FLÁVIA FERREIRA FONTENELE

**EFEITOS DA ANGIOTENSINA II E ENDOTELINA 1 NA
INJÚRIA RENAL DECORRENTE DA NEFROPATIA
DIABÉTICA RECENTE**

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

Orientador: Prof^ª. Dr. Maria Oliveira 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

FONTENELE, F. F. **Efeitos da angiotensina II e endotelina 1 na injúria renal decorrente da nefropatia diabética recente.** 2017. 88 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. A nefropatia diabética (ND) é uma doença progressiva, silenciosa, grave e decorrente do diabetes *mellitus*. Entre os principais fatores de risco da progressão da doença está o estado hiperglicêmico, que quando associado à atividade do sistema renina-angiotensina (SRA) sistêmico e/ou intrarrenal e a síntese de endotelina 1 (ET1), resulta em hipertensão arterial e perda da função renal. No entanto, os eventos biológicos associados aos estágios iniciais da nefropatia diabética são pouco conhecidos, visto que, esta patologia se manifesta tardiamente. **Objetivo:** Investigar o papel da hiperglicemia bem como as suas relações com a síntese de angiotensina II (Ang II) e endotelina 1 (ET-1) no tecido renal nos eventos iniciais da nefropatia diabética induzida por estreptozotocina (STZ). **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar com idade de 50 dias e organizados em 6 grupos: Controle (veículo); diabéticos tratados com dose única de estreptozotocina (STZ-50 mg/kg); tratados com losartan (antagonista do receptor AT1, 5 mg/kg/dia) 7 dias antes da indução da STZ e continuamente por mais 15 dias após a STZ, totalizando 22 dias de tratamento (STZ/losartan); tratados com BQ123 (antagonista do receptor ETA, 100 ng/kg/dia) 7 dias antes da indução da STZ e continuamente por mais 15 dias após a STZ (STZ/BQ123). Foram avaliados os parâmetros como glicemia, pressão arterial, peso corpóreo, ingestão de ração e água; parâmetros de função renal como fluxo urinário, *clearance* de creatinina e proteinúria (por colorimetria), eletrólitos (por fotometria de chama), expressão de RNAm (por RT-PCR) e morfologia renal por coloração de PAS ou imunohistoquímica. **Resultados:** O tratamento com STZ induziu diabetes, como esperado. Nessa condição os animais ingeriram mais ração e água e apesar disso, ganharam menos peso em comparação ao grupo controle. A STZ induziu aumento dos níveis plasmáticos de Ang II e ET-1, creatinina plasmática, proteinúria e albuminúria. Além disso, promoveu aumento do fluxo urinário, carga excretada e fração de excreção de Na^+ e K^+ ; induziu aumento na expressão de RNAm para $\text{TNF}\alpha$, $\text{TGF}\beta$, Nox4, injúria glomerular e tubular. No co-tratamento, o losartan preveniu o efeito da STZ na expressão de renina medular, injúria tubular, expressão de desmina, expressão de RNAm para $\text{TNF}\alpha$ e Nox4. O co-tratamento com BQ123 não alterou o efeito de STZ em nenhum dos parâmetros estudados. **Conclusão:** Nossos resultados demonstram um efeito predominante da hiperglicemia na injúria renal nos primeiros estágios da nefropatia diabética. Nessa condição, a Ang II sistêmica e/ou intrarrenal atuando via receptor AT1 amplia os efeitos da hiperglicemia nos eventos iniciais da nefropatia diabética, como a expressão de desmina glomerular, estresse oxidativo e processos inflamatórios. A hiperglicemia também induziu aumento na síntese de ET-1. Porém, nesse período, não foi possível observar efeitos do peptídeo na função renal.

Palavras-chave: Nefropatia diabética. Sistema renina-angiotensina. Endotelina 1.

ABSTRACT

FONTENELE, F. F. **Effects of angiotensin II and endothelin 1 on renal injury due to recent diabetic nephropathy**. 2017. 88 p. Master thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Diabetic nephropathy (ND) is a progressive disease associated to diabetes mellitus. In this condition, the hyperglycemic state is considerate the main risk factor for renal disease progression. It is known that the hyperglycemia associated with systemic and/or intrarenal renin-angiotensin system (RAS) activity and endothelin 1 (ET1) synthesis, results in hypertension and loss of renal function. However, the biological events associated with the early stages of diabetic nephropathy are poorly understood, since this pathology manifests itself late. **Aim:** To investigate the effect of the hyperglycemia as well as its relationship with the synthesis of angiotensin II (Ang II) and endothelin 1 (ET-1) in renal tissue in the early events of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. **Methods:** Wistar rats aged 50 days and organized in six groups were used: Control (vehicle); Treated with a single dose of streptozotocin (STZ- 50 mg/kg); Treated with losartan (AT1 receptor antagonist, 5 mg/kg/day) 7 days prior to STZ induction and continuously for a further 15 days after STZ, totaling 22 days of treatment (STZ / losartan); Treated with BQ123 (ETA receptor antagonist, 100 ng/kg/day) 7 days prior to STZ induction and continuously for a further 15 days after STZ (STZ / BQ123). The following parameters were evaluated: blood glucose, blood pressure, body weight, food intake and water; renal function parameters such as urinary flow, creatinine clearance and proteinuria (by colorimetry), electrolytes (by flame photometry), mRNA expression (by RT-PCR) and renal morphology by PAS staining or immunohistochemistry. **Results:** The treatment with STZ induced diabetes, as expected. In this condition, the food and water intake were increased and weight gain decreased in comparison to the control group. STZ induced increased plasma levels of Ang II and ET-1, increased plasma creatinine, proteinuria, and albuminuria. In addition, it increased urinary flow, excreted load and fractional excretion of Na^+ and K^+ ; increased mRNA expression for $\text{TNF}\alpha$, $\text{TGF}\beta$, Nox4, induced glomerular and tubular injury. In co-treatment, losartan prevented the effect of STZ on the expression of medullar renin, tubular injury, desmin expression, $\text{TNF}\alpha$ and Nox4 mRNA expression. Co-treatment with BQ123 did not change the STZ effect in all parameters studied. **Conclusion:** Our results demonstrated a predominant effect of hyperglycemia on renal injury in the early stages of diabetic nephropathy. In this condition, systemic and/or intrarenal Ang II acting through the AT1 receptor amplifies the effects of hyperglycemia in the initial events of diabetic nephropathy, such as the expression of glomerular desmin, oxidative stress and inflammatory processes. Hyperglycemia also induced an increase in ET-1 synthesis. However, in this period, the peptide did not change the renal function.

Keywords: Diabetic nephropathy. Renin angiotensin system. Endothelin 1.

1) INTRODUÇÃO

Em condição fisiológica, o nível de glicose no plasma encontra-se na faixa de 80 a 100 mg/dL durante o jejum e abaixo de 140 mg/dL após a ingestão de uma dieta regular. O monitoramento da glicemia pode ser realizado pela análise dos níveis de glicose no sangue de forma casual, durante o jejum e pela avaliação do índice de hemoglobina glicada que não deve ultrapassar 5% (*American Diabetes Association - ADA, 1997*). A glicemia de jejum com valores acima de 110 mg/dL indica a ocorrência de uma hiperglicemia sustentada e/ou a hemoglobina glicada entre 5,5% e 6,5%, o que pode resultar em complicações metabólicas agudas, tais como cetoacidose diabética e síndrome hiperosmolar não cetótica ou complicações crônicas como o diabetes *mellitus* (MAUER et al, 2009).

1.1 Diabetes *Mellitus*

O diabetes *mellitus* (DM) é uma patologia que se manifesta clinicamente devido as desordens endócrino-metabólicas associadas a um descontrole dos níveis glicêmicos. De acordo com a Associação Americana de Diabetes (2016), a principal causa deste desequilíbrio homeostático é a deficiência na secreção ou ação tecidual do hormônio insulina - secretada pelas células beta (β) do pâncreas. Este hormônio tem como função primordial, regular os níveis de glicose no plasma (ADA, 2016). Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (2016), estima-se que na população mundial atual o número de diabéticos seja de aproximadamente 387 milhões e que em 2035 esse número poderá alcançar 471 milhões (<http://www.who.int/diabetes/global-report/en/>). No Brasil, há cerca de 12 milhões de diabéticos e uma taxa de mortalidade decorrente desta doença de aproximadamente 34/100.000 habitantes. As perspectivas não são animadoras e estima-se que em 2035, cerca de 30% dos adultos sofrerão de diabetes, e acima dos 65 anos, a proporção poderá chegar a 50% (<http://svs.aids.gov.br/cgiae/sim>).

O aumento no número de diabéticos está associado ao crescimento e envelhecimento da população, obesidade, sedentarismo e uma maior taxa de sobrevida dos pacientes portadores da doença (*World Health Organization - WHO, 2002*). Por ser uma patologia de natureza crônica e associada a várias outras patologias, o diabetes *mellitus* resulta em significativa perda da qualidade de vida, o que contribui para a ampliação significativa dos custos no âmbito da saúde e o aumento da taxa de mortalidade. Isso se dá devido a complicações decorrentes das patologias associadas, incluindo a insuficiência renal terminal que resulta em hemodiálise e transplante renal (VALLON; THOMSON, 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica o diabetes *mellitus* em classes clínicas, de acordo com a etiologia: Tipo 1 - DM1; tipo 2 - DM2 e DM gestacional, além das categorias referidas como fatores de risco ou pré-diabetes, condições em que a glicemia de jejum é alterada e a tolerância à glicose reduzida.

O diabetes tipo 1 é resultante da destruição seletiva das células β do pâncreas, promovendo perda da capacidade de secreção do hormônio insulina (BORIGHT et al., 2005; HADJADJ et al., 2007). Nessa condição, a falta de insulina impede a captação de glicose pelas células teciduais, as quais passam a sofrer com a falta de energia. Para evitar a morte celular, o organismo passa a gerar energia oriunda dos estoques de gordura. Nesse processo ocorre a formação de corpos cetônicos os quais podem acumular no sangue e induzir a cetoacidose diabética - um tipo de acidose metabólica grave (TERVAERT et al, 2010). Entretanto, com o diagnóstico apropriado e com a disponibilidade de insulina como tratamento efetivo, os indivíduos com diabetes tipo 1 podem levar a vida regularmente. O diabetes tipo 1 é mais frequente na infância ou adolescência e corresponde 5% a 10% dos pacientes (TERVAERT et al, 2010).

O diabetes tipo 2 é uma patologia associada à predisposição genética em conjunto com o estilo de vida e aos fatores ambientais, como o sedentarismo, dietas ricas em gorduras e o envelhecimento (ALI, 2013). De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016), é caracterizado por defeitos na regulação da produção hepática de glicose, na secreção de insulina e/ou em sua ação. Sob a condição de obesidade, um grande fator de risco para desenvolver DM2, os tecidos periféricos tornam-se menos sensíveis à ação da insulina. Desta forma, como mecanismo adaptativo, as células beta pancreáticas aumentam a sua atividade secretória. Porém, esta compensação pode levar ao comprometimento progressivo da função das células beta (PRENTKI; NOLAN, 2006). O diabetes tipo 2 representa 90 a 95% dos casos da doença e pode ocorrer em qualquer idade, com maior frequência após os 40 anos. Na maioria dos casos, o tratamento do diabetes tipo 2 inclui prática regular de atividade física, dieta alimentar e uso de medicamento oral para controlar a glicemia e prevenir a progressão de doenças associadas (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015-2016).

As complicações decorrentes do diabetes se dão basicamente pela hiperglicemia. Entre as complicações agudas estão a cetoacidose e coma hiperosmolar hiperglicêmico. Entre as complicações crônicas estão glicação irregular de proteínas, doenças cardiovasculares, acidentes vasculares encefálicos, retinopatias, dislipidemia e doença renal crônica (KITABCHI et al., 2009; MAUER et al., 2009; TERVAERT et al., 2010).

1.1.1 Glicação de proteínas

A quantidade de glicose ligada à hemoglobina é diretamente proporcional à concentração de glicose no sangue. Considerando que os eritrócitos possuem um tempo de vida de aproximadamente 120 dias, a avaliação da quantidade de glicose ligada à hemoglobina pode fornecer informações importantes sobre alterações glicêmicas em períodos de até 120 dias. De outra forma, o monitoramento da glicemia pode ser realizado pela avaliação dos níveis plasmáticos de frutossamina - cetoamina derivada da reação não enzimática e irreversível de um açúcar (grupo carbonil da glicose) com uma proteína (grupo amino da proteína), incluindo a hemoglobina e albumina (KOGA; KASAYAMA, 2010; NANSSEU et al., 2015). Como essas proteínas possuem tempo de vida de aproximadamente duas semanas, a frutossamina reflete o controle glicêmico ao longo deste período. Portanto, é uma alternativa importante em caso de dificuldade para a dosagem da hemoglobina glicada.

Em pacientes com diabetes *mellitus*, a hiperglicemia crônica induz uma série de alterações no organismo, incluindo o aumento nos produtos finais de glicação avançada (AGES), os quais são formados por meio da reação de glicação na qual carboidratos como a glicose ligam-se permanentemente a proteínas, como por exemplo, a albumina plasmática, sem a necessidade de atuação enzimática (CHUYEN, 2006; MONNIER, 2007). Os AGES, na corrente sanguínea, ligam-se aos receptores de AGES (RAGEs) presentes na membrana celular e promovem a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (TÓBON-VELASCO et al., 2014). Este último promove o aumento da expressão de mediadores inflamatórios e moléculas de adesão, que agravam a injúria tecidual e contribuem para a progressão de doenças associadas à hiperglicemia, como a nefropatia diabética. A expressão de RAGEs encontra-se especialmente aumentada em paciente com diabetes *mellitus* (KIM et al., 2005; TAN et al., 2002;).

1.2 Nefropatia Diabética

A nefropatia diabética (ND) é uma doença renal progressiva que acomete 20-40% dos pacientes diabéticos. Seu curso é lento, silencioso e os primeiros sinais costumam aparecer entre 10 e 15 anos após o início do estado hiperglicêmico (MATSUI et al., 2010). A nefropatia diabética é responsável pela prevalência de doença renal crônica (DRC) e constitui a principal causa de diálise no mundo (MATSUI et al., 2010). Em linhas gerais, a nefropatia diabética é classificada em cinco fases distintas (BRENNER et al., 1996; DE BOER, RUE, CLEARY, et al., 2011; MAUER et al., 1984; ZIYADEH; GOLDFARB, 1991):

Primeira - Fase de hiperfiltração (*clearance* de creatinina acima de 90 ml/min). Esta fase é longa, com função renal preservada e sem evidências de microalbuminúria. Portanto, é passível de reversão, caso seja realizado um controle glicêmico rigoroso.

Segunda – Fase que corresponde ao estágio precoce da insuficiência renal e o *clearance* de creatinina se encontra entre 60 e 89 ml/min. Há evidência de expansão das células mesangiais e espessamento dos poros da membrana basal glomerular. Esta fase é caracterizada pela presença de microalbuminúria (albuminúria entre 30 e 300 mg/dia). A microalbuminúria constitui um fator importante para a progressão da nefropatia diabética.

Terceira - O paciente apresenta um *clearance* de creatinina entre 30 e 59 ml/min. Ocorre progressão significativa de microalbuminúria para macroalbuminúria (> 300 mg/dia). Esta fase é conhecida como fase de proteinúria clínica associada ao desenvolvimento de hipertensão arterial e anemia progressiva devido à perda da capacidade renal de produzir eritropoietina – hormônio que regula a produção de hemácias.

Quarta - O paciente apresenta um *clearance* de creatinina entre 15 e 29 ml/min (fase pré-diálise). A proteinúria atinge o estágio mais avançado (superior a 3,5 g/1,73 m²/dia) e nesta fase se observa que as lesões no mesângio e na membrana basal glomerular são acompanhadas por intensa fibrose periglomerular e nódulos eosinofílicos, o que caracteriza o estado de nefropatia diabética nodular ou glomerulosclerose. A injúria renal nesta fase é irreversível.

Quinta - O paciente apresenta um *clearance* de creatinina menor que 15 ml/min (fase de diálise). Esta é a fase de insuficiência renal terminal e se a diálise não for iniciada com prioridade, o quadro evolui para uremia, hipertensão arterial, arritmias cardíacas, edema pulmonar crises convulsivas e coma.

Como observado acima, a injúria renal na nefropatia diabética é complexa e multifatorial com implicações hemodinâmicas e metabólicas. No entanto, os mecanismos pelos quais a hiperglicemia induz influência na progressão da doença renal ainda não são totalmente conhecidos, apesar do conhecimento de diversas vias metabólicas e inflamatórias nesse processo. A hiperglicemia exerce efeito tóxico-metabólico em diversos tipos celulares, incluindo as células renais. Neste contexto, a relação entre a hiperglicemia e a produção de AGEs (produtos de glicação avançada) constitui uma das vias mais importantes na progressão da nefropatia diabética (MATSUI; YAMAGISHI, 2010), visto que os AGEs estão envolvidos no aumento da permeabilidade endotelial, ativação das vias pró-inflamatórias expansão de matriz extracelular, lesão de podócitos, ativação do fator de transformação do

crescimento beta (TGF- β), da proteína cinase C (PKC), do HIF (*hypoxia-inducible factor 1*) e do estresse oxidativo (RIVERO et al., 2009; TÓBON-VELASCO et al., 2014).

Outra via importante na progressão da nefropatia diabética é a via do poliol (**Figura 1**). Em condição fisiológica, a glicose intracelular é reduzida à sorbitol, e este, à frutose, por meio de duas enzimas mitocondriais, a aldose redutase (AR) e a sorbitol-desidrogenase, gerando nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e nicotinamida adenina (NAD⁺) (LUIS-RODRÍGUEZ et al., 2012). No estado hiperglicêmico, esses produtos são acumulados no meio intracelular e modifica o estado redox da célula, potencializando a via das pentoses e estimulando a PKC e a formação de AGEs (LUIS-RODRÍGUEZ et al., 2012). Além disso, a via do poliol está associada ao aumento do estresse oxidativo, ativação de citocinas inflamatórias (NF- κ B, TGF-beta, MCP-1) e albuminúria (CHUNG et al., 2003).

Figura 1 - Ativação da via da glicose-sorbitol-frutose no diabetes *mellitus*. NAD: dinucleótido de nicotinamida adenina; NADH: dinucleótido de nicotinamida e adenina. **Fonte:** Fontenele, (2017). Adaptado de Luis-Rodríguez et al (LUIS-RODRÍGUEZ et al., 2012).

Além das vias contextualizadas, é possível que a própria proteinúria seja capaz de ampliar as lesões renais na nefropatia diabética, visto que nessa condição, o aumento da reabsorção tubular de proteínas resulta em lesão tubulointersticial e aumento da síntese de citocinas pró-inflamatórias (HODGKINS; SCHNAPER, 2012).

Acredita-se que outra via importante na progressão da nefropatia diabética seja a ativação do receptor acoplado à proteína G - GPR91 e consequente estimulação do sistema

renina-angiotensina, cuja ação parácrina parece ser mais eficaz do que sua ação endócrina (COFFMAN; GURLEY, 2007). Inicialmente observou-se que o GPR91, também conhecido como receptor metabólico (**Figura 2**) é altamente expresso no rim e é ativado por succinato-ácido carboxílico formado na fase oxidativa do Ciclo de Krebs (HE et al., 2004). Mais tarde, Toma e colaboradores (TOMA et al., 2008) observaram que em condição de hiperglicemia, o aumento na produção e liberação de succinato pelas células endoteliais da parede interna das arteríolas aferentes resulta em ação autócrina por estimulação do receptor GPR91 presente nessas células, e consequente liberação de prostaglandina E2 (PGE2) e óxido nítrico (NO). A PGE2 atuando via parácrina ativa a secreção de renina pelas células justaglomerulares. O NO foi citado como candidato importante na resposta vasodilatadora associada ao aumento da filtração glomerular observada nos eventos iniciais da nefropatia diabética. Além disso, no paciente diabético, há um significativo acúmulo de succinato no plasma e no fluido tubular renal (SADAGOPAN et al., 2007; TOMA et al., 2008), o que faz dessa molécula um importante marcador de injúria tecidual local no diabético. A presença de succinato no fluido tubular renal pode ser detectada pelo receptor GPR91 localizado na membrana das células da mácula densa - estrutura do néfron essencial no controle da hemodinâmica glomerular. Nessa condição, as células da mácula densa passam a produzir e liberar PGE2, o que potencializa a secreção de renina pelas células justaglomerulares (VARGAS et al., 2009).

Figura 2- Esquema ilustrativo da ação do succinato via GPR91 na ativação do sistema renina-angiotensina em diabéticos. O succinato ativa o GPR91 localizado nas células da mácula densa da alça de Henle e nas células endoteliais das arteríolas aferentes. Nessa condição ocorre liberação de prostaglandina E2 (PGE2) e óxido nítrico (NO). A PGE2 atua via parácrina para induzir aumento da secreção de renina pelas células justaglomerulares (JGC). Succ, succinato; MD, mácula densa; p38, p38 mitogen-activated protein kinase; ERK1/2, Extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2; Cox-2, Ciclo-oxigenase-2; VSMC, Vascular smooth muscle cells;

eNAS, *Endothelial nitric-oxide synthase*. **Fonte:** Fontenele, (2017). Adaptado de Vargas et al (Vargas et al., 2009).

Além das células justaglomerulares, as células do ducto coletor também expressam o GPR91 (ROBBEN et al., 2009) e hoje se sabe que o néfron distal é um sítio importante para a síntese de pró-renina, renina e enzima conversora de angiotensina II, especialmente em patologias como o diabetes e hipertensão arterial (NAVAR et al., 1995; VARGAS et al., 2009). No conjunto, esses achados permitem estabelecer uma interação entre a hiperglicemia, a estimulação do sistema renina angiotensina sistêmico e intrarrenal e a hipertensão arterial no diabetes.

1.3 Sistema renina-angiotensina

Desde a sua descoberta em 1898 por Tigerstedt e Bergman, o sistema renina-angiotensina (SRA) é largamente estudado. Na cascata de sinalização sistêmica clássica (**Figura 3**), as células justaglomerulares secretam renina para a circulação, que cliva o angiotensinogênio proveniente principalmente do fígado, em angiotensina I (Ang I). Esta, por sua vez, é clivada pela enzima conversora da Ang I (ECA), formando a angiotensina II (Ang II). A Ang II pode ser clivada pelas peptidases (aminopeptidase - Amp ou dipeptidil-aminopeptidase - D-Amp) e formar respectivamente as Ang (III) e (IV) (DANZIGER, 2008; WOLF et al., 2000; WOLF et al., 2002). Além dos componentes clássicos do SRA, diversos outros foram descobertos ao longo dos anos. Uma enzima homóloga à ECA1, denominada ECA2 e as peptidases (prolil-endopeptidase, Pep e a prolil-caboxipeptidase, Pcp), estão envolvidas na clivagem de Ang II e formação de Ang (1-7), a qual é detectada em vários tecidos, incluindo rins, coração, fígado, baço, pulmão e sistema nervoso central (DANZIGER, 2008; ZIMMERMAN E BURNS, 2012). A Ang 1-7 quando é clivada pela ECA e peptidases (Amp ou D-Amp) forma respectivamente, Ang (1-5) e Ang (3-7). Esta última por sua vez, pode ser clivada pela neprilisina para gerar Ang (3-4) (DILAURO; BURNS, 2009).

Figura 3: Vias e enzimas envolvidas na formação das angiotensinas. ECA: enzima conversora de angiotensina; Amp: aminopeptidase; NEP: neprilisina; Pcp: prolilcarboxipeptidase; D-Amp: dipeptidil-aminopeptidase. **Fonte:** Fontenele, (2017). Adaptado de Carey (Carey; Padia, 2013) e Casare (Casare et al., 2016).

1.4 Angiotensina II e seus receptores

A Ang II, com sequência dos resíduos de aminoácidos já bem estabelecida ($\text{NH}_2\text{-Asp}^1\text{-Arg}^2\text{-Val}^3\text{-Tyr}^4\text{-Ile}^5\text{-His}^6\text{-Pro}^7\text{-Phe}^8\text{-COOH}$), é um peptídeo essencialmente circulante que tem como alvo os receptores periféricos e centrais, mas pode atuar também de maneira parácrina e autócrina (ALLEN; CHOW, 2016; GRIENDLING; VUKELIC, 2014). Em condições fisiológicas, a Ang II plasmática se encontra em concentrações de 10 a 20 pM (SCHULZ et al., 2014) e atua em vários tecidos via receptores do tipo AT1 e AT2, ambos pertencentes à família de receptores acoplados à proteína G (GPCRs) (MIURA; SAKU, 2013).

A interação entre Ang II e o receptor AT1 resulta na ativação de várias vias de sinalização intracelular moduladas pelas proteínas G_i , $G_{q12/13}$ e G_s (DE GASPARO et al., 2000) e fosfolipase C (PLC), aumentando as concentrações de cálcio no citosol e consequentemente, ativação da proteína quinase C (PKC) e calmodulina (DE GASPARO et al., 2000; COSTA-PESSOA et al., 2013). Além disso, o receptor AT1 regula vias independentes de proteínas G, como a da proteína associada ao receptor AT1 (ATRAP1) e a da β -arrestina (ambas envolvidas na internalização do AT1); da Janus quinase (JAK) e Src, que ativam respectivamente, as proteínas transdutoras de sinais e ativadoras de transcrição (STAT), além das quinase como a Erk (*extracellular signal-regulated kinases*) (LEFKOWITZ; SHENOY, 2005).

A ativação do receptor AT1 desencadeia as respostas fisiológicas mais clássicas da Ang II, a saber, a manutenção da pressão arterial e do volume do fluido extracelular (ALLEN

et al., 1999). No entanto, o aumento das concentrações de Ang II no plasma ou aumento da expressão de receptores AT1 nas células dos diferentes tecidos, pode resultar em vasoconstrição, liberação de aldosterona pela zona glomerulosa da glândula adrenal, liberação de endotelina 1, retenção de sódio por diversos segmentos do néfron e estimulação do sistema nervoso simpático (via receptores cerebrais) (BADER, 2010; KOHAN et al., 2011). Além disso, a Ang II induz aumento na produção de espécies reativas de oxigênio associada à produção de citocinas pró-inflamatórias, fatores pró-fibróticos e pró-apoptóticos, o que resulta em injúria tecidual (KOBORI et al., 2007).

O receptor AT2 é essencialmente expresso nas células de tecidos embrionários e é importante para a diferenciação celular e o desenvolvimento de órgãos (LEVY, 2005; LI et al., 2012). Após o nascimento, a expressão de receptores AT2 decai; contudo, persiste em vários órgãos incluindo o coração, glândula adrenal, rins e vasos, onde medeiam importantes efeitos fisiológicos da Ang II (CAREY; PADIA, 2013).

A expressão de receptores AT2 pode aumentar em situações de injúria cardíaca ou vascular e na cicatrização do tecido renal, o que sugere sua participação nos mecanismos de remodelamento tecidual (DE GASPARO et al., 2000; TOUYZ; BERRY, 2002); respostas vasodilatadoras, anti-inflamatórias e anti-fibróticas (CHOW et al., 2014; SAYESKI et al., 1998; SCHMITZ; BERK, 1997). Tais respostas são essenciais para contrabalançar as injúrias teciduais que ocorrem em detrimento dos efeitos mediados pelo receptor AT1.

As vias de sinalização celular relativas à ativação dos receptores AT2 dependem de mecanismos associados ou não à proteína G ($G_{i\alpha 2}$ e $G_{i\alpha 3}$) (PRATT; DZAU, 1996). Em geral, as repostas celulares por ativação de AT2 resultam na geração de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) e óxido nítrico, ativação da peptidil peptidase 2 A (PPA2) e estimulação da fosfolipase A2 (CAREY; PADIA, 2013; JÖHREN et al., 2004 PADIA et al., 2006 SIRAGY; CAREY, 1997)

Diversos estudos demonstram a presença e a importância de SRA locais, em tecidos como coração, tecido adiposo, glândulas adrenais, vasculatura, sistema nervoso central e rins. A ativação do SRA intrarrenal sustenta a hipertensão arterial e a progressão de doenças renais crônicas (HOLLENBERG et al, 2003).

1.5 Sistema renina angiotensina intrarrenal

O sistema renina-angiotensina intrarrenal (SRA) tem sido largamente descrito por desempenhar um papel importante na patogênese da nefropatia diabética (LEEHEY et al., 2000.). Os níveis de angiotensina II (Ang II) e os genes que compõem o SRA são elevados

nos rins de ratos diabéticos e humanos, evidenciando um papel importante do SRA intrarrenal na progressão DN (ANDERSON et al., 1993.) Em condições fisiológicas, se por um lado a concentração de Ang II no plasma é de 10 a 20 pM (HERMANN et al., 1988; SCHULZ et al., 2014), por outro, na luz do túbulo proximal renal a concentração do peptídeo alcança a faixa de nanomolar, indicando atividade da ECA local (WALLNER et al., 2001). A presença de angiotensinogênio no túbulo proximal é bem documentada (ROHRWASSER et al., 1999; KOBORI et al., 2001; KOBORI et al., 2006). Contudo, alguns estudos sugerem que em condições fisiológicas ou patológicas, parte do angiotensinogênio hepático é filtrada no glomérulo e em seguida incorporada pelas células dos segmentos S1 e S2 do túbulo proximal, por mecanismos associados à proteína megalina (MATSUSAKA et al., 2012; MATSUSAKA et al., 2014; POHL et al., 2010).

Outros estudos sugerem que a Ang II sistêmica estimula a produção de angiotensinogênio no segmento S3 do túbulo proximal, o que pode resultar no aumento da excreção urinária dessa proteína (RAMKUMAR; KOHAN, 2013; RAMKUMAR et al., 2013). Estes achados confirmam os estudos prévios publicados pelo grupo do Professor Gabriel Navar, o qual demonstrou significativo aumento na expressão de RNAm e da proteína angiotensinogênio intrarrenal em modelos animais com hipertensão arterial induzida pela infusão de Ang II (GONZALEZ-VILLALOBOS et al., 2008; KOBORI et al., 2001).

A presença de renina no fluido tubular pode ser uma consequência da produção de renina pelas células justaglomerulares, visto que esta proteína é livremente filtrada na barreira de ultrafiltração glomerular e pode ser incorporada pelas células glomerulares, do túbulo proximal e dos segmentos distais do néfron (MOE et al., 1993; PRIETO-CARRASQUERO et al., 2004; ROHRWASSER et al., 1999; KANG et al., 2008). No entanto, a identificação de RNAm para renina em células mesangiais e tubulares confirmam a síntese de renina por células intrarrenais diferentes das justaglomerulares (PRIETO et al., 2013).

A Ang II intrarrenal interage essencialmente com os receptores AT1 não apenas para aumentar a reabsorção de sódio tubular e sustentar a hipertensão arterial como é amplamente conhecido (GURLEY et al., 2011; MAMENKO et al., 2012; SAN-CRISTOBAL et al., 2009; VAN DER LUBBE et al., 2011), mas também para induzir diversas alterações no tecido renal. Os receptores AT1 estão amplamente distribuídos ao longo do rim, e estão localizados em células do músculo liso vascular, ao longo da vasculatura renal, incluindo as arteríolas aferentes e eferentes e as células mesangiais glomerulares (SINGH et al., 1999). Eles também são encontrados nas células da borda em escova do túbulo proximal e nas membranas basolaterais, no epitélio da alça ascendente de henle, no túbulo distal, no ducto coletor distal,

podócitos glomerulares e nas células da mácula densa (SINGH et al., 1999). Dessa forma, a Ang II intrarrenal pode induzir via AT1, aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), redução dos níveis de óxido nítrico e aumento da expressão e citocinas pró-inflamatórias; condição que induzirá injúria das células mesangiais, podócitos e células tubulares, aumento na deposição de matriz extracelular (MEC) e fibrose vascular, aumento da síntese de colágenos I, III e IV na parede dos vasos de resistência, glomérulos e interstício renal (DATLA; GRIENDLING, 2010; GRANGER E SCHNACKENBERG, 2000; KIM et al., 1994; NISHIYAMA et al., 2001; YOSHIOKA et al., 1990).

Banes et al (2004) demonstraram *in vivo* que uma alta concentração de glicose promove a fosforilação de JAK2, STAT1 e STAT3, e na utilização do inibidor do AT1 (cadesartan) e do inibidor de JAK2 (AG490), a fosforilação destas proteínas era reduzida. Em adição, este estudo demonstrou que em ratos diabéticos a administração de AG490 reduziu tanto a pressão sistólica quanto a excreção urinária de proteína (BANES et al, 2004). Esses resultados indicam uma importante relação entre a via de sinalização JAK/STAT, a indução da produção de proteínas de matriz e a proliferação de células mesangiais, eventos presentes na nefropatia diabética.

Recentemente, Banes-Berceli et al (2006), demonstraram que a utilização de simvastatina suprimia os efeitos da alta concentração de glicose e da Ang II na ativação de JAK2, STAT1 e STAT3 em células mesangiais e em glomérulos de ratos diabéticos. Concomitantemente, este estudo mostrou que a simvastatina promovia a redução na produção de colágeno tipo IV em células mesangiais exposta a altas concentrações de glicose sozinha ou associada com Ang II, além de demonstrarem que o tratamento com a simvastatina em ratos diabéticos também reduzia a excreção de proteínas.

Sabe-se que além de induzir o estresse oxidativo, inflamação, fibrose e levar à doença renal crônica, a Ang II sistêmica e intrarrenal sustenta a hipertensão arterial (NAVAR et al., 2001; SALEH et al., 2010) e ativa outras cascatas de sinalização como, por exemplo, a síntese de aldosterona pelas glândulas adrenais e a síntese de endotelina 1 (ET-1) pelas células endoteliais (IMAI et al., 1992). Contudo, na nefropatia diabética, não é claramente delineada a relação entre a hiperglicemia, ativação do sistema renina-angiotensina intrarrenal e a síntese de endotelina 1 pelo tecido renal.

1.6 Sistema Endotelinas

As endotelinas (ETs) são peptídeos de 21 aminoácidos secretados essencialmente pelas células endoteliais (YANAGISAWA, KURIHARA, KIMURA, TOMOBE, et al., 1988)

e desempenham funções distintas no organismo, incluindo controle do tônus vascular e várias patologias como doenças cardiovasculares e renais (AXELBAND et al, 2009; GRANGER; SCHNACKENBERG, 2000; GURLEY et al, 2011.). Nas células endoteliais a endotelina é sintetizada na forma de pré-pró-endotelina, molécula constituída por 212 aminoácidos (AA) e liberada na corrente sanguínea. A pré-pró-endotelina - forma inativa, que é clivada por endopeptidases e gera um 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) produz a forma biologicamente ativa da endotelina, com apenas 21 aminoácidos (DHAUN et al., 2008; KOHAN et al., 2011). A transcrição da endotelina é sensível a diversos fatores, como a angiotensina II, vasopressina, citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral alfa - $\text{TNF}\alpha$ e interleucina 1 β), acidose e hiperglicemia (DHAUN et al., 2012; KOHAN et al., 2011). A endotelina pode ser sintetizada a partir de três genes diferentes, dando origem a três isoformas distintas: ET-1, ET-2, e ET-3 (AZARANI et al., 1998; IMAI et al., 1992). Dos três peptídeos, a ET-1 (**Figura 4**) é o mais importante do endotélio vascular e do tecido renal (KARET, 1996) e é produto da clivagem do peptídeo pró-ET pela ECE 1.

Figura 4: Esquema representativo das vias de biossíntese da endotelina 1 (ET-1). A pré-pró-endotelina é clivada pela ação da furina e convertases, formando a pró-ET. Esta é clivada por diferentes enzimas conversoras de ET (ECEs). Uma vez formada, a ET-1 pode ser degradada por endopeptidases e deaminases. **Fonte:** Fontenele, (2017). Adaptado de Kohan (Kohan et al., 2011) e Casare, 2015.

A ET-1 tem ação autócrina e parácrina, e pode se ligar a dois receptores específicos, o do tipo A (ETA) e do tipo B (ETB), ambos acoplados à proteína G (ARAI et al., 1990)

(**Figura 5**). A interação de ET-1 com seus receptores é de longa duração (cerca de 2 horas), condição que favorece a manutenção de baixas concentrações plasmáticas do peptídeo (0,1 pM a 0,4 pM) (KOHAN et al., 2011). As vias de sinalização celular pelas quais a ET-1 induz a vasoconstrição são dependentes das interações de seus receptores (ETA e ETB) com as proteínas Gq_{11,12} ou 13, que ativam a fosfolipase C (PLC), resultando no aumento de cálcio no citosol e de diacilglicerol (DAG). Este último estimula a via da PKC/Mek/Erk1/2 e ambos os mensageiros (cálcio e Erk1/2) causam contração da célula muscular lisa (KOHAN et al., 2011).

Figura 5: Esquema representativo das vias de sinalização da ET-1 na parede vascular: A ECE1 pode estar presente na membrana celular ou nos retículos, clivando a pró-ET1 em ET-1, cuja interação com ETA ou ETB na célula muscular lisa, ocorre a ativação da cascata da inositol trifosfato aumentando a concentração de cálcio intracelular, pela liberação do retículo sarcoplasmático e pela abertura de canais de cálcio, também estimulando a via da ERK1/2, resultando em vasoconstrição. Quando a ET-1 se liga ao receptor ETB presente na célula endotelial, estimula produção de NO pela ativação da NOS causando vasodilatação. **Fonte:** Fontenele, (2017). Adaptado de Kohan (Kohan et al., 2011) e Casare, 2015.

No rim, a síntese de ET-1 ocorre nas células mesangiais e tubulares, especialmente nas células do ducto coletor (KOHAN; PADILLA, 1993), em macrófagos residentes (EHRENREICH et al., 1990) e pode ser estimulada pela angiotensina II, vasopressina, citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral alfa - TNF α e interleucina 1 β), acidose e hiperglicemia (DHAUN et al., 2012; KOHAN et al., 2011). Os efeitos de ET-1 renal são mediados também pelos receptores ETA e ETB (ARAI et al., 1990; SAKURAI et al., 1990), os quais são abundantemente distribuídos nas células da musculatura lisa vascular, glomérulos

e células tubulares, principalmente no sistema de ductos coletores (KARET, 1996; KUC; DAVENPORT, 2004).

1.7 Nefropatia diabética e Endotelina 1

Desde a sua descoberta há mais de 20 anos por Yanagisawa et al (YANAGISAWA, KURIHARA, KIMURA, GOTO, et al., 1988; YANAGISAWA, KURIHARA, KIMURA, TOMOBE, et al., 1988), a contribuição fisiológica e patológica da endotelina 1 tem sido amplamente discutida. A ativação do receptor ETA resulta em estresse oxidativo aumentado, promove vasoconstrição renal através da ativação do mecanismo do SRA, aumento da expressão de mediadores inflamatórios circulantes e nos glomérulos, bem como mudanças na permeabilidade glomerular à albumina (SALEH, M. A. et al., 2010; ELMARAKBY, A. A. et al., 2005; KOHAN, D. E.; BARTON, M., 2014). Em contrapartida, a ET-1 via ETB resulta em ações vasodilatadoras, promove excreção de sódio e água, efeitos antiproliferativos e antifibróticos (KOHAN, D.E. et al., 2011; DHAUN, N. et al., 2008.). Desta forma, a ET-1 possui um papel fundamental na regulação da hemodinâmica renal, na modulação da proliferação celular, na acumulação de matriz extracelular, inflamação e fibrose, além de participar da homeostase do sódio e da água e do equilíbrio ácido-base (KOHAN, D. E. 2006; KOHAN, D. E.; POLLOCK, D. M., 2013).

Diversas evidências implicam na atuação do sistema ET no desenvolvimento e/ou progressão da ND. Devido ao aumento da síntese e/ou dos efeitos da ET-1 em resposta a hiperglicemia, lesão hipertensiva glomerular e níveis de insulina, o que resulta em aumento da expressão renal e níveis circulatórios sistêmicos de ET-1 em diabetes experimental e clínico (HOCHER, B. et al., 2001; BENZ, K.; AMANN, K., 2011; TAKAHASHI, K. et al., 1990; BARTON, M., 2008). Este aumento parece mediar o efeito da endotelina 1 na injúria vascular que resulta em vasoconstrição, disfunção endotelial, alterações fenotípicas das células da musculatura lisa, remodelamento vascular, inflamação e estresse oxidativo (BOURQUE et al., 2011).

Além disso, seu papel no desenvolvimento e progressão da doença renal crônica (DRC) é bem estabelecido, principalmente pelo uso de inibidores da enzima conversora ECE 1 ou antagonistas dos receptores ETA/B (BENIGNI; REMUZZI, 1999; HOCHER et al., 2001). Muitos desses estudos revelam que na nefropatia diabética, a ET-1 participa dos processos envolvendo proteinúria, inflamação, perda de molécula de adesão e de podócitos (BENIGNI; REMUZZI, 1999; GAGLIARDINI et al., 2009; HOCHER et al., 2001; SALEH et al., 2010; ZOJA et al., 2011). Contudo, a via de sinalização precisa para compreender o

efeito da hiperglicemia no aumento da síntese de endotelina 1 *in vivo* ainda não foi esclarecida. Por outro lado, estudos *in vitro* revelam que a glicose estimula a síntese de endotelina 1 via ativação da p38 MAP cinase, do NFκB e membros da família STAT (*signal transducer and activator of transcription*) (MANEA et al., 2010; QUEHENBERGER et al., 2000).

1.8 Diabetes experimental induzido quimicamente por estreptozotocina

Os modelos animais de diabetes são amplamente utilizados para a obtenção de conhecimentos sobre as alterações sistêmicas decorrentes do diabetes. A indução do diabetes em animais experimentais ocorre após a destruição química seletiva das células beta pancreáticas. Em ratos, camundongos e coelhos, uma substância frequentemente usada para este fim é a estreptozotocina (STZ) (glicosamina-nitrosureia, antibiótico isolado do fungo *Streptomyces achromogenes*) com propriedades diabetogênicas (SZKUDELSKI, 2001).

Na maioria dos animais (adultos ou recém-nascidos) a indução de diabetes requer doses relativamente altas de estreptozotocina (STZ > 50 mg.kg⁻¹) e o desenvolvimento da hiperglicemia após a injeção da droga é consequência da destruição das células beta pancreáticas com consequente queda na síntese de insulina (LENZEN, 2008). Portanto, a hiperglicemia observada nesse modelo animal não é decorrente de um quadro de resistência insulínica e apresenta características próximas de diabetes do tipo 1 (SZKUDELSKI, 2001).

2) CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos resultados demonstram um efeito predominante da hiperglicemia na injúria renal nos primeiros estágios da nefropatia diabética. Nessa condição, a Ang II sistêmica e/ou intrarrenal atuando via receptor AT1, também já desempenha função importante, uma vez que amplia os efeitos da hiperglicemia nos eventos iniciais da nefropatia diabética, como a expressão de desmina glomerular, estresse oxidativo e processos inflamatórios. A hiperglicemia induziu aumento na síntese de endotelina 1. Porém, nesse período, não foi possível observar efeitos da endotelina 1 associados à hiperglicemia na função renal.

REFERÊNCIAS*

- ACHENBACH, P. et al. Natural history of type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 54 Suppl 2, p. S25-31, Dec 2005. ISSN 0012-1797. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16306336>>.
- AFFRES, H. et al. Desferrioxamine regulates tumor necrosis factor release in mesangial cells. **Kidney Int**, v. 39, n. 5, p. 822-830, May 1991. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2067199>>.
- AKBARZADEH, A. et al. Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. **Indian J Clin Biochem**, v. 22, n. 2, p. 60-64, Sep 2007. ISSN 0970-1915. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23105684>>.
- AKIRAV, E. M. et al. Partial leptin restoration increases hypothalamic-pituitary-adrenal activity while diminishing weight loss and hyperphagia in streptozotocin diabetic rats. **Metabolism**, v. 53, n. 12, p. 1558-1564, Dec 2004. ISSN 0026-0495. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15562400>>.
- ALI, O. Genetics of type 2 diabetes. **World J Diabetes**, v. 4, n. 4, p. 114-123, Aug 2013. ISSN 1948-9358. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23961321>>.
- ALLEN, A. M.; ZHUO, J.; MENDELSON, F. A. Localization of angiotensin AT1 and AT2 receptors. **J Am Soc Nephrol**, v. 10 Suppl 11, p. 23-29, Jan 1999. ISSN 1046-6673. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9892137>>.
- ANDERSON, S.; JUNG, F. F.; INGELFINGER, J. R. Renal renin-angiotensin system in diabetes: functional, immunohistochemical, and molecular biological correlations. **Am J Physiol**, v. 265, n. 4 Pt 2, p. F477-486, Oct 1993. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8238377>>.
- 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>>.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Guide to diagnosis and classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. **Diabetes Care**. v. 20, (Suppl 1), p. 215-225, Jan 1997. Disponível em: <http://care.diabetesjournals.org/content/20/Supplement_1/S21>
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Erratum. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. In Standards of Medical Care in Diabetes-2016. **Diabetes Care** 2016;39(Suppl. 1): p.13-22. **Diabetes Care**, v. 39, n. 9, p. 1653, Sep 2016. ISSN 1935-5548. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27555625>>.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

AMIRI, F. et al. Angiotensin II activation of the JAK/STAT pathway in mesangial cells is altered by high glucose. **Kidney Int**, v. 5, p. 1605-1616, 2002.

ATKINSON, M. A.; EISENBARTH, G. S. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. **Lancet**, v. 358, n. 9277, p. 221-229, Jul 2001. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11476858> >.

ATTIA, Y. M. et al. Telmisartan, an AT1 receptor blocker and a PPAR gamma activator, alleviates liver fibrosis induced experimentally by Schistosoma mansoni infection. **Parasit Vectors**, v. 6, p. 199, 2013. ISSN 1756-3305. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23829789> >.

AXELBAND, F. et al. Ang-(3-4) suppresses inhibition of renal plasma membrane calcium pump by Ang II. **Regulatory peptides**, v. 155, n. 1, p. 81-90, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19345245>>

AZARANI, A.; BOILEAU, G.; CRINE, P. Recombinant human endothelin-converting enzyme ECE-1b is located in an intracellular compartment when expressed in polarized Madin-Darby canine kidney cells. **Biochem J**, v. 333 (Pt 2), p. 439-448, Jul 1998. ISSN 0264-6021. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9657986> >.

BADER, M. Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: Targets for pharmacological therapy. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 50, p. 439-465, 2010. ISSN 1545-4304 (Electronic)0362-1642 (Linking). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105610> >.

BANES, A.K. et al. Angiotensin II blockade prevents hyperglycemia-induced activation of JAK and STAT proteins in diabetic rat kidney glomeruli. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 4, p. 653-659, 2004. Disponível em: <<http://ajprenal.physiology.org/content/286/4/F653.short>>.

BANES-BERCELLI, Amy K. et al. Effect of simvastatin on high glucose-and angiotensin II-induced activation of the JAK/STAT pathway in mesangial cells. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 291, n. 1, p. F116-F121, 2006.

BENIGNI, A.; REMUZZI, G. Endothelin antagonists. **Lancet**, v. 353, n. 9147, p. 133-138, Jan 1999. ISSN 0140-6736. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10023915> >.

BORIGHT, A. P. et al. Genetic variation at the ACE gene is associated with persistent microalbuminuria and severe nephropathy in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC Genetics Study. **Diabetes**, v. 54, n. 4, p. 1238-1244, Apr 2005. ISSN 0012-1797. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15793268> >.

BOURQUE, S. L.; DAVIDGE, S. T.; ADAMS, M. A. The interaction between endothelin-1 and nitric oxide in the vasculature: new perspectives. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 300, n. 6, p. 1288-1295, Jun 2011. ISSN 1522-1490. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21368267> >.

BRANDS, M. W.; LABAZI, H. Role of glomerular filtration rate in controlling blood pressure early in diabetes. **Hypertension**, v. 52, n. 2, p. 188-194, 2008.

Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/hypertensionaha/52/2/188.full.pdf>>.

BRENNER, B. M.; LAWLER, E. V.; MACKENZIE, H. S. The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. **Kidney Int**, v. 49, n. 6, p. 1774-1777, Jun 1996. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8743495>>.

CAREY, R. M.; PADIA, S. H. Role of angiotensin AT(2) receptors in natriuresis: Intrarenal mechanisms and therapeutic potential. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 40, n. 8, p. 527-534, Aug 2013. ISSN 1440-1681. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23336117>>.

CAREY, R. M.; SIRAGY, H. M. The intrarenal renin-angiotensin system and diabetic nephropathy. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 14, n. 6, p. 274-281, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12890592>>.

CASARE, F. A. et al. Renovascular remodeling and renal injury after extended angiotensin II infusion. **Am J Physiol Renal Physiol**, p. ajprenal.00471.2015, Mar 2016. ISSN 1522-1466. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26962104>>.

CHERNEY, D. Z.; SCHOLEY, J. W.; MILLER, J. A. Insights into the regulation of renal hemodynamic function in diabetic mellitus. **Curr Diabetes Rev**, v. 4, n. 4, p. 280-290, Nov 2008. ISSN 1875-6417. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18991597>>.

CHOW, B. S.; ALLEN, T. J. Angiotensin II type 2 receptor (AT2R) in renal and cardiovascular disease. **Clin Sci (Lond)**, v. 130, n. 15, p. 1307-1326, Aug 2016. ISSN 1470-8736. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27358027>>.

CHOW, B. S. et al. Relaxin requires the angiotensin II type 2 receptor to abrogate renal interstitial fibrosis. **Kidney Int**, v. 86, n. 1, p. 75-85, Jul 2014. ISSN 1523-1755. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24429402>>.

CHUNG, S. S. et al. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. **J Am Soc Nephrol**, v. 14, n. 8 Suppl 3, p. 233-236, Aug 2003. ISSN 1046-6673. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12874437>>.

CHUYEN, N. V. Toxicity of the AGEs generated from the Maillard reaction: on the relationship of food-AGEs and biological-AGEs. **Mol Nutr Food Res**, v. 50, n. 12, p. 1140-1149, Dec 2006. ISSN 1613-4125. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17131455>>.

COLOGNATO, H.; WINKELMANN, D. A.; YURCHENCO, P. D. Laminin polymerization induces a receptor-cytoskeleton network. **J Cell Biol**, v. 145, n. 3, p. 619-631, May 1999. ISSN 0021-9525. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10225961>>.

CORREA-ROTTER, R.; HOSTETTER, T. H.; ROSENBERG, M. E. Renin and angiotensinogen gene expression in experimental diabetes mellitus. **Kidney Int**, v. 41, n. 4, p. 796-804, Apr 1992. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1513102>>.

COSTA-PESSOA, J. M. et al. 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 2013. ISSN 1879-0712. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24076179> >.

DANZIGER, R. S. Aminopeptidase N in arterial hypertension. **Heart Fail Rev**, v. 13, n. 3, p. 293-298, Sep 2008. ISSN 1382-4147. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18008160> >.

DATLA, S. R.; GRIENDLING, K. K. Reactive oxygen species, NADPH oxidases, and hypertension. **Hypertension**, v. 56, n. 3, p. 325-330, Sep 2010. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20644010> >.

DE BOER, I. H. et al. Long-term renal outcomes of patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria: an analysis of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications cohort. **Arch Intern Med**, v. 171, n. 5, p. 412-420, Mar 2011. ISSN 1538-3679. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21403038> >.

_____. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. **JAMA**, v. 305, n. 24, p. 2532-2539, Jun 2011. ISSN 1538-3598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21693741> >.

DE GASPARO, M. et al. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. **Pharmacol Rev**, v. 52, n. 3, p. 415-472, Sep 2000. ISSN 0031-6997. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10977869> >.

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).

DHAUN, N.; WEBB, D. J.; KLUTH, D. C. Endothelin-1 and the kidney--beyond BP. **Br J Pharmacol**, v. 167, n. 4, p. 720-731, Oct 2012. ISSN 1476-5381. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22670597> >.

DIAS, L. D. et al. Renal denervation in an animal model of diabetes and hypertension: impact on the autonomic nervous system and nephropathy. **Cardiovasc Diabetol**, v. 10, p. 33, 2011. ISSN 1475-2840. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21496329> >.

DILAURO, M.; BURNS, K. D. Angiotensin-(1-7) and its effects in the kidney. **ScientificWorldJournal**, v. 9, p. 522-535, 2009. ISSN 1537-744X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19578709> >.

DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (2015-2016) / Adolfo Milech...[et. al.]; organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio - São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016. Disponível em: < <http://www.diabetes.org.br/profissionais/images/docs/DIRETRIZES-SBD-2015-2016.pdf> >

EHRENREICH, H. et al. Endothelins, peptides with potent vasoactive properties, are produced by human macrophages. **J Exp Med**, v. 172, n. 6, p. 1741-1748, Dec 1990. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1701822> >.

FUKAMI, K. et al. Telmisartan inhibits AGE-induced podocyte damage and detachment. **Microvasc Res**, v. 88, p. 79-83, Jul 2013. ISSN 1095-9319. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23648312> >.

GAGLIARDINI, E. et al. Unlike each drug alone, lisinopril if combined with avosentan promotes regression of renal lesions in experimental diabetes. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 297, n. 5, p. 1448-1456, Nov 2009. ISSN 1522-1466. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19675181> >.

GONZALEZ-VILLALOBOS, R. A. et al. Intrarenal angiotensin II and angiotensinogen augmentation in chronic angiotensin II-infused mice. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 295, n. 3, p. 772-779, Sep 2008. ISSN 1931-857X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18579707> >.

GRANGER, J. P.; SCHNACKENBERG, C. G. Renal mechanisms of angiotensin II-induced hypertension. **Semin Nephrol**, v. 20, n. 5, p. 417-425, Sep 2000. ISSN 0270-9295. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11022893> >.

GURLEY, S. B.; COFFMAN, T. M. The renin-angiotensin system and diabetic nephropathy. **Semin Nephrol**, v. 27, n. 2, p. 144-152, Mar 2007. ISSN 0270-9295. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17418683> >.

GURLEY, S. B. et al. AT1A angiotensin receptors in the renal proximal tubule regulate blood pressure. **Cell Metab**, v. 13, n. 4, p. 469-475, Apr 2011. ISSN 1932-7420. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21459331> >.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Perguntas e Respostas em Fisiologia. 2.ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 272p.

HABIBUDDIN, M. et al. Antidiabetic effect of alcoholic extract of *Caralluma sinaica* L. on streptozotocin-induced diabetic rabbits. **J Ethnopharmacol**, v. 117, n. 2, p. 215-220, May 2008. ISSN 0378-8741. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18359177> >.

HADJADJ, S. et al. Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and diabetic nephropathy: case-control, haplotype, and family-based study in three European populations. **J Am Soc Nephrol**, v. 18, n. 4, p. 1284-1291, Apr 2007. ISSN 1046-6673. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17376814> >.

HE, W. et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. **Nature**, v. 429, n. 6988, p. 188-193, May 2004. ISSN 1476-4687. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15141213> >.

HENDARTO, H. et al. GLP-1 analog liraglutide protects against oxidative stress and albuminuria in streptozotocin-induced diabetic rats via protein kinase A-mediated inhibition of renal NAD(P)H oxidases. **Metabolism**, v. 61, n. 10, p. 1422-1434, Oct 2012. ISSN 1532-8600. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22554832> >.

HERMANN, K. et al. Measurement and characterization of angiotensin peptides in plasma. **Clin Chem**, v. 34, n. 6, p. 1046-1051, Jun 1988. ISSN 0009-9147. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2967740>>.

HOCHER, B. et al. Effects of endothelin receptor antagonists on the progression of diabetic nephropathy. **Nephron**, v. 87, n. 2, p. 161-169, Feb 2001. ISSN 1660-8151. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11244312>>.

HODGKINS, K. S.; SCHNAPER, H. W. Tubulointerstitial injury and the progression of chronic kidney disease. **Pediatr Nephrol**, v. 27, n. 6, p. 901-909, Jun 2012. ISSN 1432-198X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21947270>>.

HOLLENBERG, N. K. et al. Glomerular hemodynamics and the renin-angiotensin system in patients with type 1 diabetes mellitus. **Kidney Int**, v. 63, n. 1, p. 172-178, Jan 2003. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12472780>>.

HOSTETTER, T. H. et al. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. **Am J Physiol**, v. 241, n. 1, p. 85-93, Jul 1981. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7246778>>.

IMAI, T. et al. Induction of endothelin-1 gene by angiotensin and vasopressin in endothelial cells. **Hypertension**, v. 19, n. 6 Pt 2, p. 753-757, Jun 1992. ISSN 0194-911X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1592477>>.

JOHNSON, R. N.; METCALF, P. A.; BAKER, J. R. Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein. An index of diabetic control. **Clin Chim Acta**, v. 127, n. 1, p. 87-95, Jan 1983. ISSN 0009-8981. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6825313>>.

JÖHREN, O.; DENDORFER, A.; DOMINIAK, P. Cardiovascular and renal function of angiotensin II type-2 receptors. **Cardiovasc Res**, v. 62, n. 3, p. 460-467, Jun 2004. ISSN 0008-6363. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15158138>>.

KALINYAK, J. E. et al. The renin-angiotensin system in streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat. **J Am Soc Nephrol**, v. 4, n. 6, p. 1337-1345, Dec 1993. ISSN 1046-6673. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8130360>>.

KAMPER, M. et al. The antioxidant effect of angiotensin II receptor blocker, losartan, in streptozotocin-induced diabetic rats. **Transl Res**, v. 156, n. 1, p. 26-36, Jul 2010. ISSN 1878-1810. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20621034>>.

KANG, J. J. et al. The collecting duct is the major source of prorenin in diabetes. **Hypertension**, v. 51, n. 6, p. 1597-1604, Jun 2008. ISSN 1524-4563. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18413493>>.

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>>.

KIM, S. et al. Contribution of renal angiotensin II type I receptor to gene expressions in hypertension-induced renal injury. **Kidney Int**, v. 46, n. 5, p. 1346-1358, Nov 1994. ISSN 0085-2538. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7853793> >.

KIM, W. et al. Receptor for advanced glycation end products and its ligands: a journey from the complications of diabetes to its pathogenesis. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1043, p. 553-561, Jun 2005. ISSN 0077-8923. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16037278> >.

KITABCHI, A. E. et al. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. **Diabetes Care**, v. 32, n. 7, p. 1335-1343, Jul 2009. ISSN 1935-5548. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19564476> >.

KOBORI, H.; HARRISON-BERNARD, L. M.; NAVAR, L. G. Enhancement of angiotensinogen expression in angiotensin II-dependent hypertension. **Hypertension**, v. 37, n. 5, p. 1329-1335, May 2001a. ISSN 1524-4563. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11358949> >.

_____. Expression of angiotensinogen mRNA and protein in angiotensin II-dependent hypertension. **J Am Soc Nephrol**, v. 12, n. 3, p. 431-439, Mar 2001b. ISSN 1046-6673. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11181790> >.

KOBORI, H. et al. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. **Pharmacol Rev**, v. 59, n. 3, p. 251-287, Sep 2007. ISSN 0031-6997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17878513> >.

_____. Young Scholars Award Lecture: Intratubular angiotensinogen in hypertension and kidney diseases. **Am J Hypertens**, v. 19, n. 5, p. 541-550, May 2006. ISSN 0895-7061. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16647630> >.

KOGA, M.; KASAYAMA, S. Clinical impact of glycated albumin as another glyceimic control marker. **Endocr J**, v. 57, n. 9, p. 751-762, 2010. ISSN 1348-4540. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20724796> >.

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. **Physiological reviews**, v. 91, n. 1, p. 1-77, 2011. Disponível em: < <http://physrev.physiology.org/content/91/1/1.short> >.

KRAYNAK, A. R. et al. Extent and persistence of streptozotocin-induced DNA damage and cell proliferation in rat kidney as determined by in vivo alkaline elution and BrdUrd labeling assays. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 135, n. 2, p. 279-286, Dec 1995. ISSN 0041-008X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8545838> >.

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. 224-226, Nov 2004. ISSN 1533-4023. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15838285> >.

LEE, S. I. et al. Antihyperglycemic effect of Fomitopsis pinicola extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. **J Med Food**, v. 11, n. 3, p. 518-524, Sep 2008. ISSN 1557-7600. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18800901> >.

LEFKOWITZ, R. J.; SHENOY, S. K. Transduction of receptor signals by beta-arrestins. **Science**, v. 308, n. 5721, p. 512-517, Apr 2005. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15845844> >.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v. 51, n. 2, p. 216-226, Feb 2008. ISSN 0012-186X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18087688> >.

LEVY, B. I. How to explain the differences between renin angiotensin system modulators. **Am J Hypertens**, v. 18, n. 9 Pt 2, p. 134-141, Sep 2005. ISSN 0895-7061. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16125050> >.

LEWIS, E. J. et al. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. **N Engl J Med**, v. 329, n. 20, p. 1456-1462, Nov 1993. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8413456> >.

LI, Y.; LI, X. H.; YUAN, H. Angiotensin II type-2 receptor-specific effects on the cardiovascular system. **Cardiovasc Diagn Ther**, v. 2, n. 1, p. 56-62, Mar 2012. ISSN 2223-3652. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24282697> >.

LUIPPOLD, G. et al. Short- and Longterm Glycemic Control of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Using Different Insulin Preparations. **PLoS One**, v. 11, n. 6, p. e0156346, 2016. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27253523> >.

LUIS-RODRÍGUEZ, D. et al. Pathophysiological role and therapeutic implications of inflammation in diabetic nephropathy. **World J Diabetes**, v. 3, n. 1, p. 7-18, Jan 2012. ISSN 1948-9358. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22253941> >.

LUND, A. K. et al. Vehicular emissions induce vascular MMP-9 expression and activity associated with endothelin-1-mediated pathways. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 29, n. 4, p. 511-517, Apr 2009. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19150882> >.

LURBE, E. et al. Increase in nocturnal blood pressure and progression to microalbuminuria in type 1 diabetes. **N Engl J Med**, v. 347, n. 11, p. 797-805, Sep 2002. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12226150> >.

MALATIALI, S.; FRANCIS, I.; BARAC-NIETO, M. Phlorizin prevents glomerular hyperfiltration but not hypertrophy in diabetic rats. **Exp Diabetes Res**, v. 2008, p. 305403, 2008. ISSN 1687-5303. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18769499> >.

MAMENKO, M. et al. Angiotensin II increases activity of the epithelial Na⁺ channel (ENaC) in distal nephron additively to aldosterone. **J Biol Chem**, v. 287, n. 1, p. 660-671, Jan 2012. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22086923> >.

MANEA, S. A.; MANEA, A.; HELTIANU, C. Inhibition of JAK/STAT signaling pathway prevents high-glucose-induced increase in endothelin-1 synthesis in human endothelial cells. **Cell Tissue Res**, v. 340, n. 1, p. 71-79, Apr 2010. ISSN 1432-0878. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20217138> >.

MANEA, S. A.; TODIRITA, A.; MANEA, A. High glucose-induced increased expression of endothelin-1 in human endothelial cells is mediated by activated CCAAT/enhancer-binding proteins. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e84170, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24376792> >.

MARIC-BILKAN, C.; FLYNN, E. R.; CHADE, A. R. Microvascular disease precedes the decline in renal function in the streptozotocin-induced diabetic rat. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 302, n. 3, p. 308-315, Feb 2012. ISSN 1522-1466. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22031855> >.

MATSUI, T. et al. Nifedipine inhibits advanced glycation end products (AGEs) and their receptor (RAGE) interaction-mediated proximal tubular cell injury via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 398, n. 2, p. 326-330, Jul 2010. ISSN 1090-2104. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20599709> >.

MATSUSAKA, T. et al. Podocyte injury enhances filtration of liver-derived angiotensinogen and renal angiotensin II generation. **Kidney Int**, v. 85, n. 5, p. 1068-1077, May 2014. ISSN 1523-1755. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24284520> >.

_____. Liver angiotensinogen is the primary source of renal angiotensin II. **J Am Soc Nephrol**, v. 23, n. 7, p. 1181-1189, Jul 2012. ISSN 1533-3450. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22518004> >.

MAUER, M. et al. Renal and retinal effects of enalapril and losartan in type 1 diabetes. **N Engl J Med**, v. 361, n. 1, p. 40-51, Jul 2009. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19571282> >.

MAUER, S. M. et al. Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. **J Clin Invest**, v. 74, n. 4, p. 1143-1155, Oct 1984. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6480821> >.

MILLER, J. A. Impact of hyperglycemia on the renin angiotensin system in early human type 1 diabetes mellitus. **J Am Soc Nephrol**, v. 10, n. 8, p. 1778-1785, Aug 1999. ISSN 1046-6673. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10446946> >.

MIURA, S. I.; SAKU, K. Recent progress in the treatment of cardiovascular disease using olmesartan. **Clin Exp Hypertens**, Oct 2013. ISSN 1525-6006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24164503> >.

MOE, O. W. et al. Renin expression in renal proximal tubule. **J Clin Invest**, v. 91, n. 3, p. 774-779, Mar 1993. ISSN 0021-9738. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7680667>>.

MONKAWA, T. et al. The hypertrophic effect of transforming growth factor-beta is reduced in the absence of cyclin-dependent kinase-inhibitors p21 and p27. **J Am Soc Nephrol**, v. 13, n. 5, p. 1172-1178, May 2002. ISSN 1046-6673. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11961004>>.

MONNIER, V. M. Dietary advanced lipoxidation products as risk factors for human health--a call for data. **Mol Nutr Food Res**, v. 51, n. 9, p. 1091-1093, Sep 2007. ISSN 1613-4125. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17854005>>.

MOORADIAN, A. D. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. **Nat Clin Pract Endocrinol Metab**, v. 5, n. 3, p. 150-159, Mar 2009. ISSN 1745-8374. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19229235>>.

NANSSEU, J. R. et al. Fructosamine measurement for diabetes mellitus diagnosis and monitoring: a systematic review and meta-analysis protocol. **BMJ Open**, v. 5, n. 5, p. e007689, May 2015. ISSN 2044-6055. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25979870>>.

NAVAR, L. G. et al. Intrarenal angiotensin II levels in normal and hypertensive states. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**, v. 2, p. 176-184, Mar 2001. ISSN 1752-8976 (Electronic)1470-3203 (Linking). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1177/14703203010020013001>>.

_____. Enhancement of intrarenal angiotensin II levels in 2 kidney 1 clip and angiotensin II induced hypertension. **Blood Press Suppl**, v. 2, p. 88-92, 1995. ISSN 0803-8023. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7582082>>.

NISHIYAMA, A. et al. Systemic and Regional Hemodynamic Responses to Tempol in Angiotensin II-Infused Hypertensive Rats. **Hypertension**, v. 37, n. 1, p. 77-83, Jan 2001. ISSN 1524-4563. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11208760>>.

PADIA, Shetal H. et al. Renal Angiotensin Type 2 Receptors Mediate Natriuresis Via Angiotensin III in the Angiotensin II Type 1 Receptor-Blocked Rat. **Hypertension**, v. 47, n. 3, p. 537-544, 2006. Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/47/3/537.short>>..

POHL, M. et al. Intrarenal renin angiotensin system revisited: role of megalin-dependent endocytosis along the proximal nephron. **J Biol Chem**, v. 285, n. 53, p. 41935-41946, Dec 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20966072>>.

PRATT, R. E.; DZAU, V. J. Pharmacological strategies to prevent restenosis: lessons learned from blockade of the renin-angiotensin system. **Circulation**, v. 93, n. 5, p. 848-852, Mar 1996. ISSN 0009-7322. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8598073>>.

PRENTKI, M.; NOLAN, C. J. Islet β cell failure in type 2 diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 7, p. 1802, 2006. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1483155/>>.

PRICE, D. A. et al. The paradox of the low-renin state in diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol**. v.10, p. 2382–2391, 1999.

Disponível em : <<http://jasn.asnjournals.org/content/10/11/2382.long>>.

PRIETO, M. C.; GONZALEZ, A. A.; NAVAR, L. G. Evolving concepts on regulation and function of renin in distal nephron. **Pflugers Arch**, v. 465, n. 1, p. 121-132, Jan 2013. ISSN 0031-6768. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00424-012-1151-6> >.

PRIETO-CARRASQUERO, M. C. et al. Enhancement of collecting duct renin in angiotensin II-dependent hypertensive rats. **Hypertension**, v. 44, n. 2, p. 223-229, Aug 2004. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15226276> >.

QUEHENBERGER, P. et al. Endothelin 1 transcription is controlled by nuclear factor-kappaB in AGE-stimulated cultured endothelial cells. **Diabetes**, v. 49, n. 9, p. 1561-1570, Sep 2000. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10969841> >.

RAMESH, G.; BRIAN REEVES, W. Cisplatin increases TNF-alpha mRNA stability in kidney proximal tubule cells. **Ren Fail**, v. 28, n. 7, p. 583-592, 2006. ISSN 0886-022X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17050242> >.

RAMKUMAR, N.; KOHAN, D. E. Proximal tubule angiotensinogen modulation of arterial pressure. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 22, n. 1, p. 32-36, Jan 2013. ISSN 1473-6543. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23010762> >.

RAMKUMAR, N. et al. A possible interaction between systemic and renal angiotensinogen in the control of blood pressure. **Am J Hypertens**, v. 26, n. 4, p. 473-480, Apr 2013. ISSN 1941-7225. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23467203> >.

REMUZZI, G.; BENIGNI, A.; REMUZZI, A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. **J Clin Invest**, v. 116, n. 2, p. 288-296, Feb 2006. ISSN 0021-9738. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16453013> >.

RIVERO, A. et al. Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy. **Clin Sci (Lond)**, v. 116, n. 6, p. 479-492, Mar 2009. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19200057> >.

ROBBEN, J. H. et al. Localization of the succinate receptor in the distal nephron and its signaling in polarized MDCK cells. **Kidney Int**, v. 76, n. 12, p. 1258-1267, Dec 2009. ISSN 1523-1755. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19776718> >.

ROHRWASSER, A. et al. Elements of a paracrine tubular renin-angiotensin system along the entire nephron. **Hypertension**, v. 34, n. 6, p. 1265-1274, Dec 1999. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10601129> >.

RONCO, C. et al. Fluid Overload: Diagnosis and Management. **Contrib Nephrol. Basel, Karger**, 2010, vol 164, pp 118–127. Disponível em:< <https://www.karger.com/Article/Abstract/313725>>.

SADAGOPAN, N. et al. Circulating succinate is elevated in rodent models of hypertension and metabolic disease. **Am J Hypertens**, v. 20, n. 11, p. 1209-1215, Nov 2007. ISSN 0895-7061. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17954369> >.

SAKURAI, T. et al. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. **Nature**, v. 348, n. 6303, p. 732-735, 1990 Dec 20-27 1990. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2175397> >.

SALEH, M. A. et al. Endothelin-1 increases glomerular permeability and inflammation independent of blood pressure in the rat. **Hypertension**, v. 56, n. 5, p. 942-949, Nov 2010. ISSN 1524-4563. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20823379> >.

SAN-CRISTOBAL, P. et al. Angiotensin II signaling increases activity of the renal Na-Cl cotransporter through a WNK4-SPAK-dependent pathway. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, n. 11, p. 4384-4389, Mar 2009. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19240212> >.

SASSON, A. N.; CHERNEY, D. Z. Renal hyperfiltration related to diabetes mellitus and obesity in human disease. **World J Diabetes**, v. 3, n. 1, p. 1-6, Jan 2012. ISSN 1948-9358. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22253940> >.

SATO, H. et al. Increased excretion of urinary transforming growth factor beta 1 in patients with diabetic nephropathy. **Am J Nephrol**, v. 18, n. 6, p. 490-494, 1998. ISSN 0250-8095. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9845822> >.

SAYESKI, P. P. et al. Angiotensin II signal transduction pathways. **Regul Pept**, v. 78, n. 1-3, p. 19-29, Nov 1998. ISSN 0167-0115. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9879743> >.

SCHENA, F. P.; GESUALDO, L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol**, v. 16 Suppl 1, p. 30-33, Mar 2005. ISSN 1046-6673. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15938030> >.

SCHMITZ, U.; BERK, B. C. Angiotensin II signal transduction: Stimulation of multiple mitogen-activated protein kinase pathways. **Trends Endocrinol Metab**, v. 8, n. 7, p. 261-266, Sep 1997. ISSN 1043-2760. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18406813> >.

SCHNERMANN, J.; BRIGGS, J. Concentration-dependent sodium chloride transport as the signal in feedback control of glomerular filtration rate. **Kidney Int Suppl**, v. 12, p. 82-89, Aug 1982. ISSN 0098-6577. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6957681> >.

SCHNERMANN, J.; PLOTH, D. W.; HERMLE, M. Activation of tubulo-glomerular feedback by chloride transport. **Pflugers Arch**, v. 362, n. 3, p. 229-240, Apr 1976. ISSN 0031-6768. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/944430> >.

SCHULZ, A. et al. Absolute quantification of endogenous angiotensin II levels in human plasma using ESI-LC-MS/MS. **Clin Proteomics**, v. 11, n. 1, p. 37, 2014. ISSN 1542-6416. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25505856> >.

SIRAGY, H. M.; CAREY, R. M. The subtype 2 (AT₂) angiotensin receptor mediates renal production of nitric oxide in conscious rats. **J Clin Invest**, v. 100, n. 2, p. 264-269, Jul 1997. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9218502> >.

SLEEM, M. et al. Combination therapy with losartan and L-carnitine protects against endothelial dysfunction of streptozotocin-induced diabetic rats. **Eur J Pharmacol**, v. 744, p. 10-17, Dec 2014. ISSN 1879-0712. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25281836> >.

SOWERS, J. R. Update on the cardiometabolic syndrome. **Clin Cornerstone**, v. 4, n. 2, p. 17-23, 2001. ISSN 1098-3597. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11838324> >.

STRIDH, S. et al. Inhibition of mTOR activity in diabetes mellitus reduces proteinuria but not renal accumulation of hyaluronan. **Ups J Med Sci**, v. 120, n. 4, p. 233-240, 2015. ISSN 2000-1967. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26175092> >.

SINGH, R. et al. Role of angiotensin II in glucose-induced inhibition of mesangial matrix degradation. **Diabetes**, v. 48, n. 10, p. 2066-2073, 1999. Disponível em: < <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/48/10/2066.short> >.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiol Res**, v. 50, n. 6, p. 537-546, 2001. ISSN 0862-8408. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314> >.

TAMSMA, J. T. Renal and retinal effects of enalapril and losartan in type 1 diabetes. **N Engl J Med**, v. 361, n. 14, p. 1410; author reply 1411, Oct 2009. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19797291> >.

TAN, K. C. et al. Advanced glycation end products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 25, n. 6, p. 1055-1059, Jun 2002. ISSN 0149-5992. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12032114> >.

TERVAERT, T. W. et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol**, v. 21, n. 4, p. 556-563, Apr 2010. ISSN 1533-3450. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20167701> >.

TOMA, I. et al. Succinate receptor GPR91 provides a direct link between high glucose levels and renin release in murine and rabbit kidney. **J Clin Invest**, v. 118, n. 7, p. 2526-2534, Jul 2008. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18535668> >.

TOUYZ, R. M.; BERRY, C. Recent advances in angiotensin II signaling. **Braz J Med Biol Res**, v. 35, n. 9, p. 1001-1015, Sep 2002. ISSN 0100-879X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12219172> >.

TÓBON-VELASCO, J. C.; CUEVAS, E.; TORRES-RAMOS, M. A. Receptor for AGEs (RAGE) as mediator of NF- κ B pathway activation in neuroinflammation and oxidative stress. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, v. 13, n. 9, p. 1615-1626, 2014. ISSN 1996-3181. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25106630> >.

VALLON, V.; THOMSON, S. C. Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney. **Annu Rev Physiol**, v. 74, p. 351-375, 2012. ISSN 1545-1585. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22335797> >.

VAN DER LUBBE, N. et al. Angiotensin II induces phosphorylation of the thiazide-sensitive sodium chloride cotransporter independent of aldosterone. **Kidney Int**, v. 79, n. 1, p. 66-76, Jan 2011. ISSN 1523-1755. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20720527> >.

VARGAS, S. L. et al. Activation of the succinate receptor GPR91 in macula densa cells causes renin release. **J Am Soc Nephrol**, v. 20, n. 5, p. 1002-1011, May 2009. ISSN 1533-3450. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19389848> >.

VUKELIC, S.; GRIENDLING, K. K. Angiotensin II, from vasoconstrictor to growth factor: a paradigm shift. **Circ Res**, v. 114, n. 5, p. 754-757, Feb 2014. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24577962> >.

WALLNER, E. I. et al. Status of glucose transporters in the mammalian kidney and renal development. **Ren Fail**, v. 23, n. 3-4, p. 301-310, May-Jul 2001. ISSN 0886-022X (Print)0886-022X (Linking). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

WOLF, G.; CHEN, S.; ZIYADEH, F. N. From the periphery of the glomerular capillary wall toward the center of disease: podocyte injury comes of age in diabetic nephropathy. **Diabetes**, v. 54, n. 6, p. 1626-1634, Jun 2005. ISSN 0012-1797. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15919782> >.

WOLF, G. et al. Renal expression of aminopeptidase A in rats with two-kidney, one-clip hypertension. **Nephrol Dial Transplant**, v. 15, n. 12, p. 1935-1942, Dec 2000. ISSN 0931-0509. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11096137> >.

_____. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB through AT1 and AT2 receptors. **Kidney Int**, v. 61, n. 6, p. 1986-1995, Jun 2002. ISSN 0085-2538. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12028439> >.

YAMAGISHI, S.; MATSUI, T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy. **Oxid Med Cell Longev**, v. 3, n. 2, p. 101-108, 2010 Mar-Apr 2010. ISSN 1942-0994. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20716934> >.

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. 188-191, Dec 1988. ISSN 0952-1178. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2853725> >.

_____. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature**, v. 332, n. 6163, p. 411-415, Mar 1988. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2451132> >.

YOSHIOKA, K. et al. Distribution of type I collagen in human kidney diseases in comparison with type III collagen. **J Pathol**, v. 162, n. 2, p. 141-148, Oct 1990. ISSN 0022-3417. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2250192> >.

ZIMMERMAN, D.; BURNS, K. D. Angiotensin-(1-7) in kidney disease: a review of the controversies. **Clin Sci (Lond)**, v. 123, n. 6, p. 333-346, Sep 2012. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22639821> >.

ZIYADEH, F. N.; GOLDFARB, S. The renal tubulointerstitium in diabetes mellitus. **Kidney Int**, v. 39, n. 3, p. 464-475, Mar 1991. ISSN 0085-2538. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2062033> >.

ZIYADEH, F. N.; WOLF, G. Pathogenesis of the podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy. **Curr Diabetes Rev**, v. 4, n. 1, p. 39-45, Feb 2008. ISSN 1875-6417. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18220694> >.

ZOJA, C. et al. Distinct cardiac and renal effects of ETA receptor antagonist and ACE inhibitor in experimental type 2 diabetes. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 301, n. 5, p. 1114-1123, Nov 2011. ISSN 1522-1466. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21816757> >.