



Current knowledge on aquaporin water channels: clinical implications

Małgorzata Jasiewicz, Janusz Myśliwiec

Department of Endocrinology, Diabetes and Internal Medicine, Medical University, Białystok

Abstract

The discovery of the aquaporin family of water channels has explained to a high degree the mechanism of water transport across cell membranes. The molecular structure of the first purified aquaporin shows its tetrameric organization with each subunit containing an individual aqueous pore selectively permeable for water but not for protons. At least 11 human aquaporins have been identified. Definition of sites of their expression enabled explanation of their physiological role as well as pathological importance in congenital cataract or nephrogenic diabetes insipidus.

(Pol J Endocrinol 2006; 2 (57): 149-157)

Key words: aquaporins, congenital cataract, diabetes insipidus



Janusz Myśliwiec, M.D., Ph.D.
Department of Endocrinology, Diabetes and Internal
Medicine, Medical University, Białystok
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24 A, 15-276 Białystok
tel.: 085 746 82 39, faks: 085 744 76 11
e-mail: mysjan@poczta.onet.pl

Aktualny stan wiedzy o akwaporynach: implikacje kliniczne

Małgorzata Jasiewicz, Janusz Myśliwiec

Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych, Akademia Medyczna, Białystok

Streszczenie

Odkrycie rodziny kanałów wodnych zwanych akwaporynami w znacznym stopniu wyjaśniło mechanizm transportu wody przez błony komórkowe. Molekularna struktura pierwszej wyizolowanej akwaporyny ukazuje jej tetrameryczną budowę, w której każda podjednostka zawiera własny por selektywnie przepuszczalny dla cząsteczek wody, ale nie dla protonów. Dotychczas zidentyfikowano 11 ludzkich akwaporyn. Określenie miejsc ich ekspresji pozwoliło na zdefiniowanie roli tych białek w procesach fizjologicznych oraz ich znaczenia w rozwoju takich chorób jak wrodzona zaćma czy nerkopochodna moczówka prosta.

(Endokrynol Pol 2006; 2 (57): 149-157)

Słowa kluczowe: akwaporyny, wrodzona zaćma, moczówka prosta



Dr hab. med. Janusz Myśliwiec
Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych,
Akademia Medyczna, Białystok
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24 A, 15-276 Białystok
tel.: 085 746 82 39, faks: 085 744 76 11
e-mail: mysjan@poczta.onet.pl

Wstęp

Utrzymanie odpowiedniego ciśnienia wewnątrzkomórkowego i równowagi wodnej między komórką a środowiskiem zewnętrznym jest uwarunkowane kontrolowanym przemieszczaniem się wody przez dwuwarstwową błonę lipidową. Przez długi czas większość naukowców podzielała pogląd, iż woda przenika do komórek, jak też wydostaje się z nich na zasadzie prostej dyfuzji. Jednak już od dawna przypuszczano, że dla podtrzymania właściwych funkcji komórek, takich jak eryocyty czy komórki kanalików nerkowych, sam mechanizm prostej dyfuzji nie wystarczy i muszą istnieć wyspecjalizowane kanały, selektywne tylko dla cząsteczek wody. Z drugiej strony, identyfikacja tych kanałów i zasady ich funkcjonowania długo pozostawały jednym z nierozwiązanych problemów nauki. Wszelkie kontrowersje zdołał rozstrzygnąć dopiero w 1992 roku zespół amerykańskiego lekarza i biochemika Petera Agre, który, badając białka błon erytrocytów, zidentyfikował pierwszy kanał transportujący cząsteczki wody, zwany białkiem CHIP28 [1], potem zaś akwaporyną 1 (AQP1). To przełomowe odkrycie w 2004 roku nagrodzono Nagrodą Nobla.

Akwaporyny odkryto w komórkach wszystkich badanych organizmów. W organizmie człowieka zidentyfikowano co najmniej 11 typów akwaporyn (tab. I). Ekspresja kanałów wodnych różni się w zależności od tkanki: najwięcej, bo co najmniej 7 izoform akwaporyn zlokalizowanych jest w nabłonku kanalików nerkowych, zaś w neuronach nie zidentyfikowano jak dotąd ani jednej. Ponadto w jednej komórce może występować więcej niż jedna izoforma, często zlokalizowana na przeciwnych biegunach komórki, na przykład AQP2 i AQP3 w komórkach kanalików zbiorczych czy AQP3 i AQP5 w komórkach gruczołów ślinowych. Ma to kluczowe znaczenie nie tylko dla przezbłonowego, ale też śródkomórkowego transportu wody.

Budowa akwaporyn: model klepsydry

Spośród rodziny akwaporyn jak dotąd najlepiej poznano i opisano AQP1. Jest to integralne białko błonowe o tetramerycznej budowie. Każda z 4 podjednostek tetramery, o masie cząsteczkowej 28 kDa, składa się z 2 powtarzających się segmentów, złożonych z 3 domen o budowie alfa-helisy, przenikających całą grubość błony. Domeny transbłonowe połączone są ze sobą pętlami. Pętla łącząca domenę 2 i 3 w każdym segmencie (oznaczone jako B i E) charakteryzują się konserwatywną budową i zawierają trójaminokwasowy motyw asparagina–prolina–arginina (NPA). Każda z opisanych pętli połączona jest też z krótką alfa-helisą, nieprzenikającą całej grubości błony [2, 3].

Zatem każdy monomer akwaporyny składa się z 6 domen transbłonowych o budowie alfa-helisy oraz posiada 2 specyficzne pętle z motywem NPA i krótkimi alfa-helisami (ryc. 1). Opisane elementy tworzą symetryczną strukturę w ten sposób, że pętle wraz z krótkimi alfa-helisami wnikają w błonę po przeciwnych jej stronach — jedna od strony zewnątrzkomórkowej, druga od wewnątrzkomórkowej — i częściowo zestawiają się ze sobą w centrum błony. To one tworzą właściwy por, a domeny transbłonowe, otaczając go na kształt prawoskrętnej „wiązki”, tworzą jakby rusztowanie kanału (ryc. 2) [2–4]. Hemipory — bo tak również określa się pętle B i E — są utrzymywane w opisanym zestawieniu przez siły Van der Waalsa [5]. Przez pojedynczy por transportowanych jest $2\text{--}3 \times 10^9$ cząsteczek wody na sekundę, co zwiększa przepuszczalność błony komórkowej dla wody niemal 100-krotnie względem samego mechanizmu dyfuzji [3, 4].

Nie każda AQP ma budowę tetrameryczną. W badaniach wykazano, że w postaci tetramerów błonowych, oprócz AQP1, występuje AQP2, 3 i 5, natomiast AQP4 tworzy większe polimeryczne struktury [6].

Szerokość światła kanału wzdłuż jego przebiegu nie jest jednakowa. Najwęższa część światła pora, o średnicy $2,8\text{Å}$, jest zlokalizowana około 8Å powyżej centrum błony. Wymiar światła w tym miejscu jest zbliżony do średnicy pojedynczej cząsteczki wody. Jest to też miejsce zestawienia motywów NPA obu pętli. Średnica pora zwiększa się, idąc w kierunku zewnątrz- i wewnątrzkomórkowej powierzchni błony, co sprawia, iż budowa przestrzenna kanału swoim wyglądem przypomina klepsydrę [3]. Najwęższa część światła pora odpowiada szyjce klepsydry, zaś przestrzeń powyżej i poniżej — jej stożkowatym naczyniom.

Mechanizm transportu wody przez kanał

Kanał AQP1 jest tak zbudowany, aby przez swą najwęższą część przepuszczać tylko cząsteczki wody — każdą z nich osobno — zatrzymując jednocześnie protony (jony oksoniowe; H_3O^+) i inne jony. Taką funkcję kanału warunkują specyficzne cechy jego budowy, a przede wszystkim:

- zwięzające się światło pora (*size restriction*) aż do średnicy odpowiadającej wymiarom cząsteczki wody [3–5];
- lokalne pole elektryczne we wnętrzu pora, wytwarzane przez zjonizowane reszty aminokwasów Arg195 i His180 oraz aminokwasów w krótkich alfa-helisach. Aminokwasy Arg195 i His180 są składowymi domen transbłonowych i zlokalizowane są na poziomie najwęższej części światła pora. Reszty aminokwasowe mają ładunek dodatni, przez co powodują odpychanie protonów i innych jonów (*electrostatic repulsion*) i uniemożliwiają im przejście przez kanał [3–5];

Tabela I
Występowanie akwaporyn od 0 do 10 w tkankach

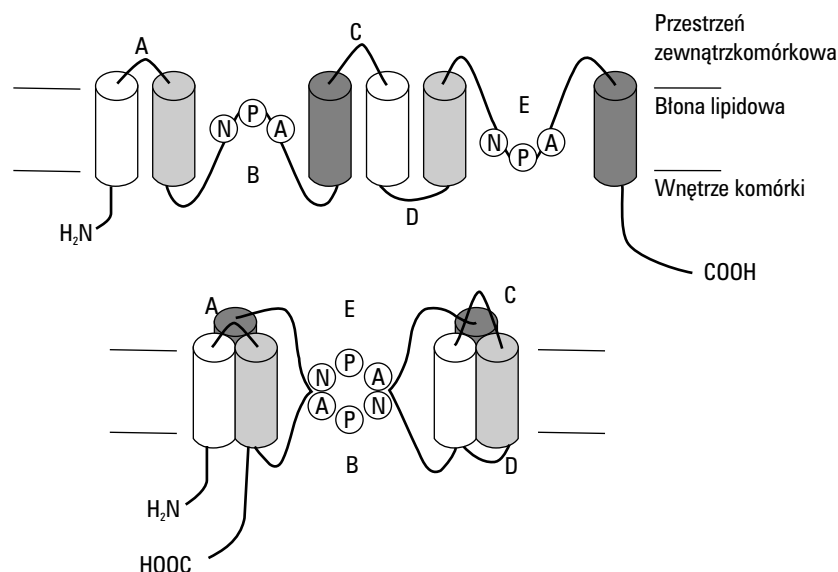
Table I
Distribution of aquaporin 0 to 10 among tissues

	Miejsce występowania	Uwagi
AQP0	Włókna soczewki	Przezierność soczewki
AQP1	Erytrocyty	Ciśnienie osmotyczne
	Kanaliki proksymalne, część cienka ramienia zstępującego pętli Henlego	Zagęszczanie moczu
	Ciało rzęskowe w oku	Produkcja cieczy wodnistej
	Splot naczyniówkowy w mózgu	Produkcja płynu mózgowo-rdzeniowego
	Śródbłonek naczyń płuc	Stan uwodnienia pęcherzyków
	Cholangiocyty	Produkcja żółci
AQP2	Kanaliki zbiorcze nerek	Reabsorpcja wody — fakultatywna przepuszczalność cewek, regulowana przez wazopresynę
	Jądra	
AQP3*	Kanaliki zbiorcze nerek	Transport wody do śródmiąższu
	Ślinianki	Wydzielanie śliny
	Drogi oddechowe	Utrzymanie funkcji nawilżania powietrza
	Skóra	Niejasna
	Erytrocyty	Niejasna
	Jelito cienkie	Transport wody przez nabłonek jelitowy
AQP4	Astroglej	Regulacja przepuszczalności przez barierę krew–mózg–płyn mózgowo-rdzeniowy
	Komórki ependymalne	
	Osmoreceptory mózgu	Niejasna
	Kanaliki zbiorcze nerek	Transport wody do śródmiąższu
	Siatkówka	Niejasna
	Włókna mięśniowe typu II	Niejasna
AQP5	Gruczoły ślinowe, łzowe, potowe, dróg oddechowych	Procesy wydzielnicze
	Rogówka	Uwodnienie, utrzymanie zdolności regeneracyjnej
AQP6	Kanaliki zbiorcze nerek	Wewnątrzkomórkowy kanał anionowy (?)
AQP7*	Adipocyty	Transport glicerolu z komórki
	Spermatocyty	
	Kanaliki proksymalne nerki	
AQP8	Kanaliki proksymalne, ramię zstępujące pętli Henlego, jelito cienkie, okrężnica, tchawica, oskrzela, wątroba, ślinianki, spermatocyty	Niejasna
AQP9*	Hepatocyty	Dokomórkowy transport glicerolu
	Leukocyty	
	Komórki płuc	
	Śledziona	
	Mózg	
	Jądra, najądrza	
AQP10*	Jelito cienkie	Reabsorpcja wody ze światła jelita (?)

*akwagliceroporyna (*aquaglyceroporin*); AQP (*aquaporin*) — akwaporyna

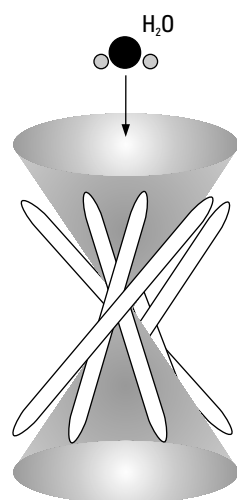
- zdolność cząsteczek wody do tworzenia krótkotrwałych wiązań z resztami aminokwasów Asn76 i Asn192 (motyw NPA pętli), które w ten sposób „prze-

prowadzają” molekuly wody przez por. Cząsteczki wody mają charakter elektrostatycznie polarny, uwarunkowany łatwością łączenia się wiązaniami



Rycina 1. Schemat budowy monomeru akwaporyny-1

Figure 1. Schematic structure of aquaporin-1 monomer



Rycina 2. Struktura przestrzenna akwaporyn: model klepsydry

Figure 2. Spatial structure of aquaporins: model of hourglass

wodorowymi. Aby pokonać najwęższą część pora, odpowiadającą wymiarom pojedynczej molekule, wiązania te muszą zostać zerwane. Dlatego też każda cząsteczka wody, przechodząc przez kanał, ulega reorientacji (*water dipole reorientation*), tworząc krótkotrwałe wiązania wodorowe z resztami Asn76 i Asn192 [3–5].

Zatem istnienie miejsc interakcji cząsteczek wody ze ścianą pora umożliwia szybki, a zarazem selektywny transport wody przez kanał. Warto zauważyć, jak duże znaczenie ma zablokowanie przechodzenia protonów podczas transportu cząsteczek wody, bowiem, jak wiadomo, różnica stężeń protonów między środowiskiem zewnątrz- i wewnątrzkomórkowym ma podstawowe znaczenie dla metabolizmu energetycznego

komórek. Ponadto mechanizm ten tłumaczy, w jaki sposób nerki mogą reabsorbować ogromne ilości wody z przesączu kłębuszkowego, „zostawiając” jednocześnie protony w postaci zakwaszonego moczu.

Kierunek transportu wody przez akwaporyny zależy od gradientu osmotycznego [7]. Odwracalnym inhibitorem transportu dla większości akwaporyn są jony rtęci. Miejscem specyficznego oddziaływania jonów w każdym monomerze jest cysteina w pozycji 189 (Cys189) w pętli E. Zahamowaniu jonami Hg^{2+} nie ulegają AQP0, AQP4, AQP6, najprawdopodobniej w związku z inną sekwencją aminokwasów w pętli E [4, 8].

Akwaporyny mogą transportować nie tylko cząsteczki wody. Spośród 11 ludzkich akwaporyn wyróżnia się tak zwane klasyczne (selektywne tylko dla wody) oraz akwagliceroporyny — transportujące dodatkowo glicerol (AQP3, AQP7, AQP9, AQP10) [4]. Podział ten jest nieco uproszczony, bowiem wykazano przepuszczalność AQP1 również dla CO_2 oraz AQP6 dla jonów, przy niskiej przepuszczalności dla wody [3, 9, 10]. Rola takiego „dodatkowego” transportu pozostaje niejasna. Dlatego, mimo że funkcja akwaporyn jako kanałów wodnych została już udowodniona, nie można wykluczyć ich innych, niepoznanych jeszcze, funkcji transportowych.

Przegląd poznanych dotąd akwaporyn z uwzględnieniem aspektów klinicznych

AQP0 (MIP, major intrinsic protein)

Występuje we włóknach soczewki. Cechuje się niewielką przepuszczalnością dla cząsteczek wody i nie ulega inhibicji jonami rtęci. Uważa się, iż pełni rolę międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej we włóknach soczewki [3, 4].

W badaniach przeprowadzonych na dużych grupach krewnych z dziedziczną dominująco wrodzoną zaćmą wykazano związek mutacji genu dla AQP0 z występowaniem tej choroby. Mutacje punktowe Glu-134-Gly i Thr-138-Arg obejmowały miejsca krytyczne dla struktury cząsteczki. Cechy morfologiczne zaćmy były różne w zależności od rodzaju mutacji. W rodzinie z pierwszą mutacją zaćma miała charakter zmian warstwowych (*lamellar cataract*). Jest to najczęściej spotykana forma zaćmy wrodzonej. W rodzinie z drugą mutacją nowe zmętnienia w soczewce pojawiały się wraz z dorastaniem. Dotychczasowe odkrycia nasuwają przypuszczenie, że inne defekty genu AQP0 mogą występować u pacjentów z zaćmą starczą lub zaćmą związaną z chorobami układowymi, takimi jak na przykład cukrzyca [3, 4, 11]. Dlatego znalezienie mutacji prowadzących do polimorfizmu cząsteczki AQP0 w tych grupach pacjentów może być równoznaczne z określeniem pewnych, uwarunkowanych genetycznie, czynników ryzyka rozwoju zaćmy.

AQP1

Występuje w dużych ilościach w nabłonku kanalików proksymalnych i części cienkiej ramienia zstępującego pętli Henlego, zarówno w części szczytowej, jak i regionie przypadkowo-bocznym błon komórek. Zlokalizowano ją także w zstępujących tętniczkach prostych. Akwaporyna AQP1 stanowi około 1% wszystkich białek błonowych części korowej nerki [6, 7].

Badania myszy pozbawionych genu dla AQP1 dostarczyły dowodów na to, iż AQP1 stanowi główną drogę transportu w procesie reabsorpcji wody i że ów transport przez kanalik odbywa się w głównej mierze drogą przezkomórkową, a nie międzykomórkową [12].

Lokalizacja pozanerkowa AQP1 obejmuje, oprócz wspomnianych błon erytrocytów, także wiele innych narządów (tab. I) [4].

Locus genu dla AQP1 znajduje się na chromosomie 7p14 — na tym samym, z którym wcześniej łączono występowanie genów grupy krwi zwanej Colton (Co). Okazało się, że pętla A monomeru AQP1, zlokalizowana zewnątrzkomórkowo w błonie erytrocytów, to w istocie antygen grupy Co, a polimorfizm w obrębie tej pętli różnicuje grupę na typy Co^a i Co^b [13]. Niezwykłą rzadkością są pacjenci pozbawieni antygenów grupy Co (a więc też AQP1). W Anglii zanotowano 6 takich przypadków. Warto zaznaczyć, iż w normalnych warunkach jest to defekt niemający wpływu na jakość życia ani na stan zdrowia tych osób. Aby sprawdzić, czy brak AQP1 wpływa na funkcję kanalików proksymalnych, 3 niespokrewnione ze sobą osoby Co(-) poddano dobowemu testowi odwodnieniowemu [14]. Okazało się, że potrafią one zagęszczać mocz maksymalnie do 450 mosm/kg, nawet po stymulacji hormo-

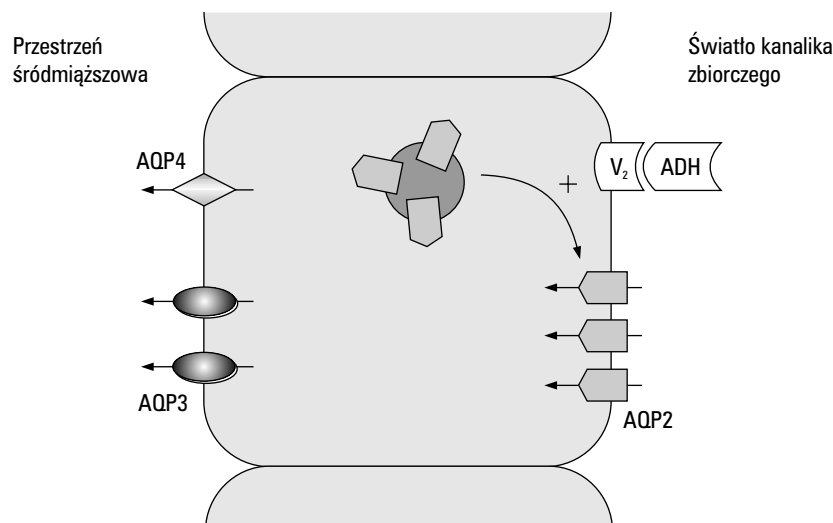
nem antydiuretycznym (ADH, *antidiuretic hormone*) czy 3% NaCl, podczas gdy osoby Co(+) w tych samych warunkach zagęszczają mocz do 1000 mosm/kg. Ponadto, mimo braku AQP1 i zaburzonej koncentracji moczu, nie odnotowano poliurii. Przypuszcza się, iż defekt ten, mimo że nie utrudnia codziennego życia opisanych osób, może teoretycznie stwarzać ryzyko ciężkiego odwodnienia w stanach długiego niedoboru płynów.

W drugim badaniu oceniano przepuszczalność naczyń włosowatych łożyska płucnego, która u osób Co(-) była zmniejszona [15]. Przypuszcza się, że — paradoksalnie — brak AQP1 może mieć protekcyjne znaczenie podczas ostrego obrzęku płuc, jednocześnie wiążąc się z ryzykiem niewystarczającej skuteczności mechanizmów przeciwdziałających obrzękowi w stanach przewlekłej retencji płynów w naczyniach płuc, takich jak zastoinowa niewydolność serca. Wobec tego, zastanawiające jest, dlaczego osoby Co(-) należą do rzadkości.

AQP2

Ta akwaporyna występuje przede wszystkim w komórkach głównych kanalików zbiorczych, w mniejszym stopniu w kanalikach łączących. Jest akwaporyną, której ekspresja jest regulowana przez wazopresynę (antydiuretynę; ADH), a więc odpowiada za wybiórczą przepuszczalność cewek zbiorczych. W stanie podstawowym, przy braku pobudzenia przez ADH, AQP2 jest zlokalizowana w pęcherzykach wewnątrzkomórkowych, położonych podszczytowo. Wazopresyna powoduje przemieszczenie AQP2 z pęcherzyków do części szczytowej błony komórki głównej, w konsekwencji prawie 5-krotnie zwiększając przepuszczalność błony komórkowej dla wody [6, 7].

Gdy ADH łączy się z receptorem V₂ na powierzchni komórek głównych, dochodzi — poprzez przejście GTP do GDP — do aktywacji podjednostki alfa białka G_s, a w konsekwencji do uaktywnienia cykazy adenylowej i syntezy cAMP. Cykliczny AMP powoduje zwiększenie aktywności kinazy białkowej A (PKA, *protein kinase A*) [16]. Enzym ten fosforyluje serynę (Ser-256), zlokalizowaną na cytoplazmatycznym C-końcu monomeru AQP2 [17]. Fosforylacja co najmniej 3 monomerów jest niezbędna, by nastąpiła redystrybucja akwaporyny z pęcherzyka do błony komórki głównej [18]. Badania sugerują, że w procesie przemieszczania się, fuzji pęcherzyków do błony komórkowej, a następnie endocytozy uczestniczy sieć białek cytoszkieletu, takich jak dyneina, dynaktyna czy miozyna-1 [19]. Poza tym w komórkach głównych zidentyfikowano kilka białek, mogących pełnić rolę specyficznych receptorów fuzji dla błony komórkowej i dla pęcherzyków. Jednym z nich jest VAMP-2, występujące w bliskiej lokalizacji z AQP2 w pęcherzyku. Innym jest syntaksyna-4, zlokalizowana w części szczytowej błony komórek głównych



Rycina 3. Transport wody przez akwaporyny w komórce głównej kanalika zbiorczego
Figure 3. Water transport through the aquaporins in the principal cell of collecting duct

czy białko NSF (*N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein*), występujące w cytozolu. Postuluje się także udział kinazy C czy kinazy II w regulacji dystrybucji AQP2, jednak ta kwestia wymaga dalszych badań [7].

Wpływ wazopresyny na wewnątrzkomórkową wędrówkę AQP2 obejmuje dwa mechanizmy (ryc. 3). Mechanizm opisany wyżej polega na szybkiej odpowiedzi na ADH, czyli na przemieszczeniu AQP2 z pęcherzyków wewnątrzkomórkowych do błony komórkowej, a następnie endocytozie tych białek lub wydzieleniu ich do moczu po ustąpieniu działania hormonu. Mechanizm drugi ma charakter adaptacyjny, polegający na zmianie ogólnej puli AQP2 w organizmie przez zmniejszenie ekspresji tych kanałów w komórce. Zmiany adaptacyjne pojawiają się w odpowiedzi na dłużej trwające stany odwodnienia lub retencji płynów. Zaburzenia równowagi wodnej pociągają za sobą odpowiednie zmiany stężenia ADH i w konsekwencji zwiększenie bądź zmniejszenie ogólnej puli AQP2, ale głównie na drodze regulacji transkrypcji genu dla AQP2. W procesie tym dużą rolę pełni cAMP, który zwiększa aktywność PKA w jądrze komórkowym, a enzym ten powoduje fosforylację czynników transkrypcyjnych, takich jak białko CREB-P (*cyclic-AMP response element-binding protein*) czy c-Jun/c-Fos. Przyłączenie czynników do odpowiedniego regionu DNA zwiększa transkrypcję genu AQP2 i w rezultacie syntezę AQP2 [6, 7]. Niektóre badania sugerują istnienie szlaków regulacji ekspresji AQP2 niezależnych od wazopresyny [6, 7].

W badaniach przeprowadzonych wśród chorych na dziedziczną nerkopochodną moczówkę prostą (NDI, *nephrogenic diabetes insipidus*) wykazano, że przyczyną niewrażliwości kanalików nerkowych na działanie wazopresyny w około 10% przypadków jest defekt genu

dla AQP2 (90% to mutacja genu receptora V_2 na chromosomie Xq28: *X-linked NDI*). Określono ją jako dziedziczną nerkopochodną moczówkę prostą niezwiązaną z chromosomem X (*non-X-linked NDI*). W większości przypadków mutacje dziedziczą się autosomalnie recesywnie, w niewielkim odsetku — dominująco. Mutacje prowadzą do powstania cząsteczki, która nie ulega przemieszczeniu do błony komórkowej lub nie jest zdolna do formowania tetrameru. Dotychczas zidentyfikowano 19 mutacji genu dla AQP2, z czego około połowa dotyczy pętli B i E, czyli hemiporów formujących kanał [3, 4, 6, 7, 20].

Oprócz rzadkich postaci dziedzicznej nefrogennej moczówki prostej, istnieje obszerna lista stanów patologicznych oraz leków mogących prowadzić do rozwoju nabytej formy tej choroby, które wymieniono w tabeli II [6, 7]. W stanach tych mechanizmem prowadzącym do mniej lub bardziej nasilonego wielomoczu jest, wywołana przez różne czynniki, zmniejszona ekspresja AQP2 w kanalikach zbiorczych. Przykładem może być leczenie za pomocą litu, który hamuje aktywność cykazy adenylowej i w konsekwencji syntezę cAMP. W modelu zwierzęcym lit powodował około 95-procentowe zmniejszenie ekspresji AQP2, czemu towarzyszyła poliuria [21]. Istnieją również stany kliniczne, w których obserwuje się nadekspresję AQP2 i związaną z tym zwiększoną retencję płynów.

Istotną kwestią jest wydzielanie AQP2 do moczu. Wykazano bowiem, że ilość AQP2 wydzielonej do moczu jest wskaźnikiem działania wazopresyny w kanalikach zbiorczych. Zwiększone wydzielanie AQP2 zaobserwowano w stanach odwodnienia i po terapii ADH. Ponadto dobowa ilość tego białka w moczu jest niezależna od płci i wieku oraz pozytywnie koreluje z osmo-

Tabela II

Stany związane z zaburzoną ekspresją AQP2

Table II

Conditions associated with altered expression of AQP2

Zmniejszona ekspresja AQP2	Zwiększona ekspresja AQP2
Defekty genetyczne — dziedziczna NDI ^a	Retencja płynów
• <i>Non-X-linked NDI</i> (mutacje genu AQP2)	• SIADH ^b
• <i>X-linked NDI</i> (mutacje genu receptora V ₂)	• Zastoinowa niewydolność serca
Nabyta NDI (modele zwierzęce)	• Marskość wątroby
• Terapia litem	• Cięża
• Hipokalemia	Poliuria
• Hiperkalcemia	• Diureza osmotyczna (cukrzyca; model zwierzęcy)
• Pozwężeniowa NDI (np. po prostatektomii)	
Dieta niskobiałkowa (bez poliurii)	
Przymusowe picie wody	
Niewydolność nerek ostra/przewlekła (modele zwierzęce)	
NDI związana z wiekiem	

^aNDI (*nephrogenic diabetes insipidus*) — nefrogena moczówka prosta; ^bSIADH (*syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone*) — zespół niedostosowanego wydzielania hormonu antydiuretycznego

larnością moczu. Przypuszcza się, że pomiar stężenia AQP2 w moczu może stać się przydatnym parametrem w stanach z zaburzeniami gospodarki wodnej [7, 22].

AQP3 i AQP4

AQP3 jest akwaporyną, zlokalizowaną głównie w kanalikach zbiorczych kory i rdzenia nerek oraz komórkach gruczołów ślinowych. Występuje też w śródłonku naczyń dróg oddechowych, komórkach skóry i erytrocytach [3, 4]. Łącznie z AQP10 występuje w nabłonku jelita cienkiego, jednak w przeciwieństwie do niej jest zlokalizowana w regionie przypodstawno-bocznym komórek.

Akwaporynę AQP4 cechuje zwiększona ekspresja w centralnym układzie nerwowym, gdzie zlokalizowano ją w komórkach astrogleju, w komórkach ependymalnych i regionach osmoreceptorowych mózgu, głównie w jądrze nadwzrokowym. Nie występuje ona w neuronach. Prawdopodobnie bierze udział w regulacji przepływu wody przez barierę krew-mózg i mózg-płyn mózgowo-rdzeniowy. Jest ona obecna także w kanalikach zbiorczych nerek — głównie strefy wewnętrznej rdzenia, siatkówce — w bliskiej odległości od kanału potasowego Kir4.1 oraz w sarkolemie włókien mięśni szkieletowych typu II. Nie jest wrażliwa na blokowanie jonami rtęci [3, 4].

Obie akwaporyny występują w błonie komórek głównych kanalików zbiorczych, razem z AQP2, ale w regionie przypodstawno-bocznym, stanowiąc drogę wyjścia wody z komórki do śródmiąższu. Istnieją pewne dowody na to, że regulacja ekspresji AQP3 podlega

działaniu wazopresyny, jednak nie są to dowody jednoznaczne. Możliwe jest także, iż ekspresja AQP4 w kanalikach zbiorczych nie podlega takiej regulacji [6, 7, 23].

W badaniach przeprowadzonych na myszach z uszkodzonym genem dla AQP4 wykazano, że brak tego kanału może być korzystny dla mózgowia w przypadku obrzęku oraz niedokrwienia. Możliwe zatem, iż farmakologiczna interwencja, polegająca na zahamowaniu wpływu AQP4 spowoduje poprawę przebiegu klinicznego u pacjentów z wymienionymi zaburzeniami [24].

AQP5

Ta akwaporyna występuje w komórkach gruczołów ślinowych, łzowych, potowych, podśluzowych dróg oddechowych, komórkach płuc i nabłonku rogówki, lokalizując się w regionie szczytowym tych komórek. Uważa się, iż AQP5 uczestniczy w procesach wydzielniczych we wspomnianych gruczołach, w utrzymaniu odpowiedniego nawodnienia rogówki i jej zdolności regeneracyjnych oraz w utrzymaniu prawidłowej funkcji dróg oddechowych [4].

W komórkach gruczołów ślinowych występują 2 akwaporyny: AQP3 i AQP5, które ściśle ze sobą współpracują. Akwaporyna AQP3 obecna jest w regionie przypodstawno-bocznym komórki, w którym jest głównym kanałem transportującym wodę ze śródmiąższu. AQP5 znajduje się w części szczytowej komórki i transportuje wodę do przestrzeni pozakomórkowej. W ten sposób obie wymienione akwaporyny uczestniczą w procesie wydzielania śliny.

Analiza immunohistochemiczna bioptatów gruczołów ślinowych oraz łzowych u pacjentów z zespołem Sjögrena wykazała zaburzoną ekspresję AQP5, jednak nie dotyczyło to wszystkich badanych pacjentów. Prawdopodobnie świadczy to o tym, że zespół suchości jest jednostką heterogenną [4]. Rola AQP5 może być istotna w patofizjologii astmy. Na chromosomie 12q, w pobliżu genu dla AQP5, zlokalizowano niektóre geny odpowiedzialne za wystąpienie astmy, jednak rola białka w patogenezie tej choroby nie została potwierdzona [4]. Identyfikacja AQP5 w komórkach gruczołów potowych może sugerować pewną jej rolę w niektórych stanach związanych z zaburzeniami wydzielania potu (*hyper-, hipohydrosis*) [4].

AQP6

Kolejna akwaporyna AQP6 jest zlokalizowana w komórkach wstawkowych typu A w kanalikach zbiorczych. Akwaporyna ta pod kilkoma względami wyróżnia się wśród innych. Wydaje się, iż pełni rolę kanału wewnątrzkomórkowego, bowiem występuje prawie wyłącznie w pęcherzykach wewnątrzkomórkowych, w bliskiej lokalizacji z H⁺-ATPazą i niewielką ekspresją w błonie komórkowej. Jej fizjologiczna rola jest jak dotąd nie do końca zdefiniowana. Cechuje się ona niewielką przepuszczalnością dla wody, a interakcja z jonami rtęci zwiększa przepuszczalność nie tylko dla cząsteczek wody, ale także dla niewielkich anionów — zwłaszcza dla nitratów. Ponadto w badaniach wykazano, iż zmniejszenie pH powoduje wzrost przepływu jonów przez kanał, dlatego też AQP6 jest najprawdopodobniej kanałem anionowym, regulowanym wewnątrzkomórkowymi zmianami pH i funkcjonuje jako negatywny regulator wewnątrzkomórkowej puli H⁺-ATPazy, ponieważ enzym ten może być hamowany przez tlenek azotu. Obecnie podejmuje się próby ustalenia korelacji między zaburzeniami równowagi kwasowo-zasadowej a AQP6 [3, 4, 7, 10].

AQP7 i AQP9

Następne AQP7 i AQP9 są akwagliceroporynami. AQP7 występuje w spermatoocytach, tkance tłuszczowej, a u szczurów także w kanalikach proksymalnych nerki. Natomiast AQP9 zlokalizowano w hepatocytach, leukocytach, komórkach płuc, śledziony, mózgu, najądrzy i jąder [7].

Glicerol, powstały w tkance tłuszczowej z rozpadu triglicerydów, uwalniany jest z adipocytów do krwioobiegu przy udziale AQP7. Do hepatocytów dostaje się drogą AQP9, gdzie może być wykorzystywany na przykład w procesie glukoneogenezy. Wykazano, iż zwiększona ekspresja AQP9 w hepatocytach występuje w stanach, w których odpowiednia utylizacja glicerolu staje się niezmiernie ważna, na przykład w okresie głodzenia czy w niewyrównanej cukrzycy.

Obie akwagliceroporyny mają też zdolność transportu As(OH)₃, co — ze względu na ekspresję AQP9 w leukocytach — stwarza możliwości leczenia białaczki promielocytowej [3, 4].

AQP8

Białko to zidentyfikowano w wielu narządach (tab. I) [25]. Lokalizuje się głównie wewnątrzkomórkowo z minimalną ekspresją w błonie komórkowej. Przypisuje się jej rolę w utrzymywaniu wewnątrzkomórkowej homeostazy osmotycznej, jednak znaczenia tego białka w funkcjonowaniu poszczególnych narządów dotychczas ściśle nie określono.

Ze względu na występowanie w dojrzałych, ostatecznie zróżnicowanych komórkach nabłonka jelitowego, proponuje się wykorzystanie AQP8 w diagnostyce onkologicznej, bowiem wykazano, iż nie ulega ona ekspresji w komórkach nowotworów jelita grubego [26].

AQP10

Jest ostatnio odkrytą akwaporyną. Występuje w nabłonku jelita cienkiego, głównie w regionie szczytowym komórek, uczestnicząc prawdopodobnie w dokomórkowym transporcie wody ze światła jelita [27].

Podsumowanie

Odkrycie akwaporyn oraz opisanie ich działania i znaczącej roli w wielu procesach fizjologicznych, jak i patologicznych, dotyczących zaburzeń gospodarki wodnej, ma znaczenie nie tylko poznawcze, ale przede wszystkim praktyczne. Przeprowadzone badania stawiają w nowym świetle wiele patofizjologicznych aspektów chorób, a w konsekwencji stwarzają potencjalne możliwości leczenia, od ingerencji farmakologicznej po manipulacje genowe. Terapia ta może przy tym dotyczyć nie tylko korekty zaburzeń gospodarki wodnej, ale także diagnostyki i leczenia nowotworów.

Piśmiennictwo

1. Agre P, Preston GM, Smith BL i wsp. Aquaporin CHIP: the archetypal molecular water channel. *Am J Physiol Renal Physiol* 1993; 265: F463–F476.
2. Fujtoshi Y, Mitsuoka K, De Groot BL i wsp. Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol* 2002; 12: 509–515.
3. Agre P, Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett* 2003; 555: 72–78.
4. Agre P, King LS, Yasui M i wsp. Aquaporin water channels — from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol* 2002; 542: 3–16.
5. Murata K, Mitsuoka K, Hirai T i wsp. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature* 2000; 400: 599–605.
6. Nielsen S, Kwon TH, Christensen BM i wsp. Physiology and pathology of renal aquaporins. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 647–663.
7. Nielsen S, Frokier J, Marples D i wsp. Aquaporins in kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev* 2002; 82: 205–244.

8. Preston GM, Jungs JS, Guggino WB i wsp. The mercury-sensitive residue at cysteine 189 in the CHIP28 water channel. *J Biol Chem* 1993; 268: 17–20.
9. Nakhoul NL, Davis BA, Romero BF i wsp. Effect of expressing the water channel aquaporin-1 on the CO₂ permeability of *Xenopus* oocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 1998; 274: C543–C548.
10. Yasui M, Hazama A, Kwon TH i wsp. Rapid gating and anion permeability of an intracellular aquaporin. *Nature* 1999; 402: 184–187.
11. Francis P, Chung JJ, Yasui M i wsp. Functional impairment of lens aquaporin in two families with dominantly inherited cataracts. *Hum Mol Genet* 2000; 9 (15): 2329–2334.
12. Chou CL, Knepper MA, Hoek AN i wsp. Reduced water permeability and altered ultrastructure in thin descending limb of Henle in aquaporin-1 null mice. *J Clin Invest* 1999; 103: 491–496.
13. Agre P, Smith BL, Preston GM. ABH and Colton blood group antigens on aquaporin-1, the human red cell water channel protein. *Transfus Clin Biol* 1995; 2 (4): 303–308.
14. King LS, Choi M, Fernandez PC i wsp. Defective urinary concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *N Eng J Med* 2001; 345: 175–179.
15. King LS, Nielsen S, Agre P i wsp. Decreased pulmonary vascular permeability in aquaporin-1-null humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 1059–1063.
16. Knepper MA, Nielsen S, Chou CL i wsp. Mechanism of vasopressin action in the renal collecting duct. *Semin Nephrol* 1994; 14: 302–321.
17. Christensen BM, Zelenina M, Aperia A i wsp. Localization and regulation of PKA-phosphorylated AQP2 in response to V(2)-receptor agonist/antagonist treatment. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278 (1): F29–42.
18. Kamsteeg EJ, Heijnen I, van Os CH i wsp. The subcellular localization of an aquaporin-2 tetramer depends on the stoichiometry of phosphorylated and nonphosphorylated monomers. *J Cell Biol* 2000; 151 (4): 919–930.
19. Marples D, Schroer TA, Ahrens N i wsp. Dynein and dynactin colocalize with AQP2 water channel in intracellular vesicles from kidney collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 1998; 274: F384–F394.
20. Bichet DG. Nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Med* 1998; 105: 431–422.
21. Kwon TH, Laursen UH, Marples D i wsp. Altered expression of renal aquaporins and Na⁺ transporters in rats with lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279: F552–F564.
22. Rai T, Sekine K, Kanno K i wsp. Urinary excretion of aquaporin-2 water channel protein in human and rat. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1357–1362.
23. Terris J, Ecelbarger CA, Nielsen S i wsp. Long-term regulation of four aquaporins in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 1996; 271: F414–F422.
24. Manley GT, Fujimura M, Ma T i wsp. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med* 2000; 6: 159–163.
25. Elkjaer ML, Nejsum LN, Gresz V i wsp. Immunolocalization of aquaporin-8 in rat kidney, gastrointestinal tract, testis, and airways. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281: F1047–F1057.
26. Fischer H, Stenling R, Rubio C i wsp. Differential expression of aquaporin 8 in human colonic epithelial cells and colorectal tumors. *BMC Physiol* 2001; 1: 1.
27. Mobasher A, Shakibaei M, Marples D. Immunohistochemical localization of aquaporin 10 in the apical membranes of the human ileum: a potential pathway for luminal water and small solute absorption. *Histochem Cell Biol* 2004; 121: 463–471.