

## Análisis de biomarcadores de daño renal en pacientes mediante RT-PCR

### Analysis of Renal Injury Biomarkers in Patients Using RT-PCR

Andreina González-Morales<sup>1</sup>, Maricarmen Mendoza-Acosta<sup>1</sup>, Ariadna Paola Rodríguez-Rivas<sup>1</sup>, Fátima Tórnero-Gutiérrez<sup>2</sup>, Bernardo Franco<sup>2</sup>, José A. Martínez-Álvarez<sup>2</sup>, Felipe Padilla-Vaca<sup>2</sup>, Claudia Leticia Mendoza-Macías<sup>1\*</sup>, Fátima Berenice Ramírez Montiel<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas., Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

<sup>2</sup> Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.  
[fb.ramirez@ugto.mx](mailto:fb.ramirez@ugto.mx), [cl.mendoza@ugto.mx](mailto:cl.mendoza@ugto.mx)

## Resumen

La enfermedad renal crónica (ERC) constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, y su diagnóstico suele realizarse en etapas avanzadas, cuando la pérdida de la función renal ya es considerable. Ante esta problemática, se ha impulsado la búsqueda de biomarcadores moleculares que permitan la detección temprana del daño renal. En este estudio se exploró el uso de sedimento urinario como fuente de ARN para el análisis de expresión génica mediante RT-PCR, dada su accesibilidad, carácter no invasivo y el gran volumen disponible de muestra, lo cual representa una ventaja significativa frente a métodos tradicionales como la biopsia renal. Se analizaron muestras de orina provenientes de pacientes con diagnóstico de ERC y de controles sin enfermedad renal. Tras la obtención de ARN de buena calidad, se realizó la síntesis de ADNc y la posterior amplificación por PCR de los genes *PGC-1α*, *WSF1* y *CUBN*, previamente seleccionados mediante revisión bibliográfica y análisis bioinformático. Los resultados mostraron una disminución en la expresión de *PGC-1α* y *CUBN* en pacientes con ERC, mientras que *WSF1* se encontró sobreexpresado, en concordancia con procesos de disfunción mitocondrial, alteración de la reabsorción tubular y estrés celular crónico. Estos hallazgos preliminares respaldan la viabilidad del uso de orina como herramienta diagnóstica molecular en el contexto de enfermedad renal. Sin embargo, es necesario ampliar el tamaño de muestra, incorporar nuevos genes candidatos y aplicar análisis estadísticos robustos que validen su utilidad clínica. Esta línea de investigación busca contribuir al desarrollo de un panel de biomarcadores urinarios de aplicación temprana, particularmente en pacientes con factores de riesgo como diabetes mellitus o hipertensión arterial, permitiendo una intervención oportuna y mejorando el pronóstico.

**Palabras clave:** Daño renal; Biomarcadores urinarios; RT-PCR; Diagnóstico temprano.

## Enfermedad Renal

La enfermedad renal constituye un importante problema de salud pública creciente a nivel global. Según la Organización Panamericana de la Salud las enfermedades renales ocuparon en 2019 la octava causa de muerte en América. En México, se estima que entre 11 y 12 millones de personas la padecen, de las cuales entre el 1% y 3% se encuentra en etapa terminal, así mismo preocupa el aumento de casos en jóvenes sin antecedentes familiares, lo que apunta a una fuerte influencia ambiental y social (<https://www.paho.org/es/enlace/causas-principales-mortalidadaddiscapacidad>). En el estado de Guanajuato, en particular, se enfrenta una situación crítica en municipios como Dolores Hidalgo, debido a la exposición al arsénico en el agua, lo que ha significado un incremento en los casos de enfermedad renal y a su vez ha incrementado la lista de espera para trasplante renal en el estado a más de 1300 personas entre 15 y 50 años (<https://salud.guanajuato.gob.mx>).

Las enfermedades renales (ER) pueden presentarse de forma aguda o crónica, y sus manifestaciones clínicas varían desde síntomas inespecíficos hasta complicaciones severas. Los síntomas pueden ser específicos (hematuria, dolor lumbar) o inespecíficos (anemia, retraso en el crecimiento), presentándose de forma aguda o crónica (Levey *et al.*, 2013) (Figura 1). La Insuficiencia renal aguda (IRA) se clasifica en tres tipos fisiopatológicos: prerrenal, causada por hipoperfusión renal (p.ej. deshidratación, hipotensión), renal o parenquimatosa, donde hay un daño directo a estructuras del riñón, como glomérulos o túbulos, y postrenal u obstructiva la cual ocurre por un bloqueo en el flujo urinario, como cálculos renales o hipertrofia prostática

(Makris & Spanou, 2016). Por otro lado, la enfermedad renal crónica se caracteriza por una pérdida progresiva e irreversible de la función renal, asociada frecuentemente con diabetes mellitus, hipertensión arterial, glomerulopatías y nefropatías hereditarias (Levey *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2004).

A nivel fisiopatológico, la enfermedad renal crónica (ERC) implica una pérdida de nefronas funcionales que genera una sobrecarga en las restantes, activación de citocina proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  (Ramesh & Reeves, 2004) que a su vez inducen estrés oxidativo (Lee *et al.*, 2024) y activación de las vías de fibrosis mediadas por TGF- $\beta$  (Gekle *et al.*, 2003; Lv *et al.*, 2018). Estos procesos afectan a proteínas claves en la fisiología renal como la Cubilina (codificada por el gen *CUBN*) y la Megalina (codificada por el gen *LRP-2*) y en conjunto están involucradas en la endocitosis de proteínas plasmática en el túbulo proximal. Mutaciones o disfunciones en LRP2 también llevan a la pérdida de proteínas por orina y alteración en la reabsorción tubular (Gekle *et al.*, 2003; Nielsen *et al.*, 2016; Christensen & Nielsen, 2006). También se ve afectada la Wolframina (codificada por el gen *WSF-1*), la cual está implicada en la homeostasis del retículo endoplásmico, alterándose en condiciones de estrés celular cuya deficiencia puede desencadenar apoptosis de células renales (Franceschini *et al.*, 2012; Padilla-Martínez *et al.*, 2021). La proteína PGC-1 $\alpha$  se encuentra en niveles reducidos en muestras de tejido renal afectado, y es un regulador de la biogénesis mitocondrial, cuya disfunción está asociada con la enfermedad renal crónica (Tran *et al.*, 2011).

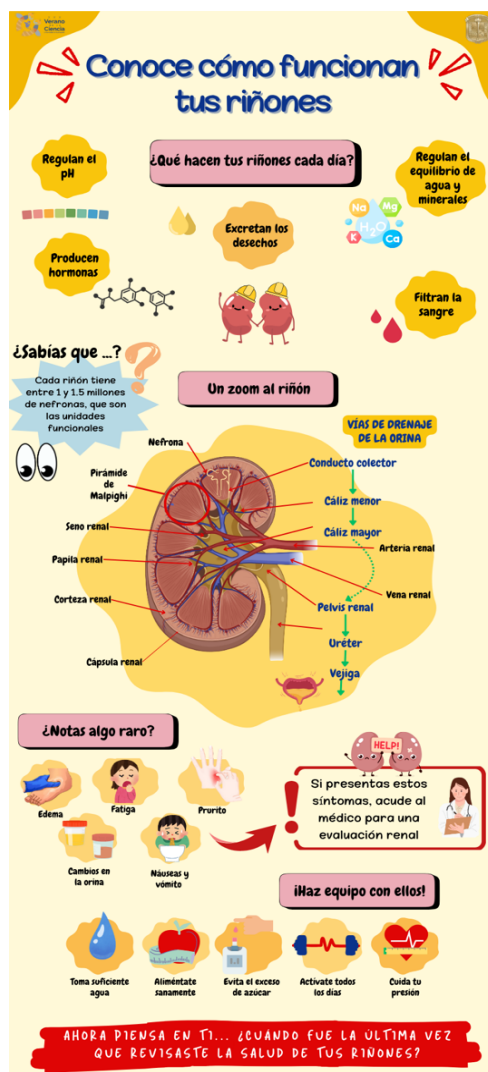


Figura 1. Infografía sobre el funcionamiento del riñón y la salud renal.  
Fuente: Diseño de los autores.

## Diagnóstico de la Enfermedad Renal

Actualmente el diagnóstico de la enfermedad renal se basa principalmente en la tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) y en la proteinuria (López-Heydeck *et al.*, 2018.), siendo uno de los principales indicadores clínicos de la función renal. Disminución en la tasa de filtración glomerular se correlaciona directamente con la progresión del daño renal. Sin embargo, estos métodos solo detectan el daño cuando ya se ha perdido más del 50% de la función renal (Grubb, 2010). De acuerdo con el Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y Renales, se dice que una persona tiene insuficiencia renal si la función de este órgano disminuye a menos de un 15% del valor normal. Todas estas limitaciones han impulsado la búsqueda de biomarcadores moleculares que permitan detectar daño en etapas tempranas que permitan mejorar el pronóstico de los pacientes.

La aplicación de herramientas moleculares, como la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) ha demostrado sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de diversas patologías (Farfán, 2015). Su uso en muestras no invasivas como la orina podría revolucionar el cómo se diagnostican y tratan las ER. El uso de muestras no invasivas como la orina facilita la implementación de pruebas moleculares en la práctica clínica. El sedimento urinario contiene material genético que permite estudiar la expresión de genes asociados al daño renal temprano, incluso antes de alteraciones clínicas evidentes (Hilhorst *et al.*, 2013; Cao *et al.*, 2018) (Figura 2).



Figura 2. Infografía sobre el diagnóstico molecular aplicado en la detección de enfermedades renales.  
Fuente: Diseño de los autores.

Como parte del diseño metodológico, se realizó una revisión bibliográfica y bioinformática con el objetivo de identificar genes con potencial diagnóstico en etapas tempranas de daño renal. Se priorizaron aquellos relacionados con procesos fisiopatológicos clave como la reabsorción tubular, el estrés celular, la inflamación crónica y la disfunción mitocondrial. Para ello, se consultaron fuentes científicas indexadas en PubMed y bases de datos especializadas como Nephroseq, que permiten explorar perfiles de expresión génica diferencial en tejidos renales sanos y patológicos. Esta estrategia integradora fortaleció la justificación de los genes seleccionados como posibles biomarcadores urinarios para el diagnóstico temprano de enfermedad renal crónica. En la siguiente tabla se resumen los genes seleccionados, su función fisiológica y las fuentes que respaldan su relevancia clínica:

**Tabla 1.** Genes candidatos para el análisis de expresión en sedimento urinario y su relación con el daño renal.

| GEN                             | FUNCIÓN                                                                                                                                                                              | REFERENCIA                                                                                      |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CUBN</b>                     | Codifica la Cubilina, una proteína endocítica del túbulo proximal que impide la pérdida urinaria de albúmina, ApoA1, hemoglobina y mioglobina.                                       | <a href="https://www.nephroseq.org">https://www.nephroseq.org</a>                               |
| <b>LRP2</b>                     | Codifica Megalina, un receptor multiligando que colabora con Cubilina en la reabsorción de proteínas en el túbulo proximal. Su disminución se asocia con proteinuria y daño tubular. | Christensen & Gburek, 2004; Motoyoshi <i>et al.</i> , 2008.                                     |
| <b>WSF1</b>                     | Codifica la Wolframina, una proteína del retículo endoplásmico asociada con estrés celular y alteración de la filtración glomerular.                                                 | Franceschini <i>et al.</i> , 2012; Padilla-Martínez & Wojciechowska <i>et al.</i> , 2021.       |
| <b>PGC-1<math>\alpha</math></b> | Regulador maestro de la biogénesis mitocondrial. Su expresión se incrementa en nefropatía y disfunción energética de células renales.                                                | Padilla-Martínez & Wojciechowska <i>et al.</i> , 2021                                           |
| <b>B2M</b>                      | Codifica la B2-microglobulina, componente del MHC-I. Elevada en orina ante disfunción tubular o inflamación crónica.                                                                 | Donadio <i>et al.</i> , 2001; <a href="https://www.nephroseq.org">https://www.nephroseq.org</a> |
| <b>LCN2</b>                     | Codifica la Lipocalina-2 (NGAL), biomarcador temprano de daño tubular. Se eleva en orina y suero ante lesión renal aguda.                                                            | Mishra <i>et al.</i> , 2003; Bolignano <i>et al.</i> , 2008.                                    |

A partir del análisis de los genes candidatos, se diseñaron oligonucleótidos específicos para PCR punto final, considerando criterios de especificidad, longitud y estabilidad. Los oligos generados tienen una longitud promedio de 20 pares de bases, una temperatura de alineamiento (Tm) entre 55 y 60 °C, y fueron seleccionados para evitar la formación de estructuras secundarias como dímeros o bucles en horquilla. El diseño se llevó a cabo mediante la herramienta OligoPerfect™ Designer (Thermo Fisher Scientific), lo que garantiza su adecuación para futuras aplicaciones en análisis de expresión génica a partir de sedimento urinario.

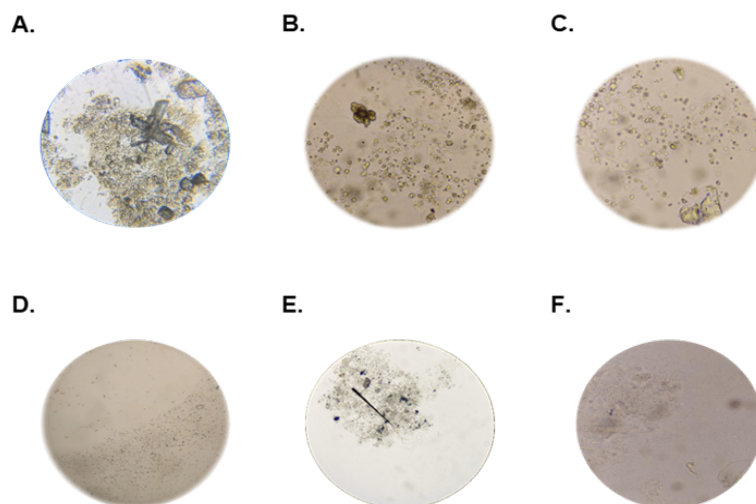
## Obtención de muestras clínicas y caracterización inicial

Se obtuvieron un total de seis muestras clínicas de orina: tres de ellas provenientes de pacientes con diagnóstico confirmado de enfermedad renal crónica (ERC) y tres controles negativos, correspondientes a personas sin evidencia clínica de disfunción renal. Las muestras fueron proporcionadas por el Hospital General de Silao, proyecto con el número de registro INVHGS-2025-01, la aprobación del Comité de Ética (COBIOÉTICA-11-CEI-001-20200206) y la aprobación de la Comisión de Investigación, Vinculación y Extensión del Consejo Divisional de Ciencias Naturales y Exactas.

Previo al análisis molecular, todas las muestras fueron sometidas a un examen general de orina (EGO) para su caracterización inicial. En los pacientes con ERC se detectó proteinuria moderada y presencia de microalbúmina en el análisis químico, mientras que en los individuos control estos parámetros fueron negativos (Tabla 2). El examen microscópico del sedimento reveló la presencia de cristales en 4 de las 6 muestras analizadas. Las observaciones microscópicas fueron documentadas mediante registro fotográfico, lo que permitirá correlacionar las alteraciones morfológicas con los perfiles de expresión génica en análisis posteriores (Figura 3).

**Tabla 2.** Resultados del examen general de orina (EGO) en las muestras analizadas.

| MUESTRA    | DIAGNÓSTICO    | PROTEINURIA | MICROALBÚMINA | CRISTALES EN SEDIMENTO                     |
|------------|----------------|-------------|---------------|--------------------------------------------|
| PACIENTE 1 | ERC            | PRESENTE    | SI            | Moderados; cristales de fosfato triple     |
| PACIENTE 2 | ERC            | PRESENTE    | SI            | Abundantes; cristales de oxalato de calcio |
| PACIENTE 3 | ERC            | PRESENTE    | SI            | Abundantes; cristales de oxalato de calcio |
| CONTROL 1  | SIN ENFERMEDAD | AUSENTE     | -             |                                            |
| CONTROL 2  | SIN ENFERMEDAD | AUSENTE     | -             |                                            |
| CONTROL 3  | SIN ENFERMEDAD | AUSENTE     | -             | -                                          |



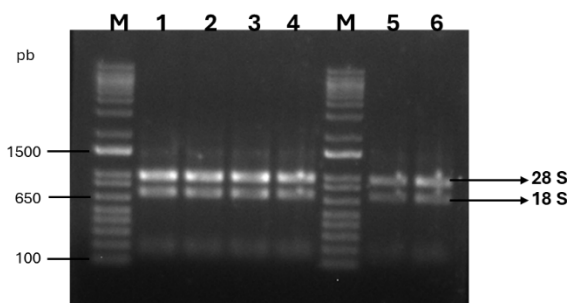
**Figura 3.** Microfotografías representativas de sedimento urinario observadas al microscopio óptico. Las imágenes A-C corresponden a pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), mientras que las imágenes D-F pertenecen a controles sanos. Se observa una mayor presencia de estructuras celulares y cristales en los pacientes con ERC, en comparación con los controles.

## Análisis de la expresión génica en sedimento urinario de pacientes con enfermedad renal crónica

Para la obtención del RNA total se empleó el sedimento urinario de pacientes con enfermedad renal crónica y controles sanos. La recolección de orina constituye una alternativa no invasiva, accesible y de bajo costo, que permite disponer de grandes volúmenes de muestra, lo cual representa una ventaja significativa para estudios moleculares.

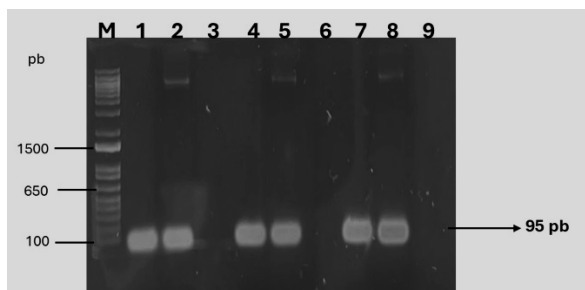
La extracción del RNA se realizó mediante el método con TRIzol®, con ajustes progresivos en las condiciones de centrifugado y purificación, tras varios intentos iniciales en los que se obtuvo RNA de baja integridad o degradado. Finalmente, se logró aislar RNA de buena calidad, adecuado para la síntesis de cDNA y posterior amplificación por PCR, como se observa en la Figura 3, donde se muestran las bandas correspondientes al ARN ribosomal 18S y 28S.

Estos resultados confirman que es factible obtener ARN de calidad a partir de orina, abriendo la posibilidad de utilizar este tipo de muestra para estudios de expresión génica asociados a daño renal, sin recurrir a procedimientos invasivos como biopsias.



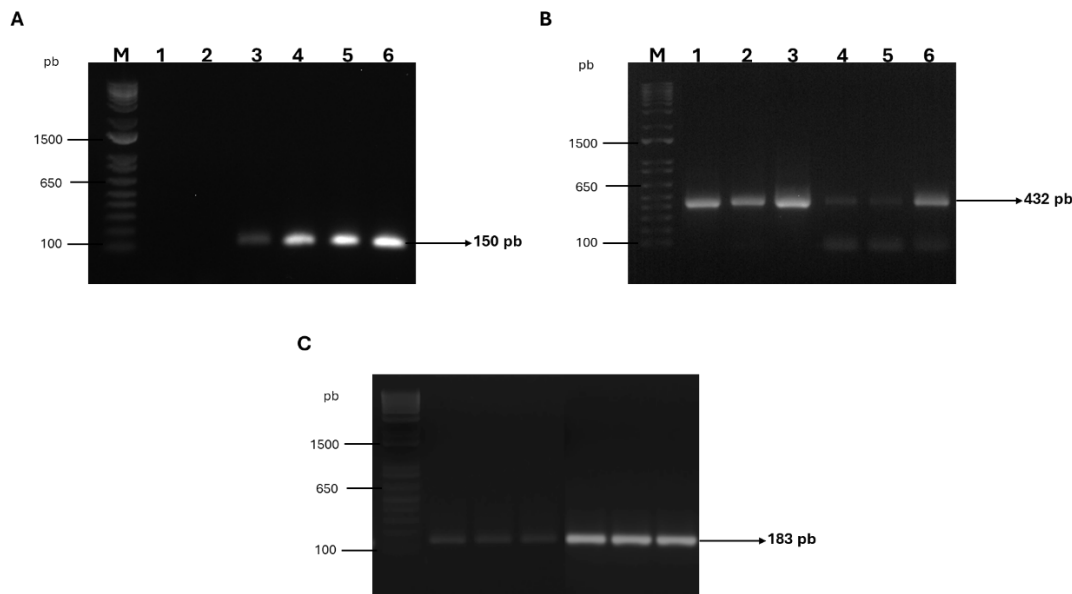
**Figura 4.** Análisis de calidad del ARN total extraído del sedimento urinario de pacientes con y sin enfermedad renal crónica, mediante electroforesis en gel de agarosa. Se observan las bandas correspondientes a los ARN ribosomales 28S y 18S, indicativas de integridad del ARN. M: marcador de peso molecular. Carriles 1 a 3: muestras de pacientes con diagnóstico de ERC. Carriles 4 a 6: muestras de pacientes considerados controles sanos.

Posteriormente, se verificó que el RNA estaba libre de DNA genómico mediante PCR usando el RNA como templado para amplificar un fragmento del gen constitutivo *GAPDH*. No se obtuvo amplificación indicando que está libre de ADN genómico (datos no mostrados). Posteriormente se sintetizó el ADNc usando transcriptasa reversa. Para evaluar la calidad del ADNc sintetizado se realizó una PCR para amplificar un fragmento del gen *GAPDH*. En la figura 4 se observa el amplicón de 95 pb correspondiente al gen *GAPDH*, indicando que el cDNA sintetizado es de buena calidad.



**Figura 5.** Reacción de PCR para el gen constitutivo *GAPDH*. Se observa una amplificación exitosa en todas las muestras positivas, con bandas de intensidad similar, lo que indica una retrotranscripción eficiente y una cantidad comparable de ARN inicial. M. Marcador de peso molecular. Carril 1: paciente 1 con ERC; Carril 2: control sano; Carril 3: control negativo; Carril 4: paciente 2 con ERC; Carril 5: control sano; Carril 6: control negativo; Carril 7: paciente 3 con ERC; Carril 8: control sano; Carril 9: control negativo.

Se realizó la evaluación de la expresión de los genes *PGC-1 $\alpha$* , *WSF1* y *CUBN* mediante PCR convencional a partir de cDNA obtenido del sedimento urinario de pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) y controles sanos. En la Figura 5 se muestran los productos de amplificación correspondientes, en donde los carriles 1 a 3 representan muestras de pacientes con ERC y los carriles 4 a 6 corresponden a controles sin diagnóstico de enfermedad renal.



**Figura 6.** Análisis de la expresión de genes asociados a daño renal en muestras de sedimento urinario mediante PCR. Se muestran los productos de amplificación de cDNA correspondientes a los genes: A. *PGC-1α* (panel superior izquierdo), B. *WSF1* (panel superior derecho) y C. *CUBN* (panel inferior). En todos los casos, los carriles corresponden a: M: marcador de peso molecular; 1-3: pacientes con enfermedad renal crónica; 4-6: controles sanos.

Los resultados muestran para el gen *PGC-1α*, regulador clave de la biogénesis mitocondrial y del metabolismo energético celular, una ausencia de bandas visibles en las muestras de pacientes con ERC, mientras que los controles presentaron amplificación consistente. Este resultado es compatible con estudios previos que indican una disminución en la expresión de *PGC-1α* en condiciones de disfunción mitocondrial asociada a daño renal crónico. En contraste, el gen *WSF1*, relacionado con la respuesta al estrés del retículo endoplásmico y alteraciones glomerulares, mostró una mayor intensidad de bandas en los pacientes con ERC respecto a los controles, lo cual sugiere una sobreexpresión de este marcador ante condiciones de estrés celular persistente. Finalmente, para el gen *CUBN*, que codifica la proteína cubilina involucrada en la reabsorción de proteínas en el túbulo proximal, se observó una disminución en la intensidad de las bandas en pacientes con ERC en comparación con los controles sanos. Este hallazgo coincide con el conocimiento actual que relaciona la disminución de la expresión de *CUBN* con la pérdida de función tubular y la presencia de proteinuria.

En conjunto, estos resultados preliminares son consistentes con lo reportado en la literatura y respaldan el uso potencial de estos genes como biomarcadores de daño renal, se planea usarlo en etapas tempranas o moderadas, al reflejar alteraciones fisiopatológicas clave en la función tubular y la homeostasis celular. No obstante, es necesario ampliar el número de muestras tanto de pacientes como de controles, así como evaluar otros genes candidatos con base en análisis bioinformáticos y reportes previos (como *LRP2*, *B2M* y *LCN2*, entre otros) para robustecer la evidencia. Además, se requiere incorporar herramientas estadísticas que permitan validar la significancia de las diferencias observadas. A futuro, estos esfuerzos podrían contribuir al desarrollo de un panel molecular de diagnóstico temprano, particularmente útil en pacientes con factores de riesgo como hipertensión arterial o diabetes mellitus, facilitando la identificación oportuna de daño renal subclínico.

## Conclusiones

- La orina, al ser una muestra no invasiva, abundante y de fácil recolección, representa una alternativa viable para el análisis de expresión génica en el contexto del daño renal. En este estudio, se logró obtener ARN de buena calidad a partir del sedimento urinario, lo que permitió amplificar genes mediante RT-PCR y detectar diferencias en su expresión entre pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) y controles sanos.

- Los resultados mostraron una disminución en la expresión de *PGC-1α* y *CUBN*, así como una sobreexpresión de *WSF1* en pacientes con ERC, hallazgos que se alinean con los mecanismos fisiopatológicos asociados a la enfermedad. Estos datos preliminares respaldan el potencial uso de estos genes como biomarcadores urinarios de daño renal. No obstante, se requiere ampliar el tamaño de muestra, analizar nuevos genes candidatos e incorporar herramientas estadísticas que permitan validar su utilidad diagnóstica.

## Bibliografía/Referencias

- Bolignano, D., Donato, V., Coppolino, G., Campo, S., Buemi, A., Lacquaniti, A. & Buemi, M. (2008). Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL) como marcador de daño renal. *Revista estadounidense de enfermedades renales*, 52 (3), 595-605.
- Cao, H., Wu, J., Luo, J., Chen, X., Yang, J., & Fang, L. (2019). Urinary mitochondrial DNA: A potential early biomarker of diabetic nephropathy. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 35(4), e3131.
- Christensen, E. I., & Gburek, J. (2004). Protein reabsorption in renal proximal tubule—function and dysfunction in kidney pathophysiology. *Pediatric nephrology*, 19(7), 714-721.
- Christensen, E. I., & Nielsen, R. (2006). Role of megalin and cubilin in renal physiology and pathophysiology. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 1-22.
- Donadio, C., Lucchesi, A., Ardini, M., & Giordani, R. (2001). Cystatin C, β2-microglobulin, and retinol-binding protein as indicators of glomerular filtration rate: comparison with plasma creatinine. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 24(5-6), 835-842.
- Farfán, B. M. J. (2015). Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 26(6), 788-793.
- Franceschini, N., Shara, N. M., Wang, H., Voruganti, V. S., Laston, S., Haack, K., ... & Umans, J. G. (2012). Asociación de variantes genéticas de la diabetes tipo 2 con la función renal. *Kidney International*, 82 (2), 220-225.
- Gekle, M., Knaus, P., Nielsen, R., Mildenberger, S., Freudinger, R., Wohlfarth, V., ... & Christensen, E. I. (2003). Transforming growth factor-β1 reduces megalin-and cubilin-mediated endocytosis of albumin in proximal-tubule-derived opossum kidney cells. *The Journal of Physiology*, 552(2), 471-481.
- Grubb, A. (2010). Non-invasive estimation of glomerular filtration rate (GFR). The Lund model: Simultaneous use of cystatin C-and creatinine-based GFR-prediction equations, clinical data and an internal quality check. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 70(2), 65-70.
- Hilhorst, M., Theunissen, R., van Rie, H., van Paassen, P., & Tervaert, J. W. C. (2013). DNA extraction from long-term stored urine. *BMC nephrology*, 14(1), 238.
- Johnson, C. A., Levey, A. S., Coresh, J., Levin, A., Lau, J., & Eknoyan, G. (2004). Guías de práctica clínica para la enfermedad renal crónica en adultos: Parte I. Definición, estadios de la enfermedad, evaluación, tratamiento y factores de riesgo. *American Family Physician*, 70 (5), 869-876.
- Lee, O. Y. A., Wong, A. N. N., Ho, C. Y., Tse, K. W., Chan, A. Z., Leung, G. P. H., ... & Yeung, M. H. Y. (2024). Potentials of natural antioxidants in reducing inflammation and oxidative stress in chronic kidney disease. *Antioxidants*, 13(6), 751.
- Levey, A. S., Coresh, J., Bolton, K., Culleton, B., Harvey, K. S., Ikizler, T. A., ... & Briggs, J. (2002). K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American Journal of Kidney Diseases*, 39(2 SUPPL. 1), i-ii+.
- Levey, A. S., Levin, A. & Kellum, J. A. (2013). Definición y clasificación de las enfermedades renales. *American Journal of Kidney Diseases*, 61 (5), 686-688.
- López-Heydeck, S. M., López-Arriaga, J. A., Montenegro-Morales, L. P., Cerecero-Aguirre, P., & de Anda, G. F. V. (2018). Laboratory analyses for early diagnosis of chronic kidney disease. *Revista Mexicana de Urología*, 78(1), 73-90.
- Lv, W., Booz, G. W., Fan, F., Wang, Y., & Roman, R. J. (2018). Oxidative stress and renal fibrosis: recent insights for the development of novel therapeutic strategies. *Frontiers in Physiology*, 9, 105.

- Makris, K., & Spanou, L. (2016). Acute kidney injury: definition, pathophysiology and clinical phenotypes. *The clinical biochemist reviews*, 37(2), 85.
- Mishra, J., Ma, Q., Prada, A., Mitsnefes, M., Zahedi, K., Yang, J., ... & Devarajan, P. (2003). Identificación de la lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos como un nuevo biomarcador urinario temprano de lesión renal isquémica. *Revista de la Sociedad Americana de Nefrología*, 14(10), 2534-2543.
- Motoyoshi, Y., Matsusaka, T., Saito, A., Pastan, I., Willnow, T. E., Mizutani, S., & Ichikawa, I. (2008). Megalin contributes to the early injury of proximal tubule cells during nonselective proteinuria. *Kidney international*, 74(10), 1262-1269.
- Nielsen, R., Christensen, E. I., & Birn, H. (2016). Megalin and cubilin in proximal tubule protein reabsorption: from experimental models to human disease. *Kidney International*, 89(1), 58-67.
- Padilla-Martinez, F., Wojciechowska, G., Szczerbinski, L., & Kretowski, A. (2021). Circulating nucleic acid-based biomarkers of type 2 diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 295.
- Ramesh, G., & Reeves, W. B. (2004). Citocinas inflamatorias en la insuficiencia renal aguda. *Kidney International*, 66, S56-S61.
- Tran, M., Tam, D., Bardia, A., Bhasin, M., Rowe, G. C., Kher, A., ... & Parikh, S. M. (2011). PGC-1 $\alpha$  promotes recovery after acute kidney injury during systemic inflammation in mice. *The Journal of clinical investigation*, 121(10).