

# Acuaporinas

Coppo, J.A.

Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel/fax 03783-425753. E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar.

## Resumen

**Coppo, J.A.: *Acuaporinas*. Rev. vet. 19: 2, 167-178, 2008.** Se efectúa una revisión bibliográfica sobre la estructura, localización anatómica, funciones y enfermedades humanas y animales asociadas a las acuaporinas (AQP). Estas proteínas son las mediadoras del pasaje de agua a través de las membranas celulares de animales, vegetales y microorganismos. En Medicina Veterinaria, los aumentos o disminuciones de su expresión podrían estar vinculados a varias enfermedades de los animales domésticos, de naturaleza hereditaria, congénita o adquirida, tales como edemas, cataratas, obesidad, diabetes insípida nefrogénica y otras. El conocimiento de la fisiopatología de las AQP seguramente se traducirá en el perfeccionamiento de los métodos de diagnóstico y en la especificidad de las medidas terapéuticas.

**Palabras clave:** acuaporinas, funciones, enfermedades asociadas, animales domésticos.

## Abstract

**Coppo, J.A.: *Aquaporins*. Rev. vet. 19: 2, 167-178, 2008.** A bibliographical review on the structure, anatomical localization and functions of aquaporins (AQP), as well as their human and animal associated illnesses, is presented. These proteins operate as mediators of water passage through cellular membranes of animal, vegetable and microorganism. In Veterinary Medicine, increases or decreases of their expression could be linked to several hereditary, congenital or acquired illnesses of domestic animals, such as edemas, cataracts, obesity, nephrogenic insipid diabetes, and others. AQP physiopathological knowledge will surely be incorporated for the improvement of diagnostic methods as well as specificity of therapeutic measures.

**Key words:** aquaporins, functions, related illnesses, domestic animals.

## OBJETIVO

El propósito de esta recopilación bibliográfica es presentar un panorama sobre el estado actual del conocimiento de las acuaporinas (AQP), así como su relación con diversos procesos fisiológicos y patológicos propios del ser humano, los animales e incluso los vegetales y microorganismos. Las AQP son proteínas mediadoras del transporte de agua en las membranas biológicas; las alteraciones en su funcionamiento pueden conducir a una gran diversidad de enfermedades, por lo cual están siendo objeto de preferencial atención en la investigación científica. La medicina veterinaria no ha permanecido ajena a esta premisa y es así que recientemente se han efectuado descubrimientos que auguran una mejor comprensión de ciertas patologías hereditarias y adquiridas, surgiendo nuevas técnicas de diagnóstico y la posibilidad de tratamientos más exitosos.

## DESARROLLO

### Postulados previos al conocimiento de las acuaporinas

El agua es una molécula suficientemente pequeña como para poder atravesar la bicapa lipídica de las membranas celulares, “infiltrándose” entre las cadenas desordenadas de los ácidos grasos. Hasta no hace mucho tiempo éste era el único mecanismo conocido de pasaje de agua a través de las membranas biológicas<sup>13</sup>. Los profesores de Fisiología nos veíamos en aprietos cuando debíamos explicar la “apertura de los poros” (sic) de los túbulos colectores renales para la resorción de agua mediada por ADH<sup>33</sup>. Para poder concentrar la orina, solamente debía resorberse agua; los solutos debían permanecer en el túbulo: ¿cómo explicar este fenómeno? La respuesta a tales interrogantes generaba un *silencio ensordecedor*...

Era conocido que el agua poseía una elevada permeabilidad en la mayoría de las membranas biológicas

y las atravesaba en respuesta a mínimas diferencias osmóticas que permitían que los líquidos intra y extracelular mantuvieran la isotonicidad, necesaria para la homeostasis intracelular<sup>33</sup>. Sin embargo, los mecanismos que posibilitaban este hecho indiscutible eran motivo de controversia<sup>62</sup>. El agua puede atravesar la membrana por difusión simple o a través de poros acuosos, aunque por muchos años se asumió que dicho transporte ocurría sólo por medio del primer mecanismo<sup>63</sup>. Debido a la baja solubilidad del agua en la fase lipídica de la membrana, este proceso requiere una elevada energía de activación ( $E_a > 10$  kcal/mol)<sup>11,58</sup>, lo cual originó que se planteara la existencia de otros mecanismos que aceleraran esta difusión en algunas circunstancias.

La variable biofísica que define la permeabilidad al agua por difusión es conocida como Pf, mientras que la permeabilidad al agua determinada por un gradiente osmótico es definida como Pd, la cual es dependiente de la temperatura y de la composición lipídica de la membrana<sup>23,58</sup>. En algunas células, las membranas registran una relación Pf/Pd cercana a la unidad, lo cual significa que la mayor parte del agua que atraviesa la membrana en respuesta a un gradiente osmótico, lo hace por difusión simple a través de la bicapa<sup>70</sup>; pero en otros –como los eritrocitos o las células epiteliales del túbulo proximal renal– esta relación es mucho mayor que 1, siendo una evidencia de que el transporte de agua se realiza a través de un poro o canal que facilita su flujo<sup>24</sup>.

Más aún, la existencia de ciertas membranas impermeables al agua como la de las células del segmento ascendente del asa de Henle renal o con una permeabilidad condicionada hormonalmente como en el caso de las células del túbulo colector renal, ponía en evidencia que la permeabilidad al agua en ciertas membranas no era una propiedad de la bicapa lipídica en sí misma, sino que dependía de otro factor, cuya expresión y funcionalidad variaba según los diferentes tipos de células. Ello, sumado al hecho que los flujos de agua a través de ciertas membranas como la del eritrocito pueden ser inhibidos por compuestos mercuriales<sup>48</sup>, dirigió la atención de un amplio grupo de investigadores hacia la búsqueda de proteínas responsables de la formación de poros acuosos en la membrana, que pudieran explicar la dinámica del transporte de agua en las membranas biológicas sometidas a permanentes fluctuaciones osmóticas.

Así, se encontró que ciertas proteínas podían comportarse como transportadoras de agua, como las de los canales de cloruro<sup>64</sup>, los transportadores de glucosa<sup>47</sup> o el intercambiador de aniones de la banda 3 en eritrocitos<sup>67</sup>, pero ninguna de estas vías presentaba una cinética de transporte suficientemente rápida para explicar relaciones Pf/Pd muy elevadas<sup>63</sup>.

### Descubrimiento de las acuaporinas

En 2003, Peter Agre (Figura 1), investigador de la Universidad Johns Hopkins (Baltimore, USA), re-

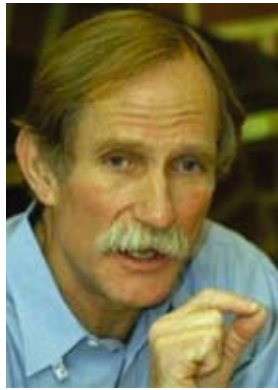


Figura 1. Peter Agre.

cibió el Premio Nobel de Química por haber identificado una proteína que permite el pasaje selectivo de agua a través de la membrana celular, a la cual denominó “acuaporina”. Durante la tarea de purificar el antígeno Rh de eritrocitos humanos, los análisis señalaban la presencia de una “impureza” de características similares a las halladas en células tubulares renales<sup>12</sup>. Guiado por el conocimiento que ambos tipos celulares son muy permeables al agua, la “impureza” fue investigada y resultó ser una proteína tetramérica de 28 kD que opera como canal selectivo para el tránsito de agua. La hipótesis fue confirmada al inyectar material genético de eritrocitos a un ovocito de anfibio (célula impermeable al agua), la cual adquirió la capacidad de permitir el pasaje de moléculas de agua<sup>69</sup>.

Los trabajos habían comenzado hacía más de una década, cuando en los hematíes se descubrió una proteína inicialmente llamada CHIP-28 (channel-like integral protein of 28 kD), que explicaba la elevada permeabilidad al agua en las membranas que la poseían<sup>1,61,66</sup>. Posteriormente a su clonación y secuenciación<sup>50,60</sup>, fue sugerido el nombre de acuaporina-1 (AQP1) para esta proteína<sup>2</sup>, el cual fue adoptado oficialmente por la Human Genome Organization en 1997<sup>3</sup>. Luego se describieron varias proteínas del mismo tipo, las cuales han recibido el mismo nombre seguido de un número secuencial en relación con la cronología de su descubrimiento.

A partir de ahí la investigación alrededor de estas proteínas se ha incrementado notablemente y en la actualidad se han determinado gran parte de sus características moleculares y funcionales y se han descubierto varios miembros adicionales de esta familia, presentes a lo largo de toda la escala filogenética<sup>7</sup>. Empleando ratones transgénicos, mediante la técnica de transfección celular (introducción de material genético proveniente de otra célula), se ha podido incorporar AQP en células que originalmente no las expresaban<sup>12</sup>.

### Estructura de las acuaporinas

Las AQP son proteínas transmembranas que delimitan un canal de 2 nm de largo por 0,3 nm de ancho, por lo cual solamente puede ser atravesado por moléculas de agua (Figura 2). Los iones, incluso el ión hidróxido y los protones, no pueden pasar a través de este canal, cuyo diámetro de aproximadamente 0,28 nm, es sensiblemente menor al tamaño de cualquier ion hidratado<sup>44</sup>.

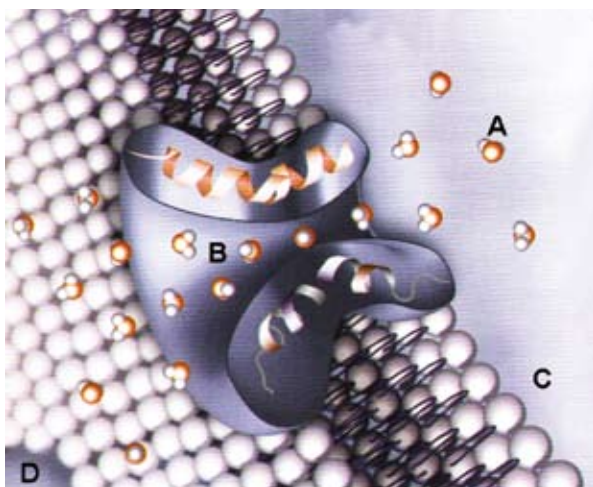
El bloqueo del pasaje de iones y solutos cargados previene la disipación del gradiente electroquímico a través de la membrana celular; sin embargo, se ha ob-

servado el paso de aniones a través de la AQP6<sup>20</sup>. Se calcula que las AQP son capaces de transportar 3 mil millones de moléculas de agua por segundo. Así, una porción de membrana de 10 cm<sup>2</sup> filtraría un litro de agua en unos 7 segundos<sup>17</sup>.

El canal es hidrofóbico, por lo cual las moléculas de agua formarían una fila estableciendo puentes de hidrógeno con aminoácidos polares específicos dispuestos a lo largo del camino de permeabilidad. En el centro del canal, el diámetro es ligeramente mayor al de una molécula de agua. Aunque la longitud de esta restricción es sólo la de un aminoácido, ello bastaría para bloquear el paso de iones y otros solutos más grandes, ya que no existe la estructura necesaria para despojarlos de sus capas de hidratación. La barrera para el paso de protones está constituida por un fuerte dipolo formado por dos segmentos proteicos que contienen la secuencia asparagina–prolina–alanina (NPA), que reorienta las moléculas de agua disrumpiendo las interacciones entre una molécula y la siguiente, lo cual elimina la posibilidad del transporte simultáneo de protones<sup>69</sup>.

Las dos asparaginas del triplete NPA contienen residuos polares para la formación de puentes de hidrógeno y producen una reorientación transitoria del dipolo de la molécula de agua. Así, las moléculas de agua que penetran en el poro disponen sus oxígenos hacia abajo, pero al interactuar con ambas asparaginas giran y continúan su paso con el oxígeno mirando hacia arriba. En la zona más estrecha del canal existe una cisteína cuyo grupo sulfhidrilo determina la sensibilidad a los iones mercurio<sup>20,69</sup>.

Todas las AQP presentan una similitud estructural bastante notable (Figura 3); tienen sus segmentos amino terminal y carboxilo terminal intracelulares, están conformadas por dos mitades muy semejantes entre sí, unidas por el *loop C*<sup>40</sup>, exhiben 6 segmentos transmembrana<sup>73</sup> y los *loop B* y *E* son esenciales para la



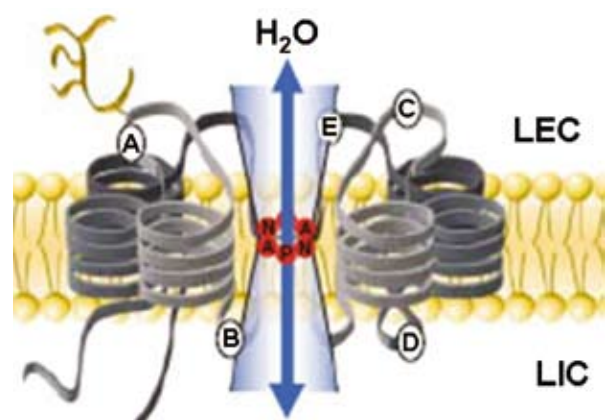
**Figura 2.** Moléculas de agua (A) atravesando una acuaporina. Nótese el estrecho poro axial (B) que se ensancha (como reloj de arena) en las superficies externa (C) e interna (D) de la membrana. Modificado de Echevarría & Zardoya, 2006<sup>20</sup>.

permeabilidad al agua del canal, es decir, son vitales en la formación del poro<sup>16</sup>. Todas son tetraméricas<sup>77</sup>, aunque algunas pueden formar oligómeros más pequeños, como AQP4. Se ha demostrado que la AQP1 bovina, al igual que la humana, también responde a una estructura homotetramérica<sup>69</sup>.

Las AQP son reguladas por diversos factores intracelulares, entre los cuales son fundamentales el pH y la fosforilación, principalmente mediada por proteína-quinasa-A. La mayoría son inhibibles por compuestos mercuriales, aunque el Hg puede activar algunas AQP. Su permeabilidad al agua es alta, del orden de  $3 \times 10^9$  moléculas/segundo y su energía de activación es baja, requiriendo unas 5 kcal/mol o menos<sup>63</sup>.

Entre los factores que regulan la cinética de apertura–cierre de las AQP, se conoce que AQP0 se activa a pH ácido y se inactiva por iones de calcio; AQP3 se inactiva a pH bajo y AQP6, localizada en las vesículas citosólicas de las células intercaladas de los túbulos colectores, se activa a pH bajo<sup>69</sup>. En células eucariotas, además del pH, muchas AQP son reguladas por fosforilación, osmolaridad o unión con otras moléculas<sup>20</sup>.

La selectividad al paso del agua es muy alta en las AQP<sup>43</sup>; la estructura del poro acuoso impide que el agua protonada ( $H_3O^+$ ) sea capaz de atravesar la barrera formada por el residuo Arg–195, el cual está conservado en todos los miembros de la familia y ocupa una posición preponderante en el poro<sup>17</sup>. Existe una segunda barrera al paso de protones, formada por un fuerte dipolo en el centro del poro, formado por dos segmentos que contienen la secuencia NPA, la cual reorienta las moléculas de agua al pasar, evitando las interacciones entre una molécula y la siguiente<sup>52,68</sup>, lo cual elimina la posibilidad del transporte de protones simultáneamente.



**Figura 3.** Estructura molecular del monómero de AQP1. Nótese que existen dos grandes dominios, imágenes especulares uno de otro, con seis alfa–hélices que atraviesan la membrana, unidos por cinco lazos (A,B,C,D,E). Los lazos B y E portan triplete asparagina–prolina–alanina (NPA), característicos de todas las AQP. Las flechas indican el sentido del pasaje de agua por el poro acuoso, hacia los líquidos extra e intracelular (LEC, LIC). Modificado de Echevarría & Zardoya, 2006<sup>20</sup>.

te. La presencia de un residuo alternativo a His-180, como Gly, está asociada con un mayor diámetro del poro, como sucede en las acuagliceroporinas<sup>27</sup>, lo cual permite el paso de glicerol y otros solutos.

### Las acuagliceroporinas

De las once AQP conocidas, cuatro de ellas (AQP3, AQP7, AQP9 y AQP10) forman la sub-familia de las acuagliceroporinas, que son permeables también a glicerol, urea y otros solutos de tamaño reducido. La selectividad de las acuagliceroporinas no depende sólo del diámetro del poro. En algunas, como AQP3, la permeabilidad al glicerol es mucho mayor que a la de urea, cuya molécula es de menor tamaño. En AQP10, los aminoácidos dotados de carga eléctrica de los dos segmentos alfa-hélice que conforman el paso del canal, se orientan con sus polos positivos hacia el centro del poro. Esto genera un importante campo electrostático positivo que repele protones y otros cationes, mientras que admite el paso de solutos neutros<sup>20</sup>.

La acuagliceroporina AQP3 se expresa en riñón, piel y ojo, AQP7 en el tejido adiposo (donde transporta el glicerol generado tras la degradación metabólica de los triglicéridos) y AQP9 se expresa en los hepatocitos (incorpora glicerol al hígado, donde se convierte en glucosa). La expresión hepática de AQP9 aumenta marcadamente por el ayuno y en la diabetes mellitus no controlada<sup>69</sup>.

Recientemente se ha establecido una vinculación entre las acuagliceroporinas y el control del peso corporal y la adiposidad. En 2005 se comprobó que al eliminar la acuagliceroporina específica del tejido adiposo (AQP7), el glicerol no puede salir de la célula grasa y se va acumulando en el interior, produciendo hipertrofia del adipocito y contribuyendo al desarrollo de obesidad<sup>26</sup>. En Medicina Veterinaria la obesidad es un problema de complicada resolución, especialmente en felinos sedentarios (Figura 4). La AQP7 participaría también en el mecanismo de insulino-sensibilidad<sup>26</sup>.

Estudiando la expresión molecular y funcional de AQP3, AQP7 y AQP9 en membranas basales y apicales del sincitiotrofoblasto humano, se sugirió que estas acuagliceroporinas permitirían un rápido pasaje de glicerol y urea. AQP9 también posibilitaría el pasaje de carbamidas, polioles, purinas y pirimidinas. En la pre-eclampsia se produciría una desregulación de AQP9<sup>15</sup>.



**Figura 4.** Obesidad del gato.

En *Escherichia coli*, las AQP denominadas AqpZ transportan exclusivamente agua, pero las llamadas GlpF también operan trasladando glicerol<sup>69</sup>. La acuagliceroporina GlpF de *E. coli* también conduce

polialcoholes lineales (alditoles) de forma estereo- y enantio-selectiva<sup>20</sup>.

### Acuaporinas en insectos

Se han descubierto AQP en el mosquito transmisor del paludismo (*Anopheles* sp.), afirmándose que si se consiguiera controlar la AQP también se podría controlar al mosquito<sup>4</sup>. Un canal de AQP regula el pasaje de agua en los túbulos de Malpighi de las células traqueolares del mosquito *Aedes aegypti* (vector del dengue y fiebre amarilla), mecanismo similar al hallado en *Haematobia irritans* (mosca de los cuernos). Dicha AQP probablemente esté involucrada en el movimiento de agua del sistema respiratorio de los insectos<sup>59</sup>.

### Acuaporinas en vegetales

Durante los últimos años se han caracterizado AQP en más de 30 especies vegetales, incluyendo mono y dicotiledóneas. Como en los animales, presentan una estructura tetramérica y cada monómero posee un poro funcional individual; algunas son inhibibles por mercuriales. Su gran abundancia en plantas, comparada con las de los animales, sugiere varias posibilidades. Una de ellas es que las AQP en plantas se puedan encontrar distribuidas en membranas de los diferentes compartimentos celulares (mitocondria, cloroplasto, peroxisoma, retículo endoplásmico, Golgi y diferentes tipos de vacuolas y vesículas). La presencia de AQP en los diferentes compartimentos pudiera ser el mecanismo que las células utilizan para regular los cambios en el potencial osmótico que sufren durante los diferentes tipos de estrés a los que las plantas se ven continuamente sometidas. Una segunda posibilidad sería que la expresión de algunas AQP puede depender, ya sea del estado de desarrollo de la planta, o de las condiciones ambientales a las que está expuesta<sup>75</sup>.

Las AQP también median el transporte de solutos pequeños como glicerol, urea, amoníaco y manitol. Una acuagliceroporina que transporta agua y glicerol, se encuentra expresada en la membrana peri-bacteroidal de los nódulos simbióticos de la raíz de plantas leguminosas como *Arabidopsis thaliana*. Cuando las plantas detectan cambios en la disponibilidad de agua en el medio que las rodea, sufren una alteración en el potencial osmótico; para balancear este cambio, las células vegetales regulan la expresión de sus AQP. Se ha demostrado que estímulos ambientales como sequía y salinidad, así como incrementos en la síntesis del regulador del crecimiento vegetal, el ácido abscísico (relacionado con la percepción del estrés osmótico), traen como consecuencia cambios en la regulación de los niveles de expresión de AQP<sup>12,75</sup>.

Durante el estrés osmótico se han reportado aumentos de la expresión de AQP en diferentes tejidos y especies vegetales, como plántulas y partes aéreas de *A. thaliana*, tallos de tomate, anteras e inflorescencia del coliflor, raíces y partes aéreas del arroz y raíces

de girasol. En contraste, se ha observado que el estrés osmótico causa una disminución de la expresión de AQP en hojas, raíces y tallos de *Nicotiana glauca* y hojas de *Mesembryanthemum crystallinum*. Trabajos recientes apoyan el papel de algunas AQP en la tolerancia al estrés hídrico. Se ha observado que la represión de la expresión de AQP resulta en cambios en la conductividad hidráulica de las raíces, velocidad de transpiración, permeabilidad osmótica y capacidad de las plantas para recuperarse en suelos deficientes en agua <sup>75</sup>.

En la halófito *M. crystallinum* se ha observado que existe una regulación diferencial en los niveles de expresión de las diferentes AQP por estrés salino y por estrés osmótico. Durante el estrés salino se reduce la expresión de AQP en hojas, mientras que se incrementa en la raíz. El estrés osmótico causa un aumento de AQP en hojas y raíces, que contrasta con la disminución causada por el estrés salino. Estos hallazgos sugieren que la planta es capaz de discriminar exactamente entre el estrés iónico y el estrés osmótico, posiblemente a través de diferentes mecanismos de transducción de señales involucrados en la adaptación a estos tipos de estrés <sup>12, 75</sup>.

La secuencia completa del genoma de *A. thaliana* ha permitido la identificación de 600 proteínas transportadoras; 40 de ellas fueron clasificadas como AQP. El conocimiento profundo del mecanismo de las AQP en el área agronómica, contribuirá a la generación de plantas transgénicas que resistan el estrés hídrico, hecho de gran trascendencia económica a nivel mundial <sup>12</sup>.

### Tipos de acuaporinas en mamíferos

Hasta el momento se han descrito once tipos de AQP (0 al 10), las cuales comparten similitudes estructurales y se relacionan con una diversidad de enfermedades en diversos sistemas (Tabla 1).

### Acuaporinas, funciones y patologías asociadas

**AQP0.** Se expresa en las células fibrilares del cristalino, en las cuales cumple un papel primariamente estructural, aunque su función aún está lejos de ser comprendida completamente; no es inhibible por mercuriales y su permeabilidad al agua es baja en proporción con las demás <sup>51</sup>. Su función más importante sería operar como proteína de adhesión entre las células del cristalino, lo cual se evidencia por la disrupción de los contactos intercelulares en individuos con mutaciones congénitas en el gen de AQP0, con la consecuente desorganización del tejido, generando la aparición de cataratas de diferente gravedad <sup>25</sup>.

Su actividad como canal de agua es activada por disminución del pH e inactivada por aumentos del calcio intracelular y da lugar a flujos de agua cuando el gradiente osmótico lo permite, lo cual puede asumir un rol importante en la regulación de la morfología del cristalino. Seres humanos con mutaciones en AQP0 (Q134G y T138R) sufren cataratas congénitas; ambas mutaciones interrumpen el tráfico de las proteínas na-

cientes desde el retículo endoplásmico hacia la membrana <sup>69</sup>.

La aparición de cataratas es un hecho frecuente en la clínica de pequeños animales (Figura 5). Las formas congénitas pueden deberse a un factor hereditario racial (¿fallas de AQP0?), por lo cual la opacidad del cristalino se verifica con mayor asiduidad en caninos jóvenes de razas como Afgano, Ovejero Alemán, Schnauzer, Labrador, Cocker, Caniche, Fox Terrier y otros. En cambio, en animales seniles, aparecen como manifestación de las alteraciones anatómicas y fisiológicas propias de la vejez, especialmente en gatos <sup>37</sup>. Otro autor refiere que las cataratas congénitas son frecuentes en perros Beagle, Carlino, Pirineo, Buhund Noruego y Pointer <sup>32</sup>.

**AQP1.** Fue la primera en ser descrita; es la más abundante en las membranas animales y posiblemente la de expresión menos selectiva <sup>4</sup>. Fue descubierta inicialmente en eritrocitos, pero su presencia se ha demostrado en la mayor parte de los epitelios, especialmente a nivel renal, en túbulo contorneado proximal (TCP) y segmento descendente delgado del asa de Henle (ASA), así como en todos los tipos de endotelio, en los colangiocitos y en los epitelios de cristalino y córnea <sup>55</sup>.

Es la responsable de la alta permeabilidad al agua del TCP y ASA, en los cuales es una de las proteínas más abundantes tanto en membrana apical como basolateral <sup>57</sup>. AQP1 es crítica para la reabsorción renal de agua, pues el TCP es responsable de la resorción de las dos terceras partes de toda el agua filtrada; su expresión defectuosa o su ausencia causa que el riñón sea incapaz de concentrar la orina en forma eficiente <sup>41</sup>. AQP1 participa en el mecanismo de contracorriente renal y los pacientes que no la expresan no pueden concentrar la orina hasta 450 mOsm/l tras depleción hídrica de 24 h o administración de ADH <sup>69</sup>.

Además, AQP1 ha sido involucrada en la regulación del flujo de líquido en casi todos los compartimientos del organismo, revelando un rol preponderante en el intercambio de fluido capilar y la producción de líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, endolinfa y bilis <sup>69</sup>. Sus



**Figura 5.** Las cataratas congénitas del perro pueden estar asociadas a fallas de AQP0.

**Tabla 1.** Localización anatómica, funciones y patologías asociadas a acuaporinas.

| tipo  | localización           | función                                | patología asociada       |
|-------|------------------------|--|--------------------------|
| AQP0  | cristalino             | regula fluidos oculares                | cataratas congénitas     |
| AQP1  | TCP y ASA renales      | resorción agua no-ADH                  | ¿poliuria, hipostenuria? |
|       | epitelio ciliar ocular | producción humor acuoso                | glaucoma                 |
|       | plexos coroides SNC    | producción de LCR                      | ¿edema encefálico?       |
|       | epitelio alveolar      | hidratación de alvéolos                | ¿edema pulmonar?         |
|       | endotelio capilar      | intercambio con tejidos                | ?                        |
|       | piel, células óticas   | ?                                      | ?                        |
|       | fibras musculares      | ?                                      | ?                        |
|       | eritrocitos            | control presión osmótica               | ?                        |
| AQP2  | placenta, útero        | ¿función reproductiva?                 | ¿eclampsia?              |
|       | uréter, vejiga         | ?                                      | ?                        |
|       | tráquea, bronquios     | ?                                      | ?                        |
|       | células ppales. COL    | resorción agua por ADH                 | diabetes insípida renal  |
| AQP3  | uréter, vejiga         | ?                                      | ?                        |
|       | TCP, ppales. COL       | resorción agua ¿por ADH?               | ¿poliuria, hipostenuria? |
|       | ojo, piel, bronquios   | ¿humectación?                          | ?                        |
|       | hígado, páncreas       | ?                                      | ?                        |
| AQP4  | útero, placenta        | ?                                      | ?                        |
|       | cél.ependimales, glía  | ?                                      | edema encefálico         |
|       | riñón, tubo COL        | resorción agua no-ADH                  | ¿poliuria, hipostenuria? |
|       | músculo,méd.espinal    | ?                                      | ?                        |
| AQP5  | hipotálamo             | función osmosensorial                  | ?                        |
|       | células de la córnea   | humectación                            | xeroftalmia              |
|       | glándula salival       | producción de saliva                   | ?                        |
|       | glándula lacrimal      | producción fluido lacrimal             | ?                        |
| AQP6  | neumocitos tipo I      | ?                                      | asma, bronquitis         |
|       | células ppales. COL    | ¿regula H <sub>2</sub> O intracelular? | ?                        |
| AQP7  | cél. intercalada COL   | ¿regulación de H <sub>2</sub> O y pH?  | ?                        |
|       | riñón, cél. del TCP    | resorción de agua no-ADH               | ?                        |
|       | tejido adiposo         | control metabólico                     | ¿obesidad?               |
| AQP8  | testículo, placenta.   | ?                                      | ?                        |
|       | testículo,espermatoz.  | ?                                      | ?                        |
|       | hígado, hepatocito     | producción de bilis                    | ?                        |
|       | páncreas, placenta     | ?                                      | ?                        |
| AQP9  | intestino, bronquios   | ?                                      | ?                        |
|       | leucocitos, bazo       | ?                                      | ?                        |
|       | hígado,colon,cerebro   | ?                                      | ?                        |
| AQP10 | óvulo, placenta        | ?                                      | ?                        |
|       | duodeno, yeyuno        | ¿control metabólico?                   | ?                        |

AQP: acuaporina, TCP: tubo contorneado proximal, ASA: asa de Henle (delgada), ADH: hormona anti-diurética, SNC: sistema nervioso central, LCR: líquido cefalorraquídeo, COL: tubo colector renal. Elaborada en base a datos de Capurro 2003<sup>10</sup>, Sánchez 2003<sup>63</sup>, Tamargo 2004<sup>69</sup>, Castagnino 2004<sup>12</sup>, Echevarría & Zardoya 2006<sup>20</sup>.

fallas se relacionan con aparición de glaucoma y edemas periférico, cerebral y pulmonar<sup>41</sup> (Figura 6).

En el pulmón, AQP1 aumenta al nacer y también por administración de corticosteroides; ello sugiere que interviene en el aclaramiento del agua pulmonar requerida por el recién nacido para iniciar la respiración. La disfunción de las cuatro acuaporinas que se expresan en el tracto respiratorio (AQP1, AQP3, AQP4 y AQP5) podría guardar relación con edemas pulmona-

res, asma u otras patologías asociadas a la homeostasis del agua pulmonar<sup>20</sup>.

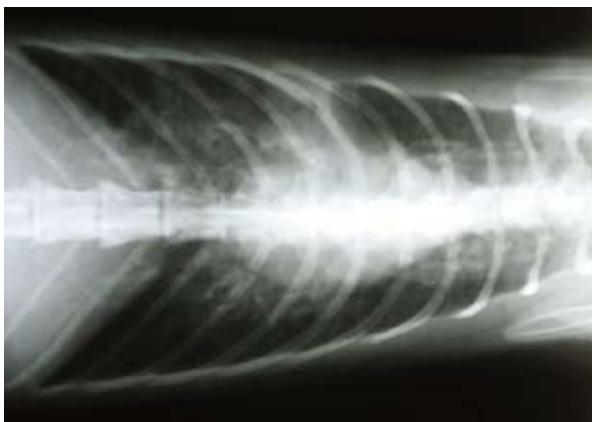
**AQP 2.** Se expresa exclusivamente en las membranas apicales de los túbulos distales y colectores renales<sup>57</sup> y es la responsable de la permeabilidad apical al agua de este segmento de la nefrona<sup>28</sup>; es inhibible por mercuriales y su actividad depende de la hormona anti-diurética (ADH). AQP2 está presente en vesículas intracelulares<sup>29</sup>, las cuales son inducidas a la fusión con la

membrana externa por la ADH <sup>56</sup>. Cuando la hormona no está presente los segmentos de membrana con AQP2 son reinternalizados, al parecer a través de un mecanismo similar a la reinternalización de receptores <sup>56</sup>.

En el tubo colector del riñón (Figura 7), ADH aumenta la permeabilidad al agua estimulando la redistribución de AQP2 desde las vesículas citoplasmáticas hacia la membrana apical de las células principales. AQP3 y AQP4, presentes en la membrana basolateral de las células principales, también facilitan la resorción de agua desde el tubo colector hacia la sangre, pero no están mediadas por ADH. AQP6 está presente en vesículas intracelulares de las *células intercaladas secretoras de ácido* <sup>42</sup>.

La ADH se libera desde el hipotálamo en respuesta a estímulos como la hipovolemia o la hiperosmolaridad; al regular la permeabilidad al agua en la nefrona distal, determina el grado de concentración o dilución de la orina <sup>18,33</sup>. Diversas mutaciones congénitas en el gen que codifica AQP2 inducen una alteración en las propiedades fundamentales de la proteína, causando un tipo de diabetes insípida nefrogénica <sup>19</sup>, condición caracterizada por poliuria e incapacidad para concentrar la orina, pérdida incrementada de líquidos y deshidratación, las cuales originan polidipsia compensatoria <sup>14</sup>.

La diabetes insípida nefrogénica fue experimentalmente generada en ratones anulando la cola del COOH terminal de AQP2. Los animales heterocigotas resultaron normales pero los homocigotas mostraron poliuria, hipostenuria y polidipsia <sup>65</sup>. En alguna de sus variedades, la diabetes insípida se registra en el 2% de los caninos con síndrome poliuria–polidipsia <sup>31</sup>. La diabetes insípida nefrogénica hereditaria o congénita ha sido reportada en las razas Ovejero Alemán, Schnauzer, Boston Terrier, Caniche Enano, Lhasa Apso y Shih Tzu <sup>32</sup>. También está citada en Husky Siberiano y en gatos Persa, Abisinio y otras razas de pelo corto. Recientemente se ha desarrollado una técnica de radioinmunoensayo para medir las AQP2 dependientes de ADH en la orina del perro. En perros poliúricos el test es útil para dis-

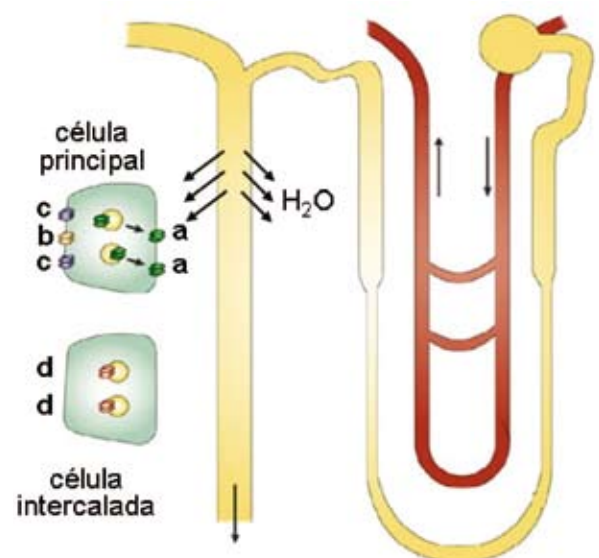


**Figura 6.** Radiografía torácica (proyección ventrodorsal) de un felino, donde se aprecia edema pulmonar, derrame pleural y vasos pulmonares marcados.

tinguir entre diabetes insípida central, diabetes insípida nefrogénica y polidipsia primaria <sup>72</sup>.

También se ha comprobado una disminución de AQP2 en pacientes que sufren incontinencia urinaria <sup>12</sup> o enuresis nocturna <sup>69</sup>. El aumento en la expresión de AQP2 se relaciona con un incremento en la retención de líquido, como ocurre en la cirrosis hepática, la insuficiencia cardíaca congestiva y la gestación <sup>20</sup>, así como en la eclampsia <sup>69</sup>. A diferencia de padecimientos como la insuficiencia cardíaca y la cirrosis hepática, en los que se demostró incremento en la expresión renal de AQP, diversos estudios demostraron disminución en dicha expresión renal tras la inducción del síndrome nefrótico, lo cual podría explicar el fracaso del mecanismo de concentración urinaria <sup>71</sup>.

**AQP 3.** En riñón es expresada en membranas basolaterales de túbulos distales y colectores (Figura 7) coexistiendo con AQP2 en el mismo tipo de células <sup>38</sup>; la función de ambas acuaporinas está acoplada, pues AQP3 es la responsable de la permeabilidad al agua de la membrana basolateral <sup>4</sup>. También puede ser regulada por ADH, pero no es estrictamente dependiente de su presencia como sucede con AQP2. Esta acuaporina también ha sido encontrada en otros tejidos como epitelios de las vías aéreas, piel y ojo; su función en estas células no ha sido estudiada suficientemente, aunque también allí parece participar en la permeabilidad de membranas basolaterales permitiendo el movimiento de agua que ha ingresado a la célula por otra acuaporina apical, de manera similar a lo acontecido en la nefrona distal. Es permeable también a glicerol, pero el papel fisiológico de esta función no es claro <sup>38</sup>. Es regulada por fosforilación e inactivada por la disminución del pH <sup>82</sup>.

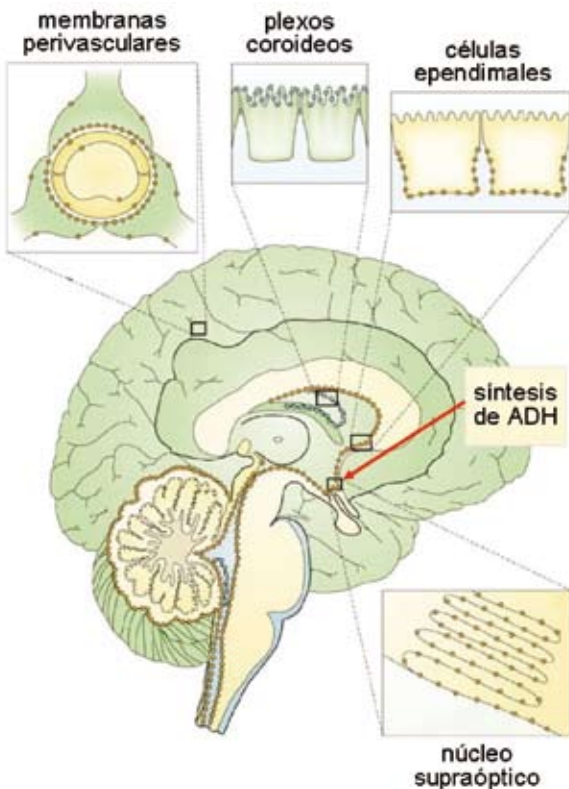


**Figura 7.** Nefrona, indicando las acuaporinas presentes en las células principales e intercaladas del tubo colector renal: AQP2 (a), AQP3 (b), AQP4 (c), AQP6 (d). Modificado de King 2004 <sup>42</sup> (www.nature.com).

**AQP4.** Es la acuaporina más abundante en el cerebro, donde fue aislada por primera vez <sup>74</sup>; no es sensible a mercuriales <sup>35</sup> y es activada por fosforilación mediada por diversos sistemas. Se expresa en células astrogliales, incluyendo células endimarias y endoteliales, pero no ha sido identificada en neuronas <sup>74</sup>. Existe en la retina <sup>69</sup>. Es muy abundante en regiones osmosensibles, como el núcleo supraóptico del hipotálamo, donde está presente en la región que rodea las neuronas secretoras de ADH, por lo cual se cree que interviene en la regulación de su producción <sup>39</sup>.

Se co-localiza con un canal de potasio en las células de Müller de la retina; aunque la significación fisiológica de este hallazgo no es conocida, puede facilitar la transferencia de fluidos en respuesta a flujos de potasio durante la regulación del volumen intracelular y el balance de dicho catión <sup>53</sup>. Interviene también en la resorción de líquido cefalorraquídeo <sup>35</sup>, por lo cual está implicada en la generación de edema cerebral y otras condiciones relacionadas <sup>74</sup>. También se encuentra en fibras musculares esqueléticas, sobre todo las de tipo rápido <sup>63</sup>.

Como indica la Figura 8, las AQP del cerebro muestran diferentes modelos de expresión. Mientras AQP1 se expresa en la membrana apical de las células epiteliales de los plexos coroideos, AQP4 se concentra en los pies terminales de los astrocitos, específicamente en aquellos dominios de la membrana que terminan



**Figura 8.** Distribución de acuaporinas 1 y 4 en el encéfalo. Nótese la existencia de AQP4 en el sitio de síntesis de ADH. Modificado de Moghaddam & Ottersten, 2003 <sup>49</sup>.

en los capilares cerebrales o en la piamadre, en la membrana basal de las células endimarias, en las lamelas gliales del núcleo supraóptico y en otras regiones osmosensibles (neuronas osmorreceptoras que dan origen a ADH) <sup>49</sup>.

Adicionalmente, AQP4 se ha encontrado en riñón (Figura 7), sobre todo en la médula, pero sólo en membranas basolaterales de las células principales del túbulo colector, donde se co-localiza con AQP3; no es sensible a ADH ni a ninguna otra hormona <sup>4</sup>. Probablemente intervenga en el flujo basolateral de agua sólo bajo condiciones de máxima estimulación por ADH <sup>20</sup>.

AQP4 aberrantes se asocian al desarrollo de patologías relacionadas con desequilibrios en la homeostasis iónica. Una disfunción de AQP4 podría provocar cambios en la concentración de iones potasio que lleven a un aumento de la excitabilidad neuromuscular. La relación entre AQP4 y edema cerebral se descubrió mediante experimentos llevados a cabo con ratones transgénicos en los que la expresión de dicha acuaporina se había silenciado. Se ha observado también que el edema que se produce tras un período isquémico puede reducirse de forma notable mediante la eliminación de la AQP4 perivascular <sup>20</sup>.

Dado que el tejido cerebral se encuentra rodeado por un cráneo rígido, la recuperación y supervivencia de los pacientes que han sufrido traumatismo craneoencefálico dependerá de la rápida reducción/prevención del edema cerebral. En animales se ha demostrado que la manipulación de la expresión de AQP4 podría tener interés terapéutico en estas circunstancias <sup>69</sup>.

**AQP 5.** Está localizada en la membrana apical de células epiteliales en múltiples glándulas, tales como submucosas respiratorias, lacrimales, salivares y sudoríparas <sup>54</sup>; su rol fisiológico consiste en regular el flujo de agua hacia la luz glandular. En los neumocitos tipo I su disfunción está relacionada con múltiples enfermedades respiratorias como el asma y la bronquitis crónica; recientemente se demostró que AQP5 está involucrada en la resorción del fluido luminal del epitelio uterino de la rata, fenómeno ligado a la implantación del blastocisto. También es expresada en el epitelio corneal, donde contribuye a su hidratación y transparencia <sup>34</sup>; se han encontrado defectos asociados con esta AQP en pacientes con síndrome de Sjögren (xerofthalmia y xerostomía), aunque la asociación con esta enfermedad aún no es clara <sup>63</sup>.

En las células que expresan más de una proteína transportadora de agua, las AQP se localizan en distintas zonas de la membrana; en las glándulas salivares AQP3 está presente en las membranas basolaterales, donde facilita el paso del agua desde el intersticio, mientras que AQP5 se localiza en las membranas apicales, donde el agua se libera durante la salivación <sup>69</sup>.

**AQP6.** Se expresa principalmente en el tubo colector renal (Figura 7) aunque ha sido hallada en otros tejidos, principalmente epiteliales. Su expresión en el



riñón está limitada a las células intercaladas, en las cuales se encuentra en vesículas intracelulares, co-localizada con  $H^+$ -ATPasa<sup>4</sup>. Su permeabilidad al agua es baja, no es inhibible por mercurio e incluso puede ser activada por bajas concentraciones de éste. Es regulable por pH, siendo activada por acidificación e inhibida por alcalinización y ha sido demostrado que participa en la secreción de  $H^+$  por las células intercaladas, importante en el proceso de balance acidobásico renal, posiblemente regulando flujos de agua en respuesta a los flujos de protones y otros iones acompañantes durante el proceso de regulación del pH intracelular. También es permeable a algunos aniones, aunque la significación fisiológica de este hecho no es conocida<sup>80</sup>.

**AQP7.** Fue identificada inicialmente en tejido adiposo, donde es expresada ampliamente, aunque también parece estar presente en muchos otros tejidos como espermatoцитos y túbulo proximal renal. Es permeable a glicerol y parece ser una ruta alterna para la salida del glicerol producido durante la lipólisis<sup>45</sup>.

**AQP8.** Está presente exclusivamente en membranas intracelulares. Se expresa en células epiteliales de túbulos renales proximal y colector, yeyuno, íleon, colon, bronquios y glándulas salivales; además es permeable a la urea y parece estar presente en hepatocitos y testículo<sup>22</sup>.

**AQP9.** Identificada en hepatocitos, células en las cuales parece cumplir su principal papel. Es también permeable a solutos de bajo peso molecular y puede funcionar como una ruta de entrada para glicerol durante la gluconeogénesis. Su función en situaciones de control metabólico extremo podría ser importante para aumentar la fuente de glicerol en el hepatocito, probablemente funcionando en concierto con la AQP7 del tejido adiposo<sup>45</sup>. También es expresada en leucocitos, donde se ha encontrado que es permeable a *arsenita*, un agente usado en quimioterapia para el tratamiento de ciertos tipos de leucemia mielocítica, por lo cual su expresión en células tumorales podría tener cierta significación terapéutica<sup>46</sup>.



**Figura 9.** Estomatocitos: áreas elongadas de palidez central. Enfermedad hereditaria del perro (exceso de agua en los hematíes).

La presencia de AQP9, AQP3 y AQP2, pero no de AQP7, fue descubierta en conductos eferentes, colectores y epidídimo del pavo, ubicadas en la membrana apical de células ciliadas y no ciliadas. Aunque aún se desconocen los mecanismos moleculares que regulan el flujo testicular aviar, se sugiere que las AQP juegan un rol importante en la concentración del semen y en la maduración de espermatozoides<sup>81</sup>.

**AQP10.** Es la más recientemente descubierta, fue hallada en duodeno y yeyuno, pero al parecer se encuentra en muchos otros epitelios<sup>36</sup>. Aún no hay datos acerca de su rol funcional.

### El caso de la estomatocitosis

En nuestros cursos de Patología Clínica<sup>14</sup>, aún nos resulta difícil explicar la etiopatogenia de una anemia hemolítica hereditaria denominada estomatocitosis, frecuente en el perro Alaska Malamut y esporádica en otras razas. Los hematíes (estomatocitos) se presentan de contorno oval, con áreas de palidez citoplasmática preponderantemente centrales, que asumen diversas formas (Figura 9).

Dado que se trata de un exceso de agua en el glóbulo rojo (sobrehidratación, “hidrocitosis”), nos aventuramos a conjeturar que quizás se trate de una sobreexpresión de las AQP encargadas del *input* o una subexpresión de las AQP a cargo del *output* del agua en dicha célula. En seres humanos mucho se ha avanzado en el conocimiento de las enfermedades hereditarias relacionadas a la alteración estructural de la membrana del eritrocito (esferocitosis, eliptocitosis, ovalocitosis), pero aún permanece oscura la comprensión de la alteración de las funciones de transporte, como el caso de la estomatocitosis<sup>5</sup>.

En el hombre el rasgo de estomatocitosis se hereda con carácter autosómico dominante y también produce anemia hemolítica. Los hematíes se presentan hinchados por el exceso de agua, con aumento de la fragilidad osmótica. Los estomatocitos son hematíes cóncavos por una de sus caras y convexos por la otra. Esto produce una zona central hendida, en forma de “boca de pez” o “ranura”, que aparece pálida en el frotis<sup>78</sup>.

En glóbulos rojos normales la permeabilidad al agua osmótica se inhibe por compuestos sulfhidril-mercuriales y AQP1 es el mayor transportador de agua del hematíe, como lo demuestra la reducida permeabilidad al agua en eritrocitos humanos carentes de AQP1 y en ratones transgénicos con el mismo defecto<sup>79</sup>. Recientes estudios sugieren que las AQP también actúan como canales para el pasaje de gases sanguíneos ( $CO_2$  y  $O_2$ ) en la membrana del eritrocito<sup>8</sup>. Se ha demostrado pérdida de  $O_2$  citosólico en eritrocitos con sobreexpresión de AQP1 y expuestos a hipoxia<sup>21</sup>. En pacientes urémicos sometidos a hemodiálisis se verificaron claras relaciones entre los cambios del volumen corpuscular medio (VCM) del hematíe, la osmolalidad del plasma y la expresión de AQP1 en la membrana eritrocitaria<sup>9</sup>.

En un medio hiposmolal, las células incorporan agua por ósmosis y aumentan su VCM; ello desencadena activación de proteínas de membrana que producen salida de solutos, los cuales generan, nuevamente por ósmosis, salida de agua y reducción del VCM, mecanismo que depende de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Recientemente se ha demostrado que sólo en presencia de AQP2, las células renales muestran un incremento en la concentración intracelular de calcio durante la ósmosis<sup>30</sup>.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El horizonte de comprensión acerca del rol de la membrana celular en el pasaje de agua ha cambiado drásticamente con relación a las ideas que imperaban hace una década<sup>13</sup>. La Fisiología ha recibido un impulso trascendental al descubrirse las AQP y entenderse su rol en el control del volumen celular y la osmolalidad<sup>4</sup>, así como el pasaje de glicerol y otros solutos a través de las membranas, datos promisorios para el entendimiento de disturbios metabólicos como la obesidad y la resistencia a la insulina<sup>26</sup>.

Desde el punto de vista de la Medicina Veterinaria, han comenzado a comprenderse adecuadamente los mecanismos fisiopatológicos que podrían estar involucrados en la aparición de afecciones hereditarias, congénitas y adquiridas, tales como cataratas, xerofthalmia, diabetes insípida nefrogénica, cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca congestiva, edemas, trastornos del equilibrio acidobase, hiperexcitabilidad neuromuscular, eclampsia y otras anomalías reproductivas, cuyo origen molecular era desconocido antes de la era de las AQP<sup>12, 15, 20, 25, 63, 65, 69</sup>. También es dable esperar que las técnicas de diagnóstico se adecuen a los nuevos conocimientos y logren resultados más certeros y específicos, tal como lo demuestra la aparición de un test radioinmunológico para detectar diabetes insípida nefrogénica en perros<sup>72</sup>. Sin duda, la incesante investigación científica sobre el tema producirá el advenimiento de nuevos y más eficaces tratamientos<sup>46, 76</sup>, incluyendo la terapia génica<sup>4, 6</sup>.

Dentro de los factores ambientales que limitan la productividad agrícola, el estrés salino y la sequía son cuantitativamente los más importantes a nivel mundial. Una de las alternativas viables para paliar este problema es la obtención de plantas transgénicas más tolerantes a salinidad, mediante el uso de técnicas de mejoramiento genético molecular, como la sobre-expresión de ciertas AQP. La manipulación génica de las proteínas mediadoras del pasaje de agua en los vegetales también podría ser útil en la aclimatación al frío, al incrementar la conductancia hidráulica radicular. Frente al calentamiento global y la desertificación de grandes áreas del planeta, es posible que el mejoramiento genético de las plantas ayude a solucionar los problemas de alimentación de la humanidad. Quizás en el futuro se logre manipular genéticamente a los hongos, bacterias y otros microorganismos patógenos, incluyendo sus vectores artrópodo-

dos, con el consecuente beneficio de la salud humana y animal<sup>4, 12, 75</sup>.

Aún queda mucho por investigar y descubrir sobre las implicancias de las proteínas mediadoras del pasaje de agua<sup>63</sup>, tema que se insinúa como uno de los polos de desarrollo de la fisiología y la fisiopatología celular en los próximos años, pues es muy probable que las AQP sean protagonistas de primera línea en el enfoque molecular de la medicina del futuro.

## REFERENCIAS

1. **Agre P, Saboori AM, Asimos A, Smith BL.** 1987. Purification and partial characterization of the Mr 30000 integral membrane protein associated with the erythrocyte Rh (D) antigen. *J Biol Chem* 262: 17497–17503.
2. **Agre P, Preston GM, Smith BL.** 1993. Aquaporin CHIP: the archetypal molecular water channel. *Am J Physiol* 265: F463–F476.
3. **Agre P.** 1997. Molecular physiology of water transport: aquaporin nomenclature workshop. Mammalian aquaporins. *Biol Cell* 89: 255–257.
4. **Agre P, King LS, Yasui M.** 2002. Aquaporin water channels—from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol* 542: 3–16.
5. **An X, Mohandas N.** 2008. Disorders of red cell membrane. *Br J Haematol* 141: 367–375.
6. **Berry V, Francis P, Kaushal S, Moore A, Bhattacharya S.** 2000. Missense mutations in MIP underlie autosomal dominant ‘polymorphic’ and lamellar cataracts linked to 12q. *Nature Genetics* 25: 15–17.
7. **Borgnia M, Nielsen S, Engel A, Agre P.** 1999. Cellular and molecular biology of the aquaporin water channels. *Ann Rev Biochem* 68: 425–458.
8. **Bruce LJ.** 2008. Red cell membrane transport abnormalities. *Curr Opin Hematol* 15: 184–190.
9. **Buemi M.** 2002. AQP1 in red blood cells of uremic patients during hemodialytic treatment. *Nephron* 92: 846–852.
10. **Capurro C.** 2003. *Acuaporinas*. [http://www.laseroptics.com.ar/Notas\\_tecnicas/Nota%20acuaporinas.htm](http://www.laseroptics.com.ar/Notas_tecnicas/Nota%20acuaporinas.htm).
11. **Cass A, Finkelstein A.** 1967. Water permeability of thin lipid membranes. *J Gen Physiol* 50: 1765–1784.
12. **Castagnino JM.** 2004. Premio Nobel de Química 2003: las acuaporinas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 38: 443–445.
13. **Coppo JA.** 2008. *Fisiología comparada del medio interno*, 2° ed., EUCASA, Salta, Argentina, 309 p.
14. **Coppo JA.** 2008. *Patología Clínica*. Curso de Posgrado, Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE (Corrientes, Argentina). Archivos en CD.
15. **Damiano AE.** 2004. Estudio funcional y molecular de las acuagliceroporinas en placentas normales y patológicas. *Tesis Doctoral*, Univ. de Buenos Aires, 107 p.
16. **De Groot BL, Engel A, Gubmuller H.** 2001. A refined structure of human aquaporin-1. *FEBS Letters* 504: 206–211.
17. **De Groot BL, Grubmuller H.** 2001. Water permeation across biological membranes: mechanism and dynamic of aquaporin-1 and GlpF. *Science* 294: 2353–2357.

18. **Deen PM, Verdijk MA, Knoers NV.** 1994. Requirements of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine. *Science* 264: 92–95.
19. **Deen PM, Knoers NV.** 1998. Vasopressin type-2 receptor and aquaporin-2 water channel mutants in nephrogenic diabetes insipidus. *Am J Med Sci* 316: 300–309.
20. **Echevarría M, Zardoya R.** 2006. Aquaporinas: los canales de agua celulares. *Investig & Ciencia* 363: 60–67.
21. **Echevarría M.** 2007. Development of cytosolic hypoxia and hypoxia-inducible factor stabilization are facilitated by aquaporin-1 expression. *J Biol Chem* 282: 30207–30215.
22. **Elkjaer ML, Nejsum LN, Gresz V.** 2001. Immunolocalization of aquaporin-8 in rat kidney, gastrointestinal tract, testis, and airways. *Am J Physiol* 281: 1047–1057.
23. **Finkelstein A, Cass A.** 1967. Effect of cholesterol on the water permeability of thin membranes. *Nature* 216: 717–718.
24. **Finkelstein A.** 1987. *Water movement through lipid bilayers pores and plasma membranes*, Wiley Editors, New York, p. 166–184.
25. **Francis P, Chung JJ, Yasui M.** 2000. Functional impairment of lens aquaporin in two families with dominantly inherited cataracts. *Hum Mol Genet* 9: 2329–2334.
26. **Frühbeck G.** 2005. Obesity: aquaporin enters the picture. *Nature* 438: 436–437.
27. **Fu D, Libson A, Miercke LJ.** 2000. Structure of a glycerol-conducting channel and the basis for its selectivity. *Science* 290: 481–486.
28. **Fushimi K, Uchida S, Hara Y, Hirata Y, Marumo F, Sasaki F.** 1993. Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. *Nature* 361: 549–552.
29. **Fushimi N, Sasaki S, Marumo F.** 1997. Phosphorylation of serine 256 is required for cAMP-dependent regulatory exocytosis of the aquaporin-2 water channel. *J Biol Chem* 272: 14800–14804.
30. **Galizia L, Flamenco MP, Rivarola V, Capurro C, Ford P.** 2008. Role of AQP2 in activation of calcium entry by hypotonicity: implications in cell volume regulation. *Am J Physiol* 294: 582–590.
31. **Goldman AA.** 2008. <http://perros.mascotia.com/enfermedades/trastornos-hormo-nales/diabetes-insipida.html>. *Diabetes insípida*.
32. **Gutiérrez J.** 2008. <http://www.adiestradorcanino.com/content/page.php?32.1>. *Afecciones hereditarias del perro*.
33. **Guyton AC.** 1996. *Textbook of medical physiology*, 8° ed., Saunders, Philadelphia, 1063 p.
34. **Hamann S, Zeuthen T, La Cour M.** 1998. Aquaporins in complex tissues: distribution of aquaporins 1–5 in human and rat eye. *Am J Physiol* 274: C1332–C1345.
35. **Hasegawa H, Ma T, Skach W, Matthay MA, Verkman AS.** 1994. Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. *J Biol Chem* 269: 5497–5500.
36. **Hatakeyama S, Yoshida Y, Tani T.** 2001. Cloning of a new aquaporin (AQP10) abundantly expressed in duodenum and jejunum. *Biochem Biophys Res Commun* 287: 814–819.
37. **Hines R.** 2006. On line: <http://www.2ndchance.info/cataract.htm>. *Cataracts in dogs and cats*.
38. **Ishibashi K, Sasaki S, Fushimushi K.** 1994. Molecular cloning and expression of a member of the aquaporin family with permeability to glycerol and urea in addition to water expressed at the basolateral membrane of kidney collecting duct cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 91: 6269–6273.
39. **Jung JS, Bhat RV, Preston GM, Guggino WB, Baraban JM, Agre P.** 1994. Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. *Proc Nat Acad Sci USA* 91: 13052–13056.
40. **Jung JS, Preston GM, Smith BL, Guggino WB, Agre P.** 1994. Molecular structure of the water channel through aquaporin CHIP: the hourglass model. *J Biol Chem* 269: 14648–14654.
41. **King LS, Nielsen S, Agre P.** 2001. Defective urinary concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *N Engl J Med* 345: 175–179.
42. **King LS, Kozono D, Agre P.** 2004. From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5: 687–698.
43. **Kong Y, Ma J.** 2001. Dynamic mechanisms of the membrane water channel aquaporin-1 (AQP1). *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 14345–14349.
44. **Kozono D, Yasui M, King LS, Agre P.** 2002. Aquaporin water channels: atomic structure and molecular dynamics meet clinical medicine. *J Clin Invest* 109: 1395–1399.
45. **Kuriyama H, Shimomura I, Kishida K.** 2002. Coordinated regulation of fat-specific and liver-specific glycerol channels, aquaporin adipose and aquaporin 9. *Diabetes* 51: 2915–2921.
46. **Liu Z, Shen J, Carbrey JM, Mukhopadhyay R, Agre P, Rosen B.** 2002. Arsenite transport by mammalian aquaporins AQP7 and AQP9. *Proc Nat Acad Sci USA* 99: 6053–6058.
47. **Loike J, Cao L, Kuang K, Vera JC, Silverstein SC, Fischbarg J.** 1993. Role of facilitative glucose transporters in diffusional water permeability through J774 cells. *J Gen Physiol* 102: 897–906.
48. **Macey RI, Farmer RE.** 1970. Inhibition of water and solute permeability in human red cells. *Biochim Biophys Acta* 211: 104–106.
49. **Moghaddam AM, Ottersen OP.** 2003. The molecular basis of water transport in the brain. *Nat Rev Neurosci* 4: 991–1001.
50. **Moon C, Preston GM, Griffin CA, Jabs EW, Agre P.** 1993. The aquaporin-CHIP 28 gene: structure, organization and chromosomal localization. *J Biol Chem* 268: 15772–15778.
51. **Mulders SM, Preston GM, Deen PM, Guggino WB, Van Os CH, Agre P.** 1995. Water channel properties of major intrinsic protein of lens. *J Biol Chem* 270: 9010–9016.
52. **Murata K, Mitsuoka K, Hirai T.** 2000. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature* 407: 599–605.
53. **Naghelus EA, Horio Y, Inanobe A.** 1999. Immunogold evidence suggests that coupling of K<sup>+</sup> siphoning and water transport in rat retinal Muller cells is mediated by a co-

- enrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia* 26: 47–54.
54. **Nejsum LN, Kwon TH, Jensen UB.** 2002. Functional requirement of aquaporin-5 in plasma membranes of sweat glands. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 511–516.
  55. **Nielsen S, Smith BL, Christensen EI, Agre P.** 1993. Distribution of the aquaporin CHIP in secretory and resorptive epithelia and capillary endothelia. *Proc Nat Acad Sci USA* 90: 7275–7279.
  56. **Nielsen S.** 1995. Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD water channels to plasma membrane. *Proc Nat Acad Sci USA* 92: 1013–1017.
  57. **Nielsen S, Froklaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA.** 2002. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev* 82: 205–244.
  58. **Petersen DC.** 1980. Water permeation through the lipid bilayer membrane. Test of the liquid hydrocarbon model. *Biochem Biophys Acta* 600: 666–677.
  59. **Pietrantonio PV, Jagge C, Keeley LL, Ross LS.** 2000. Cloning of an aquaporin-like cDNA and *in situ* hybridization in adults of the mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Insect Mol Biol* 9: 407–418.
  60. **Preston GM, Agre P.** 1991. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kD: member of an ancient channel family. *Proc Nat Acad Sci USA* 88: 11110–11114.
  61. **Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P.** 1992. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* 256: 385–387.
  62. **Reuss L, Hirst BH.** 2002. Water transport controversies an overview. *J Phys* 542: 1–2.
  63. **Sánchez JC.** 2003. Acuaporinas: proteínas mediadoras del transporte de agua. *Colomb Med* 34: 220–227.
  64. **Schreiber R, Greger R, Nitschke R, Kunzelamn K.** 1997. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activates water conductance in *Xenopus* oocytes. *Pluget Arch* 434: 841–847.
  65. **Shi PP.** 2007. Nephrogenic diabetes insipidus in mice caused by deleting COOH terminal tail of aquaporin-2. *Am J Physiol Renal Physiol* 292: 1334–1344.
  66. **Smith BL, Agre P.** 1991. Erythrocyte Mr28000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *J Biol Chem* 266: 6407–6415.
  67. **Solomon AK, Chasan B, Dix JA, Lukacovic MF, Toon MR, Verkman AS.** 1983. The aqueous pore in the red cell membrane: band 3 as a channel for anions, cations, nonelectrolytes and water. *Ann New York Acad Sci* 414: 97–124.
  68. **Tajkhorshid E, Nollert P, Jensen MO.** 2002. Control of the selectivity of the aquaporin water channel family by global orientational tuning. *Science* 296: 525–530.
  69. **Tamargo Menéndez J.** 2004. Los poros y los canales iónicos regulan la actividad celular. *An R Acad Nac Farm (España)* 70: 9–31.
  70. **Träuble H.** 1971. The movement of molecules across lipid membranes: a molecular theory. *J Membr Biol* 4: 193–208.
  71. **Treviño HR, Cruz VJ.** 2006. Papel de las acuaporinas en los defectos de concentración y dilución del síndrome nefrótico. *Med Univer* 8: 99–104.
  72. **Van Vonderen IK.** 2004. The role of vasopressin in dogs with polyuria. *Tijdschr Diergeneesk* 129: 751–755.
  73. **Vanos CH, Deen PM, Dempster JA.** 1994. Aquaporins: water selective channels in biological membranes. *Biochim Biophys Acta* 1197: 291–309.
  74. **Venero JL, Vizuete ML, Machado A, Cano J.** 2001. Aquaporins in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 63: 321–336.
  75. **Vera-Estrella R, Barkla BJ, Pantoja O.** 2005. La biología y la fisiología de las acuaporinas en plantas. On line: <http://www.biojournal.net/pdf/05.pdf>. *Biojournal.net* 1: 2005, 1–15.
  76. **Verkman AS.** 2001 Applications of aquaporin inhibitors. *Drug News Perspect* 14: 412–420.
  77. **Waltz T, Smith BL, Zeidel ML, Engel A, Agre P.** 1994. Biologically active two-dimensional crystals of aquaporin CHIP. *J Biol Chem* 269: 1583–1586.
  78. **Weed RI, Bessis M.** 1973. The discocyte-stomatocyte equilibrium of normal and pathologic red cells. *Blood* 41: 471–474.
  79. **Yang B, Ma T, Verkman AS.** 2001. Erythrocyte water permeability and renal function in double knockout mice lacking aquaporin-1 and aquaporin-3. *J Biol Chem* 276: 624–628.
  80. **Yasui M, Kwon TH, Knepper MA, Nielsen S, Agre P.** 1999. Aquaporin-6: an intracellular vesicle water channel protein in renal epithelia. *Proc Nat Acad Sci USA* 96: 5808–5813.
  81. **Zaniboni L, Akuffo V, Bakst MR.** 2004. Aquaporins are observed in the duct epithelia of the epididymal region of the large white turkey. *Poult Sci* 83: 1917–1920.
  82. **Zeuthen T, Klaerke DA.** 1999. Transport of water and glycerol in aquaporin 3 is gated by H<sup>+</sup>. *J Biol Chem* 274: 21631–21636.