

ESTUDOS DA EXPRESSÃO TUBULOGLOMERULAR DE COLÁGENO IV E FIBRONECTINA EM RATOS OBESOS.

Alice Scavassa Leite (IC) e Patrícia Fiorino (Orientadora)

Apoio: PIBIC Mackenzie

RESUMO

O alto consumo de alimentos ricos em lipídios, promove o aumento da massa adiposa corporal que está relacionado a obesidade e, em estudos recentes mostram o desenvolvimento de doenças renais, incluindo as formas de adaptações estruturais e funcionais. Desta forma, este trabalho tem o objetivo de estudar em ratos submetidos à dieta hiperlipídica, logo após o desmame, a expressão tecidual tubuloglomerular (Lâmina Basal; Túbulos) na fase adulta. Ratos wistar macho, com 21 dias de idade, foram divididos em dois grupos (n=4/grupo): (CC) Grupo Controle, com ração comercial, 3% de lipídios; e (HH) Grupo Hiperlipídica, receberam uma ração rica, com 30% de lipídios, durante 8 semanas. Os procedimentos obedeceram às normas estabelecidas pelo Comitê de Pesquisa e Ética da Universidade Presbiteriana Mackenzie (CEUA Nº 108/03/2014). Ao fim do protocolo experimental, os animais foram eutanasiados, livre de dor e sofrimento, por sobrecarga de anestésico (Cloridato de Ketamina e Xylazina), e então o rim esquerdo foi coletado. O rim foi encaminhado para procedimentos histológicos de processamento, inclusão, cortes (3µm) e coloração com cromógeno de diaminobenzidina (DAB) /hematoxilina, para a identificação pelo procedimento de análises qualitativas e semi-quantitativas, o aumento de; colágeno tipo IV e Fibronectina no rim. Podemos sugerir a partir destes resultados, um aumento significativo de fibronectina no grupo HH (9,2±0,1 %marcação/tecido).

PALAVRAS-CHAVE: Dieta Hiperlipídica, Imunohistoquímica, Colágeno Tipo IV, Fibronectina.

ABSTRACT

The high consumption of foods rich in lipids, promote increased body fat mass which is related to obesity, studies shows the development of kidney disease, including forms of structural and functional adaptations. Therefore, this work is intended to study in rats with fat diet after weaning, the tubuloglomerular tissue expression (Basal blade; Tubules) in adulthood. Male Wistar rats, 21 days old, were divided into two groups: CC(Control Group), with commercial feed 3% fat; and HH (high fat diet group) received a diet rich in 30% lipids, for 8 weeks The procedures followed to the standards set by the Research and Ethics Committee of Universidade Mackenzie (CEUA No. 108/03/2014). At the end of the experimental protocol, the animals were euthanized, free of pain and suffering, due to overload of anesthetic

(hydrochloride of Ketamine and Xylazine), in order to be made the collection of the left kidney. The kidney was sent for histological processing procedures, including cuts (3 μ m) and staining with chromogen diaminobenzidine (DAB) / hematoxylin for identification by analysis of qualitative and semi-quantitative procedure increased antigens; type IV collagen and fibronectin in the kidney. We might be suggested from these results, a significant increase in fibronectin HH group ($9.2 \pm 0.1\%$ markup / tissue).

KEYWORDS: high-fat diet , immunohistochemistry, Collagen TipIV/fibronectin

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a população vem sofrendo um sobrepeso que pode acarretar em um quadro de obesidade crônica que é reconhecida atualmente como um dos principais riscos de mortalidade global. No mundo todo, 2,8 milhões de pessoas morrem pela obesidade, uma vez que, nesta condição, observa-se o aumento na incidência de doenças coronarianas, isquemia cerebral e diabetes. Uma grande preocupação é o sobrepeso infantil que atualmente tem sido considerado um grande problema e afeta países com renda média e baixa, em especial o ambiente urbano. Segundo um estudo da OMS em 2010, mais de 42 milhões de crianças com cinco anos já apresentam excesso de peso. Dentre as várias causas da obesidade, uma das principais é a alta ingestão de lipídios na dieta, por meio de alimentos altamente calóricos.

A associação entre obesidade e doença renal não tem sido claramente estabelecida até a última década e se manifesta, principalmente, de forma silenciosa, sendo muitas vezes descoberta apenas quando a doença está numa fase muito avançada, em que as alterações são irreversíveis (URSDS, 2012). As alterações renais decorrentes da obesidade, observadas em estudos clínicos e experimentais, incluem adaptações estruturais e funcionais (KAMBHAM et al., 2001). A lesão histológica mais comum é a glomerulosclerose que, apesar de ser considerada histologicamente como uma alteração menos severa, o prognóstico a longo prazo pode evoluir para doença renal crônica (DRC) (PRAGA et al., 2001).

Estudos realizados em nosso laboratório, em ratos alimentados durante as 8 semanas com ração hiperlipídica (30%), sugerindo uma relação positiva entre a dieta e nefropatia, neste modelo experimental. Neste mesmo modelo, mostram uma importante alteração na função renal, descrito pelo aumento significativo na deposição lipídica intra-renal, o que pode estar contribuindo para as alterações funcionais observadas. Dantas (2012) sugere que o fato de haver deposição lipídica nos túbulos intersticiais pode ser relacionado com algumas disfunções renais, como a síndrome nefrótica, que é detectada em pacientes que apresentam proteinúria intensa, hipoproteínemia e hiperlipidemia e pode progredir para a glomeruloesclerose (DANTAS et al., 2012).

O processo de esclerose dos glomérulos inicia-se com a proliferação de células mesangiais, que produzem excessivamente componentes da matriz extracelular, cujo depósito excessivo é a via final comum de várias doenças renais. Os principais componentes da matriz extracelular envolvidas presentes no glomérulo são: fibronectina, laminina, tenascina e colágeno (tipo IV, V e VI) (Singh et al., 2004; KIM et al., 2001).

Desta forma, para compreender melhor a associação entre uma alimentação rica em lipídios e as alterações renais associadas, este projeto tem como objetivo avaliar a expressão imuno-histoquímica da fibronectina e do colágeno tipo IV tubuloglomerular, em ratos obesos.

REFERENCIAL TEÓRICO

OBESIDADE

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, o que acarreta distúrbios metabólicos, tais como, diabetes mellitus, colesterol elevado, bem como distúrbios não metabólicos, como neoplasias, doença hepática não alcoólicas e no desenvolvimento de doença renal crônica (DRC), associada com a glomerulopatia e a nefropatia diabética (JESUS et. al, 2014).

Existem cada vez mais evidências na literatura mostrando que o metabolismo anormal de lipídios e o acúmulo renal de lipídios em rins de humanos e em modelos experimentais, pode ser um fator de risco para a DRC (JIANG et al., 2005; AXELSSON et al., 2006; DEJI et al., 2009), promovendo, hipertrofia glomerular, deposição de colágeno e diminuição do número de néfrons (FOGO, 2000). Em nosso laboratório, ratos que tiveram uma alimentação rica em lipídios durante as 8 semanas, mostraram alterações importantes na função renal, em modelo de perfusão renal extracorpórea, permitindo ajustes sem influências neurais e endócrinas sistêmicas que acompanham o modelo experimental como por exemplo a hipertensão e a hipertrigliceridemia (FIORINO et al., 2011; MULLER,2011).

DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC)

Os rins são órgãos com as unidades funcionais, os néfrons, que possuem a função de fazer a filtração do sangue corporal, sendo apresentados por: corpúsculo renal (glomérulo – tufo glomerular - espaço de Bowman) e suas vias tubulares (túbulo proximal, alça de henle, túbulo distal e ductos coletor). Além da função de filtração, secretando os resíduos do metabolismo corpóreo, os rins também são responsáveis pela regulação de osmolaridade dos líquidos corporais e excreção de hormônios (GUYTON & AL,2006; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008). Caso um indivíduo tenha grande deposição de lipídios em sua dieta, ocorre o acúmulo de gordura nos rins fazendo assim com que os néfrons diminua seu número, causando uma doença renal (FOGO, 2000). Além disso, a gordura visceral pode causar uma compressão mecânica dos rins e aumentar a deposição de matriz extracelular na medula renal (DE PAULA et al., 2006).

Em estudos feitos por Bastos et al., (2008), a doença renal crônica (DRC), sendo um problema muito relevante, por ser uma doença complexa, caracterizada com uma queda progressiva do ritmo de filtração glomerular e consequente perda das funções regulatórias, excretórias e endócrinas, ocasionando um comprometimento de essencialmente todos os outros órgãos do organismo (BASTOS et al., 2004; GUYTON & HALL, 2006). A DRC, tornou-se um problema de saúde, pelo fato de afetar uma proporção grande de indivíduo na população. A DRC neste caso consiste em uma lesão renal e consequentemente uma perda progressiva da função renal, sendo que em uma fase avançada, como em um caso terminal da insuficiência renal, os rins deixam de funcionar e manter uma homeostase (LOCATELLI et al., 2006).

MATRIZ EXTRACELULAR

Além do tecido renal ser composto por um revestimento peritoneal na face anterior, uma delgada cápsula de tecido conjuntivo, está em sua abundância neste tecido, a matriz extracelular (MEC), correspondendo a 20% do nosso peso corporal e trata-se de um ambiente dinâmico formado por complexos macromoleculares relativamente estáveis, de diferentes naturezas em sua modelação e fisiologia. Sendo os componentes fibrilares, e não fibrilares e microfibrilas, contendo também colágeno e fibronectina (HYNES, 2009; NOGUERA, R et al., 2012).

Vimos na literatura descrita por Barros et al., (2012), o colágeno tipo IV é em grande parte constituído por membrana basal, composta em cada fibra, hélices triplas de aminoácidos disposto por uma extensão de 400nm e a Fibronectina atua como um grampo molecular, estendendo entre membrana das células epiteliais e a lamina densa, que está composta com a membrana basal. O Colágeno tipo IV, são proteínas em maior número na matriz extracelular e são sintetizados pelos fibroblastos, em uma quantidade menor, pelas células epiteliais, mas o principal papel do colágeno tipo IV é de sua filtração e adesão, promovendo um suporte para modular as várias ocasiões que podem vir acontecer na célula (SETHI et al., 2002). A fibronectina, por ser uma glicoproteína também é produzida pelos fibroblastos, para fazer a reparação tecidual (MARTINS et al., 2009).

MATERIAIS E MÉTODOS

AMOSTRA E MODELO EXPERIMENTAL

Para a realização dos experimentos, foram utilizados ratos Wistar machos recém-desmamados 21 dias de idade, pesando entre 50-60g, provenientes do Biotério Central da Universidade Presbiteriana Mackenzie, campus Higienópolis. Durante o protocolo experimental, os animais serão mantidos no mesmo Biotério, em ambiente com temperatura

controlada (22°C e 25°C), ciclo de claro-escuro (12 horas) e com livre acesso à água e alimentação.

O protocolo terá duração de 8 semanas, sendo que o peso corporal será avaliado semanalmente, desde o início do protocolo até a última semana (8ª semana), com o uso de uma balança comercial (TOLEDO, modelo 9094c/4) para animais pequenos. Todos os procedimentos experimentais adotados para o estudo, seguirão às normas vigentes do comitê de ética da Universidade Presbiteriana Mackenzie (CEUA Nº 108/03/2014) e de acordo com a prática didática-científica da vivisseção de animais segundo o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos experimentais (tabela 1) de acordo com a dieta administrada e do protocolo experimental ao qual serão submetidos, desta forma:

Tabela 1: Determinação dos grupos experimentais

GRUPOS EXPERIMENTAIS
Grupo Controle (CC); n= 4 Serão ratos alimentados com ração industrial (Nuvilab, CR1) e água <i>ad libitum</i> por um período 8 semanas.
Grupo Dieta Hiperlipídica (HH); n= 4 Serão ratos alimentados com ração com teor lipídico de 30%, e água <i>ad libitum</i> , durante 8 semanas.

INDUÇÃO DO MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE

A ração hiperlipídica foi preparada no laboratório, levando-se em conta a porcentagem de extrato etéreo ou gorduras totais já existentes na ração comercializada e calculada a porcentagem de gordura restante a ser adicionada. A receita resume-se a 400g de ração comercializada (4%) para cada 200g de manteiga comercializada (82%) com adição de 150 ml de água. A dieta hiperlipídica será administrada ao longo do protocolo de 8 semanas, com início após o desmame, aos 21 dias de idade.

EUTANÁSIA

Ao final do protocolo experimental, da 8ª semana, foi realizado a eutanásia dos animais, livrando os de dor e sofrimento, foi utilizado medicamentos de solução de Cloridrato de Ketamina e Xylazina, pela via intraperitoneal para a coleta de sangue e órgãos. O rim foi coletado, passou por corte transversal e a parte esquerda do rim foi colocado em formol tamponado de 5%, após 24 horas do procedimento, foi trocado por álcool 70% e então encaminhados para o início dos processos histológicos.

IMUNOHISTOQUIMICA

Para os estudos imunohistoquímicos foram utilizados cortes histológicos de 4µm de espessura, dos fragmentos fixados em formol tamponado 10%, em lâminas silanizadas. Os cortes foram levados à estufa a 60°C por 24 horas. Em seguida os cortes passaram pelos métodos tradicionais de desparafinização e reidratação. Na etapa seguinte, realizou-se a recuperação antigênica em tampão citrato pH 6 por 10 min. Depois os cortes foram lavados em PBS. A peroxidase endógena foi bloqueada em solução de peróxido de hidrogênio a 3% em metanol por 20 min. Após as lavagens em tampão, seguiu-se o bloqueio das reações inespecíficas com BSA (Bovin Serum Albumin, Sigma, USA), e consecutivamente, incubação dos anticorpos primários anti-colágeno tipo IV (1:300 /ab6586RabPab) e anti-fibronectina (1:200 /ab45688RabMab), diluídos em solução contendo 1% BSA em tampão PBS, por 1 hora em temperatura ambiente. O controle negativo de cada reação consistiu na omissão do anticorpo primário. Após a incubação, os cortes foram lavados com tampão e receberam o sistema de visualização por polímero (N-Histofine® Simple Stain™ Rat MAX PO [MULTI], Nichirei, Tóquio, Japão) por 30 minutos. O polímero foi lavado em tampão PBS e revelados por solução cromógena de diaminobenzidina (DAB) (Sigma Chemical CO USA) por 5 minutos e, então, contra corados com Hematoxilina de Harris (Easypath), por 15 segundos. Por fim, os tecidos foram desidratados e diafanizados em sequencias de álcool e xilol, respectivamente, e as lâminas foram montadas em Permount® (Fisher Scientific NJ USA). Os resultados foram analisados utilizando-se a microscopia óptica (20X) e o programa Image-Pro Plus 4.1. Foi calculado a porcentagem de marcação da área ocupada pela coloração na cor marrom, diaminobenzidina (DAB), sendo estas as marcações identificadas pelos anticorpos. Foram utilizados 10 campos para ambos os grupos, com n=4, mas devido a dificuldades de fotografia e análise, obtivemos apenas nas análises 7 fotos para cada lâmina analisada.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi feita utilizando o software STATISTIC 6.0. Os resultados foram analisados por teste t para amostras não pareadas, e apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Consideraremos os resultados significativamente diferentes somente quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Após o consumo da dieta hiperlipídica, durante 8 semanas, com animais na mesma média de peso corporal, não foi observado diferença significativa no peso ao final das 8 semanas. Porém, o consumo de ração do HH ($21 \pm 0,7g$), mostrou uma redução significativa ao ser comparado com o grupo CC ($26 \pm 0,3g$), assim não houve diferença na quantidade calórica (Kcal), mas gerou aumento significativo no peso do tecido adiposo retroperitoneal e

do tecido adiposo epididimal dos animais do grupo HH, quando comparados com os animais do grupo CC (tabela 1).

Tabela 2: Avaliação do peso corporal no início do protocolo experimental, Peso Corporal Inicial, e ao final das 8 semanas. (CC), Grupo Controle; (HH), Grupo Hiperlipídico.

	CC	HH
Peso Corporal Inicial (g)	47 ± 0,9	49 ± 0,8
Peso Corporal Final (g)	312 ± 7,4	295 ± 6,3
Consumo (g)	26 ± 0,3	21 ± 0,7*
Consumo (Kcal)	79 ± 1,0	79 ± 2,7
Gordura Epididimal (g)	7 ± 0,5	12 ± 1,0*
Gordura Retroperitoneal (g)	8 ± 1,0	26 ± 0,8*

ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

Na análise das lâminas de Imunohistoquímica, sendo que ambas as imagens estão no aumento de 200x, representam os resultados obtidos da marcação marrom (DAB) no tecido renal. Os gráficos apresentam a porcentagem de marcação no tecido renal (% marcação/tecido).

Na figura 2 e gráfico 1 referentes a análise de colágeno, não foi possível encontrar diferença entre os grupos (CC: 57±12,5; HH: 69±15,0 % marcação/tecido).

Já com relação a fibronectina, houve um aumento significativo na porcentagem de marcação no tecido como pode ser visto na figura 3 e gráfico 2, grupos (CC: 39±2,1; HH: 48,2±2,0 % marcação/tecido), apresentando uma alteração de 9,2% de diferença.

Figura 1; Fotomicrografia representativa de corte histológico renal, dos grupos Controle (A), com uma ração padrão (3% de lipídios), e Hiperlipídico (B), com acréscimo na dieta (30% de lipídios). As setas apontam para o túbulo (TB) e a lâmina basal (LB), mostrando expressão da marcação de cor marrom (DAB), caracterizando o colágeno tipo IV. Aumento de 200x.

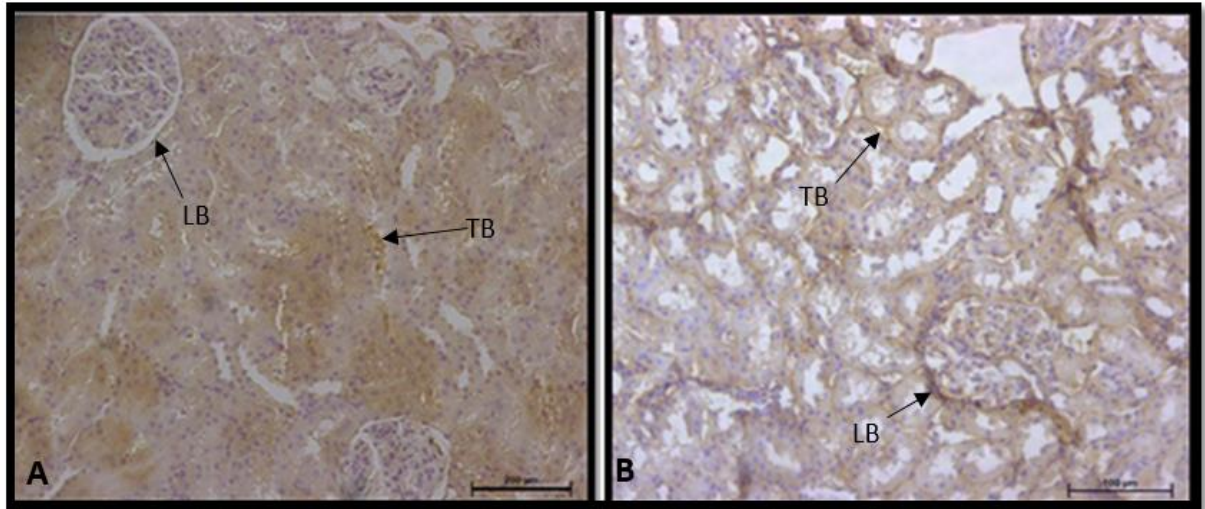


Gráfico 1; Análise semi-quantitativa do tecido histológico renal, por porcentual de marcação sobre o tecido, demonstrados pelo grupo controle (CC) e Hiperlipídico (HH), sem aumento significativo da expressão colágeno Tipo IV.

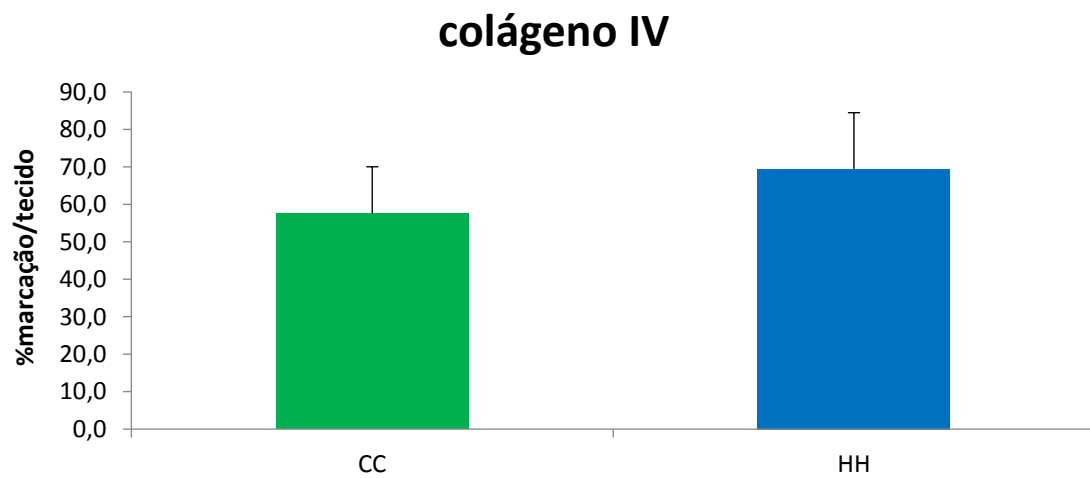


Figura 2; Fotomicrografia representativa de corte histológico renal, dos grupos Controle (A), com uma ração padrão (3% de lipídios), e Hiperlipídico (B), com acréscimo na dieta (30% de lipídios). As setas apontam para o túbulo (TB) e a lâmina densa (LD), mostrando expressão da marcação de cor marrom (DAB), caracterizando a proteína fibronectina. Aumento de 200x.

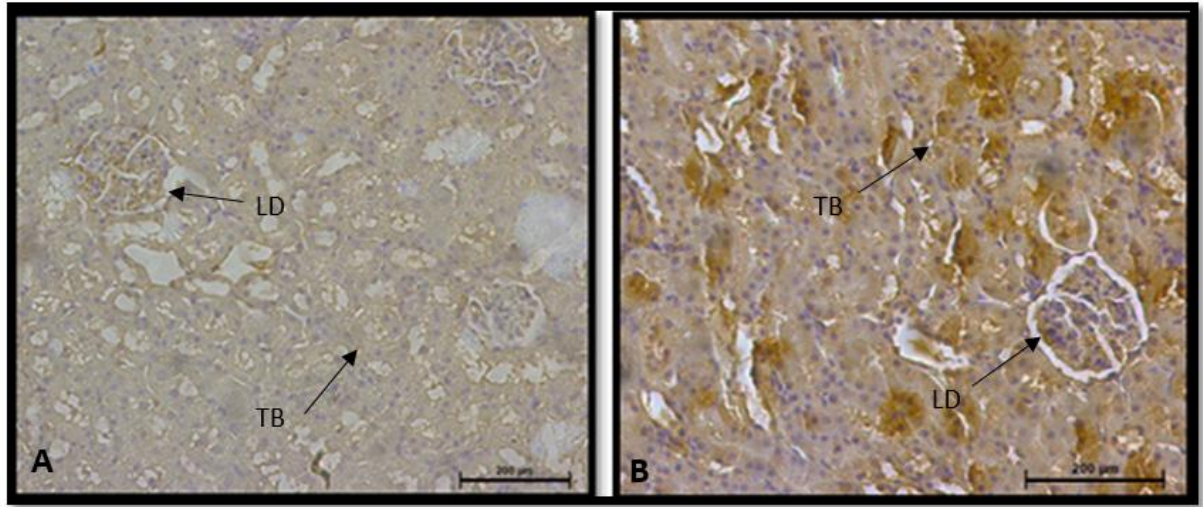
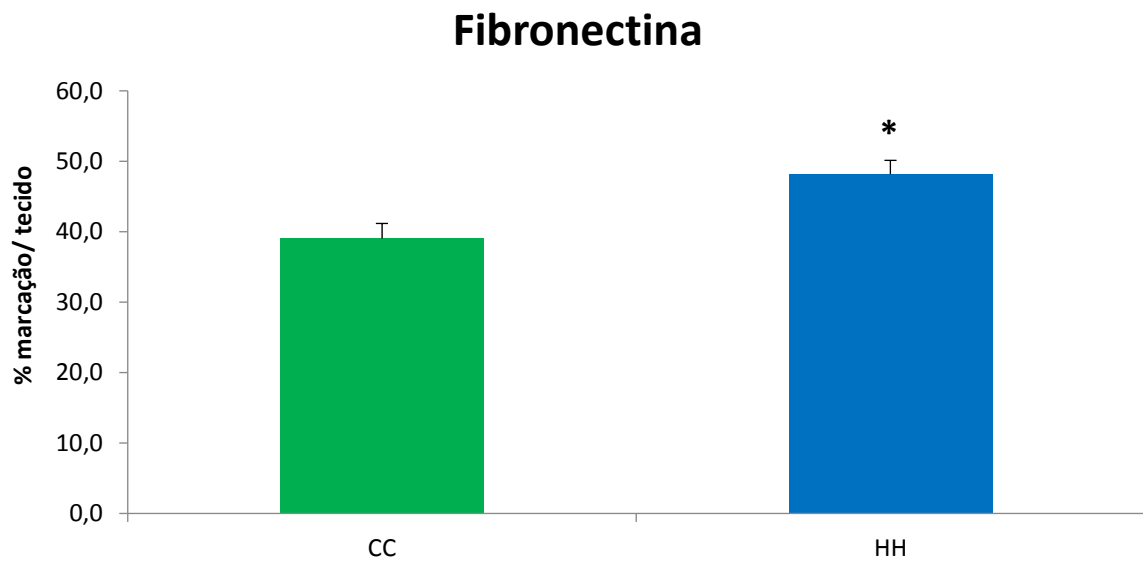


Gráfico 2; Análise semi-quantitativa do tecido histológico renal, por porcentual de marcação sobre o tecido, demonstra a expressão do Fibronectina, com uma diferença de 9,2 % marcação/tecido do grupo HH. * $P \leq 0,5$. Grupo controle (CC) e Hiperlipídico (HH).



DISCUSSÃO

Apesar de não ter sido observada diferença significativa no peso corporal final dos grupos experimentais estudados, os animais submetidos a dieta hiperlipídica obtiveram um aumento no peso dos tecidos adiposos epididimal e retroperitonal. Este aumento da adiposidade corporal é uma importante característica da obesidade, sendo considerado um fator de risco para doença renal crônica (MANTOVANI,2008; MULLER,2011).

Em estudos experimentais, obtiveram aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, devido ao aumento de IL-6, o aumento da expressão SREBP-1 induzindo o aumento do TGF- β 1, que resulta consequentemente no aumento de colágeno e fibronectina, que possivelmente é devido a glomeruloesclerose e na proteinúria (LAGRANHA et al., 2007; OLIVEIRA et al. 2015). Há também resultados, relacionados ao sistema de perfusão renal extracorpórea durante o período basal, o grupo HH apresentou aumento da resistência Vascular Renal, aumento da ECA (24%), da pressão de perfusão e do ritmo de filtração do glomérulo, assim com todo este desenvolvimento de inflamações e expressões, pode progredir para a perda da função renal. (MULLER, C. R., 2001). Além disso, dados do nosso laboratório, ainda não publicados, mostram um aumento de 6% de colágeno pela coloração de picrossirius no grupo HH ($16 \pm 1,5$ %marcação/tecido) quando comparados ao grupo CC ($11,9 \pm 2,5$ %marcação/tecido).

Em dados, ainda não publicados, do nosso laboratório, foi avaliado a mudança do hábito alimentar na função renal dos animais, sendo alimentados por uma dieta hiperlipídica, durante as 8 semanas, após isso trocando para uma alimentação comercial com 3% de lipídios, mostrou uma melhora na função renal glomerular, com a diminuição da creatinina sérica e urinária.

A partir da pesquisa feita, com relação ao colágeno, foi possível observar uma tendência ao aumento no grupo HH (CC: 57,6; HH: 69,5 %marcação/tecido), porém como não foi possível devido a questões metodológicas ter um n menor, acreditamos que assim que aumentarmos nossas análises será possível visualizar essa diferença. O número pequeno de animais do projeto, foi pelo motivo de que as análises fotográficas não foram bem efetuadas, diminuindo assim o número das análises. Por outro lado, a fibronectina aumentou em 9,2% no grupo HH.

Na literatura nos descreve que pode haver um aumento da produção de fibronectina e colágeno tipo IV, quando as células endoteliais expostas a altas concentrações de glicose e mimetização a hiperglicemia. Com relação a alterações bioquímicas, estudos feitos com ratos diabéticos, sugeriram que a síntese de membrana basal e células mesangiais, e particularmente do colágeno, estão aumentados, pelo fato de que atividade de lisil hidroxilase, uma enzima envolvida na hidroxila durante a síntese de colágeno, estariam aumentando nos glomérulos (BARROS et al., 2012).

As ações de angiotensina II, que é o principal causador do aumento de pressão de perfusão renal, por ação inibitória direta com a reabsorção no túbulo proximal, e a síntese de alguns componentes na matriz extracelular, com a ativação do receptor AT1, mostraram o retardo da glomeruloesclerose e a neuropatia diabética, que causa assim o espessamento da

membrana basal e o com crescimento das células mesangiais, mesmo que este estudo experimental esteja relacionado a fibrose, a fibronectina está sendo estimulada através expansão mesangial (MASON et al., 2003; SANTOS et al., 2000).

Podemos observar as variações de coloração marrom em determinadas partes do tecido renal, caracterizados pela expressão colágena tipo IV e fibronectina. Sendo que fibronectina é mais encontrada na parte da lâmina lúcida do tecido renal, apontados pela seta na imagem (figura 3), que atua como um grampo molecular, estendendo com a lâmina densa e basal, sendo assim, o colágeno tipo IV apontados pela seta na imagem (figura 2), que se arranja em moléculas tipo tela, que tem como função estabelecer a filtração molecular, sendo encontrada em toda parte do tecido renal.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os objetivos a que nos propusemos com a realização deste trabalho foram atingidos, porem nossa hipótese era que obtivéssemos aumento em ambas as expressões. Contudo, o colágeno IV não apresentou aumento significativo, devido a imprevistos metodológicos e em breve aumentaremos o n. Já com relação a análise qualitativa do aumento significativo da fibronectina, tivemos um aumento de 9,2 % no grupo HH.

Sugere-se que com este trabalho, seja uma continuação de próximas análises experimentais, para avaliarmos a diferenças entre grupos que estão em uma dieta hiperlipídica e trocam seus hábitos alimentares.

REFERÊNCIAS

- AXELSSON, J.; O'BYRNE, S.M.; BLANER, W.S.; et al. Serum retinol-binding protein concentration and its association with components of the uremic metabolic syndrome in nondiabetic patients with chronic kidney disease stage 5. *Am J Nephrol*, v.29, p. 447-453, 2008.
- BASTOS, M. G., et al. Doença Renal Crônica: Problemas e Soluções. **J Bras Nefrol Volume**, v.XXVI, n.4, p.202-215. Dezembro, 2004.
- BARROS, T. R.; ALVES, M. A. V. F. R.; DANTAS, M.; KIRSZTAJN, G. M.; SENS, Y. A. S. *Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento*. São Paulo: Sarvier, 2012, p. 181-182.
- de Paula, R. B., Fernandes, N., do Carmo, V. M. P., Carlos, L., de Andrade, F., & Bastos, M. G. Obesidade e doença renal crônica. *J. Bras. Nefrol*, 28(3), 158-164, 2006.
- DEJI, N.; KUME, S.; ARAKI, S.; et al. Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet induced obese mice. *Am J Physiol Renal Physiol*, v. 296; n.1; p. 118-26, 2009.

FIORINO, P., et al. Effects of hyperlipidic diet consumption from weaning to adult rats, on renal and vascular function. Washington. *The FASEB journal*, 2011.

FOGO, A. B. Glomerular hypertension, abnormal glomerular growth, and progression of renal diseases. *Kidney Int Suppl*, v.75; p. S15-S21, 2000.

GUYTON, Arthur Clifton; HALL, John E.; GUYTON, Arthur C. *Tratado de fisiologia médica*. Elsevier Brasil, 2006.

HYNES, Richard O. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science*, v. 326, n. 5957, p. 1216-1219, 2009.

JESUS, C. R.; Pereira, M. S.; Schaefer, J. C. F.; et al. Avaliação dos níveis lipídicos na população adulta do estudo : Associação com a obesidade, *Revista da AMRIGS*, Porto Alegre, v.58, n.1, p. 38-43, janeiro a março, 2014.

JIANG, T.; WANG, Z.; PROCTOR, G.; et al. Diet-induced obesity in C57BL/6J mice causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent pathway. *J Biol Chem*, v.280; p. 32317-32325, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KAMBHAM, N.; MARKOWITZ, G. S.; VALERI, A. M.; et al. Obesity related glomerulopathy: an emerging epidemic. *Kidney Int*, v.59; p.1498-1509, 2001.

KIM YS, KIM BC, Song CY, Hong HK, Moon KC, Lee HS. Advanced glycosylation end products stimulate collagen mRNA synthesis in mesangial cells mediated by protein kinase C and transforming growth factor-beta. *J Lab Clin Med*;138(1):59-68, 2001.

LAGRANHA, Claudia J. et al. Bases moleculares da glomerulopatia diabética. *Arq. bras. endocrinol. metab*, v. 51, n. 6, p. 901-912, 2007.

LOCATELLI, F., et al. Renal manifestations in the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, v.17, n.4 Suppl 2, p.S81-5. Apr, 2006.

MASON, Roger M.; WAHAB, Nadia Abdel. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 14, n. 5, p. 1358-1373, 2003.

MARTINS, Regina Helena Garcia et al. Edema de Reinke: estudo da imunoexpressão da fibronectina, da laminina e do colágeno IV em 60 casos por meio de técnicas imunoistoquímicas. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, p. 821-825, 2009

MULLER, C. R. Efeito Da Ingesta Crônica De Uma Dieta Hiperlipídica Na Função Renal Em Ratos. *VII Jornal de Iniciação Científica*, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, Estratégia Global para Dieta, Atividade Física e Saúde, Sobrepeso e obesidade infantil, Disponível em <<http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>> acessado dia 15 de setembro de 2014.

PRAGA, M.; HERNANDEZ, E.; MORALES, E.; CANPOS, A. P.; VALERO, M. A.; MARTÍNEZ, M. A.; LEÓN, M. Clinical features and long-term outcome of obesity associated focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant*, v.16; p.1790-1798, 2001.

SANTOS, Robson Augusto S. dos; FAGUNDES MOURA, Cristiane R.; SILVA, Ana Cristina Simões. Efeitos cardiovasculares e renais do sistema renina-angiotensina. *Rev. bras. hipertens*, v. 7, n. 3, p. 227-236, 2000.

Sethi KK, Yannas IV, Mudera V, Eastwood M, McFarland C, Brown RA. Evidence for sequential utilization of fibronectin, vitronectin, and collagen during fibroblast-mediated collagen contraction. *Wound Repair Regen*. 2002;10(6):397-408.

Singh AK, Gudehithlu KP, Pegoraro AA, Singh GK, Basheerudin K, Robey RB, et al. Vascular factors altered in glucose-treated mesangial cells and diabetic glomeruli. Changes in vascular factors impair endothelial cell growth and matrix. *Lab Invest*. 84(5):597-606, 2004.

USRDS, Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States. In: National Institutes of Health NIDDK. Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, *Curr Opin Nephrol Hypertens*. May 2010; v.19 n. (3), p.227–234, 2012.

WORLD OBESITY FEDERATION. World map obesity. Disponível em; < <http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>> acessado em 31 de outubro de 2014.

Contatos: alice.leite.2@gmail.com