

ULOGA AKVAPORINA U POREMEĆAJIMA BILANSA VODE

Sofija Stojiljković¹, Milan Stoiljković², Vladmila Bojanić¹, Nenad Stojiljković³ i Sonja Radenković¹

Otkrićem akvaporina rešena je već dugo prisutna biofizička dilema o transportu vode kroz biološke membrane i omogućen uvid u molekularne osnove fiziologije bilansa vode i patofiziologije bolesti sa poremećajem bilansa vode. Akvaporini predstavljaju familiju membranskih proteina koji omogućavaju brz, visoko specifičan transport molekula vode i tako regulišu volumen i osmotski pritisak u ćelijama. Do sada je identifikovano najmanje deset subtipova akvaporina, a nekoliko bolesti je povezano sa oštećenjem njihove funkcije. Najpoznatije bolesti udružene sa poremećajima ekspresije i signalnih puteva akvaporina su stečeni i hereditarni insipidni diabetes, akutna i hronična bubrežna insuficijencija i druge bolesti sa defektom koncentrisanja urina, kao i stanja udružena sa retencijom vode kakva je hronična srčana insuficijencija i sindrom poremećene sekrecije antidiuretičkog hormona. U radu se osvetljava uloga akvaporina u regulaciji bilansa vode, njihova specifična lokalizacija kao i patofiziologija bolesti sa poremećajem bilansa vode. *Acta Medica Medianae* 2007;46(4):66-73.

Ključne reči: akvaporini, lokalizacija, fiziološka uloga, poremećaji bilansa vode

Institut za patofiziologiju Medicinskog fakulteta u Nišu¹
Institut za farmakologiju sa toksikologijom Medicinskog fakulteta u Nišu²
Institut za fiziologiju Medicinskog fakulteta u Nišu³

Kontakt: Sofija Stojiljković
Institut za patofiziologiju Medicinskog fakulteta
Bulevar dr Zorana Đinđića 81
18000 Niš, Srbija

Uvod

Struktura, odnosno uredjenost, kao i ponašanje vode u živim biološkim sistemima još uvek je naučna misterija. To potvrđuju mnoge teorije počev od polimerizacije vode (polywater) do teorije o klasterima vode. Sve do kraja 80-tih godina XX veka smatrano je da se molekuli vode transportuju zajedno sa jonima pasivnim prolaskom kroz transmembranske kanale u membranskom lipidnom dvosloju. Identifikacijom CHIP (channel forming membrane integral protein) makromolekula otkrivena je populacija membranskih kanala "akvaporina", selektivnih za tako životno važan, a još uvek nedovoljno ispitan molekul kakav je voda (1,2). Otkrićem akvaporina (AQPs) otvoreni su novi horizonti i omogućeno je bolje

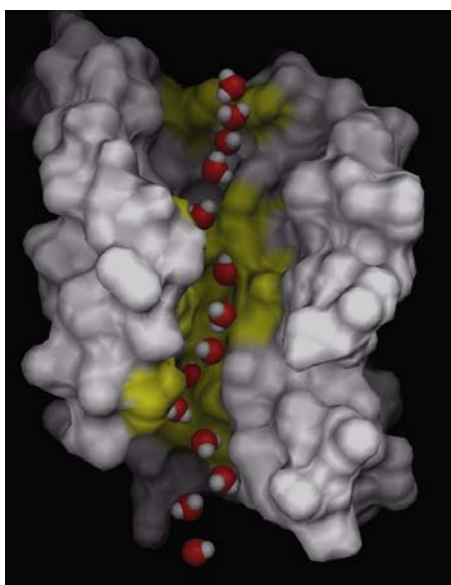
razumevanje transporta vode kroz biološke membrane i epitelne ćelije na molekularnom nivou. Ostvaren je novi pristup i omogućeno bolje razumevanje fizioloških procesa i veoma ozbiljnih poremećaja bilansa vode kod različitih oboljenja.

Akvaporini su vođeni proteinski kanali. Za ovo izuzetno otkrice (AQP1) Prof. Peter Arge je 2003 godine dobio Nobelovu nagradu. Do danas je otkriveno najmanje deset subtipova akvaporina u različitim tkivima i organima, a označavaju se brojevima od 0 do 9. Nivo ekspresije svakog akvaporina je visoko regulisan, mada, do danas, uloga svih akvaporina nije tačno definisana. Akvaporini (AQP1, AQP4 i AQP9) su opisani u mozgu gde imaju ulogu u formiranju cerebrospinalne tečnosti, homeostazi vode i ekstracelularnog osmotskog pritiska u parenhimu mozga (1,2,3). Smatra se da AQP4 učestvuje u formiranju edema mozga nakon traume ili ishemijske, a da je AQP9 uključen u metaboličke procese mozga s obzirom da je otkriven u adrenergičnim neuronima u kojima deluje kao metabolički kanal (3). Akvaporini, AQP2 i AQP3 imaju ključnu ulogu u homeostaznoj regulaciji i kontroli transporta vode na nivou bubrega. Aktivnost AQP3 i AQP4 je usko povezana sa nivoom koncentracije i aktivnošću tiroidnih hormona (Tabela 1).

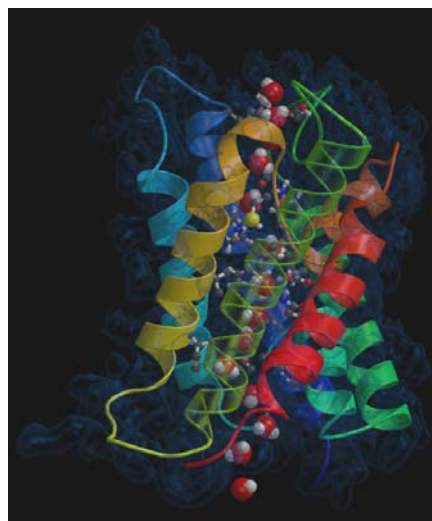
Tabela 1.

IZOFORMNI TIP AQPS	GLAVNO MESTO EKSPRESIJE	SPECIFICNA FUNKCIJA
Aquaporin-0	oko (očno sočivo)	promet tečnosti u sočivu
Aquaporin-1	eritrociti bubreg (proksimalni tubuli) oko (cilijarno telo) CNS (horiodni pleksus) pluća (epitelne celije alveola)	osmotska protekcija koncentrisanje urina produkcija očne vodice produkcija likvora alveolarna hidratacija
Aquaporin-2	bubreg (sabirni kanali)	aktivacija ADH
Aquaporin-3	bubreg (sabirni kanali) traheja (epitelne celije) tiroideja	reapsorpcija vode sekrecija vode sekrecija hormona
Aquaporin-4	bubreg (sabirni kanali) CNS (ependim, hipotalamus) pluća (epitel bronha) tiroideja	reapsorpcija vode promet likvora, osmosenzorna uloga bronhijalna sekrecija sekrecija hormona
Aquaporin-5	egzokrine zlezde	produkcija pljuvačke i suza
Aquaporin-6	bubreg	permeabilnost vode
Aquaporin-7	spermatozoidi masno tkivo	transport glicerola iz adipocita
Aquaporin-8	testisi pancreas jetra	maturacija spermatogenih celija
Aquaporin-9	CNS (adrenergicki neuroni) leukociti	metabolički procesi mozga homeostaza vode

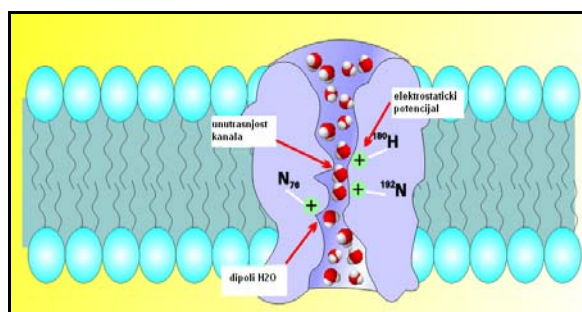
Transport vode kroz akvaporinske kanale moguć je zahvaljujući tetramernoj arhitekturi ovih kanala (Slika 1 i 2) koja obezbeđuje prolaz selektivno samo za molekule vode pošto elektrostatički potencijal unutrašnjosti ovih kanala omogućava selektivno zadržavanje svih molekula koji nose naelektrisanje kao što su joni i protoni (Slika 3). Ispitivanje mehanizma transporta vode u različitim tkivima ukazuje na postojanje uskih pora u akvaporinima koje sprečavaju prolaz velikih molekula, jona, čak i protona (H_3O^+) i hidroksilnih grupa (OH^-) uz istovremeno održavanje visokog nivoa permeabilnosti za molekule vode: $\sim 10^9$ molekula H_2O u sekundi po kanalu (2).



Slika 1. Trodimenzionalna struktura akvaporinskog kanala u ćelijskoj membrani i put prolaska molekula vode kroz unutrašnjost kanala



Slika 2. Presek strukture akvaporinskog kanala. Spiralne trake predstavljaju monomere koji se spajaju lancima na slobodnim krajevima i formiraju tetramernu strukturu molekula akvaporina



Slika 3. Šematski prikaz molekula akvaporina u ćelijskoj membrani i način transporta vode kroz ovaj kanal. Elektrostatički naboj unutrašnjosti kanala omogućava transport samo molekula vode

Ispitivanje akvaporina na molekularnom nivou moguće je primenom vrlo suptilnih metoda kao što su imunohistohemija, imunobloting metode (Northern blotting), primenom hibridizacionih metoda (ISH) uz korišćenje izoform-specifičnih antitela, kao i korišćenjem atomske mikroskopije.

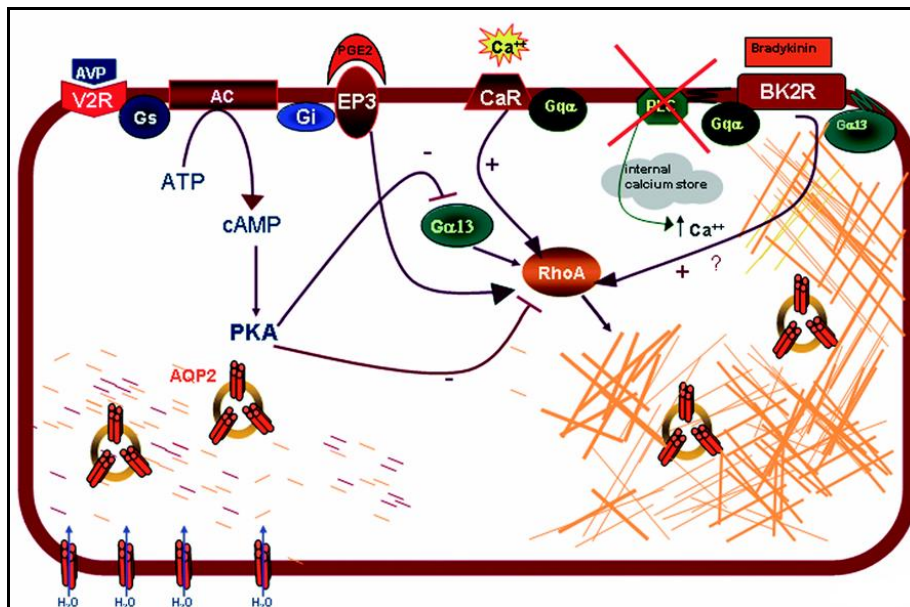
Hormonska regulacija akvaporina

Brojna patološka stanja praćena su poremećajima u prometu vode, pre svega oboljenja bubrega ali i oboljenja drugih sistema i organa. Na nivou bubrega regulacija i kontrola transporta vode ide preko vazopresina. Ta kontrola može biti kratkotrajna, kada se odvija preko vezikularnog transporta AQP2 i dugotrajna kada je povezana sa brojem akvaporinskih proteinskih kanala AQP2 i AQP3. AQP2 je distribuiran duž apikalne membrane principalnih ćelija sabirnih kanalića, a mesto njegovog delovanja je apikalna ili bazolateralna površina ćelijske membrane. Vazopresin (AVP) se vezuje za vazopresin 2 receptore (V2) aktivacijom cAMP signalne kaskade (Slika 4). Posredovanjem protein kinaze A (PKA) nastaje egzocitoza vezikula koje sadrže AQP2. Prekid stimulacije praćen je endocitozom AQP2 koji se nalazi na plazma membrani i njihovim vraćanjem u depoe. Poremećaj transporta AQP2 dovodi do neosetljivosti distalnog nefrona na vazopresin i nesposobnosti bubrega da koncentriše mokraću. Naime, efekat vazopresina je da stimuliše translokaciju specifičnih vodenih kanala

AQP2 iz intracelularnih vezikula na površinu ćelije čime učestvuje u reapsorpciji vode, a samim tim i koncentrisanju urina. Prekid stimulusa, odnosno pad nivoa vazopresina praćen je endocitozom preko klatrin posredovanog mehanizma, a AQP2 se smešta u depoe (1,5).

Regulacija bilansa vode preko bubrega posredstvom AQP2 vrši se vezikularnim transportom i signalnom transdukcijom. Oštećenje transporta AQP2 uzrokovano bilo mutacijama AQP2 gena ili V2 receptorskog gena, kao i alteracije na apikalnoj membrani mogu dovesti do bolesti kao što su urođeni ili stečeni nefrogeni insipidni dijabetes, kongestivna srčana insuficijencija ili ciroza jetre. Poremećaj transporta može nastati i jatrogeno (litijum), kada se smanjuje broj AQP2 receptora čime nastaje nishodna regulacija AQP2 i smanjuje se sposobnost koncentrisanja mokraćne. To je potvrđeno u eksperimentalnoj studiji na pacovima nakon tretmana litijumom i u uslovima hipokalijemije (6).

Postoje dva oblika urođenog diabetes insipidusa (DI): centralni i nefrogeni. U centralnom obliku DI (neurogeni oblik) postoji defekt u stvaranju ili oslobađanju vazopresina. Centralni DI je retko hereditaran kod ljudi i obično se javlja kao posledica povreda glave ili oboljenja hipotalamusa ili hipofize. Pored toga što imaju smanjenu ekspresiju AQP2, osobe sa centralnim DI imaju takođe smanjenu i ekspresiju AQP3. Smatra se da su ovi deficiti glavni uzrok poliurije od koje pate bolesnici sa DI.



Slika 4. Šematski model reapsorpcije vode posredovan vazopresinom i antagonistički efekat PGE2, ekstracelularnog kalcijuma i bradikina (BK). Vazopresin (AVP) olakšava reapsorpciju vode u renalnim sabirnim kanalićima vezivanjem za vazopresin V2 receptore (V2R) što aktivira adenilil ciklazu (AC) preko G proteina (Gs). Rezultat toga je povećanje cAMP što dovodi do aktivacije protein kinaze A (PKA) i fosforilacije AQP2. Posledica fosforilacije je depolimerizacija F-aktina, egzocitoza vezikula koje nose AQP2 i njihovo spajanje sa apikalnom plazma membranom. Na taj način uspostavlja se ushodna regulacija AQP2 i reapsorpcija vode. Stimulacija EP3 receptora preko PGE2 ili kalcijumskih receptora (CaR) visokim nivoom kalcijuma, kao i stimulacija bradikininskih receptora (BK2R) pokreće kaskadu preko G proteina što sprečava spajanje vezikula bogatih AQP2 sa plazma-membranom, a samim tim se umanjuje ekspresija vazopresina na senzitivne AQP2 vodene kanale, što uzrokuje nishodnu regulaciju AQP2

Nefrogeni DI (NDI) je izazvan nesposobnošću bubrega da odgovori na vazopresinsku stimulaciju. Najčešći hereditarni uzrok ovog poremećaja je mutacija V2 receptora koja ćelije sabirnih kanalića čini neosetljivim na dejstvo ovog hormona. Bolest se prenosi recesivno preko X hromozoma i ispoljava se kod muškaraca dok su osobe ženskog pola prenosioci bolesti. Kod obolelih je smanjena koncentracija AQP2 u mokraći (7, 8). U oko 10% urođenog NDI postoji defekt AQP2 gena. Veći broj obolelih iz ove grupe ima autozomno recesivni poremećaj (9, 10) ali je opisan i mali broj obolelih kod kojih je uočeno autozomno dominantno nasleđivanje (11). Kod recesivnog oblika NDI se smatra da su mutacije uzrok poremećaja i da mutirani proteini ili nisu u stanju da stvore tetramere sa normalnim oblicima ili sami proteini nisu u stanju da ostvare funkciju u stvorenim tetramernim oblicima. Nasuprot tome, kod dominantnih oblika NDI može doći do stvaranja heterotetramera između mutiranih i normalnih oblika, ali oni nisu sposobni da prolaze kroz ćelijsku membranu (12). Od 19 do sada opisanih mutacija oko polovina je uočena na B ili E kraku proteina gde je moguće da dođe do gubitka funkcije molekula kao pore. U tri slučaja mutacije su uočene na C kraku a kod ostalih na različitim delovima molekula.

U najvećem broju slučajeva, mutacije AQP2 dovode do poremećaja prolaska kroz plazma membranu čak i kada neki mutirani oblici imaju aktivnost vodenih kanala (13). Međutim, postoje genetski defekti u koncentrisanju mokraće koji su posledica drugih poremećaja transporta (Bartterov i Gitelmanov sindrom) koji su izazvani defektom preuzimanja NaCl kod prvog, u širokim ushodnim, a kod drugog u distalnim izuvijananim kanalićima. Oba ova sindroma, takođe, izazivaju hipokaliemiju što takođe dovodi do otezanog koncentrisanja urina zbog redukcije medularnog osmotskog gradijenta. Ljudi sa nedostatkom AQP1 ne pokazuju velike funkcionalne poremećaje (14).

Ispitivanja na *knock-out* miševima sugerišu da su u toku dehidracije, defekti u koncentrisanju urina posledica oštećenja Henlejeve petlje zbog redukcije propustljivosti za vodu u descendentnom kraku (15). Promet vode u *vasa recta* je takođe poremećen (16) zbog čega je prenos vode veći u unutrašnjoj meduli, kao i ispiranje soli. Sve ovo sprečava koncentrisanje mokraće. Pretpostavlja se da je i reapsorpcija u proksimalnim tubulima takođe manje efikasna, pošto je uspostavljanje vodene ravnoteže preko tubularnog epitela sporije u odsustvu AQP1.

Stečeni poremećaji NDI su posledica nekoliko stanja koje karakterišu povećan gubitak vode i redukcija osmolarnosti urina, uprkos povećanom nivou AVP. U mnogim od njih bubreg nije u stanju da reguliše promet vode usled poremećaja reagovanja na vazopresin. Međutim, mehanizmi nishodne regulacije, kao i intracelularna lokalizacija ovih proteina se značajno razlikuju kod raznih stanja, što nam ukazuje da su različiti mehanizmi odgovorni za poremećaje regulacije AQP2.

NDI izazvan litijumom

Upotreba litijuma je vrlo česta u lečenju afektivnih bipolarnih poremećaja. Procenjuje se

da 1 na hiljadu ljudi u populaciji koristi litijum, a kod 20-30% njih nastaju ozbiljni štetni efekti uključujući poliuriju (17, 18), pre svega usled rezistencije na vazopresin (NDI). Kod ovih bolesnika je prisutna redukcija AQP2 u apikalnoj i bazolateralnoj membrani, što može imati uticaj na ukupnu redukciju reapsorpcije vode (19). Imunohistohemijski je pokazana i redukcija ekspresije AQP3 (20). Redukcija ekspresije AQP2 i AQP3 izgleda ima značajnu ulogu u razvoju litijumske poliurije i smatra se da je izazvana oštećenjem stvaranja cAMP-a u sabirnim kanalićima glavnih ćelija. Nakon obustave terapije litijumom nastupa spor oporavak ekspresije AQP2 i koncentrisanja mokraće.

Elektrolitski poremećaji udruženi sa NDI

Hiperkaliemija i hiperkalcemija su važni klinički poremećaji elektrolita praćeni poliurijom usled defekta u koncentrisanju mokraće zbog rezistencije na vazopresin. U oba slučaja je prisutna manja ekspresija i nishodna regulacija AQP2.

NDI izazvan opstrukcijom urinarnog trakta

Opstrukcija urinarnog trakta je ozbiljno kliničko stanje udruženo sa poremećajem glomerularne i tubularne funkcije i može biti praćeno dugotrajnim poremećajem koncentrisanja mokraće. Kod opstrukcije urinarnog trakta prisutna je smanjena ekspresija AQP2, AQP3 i AQP1. Ekspresija AQP3 i AQP1 se vraća na normalu do trideset dana od uklanjanja opstrukcije, mada je kapacitet koncentrisanja mokraće i dalje redukovan.

Defekti u koncentrisanju mokraće u renalnoj insuficijenciji

Akutna i hronična bubrežna insuficijencija su udružene sa poliurijom i defektom u koncentrisanju mokraće usled brojnih glomerularnih ili tubularnih poremećaja. U eksperimentalnim modelima izazivanja akutne bubrežne insuficijencije kod pacova, ishemijskom i poremećenom reperfuzijom pokazano je da su nivoi AQP2 i AQP3 u sabirnim kanalićima kao i AQP1 u proksimalnim tubulima značajno redukovan.

U eksperimentalnom modelu hronične bubrežne insuficijencije kod zečeva, nefrektomijom pet šestina bubrega razvila se hipostenurija rezistentna na vazopresin što ukazuje na poremećaj u reapsorpciji vode u sabirnim kanalićima. Pored signifikantnog smanjenja protoka vode uočeno je i signifikantno smanjenje aktivnosti adenil-ciklaze u odgovoru na vazopresin. Kod pacova sa nefrektomijom pet šestina bubrega pokazano je smanjenje ekspresije AQP2 i AQP3 u sabirnim kanalićima i vazopresin rezistentna nishodna regulacija AQP2.

Hronična srčana insuficijencija

Tešku hroničnu srčanu insuficijenciju karakterišu defekti u renalnom prometu vode i natrijuma što ima za rezultat nakupljanje tečnosti u ekstracelularnom prostoru i hiponatremiju.

Smatralo se da povećano oslobađanje vazopresina posredstvom baroreceptora ima ključnu ulogu u bubrežnoj retenciji vode i da doprinosi razvoju hiponatremije. Studije na pacovima u kojima je izazvana kongestivna srčana insuficijencija podvezivanjem leve koronarne arterije pokazale su signifikantno povećanje endijastolnog pritiska u levoj komori, redukovanu koncentraciju natrijuma u plazmi i povećanje ekspresije AQP2 (21, 22).

Ciroza jetre

Vazopresin je smatran za važan patogenezni faktor koji utiče na retenciju vode u cirozi jetre. Uprkos normalnom nivou vazopresina ovde je prisutna poremećena regulacija reapsorpcije vode.

U eksperimentalnim modelima ciroze jetre podvezivanjem žučnih puteva pokazano je da postoji smanjena ekspresija AQP2, AQP3 i AQP4 koji igraju važnu ulogu u razvoju poremećaja transporta vode. Smanjena ekspresija AQP1 nije uočena (23). Kod ciroze jetre izazvane inhalacijom ugljen tetrahlorida izražen je porast ekspresije kortikalnog AQP1 koji potencijalno može doprineti apsorpciji tečnosti u proksimalnom segmentu (24,25). Porast koncentracije vazopresina u nekompenzovanoj cirozi sa edemima može izazvati porast ekspresije AQP2 što doprinosi retenciji vode. *Ciroza* izazvana podvezivanjem žučnih puteva je kompenzatorna i karakteriše se perifernom vazodilatacijom i povećanim udarnim volumenom, dok je *ciroza* izazvana administracijom ugljen tetrahlorida praćena dekompenzacijom i udružena je sa retencijom natrijuma, edemima i ascitesom (26, 27).

Eksperimentalni nefrotski sindrom

Nefrotski sindrom (NS) karakteriše ekscesivna reapsorpcija vode i natrijuma praćena povećanjem volumena ekstracelularne tečnosti. Za razliku od hronične srčane insuficijencije i ciroze jetre gde je povećan ekstracelularni volumen i gde postoji hiponatremija i povećana ekspresija AQP2 (20,28) kod pacova kojima je eksperimentalno izazvan NS ne nastaje hiponatremija uprkos ekstenzivnoj ekspanziji ekstracelularnog volumena tečnosti. Odsustvo hiponatremije može se objasniti nishodnom regulacijom ekspresije AQP2 u sabirnim kanalčićima i smanjenom ekspresijom AQP2 i AQP3 u meduli bubrega.

Izostajanje odgovora na vazopresin

Stanje kod koga normalan hidroosmotski odgovor na vazopresin izostaje kako bi se izbegla intoksikacija vodom je poznato kao 'vazopresin escape' (izmicanje vazopresinskog odgovora). Kod ovog stanja postoji smanjena ekspresija AQP2, mada dugotrajna regulacija 'izmicanja' vazopresinskog odgovora još uvek nije poznata i smatra se da verovatno postoji alternativni signalni put.

Regulacija AQP2 u trudnoći i menopauzi

Trudnoću karakteriše povećanje volumena ekstracelularne tečnosti, plazme i krvi za 30-

50%. U trudnoći dolazi do arterijske vazodilatacije, zadržavanja natrijuma i vode i pada osmolarnosti plazme. Pored toga, signifikantno se povećavaju nivou AQP2 mRNA i AQP2.

Menopauza, takođe, utiče na nivo polnih hormona žene. Eksperimentalnim modelima ovariektomije kod pacova utvrđeno je da dolazi do signifikantnog porasta AQP2 i fosforilisanog AQP2 u bubrežima pacova, što je praćeno redukcijom diureze i porastom telesne mase.

Uloga regulatornih proteina i modulatora transporta akvaporina

Transport akvaporina omogućen je kompleksnim mehanizmima koji uključuju spacio-temporalnu modulaciju nekoliko regulatornih proteina koji posreduju u fuziji vezikula sa plazma membranom. To su pomoćni proteini od kojih najveći značaj imaju: SNARE proteini, GTP-vezujući protein, ERM, elementi citoskeletona, tiroidni hormoni, prostaglandini, bradikinin, kalcijum i dr.

SNARE proteini – otkriveni su u principalnim ćelijama sabirnih kanalčića i u uskoj su vezi sa vezikulama koje nose AQP2. SNARE proteine čine sintaksin1, sinaptobrevin 2 i SNAP-25 koji imaju ključnu ulogu u fuziji AQP2 vezikula sa plazma membranom što je i završna faza u transportu vode posredovane vazopresinom.

GTP-vezujući protein je takodje neophodan za usmeravanje AQP2, mada funkcionalna uloga ovog proteina u prenosu AQP2 još uvek nije precizno opisana. Nedavno su identifikovana dva AQP2 vezujuća proteina i to SPA1 i aktin. SPA1 je specifični protein koji aktivira GTP-azu čija je aktivnost neophodna za prenos AQP2 na apikalnu membranu. Aktin ima ključnu ulogu u dinamičkim kretanjima vezikula koje nose AQP2 uključujući procese endocitoze i egzocitoze vezikula. Depolimerizacija aktina u prisustvu vazopresina značajno povećava brzinu fuzije u vezikulama koje nose AQP2 što omogućava apikalno usmeravanje ovog molekula.

ERM (erzin-radiksin-moezim) su proteini koji povezuju aktin sa plazma membranom i važni su za integraciju kortikalnih ćelija jer učestvuju u reorganizaciji citoskeletnih struktura koje sadrže F-aktin. ERM učestvuju u mehanizmu ushodne i nishodne regulacije translokacijom AQP2 i posreduju u interakciji AQP2 i proteina koji vezuju aktin čime se stvara potrebna energija za prenošenje AQP2 do plazma membrane.

Kalcijum (Ca) – najnovija istraživanja pokazuju da ekstracelularni kalcijum kroz aktivaciju kalcijum senzitivnih receptora (CaR) modulira ekspresiju i transport AQP2 u stanjima hiperkalcemije i hiperkalciurije. Kalcijum senzitivni receptori nalaze se u ushodnoj grani Henleove petlje i slični su onim koji se nalaze u paratireoidnoj žlezdi. Dokazano je da su CaR osetljivi na ekstracelularnu koncentraciju kalcijuma i magnezijuma. Kod hronične hiperkalcemije smanjuje se aktivnost AQP2 što može dovesti do smanjene responzivnosti na vazopresin.

Prostaglandin E2 (PGE2) – reguliše epitelijalnu propustljivost i reapsorpciju vode. PGE2

antagonizuje reapsorpciju vode posredovanu vazopresinom, dovodi do translokacije AQP2 i njegove nishodne regulacije. Zanimljiv je podatak da kod postopstruktivnog bubrega kod ljudi dolazi do lokalnog porasta sinteze PGE2 koja delimično može uzrokovati selektivnu nishodnu regulaciju AQP2.

Bradikinin (BK) – stimuliše produkciju prostaglandina u bubregu, povećava aktivnost GTP-aze koja se povezuje sa stabilizacijom kortikalne F-aktin mreže što dovodi do nepravilnog usmeravanja AQP2. Ovi efekti nepovoljno deluju na fiziološku stimulaciju vazopresina, što ukazuje da bradikinin može imati direktan uticaj na smanjenu sposobnost bubrega da vrši koncentraciju urina, a samim tim umanjuje ekspresiju vazopresina na senzitivne AQP2 vodene kanale.

Značaj Na transportera i AQP2 kod hipotireoze

Hipotireoza je usko povezana sa nepravilnostima renalne regulacije soli i vode. Eksperimentalne i kliničke studije pokazale su da je hipotireoza udružena sa izraženim poremećajima u renalnom zadržavanju vode i soli, redukcijom veličine bubrega, redukcijom količine totalnih bubrežnih transportnih proteina, a pre svega AQP2 koji je od ključnog značaja u reapsorpciji vode.

Kod eksperimentalnog modela hipotireoze izazvanog aminotriazolom, pacovi su bili podvrgnuti deprivaciji vode. Eksperiment je imao za cilj da ispita ekspresiju proteina za renalne transportere za NaCl, ureju i akvaporine (AQP1, AQP2, AQP3 i AQP4) kod hipotireoznih pacova u poređenju sa eutireoidnim pacovima kao kontrolom. Pokazano je da je kod hipotireoznih pacova došlo do smanjenja osmotskog gradijenta i nishodne regulacije AQP1, AQP2, AQP3 i AQP4. Ovaj nalaz ide u prilog postojanju renalnog zadržavanja Na⁺ i vode u proksimalnim tubulima i defekta u koncentrisanju urina kod hipotireoznih pacova. Utvrđeno je da su Na⁺ transporteri tip 3

(Na/H pumpa) i tip 2 (NaPi2) regulisani od strane tiroidnih hormona i da utiču na transport Na⁺ na nivou proksimalnih tubula, kao i na aktivnost Na-K-ATP-aze, dok AQP1, AQP2, AQP3 i AQP4 utiču na transport vode (29, 30).

Sposobnost zadržavanja vode tokom perioda deprivacije tečnosti je važna funkcija bubrega. Osnovni patogenetski mehanizam prilikom deprivacije je oslobađanje vazopresina i ushodna regulacija AQP2, što se odigrava u glavnim, principalnim ćelijama sabirnih kanalića. Maksimalna osmolarnost urina bila je značajno snižena kod hipotireoznih pacova kao odgovor na deprivaciju vode, dok je osmolarnost plazme ostala nepromenjena. Ova studija je pokazala da kod hipotireoze sa prisutnim miksedemom postoji hiponatremija sa neosmotskim oslobađanjem vazopresina, smanjena glomerularna filtracija i dilucija kao i defekt reapsorpcije Na⁺ u proksimalnom nefronu. Hiponatremija se pored nastalih hemodinamskih poremećaja izražava i neurološkom disfunkcijom izazvanom edemom mozga. Stepem cerebralnog edema je manji kod akutno nastale hiponatremije u odnosu na hroničnu hiponatremiju zato što nervne ćelije gube elektrolite, pa nastaje osmotsko izbacivanje vode iz ćelija u ekstracelularni prostor (31,32,33,34, 35,36,37). Davanje Na⁺ bolesnicima koji su volumen depletirani ili edematozni može da prevenira rizik od centralnih demijelinizacionih lezija.

Za hipertireozu je karakteristično da se promene nalaze u celularnom sadržaju Na⁺ i K⁺, dok su fluktuacije njihovih nivoa u plazmi manje značajne jer su nestabilne (33).

Dalja proučavanja akvaporina pomoći će u rasvetljavanju molekularne osnove vodenih proteinskih kanala i fiziologije i patofiziologije bilansa vode kao i novih farmakogenetskih strategija u prevenciji patoloških poremećaja kao što su edem mozga, glaukom, kongestivna srčana insuficijencija, gojaznost, tj. stanja koja uključuju poremećen transport tečnosti.

Literatura

1. Valenti G, Procino G, Tamma G, Carosino M, Svelto M. Minireview: aquaporin 2 trafficking. *Endocrinology* 2005;146:5063-70.
2. Agre P, Nielsen S. The aquaporin family of water channels in kidney. *Nephrology* 1996;17:409-415.
3. Guerin CF, Regli L, Badaut J. Roles of aquaporins in the brain. *Med Sci* 2005; 21: 747-52.
4. Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon H, Agre P, Knepper M. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev* 2002;82:205-44.
5. Klusmann E, Maric K, Rosenthal W. The mechanisms of aquaporin control in the renal collecting duct. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2000; 141: 33-95.
6. Schmitt R, Klusmann E, Kahl T, Ellison D, Bachmann S. Renal expression of sodium transporters and aquaporin-2 in hypothyroid rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284: 1097-104.
7. Deen PM, Van Aubel RA, Van Lieburg AF, Van Os CH. Urinary content of aquaporin 1 and 2 in nephrogenic diabetes insipidus. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 836-41.
8. Kanno K, Sasaki S, Hirata Y, Ishikawa SE, Fushimi K, Nakanishi S, et al. Urinary excretion of aquaporin-2 in patients with diabetes insipidus. *N Engl J Med* 1995; 332: 1540-5.
9. Deen PM, Verdijk MA, Knoers NV, Wieringa B, Monnens LA, Van Os CH, et al. Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine. *Science* 1994; 264: 92-5.
10. Van Lieburg AF, Verdijk MA, Knoers VV, Van Essen AJ, Proesmans W, Mallmann R, et al. Patients with autosomal nephrogenic diabetes insipidus homozygous for mutations in the aquaporin 2 water-channel gene. *Am J Hum Genet* 1994;55: 648-52.
11. Mulders SM, Bichet DG, Rijss JP, Kamsteeg EJ, Arthus MF, Lonergan M, Fujiwara M, Morgan K, Leijendekker R, Van Der SP, Van Os CH, Deen PM. An aquaporin-2 water channel mutant which causes autosomal dominant nephrogenic diabetes insipidus is retained in the Golgi complex. *J Clin Invest* 1998; 102: 57-66.

12. Kamsteeg EJ, Wormhoudt TA, Rijss JP, Van Os CH, Deen PM. An impaired routing of wild-type aquaporin-2 after tetramerization with an aquaporin-2 mutant explains dominant nephrogenic diabetes insipidus. *EMBO J* 1999; 18: 2394–400.
13. Deen PM, Knoers NV. Vasopressin type-2 receptor and aquaporin-2 water channel mutants in nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Med Sci* 1998; 316: 300–9.
14. Preston GM, Smith BL, Zeidel ML, Moulds JJ, Agre P. Mutations in aquaporin-1 in phenotypically normal humans without functional CHIP water channels. *Science* 1994; 265: 1585–7.
15. Ma T, Yang B, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS. Severely impaired urinary concentrating ability in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels. *J Biol Chem* 1998; 273: 4296–9.
16. Edwards RM, Jackson BA, Dousa TP. ADH-sensitive cAMP system in papillary collecting duct: effect of osmolality and PGE₂. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1981; 240: 311–8.
17. Botton R, Gaviria M, Battle DC. Prevalence, pathogenesis, and treatment of renal dysfunction associated with chronic lithium therapy. *Am J Kidney Dis* 1987; 10: 329–45.
18. Christensen S, Kusano E, Yusufi AN, Murayama N, Dousa TP. Pathogenesis of nephrogenic diabetes insipidus due to chronic administration of lithium in rats. *J Clin Invest* 1985; 75: 1869–79.
19. Marples D, Christensen S, Christensen EI, Ottosen PD, Nielsen S. Lithium-induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla. *J Clin Invest* 1995; 95: 1838–45.
20. Kwon TH, Laursen UH, Marples D, Maunsbach AB, Knepper MA, Frokiaer J, Nielsen S. Altered expression of renal aquaporins and Na⁺ transporters in rats with lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279: 552–64.
21. Nielsen S, Terris J, Andersen D, Ecelbarger C, Frokiaer J, Jonassen T, Marples D, Knepper MA, Petersen JS. Congestive heart failure in rats is associated with increased expression and targeting of aquaporin-2 water channel in collecting duct. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5450–5.
22. Xu DL, Martin PY, Ohara M, St Pattison T, Meng X, Morris K, Kim JK, Schrier RW. Upregulation of aquaporin-2 water channel expression in chronic heart failure rat. *J Clin Invest* 1997; 99: 1500–5.
23. Fernandez-Llama P, Turner R, Dibona G, Knepper MA. Renal expression of aquaporins in liver cirrhosis induced by chronic common bile duct ligation in rats. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1950–7.
24. Gines P, Berl T, Bernardi M, Bichet DG, Hamon G, Jimenez W, Liard JF, Martin PY, Schrier RW. Hyponatremia in cirrhosis: from pathogenesis to treatment. *Hepatology* 1998; 28: 851–64.
25. Wood LJ, Massie D, Mclean AJ, Dudley FJ. Renal sodium retention in cirrhosis: tubular site and relation to hepatic dysfunction. *Hepatology* 1988; 8: 831–6.
26. Levy M, Wexler MJ. Hepatic denervation alters first-phase urinary sodium excretion in dogs with cirrhosis. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1987; 253: 664–71.
27. Asahina Y, Izumi N, Enomoto N, Sasaki S, Fushimi K, Marumo F, Sato C. Increased gene expression of water channel in cirrhotic rat kidneys. *Hepatology* 1995; 21: 169–73.
28. Fujita N, Ishikawa SE, Sasaki S, Fujisawa G, Fushimi K, Marumo F, Saito T. Role of water channel AQP-CD in water retention in SIADH and cirrhotic rats. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1995; 269: 926–31.
29. Garini G, Guariglia A, Aroldi M. Hypo-osmolar hyponatremic syndromes: physiopathology and clinical aspects. *Recenti Prog Med* 1999; 90: 100–8.
30. Cadnapaphornchai M, Kim YW, Gurevich A, Summer S, Falk S, Thurman J, Schrier R. Urinary Concentrating Defect in Hypothyroid Rats: Role of Sodium, Potassium, 2-Chloride Co-Transporter, and Aquaporins. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 566–74.
31. Michael UF, Chavez R, Cookson SL, Vaamonde CA. Impaired urinary acidification in the hypothyroid rat. *Pflugers Arch* 1976; 24: 215–20.
32. Kryvykh NV, Pishak VP. Water-salt balance in patients with diffuse toxic goiter and hypothyroidism. *Lik Sprava* 1997; 4: 110–114.
33. Shirota T. Studies on the renal handling of urea nitrogen, creatinine, water and electrolytes in hyperthyroid patients with Graves' disease. *Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi* 1991; 67: 611–21.
34. Pronina NN, Totrova EA, Akoeva LA. Electrolyte, water and hexosamine content of animal tissue in hypothyroidism and thyrotoxicosis of different degrees of severity. *Probl Endokrinol (Mosk)* 1981; 27: 58–62.
35. Haber RS, Loeb JN. Stimulation of potassium efflux in rat liver by a low dose of thyroid hormone: evidence for enhanced cation permeability in the absence of Na,K-ATPase induction. *Endocrinology* 1986; 118: 207–11.
36. Reville P, Stephan F. Excretion of water, sodium, and potassium during the compensatory renal hypertrophy in hypothyroid rats. *C R Seances Soc Biol Fil* 1976; 170: 1015–9.
37. Đurišić S. Glomerularna filtracija kao pokazatelj bubrezne insuficijencije kod dijabetičara. *Acta Medica Medianae* 2007; 46 (3): 31–4.

AQUAPORINS ROLE IN WATER BALANCE DISORDERS

Sofija Stojiljkovic, Milan Stoiljkovic, Vladmila Bojanic, Nenad Stojiljkovi and Sonja Radenkovic

The discovery of aquaporins (AQPs) answered the long-standing biophysical dilemma of how water specifically crosses biological membranes and provided insights, at the molecular level, into the fundamental physiology of water balance and the pathophysiology of water balance disorders. Aquaporins are diverse family of membrane proteins which facilitate rapid, highly selective water transport, thus allowing the cells to regulate their volume and internal osmotic pressure. At least ten different isoforms of aquaporins have been identified in mammalian cells, and several diseases are connected to the impaired function of these channels. In humans, this includes inherited and acquired forms of nephrogenic diabetes insipidus, acute and chronic renal failure and other diseases associated with urinary concentrating defects, as well as conditions with water retention such as congestive heart failure and syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion where aquaporins expression and signaling pathways are affected. In this review we focus mainly on the specific localization and role of aquaporins in water balance regulation and in the pathophysiology of water balance disorders. *Acta Medica Medianae 2007;46(4):66-73.*

Key words: aquaporins, localization, physiological role, water balance disorders