

KELLY PRISCILA PANDOLFI

**Efeitos da aldosterona sobre a expressão proteica do EGFR e ERK1/2
fosforilados e o desenvolvimento de lesões no rim de ratos**

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

Orientação: Profa. Dra. Margarida de Mello Aires

Versão original

São Paulo
2015

RESUMO

PANDOLFI, K. P. **Efeitos da Aldosterona sobre a expressão proteica do EGFR e ERK1/2 fosforilados e o desenvolvimento de lesões no rim de ratos.** 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do tratamento com a aldosterona (Aldo), por 21 dias, sobre a função e a morfologia renal de ratos, procurando correlacionar as alterações com a expressão do EGFR e da ERK1/2 fosforilados. A Aldo não alterou os parâmetros fisiológicos, a PA e a função renal dos ratos, mas verificou-se uma tendência para a redução das concentrações plasmáticas de K^+ . No córtex e na medula renal, a Aldo aumentou a expressão do EGFR e da ERK1/2 fosforilados, sendo que este efeito foi abolido pelo tratamento concomitante com a espironolactona ou o RU 486 (antagonistas dos receptores da Aldo). O tratamento hormonal também induziu um aumento na marcação imuno-histoquímica para essas proteínas no córtex e medula; contudo, este efeito foi reduzido, principalmente, com o tratamento conjunto com a espironolactona. Observou-se um aumento na área glomerular e na porcentagem da área intersticial, após o tratamento com a Aldo. As alterações na morfometria renal foram parcialmente reduzidas pelo tratamento com a espironolactona ou o RU 486. Esses resultados indicam que a Aldo pode induzir alterações morfológicas no rim, aparentemente, de maneira dependente dos receptores MR e GR e da via do EGFR-ERK1/2, mas sem o comprometimento da função renal.

Palavras-chave: Aldo. Efeito genômico. EGFR. ERK1/2. Injúrias renais.

ABSTRACT

PANDOLFI, K. P. **Aldosterone effects on the protein expression of phosphorylated EGFR and ERK 1/2 and development of lesions in the rat kidney.** 2015. 67 f. Masters thesis (Human Physiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

The purpose of this study was to evaluate the effect of 21 days of treatment with aldosterone (Aldo) in the renal function and morphology of rats, correlating changes with the expression of EGFR and ERK1/2 phosphorylated. The Aldo did not alter physiological parameters, blood pressure and renal function of rats, but there was a tendency to reduce K⁺ plasma concentrations. In renal cortex and medulla, Aldo increased the expression of EGFR and ERK1/2 phosphorylated and this effect was abolished by treatment Aldo plus spironolactone or RU 486 (Aldo receptor antagonists). Hormonal treatment also induced an increase in immunohistochemical staining for these proteins in the cortex and medulla; however, this effect was limited mainly to treatment Aldo plus spironolactone. There was an increase in glomerular area and the percentage of interstitial area after treatment with Aldo. Changes in renal morphology were partially reduced by treatment Aldo plus spironolactone or RU 486. These results indicate that Aldo may induce morphological changes in the kidney of dependent manner of MR and GR receptors and EGFR-ERK1/2 signaling, but without the impairment of renal function.

Keywords: ALDO. Genomic effect. EGFR. ERK 1/2. Kidney injuries.

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A Aldosterona (Aldo) é um hormônio mineralocorticoide produzido e liberado pela glândula adrenal em resposta a dois estímulos fisiológicos muito distintos: 1) a produção de angiotensina II pelo sistema renina-angiotensina-Aldo (SRAA), que ocorre em situações de hipovolemia e de hipotensão, ou 2) concentração plasmática elevada de K^+ , responsável pela despolarização da membrana das células secretoras de Aldo (THOMAS; HARVEY, 2011).

O mecanismo de ação da Aldo tem sido o objeto de muitos estudos, não só pela sua grande importância na regulação do balanço de sal e água, mas também pelo seu papel no desenvolvimento de doenças cardiovasculares e renais. Além do papel fisiológico no transporte iônico renal, a Aldo também induz lesões e participa da patogênese da disfunção renal, a partir do estímulo à lesão mesangial glomerular e à fibrose renal (HUANG et al., 2009; KRUG et al., 2003; NISHIYAMA et al., 2005; RAFIQ et al., 2011). Vários mecanismos têm sido propostos para a ação patológica da Aldo no rim, entre eles: a rápida ativação do receptor do fator de crescimento epidermal (EGFR) e da via das quinases reguladas por sinal extracelular (ERK1/2).

O envolvimento da Aldo na disfunção renal progressiva, principalmente pela via da ativação do receptor para mineralocorticoide (MR) já é conhecido. No entanto, trabalhos do nosso grupo de pesquisa e de outros autores sugerem a participação do receptor para glicocorticoides (GR) no mecanismo de ação da Aldo, baseados no fato de que o GR apresenta 94% de homologia com o MR e o antagonismo ao GR (induzido pelo RU 486) reduz várias respostas renais e extra renais, promovidas pela Aldo (LEITE-DELLOVA et al., 2008; ROSSIER; PYTHON; MATURANA, 2010).

Estudos que contribuam para o entendimento da disfunção renal progressiva, induzida pela Aldo, são muito importantes para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, que poderão impedir o estabelecimento ou retardar a progressão desta doença.

Sendo assim, neste projeto estudou-se o efeito do tratamento com Aldo por 21 dias sobre a expressão do EGFR e da ERK1/2 no rim, o envolvimento dos receptores MR e GR no efeito hormonal e o possível desenvolvimento de lesões no rim de ratos, a longo prazo.

8 CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que:

- O modelo experimental constituído pelo tratamento com Aldo por 21 dias e dieta padrão pode auxiliar no estudo das vias de sinalização e das lesões teciduais induzidas pela Aldo;
- As alterações nas concentrações plasmáticas de K^+ são condizentes com o mecanismo de ação da Aldo e da Espiro;
- As concentrações plasmáticas de Na^+ e a PA não se alteraram com o tratamento hormonal, provavelmente pela ocorrência do “efeito escape da Aldo”
- A Aldo aumentou a expressão do EGFR e da ERK1/2 no rim, aparentemente, por um mecanismo dependente dos receptores MR e GR;
- Mesmo sem a suplementação extra com NaCl, a Aldo pode induzir alterações morfológicas no rim, aparentemente, de maneira dependente dos receptores MR e GR e da via do EGFR-ERK1/2, mas sem o comprometimento da função renal.

REFERÊNCIAS*

BADER, M. Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: targets for pharmacological therapy. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, 2010.

BARRETO-CHAVES, M. L. M.; LEITE-DELLOVA, D. C. A.; GOMES, D. A.; GOMES, G. N.; MAGALDI, A. J.; GIL F. Z.; LOPES, A. G.; LESSA, L. M. A.; FONTELES, M. C. Rim e hormônios. In: MELLO-AIRES, M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2012. cap. 55, p.792-796.

BARRERA-CHIMAL, J.; BOBADILLA, N. A. Are recently reported biomarkers helpful for early and accurate diagnosis of acute kidney injury? **Biomarkers**, v. 17, p. 385–393, 2012.

BLASI, E. R.; ROCHA, R.; RUDOLPH, A. E.; BLOMME, E. A.; POLLY, M. L.; MCMAHON, E.G. Aldosterone/salt induces renal inflammation and fibrosis in hypertensive rats. **Kidney Int.**, v. 63, p. 1791-1800, 2003.

BOOTH, R. E.; JOHN, P. J.; STOCKAND, J. D. Aldosterone. **Ad. Physiol. Educ.**, v. 26, p. 8-20, 2002.

BRAGA-SOBRINHO, C.; LEITE-DELLOVA, D. C. A.; MELLO-AIRES, M. Action of ANP on the nongenomic dose-dependent biphasic effect of Aldosterone on NHE1 in proximal S3 segment. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 128, n. 3-5, p. 89-97, 2012.

BROWN, N. J. Contribution of aldosterone to cardiovascular and renal inflammation and fibrosis. **Nat. Rev. Nephrol.**, v. 9, p. 459–469, 2013.

CASTAGLIUOLO, I.; KARALIS, K.; VALENICK, L.; PASHA, A.; NIKULASSON, S.; WLK, M.; POTHOUKAKIS, C. Endogenous corticosteroids modulate *Clostridium Difficile* toxin A-induced enteritis in rats. **Am. J. Physiol.**, v. 280, p. 539-545, 2001.

CHEN, Y.; WANG, Y.; ZHUANG, Y.; ZHOU, F.; HUANG, L. Mifepristone increases the cytotoxicity of uterine natural killer cells by acting as a glucocorticoid antagonist via ERK activation. **PloS One**, v. 7, e36413, 2012.

COUETTE, B.; LOMBES, M.; BAULIEU, E. E.; OBLIN-RAFESTIN, M. E. Aldosterone antagonists destabilize the mineralocorticoid receptor. **Biochem. J.**, v. 282, p. 697-70, 1992.

COWA, N. K. J.; STOREY, K. B. Mitogen-activated protein kinases: new signaling pathways functioning in cellular responses to environmental stress. **J. Exp. Biol.**, v. 206, p. 1107–1115, 2003.

DOI, T.; DOI, S.; NAKASHIMA, A.; UENO, T.; YOKOYAMA, Y.; KOHNO, N.; MASAKI, T. Mizoribine ameliorates renal injury and hypertension along with the attenuation of renal caspase-1 expression in aldosterone-salt-treated rats. **PloS One**, v. 9, n. 4, 2014.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referência: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

EGUTI, D. M. N.; THIEME, K.; LEUNG, G.; MELLO-AIRES, M.; OLIVEIRA-SOUZA M. Regulation of Na⁺/H⁺ exchanger isoform 1 (NHE1) by calmodulin-binding sites: role of angiotensin II. **Cell. Physiol. Biochem.**, v. 26, p. 541-552, 2010.

ELIAS, L. L. K.; ROSA, F. F.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CASTRO, M. Glândula adrenal. In: MELLO-AIRES, M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2012. cap. 69, p.1089-1095.

FARAH, H.M.; LAUFGRABEN, M.J. Mifepristone for management of cushing's syndrome. **Pharmacotherapy**, v. 33, n. 3, p. 319–329, 2013.

FULLER, P. J.; YAO, Y.; YANG, J.; YOUNG, M. J. Mechanisms of ligand specificity of the mineralocorticoid receptor. **J. Endocrinol**, v. 213, p. 215–224, 2012.

FUNDER, J. W. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: Biology and clinical relevance. **Annu. Rev. Med.**, v. 48, p. 231–240, 1997.

FUNDER, J. W. The genetic basis of primary aldosteronism. **Curr. Hypertens. Rep.**, v. 14, n. 2, p. 120-124, 2012.

GAGE, G. J.; KIPKE, D. R.; SHAIN, W. Whole animal perfusion fixation for rodents. **J. Vis. Exp.**, v. 65, p. e3564, 2012.

GEKLE, M.; FREUDINGER, R.; MILDENBERGER, S. Aldosterone interaction with epidermal growth factor receptor signaling in MDCK cells. **Am. J. Physiol.**, v. 282, p. 669–679, 2002.

GEKLE, M.; GROSSMANN, C. "Actions of aldosterone in the cardiovascular system: the good; the bad; and the ugly?." **Pflügers. Arch.**, v. 458, n. 2, p. 231-246, 2009.

GOOD, D. W. Nongenomic actions of aldosterone on the renal tubule. **Hypertension**, v. 49, p. 728–739, 2007.

GROSSMANN, C.; GEKLE, M. Nongenotropic aldosterone effects and the EGFR: interaction and biological relevance. **Steroids**, v. 73, p. 973–978, 2008.

GROSSMANN, C.; FREUDINGER, R.; MILDENBERGER, S.; KRUG, A. W.; GEKLE, M. Evidence for epidermal growth factor receptor as negative-feedback control in aldosterone-induced Na⁺ reabsorption. **Am. J. of Physiol.**, v. 286, n. 6, p. 1226-1231. 2009

HACKEL, P. O.; ZWICK, E.; PRENZEL, N.; ULLRICH, A. Epidermal growth factor receptors: critical mediators of multiple receptor pathways. **Curr. Opin. Cell. Biol.**, v. 11, p. 184–189, 1999.

HARVEY, B. J.; ALZAMORA, R.; HEALY, V.; RENARD, C.; DOOLAN, C. M. Rapid responses to steroid hormones: from frog skin to human colon. An homage to Hans Ussing. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1566, p. 116–128, 2002.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O. T.; GONZÁLEZ-GARCÍA, T. K.; CAMACHO-ARROYO, I. Progesterone receptor and SRC-1 participate in the regulation of VEGF, EGFR

and Cyclin D1 expression in human astrocytoma cell lines. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, v. 132, n. 1-2, p. 127-134, 2012.

HUANG, L. L.; NIKOLIC-PATERSON, D. J.; MA, F. Y.; TESCH, G. H. Aldosterone induces kidney fibroblast proliferation via activation of growth factor receptors and PI3K/MAPK signalling. **Nephron. Exp. Nephrol.**, v. 120, n. 4, p. 115-122, 2012.

HUANG, S.; ZHANG, A.; DING, G.; CHEN, R. Aldosterone-induced mesangial cell proliferation is mediated by EGF receptor transactivation. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 296, p. 1323–1333, 2009.

JEUNESSE, E.; WOEHRLE, F.; SCHNEIDER, M.; LEFEBVRE, H. P. Effect of spinorolactone on diuresis and urine sodium and potassium excretion in healthy dogs. **J. Vet. Cardiol.**, v. 9, p. 63-68, 2007.

JOHANSSSEN, S.; ALLOLIO, B. Mifepristone (RU486) in Cushing's syndrome. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 157, p. 561–569, 2007.

KIYOMOTO, H.; RAFIQ, K.; MOSTOFA, M.; NISHIYAMA, A. Possible underlying mechanisms responsible for aldosterone and mineralocorticoid receptor-dependent renal injury. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 108, p. 399–405, 2008

KRUG, A. W.; SCHUSTER, C.; GASSNER, B.; FREUDINGER, R.; MILDENBERGER, S.; TROPFMAIR, J.; GEKLE, M. Human epidermal growth factor receptor-1 expression renders Chinese hamster ovary cells sensitive to alternative aldosterone signaling. **J. Biol. Chem.**, v. 277, p. 45892–45897, 2002.

KRUG, A. W.; GROSSMANN, C.; SCHUSTER, C.; FREUDINGER, R.; MILDENBERGER, S.; GOVINDAN, M. V.; GEKLE, M. Aldosterone stimulates epidermal growth factor receptor expression. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 43060–43066, 2003.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680–685, 1970.

LALÉVÉE, N.; REBSAMEN, M. C.; BARRÈRE-LEMAIRE, S.; PERRIER, E.; NARGEOT, J.; BÉNITAH, J. P.; ROSSIER, M. F. Aldosterone increases T-type calcium channel expression and in vitro beating frequency in neonatal rat cardiomyocytes. **Cardiovasc. Res.**, v. 67, p. 216–224, 2005.

LEITE-DELLOVA, D. C. A.; OLIVEIRA-SOUZA, M.; MALNIC, G.; MELLO-AIRES, M. Genomic and nongenomic effects of aldosterone on Na⁺/H⁺ exchanger in proximal S3 segment: role of cytosolic Calcium. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 295, p. F1342-F1352, 2008.

LI, J. Y.; ZHANG, S. L.; REN, M.; WEN, Y. L.; YAN, L.; CHENG, H. High-sodium intake aggravates myocardial injuries induced by aldosterone via oxidative stress in Sprague-Dawley rats. **Acta. Pharm. Sinic.**, v. 33, n. 3, p. 393-400, 2012.

LIANG, W.; CHEN, C.; SHI, J.; REN, Z.; HU, F.; VAN-GOOR, H.; SINGHAL, P.C.; DING, G. Disparate effects of eplerenone, amlodipine and telmisartan on podocyte injury in aldosterone infused rats. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 26, n. 3, p.789-99, 2011.

LÖSEL, R.; WEHLING, M. Nongenomic actions of steroid hormones. **Nat. Rev. Mol. Cell. Bio.**, v. 4, p. 46-56, 2003.

MACHADO, H.; GUERRA, M. O.; PETERS, V.M. Implantação e Padronização da Técnica de aferição indireta da pressão arterial em ratos Wistar da Colônia do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução (CBR). **Rev. Inter. Est. Exp.**, v. 2, n. 2, p.60- 61, 2010.

MALNIC, G.; ANSALDO, M.; LANTOS, C. P.; DAMASCO, M. C. Regulation of nephron acidification by corticosteroids. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30(4), p. 479-486, 1997.

MALNIC, G.; GEIBEL, J. P. Cell pH and H⁺ secretion by S3 segment of mammalian kidney: Role of H⁺-ATPase and Cl⁻. **J. Memb. Biol.**, v. 178, p. 115-125; 2000.

MARVER, D. M.; KOKKO, J. P. Renal target sites and the mechanism of action of aldosterone. **Mineral Electrolyte Metab.**, v. 9, p. 1-18, 1983.

MATHEW, J. T.; PATNI, H.; CHAUDHARY, A. N.; LIANG, W.; GUPTA, A.; CHANDER, P. N.; DING, G.; SINGHAL, P. C. Aldosterone Induces Mesangial Cell Apoptosis both *in vivo* and *in vitro*. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 295, p. F73–F81, 2008.

MELLO-AIRES, M. Excreção renal de solutos. In: _____. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2012a. cap. 51, p.732-747.

MELLO-AIRES M. Papel do rim na regulação do volume e da tonicidade do fluido extracelular. In: _____. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2012b. cap. 53, p.750-781.

MICHLIG, S.; MERCIER, A.; DOUCET, A.; SCHILD, L.; HORISBERGER, J. D.; ROSSIER, B. C.; FIRSOV, D. ERK1/2 controls Na⁺/K⁺-ATPase activity and transepithelial sodium transport in the principal cell of the cortical collecting duct of the mouse kidney. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 51002–51012, 2004.

MIHAILIDOU, A. S. Nongenomic actions of aldosterone: physiological or pathophysiological role? **Steroids**, v. 71, n. 4, p. 277-80, 2006.

MOGHAL, N.; STERNBERG, P. W. Multiple positive and negative regulators of signaling by the EGF-receptor. **Curr. Opin. Cell. Biol.**, v. 11, p. 190–196, 1999

NAMSOLLECK, P.; UNGER, T. Aldosterone synthase inhibitors in cardiovascular and renal diseases. **Nephrol. Dial. Transplant**, v. 29, n. 1, p. i62–i68, 2014.

NIELSEN, J.; KWON, T.nH.; FROKIAER, J.; KNEPPER, M. N. A.; NIELSEN, S. Maintained ENaC trafficking in aldosterone-infused rats during mineralocorticoid and glucocorticoid receptor blockade. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 292, n. 1, p. F382-F394, 2007.

NISHIYAMA, A.; YAO, L.; FAN, Y.; KYAW, M.; KATAOKA, N.; HASHIMOTO, K.; NAGAI, Y.; NAKAMURA, E.; YOSHIZUMI, M.; SHOKOJI, T.; KIMURA, S.; KIYOMOTO,

H.; TSUJIOKA, K.; KOHONO, M.; TAMAKI, T.; KAJIYA, F.; ABE, Y. Involvement of aldosterone and mineralocorticoid receptors in rat mesangial cell proliferation and deformability. **Hypertension**, v. 45, p. 710–716, 2005.

OBERLEITHNER, H. Unorthodox sites modes of aldosterone action. **News Physiol. Sci.**, v. 19, p. 51-54, 2004.

ODERMATT, A.; ATANASOV, A.vG. Mineralocorticoid receptors: emerging complexity and functional diversity. **Steroids**, v. 74, p. 163–171, 2009.

OGAWA, Y.; MUKOYAMA, M.; YOKOI, H.; KASAKA, M.; MORI, K.; KATO, Y.; KUWABARA, T.; IMAMAKI, H.; KAWANISHI, T.; KOGA, K.; ISHII, A.; TOKUDOME, T.; KISHIMOTO, I.; SUGAWARA, A.; NAKAO, K. Natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A protects podocytes from aldosterone-induced glomerular injury. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 23, p. 1198–1209, 2012.

OPENSTAX COLLEGE. 2013. Disponível em: <https://openstaxcollege.org/about>. Acesso em: 04 out. 2014.

PANDOLFI, K. P.; SZRIBER, S. J.; LEITE-DELLOVA, D. C. A.; MELLO-AIRES, M. Rapid and Long Term Aldosterone Effect on the EGFR and ERK1/2 Phosphorylation in Rat Kidney (*in vivo*). **The FASEB Journal**, v. 29, p. 812.5, 2015.

PARK, J. B.; SCHIFFRIN, E. L. ETA receptor antagonist prevents blood pressure elevation and vascular remodeling in aldosterone-infused rats. **Hypertension**, v. 37, p. 1444-1449, 2001.

PEARCE, D.; KLEYMAN, T. R. Salt, Sodium channels, and SGK1. **The J. Clin. Inves.**, v. 117, p. 592-595, 2007.

PERGHER, P. S.; LEITE-DELLOVA, D. C. A.; MELLO-AIRES, M. Direct action of aldosterone on bicarbonate reabsorption in vivo cortical proximal tubule. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 296 (5), p. F1185-F1193, 2009.

RAFIQ, K.; HITOMI, H.; NAKANO, D.; NISHIYAMA, A. Pathophysiological roles of aldosterone and mineralocorticoid receptor in the kidney. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 115, p. 1-7, 2011.

ROSSIER, M. F.; PYTHON, M.; MATURANA, A. D. Contribution of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors to the chronotropic and hypertrophic actions of aldosterone in neonatal rat ventricular myocytes. **Endocrinol.**, v. 151(6), p. 2777–2787, 2010.

SADEE, W.; RIEGELMAN, S.; JONES, S. Disposition of tritium-labeled spironolactone in the dog. **J. Pharm. Sci.**, v. 61, p. 1132–1135, 1972.

SEIGNEUX, S.; NIELSEN, J.; OLESEN, E. T.; DIMKE, H.; KWON, T. H.; FRØKIÆR, J.; NIELSEN, S. Long-term aldosterone treatment induces decreased apical but increased basolateral expression of AQP2 in CCD of rat kidney. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 293, n. 1, p. F87-F99, 2007.

SHIBATA, S.; NAGASE, M.; YOSHIDA, S.; KAWACHI, H.; FUJITA, T. Podocyte as the target for aldosterone: Roles of oxidative stress and Sgk1. **Hypertension**, v. 49, p. 355–364, 2007.

SINPHITUKKUL, K.; EIAM-ONG, S.; MANOTHAM, K.; EIAM-ONG, S. Nongenomic effects of aldosterone on renal protein expressions of pEGFR and pERK1/2 in rat kidney. **Am. J. Nephrol.**, v. 33, p. 111–120, 2011.

STREET, J. M.; SOUZA, A. C. P.; ALVAREZ-PRATS, A.; HORINO, T.; HU, X.; YUEN, P. S.; STAR, R. A. Automated quantification of renal fibrosis with Sirius Red and polarization contrast microscopy. **Physiol. Rep.**; v. 2, n. 7, e12088, 2014.

SUN, Y.; ZHANG, J.; LU, L.; CHEN, S. S.; QUINN, M. T.; WEBER, K. T. Aldosterone-Induced Inflammation in the Rat Heart : Role of Oxidative Stress. **Am. J. Pathol.**, v. 161, p. 1773–1781, 2002

TODD-TURLA, K. M.; SCHNERMANN, J.; FEJES-TOTH, G.; NARAY-FEJES-TOTH, A.; SMART, A.; KILLEN, P. D.; BRIGGS, J. P. Distribution of mineralocorticoid and glucocorticoid receptor mRNA along the nephron. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. F781-F791, 1993.

THOMAS, W.; DOOLEY, R.; HARVEY, B. J. Aldosterone as a renal growth factor. **Steroids**, v. 75, n. 8-9, p. 550-554, 2010.

THOMAS, W.; HARVEY, B. J. Mechanisms Underlying Rapid Aldosterone Effects in the Kidney. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 73, p. 5.1–5.23, 2011.

TSAI, E. M.; CHAN, T. F.; CHEN, Y. H.; HSU, S. C.; CHUANG, C. Y.; LEE, J. N. Mifepristone attenuates human chorionic gonadotropin–induced extracellular signal–regulated kinase 1/2 phosphorylation, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E production in human granulosa luteal cells. **Fertil and Steril**, v. 89, n. 5, p. 1522-1529, 2008.

WADA, T.; PENNINGER, J. M. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation. **Oncogene**, v. 23, p. 2838–2849, 2004.

WANG, X. Y.; MASILAMANI, S.; NIELSEN, J.; KWON, T. H.; BROOKS, H. L.; NIELSEN, S.; KNEPPER, M. A. The renal thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter as mediator of the aldosterone-escape phenomenon. **J. Clin. Invest.**, v. 108, p. 215-222, 2001.

WATTS, B. A.; GEORGE-THIRD, T.; GOOD, D. W. Aldosterone inhibits apical NHE3 and HCO₃⁻ absorption via a nongenomic ERK-dependent pathway in medullary thick ascending limb. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 291, p.1005-1013, 2006.

WILLIAMS, J. S. Evolving research in nongenomic actions of Aldosterone. **Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.**, v. 20, p. 198–203, 2013.

WILSON, R. P.; ZAGON, I. S.; LARACH, D. R. Cardiovascular and respiratory effects of tiletamine-zolazepam. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 44, p. 1-8, 1993.

XU, G.; LIU, A.; LIU, X. Aldosterone induces collagen synthesis via activation of extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 in renal proximal tubules. **Nephrol.**, v. 13, p. 694–701, 2008.

ZHONG, D. S. Mineralocorticoid receptor: a critical player in vascular remodeling. **Sci. China Life Sci.** , v. 57, n. 8, p. 809-817, 2014.