

*Juliane L. Rocha
Eitan Friedman
Wolfgang L. Boson
Luiz De Marco*

RESUMO

O diabetes insipidus nefrogênico (DIN) é uma doença rara caracterizada pela incapacidade do rim de concentrar a urina, a despeito de concentrações normais ou aumentadas do hormônio antidiurético arginina-vasopressina (AVP). Recentes avanços da fisiopatologia renal mostraram que, após a ligação do AVP ao seu receptor AVPR2 (receptor de vasopressina tipo 2), uma cascata de eventos culmina com a reabsorção de água no túbulo coletor, por meio de canais permeáveis exclusivamente à água e localizados nas membranas apicais do túbulo coletor, sendo o mais importante deles a aquaporina-2 (AQP2). A identificação, caracterização e análise mutacional dos genes AVPR2 e AQP2 permitiram estabelecer as bases moleculares de vários tipos hereditários de diabetes insipidus nefrogênico. Aproximadamente 90% desses pacientes apresentam mutações do AVPR2, 8% apresentam mutações no AQP2 e o restante não tem causas identificadas. Nessa revisão apresentamos exemplos de alterações genéticas e sugerimos que o uso de técnicas de biologia molecular pode minimizar as complicações dessa doença heterogênea mas com fenótipo bastante semelhante. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2000;44/4: 290-299**)

Unitermos: Diabetes insipidus nefrogênico; Vasopressina; Aquaporina; Mutação.

ABSTRACT

Nephrogenic diabetes insipidus (NDI) is a rare disease characterized by the kidney failure to concentrate urine despite normal or increased plasma concentrations of the antidiuretic hormone arginine vasopressin (AVP). Recent advances in kidney physiopathology demonstrate that, after AVP binding to its receptor AVPR2 (vasopressin type 2 receptor), a cascade of events leads to water reabsorption in the collecting duct through channels exclusively permeable to water and localized at the apical membranes of these collecting ducts, the most important being aquaporin-2 (AQP2). The identification, characterization and mutational analysis of genes AVPR2 and AQP2 helped to establish the molecular basis of the various types of hereditary nephrogenic diabetes insipidus. Approximately 90% of patients present with mutations of AVPR2, 8% have mutations of AQP2 and the remaining do not have any identifiable causes. In this review, we present examples of such genetic alterations and suggest that the use of molecular biology techniques can minimize the complications of this heterogeneous disease that presents with similar phenotype. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2000;44/4: 290-299**)

Keywords: Nephrogenic diabetes insipidus; Vasopressin; Aquaporin; Mutation.

Departamento de Farmacologia (JLR, WLB, LDM), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil e The Susanne Levy Gertner Oncogenetics Unit (EF), Institute of Genetics, Chaim Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israel.

*Recebido em 13/09/1999
Revisado em 18/02/2000
Aceito em 10/04/2000*

FISIOPATOLOGIA

A MANUTENÇÃO DO EQUILÍBRIO hídrico-eletrolítico é feita através da regulação do volume de água extracelular e da concentração plasmática do íon sódio. Os mecanismos pelos quais esse controle é feito são vários e asseguram um desvio mínimo, da ordem de menos de 1%, no volume sanguíneo e concentração de sódio em indivíduos adultos saudáveis. O total da água corpórea e, conseqüentemente, a concentração total de sódio é regulada primariamente pela excreção renal de água livre, mediada pelas ações do hormônio antidiurético arginina-vasopressina (AVP).

A arginina-vasopressina (AVP) teve seus efeitos descritos pela primeira vez em 1895, por Oliver e Schafer, que observaram atividade vasopressora em extratos hipofisários. Posteriormente, Farmi & Von den Velden (1913) e Starling & Verney (1925) demonstraram que injeções subcutâneas de extratos de neurohipófise eram capazes de produzir um efeito antidiurético. Devido aos seus efeitos vasopressores, a substância ativa foi denominada *vasopressina* e pelos seus efeitos de reabsorção de água nos rins, recebeu o nome *hormônio antidiurético*. Esse hormônio é um nonapeptídeo de peso molecular 1228; é sintetizado nos neurônios magnocelulares, localizados nos núcleos paraventricular e supraóptico do hipotálamo, na forma de um precursor denominado pré-pró-pressofisina, um polipeptídeo cuja porção inicial corresponde a um peptídeo sinalizador, seguido pela vasopressina, sua neurofisina carreadora e, na região terminal, uma glicoproteína. Com a remoção do peptídeo sinalizador, a pré-pró-pressofisina é convertida em pró-pressofisina que é armazenada em grânulos pelo complexo de Golgi. Os grânulos de armazenamento migram ao longo do axônio em direção aos terminais nervosos localizados na hipófise posterior, onde o hormônio é liberado. Durante o transporte, a pró-pressofisina é clivada, resultando em três peptídeos: a vasopressina, uma neurofisina de peso molecular 10kD e uma glicoproteína (1,2).

Como outros hormônios hidrofílicos, o AVP é liberado na circulação periférica, sendo encontrado no plasma não associado a proteínas carreadoras. Apresenta meia vida plasmática de aproximadamente 5 minutos e a duração de seus efeitos biológicos nos rins é de aproximadamente 30 segundos. Sua liberação é por osmorreceptores presentes na região anteroventral do terceiro ventrículo. Um aumento na osmolalidade plasmática, mesmo da ordem de 1 a 2%, é detectado pelos osmorreceptores, estimulando então a secreção da vasopressina, cuja concentração sérica varia de forma diretamente proporcional ao aumento da osmolalidade plasmática,

diminuindo significativamente o volume urinário. Outro fator de regulação é o volume sanguíneo, monitorado por receptores vasculares. Os barorreceptores são muito menos sensíveis que os osmorreceptores, detectando apenas mudanças drásticas na pressão arterial e sendo necessária uma queda no volume sanguíneo da ordem de 10 a 15% para estimular a secreção de AVP via barorreceptores. Além desses receptores, a regulação neural e a idade podem, também, ser considerados como fatores de regulação da liberação de vasopressina (2).

O principal efeito fisiológico do AVP consiste na conservação de água no organismo, através da formação de urina hipertônica (2,3). Além da atividade antidiurética, o AVP possui ação vasoconstritora e, em altas concentrações, promove a contração da musculatura lisa no trato gastrointestinal e no útero. Apresenta também efeitos na coagulação sanguínea, devido a aumento nos níveis séricos dos fatores de coagulação VIIIc e de Von Willebrand e, no sistema nervoso central, causa bradicardia, aumento na frequência respiratória e modulação do padrão do sono, atuando ainda sinergisticamente com o CRH para modular a secreção de ACTH.

No processo normal de antidiurese (3), estabelece-se equilíbrio osmótico entre o líquido luminal hipotônico dos ductos coletores e o interstício medular hipertônico; em conseqüência, há reabsorção de água, diminuição do volume urinário, concentração da urina e conservação da água corporal. O aumento da permeabilidade à água, mediado pelo AVP, é decorrente de aumento hormônio-dependente do número de canais de água, específicos (2,4), que permitem a passagem de água, porém excluem uréia e sódio. Conseqüentemente, a concentração desses solutos no líquido luminal aumenta, criando um gradiente favorável para a difusão passiva de uréia nos ductos coletores, do parênquima medular para o interstício, o que mantém a hipertonicidade intersticial. O AVP também provoca pequeno aumento da permeabilidade à uréia no ducto papilar, favorecendo o movimento passivo da mesma, a favor de seu gradiente de concentração, através do interstício medular. A osmolalidade intersticial é também aumentada pelo aumento da velocidade de absorção de sal pelo ramo ascendente espesso da porção medular da alça de Henle (TALHm), induzida pelo AVP. Esse processo envolve o transporte eletroneuro de sódio, potássio e cloreto do líquido luminal para o interstício celular; praticamente todo o potássio que penetra nas células por esse processo é reciclado de volta ao líquido luminal, por canais de potássio específicos. Assim, pode-se dizer que o mecanismo de concentração urinária do AVP

decorre do aumento da permeabilidade à água dos ductos coletores e do aumento da osmolalidade intersticial medular, via intensificação da velocidade de absorção de sal pelo TALHm (2,3).

Na ausência de AVP, ou quando existem alterações no receptor renal de AVP, a permeabilidade dos ductos coletores à água é mínima. Com isso, há alteração do equilíbrio osmótico entre o líquido que passa através dos ductos coletores e o interstício medular. Assim, a maior parte do líquido é eliminada como urina hipotônica.

Na célula, o AVP tem ações mediadas através da ligação a, pelo menos, dois tipos de receptores de membrana específicos, de configurações semelhantes, com duas regiões conservadas (5), mas cujos mecanismos e funções são bastante diferentes. A estimulação dos receptores do primeiro tipo (receptores VI) aumenta a concentração de cálcio no citosol, estimulando a quebra de fosfatidil-inositol; são, portanto, análogos funcionais dos receptores α_1 -adrenérgicos e H_1 -histamínicos. Os do segundo tipo (receptores V2, AVPR2) controlam a adenilato ciclase e são, portanto, análogos aos receptores β -adrenérgicos e H_2 -histamínicos.

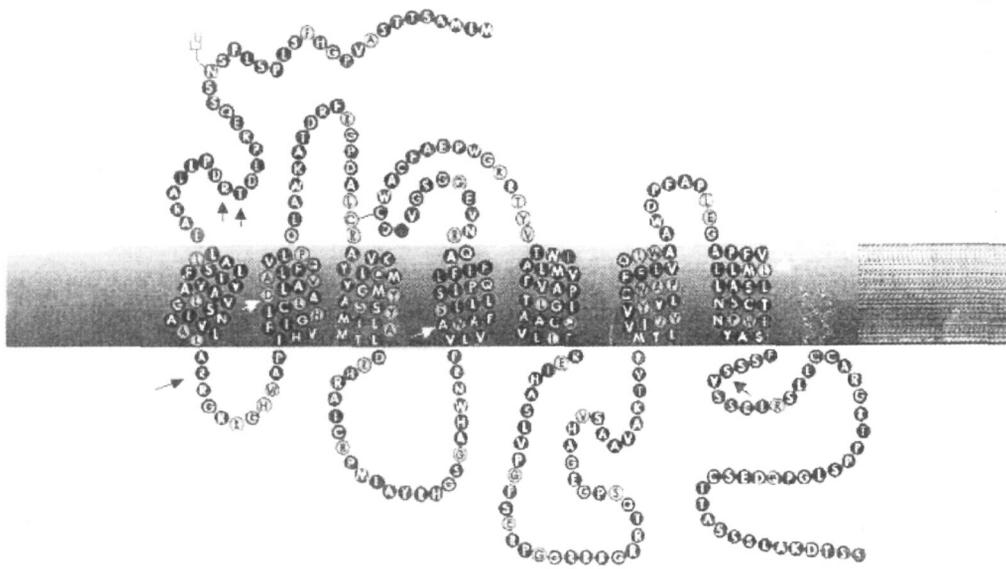
Os receptores V2 estão presentes nas superfícies basolaterais do epitélio renal (2) e são responsáveis pela ação antidiurética do AVP nas células do ducto coletor e porção ascendente da alça de Henle (6). O gene que codifica o receptor V2 humano, localizado no braço longo do cromossoma X, na região Xq27-q28 (7), foi clonado por Birnbaumer et al. em 1992 (8). A sequência do cDNA foi feita a partir de um inserto de 1,7Kb, identificando-se uma cadeia de 1.663 nucleotídeos (nt) de comprimento, com uma janela de leitura (*open reading frame*) de 1.113nt, apresentando três exons e dois pequenos introns (9).

A análise teórica da proteína correspondente ao receptor mostrou um perfil característico dos receptores com sete segmentos trans-membrana. Esse dado, aliado à comparação com outras sequências de receptores já clonados, indicaram ser o AVPR2 um membro da família dos receptores acoplados à proteína G. Portanto, os receptores AVPR2 apresentam sete segmentos trans-membrana, com regiões conservadas que podem ser identificadas em todos os membros da família (figura 1). É possível identificar duas outras regiões, idênticas nos receptores VI e V2 de vasopressina e também nos receptores de oxitocina, que não estão presentes nos outros receptores da família. Essas regiões provavelmente estão relacionadas com o reconhecimento do receptor pelo ligante, sendo locais de grande interesse para análises de mutação e estrutura-função (5).

A proteína G acoplada ao receptor apresenta três sub-unidades denominadas α , β e γ . A ligação ao receptor produz uma modificação conformacional que é transmitida à proteína G, causando a troca de uma molécula de GDP ligada à sub-unidade α por uma de GTP (forma ativa) (10). As proteínas G, quando ativadas, estimulam a produção de adenosina monofosfato cíclico, induzindo modificações na estrutura do citoesqueleto. Vesículas citoplasmáticas contendo canais de água (aquaporinas) são mobilizadas, migram em direção à membrana luminal com a qual se fundem. Como consequência da incorporação desses canais à membrana, há aumento da permeabilidade à água que, então, é reabsorvida, diminuindo a eliminação de água livre e, com isso, aumentando a osmolalidade urinária (figura 2).

O transporte de água através das membranas biológicas é feito basicamente por dois mecanismos distintos: a difusão através da bicamada lipídica ou o transporte por canais de água. Recentemente, foi identificada uma família de proteínas trans-membrana que funcionam como canais de água, denominadas *aquaporinas* (4). São moléculas de aproximadamente 30kD, pertencentes a uma grande família de proteínas de membrana, relacionadas com a MIP 26 (*Major Intrinsic Protein of Mammalian Lens*), formam canais não iônicos. A denominação aquaporina foi dada a um pequeno grupo de proteínas da família MIP, devido à capacidade dessas de formar canais permeáveis exclusivamente à água (4). Como as outras proteínas dessa família, as aquaporinas possuem seis segmentos trans-membrana, com as extremidades N-terminal e C-terminal localizadas no meio intracelular, e apresentam regiões conservadas características, possuindo alto grau de homologia com a MIP. Vários membros da família das aquaporinas têm sido descritos, com localização e características particulares, e nomeados seguindo ordem numérica crescente, de acordo com sua ordem de identificação. A localização específica de cada aquaporina é variada, porém essas proteínas podem ser encontradas mais abundantemente nos rins, onde há maior transporte de água no organismo (11).

A aquaporina 2 (AQP2 - OMIM 17777), inicialmente chamada WCH-CD (*Water Channel of the Collecting Duct*), é uma proteína de 28kD, encontrada apenas nas membranas apicais do túbulo coletor (12), estando presente em abundância no interior de vesículas localizadas nas proximidades da membrana apical. A localização restrita dessas proteínas sugere ser esse o canal de água regulado pela vasopressina. O gene que codifica essa proteína foi localizado no braço longo do cromossoma 12, na região 12q12-q13 (13)



Adaptado da NDI Foundation

Figura 1. Representação esquemática do receptor tipo 2 do AVP (AVPR2), com a identificação de várias mutações descritas (círculos escuros). As mutações encontradas nos pacientes brasileiros estão individualizadas por seta (figura adaptada da NDI Foundation).

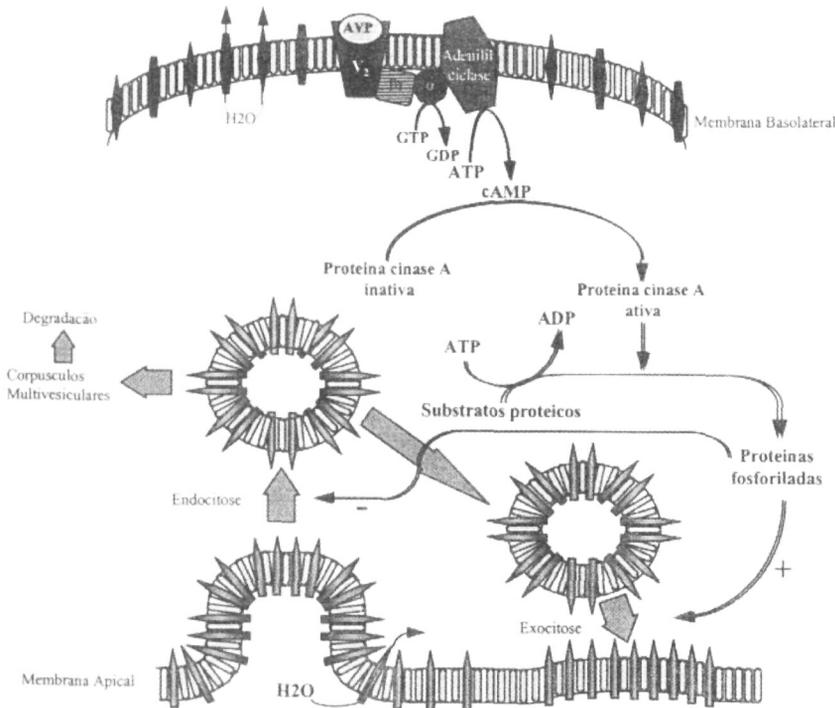


Figura 2. Mecanismos gerais de reabsorção de água no túbulo coletor, mediada pela ativação do receptor tipo 2 da vasopressina (AVPR2) e consequente expressão dos canais de água (aquaporinas).

e a seqüência do cDNA foi feita a partir de um inserto de 0,9Kb, sendo identificada uma janela de leitura de 813bp (14,15).

A identificação, a caracterização e a análise mutacional de dois diferentes genes - o receptor V2 da vasopressina (AVPR2) e o canal de água sensível à vasopressina (AQP2) - colaboraram para a elucidação dos três tipos hereditários distintos de diabetes insipidus nefrogênico (DIN) atualmente conhecidos: o tipo ligado ao cromossoma X (*Online Mendelian Inheritance in Man*, OMIM 301800) e os dois tipos autossômicos, o dominante (OMIM 125800) e o recessivo (OMIM 222000). A grande maioria dos pacientes (>90%) apresenta mutações no AVPR2 (cromossoma X) e aproximadamente 8% têm mutação em AQP2 (16-19); os 2% restantes podem apresentar alterações em outros genes (20,21) ou mesmo em genes ainda não descritos (22).

ASPECTOS GENÉTICOS E CLÍNICOS

O diabetes insipidus nefrogênico (DIN) é uma rara doença renal, caracterizada pela impossibilidade de concentrar a urina, apesar da concentração sanguínea normal ou aumentada de AVP. Em geral, a doença é caracterizada por início na infância, história familiar positiva, sede persistente, poliúria e hipostenúria resistente à administração de vasopressina. É importante salientar que pacientes com outras formas de diabetes insipidus podem apresentar a sintomatologia acima descrita e pacientes com ingesta diária de água superior a 18 litros não tem DIN (provavelmente têm polidipsia primária).

Devido a sua localização no cromossoma X (Xq28), mutações inativadoras no receptor AVPR2 causam um fenótipo caracterizado por episódios de desidratação logo após o nascimento, hipernatremia e hipertermia. Os episódios de desidratação podem ser tão severos que diminuem a pressão de perfusão arterial, levando a uma oxigenação deficiente do cérebro, rins e outros órgãos e, conseqüentemente, retardo mental, insuficiência renal etc. As pacientes heterozigotas (portadoras) apresentam graus variáveis de poliúria e polidipsia por causa da inativação preferencial do cromossoma X (*skewed X-inactivation*) (23,24). Uma vez que indivíduos do sexo feminino possuem dois cromossomos X, podendo assim apresentar perfil genético homocigoto ou heterocigoto para os genes contidos nesse cromossomo, a determinação do caráter dominante ou recessivo de uma doença ligada ao cromossoma X diz respeito somente à sua manifestação em mulheres. Indivíduos do sexo masculino, por possuírem apenas um exemplar do cro-

mossoma X, são denominados hemizigotos, não sendo afetados por variações de caráter dominante ou recessivo para uma doença ligada ao X, como as observadas em mulheres. Pelo fato de indivíduos do sexo feminino possuírem dois cromossomos X, seria esperado que os genes contidos em ambos os cromossomos fossem expressos, resultando em concentrações das proteínas derivadas desses genes duas vezes maiores que as encontradas em indivíduos do sexo masculino. Isso, entretanto, não ocorre e, pela teoria da "lionização" (23), chegou-se à conclusão de que nas células do sexo feminino, apenas um dos cromossomos X se encontra ativo. Durante a diferenciação, o outro cromossomo se torna inativo, formando o corpúsculo de Barr. Essa inativação é aleatória, havendo, teoricamente, possibilidades iguais para a inativação do cromossomo paterno ou do materno. Uma vez inativado, o cromossomo assim permanece em células derivadas da mesma linhagem. Conseqüentemente, em teoria, uma mulher terá o cromossomo paterno ativo em metade das células do seu organismo, enquanto na outra metade o cromossomo materno estará ativo. Sendo assim, o perfil genotípico normal de um indivíduo do sexo feminino, no que diz respeito ao cromossoma X, é em mosaico. Entretanto, essa proporção de 50% não é real, havendo possibilidade de, uma vez ocorrido o processo de inativação, qualquer um dos dois cromossomos permanecer ativo. Uma das causas é a presença de uma mutação genética que ocasione grandes alterações funcionais na célula, de forma que essa célula apresente maior dificuldade em sobreviver. Assim, a tendência seria a de inativação do cromossoma "defeituoso" e a conseqüente predominância (ou até mesmo exclusividade) do cromossoma normal ativo nas células do organismo da portadora de tal mutação. Caso haja predominância do cromossoma mutado, ocorrerá a inativação preferencial do cromossoma X normal.

No caso da doença ser de origem autossômica (AQP2), as manifestações clínicas são semelhantes às causadas pelas mutações no AVPR2. Uma característica interessante é que os recém-nascidos são bastante inquietos, choram constantemente e, embora ansiosos por sugar, regurgitam o leite logo após a sucção, a não ser que antes lhes seja oferecida água.

Até alguns anos atrás, acreditava-se que todos os casos de DIN fossem originários de uma única família de escoceses que emigraram para o Canadá em 1761, a bordo do navio Hopewell (25). A partir da descoberta do gene AVPR2, tornou-se evidente que esse conceito é errôneo, embora haja uma enorme concentração de famílias com DIN no Canadá, mais precisamente na

região da Nova Scotia. No Brasil foram descritas até o presente oito famílias com DIN (22,26). Estimando-se uma prevalência de aproximadamente quatro por milhão de indivíduos do sexo masculino e uma frequência de portadoras de $7,4 \times 10^{-6}$ (27), é razoável supor que existam muito mais famílias com DIN no nosso país, embora enfatizemos a raridade da doença.

Mais de 100 mutações do AVPR2, ocorrendo em 239 famílias, foram identificadas até hoje, além de três polimorfismos genéticos, não relacionados a alterações funcionais (28-30), mostrando uma enorme diversidade étnica (Bichet DG, comunicação pessoal) e demonstrando a raridade da doença que, no passado, era letal para a maioria dos pacientes do sexo masculino. Além disso, demonstramos, pela primeira vez, a existência de um polimorfismo no gene AQP2 (22). Nas doenças ligadas ao cromossomo X, a perda do alelo mutante na população ocorre por causa da maior mortalidade dos indivíduos do sexo masculino afetados quando comparados com os indivíduos normais, enquanto o ganho de alelos mutantes ocorre por mutações *de novo* (novas mutações). Esses dados foram recentemente confirmados, baseados em haplotipagem e identificação de mutações *de novo* em 49 famílias, nas quais 14 mutações diferentes ocorreram em mais de uma família, indicando que apareceram independentemente, em quase todas as famílias (31). No Brasil, foi demonstrada a existência de oito famílias com DIN, não relacionadas entre si e provenientes das regiões sudeste e sul do país.

Os estudos até hoje realizados, caracterizando funcionalmente os mutantes do receptor AVPR2, mostram a perda de função devido a defeitos na sua síntese, processamento, transporte intracelular, ligação ao hormônio AVP ou interação com o sistema proteína G/adenilato ciclase. Além disso, estudos funcionais em mutações do gene AQP2 revelaram que o principal defeito está relacionado ao transporte intracelular do canal de água (32-35).

Na família #4, por nós descrita (22), encontramos uma alteração no segundo exon do gene AVPR2, na região codificadora do quarto segmento trans-membrana, resultando na alteração de um aminoácido, distante quatro resíduos da segunda alça intracelular (A163P). Nessa mesma região outras mutações foram descritas (W164S, S167L, S167W), em codons vizinhos (36-38). A substituição de um resíduo de aminoácido de baixo peso molecular por um de peso molecular aproximadamente 1,3 vezes maior, produzir um deslocamento espacial da molécula, modificando de sua estrutura terciária. A troca de alanina por prolina altera a estrutura terciária do recep-

tor, causando o rearranjo da α -hélice e modificando a tensão das forças eletroquímicas que sustentam a conformação espacial da molécula, alterando o posicionamento do segmento trans-membrana e, possivelmente, estendendo esses efeitos de alteração estrutural às alças intra e extracelulares mais próximas, o que resultaria na diminuição da capacidade do receptor em interagir com a proteína G. Consequentemente, a capacidade de ativação da adenilato ciclase é prejudicada, alterando toda a cascata de eventos que culminaria com a reabsorção de água livre no ducto coletor renal, resultando no quadro de diabetes insipidus.

Um outro tipo de mutação, também descrito por nosso grupo, foi encontrado na família #1 (22). A porção C-terminal da molécula do AVPR2 é de extrema importância para a ativação da proteína G através da ligação do hormônio a seu receptor, iniciando a cascata de eventos que resultarão na função fisiológica do hormônio (39-41). A ocorrência de um receptor apresentando uma região C-terminal extracelular (deveria ser intracelular) resulta na perda de função do sistema, através do bloqueio da ativação da proteína G pela ligação do hormônio ao receptor, uma vez que o hormônio, embora presente, não tem acesso a seu sítio de acoplamento ao receptor. Os resultados obtidos nas análises realizadas nos membros dessa família demonstraram a existência de uma deleção no início do último exon do gene do receptor (312delT), causando uma mudança na janela de leitura, que resulta na perda do codon de parada (*stop codon*) em sua posição original, aumentando a molécula da proteína codificada em 273 bases, ou 91 aminoácidos. Além da alteração do tamanho da proteína, a modificação dos resíduos a partir do início do sétimo segmento trans-membrana promove uma alteração espacial desse segmento, modificando a conformação da região correspondente ao C-terminal do receptor nativo. Na proteína mutada, no entanto, esta região se transforma na quarta alça intracelular, havendo mais um segmento trans-membrana na molécula, resultando em uma porção C-terminal extracelular.

Os dados acima reafirmam a idéia de que o diabetes insipidus nefrogênico é uma doença geneticamente heterogênea, onde um mesmo fenótipo pode ser causado por diferentes formas de inativação de um dado gene, ou mesmo da inativação de outros genes relacionados ao transporte de água no ducto coletor renal. Dentre os canais de água até hoje descritos, a literatura mostra que, embora a AQP2, AQP5 e AQP6 estejam no mesmo locus, 12q13 (13,14), eles distam aproximadamente 500kb (kilobases) uns dos outros. Assim, parece que os genes dos canais de água estão

agrupados e provavelmente derivaram de um mesmo ancestral filogenético.

O papel da AQP2 no DIN tem proporcionado algumas respostas a antigos problemas clínicos. Uma das mais freqüentes causas de DIN é o uso de carbonato de lítio em pacientes com doença afetiva bipolar, e 20 a 40% desses pacientes apresentam poliúria (42). Estudos *in vitro*, utilizando rim de rato, demonstraram claramente que a expressão da AQP2 foi drasticamente reduzida pelo lítio nas membranas da medula renal (43). Nesse mesmo trabalho, foi demonstrado grande aumento da expressão de AQP2, coincidente com o aumento da osmolalidade urinária, em ratos aos quais foi administrado dDAVP por sete dias ou que foram submetidos a dois dias de restrição hídrica, a despeito da co-administração de carbonato de lítio. Esses dados são consistentes com as observações clínicas do lento retorno a um volume urinário normal nos pacientes em uso de carbonato de lítio. Outras alterações funcionais podem causar DIN, tais como hipocalemia, obstrução ureteral e dieta hipoprotéica; e estudos em ratos mostraram haver uma diminuição da expressão da AQP2 nesses casos (44-46). Entretanto, a comprovação de que essas alterações têm significado no ser humano ainda dependem de futuros estudos.

DIAGNÓSTICO

A história familiar geralmente mostra o tipo de herança mendeliana (figura 3). Entretanto, como historicamente demonstrado na família Hopewell, essa herança

pode ser considerada socialmente degenerada e algumas vezes escondida, mesmo nos dias atuais. No caso da família Hopewell, diz a lenda que a doença foi causada pela maldição de uma cigana (25).

O diagnóstico pode ser confirmado por um simples e rápido teste de restrição hídrica seguido da administração subcutânea de 1,2µg (5 unidades) de desmopressina (1-desamino-8-arginina vasopressina, dDAVP), um análogo sintético da vasopressina. No teste de restrição hídrica, a osmolalidade urinária alcançada no máximo da desidratação, em pacientes com DIN, aumenta menos de 10% após a administração de vasopressina. Pacientes com moderada poliúria podem iniciar o teste na noite precedente ao mesmo; pacientes com severa poliúria devem iniciar o teste no mesmo dia, permitindo observação constante. Em geral, o tempo necessário para alcançar a osmolalidade urinária máxima varia entre 4 e 18 horas. O teste se inicia com medidas das osmolalidades plasmática e urinária, *ad libitum*. Toda a ingestão de líquidos é suspensa e medidas horárias do peso corporal, osmolalidades urinária e plasmática e dosagem da vasopressina plasmática (opcional) são obtidas. Caso não haja disponibilidade da medida das osmolalidades pelo osmômetro, é possível uma estimativa da osmolalidade plasmática (ou urinária) através da fórmula:

$$\text{osmolalidade} = 2 \times ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) + (\text{glicemia} + 18),$$
 onde $[\text{Na}^+]$ e $[\text{K}^+]$ correspondem às concentrações plasmáticas (ou urinárias) de Na^+ e K^+ .

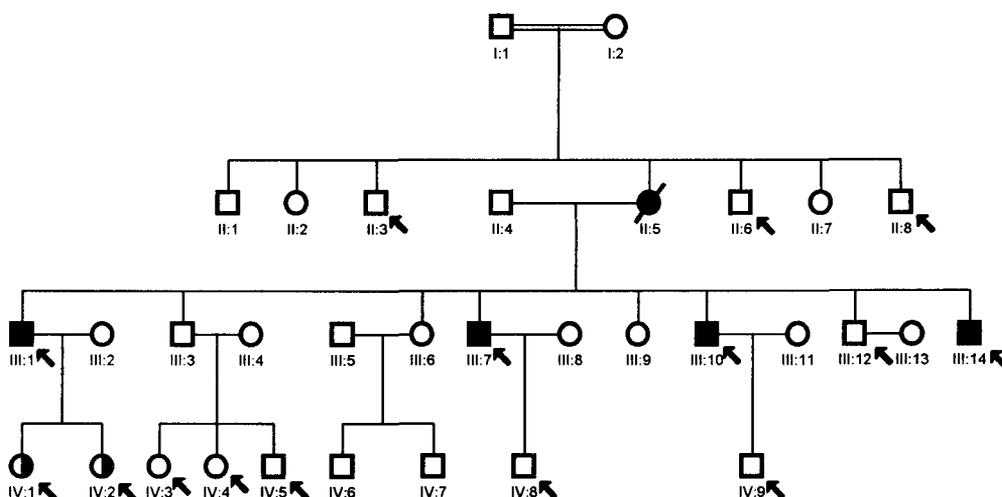


Figura 3. Heredograma de uma típica família com diabetes insipidus nefrogênico, com herança ligada ao cromossomo X. O DNA dos indivíduos marcado com seta foi sequenciado. O heredograma foi adaptado da figura 1 de Rocha et al. (22).

Em qualquer situação, o uso da densidade urinária como sinônimo de osmolalidade não tem nenhum valor. A duração do teste de restrição hídrica não deve ultrapassar um total de quatro horas, principalmente em crianças. A concentração plasmática de Na⁺ jamais deverá exceder 150mmol/l e os longos testes realizados no passado, descritos na literatura, não devem ser repetidos. Quando dois valores seqüenciais da osmolalidade urinária variarem menos que 30mmol/litro, ou quando houver perda de 3 a 5% do peso corporal, 1,2µg de vasopressina é administrado por via subcutânea. Nos pacientes com DIN, as osmolalidades urinárias serão sempre menores que a osmolalidade plasmática. Se for excluída a hipótese de polidipsia primária, o paciente poderá ingerir água *ad libitum*, após a administração do dDAVP. Uma medida final da osmolalidade urinária é feita 1 hora após a administração do dDAVP. Pacientes com DIN não respondem à restrição hídrica e à administração de dDAVP. No caso das pacientes heterozigotas, é possível um aumento da osmolalidade urinária após o dDAVP, mas esse aumento é bem menor do que o esperado na população normal (26). Quando o paciente for portador de DIN causado por mutação no gene AQP2, a administração de dDAVP causará respostas extra-renais tais como o aumento dos fatores de coagulação VIII e de von Willebrand e uma vasodilatação, o que não ocorre na DIN.

Todas as complicações do DIN podem ser prevenidas por um adequado balanço hídrico. A terapêutica clássica compreende, além da ingesta adequada de líquidos, o uso de uma dieta hipossódica, de diuréticos tiazídicos (qualquer tiazídico), amilorida, indometacina ou suas combinações (47-49). Em geral, as doses isoladas diárias de hidroclorotiazida variam entre 25 e 50mg, as de amilorida entre 5 e 20mg e as de indometacina entre 100 e 500mg.

Os efeitos da terapêutica medicamentosa na diminuição da poliúria (geralmente em torno de 40%) devem ser bem analisados, já que os tiazídicos e a amilorida podem causar distúrbios hidro-eletrolíticos e a indometacina pode ocasionar redução do ritmo de filtração glomerular, bem como sintomas gastrointestinais. O uso de dDAVP não tem lugar no tratamento do DIN. Entretanto, recentemente, foi mostrado que a administração de dDAVP em um paciente de 8 anos de idade, com diagnóstico confirmado de DIN (mutação em AVPR2) e enurese noturna, causou melhora substancial da enurese, sugerindo que receptores centrais AVPR2 têm um papel na fisiopatologia da enurese (50). É válido ressaltar que algumas pacientes heterozigotas sintomáticas podem diminuir o volume

urinário após o uso de dDAVP nasal (10 a 40µg por dia, em doses fracionadas). No mercado internacional, esse medicamento já existe na forma de comprimidos, cujo efeito se inicia aproximadamente uma hora após a administração oral e tem duração de 8 a 12 horas (100-400µg por dia).

CONCLUSÕES

Nos últimos sete anos, a partir da clonagem e seqüenciamento do receptor V2 da vasopressina (AVPR2) e dos canais de água, principalmente do canal de água aquaporina 2 (AQP2), os estudos dos eventos celulares e moleculares que controlam as ações do hormônio antidiurético permitem a aplicação desses conhecimentos para minimizar as complicações do diabetes insipidus nefrogênico. O uso das técnicas de biologia molecular, com o seqüenciamento desses dois genes no DNA de indivíduos com DIN e famílias com história e heredogramas sugestivos de DIN, está plenamente indicado. Os resultados desses testes são especialmente benéficos para distinguir, nos indivíduos do sexo feminino, aquelas que são portadoras e cujos recém-nascidos possam necessitar de observação clínica atenta.

REFERÊNCIAS

1. Richter D. Molecular events in expression of vasopressin and oxytocin and their cognate receptors. **Am J Physiol** 1988;255:F207-19.
2. Reeves WB, Bichet DG, Andreoli TE. Posterior pituitary and water metabolism. In: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, eds. **Williams Textbook of Endocrinology**. 9th ed. Philadelphia:WB Saunders, 1998:341-88.
3. Knepper MA, Rector FC Jr. Urine concentration and dilution. In: Brenner BM, ed. **The Kidney**. 2nd ed. Philadelphia:WB Saunders, 1996:532-70.
4. Agre P, Sasaki S, Chrispeels MJ. Aquaporins: a family of water channel proteins. **Am J Physiol** 1993;265:F461.
5. Sharif M, Hanley MR. Peptide receptors. Stepping up the pressure. **Nature** 1992;357:279-80.
6. Jans DA, Oost BA, Ropers HH, Fahrenholtz F. Derivatives of somatic cell hybrids which carry the human gene locus for nephrogenic diabetes insipidus (NDI) express functional vasopressin renal V2-type receptors. **J Biol Chem** 1990;265:15379-82.
7. Kambouris M, Dlouhy SR, Trofatter JA, Conneally PM, Hodes ME. Localization of the gene for X-linked nephrogenic diabetes insipidus to Xq28. **Am J Med Genet** 1988;29:239-46.
8. Birnbaumer M, Seibold A, Gilbert S, Ishido M, Barberis C, Antaramian A, et al. Molecular cloning of the receptor for human antidiuretic hormone. **Nature** 1992;357:333-7.

9. Seibold A, Brabet P, Rosenthal W, Birnbaumer M. Structure and chromosomal localization of the human antidiuretic hormone receptor gene. **Am J Hum Genet** 1992;51:1078-83.
10. Dohlman HG, Thorner J, Caron MG, Lefkowitz RJ. Model systems for the study of seven-transmembrane segment receptors. **Annu Rev Biochem** 1991;60:653-88.
11. Nielsen S, Kwon TH, Christensen BM, Promeneur D, Frokiaer J, Marples D. Physiology and pathophysiology of renal aquaporins. **J Am Soc Nephrol** 1999;10:647-63.
12. Nielsen S, Smith BL, Christensen EI, Knepper MA, Agre P. CHIP 28 water channels are localized in constitutively water-permeable segments of the nephron. **J Cell Biol** 1993;120:371-83.
13. Deen PMT, Weghuts DO, Sinke RJ, Geurts van Kessel A, Wieringa B, van Os CH. Assignment of the human gene for the water channel of renal collecting duct aquaporin-2 (AQP-2) to chromosome 12 region q12-q13. **Cytogenet Cell Genet** 1994;66:260-2.
14. Sasaki S, Fushimi K, Saito H, Saito F, Uchida S, Ishibashi K, et al. Cloning, characterization, and chromosomal mapping of human aquaporin of collecting duct. **J Clin Invest** 1994;93:1250-6. Published erratum appears in **J Clin Invest** 1994;94:216.
15. Uchida S, Sasaki S, Fushimi K, Marumo F. Isolation of human aquaporin-CD gene. **J Biol Chem** 1994;269:23451-5.
16. Deen PM, Verdijk MA, Knoers NV, Wieringa B, Monnens LA, van Os CH, et al. Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for the vasopressin-dependent concentration of urine. **Science** 1994;264:92-5.
17. van Lieburg AF, Verdijk MA, Knoers VVAM, van Essen AJ, Proesmans W, Mallmann R, et al. Patients with autosomal nephrogenic diabetes insipidus homozygous for mutations in the aquaporin-2 water-channel gene. **Am J Hum Genet** 1994;55:648-52.
18. Hochberg Z, Van Lieburg A, Even L, Brenner B, Lanir N, Van Oost BA, et al. Autosomal recessive nephrogenic diabetes insipidus caused by an aquaporin-2 mutation. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:686-68.
19. Mulders SM, Bichet DG, Rijss JP, Kamsteeg EJ, Arthus MF, Lonergan M, et al. An aquaporin-2 water channel mutant which causes autosomal dominant nephrogenic diabetes insipidus is retained in the Golgi complex. **J Clin Invest** 1998;102:57-66.
20. Simon DB, Bindra RS, Mansfield TA, Nelson-Williams C, Mendonca E, Stone R, et al. Mutations in the chloride channel gene, CLCNKB, cause Bartter's syndrome type III. **Nat Genet** 1997;17:171-8.
21. Matsumura Y, Uchida S, Kondo Y, Miyazaki H, Ko SB, Hayama A, et al. Overt nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking the CLC-K1 chloride channel. **Nat Genet** 1999;21:95-8.
22. Rocha JL, Friedman E, Boson WL, Moreira A, Liberman B, Figueiredo B, et al. Molecular analyses of the vasopressin type 2 receptor and aquaporin-2 genes in Brazilian kindreds with nephrogenic diabetes insipidus. **Hum Mutat** 1999;14:233-9.
23. Lyon MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L). **Nature** 1961;190:372-3.
24. Puck JM, Willard HF. X inactivation in females with X-linked disease. **N Engl J Med** 1998;338:325-8.
25. Bode HH, Crawford JD. Nephrogenic diabetes insipidus in North America - the Hopewell Hypothesis. **N Engl J Med** 1969;280:750-4.
26. Friedman E, Bale A, Carson E, Boson WL, Nordenskjöld M, Ritzen EM, et al. Nephrogenic diabetes insipidus: a novel x-linked dominant inheritance pattern and normal structural V2 receptor gene. **Proc Natl Acad Sci USA** 1994;91:8457-61.
27. Bichet DG, Hendy GN, Lonergan M, Arthus MF, Ligier S, Pausova Z, et al. X-linked nephrogenic diabetes insipidus: from the ship Hopewell to RFLP studies. **Am J Hum Genet** 1992;51:1089-102.
28. Friedman E, Carson E, Larsson C, De Marco L. A polymorphism in the coding region of the vasopressin type 2 receptor (V2(R)) gene. **Hum Mol Genet** 1993;2:1746.
29. Wenkert D, Schoneberg T, Merendino JJ Jr, Rodriguez Pena MS, Vinitzky R, Goldsmith PK, et al. Functional characterization of five V2 vasopressin receptor gene mutations. **Mol Cell Endocrinol** 1996;124:43-50.
30. Rocha JL, Moreira A, Friedman E, Liberman B, Silva BC, De Marco L. A novel polymorphism in the coding region of the vasopressin type 2 receptor gene. **Braz J Med Biol Res** 1997;30:443-5.
31. Arthus MF, Lonergan M, Crumley J, Naumova K, Morin D, De Marco L, et al. Report of 33 novel mutations and analysis of 117 families with X-linked nephrogenic diabetes insipidus. **J Am Soc Nephrol** 2000;11:1044-54.
32. Mulders SM, Knoers NV, Van Lieburg AF, Monnens LA, Leumann E, Wuhl E, et al. New mutations in the AQP2 gene in nephrogenic diabetes insipidus resulting in functional but misrouted water channels. **J Am Soc Nephrol** 1997;8:242-8.
33. Goji K, Kuwahara M, Gu Y, Matsuo M, Marumo F, Sasaki S. Novel mutations in aquaporin-2 gene in female siblings with nephrogenic diabetes insipidus: evidence of disrupted water channel function. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:3205-9.
34. Kamsteeg EJ, Wormhoudt TA, Rijss JP, van Os CH, Deen PM. An impaired routing of wild-type aquaporin-2 after tetramerization with an aquaporin-2 mutant explains dominant nephrogenic diabetes insipidus. **EMBO J** 1999;18:2394-400.
35. Ward DT, Hammond TG, Harris HW. Modulation of vasopressin-elicited water transport by trafficking of aquaporin 2-containing vesicles. **Annu Rev Physiol** 1999;61:683-97.
36. Bichet D, Birnbaumer M, Lonergan M, Arthus MF, Rosenthal W, Goodyer P, et al. Nature and recurrence of AVPR2 mutations in X-linked nephrogenic diabetes insipidus. **Am J Hum Genet** 1994;55:278-86.
37. Knoers NV, van den Ouweland AM, Verdijk M, Monnens LA, van Oost BA. Inheritance of mutations in the V2 receptor gene in thirteen families with nephrogenic diabetes insipidus. **Kidney Int** 1994;46:170-6.
38. Oksche A, Schulein R, Rutz C, Liebenhoff U, Dickson J, Muller H, et al. Vasopressin V2 receptor mutants that cause X-linked nephrogenic diabetes insipidus: analysis of expression, processing, and function. **Mol Pharmacol** 1996;50:820-8.

39. Sadeghi H, Robertson GL, Bichet DG, Innamorati G, Birnbaumer M. Biochemical basis of partial nephrogenic diabetes insipidus phenotypes. **Mol Endocrinol** 1997;11:1806-13.
40. Oksche A, Dehe M, Schulein R, Wiesner B, Rosenthal W. Folding and cell surface expression of the vasopressin V2 receptor: requirement of the intracellular C-terminus. **FEBS Lett** 1998;424:57-62.
41. Schoneberg T, Schulz A, Biebermann H, Gruters A, Grimm T, Hubschmann K, et al. V2 vasopressin receptor dysfunction in nephrogenic diabetes insipidus caused by different molecular mechanisms. **Hum Mutat** 1998;12:196-205.
42. Stone KA. Lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus. **J Am Board Fam Pract** 1999;12:43-7.
43. Marples D, Christensen S, Christensen EI, Ottosen PD, Nielsen S. Lithium-induced down-regulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla. **J Clin Invest** 1995;95:1838-45.
44. Marples D, Frokiaer J, Dorup J, Knepper MA, Nielsen S. Hypokalemia-induced down-regulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla and cortex. **J Clin Invest** 1996;97:1960-8.
45. Frokiaer J, Christensen BM, Marples D, Djurhuus JC, Jensen UB, Knepper MA, et al. Down-regulation of aquaporin-2 parallels changes in renal water excretion in unilateral ureteral obstruction. **Am J Physiol** 1997;273:F213-23.
46. Sands JM, Naruse M, Jacobs JD, Wilcox JN, Klein JD. Changes in aquaporin-2 protein contribute to the urine concentrating defect in rats fed a low-protein diet. **J Clin Invest** 1996;97:2807-14.
47. Singer I, Oster JR, Fishman LM. The management of diabetes insipidus in adults. **Arch Intern Med** 1997;157:1293-301.
48. Hochberg Z, Even L, Danon A. Amelioration of polyuria in nephrogenic diabetes insipidus due to aquaporin-2 deficiency. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1998;49:39-44.
49. Kirchlechner V, Koller DY, Seidl R, Waldhauser F. Treatment of nephrogenic diabetes insipidus with hydrochlorothiazide and amiloride. **Arch Dis Child** 1999;80:548-52.
50. Jonat S, Santer R, Schneppenheim R, Obser T, Eggert P. Effect of DDAVP on nocturnal enuresis in a patient with nephrogenic diabetes insipidus. **Arch Dis Child** 1999;81:57-9.

Endereço para correspondência:

Luiz De Marco
Av. Antonio Carlos, 6627
31.270-901 Belo Horizonte, MG
Fax: (31) 499-2695
e.mail: ldemarco@icb.ufmg.br