JESSICA SANTIAGO DA SILVA

EFEITO DA ENDOTELINA 1 NA ATIVIDADE DO
TROCADOR Na^+/H^+ EM CÉLULAS DO TÚBULO
PROXIMAL RENAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Profa. Dra. Maria Oliveira de Souza

Versão corrigida. A versão original eletrônica, encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

São Paulo
2017

RESUMO

SILVA, J. S. **Efeito da endotelina 1 na atividade do trocador Na^+/H^+ em células do túbulo proximal renal**. 2017.76 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Endotelina 1 (ET-1) é a principal isoforma da família das endotelinas e um dos mais potentes polipeptídeos vasoativos. O rim é tanto um órgão-alvo como a principal fonte de produção de ET-1. Um dos papéis fisiológicos importante desse peptídeo é a regulação da excreção de Na^+ e água pelo rim, órgão que expressa os receptores para endotelinas, ETA e ETB, além dos trocadores N^+/H^+ NHE1 e NHE3 que são essenciais para o equilíbrio ácido base e hidroeletrolítico das células. As ações de ET-1 no túbulo proximal renal não são claras. Alguns estudos relatam que o efeito de ET-1 nesse segmento do néfron depende de suas concentrações. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar, em células IRPTC, o papel de ET-1, via receptores ETA e ETB, na atividade dos trocadores NHE1 e NHE3, e os eventos intracelulares associados à atividade destes trocadores nesta condição. Nossos resultados indicam que o tratamento agudo com ET-1, em concentrações suprafisiológicas, aumenta a velocidade de recuperação do pH_i (dpH_i/dt) nos dois primeiros minutos após o pulso ácido, sugerindo aumento na atividade dos trocadores NHE1 e NHE3. Este aumento da atividade ocorre via ativação dos receptores ETA e ETB e parece ser secundária à atividade da p90^{Rsk} e da p38MAPK. O tratamento crônico com ET-1, nas mesmas concentrações, não altera a expressão da p38 MAPK e reduz, via ETA e ETB, a velocidade de recuperação do pH_i (dpH_i/dt) nos dois primeiros minutos após o pulso ácido, o que sugere redução na atividade dos trocadores NHE1 e NHE3.

Palavras-chave: Endotelina 1. Túbulo proximal renal. Trocador Na^+/H^+ .

ABSTRACT

SILVA, J. S. **Effect of endothelin 1 on Na^+/H^+ exchanger activity in renal proximal tubule cells.** 2017. 76 p. Masters thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Endothelin 1 (ET-1) is the major isoform of the endothelin family and one of the most potent vasoactive polypeptides. The kidney is both a target organ and the main source of ET-1 production. One of the important physiological roles of this peptide is the regulation of excretion of Na^+ and water by the kidney, an organ that expresses the receptors for endothelins, ETA and ETB, in addition to the Na^+/H^+ NHE1 and NHE3 exchanger that are essential for the base acid and hydroelectrolytic balance of cells. The actions of ET-1 in the proximal renal tubule are not clear. Some studies report that the effect of ET-1 on this segment of the nephron depends on its concentrations. Thus, the objective of this study was to investigate the role of ET-1, via ETA and ETB receptors, in the activity of the NHE1 and NHE3 exchanger, and the intracellular events associated with the activity of these exchanger exchangers in this condition. Our results indicate that acute treatment with ET-1 at supraphysiological concentrations increases the rate of recovery of pHi (dpHi/dt) in the first two minutes after the acid pulse, suggesting an increase in the activity of NHE1 and NHE3 exchanger. This increase in activity occurs via activation of ETA and ETB receptors and appears to be secondary to the activity of p90RSk and p38MAPK. Chronic treatment with ET-1, at the same concentrations, did not alter the expression of p38 MAPK and reduced, by ETA and ETB, the pHi recovery rate (dpHi/dt) in the first two minutes after the acid pulse, suggesting reduction in the activity of the NHE1 and NHE3 exchanger.

Keywords: Endothelin 1. Renal proximal tubule. Na^+/H^+ exchanger.

1 INTRODUÇÃO

Os rins são órgãos constituídos essencialmente por unidades funcionais denominadas néfrons, que somam aproximadamente 2 milhões. Cada néfron é constituído por um glomérulo, responsável pelo processo de ultrafiltração do plasma, e uma porção tubular subdividida em segmentos específicos - túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e ducto coletor - cujas células epiteliais apresentam características e funções particulares. A porção tubular renal participa da transformação do filtrado glomerular em urina, secretando e reabsorvendo substâncias de acordo com as necessidades do organismo (BORON; BOULPAEP, 2005; SELDIN; GIEBISCH, 2000; ZHUO; LI, 2013). A **Figura 1** ilustra um néfron e destaca suas porções glomerular e tubular.

Figura 1 - Estruturas que compõem o néfron. Fonte: modificado de Frederic Coe, 2016.

Os rins recebem cerca de 20% do débito cardíaco e são os principais órgãos envolvidos no balanço hidroeletrólítico do organismo, bem como na manutenção da pressão arterial e do balanço ácido-base (CROWLEY; COFFMAN, 2007; KURTZ; GOLCHINI, 1987). Além disso, os rins também exercem importante papel endócrino,

sendo capazes de sintetizar diversos hormônios e compostos vasoativos como angiotensina II, endotelinas, prostaglandinas, óxido nítrico (NO) (TOUYZ; SCHIFFRIN, 2004), entre outros.

A homeostase hidroeletrolítica é fundamental para a manutenção da osmolaridade e volumes dos fluidos corporais, incluindo o volume do fluido extracelular (FEC). Nesse contexto, o íon sódio (Na^+) com seus ânions associados, cloreto (Cl^-) e bicarbonato (HCO_3^-), é o principal constituinte osmótico do volume do fluido extracelular. Os rins contribuem para a homeostase hidroeletrolítica do organismo por promover ajustes no transporte tubular de Na^+ , água e outras substâncias, culminando na formação de urina, principalmente pelos segmentos tubulares proximal e distal dos néfrons. No entanto, é bem reconhecido que, nesse contexto, os segmentos do túbulo proximal exercem um papel mais proeminente (PATRAKKA; TRYGGVASON, 2010; TOUYZ; SCHIFFRIN, 2004).

O túbulo proximal do néfron pode ser dividido em segmentos proximais convolutos e reto. Entretanto, com base em sua ultraestrutura, pode ser alternativamente subdividido em três segmentos: S1, S2 e S3. O segmento S1 tem início no glomérulo e inclui a primeira porção do túbulo proximal convoluto. O segmento S2 tem início na segunda metade do túbulo proximal convoluto e se estende até a primeira metade do túbulo proximal reto. Finalmente, o segmento S3 inclui a metade distal do túbulo proximal reto, que se estende até a medula (BORON; BOULPAEP, 2005; SELDIN; GIEBISCH, 2000; ZHUO; LI, 2013).

O túbulo proximal renal é revestido por um epitélio cúbico simples, no qual as células apresentam duas membranas com diferentes características de transporte e permeabilidades - a membrana apical, que separa a célula do lúmen tubular e a membrana basolateral, que limita a célula e o interstício. O epitélio do túbulo proximal é do tipo “*leaky*”, cujos complexos juncionais são superficiais e apresentam apenas poucos filamentos de proteínas de membrana, o que resulta em epitélio de baixa resistência elétrica e alta permeabilidade aos solutos. Tanto a membrana luminal como a basolateral de suas células são extensamente amplificadas. A membrana luminal possui vilosidades bem desenvolvidas na forma de borda em escova que aumenta a área da superfície luminal. Este aspecto relaciona-se com a principal função desse segmento do néfron – a reabsorção da maior parte do fluido filtrado e sua devolução para a circulação -. Por sua vez, as membranas basolaterais de células adjacentes do túbulo proximal formam numerosas interdigitações que possibilitam a presença abundante de

mitocôndrias em contato próximo com a membrana plasmática. As células do túbulo proximal contêm lisossomos, vacúolos endocíticos, um retículo endoplasmático bem desenvolvido e complexo de Golgi proeminente (BORON; BOULPAEP, 2005; BRENNER; RECTOR'S, 2016; SELDIN; GIEBISCH, 2000).

A diminuição progressiva da complexidade celular do segmento S1 para o segmento S3 está relacionada com o declínio gradual da taxa de reabsorção ao longo do túbulo. Dessa forma, as células exibem uma membrana de borda em escova progressivamente menos desenvolvida, interdigitações laterais menos complexas, uma área de membrana basolateral diminuída e uma redução no número de mitocôndrias. (BORON; BOULPAEP, 2005; BRENNER; RECTOR'S, 2016; SELDIN; GIEBISCH, 2000).

Há nos segmentos tubulares proximais, uma heterogeneidade na expressão e distribuição de enzimas biológicas, aminopeptidases, trocadores como Na^+ , K^+ -ATPase, NHE3 e $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$, bem como produtos orgânicos e glicose, diferentes receptores acoplados à proteína G e mecanismos de sinalização. Assim, o túbulo proximal é o principal sítio de reabsorção de solutos e água filtrados pelo glomérulo, reabsorvendo, em condição fisiológica, todas as moléculas orgânicas como glicose e aminoácidos e aproximadamente 67% do Na^+ e 80% do HCO_3^- filtrados. Há várias proteínas que participam dos processos de reabsorção e secreção através das células epiteliais do túbulo proximal, entre elas se destaca a família de trocadores Na^+/H^+ (NHE), cuja função é essencial para a homeostase hidroeletrolítica e o balanço ácido base intra e extracelular (KURTZ; GOLCHINI, 1987; OBERLEITHNER et al., 1990; SALEH; BATLLE, 1990; SCHUSTER et al., 1991).

1.1 Trocadores Na^+/H^+

Os trocadores Na^+/H^+ (NHE's) são proteínas integrais de membrana cuja principal função é trocar um próton intracelular por um íon Na^+ extracelular, normalmente explorando o gradiente do Na^+ direcionado para o interior das células, estabelecido pela atividade da Na^+ , K^+ -ATPase. Esta por sua vez, é uma proteína ubíqua, presente na membrana basolateral das células polarizadas, onde transporta três íons Na^+ para o exterior e dois íons K^+ para o interior dessas células contra o seu gradiente de concentração, utilizando, para isso, a energia proveniente da degradação do ATP (BRENNER; RECTOR'S, 2016; PARKER et al., 2015; SLEPKOV et al., 2007).

Por estarem envolvidos na atividade de fluxo de íons, os NHE's também regulam o pH intracelular (pH_i) e o volume celular (ARONSON et al., 1982; SLEPKOV et al., 2007). São conhecidas dez isoformas dos trocadores Na^+/H^+ , e em mamíferos, todas elas são eletroneutras, com estequiometria de $1\text{Na}^+:1\text{H}^+$. Porém, algumas diferenças são identificadas como resposta aos segundos mensageiros, sensibilidade ao Amiloride e distribuição tecidual (BOCANEGRA et al., 2014; GHOLAMI et al., 2013; HORITA et al., 2013; PARKER et al., 2015; SOLEIMAN et al., 2017).

Os NHE's são constituídos por doze domínios transmembranares, relativamente conservados entre as isoformas, localizados entre dois segmentos – N-terminal e C-terminal - (**Figura 2**). No segmento N-terminal, os sítios de translocação dos íons Na^+ e H^+ se encontram nos domínios transmembranares 4, 5, 8, 9 e 10 e, na face intracelular, há sítios de interação para H^+ , o que permite a ativação do NHE quando ocorre queda no pH_i . A porção C-terminal é citoplasmática regulatória e possui sítios de interação e fosforilação para várias proteínas sinalizadoras (ORLOWSKI; GRINSTEIN, 2004; SLEPKOV et al., 2007).

Figura 2 - Modelo do trocador Na^+/H^+ isoforma 1 (NHE1). Representação dos domínios transmembrânico e citoplasmático. Neste último, estão representados os sítios de interações com moléculas sinalizadoras. Fonte: modificado de Slepko et al., 2007.

Dentre as isoformas dos trocadores Na^+/H^+ , o NHE1 é uma das principais proteínas por manter a estabilidade do pH e volume intracelular. Já a isoforma 3 - NHE3 - é importante para a reabsorção de Na^+ , HCO_3^- e fluidos em células epiteliais do túbulo

proximal (PARKER et al., 2015; ZHUO; LI, 2013). É importante resaltar que os trocadores Na^+/H^+ são alvos de ação hormonal, visto que possuem sítios de fosforilação para proteína cinase A (PKA) e proteína cinase C (PKC) e p38 mitogen-activatedprotein kinase (p38MAPK)(FÉRAILLE; DOUCET, 2001) entre outras.

1.1.1 NHE1

É uma glicoproteína com 815 resíduos de aminoácidos e 90-110 kDa(SARDETet al., 1989), cujo domínio N-terminal (denominado unidade de transporte) é altamente sensível ao Amiloride e cujo domínio C-terminal (ou citoplasmático regulatório) apresenta grande sensibilidade para vários sinais extracelulares, incluindo fatores de crescimento, hormônios e alterações osmóticas (WAKABAYASHIet al., 1992). A isoforma NHE1 tem distribuição ubíqua em todas as células de vertebrados, sendo localizada, nas células de epitélios transportadores, preferencialmente na membrana basolateral(TSEet al., 1991). Assim, no rim, o NHE1 encontra-se na membrana basolateral de todas as células dos múltiplos segmentos do néfron(BIEMESDERFERet al., 1992; BIEMESDERFERet al., 1993).

Além da manutenção do pH_i , o NHE1 desempenha funções primordiais na regulação do volume intracelular, proliferação e diferenciação celular (GRINSTEINet al., 1989; NOEet al., 1996; PUTNEY; BARBER, 2003; TSEet al., 1991; TSEet al., 1992; WANGet al., 1997). Dependendo do tipo celular, o NHE1 também pode promover ou inibir a apoptose (morte celular programada) (KHALEDet al., 2001; RICHet al., 2000; WUet al., 2004). No entanto, os mecanismos pelos quais o NHE1 contribui para a sobrevivência celular ou apoptose não são bem conhecidos.

1.1.2 Regulação do NHE1

A maioria dos estudos investigam a importância do NHE1 nas células miocárdicas devido a sua contribuição para restaurar o pH_i durante episódios de acidose associada à morte celular (COCCARO et al., 2009; HAWORTH et al., 2003). No rim, não é diferente, uma vez que as células tubulares, por apresentarem metabolismo elevado, necessitam de mecanismos eficientes para regular o seu pH e produzir respostas adaptativas e/ou de reparo epitelial (KRAPFet al., 1991; MOEet al., 1991).

Os estudos realizados por Wakabayashi, Fliegel et al. e nosso grupo, têm discutido a importância do domínio regulatório citoplasmático do NHE1 no que se refere principalmente aos sítios de fosforilação por proteínas como a calmodulinacina

(CAMK), proteínas cinases ativadas por mitógenos (p38MAPK e MEK/Erk1/2), p90^{RSK}, entre outras (EGUTiet al., 2010; FLIEGEL, 2005; GRENIERet al., 2008;KHALED et al., 2001;WAKABAYASHIet al., 1994; WAKABAYASHIet al., 1997). Além disso, o NHE1, ao regular o volume e o pH_i, pode desempenhar um papel protetor importante, já que as células em apoptose apresentam como principais características a acidificação do citoplasma, necessária para a ativação de proteínas pró-apoptóticas como a caspase 3 (MATSUYAMAet al., 2000).

Considerando a ação hormonal, em estudos anteriores nosso grupo demonstrou que a angiotensina II e a arginina vasopressina em concentrações supra fisiológicas estimulam a atividade de NHE1 (COSTA-PESSOAet al., 2013b; OLIVEIRA-SOUZA; DE MELLO-AIRES, 2000; OLIVEIRA-SOUZA; MELLO-AIRES, 2001). No caso da angiotensina II, observamos a contribuição das vias p38MAPK e CaMKII (calmodulinacinase II) na estimulação de NHE1. No entanto, até o momento não se conhece a ação do hormônio endotelina -1 nesse processo.

1.1.3 NHE3

O NHE3 é uma proteína constituída de 834 resíduos de aminoácidos e possui peso molecular de aproximadamente 87 kDa. É abundantemente expresso na membrana luminal das células epiteliais do intestino e nos segmentos proximal e ramo ascendente espesso da alça de Henle do néfron(DONOWITZ; LI, 2007). Dentre os dez membros da família dos NHE's, a isoforma 3 (NHE3) é mais relevante para os túbulos proximais devido a sua expressão e localização únicas (ZHUO; LI, 2014).

No túbulo proximal renal, a atividade do NHE3 está acoplada à reabsorção de HCO₃⁻, visto que para cada H⁺ secretado nesse segmento, um HCO₃⁻ é formado no meio intracelular. Isto se deve ao fato de que na luz tubular a isoforma IV da anidrase carbônica (a.c. IV) catalisa a formação de OH⁻ e CO₂ a partir do HCO₃⁻ filtrado. Em seguida, o H⁺ secretado pelo NHE3 se une ao grupo OH⁻ formando H₂O. O CO₂ é um gás lipossolúvel, por isso pode difundir-se livremente pela membrana celular. Uma vez dentro da célula o CO₂ se une aos radicais OH⁻ formando o HCO₃⁻, reação catalisada pela anidrase carbônica II (a.c. II). Assim, para cada H⁺ secretado pelo NHE3 há o consumo de um HCO₃⁻ na luz tubular e formação de um HCO₃⁻ no meio intracelular, o que corresponde à reabsorção de HCO₃⁻. (**Figura 3**). A secreção de H⁺ associada à reabsorção de HCO₃⁻torna o NHE3 uma das proteínas importantes no balanço ácido

base (BORON; BOULPAEP, 2005; BRENNER; RECTOR'S, 2016; HAQUE et al., 2012; SELDIN; GIEBISCH, 2000).

Sob condições fisiológicas, o NHE3 pode trafegar das membranas plasmáticas para organelas intracelulares, principalmente endossomas de reciclagem. Esse tráfego desempenha um papel importante na regulação da reabsorção de Na^+ no túbulo proximal (ZHUO; LI, 2013).

Figura 3 - Esquema representativo da secreção de H^+ e reabsorção de HCO_3^- da célula do túbulo proximal. a.c., anidrase carbônica; ML, membrana luminal; MBL, membrana basolateral.

1.1.4 Regulação do NHE3

A atividade de NHE3 é regulada por vários fatores, incluindo a maioria dos hormônios que modulam as proteínas cinases e suas vias de sinalização intracelular (MOE, 1999). A regulação de NHE3 é complexa, visto que vários ajustes podem atuar simultaneamente e os fatores moduladores podem atuar via fosforilação, mudança de sua localização e/ou alterações funcionais nas proteínas de citoesqueleto que interagem com este trocador (DYNIA et al., 2010; LIU; JOSÉ, 2013; MCDONOUGH et al., 2010).

Os agentes que induzem aumento dos níveis de AMPc (adenosina monofosfato cíclico), consequentemente aumentam a atividade da PKA (proteína cinase dependente de AMP). A PKA por sua vez, fosforila o NHE3 nas serinas 552 e 605 e nessa condição o trocador é internalizado para compartimentos intracelulares (KOCISKY et al., 2007;

LIU; JOSE, 2013). Assim a PKA reduz a atividade de NHE3. Por outro lado, os agentes que induzem ativação da PLC (fosfolipase C) e consequente aumento da atividade de proteínas como as cinases C (PKC) ou p38MAK, parecem facilitar a inserção de vesículas contendo NHE3 na membrana celular. No entanto, a ação hormonal, nas vias de sinalização celular, responsáveis por este evento ainda não são claras.

Em conjunto, os dados da literatura apontam para uma contribuição do cálcio intracelular, p38MAPK e PKA na atividade de NHE1 e NHE3 e neste contexto, a endotelina1 pode desempenhar função importante na atividade desses trocadores, visto que é um peptídeo associado à função tubular renal e ativa várias vias de sinalização celular.

1.1.5 Na^+ , K^+ -ATPase

É importante ressaltar que todos os mecanismos transportadores de sódio descritos acima dependem da cinética da bomba de sódio, potássio ou Na^+ , K^+ -ATPase (**Figura 4**), inicialmente descrita por Skou em 1957 (SKOU, 1957). A Na^+ / K^+ -ATPase estabelece um gradiente químico transmembranade Na^+ e K^+ que é essencial para a regulação e manutenção do volume, osmolaridade e pH celular, do potencial de repouso da membrana celular e da energia necessária para os transportes ativos secundários de íons e nutrientes através da membrana (BLANCO; MERCER, 1998; BLAUSTEIN et al., 2012; KAPLAN, 1985). A Na^+ / K^+ -ATPase é composta por duas subunidades, α (α_1 - α_4) e β (β_1 - β_3) (BLANCO; WALLACE, 2013).

A subunidade α da Na^+ / K^+ -ATPase é catalítica e a subunidade β é uma chaperona responsável pela maturação e inserção dessa enzima na membrana plasmática (BLANCO; MERCER, 1998; BLANCO; WALLACE, 2013). Quando na forma ativa, esta enzima induz o influxo de 2 íons K^+ e o efluxo de 3 íons Na^+ com o gasto de energia liberada pela hidrólise de ATP. Dessa forma, ela participa da manutenção da diferença de potencial transmembranar, sendo assim, eletrogênica (BLANCO; MERCER, 1998).

O tecido renal expressa principalmente as subunidades α_1 , α_2 e β_1 da Na^+ / K^+ -ATPase, que se localiza nas membranas basolaterais das células, na proximidade de um grande número de mitocôndrias, e sua abundância se relaciona diretamente à capacidade de transporte de cada segmento tubular (GARG et al., 1981; SCHERZER et al., 2015). A Na^+ / K^+ -ATPase e os NHEs se apresentam como importantes sítios para a regulação

hormonal, visto que essas proteínas possuem sítios de fosforilação para proteína cinase A (PKA) e proteína cinase C (PKC), (FÉRAILLE; DOUCET, 2001) entre outras.

Figura 4 – Representação esquemática da relação entre o NHE e a $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ em células epiteliais renais. Fonte: Leite, 2011.

1.2 Endotelinas

As endotelinas (ETs) são peptídeos secretados essencialmente pelas células endoteliais e desempenham funções distintas no organismo, incluindo controle de tônus vascular e indução de estresse apoptótico (HICKEY ET AL., 1985; YANAGISAWA ET AL., 1988; WARREN; LIU, 2008). Inicialmente, as células endoteliais sintetizam a pré-pró-endotelina (**Figura 5**), molécula inativa e constituída por 212 aminoácidos (AA). Quando liberada na circulação sanguínea, a pré-pró-endotelina é clivada por endopeptidases (furina e convertase) e gera o peptídeo de 38 aminoácidos (pró-ET ou “*big endotelin*”) com baixa atividade vasoativa. A pró-ET sob a ação da enzima conversora de endotelina (ECE) gera a forma biologicamente ativa da endotelina, com apenas 21 aminoácidos (DHAUNet al., 2008; KOHANet al., 2011).

Figura 5 - Esquema representativo das vias de biossíntese da endotelina (ET). A pré-pró-endotelina é clivada pela ação de endopeptidases formando a pró-ET. Esta é clivada por diferentes enzimas conversoras de ET (ECEs) para gerar endotelinas. Adaptado de (Kohan *et al.*, 2011).

1.2.1 Endotelina 1

Dos três peptídeos, a endotelina 1 (ET-1) é a isoforma mais estudada devido a sua importância para o sistema cardiovascular e pode interagir com dois receptores específicos, o do tipo A (ETA) e o do tipo B (ETB), ambos acoplados à proteína G (ARAÍet al., 1990). No rim, a síntese de ET-1 ocorre nas células endoteliais vasculares, no mesângio, nas células epiteliais do túbulo proximal e dos segmentos mais distais do néfron (EMORIet al., 1991; KOHANet al., 2011; LERMANet al., 1991).

Os rins apresentam ampla distribuição dos receptores ETA e ETB (PRISCO et al., 1995). Os receptores do tipo ETA são expressos nas células da musculatura lisa das

artérias arqueadas, artérias interlobulares, arteríolas glomerulares, capilares glomerulares, mesângio e vasos retos, o que confere a importância da ET-1 no controle da hemodinâmica renal (KARET, 1996; KOHAN, 2010). Além disso, os segmentos do néfron incluindo o túbulo proximal, também expressam os receptores ETA (ZHANG et al., 2011). Os receptores do tipo ETB são expressos nos glomérulos (OWADA et al., 1994), células do túbulo proximal (LAGHMANI et al., 2005; LICHT et al., 2004; PREISIG, 2007; YANG et al., 2007) e no sistema de ductos coletores onde, sob efeito de ET-1, favorecem a natriurese em alguns modelos animais, por inibir o cotransportador $\text{Na}^+:\text{K}^+:2\text{Cl}$ (NKCC2) no segmento espesso da alça de Henle (PLATO et al., 2000) e o canal epitelial de sódio - ENaC no ducto coletor (KOHAN; PADILLA, 1993; KUC; DAVENPORT, 2004; NAMBI et al., 1995; WESSON, 2001).

As ações de ET-1 no túbulo proximal não são claras. Alguns estudos relatam que o efeito de ET-1 nesse segmento do néfron depende de suas concentrações. Em concentrações baixas (10^{-15} - 10^{-14} M) ET-1 induz aumento na reabsorção de Na^+ por ativar a Na^+,K^+ -ATPase e o NHE3 (SPEED et al., 2015; ZEIDEL et al., 1989). No entanto, em concentrações elevadas (10^{-12} - 10^{-9} M) ET-1 reduz a reabsorção de Na^+ por inibir a Na^+,K^+ -ATPase (EIAM-ONG et al., 1992; SPEED et al., 2015). Nesta última condição não se conhece a atividade do NHE3. Além disso, não há estudos sobre o efeito da ET-1 na regulação do pH_i via NHE1.

Até o momento, nenhuma investigação foi realizada a respeito do efeito da interação entre ET-1/ETA ou ET-1/ETB na atividade dos trocadores Na^+/H^+ NHE1 ou NHE3 no túbulo proximal, apesar da importância dessas proteínas na homeostase ácido-base e na regulação do volume do fluido extracelular.

6 CONCLUSÕES

Portanto, os nossos resultados indicam que nas células IRPTC, ET-1 em concentrações suprafisiológicas, aumenta a velocidade de recuperação do pH_i (dpH_i/dt) nos dois primeiros minutos após o pulso ácido, sugerindo aumento na atividade dos trocadores Na^+/H^+ , NHE1 e NHE3. Nessa condição, a atividade de NHE1 foi regulada pela p90^{RSK} e p38MAPK . O tratamento crônico com ET-1, nas mesmas concentrações, reduziu a velocidade de recuperação do pH_i (dpH_i/dt) nos dois primeiros minutos após o pulso ácido, o que sugere redução na atividade dos trocadores Na^+/H^+ , NHE1 ou NHE3. Esta redução na atividade dos trocadores Na^+/H^+ pode ser secundária à inibição da Na^+ , K^+ -ATPase por ET-1. Nossos dados também evidenciam que o aumento na atividade dos trocadores NHE1 e NHE3, induzido pelo tratamento agudo com ET-1, ocorre tanto via receptor ETA como via receptor ETB.

REFERÊNCIAS*

- ARAI, H. et al. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. **Nature**, v. 348, n. 6303, p. 730-732, Dec 20-27 1990. ISSN 0028-0836 (Print)0028-0836 (Linking). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/348730a0>>.
- ARONSON, P. S.; NEE, J.; SUHM, M. A. Modifier role of internal H⁺ in activating the Na⁺-H⁺ exchanger in renal microvillus membrane vesicles. **Nature**, v. 299, n. 5879, p. 161-163, Sep 1982. ISSN 0028-0836. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7110335>>.
- BIEMESDERFER, D. et al. NHE3: a Na⁺/H⁺ exchanger isoform of renal brush border. **Am J Physiol**, v. 265, n. 5 Pt 2, p. F736-742, Nov 1993. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8238556>>.
- _____. Immunocytochemical characterization of Na⁺-H⁺ exchanger isoform NHE-1 in rabbit kidney. **Am J Physiol**, v. 263, n. 5 Pt 2, p. F833-840, Nov 1992. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1279986>>.
- BLANCO, G.; MERCER, R. W. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. **Am J Physiol**, v. 275, n. 5 Pt 2, p. F633-650, Nov 1998. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9815123>>.
- BLANCO, G.; WALLACE, D. P. Novel role of ouabain as a cystogenic factor in autosomal dominant polycystic kidney disease. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 305, n. 6, p. F797-812, Sep 2013. ISSN 1522-1466. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23761677>>.
- BLAUSTEIN, M. P. et al. How NaCl raises blood pressure: a new paradigm for the pathogenesis of salt-dependent hypertension. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 302, n. 5, p. H1031-1049, Mar 2012. ISSN 1522-1539. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22058154>>.
- BOBULESCU, I. A.; DI SOLE, F.; MOE, O. W. Na⁺/H⁺ exchangers: physiology and link to hypertension and organ ischemia. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 14, n. 5, p.

*De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.
NBR 6023: informação e documentação: referências:
elaboração. Rio de Janeiro. 2002.

485-494, Sep 2005. ISSN 1062-4821. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16046909>>.

BOBULESCU, I. A.; MOE, O. W. Luminal Na⁺/H⁺ exchange in the proximal tubule.

Pflugers Arch, v. 458, n. 1, p. 5-21, May 2009. ISSN 1432-2013. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18853182>>.

CALA, P. M.; MALDONADO, H. M. pH regulatory Na/H exchange by Amphiuma red blood cells. **J Gen Physiol**, v. 103, n. 6, p. 1035-1053, Jun 1994. ISSN 0022-1295.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7931136>>.

CARRARO-LACROIX, L. R.; GIRARDI, A. C.; MALNIC, G. Long-term regulation of vacuolar H⁺-ATPase by angiotensin II in proximal tubule cells. **Pflugers Arch**, v. 458, n. 5, p. 969-979, Sep 2009. ISSN 1432-2013. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19396617>>.

COCCARO, E. et al. Phenylephrine and sustained acidosis activate the neonatal rat cardiomyocyte Na⁺/H⁺ exchanger through phosphorylation of amino acids Ser770 and Ser771. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 297, n. 2, p. H846-858, Aug 2009. ISSN 1522-1539. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19542484>>.

COSTA-PESSOA, J. M. et al. High Glucose Concentration Stimulates NHE-1 Activity in Distal Nephron Cells: the Role of the Mek/Erk1/2/p90 and p38MAPK Signaling Pathways. **Cell Physiol Biochem**, v. 33, n. 2, p. 333-343, Feb 2014. ISSN 1421-9778.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24557342>>.

_____. The regulation of NHE1 and NHE3 activity by angiotensin II is mediated by the activation of the angiotensin II type I receptor/phospholipase C/calcium/calmodulin pathway in distal nephron cells. **Eur J Pharmacol**, Sep 2013a. ISSN 1879-0712.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24076179>>.

_____. The regulation of NHE₁ and NHE₃ activity by angiotensin II is mediated by the activation of the angiotensin II type I receptor/phospholipase C/calcium/calmodulin pathway in distal nephron cells. **Eur J Pharmacol**, v. 721, n. 1-3, p. 322-331, Dec

2013b. ISSN 1879-0712. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24076179>>.

CROWLEY, S. D.; COFFMAN, T. M. In hypertension, the kidney rules. **Curr Hypertens Rep**, v. 9, n. 2, p. 148-153, Apr 2007. ISSN 1522-6417. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17442227>>.

DHAUN, N. et al. Role of endothelin-1 in clinical hypertension: 20 years on. In: (Ed.). **Hypertension**. United States, v.52, 2008. p.452-459. ISBN 1524-4563 (Electronic)0194-911X (Linking).

DONOWITZ, M.; LI, X. Regulatory binding partners and complexes of NHE3. In: (Ed.). **Physiol Rev**. United States, v.87, 2007. p.825-872. ISBN 0031-9333 (Print)0031-9333 (Linking).

EGUTI, D. M. et al. Regulation of Na⁺/H⁺ exchanger isoform 1 (NHE1) by calmodulin-binding sites: role of angiotensin II. In: (Ed.). **Cell Physiol Biochem**. Switzerland: Basel., v.26, 2010. p.541-552. ISBN 1421-9778 (Electronic)1015-8987 (Linking).

EIAM-ONG, S. et al. Endothelin-1 stimulates the Na⁺/H⁺ and Na⁺/HCO₃⁻ transporters in rabbit renal cortex. **Kidney Int**, v. 42, n. 1, p. 18-24, Jul 1992. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1321928>>.

EMORI, T. et al. Cellular mechanism of endothelin-1 release by angiotensin and vasopressin. **Hypertension**, v. 18, n. 2, p. 165-170, Aug 1991. ISSN 0194-911X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1909304>>.

FLIEGEL, L. The Na⁺/H⁺ exchanger isoform 1. In: (Ed.). **Int J Biochem Cell Biol**. England, v.37, 2005. p.33-37. ISBN 1357-2725 (Print)1357-2725 (Linking).

FÉRAILLE, E.; DOUCET, A. Sodium-potassium-adenosinetriphosphatase-dependent sodium transport in the kidney: hormonal control. **Physiol Rev**, v. 81, n. 1, p. 345-418,

Jan 2001. ISSN 0031-9333. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11152761>>.

GARG, L. C.; KNEPPER, M. A.; BURG, M. B. Mineralocorticoid effects on Na-K-ATPase in individual nephron segments. **Am J Physiol**, v. 240, n. 6, p. F536-544, Jun 1981. ISSN 0002-9513. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6264796>>.

GRENIER, A. L. et al. Apoptosis-induced alkalization by the Na⁺/H⁺ exchanger isoform 1 is mediated through phosphorylation of amino acids Ser726 and Ser729. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 295, n. 4, p. C883-896, Oct 2008. ISSN 0363-6143.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18701649>>.

GRINSTEIN, S.; ROTIN, D.; MASON, M. J. Na⁺/H⁺ exchange and growth factor-induced cytosolic pH changes. Role in cellular proliferation. **Biochim Biophys Acta**, v. 988, n. 1, p. 73-97, Jan 1989. ISSN 0006-3002. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2535787>>.

HAWORTH, R. S. et al. Stimulation of the plasma membrane Na⁺/H⁺ exchanger NHE1 by sustained intracellular acidosis. Evidence for a novel mechanism mediated by the ERK pathway. **J Biol Chem**, v. 278, n. 34, p. 31676-31684, Aug 2003. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12791686>>.

HICKEY, K. A. et al. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. **Am J Physiol**, v. 248, n. 5 Pt 1, p. C550-556, May 1985. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3993773>>.

KAPLAN, J. H. Ion movements through the sodium pump. **Annu Rev Physiol**, v. 47, p. 535-544, 1985. ISSN 0066-4278. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2581504>>.

KARET, F. E. Endothelin peptides and receptors in human kidney. **Clin Sci (Lond)**, v. 91, n. 3, p. 267-273, Sep 1996. ISSN 0143-5221. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8869408>>.

KHALED, A. R. et al. Trophic factor withdrawal: p38 mitogen-activated protein kinase activates NHE1, which induces intracellular alkalization. **Mol Cell Biol**, v. 21, n. 22, p. 7545-7557, Nov 2001. ISSN 0270-7306 (Print)0270-7306 (Linking). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/mcb.21.22.7545-7557.2001>>.

KOCINSKY, H. S., et al. NHE3 phosphorylation at serines 552 and 605 does not directly affect NHE3 activity. **Am J Physiol Renal Physiol**, 293, Apr 2007.

KOHAN, D. E. Endothelin, hypertension and chronic kidney disease: new insights. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 19, n. 2, p. 134-139, Mar 2010. ISSN 1535-3842 (Electronic)1062-4821 (Linking). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/MNH.0b013e328335f91f>>.

KOHAN, D. E.; PADILLA, E. Osmolar regulation of endothelin-1 production by rat inner medullary collecting duct. **J Clin Invest**, v. 91, n. 3, p. 1235-1240, Mar 1993. ISSN 0021-9738 (Print)0021-9738 (Linking). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1172/jci116286>>.

KOHAN, D. E. et al. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin. In: (Ed.). **Physiol Rev**. United States, v.91, 2011. p.1-77. ISBN 1522-1210 (Electronic)0031-9333 (Linking).

KRAPF, R. et al. Expression of rat renal Na/H antiporter mRNA levels in response to respiratory and metabolic acidosis. **J Clin Invest**, v. 87, n. 2, p. 747-751, Feb 1991. ISSN 0021-9738. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1846882>>.

KUC, R.; DAVENPORT, A. P. Comparison of endothelin-A and endothelin-B receptor distribution visualized by radioligand binding versus immunocytochemical localization using subtype selective antisera. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 44 Suppl 1, p. S224-226, Nov 2004. ISSN 1533-4023. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15838285>>.

KURTZ, I.; GOLCHINI, K. Na^+ -independent Cl^- - HCO_3^- - exchange in Madin-Darby canine kidney cells. Role in intracellular pH regulation. **J Biol Chem**, v. 262, n. 10, p. 4516-420, Apr 1987. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3558351>>.

LAGHMANI, K. et al. A consensus sequence in the endothelin-B receptor second intracellular loop is required for NHE3 activation by endothelin-1. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 288, n. 4, p. F732-739, Apr 2005. ISSN 1931-857X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15598844>>.

LERMAN, A. et al. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. **N Engl J Med**, v. 325, n. 14, p. 997-1001, Oct 1991. ISSN 0028-4793. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1886637>>.

LICHT, C. et al. An autocrine role for endothelin-1 in the regulation of proximal tubule NHE3. **Kidney Int**, v. 65, n. 4, p. 1320-1326, Apr 2004. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15086471>>.

LIU, T.; JOSE, P. Gastrin Induces Sodium-Hydrogen Exchanger 3 Phosphorylation and mTOR Activation via a Phosphoinositide 3-Kinase-/Protein Kinase C-Dependent but AKT-Independent Pathway in Renal Proximal Tubule Cells Derived From a Normotensive Male Human. **Endocrinology**. 154(2):865-875, Feb, 2013.

MATSUYAMA, S. et al. Changes in intramitochondrial and cytosolic pH: early events that modulate caspase activation during apoptosis. **Nat Cell Biol**, v. 2, n. 6, p. 318-325, Jun 2000. ISSN 1465-7392. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10854321>>.

MOE, O. W. Acute regulation of proximal tubule apical membrane Na^+/H^+ exchanger NHE-3: role of phosphorylation, protein trafficking, and regulatory factors. **J Am Soc Nephrol**, v. 10, n. 11, p. 2412-2425, Nov 1999. ISSN 1046-6673. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10541303>>.

MOE, O. W. et al. Differential regulation of Na^+/H^+ antiporter by acid in renal epithelial cells and fibroblasts. **J Clin Invest**, v. 88, n. 5, p. 1703-1708, Nov 1991. ISSN 0021-9738. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1658050>>.

NAMBI, P. et al. Identification of ETB receptor subtypes using linear and truncated analogs of ET. **Neuropeptides**, v. 29, n. 6, p. 331-336, Dec 1995. ISSN 0143-4179. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8837960>>.

NOEL, J.; ROUX, D.; POUYSSÉGUR, J. Differential localization of Na^+/H^+ exchanger isoforms (NHE1 and NHE3) in polarized epithelial cell lines. **J Cell Sci**, v. 109 (Pt 5), p. 929-39, May 1996. ISSN 0021-9533. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8743940>>.

OBERLEITHNER, H. et al. Madin-Darby canine kidney cells. II. Aldosterone stimulates Na^+/H^+ and $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange. **Pflugers Arch**, v. 416, n. 5, p. 533-539, Jul 1990. ISSN 0031-6768. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2172916>>.

OLIVEIRA-SOUZA, M.; DE MELLO-AIRES, M. Interaction of angiotensin II and atrial natriuretic peptide on pH_i regulation in MDCK cells. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 279, n. 5, p. F944-953, Nov 2000. ISSN 1931-857X (Print)1522-1466 (Linking). Disponível em: <<http://dx.doi.org/>>.

_____. Interaction of angiotensin II and atrial natriuretic peptide on pH_i regulation in MDCK cells. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 279, n. 5, p. F944-F953, NOV 2000 2000. ISSN 1931-857X.

OLIVEIRA-SOUZA, M.; MELLO-AIRES, M. Effect of arginine vasopressin and ANP on intracellular pH and cytosolic free $[\text{Ca}^{2+}]$ regulation in MDCK cells. **Kidney International**, v. 60, n. 5, p. 1800-1808, NOV 2001 2001. ISSN 0085-2538.

ORLOWSKI, J.; GRINSTEIN, S. Diversity of the mammalian sodium/proton exchanger SLC9 gene family. **Pflugers Arch**, v. 447, n. 5, p. 549-565, Feb 2004. ISSN

0031-6768 (Print)0031-6768 (Linking). Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1007/s00424-003-1110-3>>.

OWADA, A. et al. Endothelin (ET)-3 stimulates cyclic guanosine 3',5'-monophosphate production via ETB receptor by producing nitric oxide in isolated rat glomerulus, and in cultured rat mesangial cells. **J Clin Invest**, v. 93, n. 2, p. 556-563, Feb 1994. ISSN 0021-9738. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7509343>>.

PATRAKKA, J.; TRYGGVASON, K. Molecular make-up of the glomerular filtration barrier. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 396, n. 1, p. 164-169, May 2010. ISSN 1090-2104. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494132>>.

PLATO, C. F.; POLLOCK, D. M.; GARVIN, J. L. Endothelin inhibits thick ascending limb chloride flux via ET(B) receptor-mediated NO release. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 279, n. 2, p. F326-333, Aug 2000. ISSN 1931-857X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10919853>>.

PREISIG, P. A. The acid-activated signaling pathway: starting with Pyk2 and ending with increased NHE3 activity. **Kidney Int**, v. 72, n. 11, p. 1324-1329, Dec 2007. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17882150>>.

PRISCO, D. et al. Effect of n-3 fatty acid ethyl ester supplementation on fatty acid composition of the single platelet phospholipids and on platelet functions. **Metabolism**, v. 44, n. 5, p. 562-569, May 1995. ISSN 0026-0495. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7752902>>.

PUTNEY, L. K.; BARBER, D. L. Na^+/H^+ exchange-dependent increase in intracellular pH times G2/M entry and transition. **J Biol Chem**, v. 278, n. 45, p. 44645-44649, Nov 2003. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12947095>>.

RICH, I. N. et al. Apoptosis of leukemic cells accompanies reduction in intracellular pH after targeted inhibition of the Na^+/H^+ exchanger. **Blood**, v. 95, n. 4, p. 1427-34, Feb

2000. ISSN 0006-4971. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10666221>>.

SALEH, A. M.; BATLLE, D. C. Kinetic properties of the Na⁺/H⁺ antiporter of lymphocytes from the spontaneously hypertensive rat: role of intracellular pH. **J Clin Invest**, v. 85, n. 6, p. 1734-1739, Jun 1990. ISSN 0021-9738. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2161427>>.

SARDET, C.; FRANCHI, A.; POUYSSÉGUR, J. Molecular cloning, primary structure, and expression of the human growth factor-activatable Na⁺/H⁺ antiporter. **Cell**, v. 56, n. 2, p. 271-280, Jan 1989. ISSN 0092-8674. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2536298>>.

SCHERZER, P. et al. Sodium-pump gene-expression, protein abundance and enzyme activity in isolated nephron segments of the aging rat kidney. **Physiol Rep**, v. 3, n. 6, Jun 2015. ISSN 2051-817X. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26056060>>.

SCHNEIDER, J. G. et al. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. **Am J Hypertens**, v. 15, n. 11, p. 967-972, Nov 2002. ISSN 0895-7061. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12441216>>.

SCHUSTER, V. L. et al. Colocalization of H⁺-ATPase and band 3 anion exchanger in rabbit collecting duct intercalated cells. **Am J Physiol**, v. 260, n. 4 Pt 2, p. F506-517, Apr 1991. ISSN 0002-9513. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1849362>>.

SHICHIRI, M. et al. Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. **Hypertension**, v. 15, n. 5, p. 493-496, May 1990. ISSN 0194-911X. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2185151>>.

SKOU, J. C. The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. **Biochim Biophys Acta**, v. 23, n. 2, p. 394-401, Feb 1957. ISSN 0006-3002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13412736>>.

SLEPKOV, E. R. et al. Structural and functional analysis of the Na^+/H^+ exchanger. **Biochem J**, v. 401, n. 3, p. 623-633, Feb 2007. ISSN 1470-8728. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17209804>>.

SPEED, J. S. et al. Endothelin and renal ion and water transport. **Semin Nephrol**, v. 35, n. 2, p. 137-144, Mar 2015. ISSN 1558-4488. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25966345>>.

TESHIMA, Y. et al. Cariporide (HOE642), a selective Na^+/H^+ exchange inhibitor, inhibits the mitochondrial death pathway. **Circulation**, v. 108, n. 18, p. 2275-2281, Nov 2003. ISSN 1524-4539. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14568900>>.

TOUYZ, R. M.; SCHIFFRIN, E. L. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. **Histochem Cell Biol**, v. 122, n. 4, p. 339-352, Oct 2004. ISSN 0948-6143. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15338229>>.

TSE, C. M. et al. Cloning and sequencing of a rabbit cDNA encoding an intestinal and kidney-specific Na^+/H^+ exchanger isoform (NHE-3). **J Biol Chem**, v. 267, n. 13, p. 9340-9346, May 1992. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1374392>>.

_____. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding the rabbit ileal villus cell basolateral membrane Na^+/H^+ exchanger. **EMBO J**, v. 10, n. 8, p. 1957-1967, Aug 1991. ISSN 0261-4189. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1712287>>.

WAKABAYASHI, S. et al. Mutation of calmodulin-binding site renders the Na^+/H^+ exchanger (NHE1) highly H^+ -sensitive and Ca^{2+} regulation-defective. **J Biol Chem**, v. 269, n. 18, p. 13710-5, May 1994. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8175807>>.

_____. The Na⁺/H⁺ antiporter cytoplasmic domain mediates growth factor signals and controls "H⁺-sensing". **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 89, n. 6, p. 2424-2428, Mar 1992. ISSN 0027-8424. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1372444>>.

_____. Calmodulin-binding autoinhibitory domain controls "pH-sensing" in the Na⁺/H⁺ exchanger NHE1 through sequence-specific interaction. **Biochemistry**, v. 36, n. 42, p. 12854-12861, Oct 1997. ISSN 0006-2960. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9335543>>.

WANG, H.; SINGH, D.; FLIEGEL, L. The Na⁺/H⁺ antiporter potentiates growth and retinoic acid-induced differentiation of P19 embryonal carcinoma cells. **J Biol Chem**, v. 272, n. 42, p. 26545-26549, Oct 1997. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9334233>>.

WARREN, R.; LIU, G. ZD4054: a specific endothelin A receptor antagonist with promising activity in metastatic castration-resistant prostate cancer. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 17, n. 8, p. 1237-1245, Aug 2008. ISSN 1744-7658. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18616419>>.

WESSON, D. E. Endogenous endothelins mediate increased acidification in remnant kidneys. **J Am Soc Nephrol**, v. 12, n. 9, p. 1826-1835, Sep 2001. ISSN 1046-6673. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11518775>>.

WU, K. L. et al. The NHE1 Na⁺/H⁺ exchanger recruits ezrin/radixin/moesin proteins to regulate Akt-dependent cell survival. **J Biol Chem**, v. 279, n. 25, p. 26280-26286, Jun 2004. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15096511>>.

YANAGISAWA, M. et al. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels. **J Hypertens Suppl**, v. 6, n. 4, p. S188-191, Dec 1988. ISSN 0952-1178. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2853725>>.

YANG, X. et al. RhoA required for acid-induced stress fiber formation and trafficking and activation of NHE3. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 293, n. 4, p. F1054-1064, Oct 2007. ISSN 1931-857X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17686951>>.

ZEIDEL, M. L. et al. Endothelin, a peptide inhibitor of Na⁺-K⁺-ATPase in intact renaltubular epithelial cells. **Am J Physiol**, v. 257, n. 6 Pt 1, p. C1101-1107, Dec 1989. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2558568>>.

ZHANG, Y.; JOSE, P. A.; ZENG, C. Regulation of sodium transport in the proximal tubule by endothelin. **Contrib Nephrol**, v. 172, p. 63-75, 2011. ISSN 1662-2782. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21893989>>.