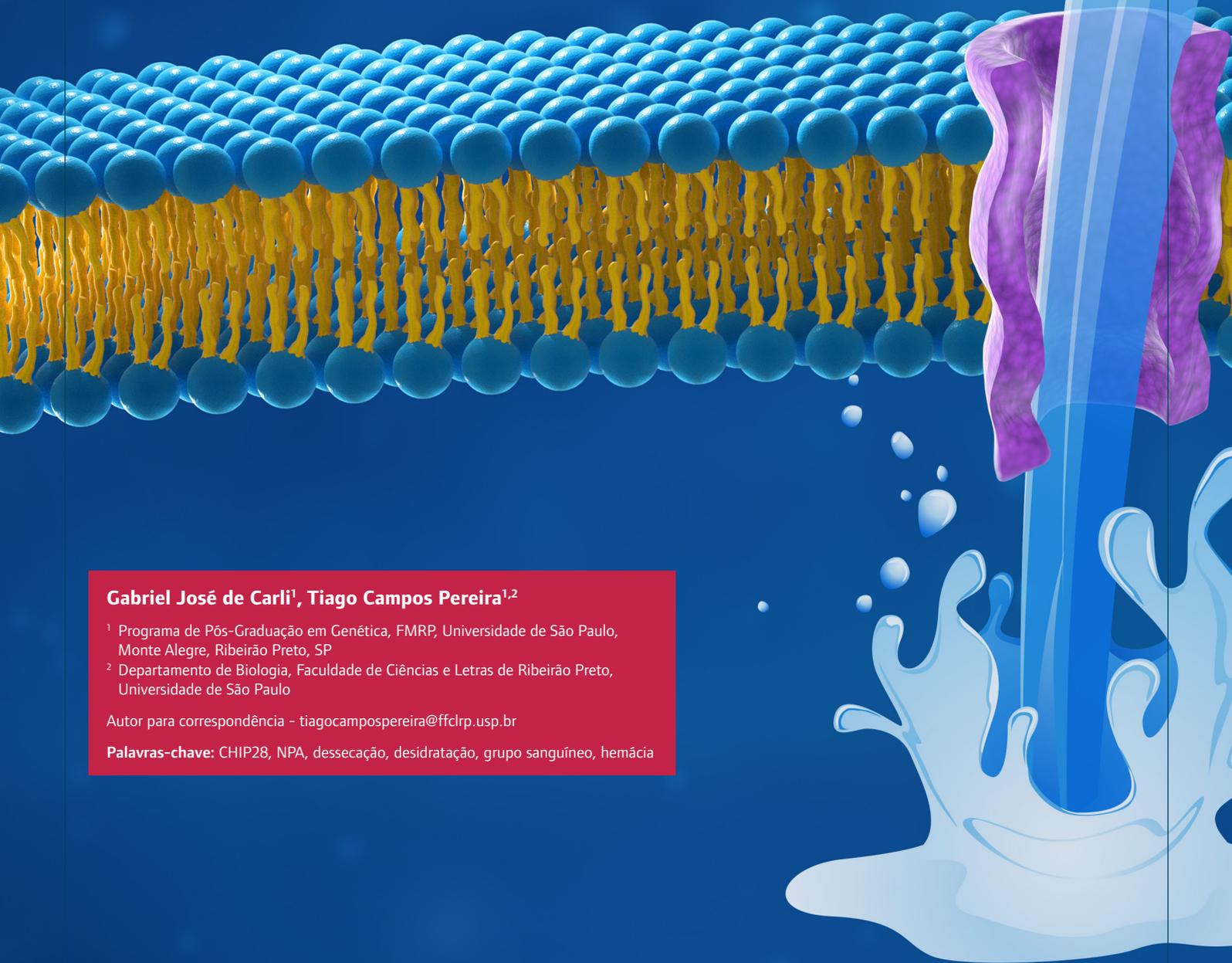


Aquaporina 1: o primeiro gene codificador de um canal de água identificado em humanos



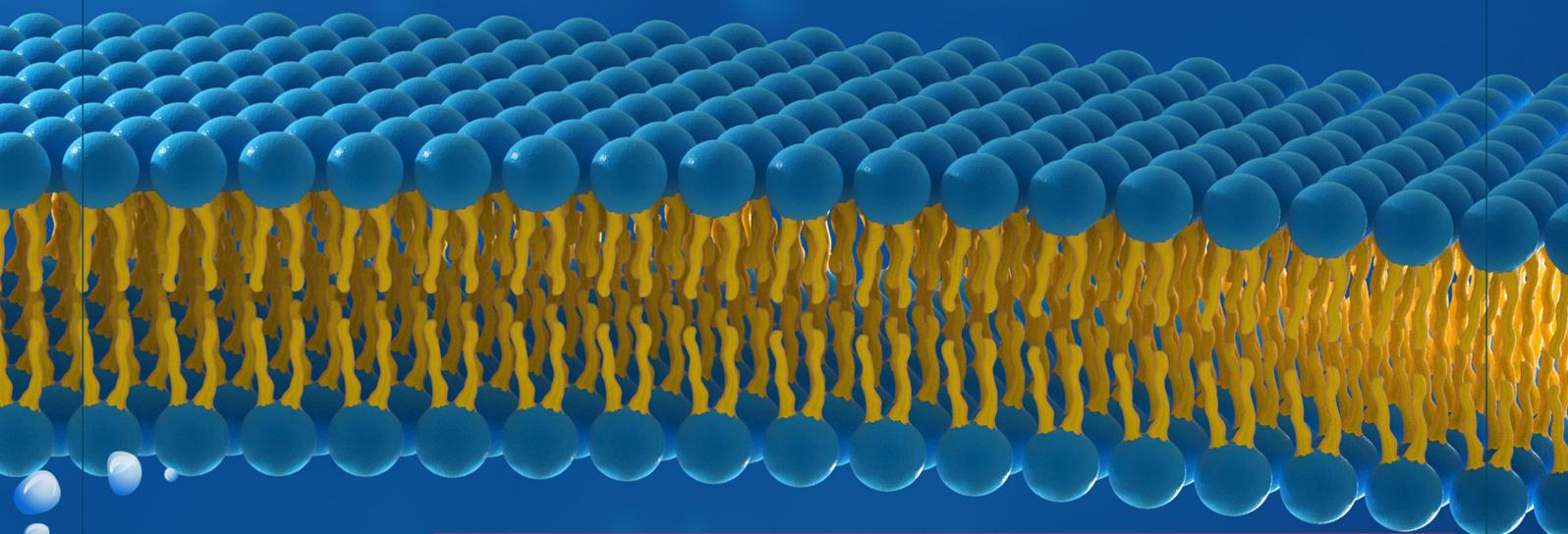
Gabriel José de Carli¹, Tiago Campos Pereira^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Genética, FMRP, Universidade de São Paulo, Monte Alegre, Ribeirão Preto, SP

² Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

Autor para correspondência - tiagocampospereira@ffclrp.usp.br

Palavras-chave: CHIP28, NPA, dessecação, desidratação, grupo sanguíneo, hemácia



Anfipático: que possui tanto domínios polares quanto apolares.

A molécula de água é essencial para vida, não apenas por ser um solvente orgânico, mas também por participar em diversos processos fisiológicos tanto celulares como sistêmicos. Em processos como filtração renal, manutenção da temperatura corpórea e controle osmótico celular, o movimento de moléculas de H_2O através de membranas biológicas é central. Devido à natureza **anfipática** de membranas biológicas, o movimento de moléculas de H_2O é desfavorecido, nesse sentido a existência de um canal em membranas que seja permeável à água, como as aquaporinas, torna esse rápido movimento viável e permite que processos fisiológicos como os citados acima ocorram eficientemente.

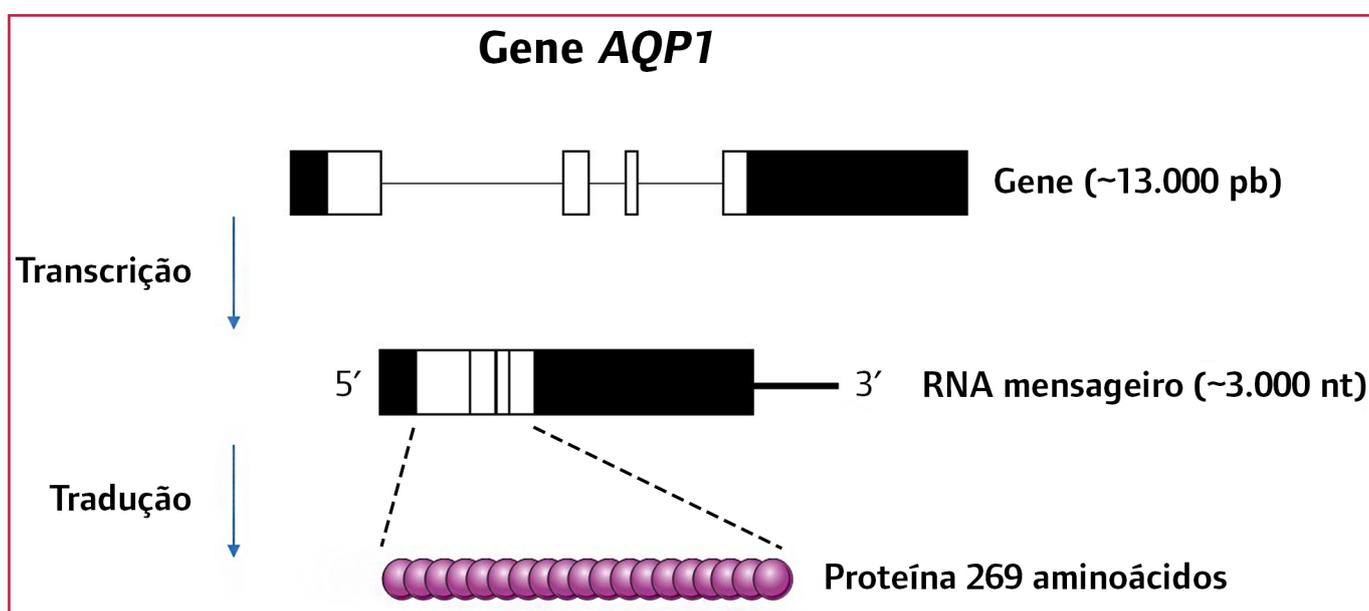
O GENE *AQP1*

No começo de 1990, o grupo de Peter Agre e Gregory Preston isolou o DNA complementar (cDNA) de uma proteína inicialmente identificada em hemácias humanas. Tal proteína era a CHIP28 ou “proteína integral formadora de canal de 28kDa”, atualmente nomeada Aquaporina 1 [JUNG, 1994]. Posteriormente, a localização e a estrutura do gene *AQP1* (*Aquaporina 1*) foi determinada; tal gene possui uma única cópia no genoma humano e está localizado no

braço menor do cromossomo 7, banda 14, e possui 13 kpb de comprimento, comportando 4 éxons (figura 1).

Segundo informações do GeneBank no NCBI, o gene *AQP1* de humanos (Gene ID: 358) pode ser transcrito em até cinco formas alternativas de RNA, dos quais quatro codificam o mesmo tipo de proteína. A isoforma mais abundante da proteína possui 269 resíduos de aminoácidos, com seu respectivo RNA mensageiro contendo 2914 nucleotídeos (figura 1).

kDa: unidade de massa molecular, mil Daltons.



ESTRUTURA PROTEICA E O CANAL DE ÁGUA

Assim como outras aquaporinas, a aquaporina 1 pertence a uma superfamília de proteínas chamadas MIP (a sigla do inglês pode ser traduzida como ‘principais proteínas intrínsecas da membrana’) a qual possui uma estrutura característica entre seus membros. A estrutura é composta por seis domínios que passam pela membrana (transmembrana) e, ligando tais domínios uns aos outros, existem cinco alças (figura 2A).

A conformação da aquaporina 1 na membrana está demonstrada na figura 2B e

possui uma forma semelhante a de uma ampulheta; nesta conformação, o domínio transmembrana 6 se aproxima dos domínios 1 e 2 (ver figura 2A e 2B). Além disso, o domínio 3 aproxima-se dos domínios 4 e 5. Esta interação entre os domínios transmembrana permite que as alças B e E aproximem-se (ver figura 2A e 2B). Ambas possuem um **motivo** composto por três aminoácidos: asparagina, prolina e alanina (asn-pro-ala), nesta ordem. Esses dois motivos unidos formam uma constrição (um pequeno orifício) pelo qual passa apenas uma molécula de água por vez (figura 2B) [JUNG et al., 1994].

Figura 1. A estrutura do gene *AQP1*. O gene codificador da aquaporina 1 possui quatro éxons (caixas) e três íntrons (linhas mais finas). O RNA mensageiro mais abundante possui aproximadamente 3.000 nucleotídeos (nt), desconsiderando-se a cauda de poliadenosinas (indicada como linha horizontal mais espessa na extremidade 3'). As áreas pretas dos éxons compreendem as regiões não traduzidas no mRNA; as brancas constituem a região traduzida que codifica um polipeptídeo de 269 resíduos de aminoácidos. Observação: os tamanhos dos íntrons estão fora de escala.

Motivo: sequência nucleotídica ou proteica que é conservada.

Homotetrâmero: complexo formado por quatro unidades iguais.

O canal (ou poro) propriamente dito é formado por um **homotetrâmero** do polipeptídeo de aquaporina 1. Em tal conformação de homotetrâmero, as constrições formadas por

cada motivo NPA-NPA são orientadas para o centro, formando assim um canal constituído por quatro poros pelos quais há a passagem passiva e facilitada das moléculas de água.

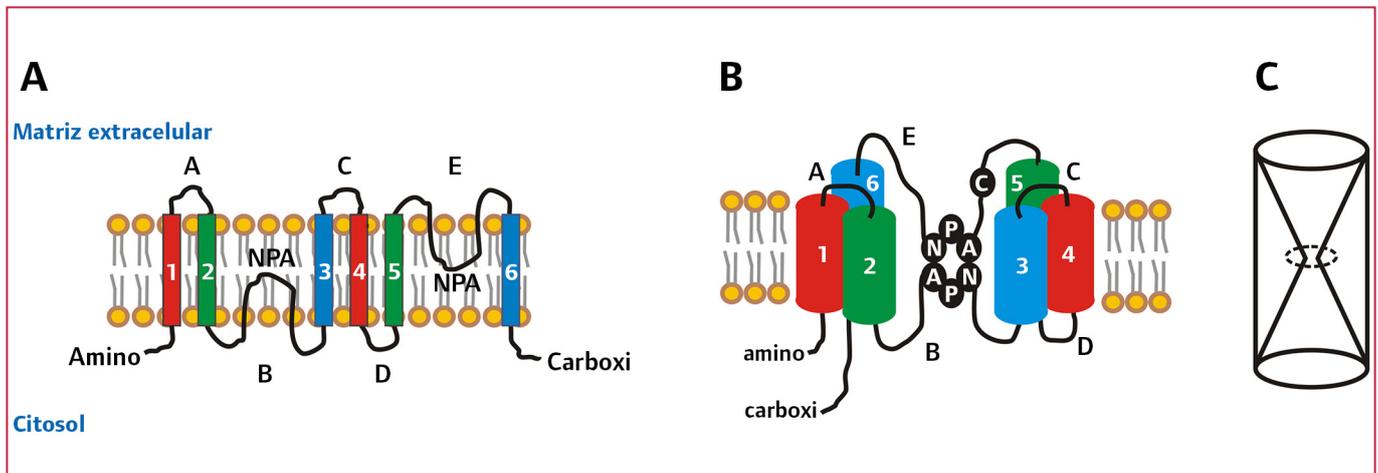


Figura 2. O diagrama da proteína aquaporina 1. (A) A proteína em membranas biológicas com os seis domínios transmembrana e as 5 alças. (B) Conformação funcional da aquaporina 1 segundo o modelo da ampulheta (C). Reparar na formação do poro a partir da aproximação dos motivos NPAs das alças B e E, cuja representação está demarcada pelo círculo descontínuo em "C".

FUNÇÃO FISIOLÓGICA

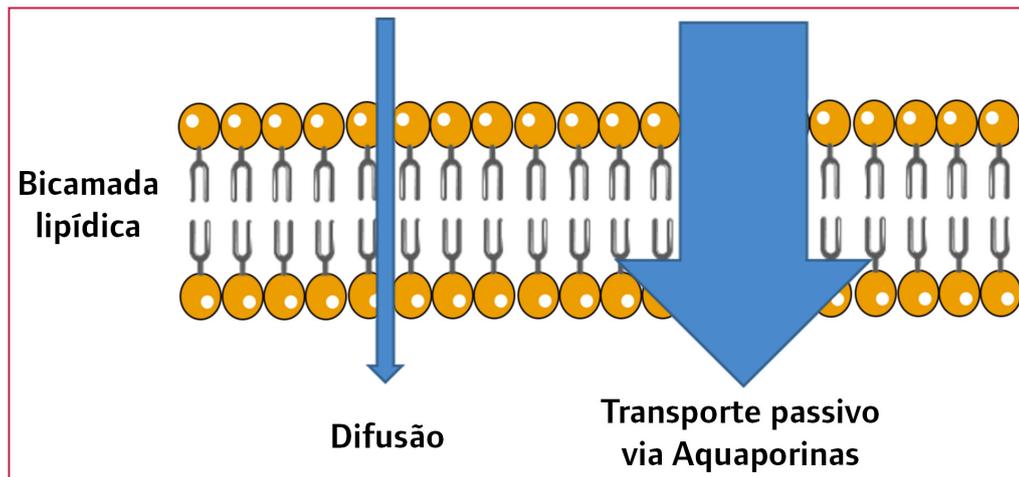
O movimento de moléculas de água para dentro/fora das células/tecidos pode ocorrer por difusão, mas devido à natureza das membranas biológicas (bicamada lipídica) este processo é desfavorecido e ocorre a uma velocidade limitada. Em situações nas quais um fluxo mais rápido e eficiente de água é necessário, a simples difusão pode não ser suficiente diante da demanda. Nesses casos, o transporte de água pode ser amplamente favorecido por meio das aquaporinas. Mesmo que esse seja um transporte passivo, o fluxo é muito mais ágil do que a simples difusão (figura 3).

Segundo dados de expressão gênica, *AQP1* é majoritariamente expresso nos rins de seres humanos, mais precisamente no epitélio do túbulo proximal e na porção descendente da alça de Henle de cada néfron. Tanto o epitélio como a porção descendente da alça de Henle são locais de intenso fluxo de líquidos durante a formação da urina. Portanto, pessoas com deficiência da proteína aquaporina 1 não conseguem reabsorver água durante a produção da urina nessas regiões, gerando, assim, uma urina não con-

centrada. Essa perda excessiva de água pela urina pode, eventualmente, levar a uma desidratação em algumas situações [KING et al., 2001].

Além dos rins, *AQP1* também é consideravelmente expresso no tecido pulmonar, mais precisamente no epitélio endotelial (tecido que reveste internamente as vias aéreas). No tecido pulmonar, aquaporina 1 tem relação com a permeabilidade de líquidos entre a superfície do tecido aéreo e o tecido vascular. Fisiologicamente, essa permeabilidade é importante para a manutenção do volume ideal de lubrificação do local onde ocorrem trocas gasosas e escoamento do excesso de líquido originado de eventuais edemas (inchaço) [KING et al., 2002].

Camundongos mutantes para *AQP1* demonstraram sintomas semelhantes a humanos, isto é, dificuldade em produzir uma urina concentrada e desidratação após períodos de escassez de água. Entretanto, não foram observadas alterações morfológicas nos rins ou uma menor viabilidade. Alterações morfológicas renais foram observadas apenas em camundongos mutantes para *AQP1* e *AQP3*.

**Figura 3.**

Difusão versus transporte passivo via aquaporinas.

As moléculas de água podem entrar ou sair das células por difusão simples, porém esse fluxo tem velocidade limitada. Em tecidos nos quais a passagem de água deve ser mais rápida ou maior, isto pode ser mediado pelos canais de água (aquaporinas).

GRUPO SANGUÍNEO COLTON

Em 1968, os autores Race e Sanger descobriram um **antígeno** em hemácias adequadas para ser utilizado como um grupo sanguíneo (assim como o sistema ABO e Rh) e o chamaram de antígeno Colton. Posteriormente, em 1990 o locus genômico CO foi identificado no cromossomo 7 e em 1994 notou-se que o gene *AQP1* era responsável pelo antígeno Colton presente nas hemácias.

O grupo sanguíneo Colton apresenta duas variações, uma determinada Co(a) e outra determinada Co(b) (figura 4A). O contraste molecular entre os dois alelos está no resíduo de aminoácido na posição 45 da proteína aquaporina 1: enquanto o grupo Co(a) possui uma alanina nesta posição, o grupo Co(b) possui uma valina. Um terceiro e mais raro variante deste grupo sanguíneo é o Co(a-b-), ou seja, hemácias nas quais não há proteína aquaporina 1 (figura 4B) [SMITH et al., 1994].

OUTRAS AQUAPORINAS HUMANAS

Além de *AQP1*, a espécie humana possui mais 11 genes codificadores de aquaporinas, brevemente descritas a seguir.

O gene *AQP2* está localizado no braço maior do cromossomo 12, sua proteína é exclusivamente expressa nos tubos coletor-

es nos rins e sua permeabilidade à água é regulada pelo hormônio vasopressina (ou hormônio antidiurético, ADH). Na presença deste hormônio a urina fica mais concentrada devido à maior reabsorção de água através da proteína aquaporina 2. Mutações neste gene estão associadas ao desenvolvimento de diabetes insipidus.

O gene *AQP3* está localizado no braço menor do cromossomo 9 sendo expresso em hemácias, mas com maior expressão no esôfago e na pele. Assim como *AQP1*, sua expressão em hemácias caracteriza um grupo sanguíneo denominado GIL. Em tal grupo sanguíneo, indivíduos com uma mutação que impede a expressão de *AQP3* em suas hemácias possuem a chance de desenvolver anticorpos anti-GIL. Portanto, caso um paciente, GIL-positivo (expressa *AQP3*), receba uma doação de sangue de um indivíduo GIL-negativo, (não expressa *AQP3*) e que possua anticorpos anti-GIL em seu sangue, terá a ocorrência de uma reação de aglutinação.

O gene *AQP4* está localizado no braço maior do cromossomo 18 e é a principal aquaporina expressa no sistema nervoso de humanos. Neste tecido, *AQP4* parece ter um papel importante na manutenção do controle osmótico, importante em processos de polarização e despolarização de neurônios, isto é, condução de impulsos nervosos.

Antígeno: molécula capaz de desencadear a síntese de um anticorpo específico.

O gene *AQP5* está localizado no braço maior do cromossomo 12 e é majoritariamente expresso em glândulas salivares e lacrimais, onde parece ter papel importante na secreção em ambos os tecidos. Diferentes mutações no gene *AQP5* estão associadas com a doença autossômica dominante denomina-

da Queratodermia Palmoplantar (PPK) do tipo Bothniana. Neste tipo de doença ocorre o espessamento anormal do tecido devido ao grande acúmulo de queratina na camada mais externa da pele (camada córnea), é chamada tipo Bothniana pois foi descrita na Suécia, próximo ao golfo de Bótnia.

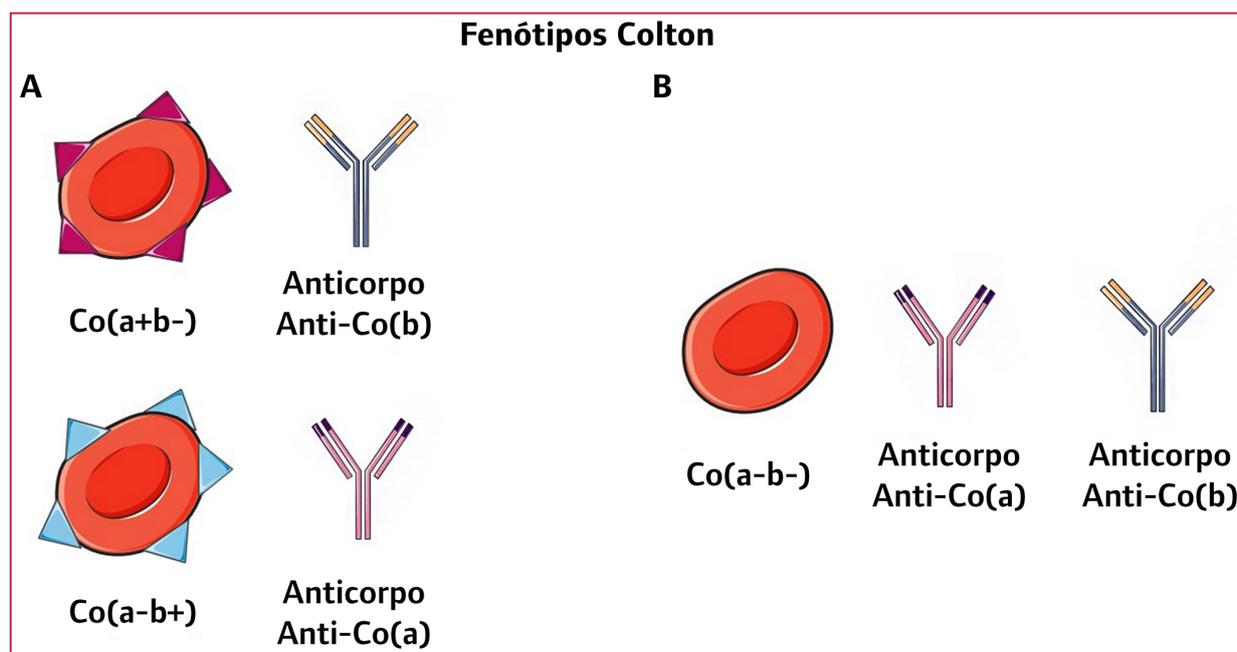


Figura 4.

Grupos sanguíneos Colton.

A expressão da aquaporina 1 em hemácias caracteriza o grupo sanguíneo Colton. **(A)** Polimorfismos do sistema Colton: o alelo Co(a+) expressa aquaporina 1 contendo uma alanina na posição 45. Indivíduos que não apresentarem esse alelo (isto é, Co(a-)) poderão produzir anticorpos anti-Co(a) se expostos ao antígeno Co(a). O alelo Co(b+) expressa aquaporina 1 contendo uma valina na posição 45. Indivíduos que não apresentarem esse alelo (isto é, Co(b-)) poderão produzir anticorpos anti-Co(b) se expostos ao antígeno Co(b). **(B)** Indivíduos com o genótipo Co(a-b-) ou Colton-null possuem alelos com mutações no gene *AQP1* que resultam em não expressão de uma proteína funcional. Este grupo pode possuir ambos anticorpos anti-Co(a) e anti-Co(b), se expostos a esses antígenos.

O gene *AQP6* está localizado no braço maior do cromossomo 12 e é majoritariamente expresso nos rins. Entretanto, diferentemente de *AQP1* e *AQP2*, sua localização é em membranas internas da célula, principalmente de vesículas e sua função está relacionada com o movimento de ânions entre compartimentos celulares.

O gene *AQP7* está localizado no braço menor do cromossomo 9 e é majoritariamente expresso em adipócitos (células de gordura). Esta aquaporina é uma aquagliceroporina, isto é, permite o transporte de glicerol de dentro de adipócitos para o sistema circulatório durante metabolismo energético. Mutações neste gene podem levar à suscetibili-

dade a obesidade uma vez que a liberação de metabólitos de lipídeos, como o glicerol, dos adipócitos fica prejudicado. Além disso, o gene *AQP7* de humanos é o único a possuir pseudogenes (4 no total), isto é, duplicações destes genes que perderam a capacidade de desempenhar o papel biológico devido a mutações acumuladas.

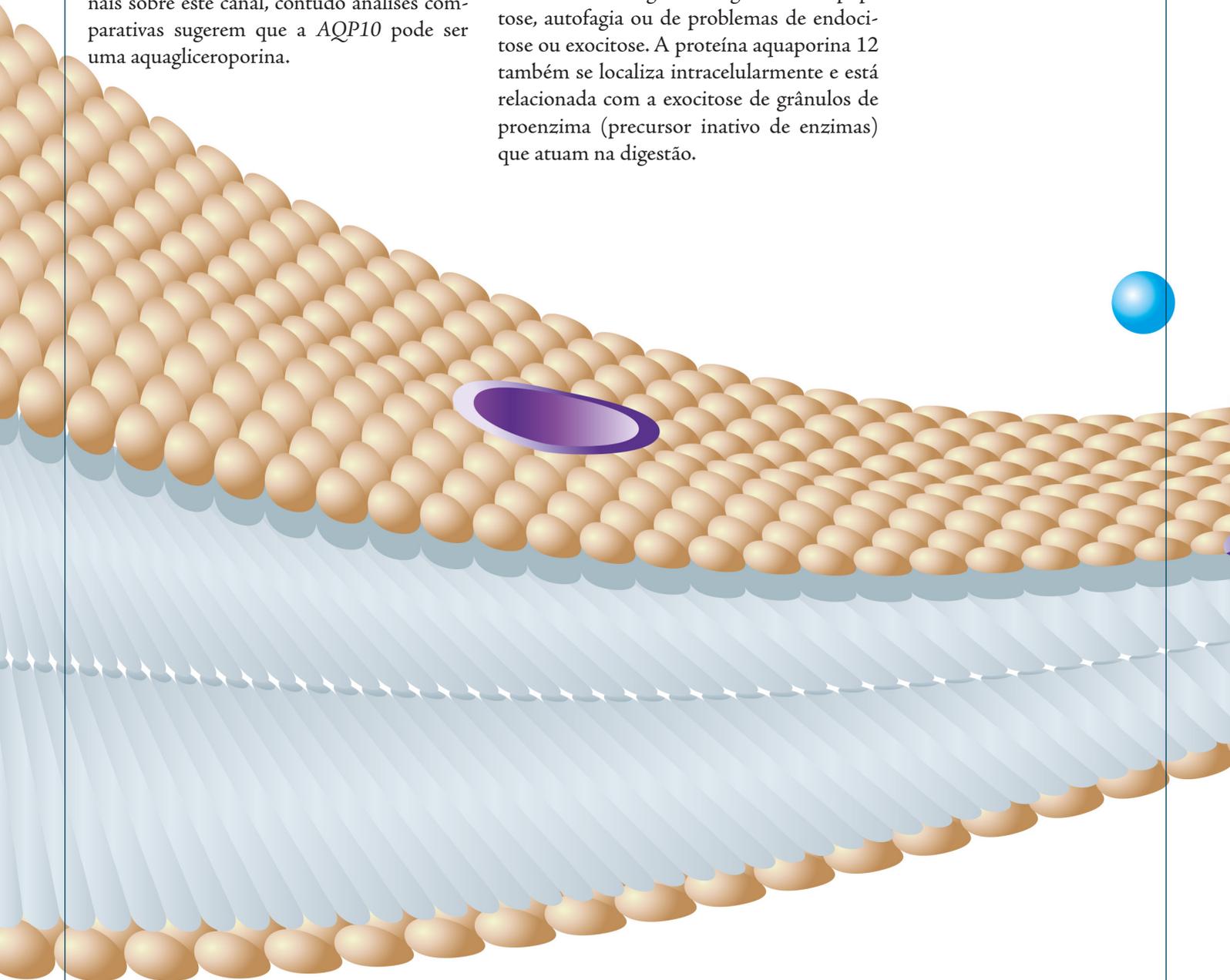
O gene *AQP8* está localizado no braço menor do cromossomo 16 e sua expressão ocorre apenas no cólon (intestino grosso) e no pâncreas. Ainda não se tem muitas informações sobre um papel fisiológico da proteína aquaporina 8, apenas que este canal parece transportar, exclusivamente, moléculas de água.

O gene *AQP9* está localizado no braço maior do cromossomo 15 e sua expressão ocorre principalmente no fígado. Assim como a *AQP7*, *AQP9* é uma aquagliceroporina, relacionada com o movimento de glicerol da corrente sanguínea para os hepatócitos. Em cenários de jejum, no qual o nível de glicose sanguínea é baixo, há o transporte e o uso de glicerol pelo fígado para um processo chamado **gliconeogênese** (produção de glicose a partir de glicerol).

O gene *AQP10* está localizado no braço maior do cromossomo 1 e é abundantemente expresso no intestino delgado. Assim como outra aquaporina expressa no intestino (*AQP8*), não há muitas informações funcionais sobre este canal, contudo análises comparativas sugerem que a *AQP10* pode ser uma aquagliceroporina.

Os genes *AQP11* e *AQP12* estão localizados no braço maior do cromossomo 11 e no braço maior do cromossomo 2, respectivamente. As aquaporinas 11 e 12 são chamadas de super-aquaporinas por possuírem uma particularidade: um resíduo de cisteína 9 posições após o segundo motivo NPA. Enquanto *AQP11* possui uma expressão em vários tecidos como intestino delgado, rins, fígado e testículos, *AQP12* é quase que exclusivamente expresso nos ácinos pancreáticos (também há uma baixa expressão na retina). A proteína aquaporina 11, assim como a aquaporina 6, possui localização intracelular, mais precisamente no retículo endoplasmático rugoso, sua disfunção gera vacúolos nessa organela originados de apoptose, autofagia ou de problemas de endocitose ou exocitose. A proteína aquaporina 12 também se localiza intracelularmente e está relacionada com a exocitose de grânulos de proenzima (precursor inativo de enzimas) que atuam na digestão.

Gliconeogênese: produção de glicose a partir de precursores que não sejam hexoses, tal como o glicerol.



CONCLUSÃO

O primeiro gene codificador de aquaporina em humanos a ser descoberto e caracterizado foi *AQP1*, por volta de 1990; quase 30 anos depois, o número de aquaporinas descobertas em humanos subiu para 12. Enquanto algumas proteínas, como aquaporina 1 e aquaporina 2, possuem uma função fisiológica bem estabelecida, outras como aquaporinas 8, 10, 11 e 12 ainda necessitam de uma maior elucidação. Para tal, o meio científico vem se utilizando de animais modelos, geralmente camundongos mutantes que não expressam uma *aquaporina* específica.

A passagem de moléculas de água de dentro para fora da célula, além de compartimentos celulares para o citoplasma (ou vice-versa) é central em processos celulares e fisiológicos como filtração renal, manutenção da osmolaridade e até controle de temperatura. Devido à natureza de membranas biológicas (bicamada lipídica), tal movimento da molécula de água é desfavorecido, desse modo a existência de canais que permitem um rápido transporte de água e outros solutos (como glicerol e ureia) tornam viáveis vários dos processos citados.



REFERÊNCIAS

- JUNG, J. S., PRESTON, G. M., SMITH, B. L., GUGGINO, W. B., AGRE, P. Molecular structure of the water channel trough aquaporin CHIP: the hourglass model. *J Biol Chem* v. 269, n. 20, p. 14648-14654, 1994.
- KING, L. S., CHOI, M., FERNANDEZ, P. C., CARTRON, J.-P., AGRE, P. Defective urinary concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *New Eng. J. Med.* v. 345, p. 175-179, 2001.
- KING, L. S., NIELSEN, S., AGRE, P., BROWN, R. H. Decreased pulmonary vascular permeability in aquaporin-1-null humans. *Proc. Nat. Acad. Sci.* v. 99, p. 1059-1063, 2002.
- SMITH, B. L., PRESTON, G. M., SPRING, F., ANSTEE, D. J., AGRE, P. Human red blood cell aquaporin CHIP: I. Molecular characterization of ABH and Colton blood group antigens. *J. Clin. Invest.* v. 94, p. 1043-1049, 1994.