

Juni 2006

Volume 5 Nomor 3
ISSN. 0215.1995
Akreditasi Dirjen Dikti
No. 56/Dikti/Kep/2005

MAJALAH ILMU FAAL INDONESIA



The Indonesian Journal of Physiology

MIFI	Vol. 5	No. 3	Hal 105 - 168	Surabaya Juni 2006	ISSN 0215.1995	Akreditasi 56/Dikti/Kep/2005
------	--------	-------	------------------	-----------------------	-------------------	---------------------------------

PERAN AQUAPORIN-2 DALAM TRANSPORT AIR DI GINJAL

Indri N. Rahayu ¹⁾, Harjanto ²⁾

ABSTRACT

Since the discovery of the aquaporins ten years ago, researches around the world have sought to learn how these proteins work. In the kidney aquaporin-2 (AQP2) provides a target for hormonal regulation of water transport by vasopressin. Short-term control of water permeability occurs via vesicular trafficking of AQP2 and long-term control through changes in the abundance of AQP2 water channels. Defective AQP2 trafficking causes nephrogenic diabetes insipidus, a condition characterized by the kidney inability to produce concentrated urine. AQP2 is redistributed to the apical membrane of collecting duct cells through activation of a cAMP signaling cascade initiated by the binding of vasopressin to its V₂-receptor. Protein kinase A-mediated phosphorylation of AQP2 has been proposed to be essential in regulating AQP2-containing vesicle exocytosis. Cessation of the stimulus is followed by endocytosis of the AQP2 proteins exposed on the plasma membrane and their recycling to the original stores.

Keywords : water channel, aquaporin-2 (AQP2), water transport, vasopressin (VP)

PENDAHULUAN

Secara kasar, air mengisi sekitar 70% dari massa tubuh kebanyakan makhluk hidup, sehingga distribusi air yang teratur sangat diperlukan untuk mengatur keseimbangan cairan dalam berbagai kompartemen anatomik yang berbeda (Kozono dkk, 2002).

Air mengalir melintasi membran biologis melalui dua mekanisme yang berbeda. Difusi air melalui *pure lipid bilayers* terjadi dengan energi aktivasi yang tinggi ($E_a > 10$ kcal/mol). Sebaliknya, selama lebih dari 40 tahun telah diketahui bahwa aliran cepat air melintasi membran sel darah merah manusia terjadi dengan $E_a < 5$ kcal/mol, membawa pemikiran menuju hipotesis bahwa harus terdapat suatu *water pores*. Permeabilitas pori ini sangat spesifik, sehingga molekul-molekul kecil yang lain, ion bahkan proton (H_3O^+) tidak dapat melaluinya (Agre, 2000). Pada tahun 1991, ketika Preston dan Agre mencoba membersihkan suatu Rh-polipeptida dari membran eritrosit dengan BM 32-kDa, suatu protein dengan BM 28-kDa ikut mengendap yang kemudian diberi nama CHIP28 (*channel-forming integral protein*). Ternyata protein ini homolog dengan MIP-26 (*membrane integral protein*) dari lensa mata. Selanjutnya CHIP28 akan disebut sebagai aquaporin-1 (AQP1) dan MIP26 disebut sebagai aquaporin-0 (AQP0) (Harjanto, 2004).

¹⁾ Bagian Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya

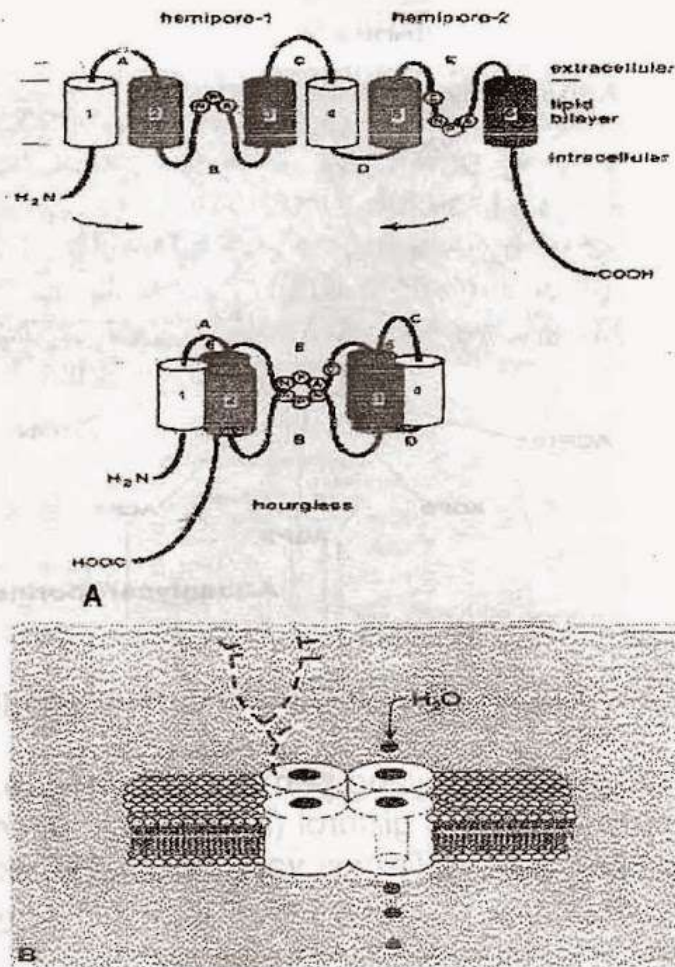
²⁾ Bagian Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya

Sejak penemuan aquaporin sepuluh tahun yang lalu (Agre dkk, 2002), peneliti di seluruh dunia mulai mempelajari bagaimana protein ini bekerja. Selektivitas, kemampuan perembesan dan *gating mechanisms* merupakan tiga hal yang membentuk karakteristik protein kanal. Aquaporin sangat selektif untuk transport air, bahkan mengusir ion hidronium (H_3O^+) (Widmaier dkk, 2006; Ganong, 2001; Guyton&Hall, 2004).

Penemuan famili aquaporin sebagai kanal air telah menambah pengertian kita tentang bagaimana air dapat melintasi sel-sel epitel, terutama pada ginjal. Mekanisme yang melibatkan pengaturan permeabilitas air, khususnya di duktus koligentes telah meningkat sangat pesat sejak aquaporin-2 (AQP2) diidentifikasi dan dikarakterisasi pada tahun 1993. Salah satu penemuan yang banyak dilihat pada protein ini adalah pengetahuan bahwa perubahan ini merupakan suatu jalan untuk mengatur efek antidiuretik akut dari vasopressin (VP). Selanjutnya beberapa perubahan seperti menjadi penyebab patologis yang berarti pada beberapa kelainan klinis keseimbangan cairan (Marples et al, 1999). Pada makalah kali ini kami akan membahas tentang peran AQP2 dalam transport air di ginjal.

STRUKTUR AQUAPORIN

Studi awal tentang rekombinan molecular meramalkan model *hour-glass* untuk struktur aquaporin (Kozono dkk, 2002). Setiap monomer AQP1 mempunyai enam ekor, "*bilayer-spanning α -helices*", yang membentuk bundel kanan melingkupi densitas sentral, mengkonfirmasi topologi membran yang diramalkan dengan analisa urutan dan studi tentang insersi epitop pada AQP1. Pada resolusi 4.5 Å, beberapa densitas *rod-shape* menunjukkan penonjolan yang diikuti pola *helical* kanan yang konsisten dengan densitas yang diharapkan dari α -*helix*. Tiap-tiap subunit 28-kDa dalam homotetramer aquaporin mengandung satu pori air individual (Lodish dkk, 2000). Urutan primer dari AQP1 mengungkapkan dua pengulangan urutan tandem, yang masing-masing menyandi tiga helix transmembran dengan pengulangan pendek (*hemipore*) menghubungkan helix kedua dan ketiga. *Hemipore loops* masuk tetapi tidak memutar lapisan *bilayer*, dan masing-masing mengandung motif Asn-Pro-Ala (NPA). Amino- dan karboksi- termini terletak intraselular, sehingga pengulangan berorientasi 180° satu sama lainnya. Dua *hemipore* melipat ke dalam membran dari kebalikan permukaan *bilayer*, tumpang tindih di tengah jalan melalui *bilayer* dimana nantinya dikelilingi oleh enam heliks transmembrane (Kozono et al., 2002; Verkman&Mitra, 2000).



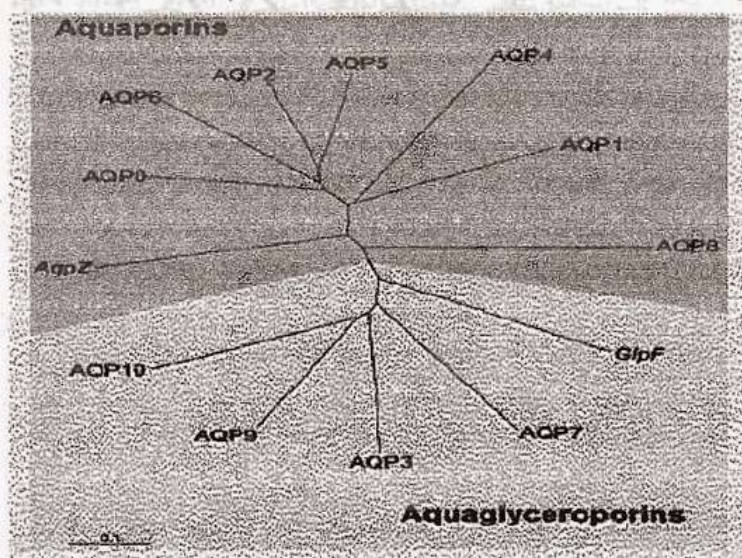
Gambar 1. Model *hour-glass* dari aquaporin

A: Gambaran skematis organisasi struktural dari monomer AQP1 (atas dan bawah). Aquaporin mempunyai enam ekor, *bilayer-spanning* α -*helices*, keduanya mempunyai NH_2 - dan karboksi- termini, dan pengulangan internal secara tandem, yang kemungkinan berhubungan dengan duplikasi gen cara lama (atas). Topologi konsisten dengan pengamatan simetri dari separuh terminal NH_2 dan karboksi yang sama (bawah). B: AQP1 merupakan oligomer dengan multi subunit yang terorganisir sebagai bentuk tetrametrik dari empat subunit polipeptida identik dengan ikatan glikan yang besar pada salah satunya (Nielsen dkk, 2002).

FAMILI AQUAPORIN

Setelah AQP1 ditemukan sebagai kanal air molekuler, kloning homolog yang dilakukan oleh beberapa laboratorium membawa hasil menuju identifikasi urutan protein terkait. Sebelas aquaporin mamalia telah dapat diidentifikasi dan paling tidak terkarakterisasi sebagian. Kesebelas aquaporin tersebut dibagi di dalam dua macam kelompok protein yaitu yang secara selektif permeabel terhadap air (aquaporin

klasik) dan yang permeabel terhadap air dan gliserol (*aquaglyceroporin*) (Heymann&Engel, 1999; Agre, 2002).



Gambar 2. Famili gen aquaporin pada manusia (Agre dkk, 2002).

Terlihat anggota famili yang permeabel terhadap air (*aquaporin*) dan yang permeabel terhadap gliserol (*aquaglyceroporin*). AQP10 juga termasuk, tetapi tidak ada konfirmasi yang telah dipublikasikan tentang ekspresi protein ini. Pada gambar diatas juga diperlihatkan homolog pada *E. coli* (AqpZ and GlpF) (Agre dkk, 2002).

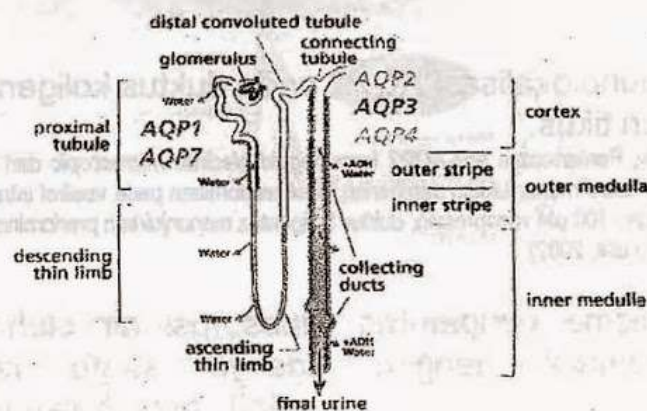
Tabel 1. Distribusi aquaporin 1 – 10 pada ginjal dan organ lain (Nielsen dkk, 2002)

TABLE 1. Distribution of aquaporin-1 to -10 in kidney and other organs

	Species	Number of Amino Acids	Localization in Kidney	Subcellular Distribution	Regulation	Localization Extrarenal
Renal aquaporins						
Aquaporin-1	Human	269	Proximal tubules, descending thin limbs	APM/BLM	-	Multiple organs
Aquaporin-2	Rat	271	Collecting duct, principal cells	APM VES	+++	Testis
Aquaporin-3	Rat	292	Collecting duct, principal cells	BLM	+	Multiple organs
Aquaporin-4	Rat	301	Medullary collecting duct, principal cells	BLM	-	Brain and multiple organs
Aquaporin-6	Rat	276	Intercalated cells	VES	+	?
Aquaporin-7	Rat	269	Proximal tubule (straight)	APM	?	Testis, adipocyte
Aquaporin-8	Rat	263	Cortex, medulla	VES	?	Testis, epididymis, pancreas, liver, colon, heart, placenta
Extrarenal aquaporins						
Aquaporin-5	Rat	265		APM/VES	+++	Salivary glands, lung, eye
Aquaporin-9	Human	295		APM/PM	?	Liver, leukocytes, lung, spleen, brain, epididymis, testis

AQUAPORIN DI GINJAL

Didapatkan beberapa macam Aquaporin yang berada di ginjal dan berada di lokasi yang berbeda seperti dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 3. AQP1 biasanya ditemukan pada tubulus proksimal dan segmen tipis descenden, sedangkan AQP2 banyak didapatkan pada bagian apikal dan subapikal dari sel utama pada duktus koligentes. Pada membran basolateral sel utama duktus koligentes adalah tempat ekspresi dari AQP3 dan AQP4. Tempat ekspresi dari AQP7 adalah di perbatasan *apical brush border* tubuli proksimal yang lurus, sedangkan untuk AQP6 biasanya pada sel-sel *intercalated* dan AQP8 pada korteks dan medulla ginjal (Nielsen dkk, 2002).

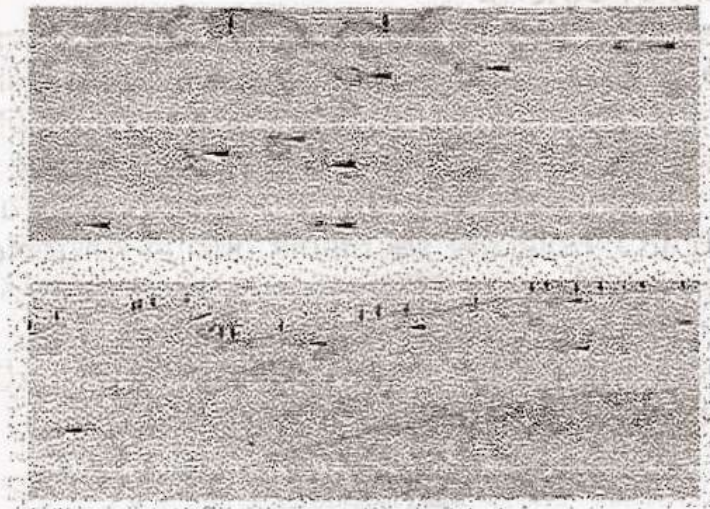


Gambar 3. Diagram lokalisasi dari beberapa aquaporin pada nephron dan sistem *collecting duct* (Nielsen dkk, 2002).

AQUAPORIN-2

Aquaporin-2 (AQP2) tereksresi paling banyak di duktus koligentes ginjal. Selain pada ginjal, organ lain yang mengekspresi AQP2 adalah testis. Pada saat istirahat, AQP2 terletak di intrasel dan akan bergerak menuju membran sel setelah teraktivasi (Harjanto, 2004). AQP2 terlokalisasi pada sel utama duktus koligentes dan studi yang dilakukan pada tikus yang haus menunjukkan bahwa ekspresi AQP2 meningkat (Agre dkk, 2002).

Fungsi dan distribusi AQP2 tergambar dengan jelas dengan analisis dari duktus koligentes. Transport air diukur pada duktus koligentes tikus yang terisolasi dan diperfusi pada keadaan tidak adanya VP, setelah penambahan 100 pM VP, dan setelah pengeluaran zat tersebut. Duktus koligentes tetap dan AQP2 terlokalisasi dengan pemeriksaan *immunogold electron microscopy* (Gambar 4) (Agre dkk, 2002).



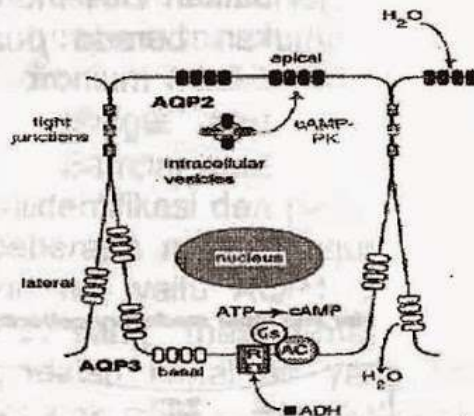
Gambar 4. Immunolokalisasi AQP2 pada duktus koligentes yang diisolasi dari tikus.

Atas, Pemeriksaan anti-AQP2 *immunogold electron microscopic* dari duktus koligentes yang tidak distimulasi menunjukkan pemberian label predominan pada vesikel intrasel. Bawah, setelah inkubasi dengan 100 pM vasopressin, duktus koligentes menunjukkan predominan pada lapisan apikal (panah) (Agre dkk, 2002).

Mekanisme pengaturan reabsorpsi air oleh AQP2 di duktus koligentes dimulai dengan adanya suatu rangsangan yang mengakibatkan disekresinya VP oleh hypothalamus posterior yang kemudian akan mengikat reseptor V_2 yang berada pada membran basolateral sel utama duktus koligentes. Karena reseptor V_2 ini merupakan suatu reseptor yang mengikat protein G, maka pengikatan dengan VP akan mengaktifkan protein G_s yang kemudian akan mengaktifasi *adenylyl cyclase* untuk mengubah ATP menjadi cAMP sebagai *second messenger* yang seterusnya akan mengaktifkan PKA untuk fosforilasi AQP2 sehingga akan terjadi translokasi dari sitoplasma menuju membran apikal dan akhirnya AQP2 tereksresi di membran apikal dan terjadi reabsorpsi air yang meningkat (Silverthorn dkk, 2001; Boron&Boulpaep, 2001; Brown dkk, 1998; Valenti dkk, 2005; Bichet, 2006).

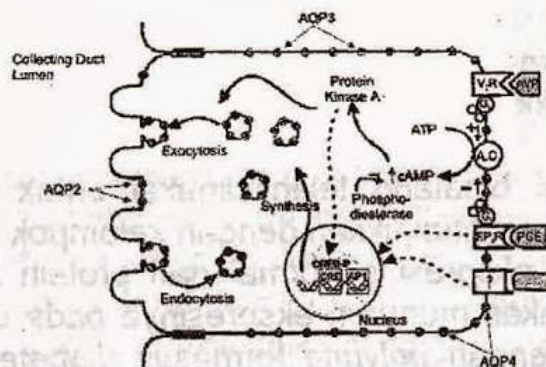
Permeabilitas air pada duktus koligentes diatur oleh VP melalui mekanisme *membrane shuttle* (Brown, 2003), yaitu mengatur redistribusi vesikel intraseluler menuju lapisan apikal dari sel utama dimana AQP2 mengalami translokasi antara membran apikal dan endosom subapikal. Lalu lintas intraseluler dari AQP2 diatur oleh VP melalui *short-term exocytosis* menuju membran plasma, dimana mekanisme biosintetik jangka panjang teraktivasi antara lain oleh respon terhadap kehausan yang lama (Agre, 2000; Bai dkk, 1996). Pada

beberapa studi yang telah dipublikasikan pada duktus koligentes ginjal tikus yang diisolasi menunjukkan bahwa pada keadaan tidak adanya VP, permeabilitas air rendah dan AQP2 predominan berada pada vesikel intraseluler.



Gambar 5. Skema mekanisme pengaktifan reseptor V_2 oleh AVP dan translokasi AQP2 menuju membran apikal

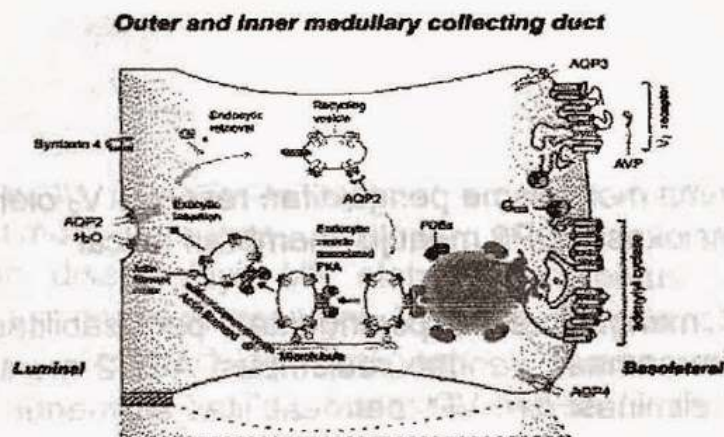
Pemberian VP mengakibatkan peningkatan permeabilitas air sampai lima kali lipat bersamaan dengan redistribusi AQP2 menuju membran apikal. Setelah eliminasi dari VP, permeabilitas air menurun dan AQP2 yang di permukaan akan kembali ke tempat semula.



Gambar 6. Pengaturan permeabilitas air di sel utama duktus koligentes (Marples D dkk, 1999)

Studi-studi memperkirakan bahwa AQP2 mungkin terlibat pada beberapa tipe dari diabetes insipidus nefrogenik (DIN). Gangguan klinis yang penting ini pertama kali terlihat sebagai hasil dari mutasi gen yang

mengkode reseptor V_2 untuk AVP pada DIN yang X-linked (Bichet, 2006; Agre dkk, 2001). Para peneliti di Universitas Nijmegen, Belanda, mula-mula mengidentifikasi pasien dengan DIN yang menurun secara resesif yang tidak memiliki mutasi pada gen yang mengkode reseptor V_2 . Dengan penyusunan struktur gen AQP2, mereka mengidentifikasi adanya mutasi pada transmembran dan area pembentukan pori dari AQP2 (Agre dkk, 2001). Mutasi ini mengakibatkan kegagalan protein AQP2 berada di retikulum endoplasma. Selanjutnya, telah diidentifikasi suatu famili yang mengakibatkan DIN menurun secara dominan, dan tempat mutasinya ditemukan berada dua residu dibawah tempat fosforilasi dari PKA.



Gambar 7. *Signaling cascade* dan molekul-molekul yang terlibat dalam pengaturan lalu lintas AQP2 oleh vasopressin (Agre, 2000; Bichet dkk, 2006).

Beberapa model binatang telah dipakai untuk meneliti kelainan keseimbangan air yang ditunjukkan dengan kelompok penelitian multipel untuk memasukkan ekspresi abnormal dari protein AQP2 (Agre dkk, 2001). AQP2 ditemukan menurun ekspresinya pada defek kemampuan konsentrasi ginjal dengan *polyuria* termasuk diabetes insipidus klasik (defisiensi simple dari VP), terapi lithium (Bichet, 2006) (biasanya digunakan untuk terapi kelainan bipolar), post obstruksi (sering mengikuti prostatektomi transurethral), hipokalemia (konsekuensi dari terapi anti hipertensi) dan bahkan *enuresis nocturnal*. Sebaliknya, AQP2 akan meningkat ekspresinya pada keadaan retensi cairan seperti gagal jantung kongestif, syndrome of inappropriate ADH (SIADH),

sirosis, dan bahkan kehamilan. Selebihnya, studi-studi ini memprediksi bahwa akan ditemukan anggota famili aquaporin baru, dan bahwa aquaporin tersebut berpartisipasi dalam kelainan klinis penting yang lain yang dapat diprediksi dengan tepat dimana protein tersebut diekspresi (Agre dkk, 2001; Nielsen dkk, 2002; Marples dkk, 1999).

KESIMPULAN

Para peneliti telah menemukan suatu famili kanal air yaitu Aquaporin pada beberapa sel tubuh. Aquaporin ini sangat selektif untuk transport air, bahkan mengusir ion hidronium (H_3O^+). Tetapi ada beberapa jenis Aquaporin yang disebut sebagai *aquaglyceroporin* yaitu dapat melewatkan air dan gliserol. Sampai saat ini ada sebelas aquaporin mamalia yang telah dapat diidentifikasi dan paling tidak terkarakterisasi sebagian. Di ginjal ada beberapa macam aquaporin yang berperan dalam pengaturan transport air, yaitu AQP1, AQP2, AQP3, AQP4, AQP6, AQP7 dan AQP8 yang masing-masing berbeda lokasi ekspresinya. Aquaporin-2 adalah kanal air yang berhubungan erat dengan reseptor VP dan terletak pada duktus koligentes. Letak AQP2 pada keadaan tidak aktif berada di dalam vesikel di sitoplasma dan jika dipicu oleh keadaan yang dapat mengaktifkan, antara lain pengikatan VP dengan reseptor V_2 maka akan terjadi serangkaian peristiwa yang berakibat Bergeraknya vesikel tersebut ke permukaan apikal dari duktus koligentes yang kemudian akan diekspresikan sehingga dapat berfungsi melewatkan air pada proses reabsorpsi di duktus koligentes. Ekspresi AQP2 ditemukan menurun pada defek kemampuan konsentrasi ginjal dengan *polyuria* termasuk diabetes insipidus klasik (defisiensi simple dari AVP), terapi lithium (biasanya digunakan untuk terapi kelainan bipolar), post obstruksi (sering mengikuti prostatektomi transurethral), hipokalemia (konsekuensi dari terapi anti hipertensi) dan bahkan *enuresis nocturnal*. Sebaliknya, hal-hal yang meningkatkan ekspresi AQP2 adalah pada keadaan retensi cairan seperti gagal jantung kongestif, *syndrome of inappropriate ADH (SIADH)*, sirosis, dan bahkan kehamilan. Hal inilah yang mungkin dapat dimanfaatkan oleh para klinisi baik untuk menemukan obat baru maupun untuk berhati-hati dalam pemberian terapi yang nefrotoksik sehingga nantinya tidak akan membawa kerugian bagi penderita.

DAFTAR PUSTAKA

- Agre P (2000). Aquaporin Water Channel in Kidney. *Am J Soc Nephrol* 11, 764-777.
- Agre P, King LS, Yasui M, Guggino WB, Ottersen OP, Fujiyoshi Y, Engel A dan Nielsen S (2002). Aquaporin Water Channels – from atomic structure to clinical medicine. *J. Physiol* 542.1, 3-16.
- Bai L, Fushimi K, Sasaki S dan Marumo F. (1996). Structure of Aquaporin-2 Vasopressin Water Channel. *The J of Biol Chem* 271, 5171-5176.
- Bichet DG (2006). Lithium, Cyclic AMP Signaling, A-Kinase Anchoring Proteins and Aquaporin-2. *J Am Soc Nephrol* 17, 920-922.
- Boron WF dan Boulpaep EL. (2005). *Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach*. Updated ed. Elsevier Saunders. Pennsylvania. 840-844.
- Brown D, Katsura T dan Gustafson CE. (1998). Cellular mechanisms of aquaporin trafficking. *Am J Physiol Renal Physiol* 275, F328-F331.
- Brown D (2003). The ins and out of aquaporin-2 trafficking. *Am J Physiol Renal Physiol* 284, F893-F901.
- Engel A, Fujiyoshi Y dan Agre P. (2000). The importance of aquaporin water channel protein structures. *The EMBO J* 19, 800-806.
- Ganong WF (2003). *Review of Medical Physiology*. 21st ed. McGraw-Hill Companies, Inc. India. 247, 717-719.
- Guyton AC dan Hall JE. (2004). *Textbook of Medical Physiology*. 10th ed. Saunders, India. 855.
- Harjanto (2004). Aquaporin Water Channels: Physiology and Medicine. *Folia Medica Indonesiana* 40, 3-9.
- Heymann JB, and Engel A. (1999). Aquaporins: phylogeny, structure and physiology of water channels. *News Physiol Sci* 14, 187-193.
- Kozono D, Yasui M, King LS dan Agre P. (2002). Aquaporin water channels: atomic structure and molecular dynamics meet clinical medicine. *J Clin Invest* 109, 1395-1399.
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D dan Darnell J (2000). *Molekular Cell Biology*. 4th ed. W. H. Freeman and Company, USA. 608-612.
- Marples D, Frokiaer J dan Nielsen S (1999). Long-term regulation of aquaporins in the kidney. *Am J Physiol* 276, F331-F339.
- Nielsen S, Frokier J, Marples D, Kwon T, Agre P dan Knepper A (2002). Aquaporins in the Kidney: From Molecules to Medicine. *Physiol Rev* 82, 205-243.
- Silverthorn DU, Ober WC, Garrison CW dan Silverthorn AC. (2001). *Human Physiology: An Integrated Approach*. 2nd ed. Prentice-Hall Inc. USA. 115, 574-575.

- Valenti G, Procino G, Tamma G, Carosino M dan Svelto M (2005).
Minireview: Aquaporin 2 Trafficking. *Endocrinology* 146 (12), 5063-5070.
- Verkman AS dan Mitra AK. (2000). Structure and function of aquaporin water channels. *Am J Physiol Renal Physiol* 278, F13-F28.
- Verkman AS. (2005). More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J Cell Physiol* 118, 3225-3232.
- Widmaier EP, Raff H dan Strang KT (2006). *Vander's Human Physiology: The Mechanism of Body Function*. 10th ed. McGraw-Hill Companies Inc., USA. 543.