

Aspectos fisiopatológicos de los cotransportadores de K^+Cl^-

Adriana Mercado,* Zesergio Melo*,**

*Departamento de Nefrología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

**Unidad de Fisiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México e Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Pathophysiological aspects of K^+Cl^- cotransporters

ABSTRACT

The K^+Cl^- cotransporters or KCCs are membrane proteins that move K^+ and Cl^- ions across the membrane without changing the transmembrane potential. KCCs belong to the SLC12 (Solute Carrier Family 12) family of electroneutral cation-chloride cotransporters (CCC), and they are secondary active ion transporters because use the established gradients from the primary active transporter through the Na^+/K^+ -ATPase. Although there are nine members identify in this family, up today only seven genes had been characterized. Among them are two loop diuretics-sensitive $Na^+:K^+:2Cl^-$ cotransporters (NKCC1/NKCC2), the thiazide-sensitive $Na^+:Cl^-$ cotransporter (NCC), and finally the $K^+:Cl^-$ cotransporters (KCC), encoded for at least four homologous genes (KCC1-KCC4), and from which there are many isoforms due to alternative splicing. KCC1 is a ubiquitous isoform, KCC3 and KCC4 isoforms are widely expressed, particularly in epithelial cells, while KCC2 is restricted to the central nervous system (CNS). All these cotransporters play an essential role in many physiological processes such as cell volume regulation, transepithelial salt transport and regulation of the intraneuronal chloride concentration. This review has the purpose to show briefly the molecular characteristics as well as the physiological importance and roles of the KCCs in several pathologies.

Key words. Electroneutral cotransporter. KCCs. Pathology.

INTRODUCCIÓN

Los cotransportadores electroneutros de K^+Cl^- son importantes proteínas de la membrana plasmática involucradas en muchos procesos fisiológicos

RESUMEN

Los cotransportadores de K^+Cl^- o KCCs son proteínas de membrana que transportan K^+ y Cl^- sin generar cambios en el potencial transmembranal. Pertenecen a la familia SLC12 (Solute Carrier Family 12) de cotransportadores electroneutros acoplados a cloro (CCC) y son transportadores de iones activos secundarios debido a que utilizan los gradientes establecidos por el transporte activo primario a través de la ATPasa de Na^+/K^+ . Aunque se han identificado nueve miembros de esta familia, a la fecha sólo se han caracterizado siete genes, entre los cuales se encuentran dos cotransportadores de $Na^+:K^+:2Cl^-$ sensibles a diuréticos de asa (NKCC1/NKCC2), el cotransportador de $Na^+:Cl^-$ sensible a tiazidas (NCC) y los cotransportadores de $K^+:Cl^-$ (KCC) que son codificados por al menos cuatro genes homólogos (KCC1-KCC4), de los cuales se generan isoformas por empalme alternativo de exones. KCC1 es una forma ubicua, KCC3 y KCC4 se expresan ampliamente, en particular en células epiteliales, mientras que KCC2 se restringe al sistema nervioso central (SNC). Estos cotransportadores juegan un papel esencial en muchos procesos fisiológicos, tales como la regulación del volumen celular, el transporte transepitelial de sal y la regulación de la concentración de cloro intraneuronal. Esta revisión tiene el objetivo de mostrar de manera breve las características moleculares así como la importancia fisiológica y el papel de las diferentes isoformas de los KCCs en determinadas patologías.

Palabras clave. Cotransporte electroneutro. KCCs. Patologías.

como la secreción renal de potasio (K^+),¹ la pérdida de K^+ durante la isquemia al miocardio,² el transporte transepitelial de sal,³ la homeostasis del cloro intraneuronal⁴ y la regulación del volumen celular.⁵ Debido a estas funciones esenciales, mutaciones en

estos transportadores están asociadas con una variedad de desórdenes como sordera, hipertensión, disfunción renal, convulsiones, dolor crónico e inclusive, en ciertos casos (como la delección total del gen), llegan a ser incompatibles con la vida.

En el genoma de los mamíferos estas proteínas son codificadas por la familia SLC12/CCC de nueve miembros, de los cuales siete de ellos son transportadores acoplados a cloro.⁶ Como muestra la figura 1, esta familia se divide funcionalmente en dos ramas. La primera incluye aquellas proteínas que transportan sodio acoplado a cloro dentro de la célula: dos cotransportadores de $\text{Na}^+:\text{K}^+:2\text{Cl}^-$ (*SLC12A1/NKCC2* y *SLC12A2/NKCC1*) y el cotransportador de $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$ (*SLC12A3/NCC*) con una identidad entre sí de ~50%. La segunda rama incluye a los KCCs que transportan potasio acoplado a cloro fuera de la célula y son ampliamente expresados en el organismo. Los genes que codifican para estas proteínas se denominan *SLC12A4-A7* correspondientes a las isoformas conocidas como KCC1-4, respectivamente y comparten 65% de identidad.⁷ Su estructura secundaria consta de una región central de doce segmentos transmembrana (STM) flanqueados por dos extremos intracelulares amino y carboxilo de naturaleza hidrofílica, además de un asa extracelular

localizada entre los STM-5 y STM-6 que contiene tres posibles sitios de glucosilación.⁷

Debido a que la dirección de transporte es opuesta, se han reportado varios mecanismos de regulación recíproca entre NKCCs y KCCs. Estos incluyen efectos opuestos de la tonicidad del medio, concentración intracelular de cloro y patrones de interacción con cinasas y fosfatasa, entre otros. Así pues, los eventos de fosforilación/defosforilación juegan un papel muy importante en la regulación de la actividad de los KCCs.⁸⁻¹⁰

Por su parte, los modelos de animales nulos o knockout y enfermedades en humanos que han logrado ser ligadas a mutaciones de genes específicos de KCCs han abierto un mayor panorama sobre las funciones fisiológicas y defectos patológicos en isoformas individuales de KCCs. De ahí la importancia que estas proteínas han generado para determinar sus mecanismos de regulación y patofisiología.

PROPIEDADES FUNCIONALES Y PAPEL FISIOLÓGICO DE LOS COTRANSPORTADORES DE $\text{K}^+:\text{Cl}^-$

A partir de la identificación molecular de los KCCs, la caracterización funcional, farmacológica y

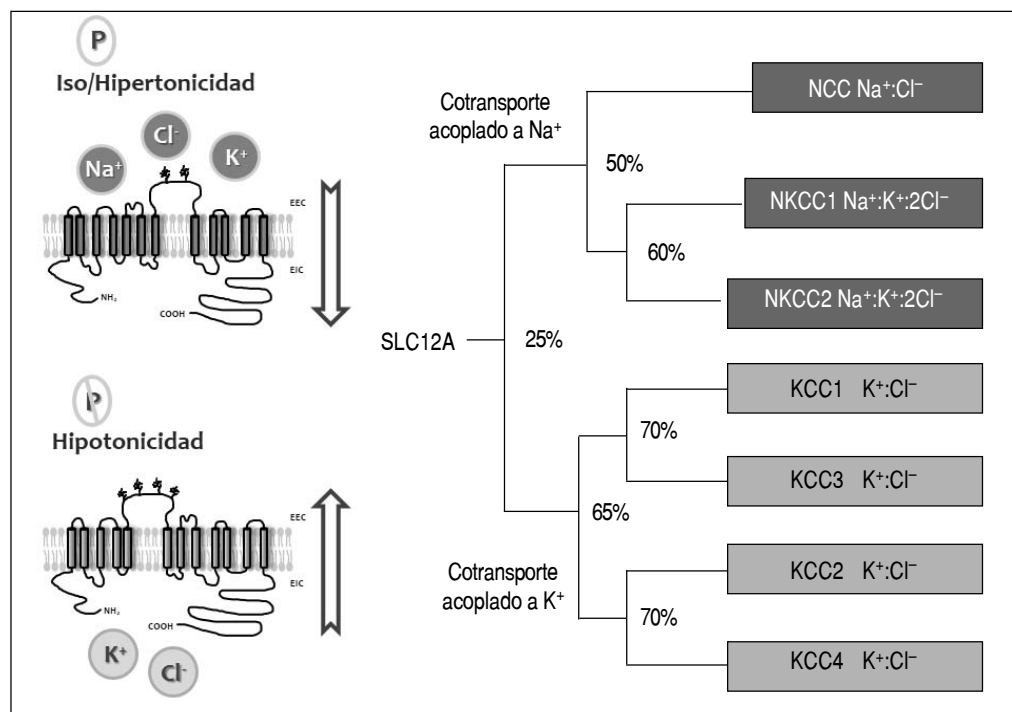


Figura 1. Árbol filogenético de la familia SLC12A o cotransportadores electroneutros de cationes acoplados a cloro. Se subdivide en dos ramas, la primera compuesta de tres miembros que codifican para cotransportadores que utilizan sodio como catión para acoplarse al transporte de cloro (NCC, NKCC1 y NKCC2), se expresan en condiciones isotónicas o hipertónicas y requieren estar fosforilados para su función. La otra rama está compuesta por cuatro miembros que codifican para cotransportadores que solamente emplean potasio como catión

acoplado al cloro (KCC1 a KCC4), se expresan principalmente en condiciones hipotónicas y requieren estar defosforilados para su función. El grado de identidad entre los diferentes miembros de la familia se indica en porcentaje. EEC: espacio extracelular. EIC: espacio intracelular. NH_2 : segmento amino terminal. COOH : segmento carboxilo terminal. P: indica que el transportador está fosforilado y la flecha indica la dirección del transporte iónico.

algunos de los mecanismos de regulación de las varias isoformas han permitido un mejor entendimiento del proceso de cotransporte. Entre las conclusiones generales se ha reportado que el cotransporte de K^+Cl^- es un sistema de transporte activo secundario que es electroneutro, de localización ubicua e involucrado en la regulación del volumen celular, activado por hinchamiento, acidificación ligera y la presencia de inhibidores de proteínas cinasas; mientras que la reducción del volumen celular, la acidificación marcada y la presencia de inhibidores de proteínas fosfatasas, reducen su actividad.⁶ Otra característica interesante de los KCCs es su capacidad de transportar NH_4^+ en lugar de K^+ , lo que sugiere un papel importante en la regulación del pH intracelular.¹¹

Actualmente, la caracterización funcional de los cuatro KCCs deja claro diferencias significativas en cuanto a su regulación y farmacocinética. No obstante, la expresión simultánea de dos o más isoformas dificulta grandemente la identificación puntual del papel fisiológico de cada una de estas proteínas y, por tanto, su función a nivel de órgano o tejido.

EL COTRANSPORTADOR DE K^+Cl^- , KCC1 (*SLC12A4*)

En 1996 Gillen, *et al.*, reportaron la identificación molecular del primer cotransportador de K^+Cl^- , KCC1, a partir de riñón de conejo, rata y humano.¹² Éste se localiza en el cromosoma humano 16q22.1, y su transcrito tiene un patrón de expresión ubicuo, sugiriendo que es una isoforma *housekeeping* responsable de la regulación del volumen celular y la reabsorción transepitelial de K^+ y Cl^- en otras células y tejidos.¹³ En eritrocitos, por ejemplo, se cree que el eflujo de K^+ y Cl^- es un mecanismo importante para la reducción del tamaño celular dado con la maduración y que la actividad del cotransportador de K^+Cl^- se incrementa en hemoglobinopatías tales como la anemia de las células falciformes.¹⁴

En 2007 Rust, *et al.*,¹⁵ eliminaron los genes que codifican para KCC1 y KCC3 en el ratón, para determinar el papel de estas isoformas en la homeostasis del volumen eritroide. Es interesante que no se encontrara un fenotipo asociado, excepto que el ratón doble nulo mostró alteraciones en la regulación del volumen celular, incluyendo aumento del volumen corpuscular, disminución de la densidad y aumento en la susceptibilidad a lisis osmótica. Debido a que la actividad del cotransporte de K^+Cl^- en estas células fue la misma en el ratón nulo para KCC1, disminuyó en el nulo para KCC3 y casi se

abolió por completo en los ratones doble nulo, se sugirió fuertemente que la isoforma que media el cotransporte de K^+Cl^- en los eritrocitos es principalmente KCC3.

EL COTRANSPORTADOR DE K^+Cl^- , KCC2 (*SLC12A5*)

El gen que codifica para KCC2 genera, mediante el uso de promotores alternativos y primeros exones, dos isoformas denominadas KCC2a y KCC2b. Ambas isoformas difieren en la presencia de una secuencia única de 40 residuos de aminoácidos en el extremo amino terminal de KCC2a que incluye un probable sitio de unión a la cinasa SPAK (Ste20-type kinases).¹⁶ Se demostró también que su expresión estaba restringida a neuronas, incluyendo las neuronas piramidales del hipocampo y las células granulares, entre otras. La cinética del transporte de iones para esta isoforma reveló que la afinidad por el K^+ extracelular era significativamente mayor que por el Cl^- extracelular y se propuso que KCC2 podría funcionar como una vía de influjo y eflujo, manteniendo baja la concentración de cloro intraneuronal y de este modo, regulando el tipo de respuesta a ciertos neurotransmisores tales como el ácido γ -aminobutírico (GABA) y la glicina.^{17,18} Una segunda posibilidad, considerando la alta afinidad por el K^+ extracelular en KCC2, es que éste podría jugar un papel importante amortiguando las concentraciones extracelulares de K^+ en el sistema nervioso central. Es decir, que KCC2 participa en la re-captura del K^+ que sale de la célula durante la actividad neuronal. Cuando la salida del K^+ aumenta, debido a una gran actividad neuronal o durante procesos patológicos tales como crisis epilépticas, isquemia o hipoxia, el incremento en la concentración de K^+ extracelular promueve la entrada de K^+ por el cotransportador y previene la inhibición post-sináptica de GABA a través del influjo de Cl^- .¹⁷

Entre algunas de las características que diferencian a las isoformas KCC2 de los demás KCCs, es la capacidad única de KCC2 de mediar un transporte constitutivo de K^+Cl^- en condiciones isotónicas; mientras que los otros tres KCCs son activados exclusivamente por aumento de volumen celular.¹⁹⁻²² Otra característica estructural exclusiva de KCC2 es la presencia de una secuencia de ~100 residuos de aminoácidos, ricos en prolinas, serinas y residuos cargados hacia el final de la región carboxilo terminal. Mediante un estudio con proteínas quiméricas se identificó un motivo de 15 residuos de aminoácidos que son determinantes en la actividad isotónica

constitutiva específica de KCC2 y se denominó como el “dominio ISO”.²³ Además, el gen que codifica para KCC2 contiene un elemento único silenciador restringido a neuronas (NRSE) que se localiza justo en la región 3' del exón 1 y está presente en los genes tanto del humano como del ratón.^{19,24}

La localización genómica de KCC2 se determinó en el cromosoma 20q13, entre los marcadores D20S836 y D20S888²⁵, y a pesar de que no existen causas de epilepsia mendeliana que mapeen sobre este cromosoma, existe la posibilidad de que la variabilidad genética en este gen pueda afectar aspectos de la epilepsia en humanos.¹⁹

EL COTRANSPORTADOR DE K⁺:Cl⁻, KCC3 (SLC12A6)

Aunque se han identificado molecularmente cinco diferentes isoformas amino-terminal de KCC3,²⁶ generadas por empalme alternativo de exones, aquí nos enfocaremos en las dos isoformas de mayor abundancia en el organismo. KCC3a y KCC3b son generadas por dos exones separados que codifican para el primer exón y difieren en el contenido y distribución de sitios potenciales para fosforilación.²⁷⁻³⁰ KCC3a es la isoforma más grande de todos los KCCs debido a que presenta una porción extra de ~60 residuos de aminoácidos en el extremo amino terminal. Aunque ambos KCC3 tienen una distribución tisular amplia, KCC3a se expresa predominantemente en cerebro, mientras que KCC3b lo hace en riñón.²⁶ Su amplia localización sugiere podrían estar involucrados como una vía de influjo en la regulación del volumen celular y el transporte epitelial de sal y agua o funcionar en la regulación de las concentraciones de K⁺ y Cl⁻ en las células y el espacio intersticial.^{28,31}

La localización cromosómica de KCC3a se determinó en el cromosoma 15q14 entre los marcadores D15S1040 y D15S118. Esta sección del cromosoma 15 está ligada a dos subtipos de epilepsia idiopática generalizada y a un fenotipo de esquizofrenia.^{32,33} Además, es el gen responsable de la neuropatía periférica con agenesia del cuerpo calloso, conocido como síndrome de Andermann, una enfermedad causada por mutaciones inactivantes en KCC3a que cursa con serios problemas motores, sensitivos y psiquiátricos.³⁴ Por su parte, la ubicación de KCC3b se determinó en el cromosoma 15q13, entre los marcadores genéticos D15S1010 y D15S1040. Se ha reportado que el área entre dichos marcadores contribuye a la susceptibilidad genética para la epilepsia mioclónica juvenil,³² lo cual sugiere que

alteraciones en el gen que codifica para KCC3b podrían asociarse con el desarrollo de dicha enfermedad.

EL COTRANSPORTADOR DE K⁺:Cl⁻, KCC4 (SLC12A7)

La caracterización inicial de KCC4 por el grupo de Mount²⁹ se llevó a cabo empleando ovocitos de *Xenopus* y posteriormente Mercado, *et al.*, sugirieron que al igual que para otros KCCs, la activación de KCC4 durante hinchamiento celular podría ser a través de la proteína fosfatasa 1 (PP1).⁷

KCC4 se localiza en el cromosoma 5p15.3 entre los marcadores D5S678 y el telómero y se distribuye ampliamente en corazón y riñón, donde podría estar relacionado con el transporte iónico basolateral de la porción gruesa del asa ascendente de Henle y en el reciclaje de NH₄⁺ y secreción ácida renal.^{3,35}

En 2002 el grupo de Jentsch generó un ratón nulo para KCC4.³⁶ Dicho animal desarrolló acidosis tubular renal asociada con un aumento en la concentración de cloro intracelular en las células α -intercaladas del túbulo colector, donde se expresa KCC4 en condiciones fisiológicas. Se sugirió entonces que la actividad de KCC4 en la membrana basolateral podría ser crítica para el reciclaje de cloro hacia el espacio intersticial permitiendo la correcta función del intercambiador de Cl⁻/HCO₃⁻; esto es la salida de bicarbonato de la célula, que en turno permite la secreción continua de protones en la membrana apical.

Al año siguiente, Bergeron, *et al.*, demostraron que al igual que el resto de los KCCs, KCC4 es capaz de transportar NH₄⁺ en lugar de K⁺, con valores de afinidad similares por ambos iones. También mostraron que KCC4 es regulado por pH, y dada la expresión de KCC4 en las células intercaladas de los conductos colectores renales, se sugirió un papel importante de este cotransportador en el metabolismo ácido-base.¹¹

ENFERMEDADES ASOCIADAS AL COTRANSPORTE DE K⁺:Cl⁻

Hemoglobinopatías

KCC1 es una isoforma de expresión ubicua que parece jugar un papel fundamental en la regulación del volumen celular. Contrario a lo que se pensaba en el pasado, ahora se sabe que la mayor parte de la actividad del cotransporte de K⁺:Cl⁻ en eritrocitos se atribuye a KCC3, con alguna contribución de KCC4 y KCC1.^{37,38} Se ha especulado que la salida de K⁺ y

Cl⁻ en los eritrocitos es un mecanismo importante para la reducción del tamaño y la maduración celular y aunque no existe enfermedad asociada directamente con su activación, la salida descontrolada de iones acompañados de agua promueven la deshidratación y deformación celular que se ve incrementada en hemoglobinopatías tales como la anemia falciforme y donde KCC1 podría actuar como un gen modificador.^{14,15,39,40}

Epilepsia

Es una enfermedad crónica que se caracteriza por uno o varios trastornos neurológicos que predisponen al cerebro a generar crisis convulsivas recurrentes. Con frecuencia son defectos en señales GABAérgicas ocasionadas por cambios en la homeostasis del cloro los que desencadenan estas crisis. Dichos cambios pueden afectar no sólo la intensidad sino también el tipo de la respuesta a GABA.⁴¹ Es bien sabido que KCC2 es una proteína implicada en definir la concentración intracelular de cloro en diversas neuronas; a mayor actividad de KCC2, menor la concentración de cloro intraneuronal. El gradiente de cloro creado por KCC2 produce hiperpolarización de la membrana celular promoviendo que GABA actúe como un estímulo inhibitorio. En el caso de que KCC2 no esté activo o ausente, la concentración intraneuronal de cloro aumenta, produciendo despolarización de la membrana y promoviendo que GABA actúe como un estímulo excitatorio. Como se demostró, los ratones nulos para KCC2 donde la expresión se redujo ~95% de lo normal presentaron convulsiones generalizadas acompañadas de una marcada rigidez muscular y aunque los ratones heterocigos no mostraron un fenotipo particular, sí fueron más susceptibles a crisis convulsivas, sugiriendo su implicación en la patología de la epilepsia.⁴² Por lo anterior, resulta difícil entender que aún no se hayan encontrado causas de epilepsia mendeliana que mapeen sobre el locus del gen humano SLC12A5 en el cromosoma 20.

Síndrome de Andermann o ACCPN

Es una enfermedad autosómica recesiva ligada al cromosoma 15q13-q15 correspondiente a SLC12A6/KCC3 que fue identificada inicialmente en una población franco-canadiense en la provincia de Québec y posteriormente se encontró en otras poblaciones con altas tasas de consanguinidad.³⁴ Se caracteriza por una agenesia del cuerpo calloso parcial o total con neuropatía periférica (ACCPN), cuyos síntomas

son neuropatía sensoriomotora severa asociada con retardo mental y características dismórficas. Originalmente se encontró que 81 de los individuos afectados eran homocigos para una delección de guanina dentro del exón 18 en el nucleótido 2,436 del marco de lectura de *KCC3a*,⁴³ lo que generaba un codón de paro prematuro en el aminoácido 813 que removía los últimos 338 aminoácidos en la secuencia proteica de KCC3a (del G2436, Tre813X). Mediante ensayos en ovocitos de *Xenopus* se observó que esta delección G2436 producía una proteína que era procesada de modo adecuado por la célula, glucosilada e insertada en la membrana plasmática; sin embargo, no era funcional. Esto sugirió que la mayor parte del dominio carboxilo terminal de KCC3a no es necesario para el procesamiento, tráfico e inserción del cotransportador a la membrana, pero sí es importante para conferirle actividad. Cabe resaltar que la mayoría de los pacientes con síndrome de Andermann comparten esta misma delección.⁴³

A la fecha se han identificado otras mutaciones en SLC12A6/KCC3 que truncan parte del dominio carboxilo terminal,⁴⁴⁻⁴⁶ algunas de las cuales muestran que impiden el tránsito del cotransportador a la membrana plasmática ocasionando pérdida de la función.⁴⁷

Por su parte, el modelo animal nulo para *Slc12a6/KCC3* recapitula las características neurológicas del síndrome en humanos. Estos animales presentan un déficit locomotor severo y neuropatía periférica, así como una disminución en el umbral de episodios convulsivos; sin embargo, no presentan agenesia o malformación del cuerpo calloso.^{43,48,49} Es interesante notar que aún no se comprende cómo es que la ausencia de KCC3a ocasiona las características del síndrome y por qué su ausencia no puede ser compensada por otro KCC presente en las neuronas.

Cáncer

En los últimos años ha surgido la importancia de los cotransportadores de K⁺:Cl⁻ en la regulación del crecimiento de la población celular, así como en la proliferación y capacidad de invasión de tumores malignos. Esta transformación maligna está asociada con la expresión diferencial de los KCCs impactando considerablemente en la homeostasis del volumen celular. Diversos estudios en líneas celulares cancerosas han demostrado la sobreexpresión de varias isoformas del cotransportador de K⁺:Cl⁻, siendo KCC3 la isoforma más abundante en tumores primarios de ovario y cérvix.⁵⁰ La magnitud de

Cuadro 1. La subfamilia de los cotransportadores electroneutros de K^+Cl^- (KCCs).

Gen/Proteína	Tamaño (aa)	Cromosoma en humano	Distribución tisular	Enfermedad asociada	Características en el knockout
SLC12A4/KCC1	1085	16q22	Ubicua	Hemoglobinopatías	Sin fenotipo
SLC12A5/KCC2	1116	20q13	SNC	Epilepsia	Deficiencias neuromotoras y muerte
SLC12A6/KCC3	1150	15q14	Amplia	Síndrome de Andermann	Neuropatía periférica, deficiencias sensoriales y locomotoras, hipertensión
SLC12A7/KCC4	1083	5p15	Amplia	Acidosis tubular renal?	Sordera y acidosis tubular renal

aa: aminoácidos. SNC: Sistema Nervioso Central.

la activación de los KCCs fue mayor en las líneas celulares cancerosas que en las células normales, asociando de este modo el proceso de malignidad con un incremento en la actividad de los cotransportadores de K^+Cl^- , consistente con un importante papel en el crecimiento de la población celular a través de la modulación de la progresión del ciclo celular.^{51,52}

Hipertensión arterial

Los datos hasta ahora revelados del papel de los KCCs en la génesis de la hipertensión arterial se limitan a proponer a KCC3 como una proteína que al regular las concentraciones de cloro intracelular puede afectar la contractilidad de las células del músculo liso vascular por óxido nítrico y otros vasodilatadores promoviendo así el aumento de la presión sanguínea.⁵³

Acidosis tubular renal

A principios de la década pasada, el grupo de Jentsch³⁶ publicó que el ratón nulo de KCC4 desarrollaba sordera y acidosis metabólica. Encontraron ausencia de reflejos acústicos en animales adultos, el órgano de Corti casi faltante e impedimento en la salida de K^+ de células ciliadas dando lugar a neurodegeneración y finalmente sordera. Observaron también que la sordera en los animales KCC4 nulos está asociada con acidosis tubular renal debido a que la orina de estos es más alcalina que la de los silvestres, sin cambios en la concentración de iones tales como Na^+ , K^+ , Cl^- , lo que reflejaba un defecto en la acidificación urinaria. La acidosis tubular renal está asociada con aumento en la concentración intracelular de cloro en las células intercaladas del conducto colector que impide

la correcta función del intercambiador basolateral de Cl^-/HCO_3^- , resaltando la importancia de KCC4 en el reciclaje de cloro, ya que permite al intercambiador Cl^-/HCO_3^- su correcta función: sacar aniones de la célula que a su vez habilita la secreción continua de protones en la membrana apical de las células α -intercaladas.⁵⁴

CONCLUSIONES

Los cotransportadores electroneutros de K^+Cl^- miembros de la familia SLC12 están involucrados en una gran variedad de procesos fisiológicos. A raíz de la identificación molecular de los genes que codifican para estas proteínas, muchos han sido los avances e información obtenida de cada uno incluyendo aspectos de su biología molecular, propiedades funcionales en los diversos sistemas de expresión, el entendimiento de la relación estructura-función, así como el papel fisiológico y la importancia de estas proteínas en ciertas patologías presentes en el ser humano (Cuadro 1). No obstante, apenas se comienzan a entender las propiedades y vías reguladoras de cada cotransportador, que a mediano plazo nos permitirá un conocimiento más profundo del papel fisiológico que desempeñan en los diferentes órganos y su participación en enfermedades poligénicas complejas.

REFERENCIAS

1. Ellison DH, Velazquez H, Wright FS. Stimulation of distal potassium secretion by low lumen chloride in the presence of barium. *Am J Physiol* 1985; 248: F638-F649.
2. Yan GX, Chen J, Yamada KA, Kleber AG, Corr PB. Contribution of shrinkage of extracellular space to extracellular K^+ accumulation in myocardial ischaemia of the rabbit. *J Physiol (Lond)* 1996; 490(Pt. 1): 215-28.

3. Amlal H, Paillard M, Bichara M. Cl(-)-dependent NH₄⁺ transport mechanisms in medullary thick ascending limb cells. *Am J Physiol* 1994; 267: C1607-C1615.
4. Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuvuori E, Lahtinen H, Lamsa K, Pirvola U, et al. The K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature* 1999; 397: 251-5.
5. Lang F, Busch GL, Ritter M, Volkl H, Waldegger S, Gulbins E, Haussinger D. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiol Rev* 1998; 78: 247-306.
6. Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of the electroneutral cation-chloride cotransporters. *Physiol Rev* 2005; 85: 423-93.
7. Mercado A, Song L, Vazquez N, Mount DB, Gamba G. Functional Comparison of the K⁺-Cl⁻ Cotransporters KCC1 and KCC4. *J Biol Chem* 2000; 275: 30326-34.
8. Pacheco-Alvarez D, Vazquez N, Castaneda-Bueno M, los Heros P, Cortes-Gonzalez C, Moreno E, Meade P, et al. WNK3-SPAK interaction is required for the modulation of NCC and other members of the SLC12 family. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29: 291-302.
9. Rinehart J, Vazquez N, Kahle KT, Hodson CA, Ring AM, Gucicek EE, Louvi A, et al. WNK2 is a novel regulator of essential neuronal cation-chloride cotransporters. *J Biol Chem* 2011; 286: 30171-80.
10. Cruz-Rangel S, Melo Z, Vazquez N, Meade P, Bobadilla NA, Pasantes-Morales H, Gamba G, et al. Similar effects of all WNK3 variants on SLC12 cotransporters. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 301: C601-C608.
11. Bergeron MJ, Gagnon E, Wallendorff B, Lapointe JY, Isenring P. Ammonium transport and pH regulation by K⁺-Cl⁻ cotransporters. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F68-F78.
12. Gillen CM, Brill S, Payne JA, Forbush IB. Molecular cloning and functional expression of the K-Cl cotransporter from rabbit, rat and human. A new member of the cation-chloride cotransporter family. *J Biol Chem* 1996; 271: 16237-44.
13. Liapis H, Nag M, Kaji DM. K-Cl cotransporter expression in the human kidney. *Am J Physiol* 1998; 275: C1432-C1437.
14. Lauf PK, Bauer J, Adragna NC, Fujise H, Zade-Oppen AMM, Ryu KH, Delpire E. Erythrocyte K-Cl cotransport: Properties and regulation. *Am J Physiol Cell Physiol* 1992; 263: C917-C932.
15. Rust MB, Alper SL, Rudhard Y, Shmukler BE, Vicente R, Brugnara C, Trudel M, Jentsch TJ, et al. Disruption of erythroid K-Cl cotransporters alters erythrocyte volume and partially rescues erythrocyte dehydration in SAD mice. *J Clin Invest* 2007; 117: 1708-17.
16. Uvarov P, Ludwig A, Markkanen M, Pruunsild P, Kaila K, Delpire E, Timmusk T, et al. A novel N-terminal isoform of the neuron-specific K-Cl cotransporter KCC2. *J Biol Chem* 2007; 282: 30570-6.
17. Jarolimek W, Lewen A, Misgeld U. A furosemide-sensitive K⁺-Cl⁻ cotransporter counteracts intracellular Cl⁻ accumulation and depletion in cultured rat midbrain neurons. *J Neuroscience* 1999; 19: 4695-704.
18. Lu J, Karadshah M, Delpire E. Developmental regulation of the neuronal-specific isoform of K-Cl cotransporter KCC2 in postnatal rat brains. *J Neurobiol* 1999; 39: 558-68.
19. Song L, Mercado A, Vazquez N, Xie Q, Desai R, George AL, Gamba G, et al. Molecular, functional, and genomic characterization of human KCC2, the neuronal K-Cl cotransporter. *Brain Res Mol Brain Res* 2002; 103: 91-105.
20. Payne JA. Functional characterization of the neuronal-specific K-Cl cotransporter: implications for [K⁺]_o regulation. *Am J Physiol Cell Physiol* 1997; 273: C1516-C1525.
21. Strange K, Singer TD, Morrison R, Delpire E. Dependence of KCC2 K-Cl cotransporter activity on a conserved carboxy terminus tyrosine residue. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C860-C867.
22. Gagnon KB, England R, Delpire E. Volume sensitivity of cation-Cl⁻ cotransporters is modulated by the interaction of two kinases: Ste20-related proline-alanine-rich kinase and WNK4. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290: C134-C142.
23. Mercado A, Broumand V, Zandi-Nejad K, Enck AH, Mount DB. A C-terminal Domain in KCC2 Confers Constitutive K⁺-Cl⁻ Cotransport. *J Biol Chem* 2006; 281: 1016-26.
24. Karadshah MF, Delpire E. Neuronal restrictive silencing element is found in the KCC2 gene: molecular basis for KCC2-specific expression in neurons. *J Neurophysiol* 2001; 85: 995-7.
25. Sallinen R, Tornberg J, Putkiranta M, Horelli-Kuitunen N, Airaksinen MS, Wessman M. Chromosomal localization of SLC12A5/Slc12a5, the human and mouse genes for the neuron-specific K(+)–Cl(–) cotransporter (KCC2) defines a new region of conserved homology. *Cytogenet Cell Genet* 2001; 94: 67-70.
26. Mercado A, Vazquez N, Song L, Cortes R, Enck AH, Welch R, Delpire E, et al. Amino-Terminal Heterogeneity in the KCC3 K⁺-Cl⁻ Cotransporter. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F1246-F1261.
27. Hiki K, D'Andrea RJ, Furze J, Crawford J, Woollatt E, Sutherland GR, Vadas MA, et al. Cloning, characterization, and chromosomal location of a novel human K⁺-Cl⁻ cotransporter. *J Biol Chem* 1999; 274: 10661-10667.
28. Race JE, Makhoulou FN, Logue PJ, Wilson FH, Dunham PB, Holtzman EJ. Molecular cloning and functional characterization of KCC3, a new K-Cl cotransporter. *Am J Physiol* 1999; 277: C1210-C1219.
29. Mount DB, Mercado A, Song L, Xu J, George J, Delpire E, Gamba G. Cloning and characterization of KCC3 and KCC4, new members of the cation-chloride cotransporter gene family. *J Biol Chem* 1999; 274: 16355-62.
30. Melo Z, de los Heroes P, Cruz-Rangel S, Vázquez N, Bobadilla NA, Pasantes-Morales H, et al. N-terminal serine dephosphorylation is required for KCC3 cotransporter full activation by cell swelling. *J Biol Chem* 2013; 288: 31468-76.
31. Melo Z, Cruz-Rangel S, Bautista R, Vazquez N, Castaneda-Bueno M, Mount DB, et al. Molecular evidence for K⁺:Cl⁻ cotransporters role in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 305: F1402-F1411.
32. Elmslie FV, Rees M, Williamson MP, Kerr M, Kjeldsen MJ, Pang KA, Sundqvist A, et al. Genetic mapping of a major susceptibility locus for juvenile myoclonic epilepsy on chromosome 15q. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1329-34.
33. Neubauer BA, Fiedler B, Himmelein B, Kampfer F, Lassker U, Schwabe G, Spanier I, et al. Centrotomporal spikes in families with rolandic epilepsy: linkage to chromosome 15q14. *Neurology* 1998; 51: 1608-12.
34. Howard HC, Dube MP, Prevost C, Bouchard JP, Mathieu J, Rouleau GA. Fine mapping the candidate region for peripheral neuropathy with or without agenesis of the corpus callosum in the French Canadian population. *Eur J Hum Genet* 2002; 10: 406-12.
35. Greger R, Schlatter E. Properties of the basolateral membrane on the cortical thick ascending limb of Henle's loop of rabbit kidney. A model for secondary active chloride transport. *Pflügers Archives* 1983; 396: 325-34.
36. Boettger T, Hubner CA, Maier H, Rust MB, Beck FX, Jentsch TJ. Deafness and renal tubular acidosis in mice lacking the K-Cl co- transporter Kcc4. *Nature* 2002; 416: 874-8.
37. Lauf PK, Zhang J, Delpire E, Fyffe RE, Mount DB, Adragna NC. K-Cl co-transport: immunocytochemical and functional

- evidence for more than one KCC isoform in high K and low K sheep erythrocytes. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 130: 499-509.
38. Quarmyne MO, Risinger M, Linkugel A, Frazier A, Joiner CH. Volume regulation and KCl cotransport in reticulocyte populations of sickle and normal red blood cells. *Blood Cells Mol Dis* 2011; 47: 95-9.
 39. Lew VL, Bookchin RM. Ion transport pathology in the mechanism of sickle cell dehydration. *Physiological Review* 2005; 85: 179-200.
 40. Joiner CH, Rettig R, Jiang M, Risinger M, Franco RS. Urea stimulation of KCl cotransport induces abnormal volume reduction in sickle reticulocytes. *Blood* 2007; 109: 1728-35.
 41. Miles R, Blaesse P, Huberfeld G, Wittner L, Ka. Chloride homeostasis and GABA signaling in temporal lobe epilepsy, Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies, 4th ed. Noebels JL, volí M, Rogawski MA, Isen RW, Delgado-Escueta AV (eds.). Bethesda; 2012.
 42. Woo NS, Lu J, England R, McClellan R, Dufour S, Mount DB, Deutch AY, et al. Hyperexcitability and epilepsy associated with disruption of the mouse neuronal-specific K-Cl cotransporter gene. *Hippocampus* 2002; 12: 258-68.
 43. Howard HC, Mount DB, Rochefort D, Byun N, Dupre N, Lu J, Fan X, et al. The K-Cl cotransporter KCC3 is mutant in a severe peripheral neuropathy associated with agenesis of the corpus callosum. *Nat Genet* 2002; 32: 384-92.
 44. Demir E, Irobi J, Erdem S, Demirci M, Tan E, Timmerman V, De Jonghe P, et al. Andermann syndrome in a Turkish patient. *J Child Neurol* 2003; 18: 76-9.
 45. Uyanik G, Elcioglu N, Penzien J, Gross C, Yilmaz Y, Olmez A, Demir E, et al. Novel truncating and missense mutations of the KCC3 gene associated with Andermann syndrome. *Neurology* 2006; 66: 1044-8.
 46. Dupre N, Howard HC, Mathieu J, Karpati G, Vanasse M, Bouchard JP, Carpenter S, et al. Hereditary motor and sensory neuropathy with agenesis of the corpus callosum. *Ann Neurol* 2003; 54: 9-18.
 47. Salin-Cantegrel A, Riviere JB, Shekarabi M, Rasheed S, Dacal S, Laganier J, Gaudet R, et al. Transit defect of potassium-chloride Co-transporter 3 is a major pathogenic mechanism in hereditary motor and sensory neuropathy with agenesis of the corpus callosum. *J Biol Chem* 2011; 286: 28456-65.
 48. Boettger T, Rust MB, Maier H, Seidenbecher T, Schweizer M, Keating DJ, Faulhaber J, et al. Loss of K-Cl co-transporter KCC3 causes deafness, neurodegeneration and reduced seizure threshold. *EMBO Journal* 2003; 22: 5422-34.
 49. Delpire E, Mount DB. Human and murine phenotypes associated with defects in cation-chloride cotransport. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 803-43.
 50. Chen YF, Chou CY, Ellory JC, Shen MR. The emerging role of KCl cotransport in tumor biology. *Am J Transl Res* 2010; 2: 345-55.
 51. Shen MR, Chou CY, Hsu KF, Liu HS, Dunham PB, Holtzman EJ, Ellory JC. The KCl cotransporter isoform KCC3 can play an important role in cell growth regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 14714-9.
 52. Shen MR, Chou CY, Hsu KF, Hsu YM, Chiu WT, Tang MJ, Alper SL, et al. KCl Cotransport Is an Important Modulator of Human Cervical Cancer Growth and Invasion. *J Biol Chem* 2003; 278: 39941-50.
 53. Rust MB, Faulhaber J, Budack MK, Pfeffer C, Maritzen T, Diehl M, Beck FX, et al. Neurogenic Mechanisms Contribute to Hypertension in Mice With Disruption of the K-Cl Cotransporter KCC3. *Circ Res* 2006; 98: 549-56.
 54. Jentsch TJ. Chloride transport in the kidney: lessons from human disease and knockout mice. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1549-61.

Reimpresos:

Dr. Zesergio Melo

Unidad de Fisiología Molecular
 Instituto de Investigaciones Biomédicas
 Universidad Nacional Autónoma de México e
 Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
 Salvador Zubirán
 Vasco de Quiroga, Núm. 15
 Col. Sección XVI,
 14080, México, D.F.
 Correo electrónico: zesergiomelo@gmail.com

Recibido el 13 de agosto 2013.

Aceptado el 20 de enero 2014.