

VANESSA GEROLDE CARDOSO

O PAPEL DA OBESIDADE NO DESENVOLVIMENTO DE
LESÕES RENAIIS E DA BARREIRA DE ULTRAFILTRAÇÃO
GLOMERULAR: CONTRIBUIÇÕES DE LEPTINA

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

São Paulo

2021

VANESSA GEROLDE CARDOSO

O PAPEL DA OBESIDADE NO DESENVOLVIMENTO DE
LESÕES RENAIIS E DA BARREIRA DE ULTRAFILTRAÇÃO
GLOMERULAR: CONTRIBUIÇÕES DE LEPTINA

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

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Profa. Dra. Maria Oliveira de Souza

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

São Paulo

2021

RESUMO

CARDOSO, V. G. **O papel da obesidade no desenvolvimento de lesões renais e da barreira de ultrafiltração glomerular: contribuições de leptina.** 2021. 85f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Introdução: A obesidade está associada a múltiplos fatores de risco para o desenvolvimento de comorbidades como inflamação sistêmica e lesões renais. Lesões na barreira de ultrafiltração glomerular podem causar comprometimento do processo de filtração glomerular. A nefrina é um dos principais componentes da barreira de ultrafiltração glomerular, portanto, alterações na expressão desta proteína indicam comprometimento da função renal. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar o papel da obesidade, assim como da inflamação e da angiotensina II, no desenvolvimento de lesões renais e da barreira de ultrafiltração glomerular. A contribuição da leptina para a função renal neste contexto também foi avaliada. **Métodos:** Foram utilizados 44 camundongos, sendo 16 C57BL/6J e 28 ob/ob. Os animais foram distribuídos em dois protocolos experimentais. No primeiro, os camundongos tinham cerca de 8 semanas e foram tratados com leptina por 28 dias, no segundo os animais tinham 18 semanas e foram tratados com leptina por 42 dias. Os camundongos dos dois protocolos foram distribuídos em três grupos: controle magro (CTL), obesos (ob/ob) e obesos tratados com leptina (ob/ob - lep). O tratamento com leptina foi realizado por meio de inserção de minibomba osmótica. As minibombas foram preenchidas com solução contendo leptina na dose de 3,5µg/dia por 28 ou 42 dias. Durante o período de tratamento, a ingestão de alimentos foi monitorada diariamente. O ganho de peso e a glicemia foram monitorados semanalmente. Ao final do período de tratamento, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas por 24 horas para avaliação da ingestão de água e coleta de urina. Por fim, os animais foram submetidos à eutanásia e foi feita coleta de sangue e tecido renal. A função renal foi avaliada pela concentração plasmática de creatinina e uréia e pela excreção urinária de albumina. O tecido renal foi utilizado para avaliar a expressão gênica por qPCR, análises histológicas e imunofluorescência. **Resultados:** No protocolo experimental de 28 dias, o tratamento com leptina parece não ter sido eficaz já que não houve redução no peso dos animais obesos tratados com leptina em relação aos animais obesos sem tratamento. Porém, os camundongos obesos apresentaram alterações discretas como, aumento da ureia plasmática, na expressão de angiotensinogênio e de MCP1 no tecido renal e da área glomerular. O tratamento com leptina não foi capaz de reverter a maior parte dos parâmetros observados. Estes resultados indicam que em camundongos *ob/ob*, há alteração renal mesmo em animais jovens. Já no protocolo de 42 dias, a redução de peso e medidas plasmáticas de leptina confirmaram a eficiência do tratamento com este hormônio. Nos animais obesos houve aumento da creatinina e ureia plasmática, na excreção urinária de albumina e na expressão de fatores inflamatórios e de componentes do sistema renina angiotensina intrarrenal. A leptina se mostrou parcialmente renoprotetora. Neste grupo, não houve hipertrofia glomerular nos animais obesos, porém, houve redução da expressão de nefrina e proliferação celular que pode indicar expansão mesangial, o tratamento com leptina não reverteu esses parâmetros. **Conclusão:** A obesidade prejudica a função renal, aumenta a expressão de moléculas inflamatórias e do SRA intrarrenal e diminui a expressão de nefrina. A terapia com leptina foi parcialmente renoprotetora, uma vez que reverteu alguns dos parâmetros observados. As características renais dos animais obesos têm muitas semelhanças com a glomerulopatia relacionada a obesidade.

Palavras-chave: Obesidade. Leptina. Injúria renal. Glomerulopatia.

ABSTRACT

CARDOSO, V. G. **The role of obesity in the development of kidney and glomerular ultrafiltration barrier injuries: leptin contributions.** 2021. 85 p. Doctorate thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2021.

Introduction: Obesity is associated with multiple risk factors to the development of comorbidities such as systemic inflammation and kidney injuries. Lesions in the glomerular ultrafiltration barrier may cause impairment of the kidney filtration process. Nephritin is one of the main components of the glomerular ultrafiltration barrier, therefore changes in the expression of this protein indicate impaired renal function. Thus, this study aimed to investigate the role of obesity as well as inflammation and angiotensin II, in the development of kidney and glomerular ultrafiltration barrier injuries. The contribution of leptin to kidney function in this context was also evaluated. **Methods:** Forty-four mice were used in this study, sixteen C57BL / 6J and twenty-eight obese ob/ob mice. The animals were distributed in two experimental protocols. In the first protocol, the mice were about eight weeks old and treated with leptin for 28 days; in the second protocol, the animals were eighteen weeks old and were treated with leptin for 42 days. Mice from the two protocols were randomly distributed into three groups: lean control (CTL), obese (ob/ob) and obese treated with leptin (ob/ob - lep). Leptin treatment was carried out by inserting an osmotic mini-pump. The mini-pumps were filled with a solution containing leptin at a dose of 3.5 µg/day for 28 or 42 days. During the treatment period, food intake was monitored daily. Weight gain and blood glucose were monitored weekly. At the end of the treatment period, the animals were kept in metabolic cages for 24 hours to assess water intake and urine collection. Finally, the animals were euthanized and blood and renal tissue were collected. Renal function was assessed by plasma creatinine and urea concentration and urinary albumin excretion. Renal tissue was used to evaluate gene expression by qPCR, histological analysis and immunofluorescence. **Results:** In the 28-days experimental protocol, leptin treatment did not seem to have been effective since there was no reduction in the leptin treated obese animals weight compared to obese animals without treatment. However, obese mice of this group showed mild changes such as increased plasma urea, increased expression of angiotensinogen and MCP1 in renal tissue and increased glomerular area. Leptin treatment was not able to reverse most of the observed parameters. These results indicate that in ob/ob mice, there is renal alteration in young animals. In the 42-days protocol, weight reduction and plasma leptin measurements confirmed the efficiency of leptin treatment. In obese animals, there was an increase in plasma urea, urinary albumin excretion, expression of inflammatory factors and components of the intrarenal renin-angiotensin system. In these parameters, leptin was partially renoprotective. In this group, there was no glomerular hypertrophy in obese animals, however, there was a reduction in nephritin expression and cell proliferation that may indicate mesangial expansion, and leptin treatment did not reverse these parameters. **Conclusion:** Obesity impairs renal function, increases the expression of inflammatory molecules and intrarenal RAS and decreases the expression of nephritin. Leptin therapy was partially renoprotective, since it reversed some of the observed parameters. The renal characteristics of obese animals have many similarities to obesity-related glomerulopathy.

Keywords: Obesity. Leptin. Kidney injury. Glomerulopathy.

AGRADECIMENTOS

Agradeço as agências de fomento FAPESP, CAPES e CNPq (Processo: 166192/2018-0) pelo apoio financeiro. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001 e verba PROEX (Programa de Excelência Acadêmica).

1 INTRODUÇÃO

1.1 Obesidade

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o sobrepeso e a obesidade são definidos como o acúmulo anormal ou excessivo de gordura que representa um risco à saúde. Em humanos, a classificação por acúmulo de gordura é realizada através do parâmetro conhecido como índice de massa corporal (IMC), que relaciona o peso à altura (kg/m^2). Quando o IMC é igual ou superior a 25 o indivíduo é classificado com sobrepeso e valores maiores do que 30 indicam obesidade.

Nas últimas décadas as taxas de sobrepeso e obesidade em todo o mundo aumentaram de forma significativa. Entre 1975 e 2016, houve um aumento de dez vezes no sobrepeso e obesidade entre crianças e adolescentes e, entre indivíduos adultos, os casos quase triplicaram¹. No Brasil, segundo dados do ministério da saúde, a obesidade aumentou 67,8% entre 2006 e 2018, saindo de 11,8% em 2006 para 19,8% em 2018^{2;3}. Sendo a maior taxa de crescimento entre adultos de 25 a 34 anos (84,2%) e de 35 a 44 anos (81,1%)³. Em relação à obesidade infantil, o Ministério da Saúde e o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram que 12,9% das crianças brasileiras entre 5 e 9 anos de idade têm obesidade, assim como 7% dos adolescentes entre 12 e 17 anos⁴.

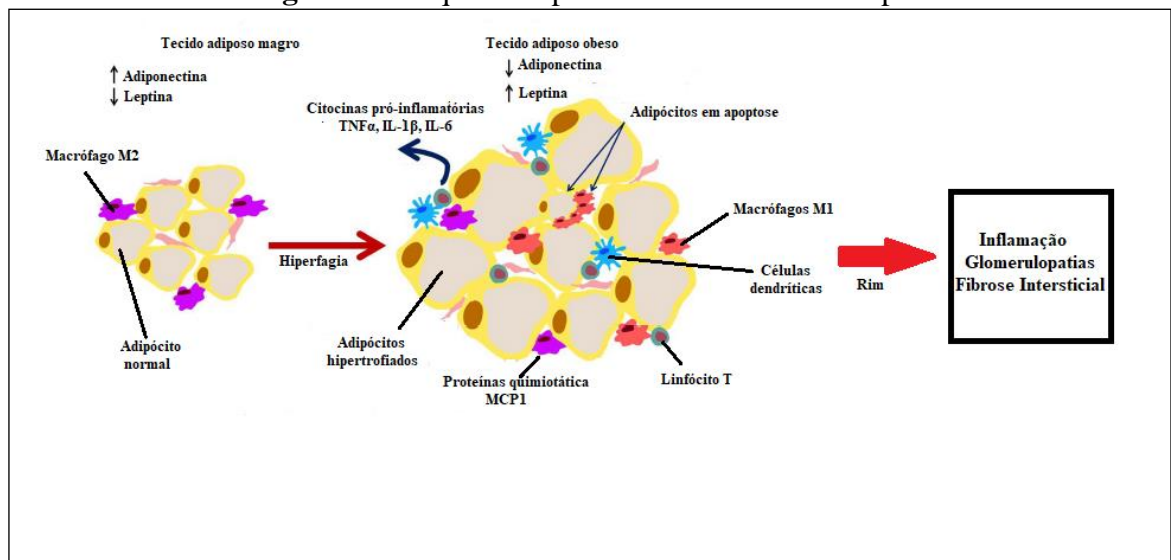
A obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento de comorbidades, pois pode estar associada a síndrome metabólica (SM), que representa um conjunto de fatores de risco associados a genética, dislipidemia, doenças cardiovasculares, diabetes do tipo II, inflamação sistêmica e doenças renais^{5;6}. Portanto, o aumento mundial dos casos de obesidade contribuiu para 4 milhões de mortes anuais em decorrência desta condição⁷. Desta forma, a obesidade e comorbidades associadas são problemas importantes de saúde pública e o estudo destas condições é extremamente relevante.

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo e, em mamíferos, este tecido é classificado em branco e marrom, ambos envolvidos com o balanço energético. Neste contexto, o tecido adiposo branco é o principal reservatório energético uma vez que armazena triglicerídeos⁸. Além disso, este tecido é constituído de células precursoras dos adipócitos (denominados pré-adipócitos), macrófagos e leucócitos entre outras células⁸. Em condições fisiológicas, a adipogênese (diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos) é regulada por fatores como a adiponectina (peptídeo que regula a glicemia e o catabolismo de ácidos graxos) e o PPAR- γ (do inglês; *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*)⁹.

Na obesidade ocorre progressiva expansão do tecido adiposo seguida pela queda na expressão dos fatores reguladores da adipogênese (Adiponectina e PPAR- γ), o que resulta em diminuição do número de adipócitos novos e hipertrofia dos adipócitos maduros ⁹. Nessa condição, os adipócitos hipertrofiados tornam-se fontes importantes de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucinas 1 e 6 (IL-1 β , IL-6), resistina e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP1), conforme ilustrado no esquema da **figura 1** ^{10; 11}.

Em humanos e modelos animais de obesidade, já foi descrito que a IL-6, produzida nos adipócitos viscerais, estimula a STAT3 (do inglês: *signal transducer and activator of transcription 3*). Esta, por sua vez, induz queda na síntese de IL-10, citocina anti-inflamatória responsável pela regulação da resposta inflamatória ¹². A STAT3 também está envolvida com o aumento da proliferação celular e progressão do estado inflamatório ¹² via macrófagos do tipo M1 (**figura 1**) ¹³. Desta forma, é bem conhecido que indivíduos obesos apresentam um quadro de inflamação generalizada ¹².

Figura 1 – Esquema representativo do tecido adiposo



Esquema representativo do tecido adiposo mostrando a infiltração de células do sistema imune e o aumento da produção de citocinas inflamatórias como TNF α , IL-1 β e IL-6 no tecido adiposo obeso comparado ao magro. **Fonte:** Modificado de McArdle, M.A., *et al.* Front Endocrinol (Lausanne). 2013; 4: 52.

O tecido adiposo também é responsável pela produção de adipocinas, mediadores endócrinos, como a leptina e a adiponectina, que regulam a ingestão calórica, inflamação, entre outras funções. As adipocinas são secretadas principalmente pelos adipócitos e têm sua produção comprometida na obesidade, o que pode contribuir para o desenvolvimento de

comorbidades associadas a esta condição ¹¹. O desbalanço na produção de adipocinas pode também estar associado ao estabelecimento de patologias renais ^{11; 14}.

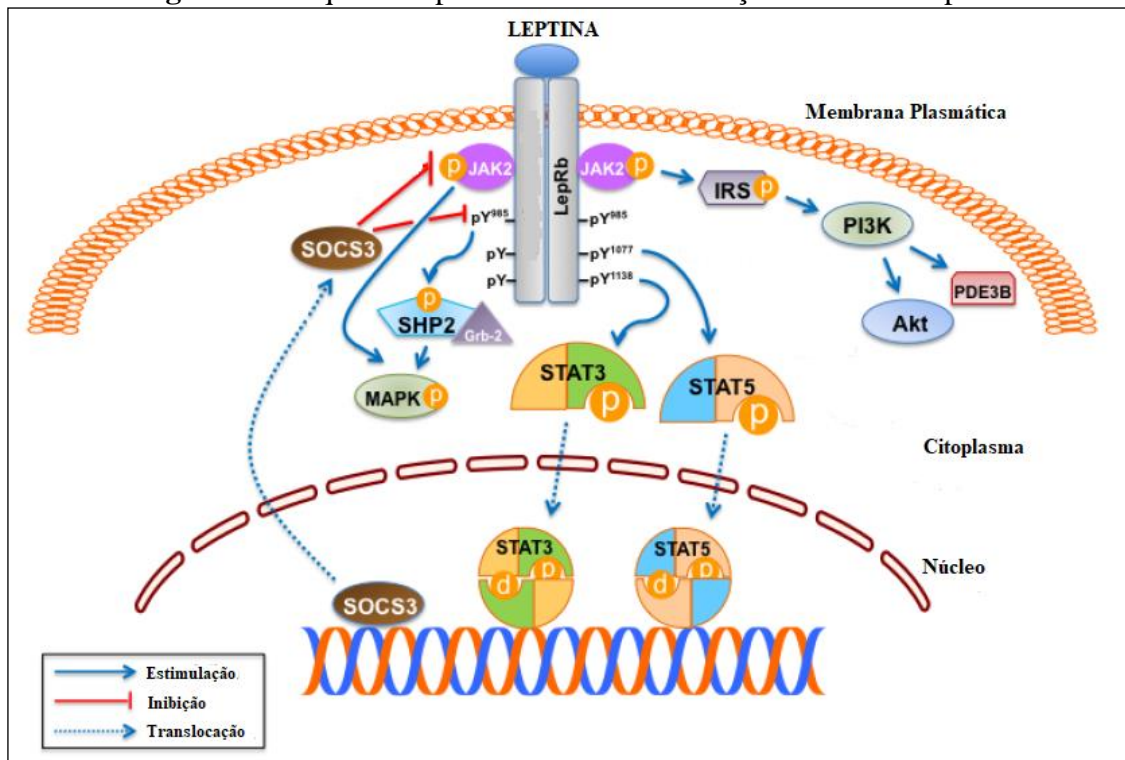
1.2 Leptina e seus receptores

A leptina (do grego *leptos*) é um peptídeo, produto do gene *ob*, com peso molecular de 16 kDa ¹⁵. A leptina é produzida principalmente pelos adipócitos do tecido adiposo branco e atua diretamente no hipotálamo para regular negativamente a ingestão energética ¹⁰. Por outro lado, há evidências da síntese de leptina em outros tecidos incluindo placenta, músculo esquelético e coração ¹⁶.

Em humanos e em condições fisiológicas, a concentração de leptina no plasma é de aproximadamente 5,0 ng/mL e sua síntese é proporcional ao tamanho da massa do tecido adiposo presente no organismo ¹⁷. A síntese e liberação de leptina podem ser controladas por fatores como a insulina, glicocorticoides e citocinas pró-inflamatórias ¹⁰.

A ação tecidual da leptina depende de sua interação com receptores de membrana específicos e classificados em seis isoformas (Ob-Ra até Ob-Rf) ¹⁸, os quais pertencem à classe I dos receptores de citocinas ¹⁹. Os principais efeitos biológicos da leptina são mediados pela isoforma longa (Ob-Rb) encontrada principalmente no hipotálamo, na parede dos vasos e nos rins ^{20; 21}. A interação leptina/Ob-Rb resulta na ativação da proteína JAK2 (do inglês: *janus kinase 2*), que fosforila resíduos de tirosina do receptor Ob-Rb. Os resíduos de tirosina servem como sítios de ancoragem para diversos substratos, dentre eles as STATs (do inglês: *signal transducers and activators of transcription*), incluindo STAT3, STAT5 e STAT6 ²². A STAT3 sofre dimerização e migra para o núcleo, onde funciona como fator de transcrição. Neste processo, o SOCS3 (do inglês: *suppressor of cytokine signaling 3*) desempenha um papel importante de feedback negativo da via JAK-STAT ²³. Além disso, a estimulação da via Ob-Rb/JAK2 ativa as vias IRS (do inglês: *insulin receptor substrate*)-PI3K (do inglês: *phosphatidylinositol-3 kinase*) e SHP-2 (do inglês: *SH2-containing protein tyrosine phosphatase 2*), que também participam da regulação da ingestão calórica e do metabolismo energético (**figura 2**) ²⁴.

Figura 2 – Esquema representativo da sinalização celular da leptina



A ligação da leptina ao receptor de leptina LepRb resulta na fosforilação da Janus quinase 2 (JAK2). A JAK2 ativada fosforila os resíduos de tirosina Tyr985, Tyr1077 e Tyr1138, que, então, formam sítios de ancoragem para as STATs (STAT3 e STAT5). As STATs ativas formam dímeros que translocam ao núcleo e promovem a transcrição de seus genes-alvo, que medeiam o efeito anorexigênico da leptina. O supressor da sinalização de citocinas 3 (SOCS3), é um gene alvo da STAT3 e, quando ativo, inibe a via JAK2 / STAT3 (feedback negativo). Neste processo também são ativadas as vias da proteína contendo SH2 a tirosina fosfatase 2 (SHP2) e do substrato do receptor de insulina (IRS), também envolvidos no metabolismo energético.

Fonte: Modificado de Park, H.K., *et al.* F1000Prime Rep. 2014; 6: 73.

A resistência a leptina é bem descrita em pacientes obesos e é caracterizada pela perda da capacidade de controlar o apetite. Nessa condição, os receptores para leptina não respondem adequadamente principalmente devido a ativação da proteína SOCS3, que tem papel supressor da via de sinalização intracelular da leptina. Nesta condição, há um aumento na leptina circulante e, portanto, as concentrações do peptídeo no plasma tornam-se elevadas ^{23; 25}.

Em vários modelos experimentais, a hiperleptinemia está associada ao aumento da atividade do sistema nervoso simpático (SNS), hipertensão arterial ^{26; 27; 28; 29; 30}, diminuição da síntese de óxido nítrico (NO) e da natriurese ³¹. De forma interessante, estudos com camundongos C57BL/6J induzidos à obesidade por dieta, associaram a resistência seletiva à leptina ao aumento da resposta simpática renal, hipertensão arterial e atividade do sistema renina-angiotensina ^{32; 33; 34}.

Porém, sabe-se que concentrações adequadas de leptina são importantes para manutenção do funcionamento normal do sistema imune, e a deficiência de leptina pode aumentar a susceptibilidade a inflamações e o risco de morte ³⁵. Sabendo que a obesidade e a

inflamação são fatores de risco para o desenvolvimento de patologias renais, é interessante avaliar um possível efeito renoprotetor da leptina em animais obesos que não produzem este hormônio.

1.3 Efeitos da leptina no rim

Os rins expressam a isoforma longa dos receptores de leptina Ob-Rb^{20; 21} e também a isoforma curta Ob-Ra³⁶. Porém, o local exato de ação do peptídeo nesse órgão ainda não foi totalmente esclarecido. A identificação de receptores Ob-Ra em glomérulos³⁷ e de receptores Ob-Rb na medula renal³⁸, sugere que tanto os glomérulos como os túbulos renais são sítios alvo para a ação da leptina.

Sabe-se que em indivíduos obesos (humanos ou camundongos *db/db*), a hiperleptinemia está envolvida na síntese e secreção do fator pró-fibrótico TGF- β 1 (do inglês: *transforming growth factor beta 1*) e, conseqüentemente, com a injúria glomerular³⁹. Em geral, a hiperleptinemia também induz aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a secreção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6⁴⁰, o que pode potencializar a injúria renal e proteinúria¹⁹.

Em camundongos com obesidade genética *ob/ob*, o ganho de peso está associado à ausência de leptina⁴¹. Apesar de não produzirem leptina, os animais *ob/ob* expressam os receptores Ob-Rb em vários tecidos incluindo pâncreas, cérebro, coração e rim⁴². Nestes animais, a injúria renal não é bem definida, visto que alguns estudos descrevem alterações glomerulares discretas e outros descrevem lesões glomerulares severas e proteinúria^{43; 44}. Assim, os camundongos *ob/ob* são bons modelos para investigar a contribuição da obesidade, independente da leptina, na injúria renal. Além disso, pode-se introduzir um tratamento com leptina para investigar a ação desse peptídeo na relação entre a obesidade e a injúria renal.

Sabe-se que a maior ativação do SRA no tecido adiposo de animais obesos impacta funções sistêmicas, contribuindo para o estabelecimento da hipertensão arterial observada na síndrome metabólica associada a obesidade⁴⁵. Além disso, sabe-se que o bloqueio da enzima conversora de angiotensina I (ECA) e dos receptores de angiotensina II também estão associados com a redução de proteinúria em pacientes obesos com glomerulopatia associada a obesidade^{14; 46}. Interessantemente, um estudo de Mallamaci e colaboradores de 2011 demonstrou que pacientes obesos parecem ser mais sensíveis aos efeitos renoprotetores do ramipril, um inibidor da ECA, e tem uma redução da proteinúria significativamente maior do

que indivíduos magros ⁴⁷. Por isso é pertinente estudar em indivíduos obesos, a relação da ativação do SRA intra-renal e o desenvolvimento de lesões e injúrias no tecido renal.

1.4 Sistema renina-angiotensina-aldosterona

Desde a sua descoberta em 1898 por Tigerstedt e Bergman, o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é largamente estudado. Na cascata de sinalização sistêmica clássica, as células justaglomerulares secretam renina para a circulação, que cataliza a reação de clivagem do angiotensinogênio proveniente principalmente do fígado, em angiotensina I (Ang I). Esta, por sua vez, é clivada devido a ação da enzima conversora da Ang I (ECA), formando a angiotensina II (Ang II). A Ang II atua via dois receptores, AT1 e AT2, expressos em vários tecidos. O receptor AT1 desencadeia as respostas mais clássicas da Ang II como: vasoconstrição, liberação de aldosterona pela zona glomerulosa da glândula adrenal, reabsorção de sódio por diversos segmentos do néfron e estimulação do sistema nervoso simpático (via receptores cerebrais) e indução de estresse oxidativo ⁴⁸.

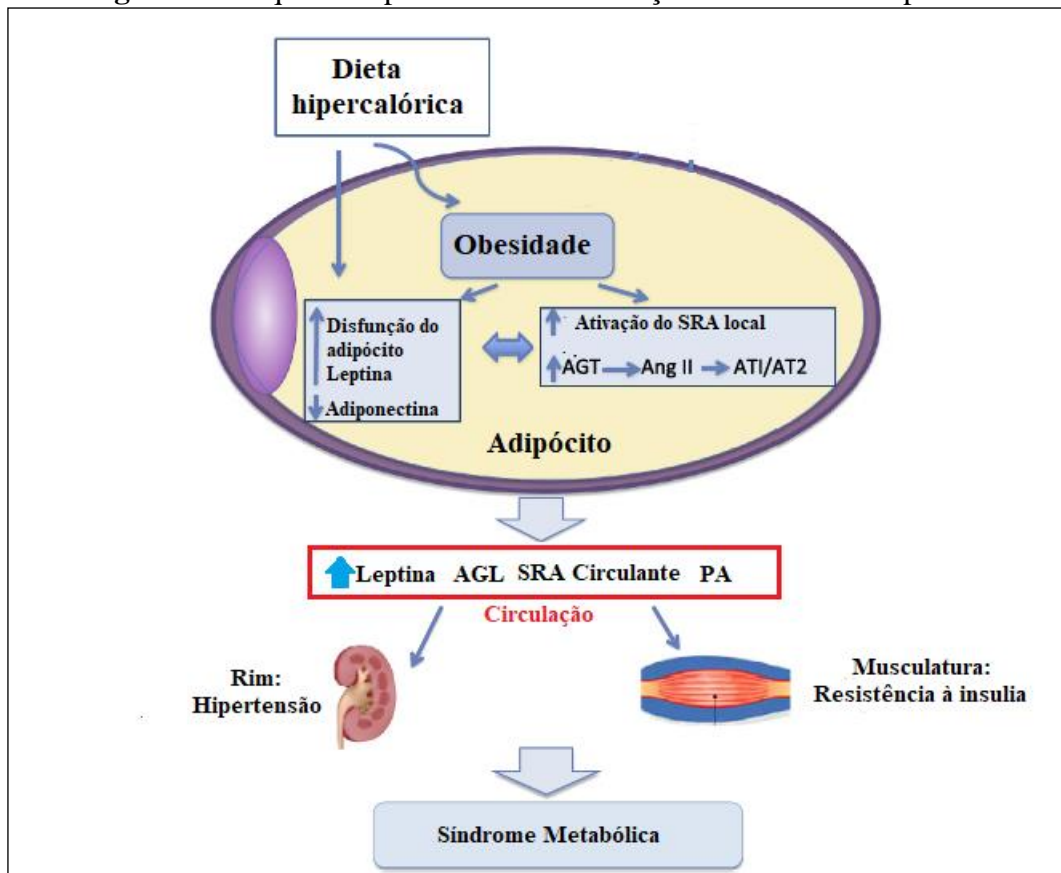
Muitos estudos demonstram a presença e a importância de SRA locais, em diversos tecidos como coração, tecido adiposo, glândulas adrenais, vasculatura, sistema nervoso central e rins. A ativação do SRA intra-renal sustenta a hipertensão arterial e a progressão de doenças renais crônicas ⁴⁹.

1.5 SRA Intra-renal

Diversos estudos demonstraram que assim como as células mesangiais e tubulares ⁵⁰, os podócitos também expressam os receptores AT1 e AT2 e os componentes do SRA. Liebau e colaboradores, em 2006, demonstraram que os podócitos humanos em cultura expressam RNAm para angiotensinogênio, renina e ECA ⁵¹.

Na síndrome metabólica (SM), a obesidade e a hiperinsulinemia estão associadas à hipertensão arterial. Nessa condição, a ativação do SRA intra-renal e a maior produção de Ang II desempenha papel importante na progressão da injúria de vários órgãos. A maior ativação do SRA no tecido adiposo de animais obesos, contribui para o estabelecimento da hipertensão observada na SM e contribui para a ativação do SRA intra-renal ⁴⁵. Outros estudos demonstram que o bloqueio da enzima de conversão da angiotensina 1 (ECA) ou do receptor AT1 previne a progressão da hipertensão arterial, doenças renais e cardiovasculares associadas ao diabetes **(figura 3)** ⁵².

Figura 3 – Esquema representativo da ativação do SRA nos adipócitos



A obesidade leva a disfunção dos adipócitos, ativação do SRA local, aumento de ácidos graxos (AGL) livres e da produção de leptina. Os componentes do SRA dos adipócitos atuam localmente e são liberadas na corrente sanguínea junto com a leptina. Como consequência, há aumento do SRA, AGL e leptina circulante. O aumento destes fatores, por sua vez, pode levar a síndrome metabólica.

Fonte: Modificado de Frigolet, M.E., *et al.* J Physiol Anthropol. 2017 Jun 14;36(1):25.

Além disso, o bloqueio dos receptores do tipo I para angiotensina, da ECA e o tratamento com antagonistas da aldosterona, preservam a integridade da barreira de ultrafiltração glomerular, assim como a expressão de nefrina e podocina em diversas doenças como: nefropatia por lesão mínima^{53; 54}, diabetes^{53; 54; 55} e glomerulopatia associada a obesidade⁵⁶. Desta forma, sabendo que a integridade da barreira de ultrafiltração glomerular é de extrema importância para a manutenção da função renal e que a nefrina é um dos principais componentes desta estrutura, é pertinente investigar a expressão de nefrina em modelos de obesidade e glomerulopatia associada a obesidade.

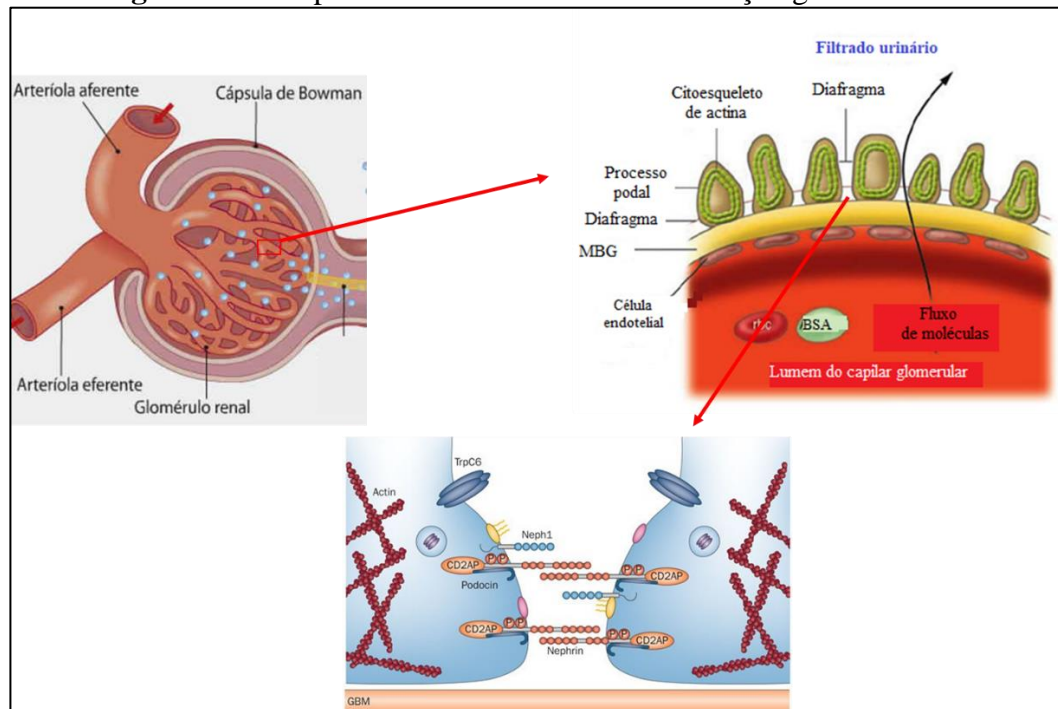
1.6 Nefrina

A nefrina pertence a superfamília das imunoglobulinas de adesão celular e consiste em uma porção extracelular, composta de 8 domínios semelhantes a imunoglobulinas, um domínio semelhante à fibronectina tipo III e uma porção citosólica composta de uma cauda C-terminal⁵⁷. Além de um importante papel estrutural, a nefrina também participa de processos de sinalização celular⁵⁸. Para entender a importância da nefrina na manutenção da função renal, é necessário compreender a estrutura da barreira de filtração glomerular.

Nos glomérulos está presente uma estrutura denominada barreira de filtração glomerular, que possui papel central na seletividade da filtração do plasma. É esta estrutura que permite a filtração de solutos e água e a retenção de compostos importantes como macromoléculas e proteínas. A perda de seletividade da barreira de filtração glomerular, pode levar a perda de proteína na urina, o que caracteriza um quadro de proteinúria⁵⁹.

A barreira de filtração glomerular é composta de três camadas: pelo endotélio fenestrado dos capilares glomerulares, processos podais de podócitos e pela membrana basal glomerular (MBG). Localizada entre os podócitos e o endotélio, a MBG é composta de diversas proteínas produzidas por estes dois tipos celulares⁵⁹. Os podócitos são células epiteliais altamente especializadas que possuem prolongamentos denominados processos podais, que envolvem o endotélio fenestrado dos capilares glomerulares. Processos podais de podócitos vizinhos se interdigitam e formam uma estrutura denominada diafragma, que é a mais complexa da barreira de ultrafiltração glomerular⁶⁰. O diafragma desempenha um papel fundamental na seletividade da barreira de filtração glomerular⁶¹. Além disso, proteínas específicas do diafragma interagem com a actina do citoesqueleto e com proteínas dos processos podais vizinhos, mantendo a estrutura da barreira de filtração glomerular e participando de vias de sinalização. As proteínas expressas no diafragma incluem: nefrina, podocina, Neph 1 e 2, entre outras⁶² (**figura4**).

Figura 4 – Componentes da barreira de ultrafiltração glomerular



Esquema representativo do glomérulo, aonde se encontra o tufo de capilares glomerulares. As células endoteliais destes capilares compõem a membrana de ultrafiltração glomerular, estrutura responsável pela filtração do plasma nos rins. A membrana de ultrafiltração glomerular é composta também pela membrana basal glomerular, processos podais de podócitos e o diafragma. O diafragma é uma estrutura de extrema importância para o processo de filtração e se forma entre processos podais vizinhos. A nefrina desempenha um papel central na manutenção da integridade desta estrutura. A nefrina é uma proteína da família das imunoglobulinas de adesão celular, é composta por uma porção intracelular e uma extracelular que se comunica com o processo podal vizinho. Ao sofrer uma injúria renal, a nefrina pode internalizar-se, desta forma, perde-se a conexão entre os processos podais vizinhos, o que prejudica a barreira de ultrafiltração e pode levar a um processo de proteinúria. **Fonte:** Modificado de Ming-Fo Hsu, et al. Scientific Reports. 2016.

Dentre as proteínas presentes no diafragma, uma das mais importantes para a manutenção da barreira de filtração glomerular é a nefrina. A nefrina pode sofrer fosforilação, e juntamente com as proteínas associadas CD2AP e podocina, induzir vias de sinalização envolvidas na injúria de podócitos⁶³. A nefrina fosforilada pode ser internalizada por interagir com a β -arrestina e contribuir para o comprometimento da estrutura do diafragma, consequentemente, levando a proteinúria⁶⁴. Em um modelo animal de obesidade e de glomerulopatia associada a obesidade, a expressão de moléculas associadas a podócitos como podocina, podoplanina e nefrina está reduzida em relação a animais magros, e o tratamento com um antagonista da aldosterona normalizou a expressão destas moléculas⁵⁶. Desta forma, é relevante estudar a relação do sistema renina angiotensina aldosterona nas injúrias renais associadas a obesidade.

1.7 Glomerulopatia associada a obesidade

Já é bem estabelecido na literatura que a obesidade aumenta o risco de progressão de doenças renais preexistentes, assim como é um fator de risco para o desenvolvimento de comorbidades associadas, mas, a obesidade é também um fator de risco independente para lesão renal ⁶⁵. A glomerulopatia associada a obesidade (GRO) é a doença renal mais conhecida secundária a obesidade ⁶⁶.

A GRO é caracterizada, principalmente, por aumento da massa renal, redução no número de néfrons, alterações hemodinâmicas, expansão mesangial, ativação do SRA intrarenal e hipertrofia glomerular ⁶⁶. O aumento do tamanho glomerular está presente em indivíduos obesos independente de alterações na função renal e não se sabe ao certo as causas desta hipertrofia. Embora, suponha-se que seja uma resposta mal adaptada a alta demanda metabólica da obesidade ¹⁴.

Os critérios de diagnóstico da GRO são: IMC maior ou igual a 30 kg/m², exclusão de outras doenças, tanto clínica quanto histologicamente, glomerulomegalia associada ou não a GESF e proteinúria associada ou não ao comprometimento da função renal ⁶⁶. A glomerulopatia associada a obesidade tem progressão lenta, porém a longo prazo pode levar a doença renal em estágio terminal ^{67; 68}. De fato, a idade é um fator de risco para a evolução da GRO já que com o passar do tempo há uma perda natural de néfrons que pode contribuir para o agravamento desta condição ^{69; 70}.

Outro fator de risco para o desenvolvimento de GRO é a hiperleptinemia comumente presente na obesidade. Neste contexto, a leptina promove a reabsorção de sal pelos túbulos renais, aumenta a expressão de TGF- β e a produção de colágeno tipo IV, levando ao acúmulo de matriz extracelular que resulta em fibrose renal e glomeruloesclerose, o que contribui para a glomerulomegalia observada ^{71; 72}. Porém, pouco se sabe sobre a ação fisiológica da leptina na GRO. Por este motivo torna-se relevante estudar a ação da leptina em um modelo animal obeso que não produz leptina.

2 CONCLUSÕES

Em conjunto, nossos resultados mostram que a obesidade dos camundongos *ob/ob* compromete a barreira de ultrafiltração glomerular e a função renal. Nos animais obesos há maior ativação do SRA intrarenal e maior liberação de citocinas inflamatórias sistêmicas, que por sua vez, estimulam a produção de fatores inflamatórios no rim. A inflamação do tecido renal contribui para injúrias que podem estar associadas a diversas doenças renais. Nosso modelo de obesidade tem muitas características em comum com a glomerulopatia associada a obesidade. Porém, não encontramos evidências de fibrose ou glomerulosclerose em nossos animais obesos, apesar de em camundongos mais jovens haver aumento da área glomerular que pode contribuir com as alterações renais observadas, mesmo em idade mais avançada. Nossos resultados também apontam que nos animais obesos houve proliferação celular no tecido renal como um todo e em glomérulos, o que pode indicar expansão mesangial, que também é uma característica da glomerulopatia associada a obesidade. Porém, para confirmar esta hipótese seriam necessários mais estudos.

O tratamento com leptina por 42 dias, por reduzir a massa de tecido adiposo, reduz a inflamação sistêmica e a ativação do SRA intrarenal e, portanto, tem papel renoprotetor neste processo. Porém, a leptina não foi capaz de reverter todos os parâmetros observados, portanto, mostrou-se parcialmente renoprotetora.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 NCD-RisC. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. **Lancet (London, England)**, v. 390, n. 10113, 12/16/2017 2017. ISSN 1474-547X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29029897>.
- 2 SAÚDE, M. D. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquerito telefônico (VIGITEL)**. Brasília, DF, São Paulo 2007.
- 3 _____. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquerito telefônico (VIGITEL)**. Brasil 2019.
- 4 IBGE, M. D. S. E. M. D. P., ORÇAMENTO E GESTÃO. **Pesquisa Nacional de Saúde**. Rio de Janeiro 2015.
- 5 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>.
- 6 TERVAERT, T. W. et al. Pathologic classification of diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol**, v. 21, n. 4, p. 556-63, Apr 2010. ISSN 1533-3450. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20167701>.
- 7 ORGANIZATION, W. H. **Nutrition in universal health coverage**. Geneva, 2019.
- 8 PARK, A.; KIM, W. K.; BAE, K. H. Distinction of white, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells. **World J Stem Cells**, v. 6, n. 1, p. 33-42, Jan 2014. ISSN 1948-0210. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24567786>.
- 9 LACASA, D. et al. Macrophage-secreted factors impair human adipogenesis: involvement of proinflammatory state in preadipocytes. **Endocrinology**, v. 148, n. 2, p. 868-77, Feb 2007. ISSN 0013-7227. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17082259>.
- 10 TESAURO, M. et al. Chronic kidney disease, obesity, and hypertension: the role of leptin and adiponectin. **Int J Hypertens**, v. 2012, p. 943605, 2012. ISSN 2090-0392. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23320148>.
- 11 FELIZARDO, R. J. et al. Obesity in kidney disease: A heavyweight opponent. **World J Nephrol**, v. 3, n. 3, p. 50-63, Aug 2014. ISSN 2220-6124. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25332896>.
- 12 GHIGLIOTTI, G. et al. Adipose tissue immune response: novel triggers and consequences for chronic inflammatory conditions. **Inflammation**, v. 37, n. 4, p. 1337-53, Aug 2014. ISSN 1573-2576. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24823865>.

- 13 YU, H.; KORTYLEWSKI, M.; PARDOLL, D. Crosstalk between cancer and immune cells: role of STAT3 in the tumour microenvironment. **Nat Rev Immunol**, v. 7, n. 1, p. 41-51, Jan 2007. ISSN 1474-1733 (Print)1474-1733. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nri1995>.
- 14 KAMBHAM, N. *et al.* Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. **Kidney Int**, v. 59, n. 4, p. 1498-509, Apr 2001. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.0590041498.x>.
- 15 ZHANG, Y. *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425-32, Dec 1994. ISSN 0028-0836. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7984236>.
- 16 PHANISH, M. K.; WINN, S. K.; DOCKRELL, M. E. Connective tissue growth factor-(CTGF, CCN2)--a marker, mediator and therapeutic target for renal fibrosis. **Nephron Exp Nephrol**, v. 114, n. 3, p. e83-92, 2010. ISSN 1660-2129. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19955828>.
- 17 KONUKOGLU, D.; SERIN, O.; ERCAN, M. Plasma leptin levels in obese and non-obese postmenopausal women before and after hormone replacement therapy. **Maturitas**, v. 36, n. 3, p. 203-7, Oct 2000. ISSN 0378-5122. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11063902>.
- 18 TARTAGLIA, L. A. The leptin receptor. **J Biol Chem**, v. 272, n. 10, p. 6093-6, Mar 1997. ISSN 0021-9258. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9102398>.
- 19 LAPORTE, S. A. *et al.* The beta2-adrenergic receptor/betaarrestin complex recruits the clathrin adaptor AP-2 during endocytosis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 96, n. 7, p. 3712-7, Mar 30 1999. ISSN 0027-8424 (Print)0027-8424 (Linking). Disponível em: <http://dx.doi.org/>.
- 20 HOPFNER, R. L.; GOPALAKRISHNAN, V. Endothelin: emerging role in diabetic vascular complications. **Diabetologia**, v. 42, n. 12, p. 1383-94, Dec 1999. ISSN 0012-186X. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10651255>.
- 21 BENIGNI, A. Defining the role of endothelins in renal pathophysiology on the basis of selective and unselective endothelin receptor antagonist studies. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 4, n. 4, p. 349-53, Jul 1995. ISSN 1062-4821 (Print)1062-4821 (Linking). Disponível em: <http://dx.doi.org/>.
- 22 HALPERIN, M. L. *et al.* Properties permitting the renal cortex to be the oxygen sensor for the release of erythropoietin: clinical implications. **Clin J Am Soc Nephrol**, v. 1, n. 5, p. 1049-53, Sep 2006. ISSN 1555-905X. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17699326>.
- 23 PAZ-FILHO, G. *et al.* Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 56, n. 9, p. 597-607, Dec 2012. ISSN 0004-2730. Disponível em: <http://dx.doi.org/>.

- 24 BROSANAN, M. E.; BROSANAN, J. T. Renal arginine metabolism. **J Nutr**, v. 134, n. 10 Suppl, p. 2791S-2795S; discussion 2796S-2797S, Oct 2004. ISSN 0022-3166. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15465786>.
- 25 MONTANI, J. P. *et al.* Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triangle. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 26 Suppl 2, p. S28-38, Sep 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12174326>.
- 26 SHEK, E. W.; BRANDS, M. W.; HALL, J. E. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. **Hypertension**, v. 31, n. 1 Pt 2, p. 409-14, Jan 1998. ISSN 0194-911X. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9453337>.
- 27 AIZAWA, T. *et al.* Heme oxygenase-1 is upregulated in the kidney of angiotensin II-induced hypertensive rats : possible role in renoprotection. **Hypertension**, v. 35, n. 3, p. 800-6, Mar 2000. ISSN 1524-4563. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10720598>.
- 28 DA SILVA, A. A. *et al.* The role of the sympathetic nervous system in obesity-related hypertension. **Curr Hypertens Rep**, v. 11, n. 3, p. 206-11, Jun 2009. ISSN 1534-3111. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19442330>.
- 29 PRIOR, L. J. *et al.* Exposure to a high-fat diet alters leptin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve activity and arterial pressure in rabbits. **Hypertension**, v. 55, n. 4, p. 862-8, Apr 2010. ISSN 1524-4563. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20194306>.
- 30 RAHMOUNI, K. *et al.* Leptin resistance contributes to obesity and hypertension in mouse models of Bardet-Biedl syndrome. **J Clin Invest**, v. 118, n. 4, p. 1458-67, Apr 2008. ISSN 0021-9738. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18317593>.
- 31 WERNER, N.; NICKENIG, G. From fat fighter to risk factor: the zigzag trek of leptin. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 24, n. 1, p. 7-9, Jan 2004. ISSN 1524-4636. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14707035>.
- 32 REISER, J.; SEVER, S. Podocyte biology and pathogenesis of kidney disease. **Annu Rev Med**, v. 64, p. 357-66, 2013. ISSN 0066-4219. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-med-050311-163340>.
- 33 KOHAN, D. E. Endothelin, hypertension and chronic kidney disease: new insights. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 19, n. 2, p. 134-9, Mar 2010. ISSN 1535-3842 (Electronic)1062-4821 (Linking). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/MNH.0b013e328335f91f>.
- 34 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. 1235-40, Mar 1993. ISSN 0021-9738 (Print)0021-9738 (Linking). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1172/jci116286>.

- 35 FAROOQI, I. S. *et al.* Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. **J Clin Invest**, v. 110, n. 8, p. 1093-103, Oct 2002. ISSN 0021-9738 (Print)0021-9738. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1172/jci15693>.
- 36 SERRADEIL-LE GAL, C. *et al.* Characterization and localization of leptin receptors in the rat kidney. **FEBS Lett**, v. 404, n. 2-3, p. 185-91, Mar 1997. ISSN 0014-5793. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9119061>.
- 37 BELTOWSKI, J. *et al.* Chronic hyperleptinemia induces resistance to acute natriuretic and NO-mimetic effects of leptin. **Peptides**, v. 31, n. 1, p. 155-63, Jan 2010. ISSN 1873-5169. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19854228>.
- 38 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. 439-48, Jul 1998. ISSN 0264-6021. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9657986>.
- 39 WANG, Y.; MISHRA, R.; SIMONSON, M. S. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II stimulates c-fos transcription and DNA synthesis by a Src-based mechanism in glomerular mesangial cells. **J Am Soc Nephrol**, v. 14, n. 1, p. 28-36, Jan 2003. ISSN 1046-6673. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12506135>.
- 40 TAKIZAWA, S. *et al.* Differential expression of endothelin-2 along the mouse intestinal tract. **J Mol Endocrinol**, v. 35, n. 2, p. 201-9, Oct 2005. ISSN 0952-5041. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16216902>.
- 41 TOUYZ, R. M. *et al.* Mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase inhibition attenuates angiotensin II-mediated signaling and contraction in spontaneously hypertensive rat vascular smooth muscle cells. **Circ Res**, v. 84, n. 5, p. 505-15, Mar 19 1999. ISSN 0009-7330 (Print)0009-7330 (Linking). Disponível em: <http://dx.doi.org/>.
- 42 EMILSSON, V. *et al.* Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. **Diabetes**, v. 46, n. 2, p. 313-6, Feb 1997. ISSN 0012-1797. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9000710>.
- 43 MARTÍNEZ-GARCÍA, C. *et al.* Accelerated renal disease is associated with the development of metabolic syndrome in a glucolipotoxic mouse model. **Dis Model Mech**, v. 5, n. 5, p. 636-48, Sep 2012. ISSN 1754-8411. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22773754>.
- 44 STACCHIOTTI, A. *et al.* Mitochondrial and metabolic dysfunction in renal convoluted tubules of obese mice: protective role of melatonin. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e111141, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25347680>.

- 45 KIM, S. *et al.* The adipose renin-angiotensin system modulates systemic markers of insulin sensitivity and activates the intrarenal renin-angiotensin system. **J Biomed Biotechnol**, v. 2006, n. 5, p. 27012, 2006. ISSN 1110-7243 (Print)1110-7243. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/jbb/2006/27012>.
- 46 JG, O.; E, R. Anti-hypertensive drug treatment of patients with and the metabolic syndrome and obesity: a review of evidence, meta-analysis, post hoc and guidelines publications. **Current hypertension reports**, v. 17, n. 6, 2015 Jun 2015. ISSN 1534-3111. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25916862>.
- 47 F, M. *et al.* ACE inhibition is renoprotective among obese patients with proteinuria. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 22, n. 6, 2011 Jun 2011. ISSN 1533-3450. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21527660>.
- 48 BADER, M.; GANTEN, D. Update on tissue renin-angiotensin systems. **J Mol Med (Berl)**, v. 86, n. 6, p. 615-21, Jun 2008. ISSN 0946-2716 (Print)0946-2716 (Linking). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00109-008-0336-0>.
- 49 NAVAR, L. G. *et al.* Intrarenal angiotensin II levels in normal and hypertensive states. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**, v. 2, p. S176-S184, Mar 2001. ISSN 1752-8976 (Electronic)1470-3203 (Linking). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/14703203010020013001>.
- 50 VIDOTTI, D. B. *et al.* High glucose concentration stimulates intracellular renin activity and angiotensin II generation in rat mesangial cells. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 286, n. 6, p. F1039-45, Jun 2004. ISSN 1931-857X. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14722017>.
- 51 LIEBAU, M. C. *et al.* Functional expression of the renin-angiotensin system in human podocytes. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 290, n. 3, p. F710-9, Mar 2006. ISSN 1931-857X. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16189286>.
- 52 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>.
- 53 A, T. *et al.* Angiotensin II type 1 receptor blockade ameliorates proteinuria in puromycin aminonucleoside nephropathy by inhibiting the reduction of NEPH1 and nephrin. **Journal of nephrology**, v. 27, n. 6, 2014 Dec 2014. ISSN 1724-6059. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25298195>.
- 54 A, F. *et al.* Effects of mineralocorticoid and angiotensin II receptor blockers on proteinuria and glomerular podocyte protein expression in a model of minimal change nephrotic syndrome. **Nephrology (Carlton, Vic.)**, v. 15, n. 3, 2010 Apr 2010. ISSN 1440-1797. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20470301>.

- 55 C, Z. *et al.* Adding a statin to a combination of ACE inhibitor and ARB normalizes proteinuria in experimental diabetes, which translates into full renoprotection. **American journal of physiology. Renal physiology**, v. 299, n. 5, 2010 Nov 2010. ISSN 1522-1466. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20719975>.
- 56 ZHU, J. J. *et al.* Aldosterone is involved in the pathogenesis of obesity-related glomerulopathy through activation of Wnt/ β -catenin signaling in podocytes. **Molecular Medicine Reports**, v. 17, n. 3, p. 4589-4598, 2021. ISSN 1791-2997. Disponível em: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2018.8386/abstract>. Disponível em: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2018.8386/download>.
- 57 GARG, P. A Review of Podocyte Biology. **Am J Nephrol**, v. 47 Suppl 1, p. 3-13, 2018. ISSN 1421-9670. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29852492>.
- 58 CHUANG, P. Y.; HE, J. C. **Signaling in regulation of podocyte phenotypes**. *Nephron Physiol*. Switzerland: 2009 S. Karger AG, Basel. 111: p9-15 p. 2009.
- 59 CE, M.; N, J. Nephric Signaling in the Podocyte: An Updated View of Signal Regulation at the Slit Diaphragm and Beyond. **Frontiers in endocrinology**, v. 9, 06/05/2018 2018. ISSN 1664-2392. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29922234>.
- 60 SCOTT, R. P.; QUAGGIN, S. E. Review series: The cell biology of renal filtration. **J Cell Biol**, v. 209, n. 2, p. 199-210, Apr 2015. ISSN 1540-8140. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25918223>.
- 61 DURVASULA, R. V.; SHANKLAND, S. J. Podocyte injury and targeting therapy: an update. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 15, n. 1, p. 1-7, Jan 2006. ISSN 1062-4821. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16340659>.
- 62 SCHELL, C.; HUBER, T. B. The Evolving Complexity of the Podocyte Cytoskeleton. **J Am Soc Nephrol**, v. 28, n. 11, p. 3166-3174, Nov 2017. ISSN 1533-3450. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28864466>.
- 63 CAREY, R. M. Cardiovascular and renal regulation by the angiotensin type 2 receptor: the AT2 receptor comes of age. *In: (Ed.). Hypertension*. United States, v.45, 2005. p.840-4. ISBN 1524-4563 (Electronic)0194-911X (Linking).
- 64 MUNDEL, P.; SHANKLAND, S. J. Podocyte biology and response to injury. **J Am Soc Nephrol**, v. 13, n. 12, p. 3005-15, Dec 2002. ISSN 1046-6673. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12444221>.
- 65 PADIA, S. H. *et al.* Renal angiotensin type 2 receptors mediate natriuresis via angiotensin III in the angiotensin II type 1 receptor-blocked rat. *In: (Ed.). Hypertension*. United States, v.47, 2006. p.537-44. ISBN 1524-4563 (Electronic)0194-911X (Linking).

- 66 QUACK, I. *et al.* beta-Arrestin2 mediates nephrin endocytosis and impairs slit diaphragm integrity. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 38, p. 14110-5, Sep 2006. ISSN 0027-8424. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16968782>.
- 67 Y, W. *et al.* Association between obesity and kidney disease: a systematic review and meta-analysis. **Kidney international**, v. 73, n. 1, 2008 Jan 2008. ISSN 0085-2538. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17928825>.
- 68 TSUBOI, N. *et al.* The Renal Pathology of Obesity. *In:* (Ed.). **Kidney Int Rep**, v.2, 2017. p.251-60. ISBN 2468-0249 (Electronic).
- 69 N, T. *et al.* Clinical features and long-term renal outcomes of Japanese patients with obesity-related glomerulopathy. **Clinical and experimental nephrology**, v. 17, n. 3, 2013 Jun 2013. ISSN 1437-7799. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23135866>.
- 70 PRAGA, M. *et al.* Clinical features and long-term outcome of obesity-associated focal segmental glomerulosclerosis. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 16, n. 9, p. 1790-1798, 2021. ISSN 0931-0509. Disponível em: <https://academic.oup.com/ndt/article-pdf/16/9/1790/23371013/161790.pdf>.
- 71 JB, H. *et al.* Glomerular Aging and Focal Global Glomerulosclerosis: A Podometric Perspective. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 26, n. 12, 2015 Dec 2015. ISSN 1533-3450. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26038526>.
- 72 VA, L. *et al.* Effect of fetal and child health on kidney development and long-term risk of hypertension and kidney disease. **Lancet (London, England)**, v. 382, n. 9888, 07/20/2013 2013. ISSN 1474-547X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23727166>.
- 73 D, S. *et al.* Simple obesity and renal function. **Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society**, v. 68, n. 2, 2017 Apr 2017. ISSN 1899-1505. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28614766>.
- 74 M, N. D. Consequences of morbid obesity on the kidney. Where are we going? **Clinical kidney journal**, v. 9, n. 6, 2016 Dec 2016. ISSN 2048-8505. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27994854>.
- 75 HARRIS, R. B. *et al.* A leptin dose-response study in obese (ob/ob) and lean (+/?) mice. **Endocrinology**, v. 139, n. 1, p. 8-19, Jan 1998. ISSN 0013-7227. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9421392>.
- 76 RIBEIRO, A. C. *et al.* Contrasting effects of leptin on food anticipatory and total locomotor activity. **PLoS One**, v. 6, n. 8, p. e23364, 2011. ISSN 1932-6203. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21853117>.

- 77 AH, F. *et al.* Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. **CSH protocols**, v. 2008, 05/01/2008 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21356829>.
- 78 DUTTA, S.; SENGUPTA, P. Men and mice: Relating their ages. **Life Sci**, v. 152, p. 244-8, May 2016. ISSN 1879-0631. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26596563>.
- 79 FRÜHBECK, G. *et al.* Normalization of adiponectin concentrations by leptin replacement in ob/ob mice is accompanied by reductions in systemic oxidative stress and inflammation. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 2752, Jun 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28584304>.
- 80 KHAN, A. *et al.* Long-term leptin treatment of ob/ob mice improves glucose-induced insulin secretion. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 25, n. 6, p. 816-21, Jun 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11439295>.
- 81 MUZZIN, P. *et al.* Correction of obesity and diabetes in genetically obese mice by leptin gene therapy. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 93, n. 25, p. 14804-8, Dec 1996. ISSN 0027-8424. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8962136>.
- 82 SZABADFI, K. *et al.* Neuropeptides, trophic factors, and other substances providing morphofunctional and metabolic protection in experimental models of diabetic retinopathy. **Int Rev Cell Mol Biol**, v. 311, p. 1-121, 2014. ISSN 1937-6448. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24952915>.
- 83 HUMMEL, K. P., COLEMAN, D.L., LANE, P.W. The influence of genetic background on expression of mutations at the diabetes locus in the mouse. I. C57BL/KsJ and C57BL/6J strains | SpringerLink. **Biochemical Genetics**, v. Volume 7, n. Issue 1, p. 1-13, 1972. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00487005>.
- 84 COLEMAN, D. L.; HUMMEL, K. P. The influence of genetic background on the expression of the obese (ob) gene in the mouse | SpringerLink. **Diabetologia**, v. Volume 9, n. Issue 4, p. 287-293, 1973. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01221856#citeas>.
- 85 THIEME, K. *et al.* EP4 inhibition attenuates the development of diabetic and non-diabetic experimental kidney disease. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 3442, Jun 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28611444>.
- 86 FEITOSA, A. C.; ANDRADE, F. S. [Evaluation of fructosamine as a parameter of blood glucose control in diabetic pregnant women]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 58, n. 7, p. 724-30, Oct 2014. ISSN 1677-9487. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25372581>.
- 87 D'SOUZA, A. M. *et al.* The glucoregulatory actions of leptin. **Mol Metab**, v. 6, n. 9, p. 1052-1065, 09 2017. ISSN 2212-8778. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28951828>.

- 88 MA, D. F. *et al.* Sensitivity of ob/ob mice to leptin-induced adipose tissue apoptosis. **Obesity research**, v. 13, n. 9, 2005 Sep 2005. ISSN 1071-7323. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16222056>.
- 89 WICKMAN, C.; KRAMER, H. Obesity and kidney disease: potential mechanisms. **Semin Nephrol**, v. 33, n. 1, p. 14-22, Jan 2013. ISSN 1558-4488. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23374890>.
- 90 KRIKKEN, J. A. *et al.* The effect of a shift in sodium intake on renal hemodynamics is determined by body mass index in healthy young men. **Kidney Int**, v. 71, n. 3, p. 260-5, Feb 2007. ISSN 0085-2538. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17091123>.
- 91 CHAGNAC, A. *et al.* Glomerular hemodynamics in severe obesity. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 278, n. 5, p. F817-22, May 2000. ISSN 1931-857X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10807594>.
- 92 AIRES, M. D. M. **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
- 93 GOWDA, S. *et al.* Markers of renal function tests. **N Am J Med Sci**, v. 2, n. 4, p. 170-3, Apr 2010. ISSN 2250-1541 (Print)1947-2714. Disponível em: <http://dx.doi.org/>.
- 94 KLEIN, J. D.; BLOUNT, M. A.; SANDS, J. M. Urea transport in the kidney. **Compr Physiol**, v. 1, n. 2, p. 699-729, Apr 2011. ISSN 2040-4603. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23737200>.
- 95 J, T. *et al.* How to measure renal function in clinical practice. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 333, n. 7571, 10/07/2006 2006. ISSN 1756-1833. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17023465>.
- 96 STEVENS, L. A.; LEVEY, A. S. Measurement of kidney function. **Med Clin North Am**, v. 89, n. 3, p. 457-73, May 2005. ISSN 0025-7125. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15755462>.
- 97 PARR, S. K. *et al.* Acute kidney injury is a risk factor for subsequent proteinuria. **Kidney Int**, v. 93, n. 2, p. 460-469, 02 2018. ISSN 1523-1755. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28927644>.
- 98 RODRIGUEZ-ROMO, R. *et al.* AT1 receptor antagonism before ischemia prevents the transition of acute kidney injury to chronic kidney disease. **Kidney Int**, Oct 28 2015. ISSN 0085-2538. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2015.320>.
- 99 BENIGNI, A.; CASSIS, P.; REMUZZI, G. Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. **EMBO Mol Med**, v. 2, n. 7, p. 247-57, Jul 2010. ISSN 1757-4684. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20597104>.

- 100 DO CARMO, J. M. *et al.* Impact of obesity on renal structure and function in the presence and absence of hypertension: evidence from melanocortin-4 receptor-deficient mice. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 297, n. 3, p. R803-12, Sep 2009. ISSN 1522-1490. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19605765>.
- 101 PECOITS-FILHO, R. *et al.* Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. **Am J Kidney Dis**, v. 41, n. 6, p. 1212-8, Jun 2003. ISSN 0272-6386. Disponível em: <http://dx.doi.org/>.
- 102 ZHANG, W. *et al.* Interleukin 6 underlies angiotensin II-induced hypertension and chronic renal damage. **Hypertension**, v. 59, n. 1, p. 136-44, Jan 2012. ISSN 0194-911x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1161/hypertensionaha.111.173328>.
- 103 BONVENTRE, J. V.; ZUK, A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? **Kidney Int**, v. 66, n. 2, p. 480-5, Aug 2004. ISSN 0085-2538. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15253693>.
- 104 GLYNNE, P. A.; PICOT, J.; EVANS, T. J. Coexpressed nitric oxide synthase and apical beta(1) integrins influence tubule cell adhesion after cytokine-induced injury. **J Am Soc Nephrol**, v. 12, n. 11, p. 2370-83, Nov 2001. ISSN 1046-6673 (Print)1046-6673. Disponível em: <http://dx.doi.org/>.
- 105 AGRAWAL, S. *et al.* Leptin Activates Human B Cells to Secrete TNF- α , IL-6, and IL-10 via JAK2/STAT3 and p38MAPK/ERK1/2 Signaling Pathway. *In:* (Ed.). **J Clin Immunol**, v.31, 2011. p.472-8. ISBN 0271-9142 (Print)1573-2592 (Electronic).
- 106 YANG, W. H. *et al.* Leptin induces IL-6 expression through OBRI receptor signaling pathway in human synovial fibroblasts. **PLoS One**, v. 8, n. 9, p. e75551, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0075551>.
- 107 HUMPHREYS, B. D. Mechanisms of Renal Fibrosis. **Annual Review of Physiology**, v. 80, p. 309-326, Feb 2018. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-physiol-022516-034227>.
- 108 KLINGBERG, F.; HINZ, B.; WHITE, E. S. The myofibroblast matrix: implications for tissue repair and fibrosis. **J Pathol**, v. 229, n. 2, p. 298-309, Jan 2013. ISSN 1096-9896. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22996908>.
- 109 RAO K, B. *et al.* Evaluation of myofibroblasts by expression of alpha smooth muscle actin: a marker in fibrosis, dysplasia and carcinoma. **J Clin Diagn Res**, v. 8, n. 4, p. ZC14-7, Apr 2014. ISSN 2249-782X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24959509>.
- 110 MENN-JOSEPHY, H. *et al.* Renal Interstitial Fibrosis: An Imperfect Predictor of Kidney Disease Progression in Some Patient Cohorts. **Am J Nephrol**, v. 44, n. 4, p. 289-299, 2016. ISSN 1421-9670. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27626625>.

- 111 BUCHTLER, S. *et al.* Cellular Origin and Functional Relevance of Collagen I Production in the Kidney. **J Am Soc Nephrol**, v. 29, n. 7, p. 1859-1873, Jul 2018. ISSN 1533-3450. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29777019>.
- 112 YANG, J. *et al.* Disruption of tissue-type plasminogen activator gene in mice reduces renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. **J Clin Invest**, v. 110, n. 10, p. 1525-38, Nov 2002. ISSN 0021-9738. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12438450>.
- 113 MEYRIER, A. Mechanisms of disease: focal segmental glomerulosclerosis. **Nat Clin Pract Nephrol**, v. 1, n. 1, p. 44-54, Nov 2005. ISSN 1745-8323. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16932363>.
- 114 M, C. *et al.* Obesity-related glomerulopathy and podocyte injury: a mini review. **Frontiers in bioscience (Elite edition)**, v. 4, 01/01/2012 2012. ISSN 1945-0508. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22201936>.
- 115 F, Z. *et al.* Resistance to glomerulosclerosis in B6 mice disappears after menopause. **The American journal of pathology**, v. 162, n. 4, 2003 Apr 2003. ISSN 0002-9440. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12651625>.
- 116 Z, F. *et al.* Glomerular aging in females is a multi-stage reversible process mediated by phenotypic changes in progenitors. **The American journal of pathology**, v. 167, n. 2, 2005 Aug 2005. ISSN 0002-9440. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16049323>.
- 117 S, Y. *et al.* Obesity-Related Glomerulopathy: A Latent Change in Obesity Requiring More Attention. **Kidney & blood pressure research**, v. 45, n. 4, 2020 2020. ISSN 1423-0143. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32498064>.
- 118 F, P.-L.; N, R.-R. Ki67 assessment in breast cancer: an update. **Pathology**, v. 49, n. 2, 2017 Feb 2017. ISSN 1465-3931. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28065411>.
- 119 S, M. *et al.* Nuclear localization of the protein encoded by the Wilms' tumor gene WT1 in embryonic and adult tissues. **Development (Cambridge, England)**, v. 119, n. 4, 1993 Dec 1993. ISSN 0950-1991. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8306891>.
- 120 J, S. *et al.* Evaluation of podocyte lesion in patients with diabetic nephropathy: Wilms' tumor-1 protein used as a podocyte marker. **Diabetes research and clinical practice**, v. 87, n. 2, 2010 Feb 2010. ISSN 1872-8227. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19969384>.