic kidney disease: Early clinical trials. *Expert Opin Investig Drugs*, 25(9): 1045-1058, 2016. doi: 10.1080/13543784.2016.1196184.
32. Tuttle KR, Brosius FC, Adler SG, Kretzler M, Mehta RL, Tumlin JA, et al. JAK1/JAK2 inhibition by baricitinib in diabetic kidney disease: Results from a Phase 2

randomized controlled clinical trial. *Nephrol Dial Transplant*, 33(11): 1950-1959, 2018. doi: 10.1093/ndt/gfx377.

33. Tesch GH, Pullen N, Jesson MI, Schlerman FJ, Nikolic-Paterson DJ. Combined inhibition of CCR2 and ACE provides added protection against progression of diabetic nephropathy in *Nos3* deficient mice. *Am J Physiol Renal Physiol*, 317(6): F1439-F1449, 2019. doi: 10.1152/ajprenal.00340.2019.

34. Sayyed SG, Ryu M, Kulkarni OP, Schmid H, Lichtnekert J, Grüner S, et al. An orally active chemokine receptor CCR2 antagonist prevents glomerulosclerosis and renal failure in type 2 diabetes. *Kidney Int*, 80(1): 68-78, 2011. doi: 10.1038/ki.2011.102.

35. Gale JD, Gilbert S, Blumenthal S, Elliott T, Pergola PE, Goteti K, et al. Effect of PF-04634817, an Oral CCR2/5 Chemokine Receptor Antagonist, on Albuminuria in Adults with Overt Diabetic Nephropathy. *Kidney Int Rep*, 3(6): 1316-1327, 2018. doi: 10.1016/j.ekir.2018.07.010.

36. Montero RM, Bhargal G, Pusey CD, Frankel AH, Tam FHK. CCL18 synergises with high concentrations of glucose in stimulating fibronectin production in human renal tubuloe epithelial cells. *BMC Nephrol*, 17(1): 139, 2016. doi: 10.1186/s12882-016-0352-1.

37. Wang G, Lai FMN, Chow KM, Kwan BCH, Pang WF, Luk CCW, et al. Urinary mRNA levels of ELR-negative CXC chemokine ligand and extracellular matrix in diabetic nephropathy. *Diabetes Metab Res Rev*, 31(7): 699-706, 2015. doi: 10.1002/dmrr.2654.

38. Wong CK, Ho AW, Tong PC, Yeung CY, Kong AP, Lun SW, et al. Aberrant activation profile of cytokines and mitogen-activated protein kinases in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Clin Exp Immunol*, 149(1): 123-131, 2007. doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03389.x.

39. Tashiro K, Koyanagi I, Saitoh A, Shimizu A, Shike T, Ishiguro C, et al. Urinary levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukin-8 (IL-8), and renal injuries in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Clin Lab Anal*, 16(1): 1-4, 2002. doi: 10.1002/jcla.2057.

40. Higurashi M, Ohya Y, Joh K, Muraguchi M, Nishimura M, Terawaki H, Yagui K, et al. Increased urinary levels of CXCL5, CXCL8 and CXCL9 in patients with Type 2 diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications*, 23(3): 178-184, 2009. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2007.12.001.

41. Zhao L, Wu F, Jin L, Lu T, Yang L, Pan X, et al. Serum CXCL16 as a novel marker of renal injury in type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*, 9(1): e87786, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0087786.

42. Scurt FG, Menne J, Brandt S, Bernhardt A, Mertens PR, Haller H, et al. Systemic Inflammation Precedes Microalbuminuria in Diabetes. *Kidney Int Rep*, 4(10): 1373-1386, 2019. doi: 10.1016/j.ekir.2019.06.005.

43. Lee YH, Kim PK, Park SH, Kim DJ, Kim YG, Moon JY, et al. Urinary chemokine C-X-C motif ligand 16 and endostatin as predictors of tubulointerstitial fibrosis in patients with advanced diabetic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 36(2): 295-305, 2021. doi: 10.1093/ndt/gfz168.
44. Elewa U, Sanchez-Niño MD, Mahillo-Fernández I, Martin-Cleary C, Belen Sanz A, Perez-Gomez MV et al. Circulating CXCL16 in Diabetic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Re*, 41(5): 663-671, 2016. doi: 10.1159/000447935.
45. Kolseth IB, Reine TM, Parker K, Sudworth A, Witczak BJ, Jenssen TG, et al. Increased levels of inflammatory mediators and proinflammatory monocytes in patients with type I diabetes mellitus and nephropathy. *J Diabetes Complications*, 31(1): 245-252, 2017. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2016.06.029.
46. Cummings LAM, Clarke A, Sochett E, Daneman D, Cherney DZ, Reich HN, et al. Social Determinants of Health Are Associated with Markers of Renal Injury in Adolescents with Type 1 Diabetes. *J Pediatr*, 198: 247-253, 2018. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.03.030.
47. Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Cardiovasc Ther*, 30(1): 49-59, 2012. doi: 10.1111/j.1755-5922.2010.00218.x.
48. Kim MJ, Tam FWK. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. *Clin Chim Acta*, 412(23-24): 2022-2030, 2011. doi: 10.1016/j.cca.2011.07.023.
49. Schettini IVG, Faria DV, Nogueira LS, Otoni A, Simões e Silva AC, Rios DRA. Renin angiotensin system molecules and chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) in chronic kidney disease patients. *J Bras Nefrol*, 44(1): 19-25, 2022. doi: 10.1590/2175-8239-JBN-2021-0030.
50. Ho J, Wiebe C, Rush DN, Rigatto C, Storsley L, Karpinski M, et al. Increased urinary CCL2: Cr ratio at 6 months is associated with late renal allograft loss. *Transplantation*, 95(4): 595-602, 2013. doi: 10.1097/TP.0b013e31826690fd.
51. Dubiński B, Boratyńska M, Kopeć W, Szyber P, Patrzalek D, Klinger M. Activated cells in urine and monocyte chemotactic peptide-1 (MCP-1)—sensitive rejection markers in renal graft recipients. *Transpl Immunol*, 18(3): 203-207, 2008. doi: 10.1016/j.trim.2007.07.005.
52. Nadkarni GN, Rao V, Ismail-Beigi F, Fonseca VA, Shah SV, Simonson MS, et al. Association of Urinary Biomarkers of Inflammation, Injury, and Fibrosis with Renal Function Decline: The ACCORD Trial. *Clin J Am Soc Nephrol*, 11(8): 1343-1352, 2016. doi: 10.2215/CJN.12051115.