

Acuaporinas

“El agua se considera el disolvente para la vida, sin agua no hay vida, puesto que nuestro organismo es un 70% de agua”

Peter Agre

OSVALDO LÓPEZ GASTÓN

odlogaston@hotmail.com

Palabras clave

- acuaporinas
- canales de agua
- estructura y función
- acuaporinas renales

Key words

- aquaporins
- membrane water channel
- structure and function
- renal aquaporins

Resumen

Las acuaporinas constituyen una familia de canales que regulan el transporte del agua en la membrana de todos los órganos. Desde la descripción de la primer acuaporina por Peter Agre y col., por lo que recibió el Premio Nobel de Química en el 2003, mucha información ha sido obtenida sobre el significado fisiológico de estos canales proteicos. Están involucradas en múltiples desórdenes como la diabetes insípida nefrogénica, pérdida de la visión, el edema cerebral, la respuesta al ayuno, la intoxicación por arsénico, etc. Su descubrimiento enriqueció la comprensión de la regulación de los volúmenes corporales. En este artículo se hace una breve revisión de los conocimientos actuales sobre las mismas.

Summary

Aquaporins constitute a family of water channels that regulate the transport of water in all organs. Since the description of the first aquaporin by Peter Agre and his colleagues, which was rewarded with the Nobel Prize for Chemistry in 2003, much information on the physiological significance of these channel protein has been accumulated. The analysis of several human diseases has confirmed that aquaporins are involved in different illnesses including abnormalities of kidney function, loss of vision, onset of brain edema, starvation, nephrogenic diabetes insipidus, and arsenic toxicity. With the discovery of aquaporin water channels, our understanding of volume regulation has been greatly enhanced. This article reviews some current knowledge.

La placenta controla el balance líquido del feto y si bien al momento del nacimiento la nefrogénesis es completa, la capacidad funcional del adulto se consigue al año¹. Hay dos sistemas reguladores de los volúmenes corporales, con características y objetivos diferentes:

- el intracelular, ligado al metabolismo del agua, que involucra el mantenimiento de la osmolaridad.
- el extracelular, ligado al metabolismo del sodio, que tiene a la volemia arterial efectiva como aferente principal y el riñón como efector.

El agua constituye 50/60% del peso corporal de un adulto joven y el arco regulador lo conforman el sistema de sensado (osmóstato hipotalámico, centro de la sed), el mediador [producción, almacenamiento y secreción de arginina vasopresina (AVP)] y el riñón

como efector, a través de la respuesta hormonal y el mecanismo multiplicador contracorriente (MMC). Paralela a esta regulación “sistémica”, cada célula “per se” se comporta como un osmómetro. Mantener estable el volumen celular, es esencial para su correcto funcionamiento, pero requiere alguna limitación de la membrana al pasaje de agua y solutos. En la década del 20, se definió que la membrana plasmática es una bicapa lipídica, a través de la cual el agua se movía por difusión. Sin embargo, este mecanismo es lento y limitado y no explicaba lo que ocurría en tejidos altamente permeables como el del riñón, tracto gastrointestinal, etc. Peter Agre, hematólogo de la Johns Hopkins, identificó la primer acuaporina (AQP), que le valió el premio Nobel de Química en el 2003. Si bien, estudiaba el antígeno Rh, aisló otro de menor peso

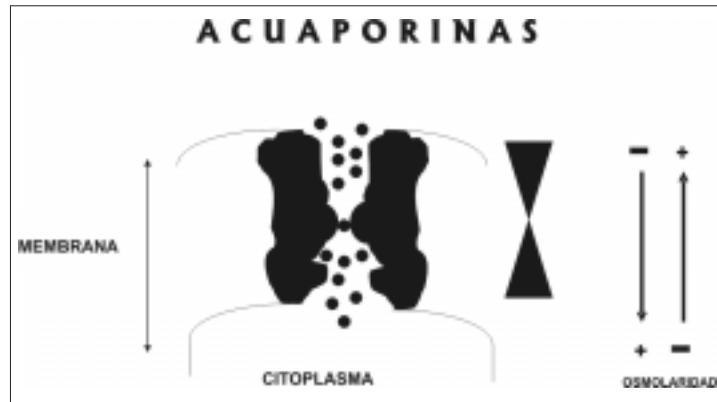


Fig. 1. Representación gráfica de la AQP descrita por P. Agre. En la parte derecha se representa la estructura “reloj de arena” similar. El agua circula de acuerdo al gradiente osmolar, en ambas direcciones..

molecular que pensó era una hidrólisis del mismo^{2,3}. Observó, que su estructura química (cuatro subunidades idénticas, que conformaban un tetrámero) sugería se trataba de un “canal”, pero no le encontraba función. La experiencia con oocitos de rana, impermeables al agua, fue definitiva. Inyectados con cRNA para reproducir la proteína aislada por Agre y sometidos a soluciones hipotónicas, se edematizaron rápidamente, con ruptura de la membrana celular⁴. La prueba, definió con claridad, que se trataba de un canal molecular de agua y la proteína fue denominada AQP1. Si bien se examinó una sola dirección del agua, luego se comprobó, que con soluciones hiperosmolares la célula se deshidrata, de manera que el agua circula de acuerdo al gradiente osmótico. La estructura del canal se asimiló a un reloj de arena, con dos partes anchas y una central de tamaño similar al de una molécula de agua (Figura 1). No es un simple canal, hay sectores donde el agua interactúa con la pared, por ejemplo repeliendo las cargas eléctricas positivas, que impide el paso del H⁺. Desde entonces, se identificaron otros subtipos de AQP, en diferentes tejidos y con funciones anexas⁵ (Tabla 1). Esto llevó a dividir las en dos grupos mayores las ortodoxas o acuaporinas (AQP 1, 2, 4, 5 y 8), que manejan selectivamente el agua, y las acuagliceroporinas (AQP 3,7,9 y 10), que además transportan el glicerol^{5,6}. Otras, como la AQP 6 o la AQP 0 no tienen un rol fisiológico definido.

En síntesis, las AQP son proteínas que conforman un canal de estructura compleja y funciones distintivas. El grado de permeabilidad está determinado por cambios en la alineación de los grupos proteicos, cargas eléctricas, ubicación de los residuos hidrofóbicos/hidrofílicos, localización, etc⁶. Algunas son parte constitutiva de la membrana celular y otras se ubican en el citoplasma, debiendo migrar para ejercer su acción.

TABLA 1. Tipos y localización de las acuaporinas

AQP	Tipo	Ubicación
0	?	cristalino
1	agua	riñón, endotelio capilar, plexos coroideos, córnea
2	agua	riñón, testículo
3	agua - glicerol	riñón, piel, vía aérea, vejiga, conjuntiva
4	agua	riñón, glía, glándulas sudoríparas, pulmón, retina, músculo esquelético, estómago
5	agua	córnea, alvéolo, tracto gastrointestinal, glándulas salivales
6	permeabilidad iónica	riñón
7	agua - glicerol	riñón, adipocitos
8	agua	riñón, tracto gastrointestinal, testículos, corazón
9	agua - glicerol	hígado, testículos, cerebro, leucocitos
10	agua - glicerol	intestino delgado
11	?	riñón, hígado
12	agua	páncreas

Acuaporinas y riñón

Con los trabajos originales de Bartter y Schwartz, fueron definidos los síntomas cardinales del Síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética (SIHAD), reproducidos por Leaf y col. con la autoadministración de AVP. El dosaje de la hormona fue posterior y Gary Robertson clasificó los diferentes patrones de secreción, que siguen vigentes⁷. Paralelamente, Kokko y col., en base a estudios previos y propios, desarrolló un esquema de funcionamiento del

MMC^{8,9}. El descubrimiento de las AQP, llena un espacio en la comprensión del mecanismo de acción de la AVP, del MMC, la etiopatogenia de desórdenes como la diabetes insípida nefrogénica (DIN), la fisiopatología del edema y otros de igual importancia que están en plena investigación.

En el riñón, se expresan varias AQP con localización y regulación diferente¹⁰. (Figura 2). La AQP 1 se ubica en la membrana apical (M.ap) y basolateral (M.bas) del tubo contorneado proximal (TCP), asa delgada y vasos rectos descendentes. Son sectores de la nefrona muy permeables al agua, que maneja 80% de la carga filtrada, siguiendo el gradiente osmótico creado por la resorción de los solutos. La AQP 2 es regulada por la AVP y a partir del estímulo de los receptores V2 de la M.bas de las células principales del tubo colector (TCol), se gatilla una cascada de señales, que resultan en la inserción del canal en la membrana (Figura 3). El tráfico (transporte) citoplasmático, si bien no está definido, se realiza a través de una malla microtubular (proteínas “motoras” como la miosina-1), con centro en la región apical y ramificaciones hacia la basolateral^{6,11,12}. La distribución (inserción) de la AQP 2 en la M.ap se hace en lugares específicos. Cuando el estímulo hormonal disminuye o se anula con la administración de un exceso de agua o antagonistas de los receptores V2, resulta en una pronunciada internalización de la AQP 2 a las vesículas intracelulares. La regulación difiere según los tiem-

pos. En fase aguda, se hace a través del tráfico –inserción de la proteína en la M.ap. Es rápido, ya que los cambios se observan a los 15 min de la estimulación con AVP. En los cambios adaptativos de largo plazo, la hormona regula la síntesis de la AQP2, así como el número de canales a nivel de la membrana^{6,13}. Es decir que la AVP influencia todas las etapas: síntesis, tráfico, inserción y remoción de la AQP 2. Hay otros factores, AVP independientes, que pueden actuar en las reacciones intermedias de la “cascada” (PKA, cAMP o complejos cálcicos), aunque de trascendencia no bien determinada¹². Estudios en células aisladas, confirmaron que la hipertonicidad “per se” aumenta la síntesis de AQP 2¹⁴.

Las AQP 3 y 4 se localizan en la M.bas de las células principales del TCol. Son canales por donde la célula libera el agua reabsorbida. La 4 es abundante en el sector medular y la 3 en el cortical. La AQP 6 se localiza en vesículas citoplasmáticas de las células intercaladas del TCol, tiene baja permeabilidad al agua y alta a los aniones y se localiza junto a la bomba H⁺ATPasa. Está influenciada por los cambios del pH citosólico, indicando que podría contribuir a la regulación ácido-base⁶. La AQP 7, localizada en la M.ap del S3 (parte recta) del TCP, tendría más relevancia a nivel del tejido adiposo y la AQP 8 de localización intracelular en el TCP y células principales del TCol y la AQP 11 con iguales características en el TCP, no tienen un rol fisiológico definido.

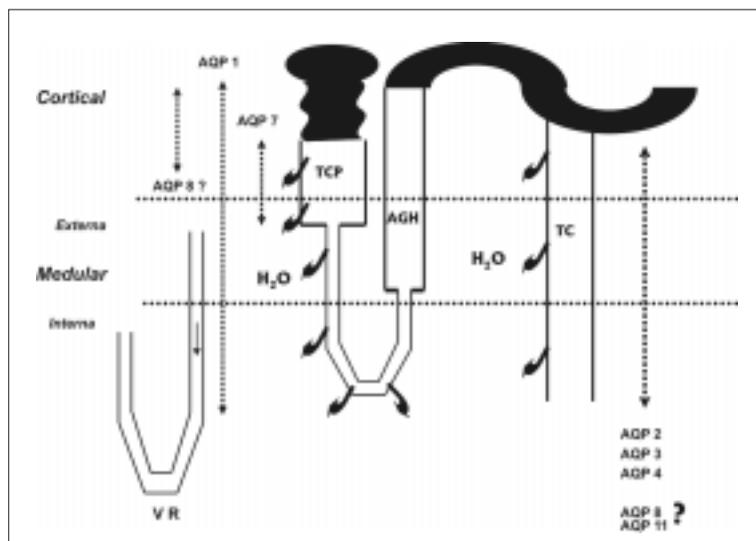


Fig. 2. Localización de las AQP en la nefrona. En signo de interrogación se definen las que no se les encontró función.

AQP: acuaporina. VR: vasos rectos. TCP: parte recta del tubo contorneado proximal. AGH: asa gruesa de Henle.

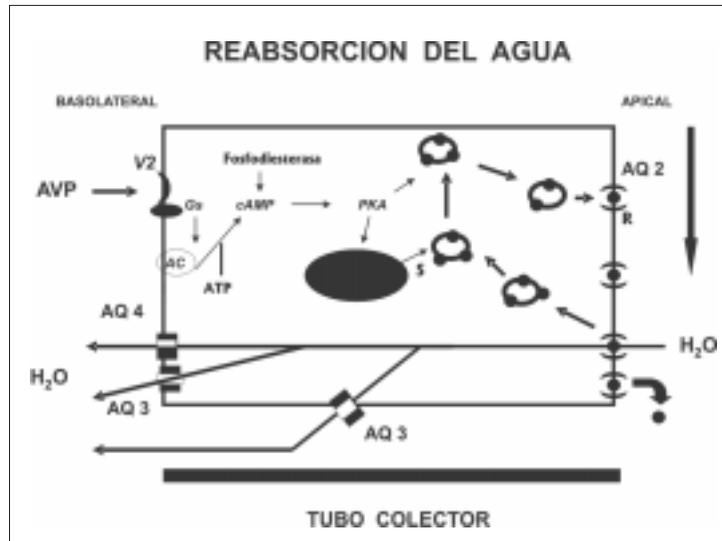


Fig. 3. Células principales del tubo colector. Cascada de eventos desde la unión de la AVP con el receptor V2 en la membrana basolateral hasta la inserción de la AQP 2 en la membrana luminal. Cumplida su acción, la AQP es reciclada a las vesículas intracelulares y parte es excretada en la orina. AQP: acuaporina. AVP: arginin vasopresina. AC: adenilciclasa. Gs: grupo proteico acoplado al receptor de la AVP. PKA: proteínkinasa. cAMP: monofosfato de adenosina cíclico. R: receptores específicos de la membrana luminal. S: síntesis de la AQP en el núcleo..

Acciones extrarrenales de las AQP

La AQP 0 se expresa sólo en las células fibrosas del cristalino. No fue definido su rol, aunque su mutación se encontró asociada con las cataratas¹⁵. La AQP 5 se ubica en el citoplasma de las glándulas lagrimales y su disminución se la asoció al síndrome de Sjogren. Las AQP con localización en la M.ap de las glándulas sudoríparas, son un mecanismo de defensa para la pérdida de calor corporal. En los adipocitos, la hidrólisis de los triglicéridos genera glicerol que entra en circulación a través de la AQP 7 e ingresa al hepatocito por la AQP 9. En situación de ayuno, la AQP 9 esta incrementada y el objetivo es la gluconeogénesis para mantener la glucemia¹⁵.

Hay importantes avances con las AQP localizadas a nivel cerebral, que ya superan los 10 subtipos¹⁶. Predomina la AQP 4, que fue la primera en identificarse, con localización en los pies perivasculares y subpiales de la astrogliya y células del epéndimo. Regula el flujo de agua y K⁺ desde la corteza al espacio subaracnoideo, proceso facilitado por la AVP, vía los receptores V1a de los astrocitos¹⁷. En situaciones de injuria cerebral (inflamatoria, tumoral, trauma, isquemia) se observó una regulación positiva (mayor densidad de AQP 4), por el contrario, su depresión genera una alta resistencia de los astrocitos a las soluciones hipoosmolares, lo cual evitaría el edema ce-

rebral. También tiene una importante participación en el transporte del glutamato (aminoácido “carrier” de excitadores de los astrocitos), previniendo su acumulación extracelular. La AQP 1 está restringida a los plexos coroideos de los ventrículos laterales y es el facilitador de la secreción de LCR¹⁶. También se la vio extensamente expresada en el citoplasma de los tumores cerebrales primarios malignos, como los astrocitomas. En las metástasis, si bien no tiene localización intracelular, se localiza en el endotelio vascular y astrocitos que rodean la rodean. Esto sugiere su participación en el edema peritumoral.

Consideraciones

No es el sentido de ésta reseña, considerar las alteraciones de la AVP, tanto su elevación (SIHAD, secreción apropiada por estímulos osmóticos/ no osmóticos) o disminución (diabetes insípida central o del embarazo por la vasopresinasa placentaria), cuyos efectos finales serán cambios en igual sentido de la AQP 2. Si bien, gran parte del conocimiento de las AQP se basa en estudios experimentales extrapolados al humano, señalaré algunos puntos:

- La AQP 2 puede dosarse en orina, con técnicas de Western Blot, radioinmunoensayo y ELISA. Rai y col¹⁸, en experiencias con ratas, estimaron que la

fracción excretada es 3 % de la presente en la M.ap del TCol. En la diabetes insípida central está ausente o francamente disminuida y duplicada en situaciones de retención de agua. Con el uso de antagonistas de los receptores V2, la excreción urinaria permitió definir la participación de la AVP en diferentes situaciones como insuficiencia cardíaca, cirrosis hepática, embarazo, etc.

- Se va clarificando el “escape vasopresínico” observado en el SIHAD. Reproducido en animales, con la administración sostenida de AVP y agua libre, se observa (a los días) un aumento de la diuresis con caída de la osmolaridad urinaria (escape). No tiene relación proporcional con el grado de hipoosmolaridad plasmática o nivel de la hipervasopresinemia. Los estudios, evidenciaron una disminución de la expresión de la AQP 2, que se restablece con la privación de agua. Posteriormente, Verbalis y col¹⁹ observaron que el inicio del escape, coincide con una regulación negativa de los receptores V2 a nivel de la medular interna, que genera una marcada disminución de su unión con la AVP. La consecuencia es la menor generación de cAMP, con caída de la síntesis de AQP 2. Se especuló, que el fenómeno de escape es un mecanismo adaptativo, para limitar la disminución de la natremia.
- Estudios moleculares, revelaron que las diabetes insípidas nefrogénicas (DIN) congénitas son mutaciones a nivel del receptor V2 o de la síntesis/tráfico de la AQP 2^{20, 21}. Las formas adquiridas, se observan en cualquier momento de la vida, en general son reversibles y secundarias a drogas (litio, antibióticos, antivirales, amfotericina, antineoplásicos), desórdenes metabólicos (hipokalemia crónica, hipercalcemia) o postobstrucción ureteral^{12, 20}. La alteración se localiza en alguna de las “estaciones” de la cascada desde el receptor V2 hasta la inserción de la AQP 2 en la M ap. En algunas situaciones, se comprometen otras AQP, como la 1 y 3 en la intoxicación por cisplatino, la 3 en el litio, o bien concurren otros factores, como la alteración de la resorción de ClNa en el asa gruesa de Henle por la hipercalcemia, que disminuye la tonicidad intersticial¹².
- Recientemente, se refirieron dos infantes que reunían todas las características de un SIHAD, pero la AVP plasmática era indetectable²². El estudio molecular reveló una mutación de los receptores V2, que se traducía en hiperactividad del mismo, independiente del estímulo de la AVP. Denominaron el cuadro como “síndrome nefrogénico de antidiuresis inapropiada”. Lo atípico del cuadro, es que las mutaciones del receptor habitualmente son causa de DIN.
- Un estudio²³ en dos mujeres adultas evidenció, con anticuerpos anti AQP 1, su ausencia en los hematíes y riñón. Con la prueba de privación de agua, la osmolaridad máxima en orina fue 400-500 mOs/Kg agua, con AVP plasmática de 5 pg/ml. Estos valores, encuadran la respuesta dentro de las DIN, sin embargo encontraron niveles de AQP 2 en orina, no compatibles con ese diagnóstico. Las pacientes no tenían poliuria y especularon que otros mecanismos (no definidos) actuarían como compensadores en ausencia de la AQP 1.
- Autores²⁴, analizaron con métodos inmunohistoquímicos, las AQP en material de biopsia o nefrectomía de una amplia variedad de enfermedades renales (primarias, secundarias, glomerulares, intersticiales, etc). El hallazgo sorpresa, fue el gran incremento de la AQP 1 en el capilar glomerular (de poca abundancia en condiciones normales) y en el TCP, aún en glomérulos esclerosados y cualquier forma de compromiso renal. La AQP 2 y 3 se vió reducida en la nefritis intersticial crónica y la nefroesclerosis. La interpretación fisiopatológica de estos hallazgos no fue definida.
- Los diuréticos tiazídicos, son utilizados para el tratamiento de la DIN, situación donde disminuyen la diuresis e incrementan la osmolaridad urinaria. El efecto se atribuyó a que la depleción de sodio, genera hipovolemia con mayor resorción proximal de agua y sal que reduce la carga distal de fluido. A nivel del colector, hay aumento fraccional de la resorción de agua (por elevación apropiada de la AVP por hipovolemia), ya que el MCC está conservado, porque la droga actúa en el TCD. Sin embargo, este mecanismo nunca fue una explicación suficiente. Experiencias en ratas Brattleboro (cepa carente de AVP), tratadas con hidroclorotiazida, mostraron incremento de la osmolaridad papilar y mayor permeabilidad del epitelio del colector al agua²¹. En modelos experimentales de DIN inducidas por litio, se demostró que la droga genera una regulación positiva de la AQP 2 y de los canales de sodio (que incrementa el gradiente osmótico endotúbulo-intersticio) en los segmentos distales de la nefrona²¹.
- La AQP 9 tiene capacidad de transportar, junto al agua, metales pesados como el arsénico, por lo que su inhibición es materia de estudio, como medio de atenuar la toxicidad hepática¹⁵.
- A nivel cerebral, la inhibición de la AQP 1 podría ser útil en el tratamiento del hidrocefalo comunicante. La AQP 4 está implicada en el edema cerebral, vasogénico y citotóxico, tanto en su desarrollo como su resolución, lo que implica que el momento de obtener su regulación positiva o negativa adquiere gran importancia^{25, 26}. Como tiene una

alta expresión a nivel de los osmoreceptores, se estudia su participación en la secreción inapropiada de la AVP. La regulación negativa de la AQP 4, eleva el glutamato y la consecuencia es mayor excitabilidad y neurotoxicidad, por lo que fue involucra en la generación de cuadros convulsivos y además es el “target” del ataque autoinmune en la neuromielitis óptica^{16, 17}.

- Por la abundancia de las AQP en las células tumorales y vasos que las nutren, podrían tener un rol en la migración y proliferación celular, lo que abre un gran futuro sobre su interacción en la biología tumoral, como herramienta terapéutica.

Conclusiones

La biología molecular está completando la comprensión de la fisiología del medio interno y sus alteraciones. Desde la identificación de la primer AQP, hay un avance geométrico en su conocimiento, expresado en más de 450 referencias del Medline en el último año. Seguramente, al momento de ésta publicación, habrá aumentado el número de AQP, las isoformas de las ya identificadas y las funciones colaterales al transporte del agua. La aplicación terapéutica futura, sin duda, será trascendente.

Bibliografía

1. Bonilla-Felix M. Development of water transport in the collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287: F1093-F1101.
2. Agre P, Saboori AM, Asimos A, Smith BL. Purification and partial characterization of the Mr 30.000 integral membrane protein associated with the erythrocyte RH (D) antigen. *J Biol Chem* 1987; 262: 17497-503.
3. Smith BL, Agre P. Erythrocyte Mr 28.000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *J Biol Chem* 1991; 266: 6407-15.
4. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* 1992; 256: 385-7.
5. Laski ME. Structure-function relationship in aquaporins. *Semin Nephrol* 2006; 26: 189-99.
6. Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev* 2002; 82: 205-44.
7. Kokko and Tannen. *Fluids and electrolytes*. Third edition. W.B Saunders Company. 1996.
8. Sands JM, Kokko J. Countercurrent system. *Kidney Int* 1990; 38: 695-9.
9. Jamison RJ. The renal concentrating mechanism. *Kidney Int* 1987; 32 (Suppl 21): S43-S50.
10. Verkman AS. Roles of aquaporins in kidney revealed by transgenic mice. *Semin Nephrol* 2006; 26: 200-8.
11. Knoers NV. Hyperactive vasopressin receptors and disturbed water homeostasis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1847-50.
12. Nguyen MK, Nielsen S, Kurtz I. Molecular pathogenesis of nephrogenic diabetes insipidus. *Clin Exp Nephrol* 2003; 7: 9-17.
13. Ishikawa S, Schrier RW. Pathophysiological roles of arginine vasopressin and aquaporin-2 in impaired water excretion. *Clin Endocrin (Oxf)* 2003; 58: 1-17.
14. Kasono K, Saito T, Saito T, Tamemoto H, Yanagidate C, Uchida S, Kawakami M, Sasaki S, Ishikawa S. Hypertonicity regulates the aquaporin-2 promoter independently of arginine vasopressin. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 509-15.
15. Agre P, Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett* 2003; 555: 72-8.
16. Schrier RW, Chen YC, Cadnapaphornchai MA. From finch to fish to man: role of aquaporins in body fluids and brain water regulation. *Neuroscience* 2004; 129: 897-904.
17. Benarroch EE. Aquaporin-4, homeostasis, and neurologic disease. *Neurology* 2008; 70: 231-6.
18. Rai T, Skine K, Kanno K, Hata K, Miura M, Mizushima A, Marumo F, Sasaki S. Urinary excretion of aquaporin-2 water channel protein in human and rat. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1357-62.
19. Tian Y, Sandberg K, Murase T, Baker EA, Speth RC, Verbalis JG. Vasopressin V2 receptor binding is down-regulated during renal escape from vasopressin-induced antidiuresis. *Endocrinology* 2000; 141: 307-14.
20. Garofeanu CG, Weir M, Rosas-Arellano P, Henson G, Garg AX, Clark WF. Causes of reversible nephrogenic diabetes insipidus: a systematic review. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 626-37.
21. Kim GH, Lee JW, Oh YK, Chang HR, Joo KW, Na KY, Earm JH, Knepper MA, Han JS. Antidiuretic effect of hydrochlorothiazide in lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus is associated with upregulation of aquaporin-2, Na-Cl co-transporter, and epithelial sodium channel. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2836-43.
22. Feldman BJ, Rosenthal SM, Vargas GA, Fenwick RG, Huang EA, Matsuda-Abdini M, Lustig RH, Mathias RS, Portale AA, Miller WL, Gitelman SE. Nephrogenic syndrome of inappropriate antidiuresis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1884-90.
23. King LS, Choi M, Fernandez PC, Cartron JP, Agre P. Defective urinary concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *N Engl J Med* 2001; 345: 175-9.
24. Bedford JJ, Leader JP, Walker RJ. Aquaporin expression in normal human kidney and in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2581-7.
25. Gunnarson E, Zelenina M, Aperia A. Regulation of brain aquaporins. *Neuroscience* 2004; 129: 947-55.
26. Griesdale DEG, Honey CR. Aquaporins and brain edema. *Surg Neurol* 2004; 61: 418-21.