

FERNANDO AUGUSTO MALAVAZZI CASARE

Efeito da interação de angiotensina II e o receptor AT1 ou endotelina 3 e os receptores ET_A e ET_B na função e na morfologia renal de ratos

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 Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Profa. Dra. Maria Oliveira de Souza

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

São Paulo
2015

RESUMO

Casare FAM. Efeito da interação de angiotensina II e o receptor AT1 ou endotelina 3 e os receptores ET_A e ET_B na função e morfologia renal de ratos. [tese (Doutorado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2015.

O presente estudo avaliou os efeitos dos hormônios, angiotensina II (Ang II) e Endotelina 3 (ET-3) na hemodinâmica, função e morfologia renal e a contribuição dos receptores de Ang II tipo 1 (AT1) para Ang II ou do tipo A (ETA) ou tipo B (ETB) para ETs. *Métodos:* Foram utilizados ratos Wistar, divididos em 4 grupos: controle, tratados com Ang II (200 ng/kg/min) ou ET-3 (1 pmol/kg/min) por 42 dias, tratados com losartan (10 mg/kg/dia), atrasentan (100 mg/kg/dia) ou BQ788 (4 mg/kg/dia), co-tratados com Ang II e losartan ou ET-3 e atrasentan ou BQ 788. Foram avaliados: pressão arterial, concentrações plasmáticas e intrarrenais de Angs e ETs, morfologia renal (pelos métodos de Verhoeff e PAS); função renal (pelo clearance de para-aminohipurato de sódio e inulina), para avaliar o fluxo plasmático renal e o ritmo de filtração glomerular, respectivamente; expressão de RNAm para os componentes do SRA, citocinas inflamatórias e de matriz extracelular. *Resultados:* O tratamento com Ang II induziu hipertensão arterial, aumentou as concentrações plasmáticas de ETs e Angs; induziu injúria glomerular, podocitúria e albuminúria, além de inflamação, aumento de RNAm para os componentes de matriz extracelular e remodelamento das artérias e arteríolas renais. O tratamento com losartan preveniu a maioria dos efeitos induzidos por Ang II. O tratamento com ET-3 induziu hipertensão arterial, injúria glomerular, alteração da função renal e aumento de RNAm intrarrenal para os componentes do SRA. O bloqueio do receptor ETA reparou os efeitos de ET-3 na hipertensão. O bloqueio de ETB reparou os efeitos de ET-3 nos parâmetros renais. Nossos resultados sugerem uma interação entre os sistemas SRA e endotelinas, induzindo mudanças na estrutura e função renal.

Palavras-chave: Função renal. Morfologia renal. Sistema renina-angiotensina. Endotelina 3.

ABSTRACT

Casare FAM. Effect of interaction of Angiotensin II and AT1 receptor, or endothelin 3 and ETA and ETB receptors on renal function and morphology in rats. [Ph. D. thesis (Human Physiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2015.

The present study evaluated the effects of angiotensin II (Ang II) and endothelin 3 (ET-3) on renal hemodynamics, function and morphology, and the contribution of the Ang II type 1 receptor (AT1R) and ETs receptors type A (ETA) or type B (ETB) on these parameters. *Methods:* Wistar rats were allocated into 4 groups: control, treated with Ang II (200 ng/kg/min) or ET-3 (1 pmol/kg/min) for 42 days, treated with losartan (10 mg/kg/day), atrasentan (100 mM/kg/day) or BQ788 (4 mM/kg/day), co-treated with Ang II and losartan or ET-3 and atrasentan or BQ788. In this study were evaluated: blood pressure; plasma and intrarenal concentrations of Angiotensins and ET; renal morphology (Verhoeff or PAS stain methods); renal function, by clearance of sodium para-aminohippurate and inulin, to evaluate renal plasma flow and glomerular filtration rate, respectively; mRNA for RAS intrarenal components, inflammatory molecules and extracellular matrix components. *Results:* The treatment with Ang II induced hypertension, increased plasma concentrations of Angiotensins and ETs; induced glomerular injury, podocyte effacement and albuminúria, as well as renal tissue inflammation, increased mRNA for extracellular matrix components and renal arteries and afferent arterioles remodeling. The treatment with losartan prevented most of the effects induced by Ang II. The treatment with ET-3 induced hypertension, glomerular injury, renal dysfunction and increased intrarenal mRNA for SRA components and TNF α . The ETA receptor antagonist reduced ET-3 effects on hypertension. However, the ETB antagonist reduced ET-3 effects on renal function. Our results suggest an interaction between the SRA and the endothelin system, inducing changes in the structure and renal function.

Keywords: Renal function. Renal morphology. Renin-angiotensin system. Endothelin 3.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Pressão Arterial

A pressão arterial é definida pelo produto do débito cardíaco (determinado pela frequência cardíaca e o débito sistólico) e da resistência vascular periférica. Como o coração bombeia o sangue para a artéria aorta de forma pulsátil, sua pressão varia entre 120 mmHg (pressão sistólica) e 80 mmHg (pressão diastólica), sendo a pressão média 100 mmHg. A medida que o sangue flui, a pressão cai gradativamente chegando a valores de 35 mmHg (próximo das terminações arteriolas) e 10 mmHg (próximo das terminações venosas), com uma média de cerca de 17 mmHg (1).

1.1.1 Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é uma síndrome multifatorial altamente prevalente em todo o mundo e pode ser definida como a pressão sanguínea de valor igual ou superior a 140/90 mmHg (2). A hipertensão arterial está associada às alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo como coração, cérebro, rins e vasos sanguíneos, além das alterações metabólicas associadas aos eventos cardiovasculares e cerebrais, consideradas as principais causas de óbitos.

No mundo, aproximadamente um bilhão de pessoas sofrem de hipertensão arterial (3) e o número de óbitos por ano decorrentes dessa doença pode chegar aos sete milhões (4). Esses números tendem a crescer com o aumento da longevidade e a ocorrência de fatores de risco associados à obesidade e diabetes (5).

As causas da hipertensão arterial ainda não são bem compreendidas e na grande maioria dos casos não resulta apenas de única causa, configurando-se assim, a hipertensão arterial essencial ou primária. Esta corresponde a cerca de 90% dos casos e é consequência de interações complexas entre fatores genéticos, ambientais e comportamentais, como por exemplo a ingestão excessiva de sal, sedentarismo e fatores emocionais (6).

A hipertensão arterial secundária resulta de causa conhecida, sendo as doenças renais a causa mais comum desse tipo de hipertensão, destacando-se a estenose da artéria renal. Outras causas importantes são os transtornos endócrinos como a síndrome de Cushing e hiperaldosteronismo (7).

1.1.2 Mecanismos Regulatórios da Pressão Arterial

Há diversos mecanismos associados à regulação da pressão arterial e o desequilíbrio de um desses pode induzir hipertensão arterial. Em condições fisiológicas, o controle da pressão arterial envolve mecanismos neuroendócrinos, renais e cardiovasculares (**Figura 1**). Os rins são os principais órgãos envolvidos no controle da pressão arterial em longo prazo, regulando o volume do fluido extracelular, atuando no controle da excreção de sódio e água, o que constitui o mecanismo de pressão natriurese (8).

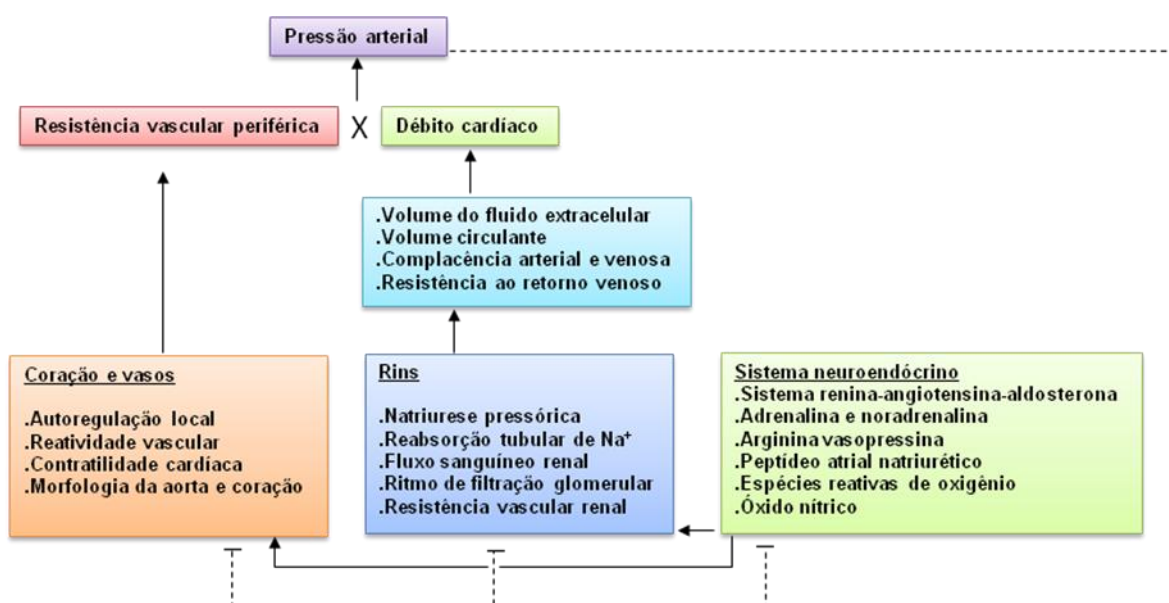


Figura 1. Mecanismos regulatórios da pressão arterial. A pressão arterial pode ser definida como débito cardíaco x resistência periférica. O débito cardíaco é influenciado pelo volume do fluido extracelular - regulado pelos rins, pelo mecanismo de pressão-natriurese. A resistência vascular periférica é determinada pela estrutura e função da vasculatura e mecanismos auto-regulatórios locais. Os fatores neuroendócrinos como os nervos simpáticos, hormônios, sistema parácrino e endócrino têm importante influência na função renal vascular, assim como os mecanismos homeostáticos de retroalimentação negativa (linhas pontilhadas) [adaptado de (5)].

Durante o desenvolvimento da hipertensão arterial; destacam-se o aumento da atividade do sistema nervoso simpático (SNS) e a ativação de sistemas e fatores humorais, como o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), arginina vasopressina (AVP), fatores endoteliais como as endotelinas (ET), óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (9-12).

1.2 Sistema Renina-Angiotensina (SRA)

O SRA é um eixo hormonal constituído por diversos componentes, entre eles hormônios vasoativos, enzimas conversoras e diferentes tipos de receptores. Possui ampla distribuição no organismo e até mesmo produção local em alguns tecidos. Entre suas estão: o balanço de sódio, controle do volume do fluido extracelular e da pressão arterial. Desde a sua descoberta por Tigerstedt e Bergman no final do século XIX, o SRA vem sendo amplamente estudado. A sua caracterização teve início quando esses pesquisadores investigando extratos de córtex renal, de maneira independente da ativação simpática, observaram uma substância hipotética que na ocasião foi denominada “renina”, devido a sua origem renal. Nesse período já havia estabelecido uma relação entre a hipertensão arterial e a doença renal, devido os experimentos de Harry Goldblatt, nos quais o pesquisador induzia hipertensão secundária em cães (*Canis lupus familiaris*) a partir do clampeamento da artéria renal (13, 14).

No mesmo período, dois grupos, um americano liderado por Irvine Page e outro argentino liderado por Eduardo Braum Menendez, se empenharam para investigar a renina e observaram que a mesma apresentava um potente efeito vasoconstritor *in vivo* devido a sua ação sobre o substrato denominado angiotensinogênio. A substância ativa, gerada no plasma a partir da clivagem do angiotensinogênio pela renina foi então isolada e denominada angiotonina (15). Simultaneamente, o grupo argentino, reproduzindo o modelo de Goldblatt, observou no sangue renal, uma substância com potente efeito pressórico, de curta duração e diferente da renina; a esse novo composto deram o nome de hipertensina. Não foi difícil concluir que a angiotonina e a hipertensina eram a mesma substância, que passou a ser chamada de angiotensina (15). A partir da descoberta da angiotensina, inúmeros pesquisadores de diferentes países passaram a investigar e descrever o sistema renina-angiotensina-aldosterona, bem como as inter-relações da angiotensina e da aldosterona com o balanço de sódio.

Hoje se sabe que a renina é uma aspartil-protease sintetizada sob a forma inativa, a pré-pró-renina, pelas células justaglomerulares renais (16). No retículo endoplasmático dessas células a pré-pró-renina é clivada em pró-renina (17). Enquanto uma porção da pró-renina é liberada na circulação, a outra porção é clivada por endopeptidases nos grânulos secretórios, formando a enzima proteolítica madura (18). A liberação da renina é mediada por mecanismos resultantes da estimulação de barorreceptores da arteríola aferente glomerular, influência dos nervos simpáticos e alterações na quantidade de NaCl detectada por células da mácula densa (19). Além do controle sistêmico, estudos também apontam para uma regulação

local dos processos envolvidos com a secreção de renina. No tecido vascular, os principais elementos reguladores são as endotelinas, o óxido nítrico e as prostaglandinas (20-22).

Na cascata de sinalização sistêmica clássica (**Figura 2**), a renina circulante cliva o angiotensinogênio proveniente principalmente do fígado em um decapeptídeo denominado angiotensina I (Ang I). Este, por sua vez, é clivado pela enzima conversora da Ang I (ECA1) formando o octapeptídeo 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) (23-25). Além dos componentes clássicos do SRA, diversos outros foram descobertos ao longo dos anos. Uma enzima homóloga a ECA1, a 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). Em 2007 foi descrito que o proto-oncogene *Mas* é um receptor para este peptídeo e que o eixo ECA2-Ang-(1-7)-Mas parece compensar os efeitos cardiovasculares e renais do SRA clássico (26). A Ang (1-7) é detectada em vários tecidos, incluindo rins, coração, fígado, baço, pulmão e sistema nervoso central (25, 27) e quando é clivada pela ECA e peptidases (Amp ou D-Amp) forma respectivamente, Ang (1-5) e Ang (3-7). Nas últimas duas décadas, diversos estudos apontam para a existência da Ang (3-4), resultado da clivagem das Angs (3-7) e (IV) pela ação da neprilisina (NEP) e da aminopeptidase (AP) (28).

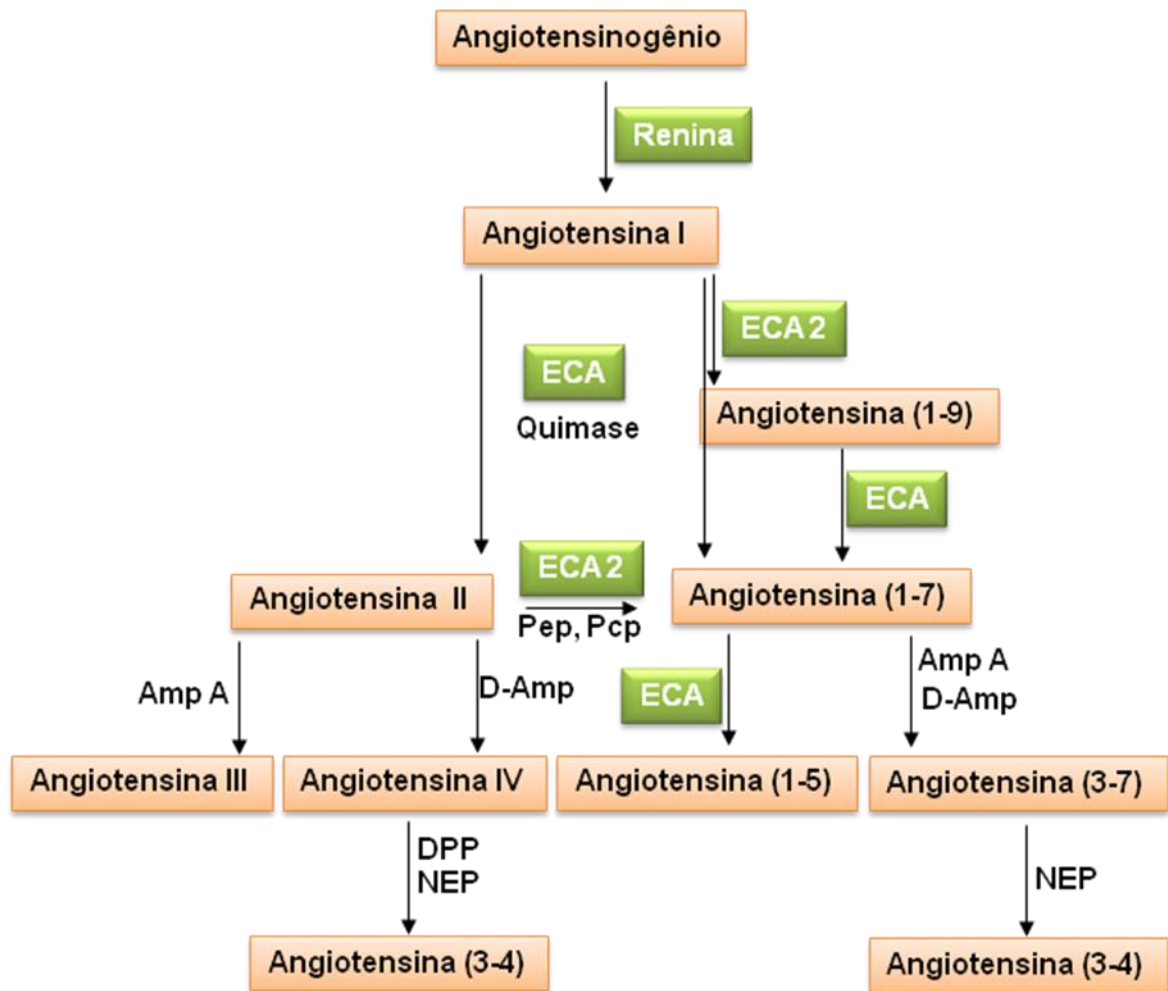


Figura 2: Vias e enzimas envolvidas na formação das angiotensinas. ECA: enzima conversora de angiotensina; Amp: aminopeptidase; NEP: neprilisina; Pcp:prolil carboxipeptidase; PEP: prolil endoepitidase; D-Amp: dipeptidil-aminopeptidase [Modificado de (29, 30)].

Nos últimos anos uma nova proteína, o receptor de pro-renina, (P)RR foi descoberto e descrito com uma função ativadora de renina independente de Ang II (31). O papel fisiológico destes novos componentes do SRA ainda não foi completamente desvendado, mas provavelmente exercem um impacto importante sobre a síntese e ação dos componentes do SRA clássico (32).

1.3 Angiotensina II e seus Receptores

O octapeptídeo Ang II de sequência $\text{NH}_2\text{-Asp}^1\text{-Arg}^2\text{-Val}^3\text{-Try}^4\text{-Ile}^5\text{-His}^6\text{-Pro}^7\text{-Phe}^8\text{-COOH}$ atua em vários tecidos via receptores do tipo AT1 (sensível a losartan) e AT2 (sensível a di(trifluoroacetato) sal hidratado - PD123319), ambos pertencentes à família de receptores acoplados à proteína G (GPCRs) (33).

O receptor AT1 é amplamente distribuído nos sistemas nervoso, endócrino cardiovascular e renal. Em condições fisiológicas, o AT1 medeia os efeitos clássicos da Ang II, incluindo a manutenção do volume do fluido extracelular e da pressão arterial. (34). No entanto, o aumento das concentrações de Ang II no plasma ou aumento da expressão de AT1 nos diferentes tecidos, pode resultar em vasoconstrição, liberação de aldosterona pelas glândulas adrenais, retenção de sódio pelos segmentos do néfron, estimulação do sistema nervoso simpático (via receptores cerebrais), liberação de endotelina 1 e aumento de estresse oxidativo via espécies reativas de oxigênio (32).

A interação da Ang II com o receptor AT1 (**Figura 3**) ativa várias vias de sinalização intracelular moduladas pelas proteínas G_i , $G_{q12/13}$ e G_s e fosfolipase C (PLC), aumentando as concentrações de cálcio no citosol e consequentemente, ativação da proteína kinase C (PKC) e calmodulina (35). O AT1 pode também ativar vias independentes de proteína G, como a da proteína associada ao receptor AT1 (ATRAP) e a da β -arrestina (ambas envolvidas na internalização do AT1); da Janus cinase (JAK) e Src, que ativam respectivamente, as proteínas transdutoras de sinal e ativadoras de transcrição (STAT), além das cinases reguladas por sinal extracelular (Erk) (36).

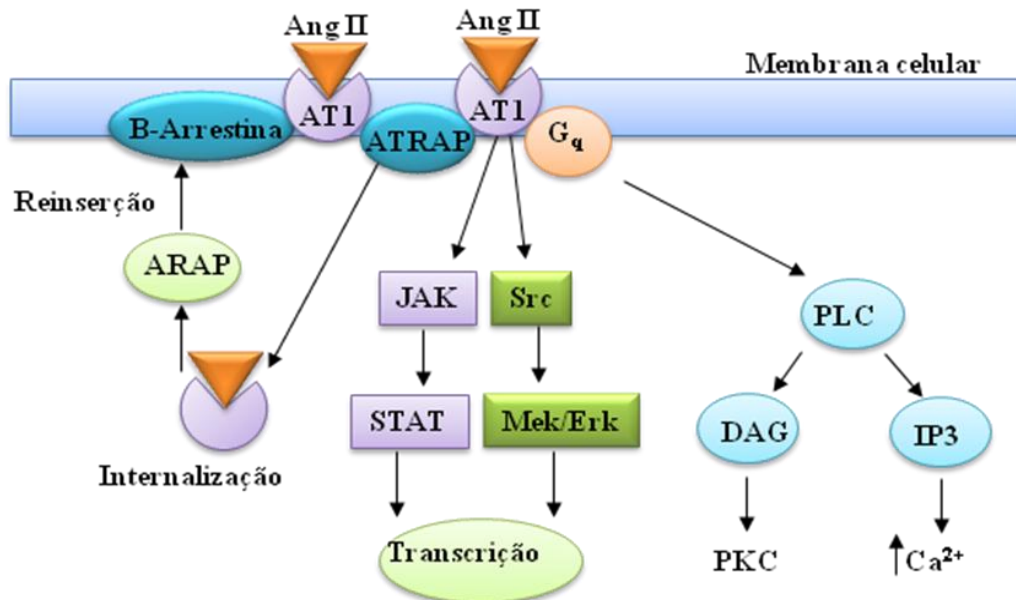


Figura 3: As principais vias de sinalização intracelular reguladas pela ativação do receptor AT1. A Ang II via receptor AT1 regula vias dependentes e independentes de proteína G. A ativação do AT1 pode resultar no aumento do cálcio citosólico e/ou ativação da proteína cinase C (PKC). O AT1 também pode interagir com a β -arrestina ou com a proteína associada a receptores AT1 (ATRAP), proteínas associadas à internalização do receptor e ativação de outras vias de sinalização. O AT1 também se associa as proteínas reguladoras dos processos de transcrição (JAK e Src) para estimular as vias STAT e Merk/Erk (organizado com base nos estudos de (37)).

O receptor AT2 é essencialmente expresso durante o desenvolvimento embrionário, decaindo após o nascimento; no entanto, persiste em vários órgãos incluindo o coração, rins e vasculatura, onde medeia importantes efeitos fisiológicos da Ang II (30). Sua expressão pode aumentar em casos de injúria cardíaca ou vascular e na cicatrização do tecido renal, sugerindo sua participação nos mecanismos de remodelamento tecidual (35, 37). As vias de sinalização celular decorrentes da ativação de AT2 (**Figura 4**) parecem depender de mecanismos associados ou não à proteína G. A interação do receptor AT2 com a proteína $G_{i\alpha 2}$ e $G_{i\alpha 3}$ já foi demonstrada (38), bem como as vias de sinalização dependentes da geração de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) e óxido nítrico, ativação da peptidil-peptidase 2 A (PPA2) e estimulação da fosfolipase A2 (39, 40).

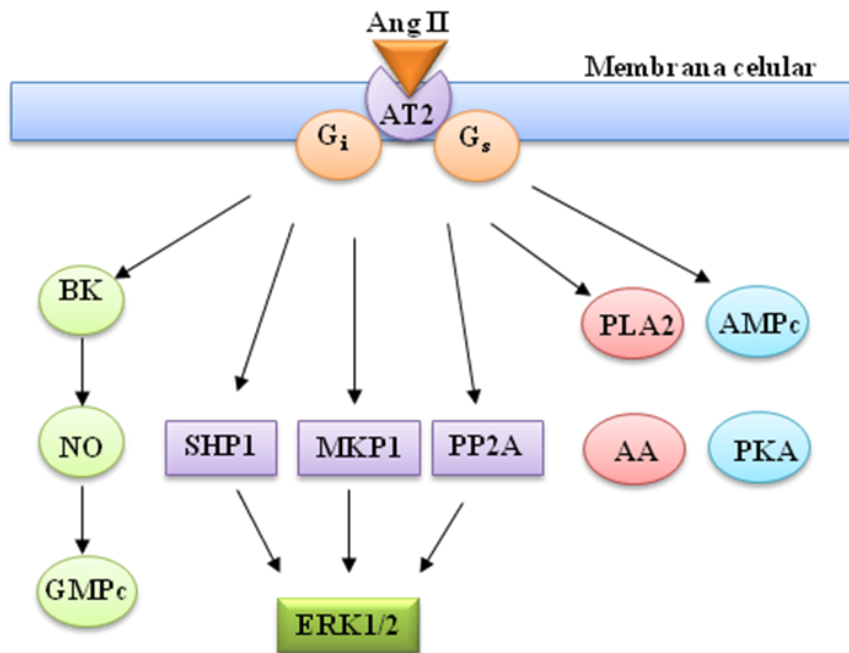


Figura 4: As principais vias de sinalização celular reguladas pela ativação do receptor AT2. A ativação de AT2 resulta no aumento de bradicinina (BK) e ativação das vias de síntese de óxido nítrico (NO), o que resulta na síntese de monofosfato de guanina cíclico (GMPc) e consequentemente em vasodilatação e natriurese. Ocorre, ainda, a ativação de fosfatases, como a Scr-2 (SHP-1), peptidil-peptidase 2 A (PPA2), proteína cinase ativa por mitogen-1 (MPK-1), que inibem a atividade da regulada por sinal extracelular (Erk1/2). O AT2 também estimula a via de ativação da fosfolipase A2 (PLA2) para a síntese de ácido aracdônico (AA), bem como a adenilil ciclase (AC) para a síntese de AMPc e consequentemente a ativação da proteína cinase dependente de AMPc (PKA) [organizado com base nos estudos de (30, 39, 40, 41)].

1.4 Angiotensina II, hipertensão arterial e remodelamento vascular renal

A Ang II circulante é de grande importância fisiológica na regulação da pressão arterial, tônus vascular, hemodinâmica renal e homeostase de eletrólitos. Apesar dos efeitos benéficos, a Ang II em altas concentrações no plasma, induz hipertensão arterial associada às doenças renais e cardiovasculares (42, 43). Além disso, a Ang II também atua como agente pró-inflamatório, pró-fibrótico e induz estresse oxidativo (44-46).

Em modelos animais, a hipertensão arterial induzida pela infusão crônica de Ang II está diretamente associada ao remodelamento hipertrófico para dentro, especialmente em se tratando de vasos de resistência como as artérias mesentéricas (47-49). Nessa condição, esses vasos apresentam diâmetros reduzidos e conseqüente queda do fluxo sanguíneo. Entretanto, os vasos colaterais apresentam fluxo sanguíneo aumentado, uma resposta compensatória para assegurar a perfusão tecidual (50). Por outro lado, o fluxo sanguíneo aumentado induz liberação de óxido nítrico (NO) pelas células endoteliais e conseqüente vasodilatação, posteriormente resultando em um remodelamento hipertrófico para fora (51, 52).

Nos rins, a Ang II pode induzir remodelamento hipertrófico para dentro, principalmente nos vasos pré-glomerulares. Muitos estudos confirmam que nessa condição ocorre aumento da resistência vascular renal (RVR), queda do fluxo sanguíneo renal (FSR) e do ritmo de filtração glomerular (RFG) (53-56). Entretanto, esses estudos foram realizados em animais que receberam Ang II por uma ou duas semanas.

Em um estudo realizado por Chin e colaboradores (57) observou-se que ratos tratados com Ang II por duas semanas tiveram aumento na atividade da NO sintase (NOS) no córtex, mas não na medula renal, sugerindo que o aumento de NO no cortex pode atenuar o efeito vasoconstritor da Ang II e assegurar a perfusão glomerular. De fato, os autores observaram que nesse modelo, o FSR se manteve inalterado.

Em modelos de diabetes melitus, Brenner e colaboradores (58), propuseram a teoria da hiperfiltração, onde a queda progressiva na perfusão de muitos glomérulos induzia hiperfiltração nos glomérulos adjacentes, como resposta compensatória à perda da função de néfrons.

Até o presente, não se investigou sobre a relação entre hipertensão arterial induzida por Ang II e hiperfiltração glomerular associada às mudanças estruturais nos vasos pré-glomerulares.

1.5 Sistema Endotelinas (ET)

A endotelina é um peptídeo sintetizado essencialmente pelas células endoteliais, e sua ação vasoconstritora foi descrita pela primeira vez por Yanagisawa e colaboradores (59). Nas células endoteliais a endotelina (**Figura 5**) é sintetizada na forma de pré-pró-endotelina, molécula constituída por 212 aminoácidos (AA) e liberada na corrente sanguínea. A pré-pró-endotelina é a forma inativa, que é clivada, por endopeptidases, em 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 (60, 61). A transcrição da endotelina é sensível a diversos fatores, como Ang II, vasopressina, interleucina-1 (IL-1) e peptídeos natriuréticos (Imai et al., 1992). A endotelina pode ser sintetizada a partir de três genes diferentes, dando origem a três isoformas distintas: ET-1, ET-2, e ET-3 (62, 63). Além das células endoteliais, muitas células polarizadas também secretam endotelinas, incluindo as células renais que secretam os peptídeos para a urina (61).

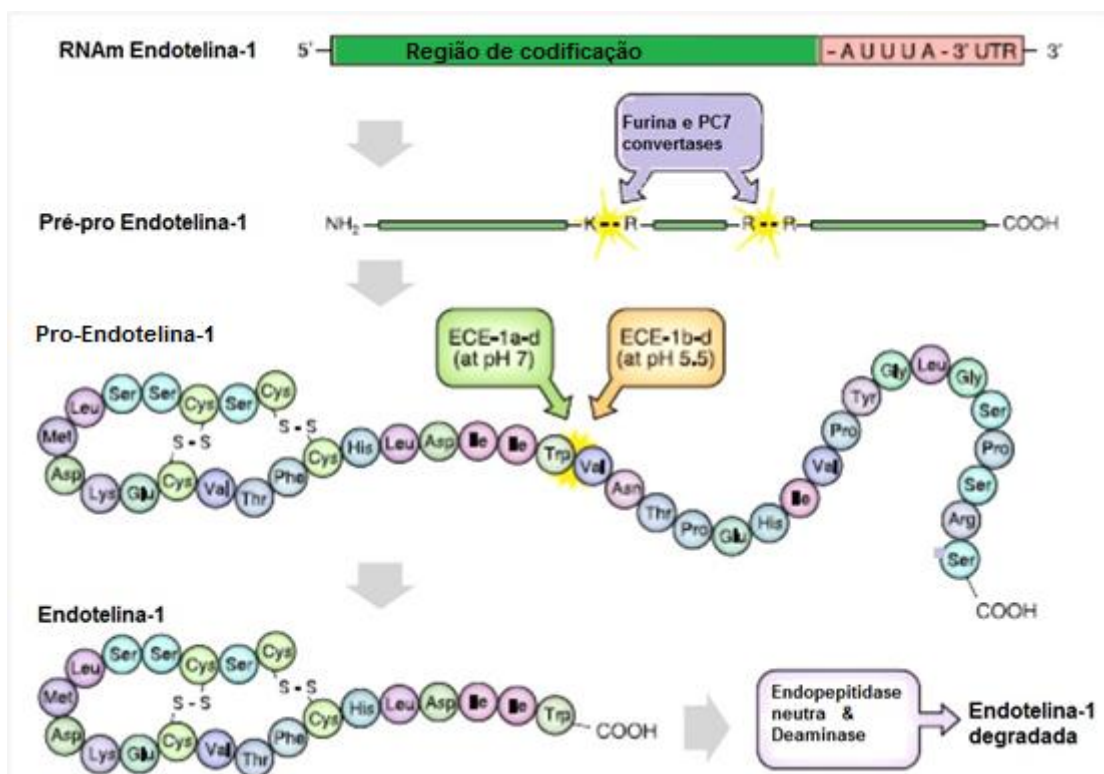


Figura 5: Esquema representativo das vias de biossíntese da endotelina 1 (ET-1). A pré-pró-endotelina é clivada pela ação da furina e convertases, formando a pró-ET. Esta é clivada por diferentes enzimas conversoras de ET (ECEs). Uma vez formada, a ET-1 pode ser degradada por endopeptidases e deaminases [adaptado de (61)].

Dos 3 peptídeos, a ET-1 é a isoforma mais estudada devido a sua importância para o sistema cardiovascular. A ET-1 é produto da clivagem do peptídeo pró-ET pela ECE 1, possui ações 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 (64). 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) (61). Pouco se conhece sobre o efeito da ET-3 no sistema cardiovascular e quase nada na função renal. No entanto, alguns estudos demonstraram que há aumento da concentração de ET-3 plasmática em pacientes com doença renal crônica (65) ou com glomeruloesclerose associada à hipertensão arterial (66). Sauvageau e colaboradores (67) demonstraram que a ET-3 também está associada à hipertensão pulmonar.

1.6 Endotelinas e seus receptores

Os receptores ETA e ETB (**Figura 6**) são expressos na maioria das células do organismo (61). No entanto, os receptores ETA (sensíveis ao antagonista atrasentan) predominam nas células da musculatura lisa vascular, induzindo vasoconstrição. Já os receptores ETB (sensíveis ao antagonista BQ 788) são encontrados tanto em células da musculatura lisa vascular, promovendo vasoconstrição, quanto em células endoteliais, onde sua ativação resulta em vasodilatação, por estimular a produção e liberação de NO (68). A ET-1 e ET-2 apresentam similar capacidade de interação com os receptores ETA e ETB, enquanto a ET-3 interage essencialmente com os receptores ETB (69). No entanto, já foi demonstrado que quando em altas concentrações, a ET-3 pode atuar também via receptores ETA (67).

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 $G_{q11,12}$ ou G_{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. Os mecanismos intracelulares pelos quais a ET-3 exerce os seus efeitos nos tecidos ainda não são completamente conhecidos.

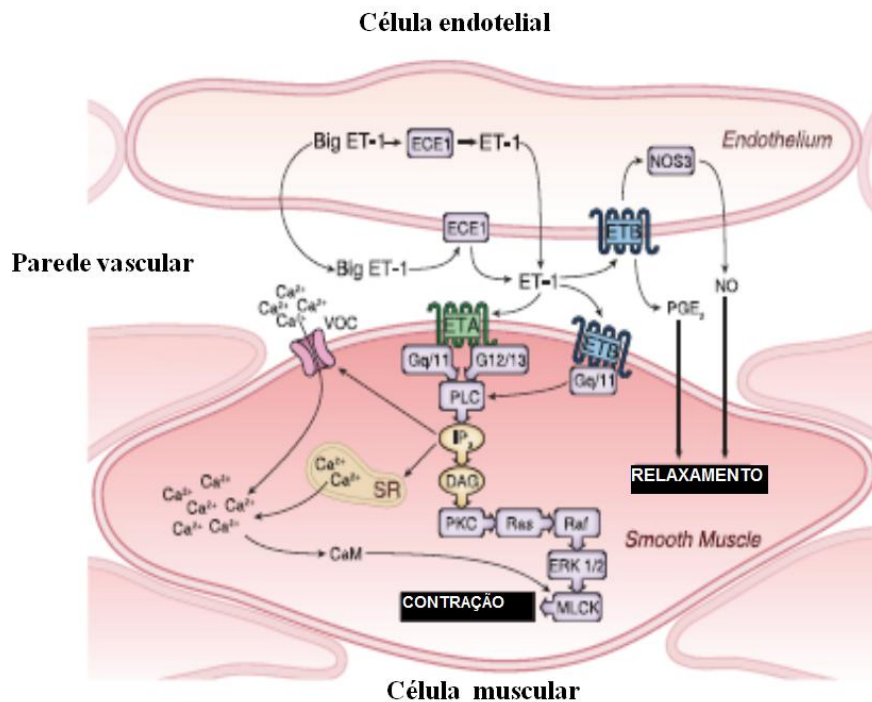


Figura 6: Esquema representativo das vias de sinalização da ET-1 na parede vascular: A ECE1 pode estar presente na membrana celular ou nos retículos, clivando a pró-ET1 em ET-1, cuja interação com ETA ou ETB na célula muscular, ocorre a ativação da cascata da inositol trifosfato aumentando a concentração 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. [adaptado de (61)].

1.7 Os rins e a homeostase do meio interno

Em condições fisiológicas, a manutenção do volume do fluido extracelular é constante e apropriada para o funcionamento do organismo, exigindo controle da ingestão e excreção de água e solutos. Nesse contexto, os rins desempenham papel fundamental na manutenção da homeostase dos fluidos corporais, mantendo sua composição e volume controlados, apesar das grandes variações na ingestão diária de água e solutos (70). Além do controle hidroeletrólítico, os rins desempenham outras funções importantes, como a excreção de produtos finais do metabolismo; a manutenção do equilíbrio ácido-base; a síntese e secreção de hormônios como a eritropoetina - que atua na formação dos glóbulos vermelhos, o calcitriol - importante no metabolismo de cálcio e a angiotensina II - essencial na regulação da pressão arterial.

Em humanos, cada rim é formado por mais de um milhão de néfrons, unidades funcionais responsáveis pelos processos de ultrafiltração, reabsorção e secreção de moléculas que participarão da formação da urina final (**Figura 7**).

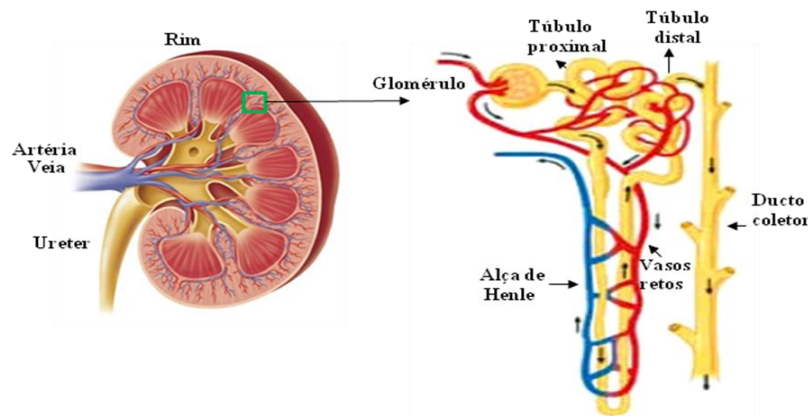


Figura 7: Estrutura macroscópica do rim e do néfron [adaptado de (71)]

1.8 O néfron

Cada néfron é formado por um glomérulo envolvido pela cápsula de Bowman e um extenso segmento tubular subdividido em túbulo proximal (convoluto e reto), alça de Henle (segmentos fino e espesso), túbulo distal e ducto coletor (71). O tufo glomerular é composto de 3 tipos celulares: células mesangiais, células endoteliais dos capilares glomerulares e podócitos. Juntamente com a membrana basal glomerular (MBG), o endotélio e os podócitos formam a barreira de ultrafiltração glomerular.

1.8.1 Glomérulo

As células mesangiais estão em contato direto com as células endoteliais dos capilares glomerulares e separadas dos podócitos pela MBG. Sakai e Kriz (72) estudando a relação entre a célula mesangial e a MBG descreveram que esta última não cobre totalmente a camada endotelial de revestimento do leito capilar, restando em áreas onde os prolongamentos mesangiais entram em contato direto com o endotélio glomerular fenestrado, constituindo as porções justamesangiais do capilar glomerular. Nas áreas em que não se estabelece contato direto, a conexão entre a célula mesangial e a MBG é realizada por componentes de matriz extracelular, destacando a densa rede de microfibrilas que ancora a membrana celular à fibronectina presente na matriz (73). As células mesangiais sintetizam os componentes de matriz extracelular glomerular e mantêm a integridade do tufo glomerular, formando um arcabouço que sustenta os capilares glomerulares. A capacidade contrátil dessas células

permite o controle do fluxo intracapilar e assim, a filtração glomerular de cada néfron individualmente.

As células mesangiais expressam receptores para a Ang II (74) e a interação entre o ligante e seus receptores resulta em uma série de eventos intracelulares, os quais culminam com o aumento da contração celular, estímulo à proliferação e aumento da produção de componentes de matriz extracelular. Além disso, elas passam a produzir mais fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidermal (EGF) e outras proteínas importantes para a fisiologia das células vizinhas como os podócitos e as células endoteliais glomerulares (75).

Na matriz extracelular de glomérulos saudáveis predominam os elementos como fibronectina e colágeno do tipo IV. Entretanto, em condições patológicas, ocorre aumento da expressão de fibronectina, laminina e colágeno total, com predomínio dos colágenos intersticiais do tipo I e do tipo III, normalmente encontrados na parede de arteríolas e no interstício (76). A expansão de matriz extracelular influencia vários aspectos do comportamento celular glomerular, tais como: adesão, crescimento, migração, proliferação, diferenciação e reparo (73).

A membrana basal glomerular (MGB) é um componente da matriz extracelular, que atua como barreira de ultrafiltração, separando a luz do capilar glomerular dos podócitos. Assim como a matriz extracelular, a MBG é constituída basicamente por macromoléculas como, fibronectina e colágeno do tipo IV além da laminina, distroglicanos e proteoglicanos (77).

As células endoteliais dos capilares glomerulares possuem fenestras com um diâmetro de 60 a 80 nanômetros (nm) e em seu lado luminal há o glicocálix carregado negativamente, que juntos constituem uma barreira com seletividade para tamanho e carga das moléculas (75). Essas células sintetizam compostos vasoativos que atuam no mesângio e em vasos pós-capilares como as arteríolas eferentes (78).

Os podócitos são células epiteliais altamente especializadas que exercem funções organizadoras e protetoras da estrutura e função glomerular. São células envolvidas no processo de ultrafiltração do plasma, na manutenção da forma e integridade da membrana basal glomerular e dos capilares glomerulares e respondem aos vários mecanismos de sinalização celular. Os podócitos são caracterizados por extensos processos podais, que contém filamentos de actina finamente orquestrados com diversas outras proteínas, a fim de manter a sua morfologia e aderência à membrana basal (75). Apesar de separados das células

endoteliais pela membrana basal glomerular, os podócitos possuem a essencial função de suprir o endotélio capilar com o fator de crescimento endotelial vascular A (VEGF-A) (79).

Diversos estudos apontam para três tipos principais de injúria de podócitos: (1) perda de processos podais; (2) desdiferenciação, acompanhada de proliferação e (3) apoptose (80). A perda dos processos podais é a primeira reação dos podócitos frente a qualquer tipo de injúria e envolve o rearranjo do citoesqueleto de actina e a sua interação com proteínas da membrana basal glomerular. A desdiferenciação resulta no decréscimo da função dessas células na barreira de ultrafiltração glomerular (80). Finalmente, a apoptose de podócitos ou seu desprendimento da membrana basal glomerular leva à diminuição do número de podócitos (podocitopenia), prejudicando a barreira de ultrafiltração, uma vez que os podócitos remanescentes são incapazes de cobrir toda a membrana basal glomerular. Como consequência, os podócitos são substituídos por tecido cicatricial e matriz extracelular (75).

A injúria glomerular pode estar associada às mutações genéticas, como é o caso da glomeruloesclerose focal; ou pode ser adquirida, essencialmente pelo aumento da pressão intraglomerular devido doenças como a hipertensão arterial, a nefropatia diabética e a síndrome metabólica. A obesidade também está associada às alterações funcionais e estruturais renais. De fato, múltiplos fatores metabólicos e hemodinâmicos têm sido propostos como contribuintes da nefropatia associada à obesidade; entre eles estão a Angiotensina II, a endotelina 1, o estresse oxidativo, os processos inflamatórios e a hipertensão glomerular (81).

1.8.2 Túbulos renais

Os túbulos renais são constituídos por uma camada simples de células epiteliais, que separam a luz tubular do interstício renal e permitem o transporte vetorial de substâncias entre os dois compartimentos. Em condições fisiológicas, o túbulo proximal é responsável pela reabsorção de cerca de 80% do cloreto de sódio e de parcela semelhante do volume filtrado. A alça de Henle tem a função de criar um gradiente osmótico na medula renal, de tal forma que o fluido na porção externa da medula (próximo ao córtex) possua osmolalidade menor que o fluido da porção interna da mesma (próximo da pelve renal). Este gradiente é essencial para que os rins concentrem a urina, conservando a osmolalidade do organismo. O túbulo distal reabsorve cloreto de sódio, bicarbonato e cálcio. Além disso, secreta e reabsorve potássio, e secreta hidrogênio e amônia. O ducto coletor reabsorve sódio, secreta amônia e hidrogênio, e pode secretar ou reabsorver potássio e bicarbonato. Além disso, é um importante local de ação do hormônio vasopressina, o qual regula a absorção de água nesse segmento do néfron.

1.9 Perfusão renal

Os rins recebem cerca de 20% do débito cardíaco e são os principais órgãos envolvidos na manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico do organismo. A organização de sua vasculatura é essencial para a regulação do fluxo sanguíneo renal, ritmo de filtração glomerular e formação da urina (82). A ultrafiltração do plasma que precede a formação da urina ocorre nos capilares glomerulares e é controlada pelas forças de Starling e por ajustes funcionais da barreira de ultrafiltração glomerular (83). Além de manter a homeostase hidroeletrólítica, os rins também exercem um importante papel endócrino, pois sintetizam diversos hormônios e compostos vasoativos como: angiotensinas, endotelinas, prostaglandinas e óxido nítrico (84).

O sangue oriundo da artéria aorta chega aos rins pelas artérias renais, e segue pelas artérias segmentares, interlobares, arqueadas e interlobulares, até alcançar as arteríolas aferentes, passando pelos capilares glomerulares e saindo pelas arteríolas eferentes, e posteriormente pelos capilares peritubulares (na porção cortical renal) e vasos retos (na porção medular renal) (82).

As artérias interlobulares e as arteríolas renais são vasos essenciais para a regulação do fluxo sanguíneo renal e glomerular (85, 86). Assim, alterações morfológicas e funcionais nos componentes da parede desses vasos, incluindo o endotélio, elastina, colágeno e células da musculatura lisa vascular, refletem diretamente na hemodinâmica glomerular. Um bom exemplo é o estímulo dos nervos simpáticos sobre a musculatura lisa das arteríolas aferentes e eferentes, que resulta na contração de ambos os vasos. Essa vasoconstrição aumenta a resistência vascular, reduzindo o fluxo sanguíneo renal e conseqüentemente, do ritmo de filtração glomerular (87). É importante ressaltar que de acordo com a lei de *Poiseuille* ($Q = \Delta P \cdot \pi \cdot r^4 / 8l \cdot \eta$), o fluxo em um vaso cilíndrico é diretamente proporcional à quarta potência do raio desse vaso. Ou seja, pequenas alterações no raio do vaso, são suficientes para mudar de forma significativa o fluxo no mesmo (88). No rim, não é diferente, sendo o fluxo sanguíneo glomerular ajustado de acordo com pequenas mudanças no raio das arteríolas aferentes e eferentes.

Diversas doenças sistêmicas incluindo aquelas associadas às doenças renais como a hipertensão arterial, insuficiência cardíaca e diabetes mellitus, podem induzir perda progressiva da função renal essencialmente por alterar a morfologia e função de vasos renais, mesângio, barreira de ultrafiltração glomerular e células tubulares (83). Frequentemente, a injúria na barreira de ultrafiltração glomerular leva à proteinúria e perda da função renal.

Assim, a disfunção glomerular é o fator etiológico mais comum para a falência renal e o estudo das bases moleculares da biologia glomerular é essencial para o seu entendimento (83).

1.10 Função do rim no controle da pressão arterial

O controle da excreção renal de sódio apresenta íntima relação com o controle da pressão arterial em médio e longo prazo, constituindo o mecanismo de diurese pressórica. O aumento da pressão arterial leva ao aumento da excreção de sódio e de água, promovendo redução do volume do fluido extracelular e, conseqüentemente do débito cardíaco, restaurando a pressão arterial para valores normais. Por outro lado, quedas na pressão arterial leva à diminuição da excreção renal de sódio e de água, a fim de restaurar a pressão arterial. A hipertensão arterial pode ser configurada, portanto, como uma anormalidade na natriurese. É importante ressaltar que diversos sistemas neuro-humorais agem em conjunto para garantir a eficiência deste mecanismo, que inclui o controle da liberação do fator natriurético, vasopressina, ativação do SRA e do sistema endotelinas (71).

1.11 O SRA local e a função renal

Os rins são importantes órgãos para a formação de Ang II, além da síntese de renina pelas células justaglomerulares, há expressão dos componentes do SRA por células mesangiais, podócitos, túbulo proximal e ducto coletor (81, 89), constituindo um sistema local capaz de produzir Ang II, expressando RNAm para angiotensinogênio, ECA, renina, além dos receptores para Ang II (90). De fato, as concentrações fisiológicas deste peptídeo no tecido renal, superam as plasmáticas, chegando a concentrações de 50 pM/mL no fluido intersticial renal de ratos (91). Além disso, a Ang II circulante pode ser captada pelas células renais de maneira dependente de receptores AT1 (92). As concentrações elevadas de Ang II no tecido renal indicam a importância do SRA na regulação da hemodinâmica renal e no controle da função tubular.

A ativação do SRA intrarrenal contribui para a hipertensão arterial e a progressão da lesão renal em doenças renais crônicas (93). A Ang II atua nas células mesangiais estimulando: contração, proliferação, glomerulosclerose e síntese de matriz extracelular e liberação de mediadores vasoativos, proliferativos e inflamatórios, como interleucinas IL-1, IL-2, IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- β 1) (94, 95). Em podócitos, a Ang II regula as funções como contração, organização do

citoesqueleto e apoptose (96), e nos túbulos renais atua no transporte de sódio, bicarbonato, hidrogênio e água (32, 87).

1.12 Sistema endotelinas local e a função renal

Os rins também são de grande importância para as endotelinas, pois além de produzir ET-1 apresentam ampla distribuição dos receptores ETA e ETB. Há evidências de que a endotelina sistêmica e a endotelina renal são independentes (97). Assim, a excreção de ET-1 pode ser um reflexo da produção de endotelina renal e não sistêmica (61). Nos rins, os receptores ETA estão distribuídos nas células musculares lisas vasculares das artérias arqueadas, nas arteríolas glomerulares, nos glomérulos e nos vasos retos, o que demonstra a influência da ET-1 na hemodinâmica renal influenciando o fluxo sanguíneo renal (FSR) e o ritmo de filtração glomerular (RFG) (98, 99). Os receptores ETB são expressos nos glomérulos (100) e em maior número (proporção 2:1) no sistema de ductos coletores, modulando o manejo de eletrólitos e água, favorecendo a natriurese em alguns modelos animais (101-104). Estudos indicam que o efeito natriurético de ET-1 via receptor ETB se dá pela redução das atividades da Na^+/K^+ -ATPase, isoforma 3 do trocador Na^+/H^+ , co-transportador $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ localizados no túbulo proximal e na alça de Henle, além da atuação sobre o canal epitelial de sódio (ENaC) localizado no néfron distal (101, 105-108). Por outro lado, apesar da alta capacidade de interação entre ET-3 com o receptor ETB, ainda não está claro o efeito de ET-3 na função e transporte tubular renal.

1.13 Interação entre o SRA e o Sistema Endotelinas

Dado a importância do SRA e das ETs na regulação da pressão arterial, bem como no desenvolvimento da hipertensão arterial, é provável que haja interação entre os dois sistemas. No tecido renal, a Ang II em doses supra-fisiológicas (nanomolar), estimula a síntese e secreção de ET-1 (61), mas os mecanismos envolvidos nessa resposta ainda não foram elucidados, e até o momento não se conhece o efeito da Ang II na síntese e secreção renal de ET-3.

A produção exacerbada de Ang II ou de ET-1 intrarrenal aumenta o estresse oxidativo, a deposição de matriz extracelular entre os glomérulos e o interstício renal, causa atrofia tubular e alterações na vasculatura renal, culminando com a injúria do tecido renal. Nessas condições, a fibrose renal está associada essencialmente ao aumento da expressão do fator de

crescimento de tecido conjuntivo (CTGF), o qual induz o crescimento de fibroblastos; aumento da produção de colágeno e do TGF- β_1 (20, 109).

1.14 Modelos animais de hipertensão arterial para estudo da função renal

Desde a primeira metade do século XIX que Harry Goldblatt e seus colaboradores estabeleceram o primeiro modelo animal de hipertensão arterial (13, 14). Eles induziram a hipertensão secundária em cães, a partir do clampeamento da artéria renal. Desde então, inúmeros modelos de animais hipertensos foram criados, por indução cirúrgica (nephrectomia), endócrina (infusão de angiotensinas ou endotelinas), metabólica ou alimentar, como os resultantes da infusão de acetato de deoxicorticosterona (DOCA) (110); e até desenvolvimento de linhagens, como camundongos transgênicos que superexpressam o gene para renina; ou ratos espontaneamente hipertensos (SHR) (111).

Em nosso estudo utilizamos os modelos de hipertensão endócrina, por infusão crônica de Ang II (112), (113) ou de endotelina 3 (114, 115).

9 CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que o tratamento com Ang II por 42 dias foi capaz de estimular a síntese de endotelinas 1 e 3, induzir severa hipertensão arterial, alterar a hemodinâmica e a função renal, bem como induzir alterações na morfologia renal, como injúria na parede das artérias interlobulares e arteríolas aferentes, injúria glomerular, proteinúria, podocitúria e infiltração de macrófagos. O tratamento com losartan foi capaz de reverter total ou parcialmente grande parte dos efeitos deletérios da Ang II, o que indica uma importante contribuição dos receptores AT1 nesses processos.

A endotelina 3 também se apresentou como potencial efetor para um modelo de hipertensão arterial. Além disso, a ET-3 via receptores ETA e ETB induziu alterações na função e morfologia renal de forma similar a Ang II.

Esse estudo também sugere uma importante interação funcional entre os sistemas renina-angiotensina e endotelinas.

REFERÊNCIAS*

1. Berne-Levy. Fisiologia 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009. 844 p.
2. Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation*. 2000;101(3):329-35.
3. Hajjar I, Kotchen JM, Kotchen TA. Hypertension: trends in prevalence, incidence, and control. *Annu Rev Public Health*. 2006;27:465-90.
4. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003;42(6):1206-52.
5. Kotchen TA. Obesity-related hypertension: epidemiology, pathophysiology, and clinical management. *Am J Hypertens*. 2010;23(11):1170-8.
6. Bolívar JJ. Essential hypertension: an approach to its etiology and neurogenic pathophysiology. *Int J Hypertens*. 2013;2013:547809.
7. Lawlor DA, O'Callaghan MJ, Mamun AA, Williams GM, Bor W, Najman JM. Early life predictors of adolescent smoking: findings from the Mater-University study of pregnancy and its outcomes. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2005;19(5):377-87.
8. AbdAlla S, Lothar H, el Massiery A, Quitterer U. Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. *Nat Med*. 2001;7(9):1003-9.
9. Sagar S, Kallo IJ, Kaul N, Ganguly NK, Sharma BK. Oxygen free radicals in essential hypertension. *Mol Cell Biochem*. 1992;111(1-2):103-8.
10. Campos RR, Bergamaschi CT. Comments on Point:Counterpoint: The dominant contributor to systemic hypertension: Chronic activation of the sympathetic nervous system vs. Activation of the intrarenal renin-angiotensin system. Sympathetic activation: cause or consequence of hypertension? *J Appl Physiol (1985)*. 2010;109(6):2013-4.
11. Gomez-Sanchez EP, Gomez-Sanchez CM, Plonczynski M, Gomez-Sanchez CE. Aldosterone synthesis in the brain contributes to Dahl salt-sensitive rat hypertension. *Exp Physiol*. 2010;95(1):120-30.
12. Rautureau Y, Schiffrin EL. Endothelin in hypertension: an update. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2012;21(2):128-36.

*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>

13. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension : i. the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med.* 1934;59(3):347-79.
14. Van Epps HL. Harry Goldblatt and the discovery of renin. *J Exp Med.* 2005;201(9):1351.
15. Basso N, Terragno NA. History about the discovery of the renin-angiotensin system. *Hypertension.* 2001;38(6):1246-9.
16. Galen FX, Devaux C, Houot AM, Menard J, Corvol P, Corvol MT, et al. Renin biosynthesis by human tumoral juxtaglomerular cells. Evidences for a renin precursor. *J Clin Invest.* 1984;73(4):1144-55.
17. Ichihara A, Sakoda M, Kurauchi-Mito A, Kaneshiro Y, Itoh H. Renin, prorenin and the kidney: a new chapter in an old saga. *J Nephrol.* 2009;22(3):306-11.
18. Schweda F, Friis U, Wagner C, Skott O, Kurtz A. Renin release. *Physiology (Bethesda).* 2007;22:310-9.
19. Harrison-Bernard LM. The renal renin-angiotensin system. *Adv Physiol Educ.* 2009;33(4):270-4.
20. Boor P, Floege J. Chronic kidney disease growth factors in renal fibrosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2011;38(7):441-50.
21. Ihn H. Pathogenesis of fibrosis: role of TGF-beta and CTGF. *Curr Opin Rheumatol.* 2002;14(6):681-5.
22. Phanish MK, Winn SK, Dockrell ME. Connective tissue growth factor-(CTGF, CCN2)--a marker, mediator and therapeutic target for renal fibrosis. *Nephron Exp Nephrol.* 2010;114(3):e83-92.
23. Wolf G, Wenzel U, Assmann KJ, Stahl RA. Renal expression of aminopeptidase A in rats with two-kidney, one-clip hypertension. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(12):1935-42.
24. Wolf G, Wenzel U, Burns KD, Harris RC, Stahl RA, Thaiss F. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB through AT1 and AT2 receptors. *Kidney Int.* 2002;61(6):1986-95.
25. Danziger RS. Aminopeptidase N in arterial hypertension. *Heart Fail Rev.* 2008;13(3):293-8.
26. Santos RA, Ferreira AJ. Angiotensin-(1-7) and the renin-angiotensin system. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2007;16(2):122-8.

27. Zimmerman D, Burns KD. Angiotensin-(1-7) in kidney disease: a review of the controversies. *Clin Sci (Lond)*. 2012;123(6):333-46.
28. Dilauro M, Burns KD. Angiotensin-(1-7) and its effects in the kidney. *ScientificWorldJournal*. 2009;9:522-35.
29. Axelband F, Assunção-Miranda I, de Paula IR, Ferrão FM, Dias J, Miranda A, et al. Ang-(3-4) suppresses inhibition of renal plasma membrane calcium pump by Ang II. *Regul Pept*. 2009;155(1-3):81-90.
30. Carey RM, Padia SH. Role of angiotensin AT(2) receptors in natriuresis: Intrarenal mechanisms and therapeutic potential. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2013;40(8):527-34.
31. Burckle C, Bader M. Prorenin and its ancient receptor. *Hypertension*. 2006;48:549-51.
32. Bader M, Ganten D. Update on tissue renin-angiotensin systems. *J Mol Med (Berl)*. 2008;86(6):615-21.
33. Miura SI, Saku K. Recent progress in the treatment of cardiovascular disease using olmesartan. *Clin Exp Hypertens*. 2013.
34. Allen AM, Zhuo J, Mendelsohn FA. Localization of angiotensin AT1 and AT2 receptors. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10 Suppl 11:S23-9.
35. de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev*. 2000;52(3):415-72.
36. Lefkowitz RJ, Shenoy SK. Transduction of receptor signals by beta-arrestins. *Science*. 2005;308(5721):512-7.
37. Touyz RM, Berry C. Recent advances in angiotensin II signaling. *Braz J Med Biol Res*. 2002;35(9):1001-15.
38. Pratt RE, Dzau VJ. Pharmacological strategies to prevent restenosis: lessons learned from blockade of the renin-angiotensin system. *Circulation*. 1996;93(5):848-52.
39. Jöhren O, Dendorfer A, Dominiak P. Cardiovascular and renal function of angiotensin II type-2 receptors. *Cardiovasc Res*. 2004;62(3):460-7.
40. Siragy HM, Carey RM. The subtype 2 (AT2) angiotensin receptor mediates renal production of nitric oxide in conscious rats. *J Clin Invest*. 1997;100(2):264-9.
41. Padia SH, Howell NL, Siragy HM, Carey RM. Renal angiotensin type 2 receptors mediate natriuresis via angiotensin III in the angiotensin II type 1 receptor-blocked rat. *Hypertension*. 2006; 47: 537-44.

42. Johnson RJ, Alpers CE, Yoshimura A, Lombardi D, Pritzl P, Floege J, et al. Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension. *Hypertension*. 1992;19(5):464-74.
43. Von Thun AM, Vari RC, el-Dahr SS, Navar LG. Augmentation of intrarenal angiotensin II levels by chronic angiotensin II infusion. *Am J Physiol*. 1994;266(1 Pt 2):F120-8.
44. Boor P, Ostendorf T, Floege J. Renal fibrosis: novel insights into mechanisms and therapeutic targets. *Nat Rev Nephrol*. 2010;6(11):643-56.
45. Haugen EN, Croatt AJ, Nath KA. Angiotensin II induces renal oxidant stress in vivo and heme oxygenase-1 in vivo and in vitro. *Kidney Int*. 2000;58(1):144-52.
46. Rüster C, Wolf G. Angiotensin II as a morphogenic cytokine stimulating renal fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(7):1189-99.
47. Griffin SA, Brown WC, MacPherson F, McGrath JC, Wilson VG, Korsgaard N, et al. Angiotensin II causes vascular hypertrophy in part by a non-pressor mechanism. *Hypertension*. 1991;17(5):626-35.
48. Lever AF. Slow developing pressor effect of angiotensin II and vascular structure. *J Hypertens Suppl*. 1993;11(3):S27-8.
49. Mulvany MJ. Small artery remodeling and significance in the development of hypertension. *News Physiol Sci*. 2002;17:105-9.
50. Dumont O, Kauffenstein G, Guihot AL, Guérineau NC, Abraham P, Loufrani L, et al. Time-related alteration in flow- (shear stress-) mediated remodeling in resistance arteries from spontaneously hypertensive rats. *Int J Hypertens*. 2014;2014:859793.
51. Bouvet C, Belin de Chantemèle E, Guihot AL, Vessières E, Bocquet A, Dumont O, et al. Flow-induced remodeling in resistance arteries from obese Zucker rats is associated with endothelial dysfunction. *Hypertension*. 2007;50(1):248-54.
52. Pourageaud F, De Mey JG. Vasomotor responses in chronically hyperperfused and hypoperfused rat mesenteric arteries. *Am J Physiol*. 1998;274(4 Pt 2):1301-7.
53. Zhu Q, Wang Z, Xia M, Li PL, Van Tassell BW, Abbate A, et al. Silencing of hypoxia-inducible factor-1 α gene attenuated angiotensin II-induced renal injury in Sprague-Dawley rats. *Hypertension*. 2011;58(4):657-64.
54. Edgley AJ, Kett MM, Anderson WP. Evidence for renal vascular remodeling in angiotensin II-induced hypertension. *J Hypertens*. 2003;21(7):1401-6.
55. Wang CT, Chin SY, Navar LG. Impairment of pressure-natriuresis and renal autoregulation in ANG II-infused hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;279(2):319-25.

56. Kost CK, Herzer WA, Li P, Notoya M, Mizuhira V, Inagami T, et al. Angiotensin II-induced structural and functional alterations in spontaneously hypertensive rat kidney. *Am J Physiol.* 1996;270(1 Pt 2):229-36.
57. Chin SY, Pandey KN, Shi SJ, Kobori H, Moreno C, Navar LG. Increased activity and expression of Ca(2+)-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats. *Am J Physiol.* 1999;277(5 Pt 2):797-804.
58. Brenner BM, Lawler EV, Mackenzie HS. The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. *Kidney Int.* 1996;49(6):1774-7.
59. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 1988;332(6163):411-5.
60. Dhaun N, Goddard J, Kohan DE, Pollock DM, Schiffrin EL, Webb DJ. Role of endothelin-1 in clinical hypertension: 20 years on. *Hypertension.* 2008;52:452-9.
61. Kohan DE, Rossi NF, Inscho EW, Pollock DM. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin. *Physiol Rev.* 2011; 91:1-77.
62. Imai T, Hirata Y, Emori T, Yanagisawa M, Masaki T, Marumo F. Induction of endothelin-1 gene by angiotensin and vasopressin in endothelial cells. *Hypertension.* 1992;19(6 Pt 2):753-7.
63. 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.* 1998;333(Pt 2):439-48.
64. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature.* 1990;348(6303):730-2.
65. Suzuki N, Matsumoto H, Miyauchi T, Goto K, Masaki T, Tsuda M, et al. Endothelin-3 concentrations in human plasma: the increased concentrations in patients undergoing haemodialysis. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;169(2):809-15.
66. Wolf SC, Smolczyk H, Brehm BR, Erley CM, Risler T. Endothelin-1 and endothelin-3 levels in different types of glomerulonephritis. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;31 Suppl 1:S482-5.
67. Sauvageau S, Thorin E, Villeneuve L, Dupuis J. Endothelin-3-dependent pulmonary vasoconstriction in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Peptides.* 2008;29(11):2039-45.

68. de Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, et al. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85(24):9797-800.
69. Hasegawa H, Hiki K, Sawamura T, Aoyama T, Okamoto Y, Miwa S, et al. Purification of a novel endothelin-converting enzyme specific for big endothelin-3. *FEBS Lett*. 1998;428:304-8.
70. Féraille E, Doucet A. Sodium-potassium-adenosinetriphosphatase-dependent sodium transport in the kidney: hormonal control. *Physiol Rev*. 2001;81(1):345-418.
71. Aires MM. *Fisiologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012. 1335 p.
72. Sakai T, Kriz W. The structural relationship between mesangial cells and basement membrane of the renal glomerulus. *Anat Embryol (Berl)*. 1987;176(3):373-86.
73. Kriz W, Elger M, Lemley KV, Sakai T. Mesangial cell-glomerular basement membrane connections counteract glomerular capillary and mesangium expansion. *Am J Nephrol*. 1990;10 Suppl 1:4-13.
74. Ernsberger P, Zhou J, Damon TH, Douglas JG. Angiotensin II receptor subtypes in cultured rat renal mesangial cells. *Am J Physiol*. 1992;263(3 Pt 2):F411-6.
75. Leeuwis JW, Nguyen TQ, Dendooven A, Kok RJ, Goldschmeding R. Targeting podocyte-associated diseases. *Adv Drug Deliv Rev*. 2010;62:1325-36.
76. Funabiki K, Horikoshi S, Tomino Y, Nagai Y, Koide H. Immunohistochemical analysis of extracellular components in the glomerular sclerosis of patients with glomerulonephritis. *Clin Nephrol*. 1990;34(6):239-46.
77. Yurchenco PD, Amenta PS, Patton BL. Basement membrane assembly, stability and activities observed through a developmental lens. *Matrix Biol*. 2004;22(7):521-38.
78. Sun YB, Qu X, Zhang X, Caruana G, Bertram JF, Li J. Glomerular endothelial cell injury and damage precedes that of podocytes in adriamycin-induced nephropathy. *PLoS One*. 2013;8(1):e55027.
79. Mundel P, Reiser J. Proteinúria: an enzymatic disease of the podocyte? *Kidney Int*. 2010;77(2):171-80.
80. Shankland SJ. The podocyte's response to injury: role in proteinúria and glomerulosclerosis. *Kidney Int*. 2006;69: 2131-47.

81. do Carmo JM, Tallam LS, Roberts JV, Brandon EL, Biglane J, da Silva AA, 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*. 2009;297(3):R803-12.
82. Sequeira Lopez ML, Gomez RA. Development of the renal arterioles. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(12):2156-65.
83. Patrakka J, Tryggvason K. Molecular make-up of the glomerular filtration barrier. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;396(1):164-9.
84. Touyz RM, Schiffrin EL. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. *Histochem Cell Biol*. 2004;122(4):339-52.
85. Denton KM, Anderson WP, Sinniah R. Effects of angiotensin II on regional afferent and efferent arteriole dimensions and the glomerular pole. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000;279(2):R629-38.
86. Anderson WP, Kett MM, Stevenson KM, Edgley AJ, Denton KM, Fitzgerald SM. Renovascular hypertension: structural changes in the renal vasculature. *Hypertension*. 2000;36(4):648-52.
87. Bader M. Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: Targets for pharmacological therapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2010;50:439-65.
88. Sriram K, Intaglietta M, Tartakovsky DM. Non-newtonian flow of blood in arterioles: consequences for wall shear stress measurements. *Microcirculation*. 2014.
89. Jiménez-Altayó F, Briones AM, Giraldo J, Planas AM, Salaices M, Vila E. Increased superoxide anion production by interleukin-1beta impairs nitric oxide-mediated relaxation in resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;316(1):42-52.
90. Liebau MC, Lang D, Böhm J, Endlich N, Bek MJ, Witherden I, et al. Functional expression of the renin-angiotensin system in human podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006;290(3):F710-9.
91. Nishiyama A, Seth DM, Navar LG. Angiotensin II type 1 receptor-mediated augmentation of renal interstitial fluid angiotensin II in angiotensin II-induced hypertension. *J Hypertens*. 2003;21(10):1897-903.
92. van Kats JP, de Lannoy LM, Jan Danser AH, van Meegen JR, Verdouw PD, Schalekamp MA. Angiotensin II type 1 (AT1) receptor-mediated accumulation of angiotensin II in tissues and its intracellular half-life in vivo. *Hypertension*. 1997;30(1 Pt 1):42-9.
93. Navar LG, Mitchell KD, Harrison-Bernard LM, Kobori H, Nishiyama A. Intrarenal angiotensin II levels in normal and hypertensive states. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2001;2:S176-S84.

94. Anderson PW, Do YS, Hsueh WA. Angiotensin II causes mesangial cell hypertrophy. *Hypertension*. 1993;21(1):29-35.
95. Ito S, Amin J, Ren Y, Arima S, Abe K, Carretero OA. Heterogeneity of angiotensin action in renal circulation. *Kidney Int Suppl*. 1997;63:S128-31.
96. Wennmann DO, Hsu HH, Pavenstadt H. The renin-angiotensin-aldosterone system in podocytes. *Semin Nephrol*. 2012;32(4):377-84.
97. Prisco D, Filippini M, Francalanci I, Paniccia R, Gensini GF, Seneri GG. Effect of n-3 fatty acid ethyl ester supplementation on fatty acid composition of the single platelet phospholipids and on platelet functions. *Metabolism*. 1995;44(5):562-9.
98. Karet FE. Endothelin peptides and receptors in human kidney. *Clin Sci (Lond)*. 1996;91(3):267-73.
99. Kohan DE. Endothelin, hypertension and chronic kidney disease: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010;19(2):134-9.
100. Owada A, Tomita K, Terada Y, Sakamoto H, Nonoguchi H, Marumo F. Endothelin (ET)-3 stimulates cyclic guanosine 3',5'-monophosphate production via ETB receptor by producing nitric oxide in isolated rat glomerulus, and in cultured rat mesangial cells. *J Clin Invest*. 1994;93(2):556-63.
101. Kohan DE, Padilla E. Osmolar regulation of endothelin-1 production by rat inner medullary collecting duct. *J Clin Invest*. 1993;91(3):1235-40.
102. Nambi P, Pullen M, Brooks DP, Gellai M. Identification of ETB receptor subtypes using linear and truncated analogs of ET. *Neuropeptides*. 1995;29(6):331-6.
103. Wesson DE. Endogenous endothelins mediate increased acidification in remnant kidneys. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(9):1826-35.
104. Kuc R, Davenport AP. Comparison of endothelin-A and endothelin-B receptor distribution visualized by radioligand binding versus immunocytochemical localization using subtype selective antisera. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;44 Suppl 1:S224-6.
105. Tomita K, Nonoguchi H, Terada Y, Marumo F. Effects of ET-1 on water and chloride transport in cortical collecting ducts of the rat. *Am J Physiol*. 1993;264(4 Pt 2):F690-6.
106. Molitoris BA, Dahl R, Geerdes A. Cytoskeleton disruption and apical redistribution of proximal tubule Na(+)-K(+)-ATPase during ischemia. *Am J Physiol*. 1992;263(3 Pt 2):F488-95.
107. Plato CF, Pollock DM, Garvin JL. Endothelin inhibits thick ascending limb chloride flux via ET(B) receptor-mediated NO release. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;279(2):F326-33.

108. Ge Y, Stricklett PK, Hughes AK, Yanagisawa M, Kohan DE. Collecting duct-specific knockout of the endothelin A receptor alters renal vasopressin responsiveness, but not sodium excretion or blood pressure. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289(4):F692-8.
109. Ihn H. The role of TGF-beta signaling in the pathogenesis of fibrosis in scleroderma. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2002;50(5):325-31.
110. Selye H. Production of Nephrosclerosis by Overdosage with Desoxycorticosterone Acetate. *Can Med Assoc J*. 1942;47(6):515-9.
111. Lerman LO, Chade AR, Sica V, Napoli C. Animal models of hypertension: an overview. *J Lab Clin Med*. 2005;146(3):160-73.
112. Zou LX, Imig JD, von Thun AM, Hymel A, Ono H, Navar LG. Receptor-mediated intrarenal angiotensin II augmentation in angiotensin II-infused rats. *Hypertension*. 1996;28(4):669-77.
113. Navar LG, Prieto MC, Satou R, Kobori H. Intrarenal angiotensin II and its contribution to the genesis of chronic hypertension. *Curr Opin Pharmacol*. 2011;11(2):180-6.
114. Saleh MA, Boesen EI, Pollock JS, Savin VJ, Pollock DM. Endothelin-1 increases glomerular permeability and inflammation independent of blood pressure in the rat. *Hypertension*. 2010;56(5):942-9.
115. Kittikulsuth W, Pollock JS, Pollock DM. Sex differences in renal medullary endothelin receptor function in angiotensin II hypertensive rats. *Hypertension*. 2011;58(2):212-8.
116. Luke RG. Essential hypertension: a renal disease? A review and update of the evidence. *Hypertension*. 1993;21(3):380-90.
117. Stevenson KM, Edgley AJ, Bergström G, Worthy K, Kett MM, Anderson WP. Angiotensin II infused intrarenally causes preglomerular vascular changes and hypertension. *Hypertension*. 2000;36(5):839-44.
118. Kelly DJ, Cox AJ, Gow RM, Zhang Y, Kemp BE, Gilbert RE. Platelet-derived growth factor receptor transactivation mediates the trophic effects of angiotensin II in vivo. *Hypertension*. 2004;44(2):195-202.
119. Kawano Y, Yoshida K, Matsuoka H, Omae T. Chronic effects of central and systemic administration of losartan on blood pressure and baroreceptor reflex in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 1994;7(6):536-42.
120. Merlen C, Farhat N, Luo X, Chatenet D, Tadevosyan A, Villeneuve LR, et al. Intracrine endothelin signaling evokes IP3-dependent increases in nucleoplasmic Ca²⁺ in adult cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2013;62:189-202.

121. Duarte J, Pérez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Pérez-Vizcaino F, Zarzuelo A, et al. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol.* 2001;133(1):117-24.
122. Coelho MS, Lopes KL, Freitas ReA, de Oliveira-Sales EB, Bergasmaschi CT, Campos RR, et al. High sucrose intake in rats is associated with increased ACE2 and angiotensin-(1-7) levels in the adipose tissue. *Regul Pept.* 2010;162(1-3):61-7.
123. Franco MoC, Akamine EH, Di Marco GS, Casarini DE, Fortes ZB, Tostes RC, et al. NADPH oxidase and enhanced superoxide generation in intrauterine undernourished rats: involvement of the renin-angiotensin system. *Cardiovasc Res.* 2003;59(3):767-75.
124. Fuhr J, Kaczmarczyk J, Kruttgen CD. [A simple colorimetric method of inulin determination in renal clearance studies on metabolically normal subjects and diabetics]. *Klin Wochenschr.* 1955;33(29-30):729-30.
125. Smith HW, Finkelstein N, Aliminosa L, Crawford B, Graber M. The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J Clin Invest.* 1945;24(3):388-404.
126. Puchtler H, Waldrop FS. On the mechanism of Verhoeff's elastica stain: a convenient stain for myelin sheaths. *Histochemistry.* 1979;62(3):233-47.
127. Saito T, Sumithran E, Glasgow EF, Atkins RC. The enhancement of aminonucleoside nephrosis by the co-administration of protamine. *Kidney Int.* 1987;32(5):691-9.
128. Petermann AT, Krofft R, Blonski M, Hiromura K, Vaughn M, Pichler R, et al. Podocytes that detach in experimental membranous nephropathy are viable. *Kidney Int.* 2003;64(4):1222-31.
129. Rosanò L, Spinella F, Di Castro V, Nicotra MR, Dedhar S, de Herreros AG, et al. Endothelin-1 promotes epithelial-to-mesenchymal transition in human ovarian cancer cells. *Cancer Res.* 2005;65(24):11649-57.
130. Hodeib AA, Elsharawy TA, Fawzi HA. Assessment of serum homocysteine, endothelin-1, and nitric oxide levels in behçet's disease. *Indian J Dermatol.* 2010;55(3):215-20.
131. Kobori H, Nangaku M, Navar LG, Nishiyama A. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. *Pharmacol Rev.* 2007;59(3):251-87.
132. Wang CT, Zou LX, Navar LG. Renal responses to AT1 blockade in angiotensin II-induced hypertensive rats. *J Am Soc Nephrol.* 1997;8(4):535-42.
133. Kobori H, Harrison-Bernard LM, Navar LG. Enhancement of angiotensinogen expression in angiotensin II-dependent hypertension. *Hypertension.* 2001;37(5):1329-35.

134. Satou R, Shao W, Navar LG. Role of stimulated intrarenal angiotensinogen in hypertension. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2015.
135. Brezniceanu ML, Wei CC, Zhang SL, Hsieh TJ, Guo DF, Hébert MJ, et al. Transforming growth factor-beta 1 stimulates angiotensinogen gene expression in kidney proximal tubular cells. *Kidney Int*. 2006;69(11):1977-85.
136. Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O, Esteban V, Blanco J, Mezzano S, et al. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. *Kidney Int Suppl*. 2002(82):S12-22.
137. Ozawa Y, Kobori H, Suzuki Y, Navar LG. Sustained renal interstitial macrophage infiltration following chronic angiotensin II infusions. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292(1):F330-9.
138. Tybitanclová K, Szabová L, Grima M, Ingert C, Zelezná B, Zórad S. Blockade of AT1 receptors by losartan did not affect renin gene expression in kidney medulla. *Gen Physiol Biophys*. 2006;25(1):43-51.
139. Abdi R, Brenner BM. Impact of renin angiotensin system blockade on renal function in health and disease: an end or a beginning? *Semin Nephrol*. 2004;24(2):141-6.
140. Navar LG. The role of the kidneys in hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2005;7(9):542-9.
141. Aizawa T, Ishizaka N, Taguchi J, Nagai R, Mori I, Tang SS, et al. Heme oxygenase-1 is upregulated in the kidney of angiotensin II-induced hypertensive rats : possible role in renoprotection. *Hypertension*. 2000;35(3):800-6.
142. Zhao D, Seth DM, Navar LG. Enhanced distal nephron sodium reabsorption in chronic angiotensin II-infused mice. *Hypertension*. 2009;54(1):120-6.
143. Lohmeier TE, Hildebrandt DA. Renal nerves promote sodium excretion in angiotensin-induced hypertension. *Hypertension*. 1998;31(1 Pt 2):429-34.
144. De Mey JG, Schiffers PM, Hilgers RH, Sanders MM. Toward functional genomics of flow-induced outward remodeling of resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288(3):H1022-7.
145. Lehoux S, Tronc F, Tedgui A. Mechanisms of blood flow-induced vascular enlargement. *Biorheology*. 2002;39(3-4):319-24.
146. Cousin M, Custaud MA, Baron-Menguy C, Toutain B, Dumont O, Guihot AL, et al. Role of angiotensin II in the remodeling induced by a chronic increase in flow in rat mesenteric resistance arteries. *Hypertension*. 2010;55(1):109-15.

147. Mulvany MJ. Small artery remodeling in hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2002;4(1):49-55.
148. Pourageaud F, De Mey JG. Structural properties of rat mesenteric small arteries after 4-wk exposure to elevated or reduced blood flow. *Am J Physiol.* 1997;273(4 Pt 2):H1699-706.
149. Loufrani L, Levy BI, Henrion D. Defect in microvascular adaptation to chronic changes in blood flow in mice lacking the gene encoding for dystrophin. *Circ Res.* 2002;91(12):1183-9.
150. Touyz RM. Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2005;14(2):125-31.
151. Griffin KA, Bidani AK. Angiotensin II type 2 receptor in chronic kidney disease: the good side of angiotensin II? *Kidney Int.* 2009;75(10):1006-8.
152. Dumont O, Loufrani L, Henrion D. Key role of the NO-pathway and matrix metalloprotease-9 in high blood flow-induced remodeling of rat resistance arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(2):317-24.
153. Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol.* 1981;241(1):F85-93.
154. Cortes P, Riser BL, Zhao X, Narins RG. Glomerular volume expansion and mesangial cell mechanical strain: mediators of glomerular pressure injury. *Kidney Int Suppl.* 1994;45:S11-6.
155. Hostetter TH. Hyperfiltration and glomerulosclerosis. *Semin Nephrol.* 2003;23(2):194-9.
156. Crowley SD, Vasievich MP, Ruiz P, Gould SK, Parsons KK, Pazmino AK, et al. Glomerular type 1 angiotensin receptors augment kidney injury and inflammation in murine autoimmune nephritis. *J Clin Invest.* 2009;119(4):943-53.
157. Wharram BL, Goyal M, Wiggins JE, Sanden SK, Hussain S, Filipiak WE, et al. Podocyte depletion causes glomerulosclerosis: diphtheria toxin-induced podocyte depletion in rats expressing human diphtheria toxin receptor transgene. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(10):2941-52.
158. Liu D, Wen Y, Tang TT, Lv LL, Tang RN, Liu H, et al. Megalin/cubulin-lysosome-mediated albumin reabsorption is involved in the tubular cell activation of NLRP3 inflammasome and tubulointerstitial inflammation. *J Biol Chem.* 2015.

159. Li X, Pabla N, Wei Q, Dong G, Messing RO, Wang CY, et al. PKC-delta promotes renal tubular cell apoptosis associated with proteinuria. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(7):1115-24.
160. Eddy AA. Proteinuria and interstitial injury. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(2):277-81.
161. Amsellem S, Gburek J, Hamard G, Nielsen R, Willnow TE, Devuyst O, et al. Cubilin is essential for albumin reabsorption in the renal proximal tubule. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(11):1859-67.
162. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2010;20(2):87-103.
163. Clark IA. How TNF was recognized as a key mechanism of disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2007;18(3-4):335-43.
164. Kagami S, Kondo S. Beta1-integrins and glomerular injury. *J Med Invest*. 2004;51(1-2):1-13.
165. Hamzeh MT, Sridhara R, Alexander LD. Cyclic stretch-induced TGF- β 1 and fibronectin expression is mediated by β 1-integrin through c-Src- and STAT3-dependent pathways in renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2015;308(5):F425-36.
166. Yeh YC, Wei WC, Wang YK, Lin SC, Sung JM, Tang MJ. Transforming growth factor- β 1 induces Smad3-dependent β 1 integrin gene expression in epithelial-to-mesenchymal transition during chronic tubulointerstitial fibrosis. *Am J Pathol*. 2010;177(4):1743-54.
167. Wang DT, Huang RH, Cheng X, Zhang ZH, Yang YJ, Lin X. Tanshinone IIA attenuates renal fibrosis and inflammation via altering expression of TGF- β /Smad and NF- κ B signaling pathway in 5/6 nephrectomized rats. *Int Immunopharmacol*. 2015;26(1):4-12.
168. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension*. 2001;38(3 Pt 2):581-7.
169. Hoffman A, Abassi ZA, Brodsky S, Ramadan R, Winaver J. Mechanisms of big endothelin-1-induced diuresis and natriuresis : role of ET(B) receptors. *Hypertension*. 2000;35(3):732-9.
170. Warner TD, Mitchell JA, de Nucci G, Vane JR. Endothelin-1 and endothelin-3 release EDRF from isolated perfused arterial vessels of the rat and rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1989;13 Suppl 5:S85-8; discussion S102.
171. Fukuroda T, Nishikibe M, Ohta Y, Ihara M, Yano M, Ishikawa K, et al. Analysis of responses to endothelins in isolated porcine blood vessels by using a novel endothelin antagonist, BQ-153. *Life Sci*. 1992;50(15):PL107-12.

172. Hirata Y, Matsuoka H, Kimura K, Fukui K, Hayakawa H, Suzuki E, et al. Renal vasoconstriction by the endothelial cell-derived peptide endothelin in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res.* 1989;65(5):1370-9.
173. Kon V, Yoshioka T, Fogo A, Ichikawa I. Glomerular actions of endothelin in vivo. *J Clin Invest.* 1989;83(5):1762-7.
174. Cairns HS, Rogerson ME, Fairbanks LD, Neild GH, Westwick J. Endothelin induces an increase in renal vascular resistance and a fall in glomerular filtration rate in the rabbit isolated perfused kidney. *Br J Pharmacol.* 1989;98(1):155-60.
175. Gurbanov K, Rubinstein I, Hoffman A, Abassi Z, Better OS, Winaver J. Differential regulation of renal regional blood flow by endothelin-1. *Am J Physiol.* 1996;271(6 Pt 2):F1166-72.
176. Zou AP, Cowley AW. Nitric oxide in renal cortex and medulla. An in vivo microdialysis study. *Hypertension.* 1997;29(1 Pt 2):194-8.
177. Katoh T, Chang H, Uchida S, Okuda T, Kurokawa K. Direct effects of endothelin in the rat kidney. *Am J Physiol.* 1990;258(2 Pt 2):F397-402.
178. Zeidel ML, Brady HR, Kone BC, Gullans SR, Brenner BM. Endothelin, a peptide inhibitor of Na(+)-K(+)-ATPase in intact renaltubular epithelial cells. *Am J Physiol.* 1989;257(6 Pt 1):C1101-7.
179. Nadler SP, Zimpelmann JA, Hébert RL. Endothelin inhibits vasopressin-stimulated water permeability in rat terminal inner medullary collecting duct. *J Clin Invest.* 1992;90(4):1458-66.
180. Hoffman A, Haramati A, Dalal I, Shuranyi E, Winaver J. Diuretic-natriuretic actions and pressor effects of big-endothelin (1-39) in phosphoramidon-treated rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1994;205(2):168-73.
181. Inoue A, Yanagisawa M, Takawa Y, Mitsui Y, Kobayashi M, Masaki T. The human preproendothelin-1 gene. Complete nucleotide sequence and regulation of expression. *J Biol Chem.* 1989;264(25):14954-9.
182. Gratton JP, Cournoyer G, D'Orléans-Juste P. Endothelin-B receptor-dependent modulation of the pressor and prostacyclin-releasing properties of dynamically converted big endothelin-1 in the anesthetized rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;31 Suppl 1:S161-3.
183. Okada M, Nishikibe M. BQ-788, a selective endothelin ET(B) receptor antagonist. *Cardiovasc Drug Rev.* 2002;20(1):53-66.
184. Karaki H, Sudjarwo SA, Hori M. Novel antagonist of endothelin ETB1 and ETB2 receptors, BQ-788: effects on blood vessel and small intestine. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;205(1):168-73.

185. Fukuroda T, Ozaki S, Ihara M, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M. Synergistic inhibition by BQ-123 and BQ-788 of endothelin-1-induced contractions of the rabbit pulmonary artery. *Br J Pharmacol.* 1994;113(2):336-8.
186. Watanabe M, Izumi Y, Soma M, Watanabe Y, Fukuda N, Abe Y, et al. Effect of endothelin-3 (ET-3) on renal function in rat perfused kidney. *Endocrinol Jpn.* 1991;38(4):435-40.
187. Boesen EI, Pollock DM. Cooperative role of ETA and ETB receptors in mediating the diuretic response to intramedullary hyperosmotic NaCl infusion. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;299(6):1424-32.