

Аквапорини и тяхното значение за оториноларингологията

Aquaporins and their significance in otorhinolaryngology

Ж. Пенкова¹, Б. Хирт², П. Димов¹, В. Маринов¹,
Д. Михайлов¹, Х. Лъовенхейм²

¹Клиника по оториноларингология,
Университетска болница – Стара Загора, България

²Център за изследване на слуха, Клиника по оториноларингология,
Университет Тюбинген, Германия

Zh. Penkova¹, Bernhard Hirt², P. Dimov¹, V. Marinov¹,
D. Mihailov¹, Hubert Loewenheim²

¹ORL-Clinic, University Hospital, Stara Zagora, Bulgaria

²Tuebingen Hearing Research Centre, ORL-Clinic,
University of Tuebingen, Tuebingen, Germany

Abstract

Fast and proper regulated water transport across cell membranes is important for the normal function of organs. Water channels, called aquaporins (AQPs), are involved in this process. AQPs play a role in the mucus and saliva secretion. They are also involved in maintaining inner ear fluid homeostasis. The discovery of AQPs gives new opportunities for the pharmacological treatment of rhinitis, bronchitis, mucoviscidosis, sialoadenitis and Sjögren's syndrome.

Key words: aquaporin, airways, salivary glands, ear

Резюме

Бързият и регулиран транспорт на водата през клетъчната мембрана е от изключителна важност за нормалното функциониране на органите. Той се осъществява от специализирани водни канали, наречени аквапорини (AQP). Аквапорините имат важно участие в секретирането на слюз и на слюнка. Те са ангажирани и в поддържане постоянството на състава и обема на системата от течности във вътрешното ухо. Откритието на аквапорините отваря възможности за разработване на нови терапевтични подходи при заболявания като ринит, бронхит, муковисцидоза, сиалоаденит и синдром на Sjögren.

Ключови думи: аквапорин, въздухоносни пътища, слюнчени жлези, ухо

Аквапорините са трансмембранни протеини, които функционират като селективни водни канали. Те формират мембранни пори, силно специфични за вода, и някои малки неполярни молекули като глицерол и урея. Движеща сила се явява осмотичният градиент. Досега са известни 13 изоформи на аквапорините (AQP0-AQP12) при бозайници, показващи значителни различия в своята функция, клетъчна и субклетъчна локализация в отделните клетъчни типове и тъкани [2, 5].

Аквапорини в горните дихателни пътища и средното ухо

Климатизирането на вдишания въздух се постига чрез неговото затопляне и овлажняване. Значение за овлажняването има съставът на слюзестия филм, включващ вода, йони и протеини, секретирани от субмукозните жлези на въздухоносните пътища. Нарушения в обема и състава на този секрет могат вторично да увредят мукоцилиарния транспорт, което ще доведе до отслабване на защитните сили на лигавицата. Промяна в секретията се наблюдава при инфекциозния и алергичен ринит и бронхит, както и при муковисцидоза, където секретът е с повишен вискозитет. При около една трета от децата с муковисцидоза е възможна появата на носна полипоза [9].



При нормални условия секретцията на соли от субмукозните жлези води до появата на слаб осмотичен градиент, който се явява движеща сила за транспорта на вода. Водният транспорт се осъществява от аквапорините. Два субтипа аквапорини (AQP4 и AQP5) са описани в субмукозните жлези на горните дихателни пътища, както и в епитела на трахеобронхиалното дърво и средното ухо [16]. AQP4 се намира в базолатералната клетъчна мембрана, а AQP5 в апикалната или луминална клетъчна мембрана.

Липсата на AQP4 в AQP4 knock-out мишки не води до никаква съществена промяна в секретцията на назофарингеалната лигавица. За разлика от него, липсата на AQP5 се изразява в производството на богат на соли и протеини секрет. Това показва, че AQP5 е важен фактор в секретцията на горните дихателни пътища, а също и лимитиращ фактор за водната пропускливост на лигавицата [16]. Модулация на неговата функция би могла да се приложи при лечението на патологични състояния, свързани с хиперсекреция, като инфекциозни и алергични ринити и бронхити или при повишен вискозитет на секрета, както е при муковисцидоза.

Слюнчени жлези

Нарушената функция на слюнчените жлези, изразяваща се с ксеростомия вследствие на лъчетерапия, синдром на Sjögren или сиалоаденит, представлява проблем в оториноларингологията. Образоването и секретцията на слюнка се осъществява посредством йонни транспортни системи в апикалната и базолатерална мембрана на секреторните клетки. Плазмоподобната първична слюнка се образува в жлезните ацини и чрез йонна секреция и реабсорбция се превръща във вторична хипотонична слюнка. В ацините на слюнчените жлези се намират AQP3 и AQP5 [1, 15]. AQP3 е разположен базолатерално, а AQP5 в апикалната плазмематична мембрана. При липсата на AQP5 се наблюдава силно редуциране на слюнната секреция и повишаване на нейния осмоларитет [6]. Някои мутации могат да доведат до промяна в субклетъчната локализация на AQP5 и, както е при синдрома на Sjögren, да се изявят с понижена слюнна и слъзна секреция. В случаи с ксеростомия вследствие на лъчетерапия е възможно възстановяване на функцията на слюнчените жлези чрез генен трансфер – вектор опосредствана трансфекция на AQP5 [13]. Функцията на AQP5 може да бъде повлияна и от вегетативната нервна система. Парасимпатиковата стимулация

предизвиква най-голямо увеличение на слюнната секреция чрез активиране на M3-мускаринов рецептор (с ацетилхолин или неговите агонисти) и повишаване нивото на AQP5 в апикалната мембрана [3].

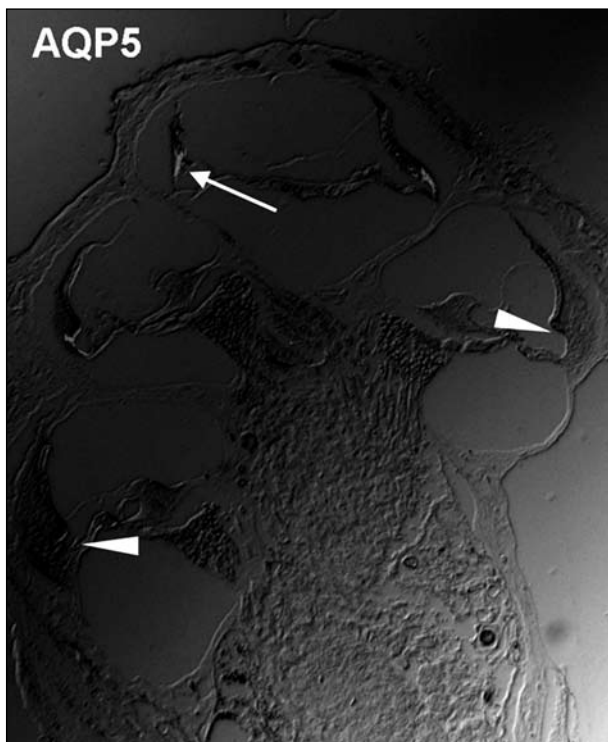
Вътрешно ухо

Аквапорините се срещат в органи с активен воден метаболизъм, към които спада и вътрешното ухо. В морфологичен аспект вътрешното ухо е изградено от костен лабиринт и вложен в него ципест лабиринт. Ципестият лабиринт е запълнен с ендолимфа – течност с висока концентрация на K⁺ и Cl⁻ и ниска концентрация на Na⁺, а заобикалящото го пространство е запълнено с богата на Na⁺ перилимфа. Звукопроводящите течности играят основна роля за нормалната функция на вътрешното ухо. От една страна, течността е основна среда, в която механичният звуков сигнал се придвижва хидродинамично. Това изисква строг контрол, за да се установи и поддържа правилното налягане и обем в системата. От друга страна, ендолимфата са потопени сетивните клетки и тя служи като екстрацелуларен резервоар и буфер за калиеви йони, необходими за механо-електричната трансдукция на сигнала.

Осем представители на аквапорините са описани в епитела и съединителната тъкан, заобикалящи ендолимфатичното пространство (AQP1-AQP9). AQP4 се намира в базолатералните и базални субклетъчни домейни на подпорните клетки върху базилярната мембрана и в клетките на sulcus spiralis internus [8, 11, 19]. Вероятната роля на AQP4 се изразява в улесняване на бързото осмотично изравняване в епителните клетки на Кортиевия орган, които са обект на значителен поток от калиеви йони по време на механо-електричната трансдукция. Оказва се, че единствено липсата на AQP4 в knock-out модел на мишки води до сигнификантна загуба на слух [8, 11]. Това е първото доказателство, че воден канал може да участва пряко в слуховия процес.

Ендолимфатичният хидропс е най-известното нарушение на обемната регулация на вътрешното ухо. Той се среща при различни заболявания и особено при Мениеровата болест. За появата му се дискутира повишена продукция и/или намалена резорбция на ендолимфа. Във връзка с тези хипотези се обсъжда участието на AQP2 и AQP5 в патогенезата на ендолимфатичния хидропс. AQP5 е описан в латералната стена на охловния канал, в клетките на prominentia spiralis и sulcus spiralis externus на плъх [10, 15]. Интересен е фактът, че

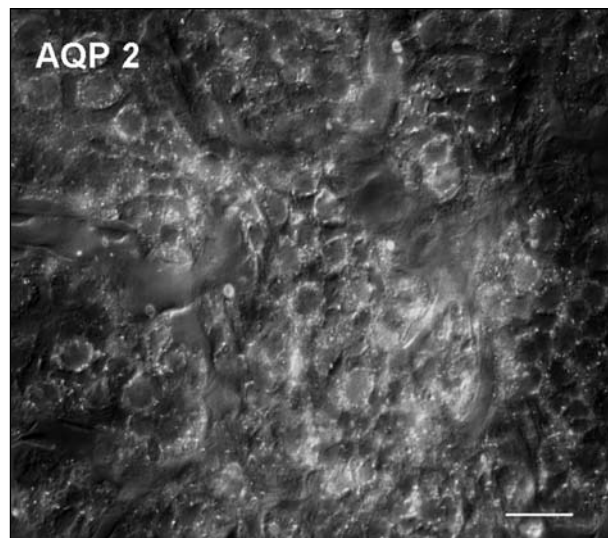
при възрастни екземпляри AQP5 се експресира само в апикалните намотки на кохлеата, а липсва в базалните (Фиг.1) [10, 15].



Фиг. 1. AQP5 имунофлуоресцентно маркиране на средномодиоларни криосрезове от кохлеа на възрастен плъх (P32). Латералната стена на ductus cochlearis е AQP5 положителна (червено, стрелка), докато базалните намотки са AQP5 негативни (глава на стрелка).

Тази локализация предполага участие на AQP5 във възприемането на ниските честоти. Смята се, че дисфункцията на течностната и електролитна хомеостаза може да причини поредица от нарушения във функцията на вътрешното ухо. Ето защо бихме могли да приемем AQP5 за кандидата, който най-вероятно играе критична роля в хомеостазата на течности в кохлеата и освен това има добре дефинирана роля във водния транспорт в други органи. Ако екстраполираме твърдението за холинергичен контрол на функцията на AQP5 върху вътрешното ухо, то тогава съществува възможността за холинергична регулация на степента на секреция в апикалните намотки на кохлеата.

Във връзка с вероятна резорбтивна функция AQP2 е описан в клетките на ендолимфатичния сак (Фиг. 2) [7, 14].



Фиг. 2. AQP2 имунофлуоресцентно маркиране (зелено) на whole mount препарати от ендолимфатичен сак на плъх.

Ендолимфатичният сак участва в резорбцията на ендолимфа и в регулацията на ендолимфатичното налягане. Известно е, че субклетъчната локализация на AQP2 в бъбрека се регулира от антидиуретичния хормон (ADH), който, свързвайки се към V2-рецептора (V2R) в събирателните каналчета, води до транслокация на AQP2 към апикалната плазмена мембрана и увеличение на водната йпропускливост [12].

Редица изследвания показват, че ADH вероятно участва в хомеостатичните механизми във вътрешното ухо [4]. На първо място, V2R и AQP2 са открити чрез различни методи в епитела на ендолимфатичен сак на плъх [7, 9, 14]. От друга страна, свързване на радиоактивен ADH се демонстрира в човешки ендолимфатичен сак [7]. Не на последно място, екзогенен ADH предизвиква ендолимфатичен хидропс у морски свинчета [7]. Установено е, че при пациенти с Мениерова болест е налице повишена концентрация на ADH в кръвта [17, 18]. Следователно, ADH медираната регулация на течностите във вътрешното ухо може да е свързана с патогенезата на заболявания с ендолимфатичен хидропс. Фармакологичното антагонизиране на V2R предизвиква обратно развитие на експериментално предизвикан хидропс [18]. V2R антагонисти, наречени акваретика, се намират в етап на клинично проучване и биха могли да намерят приложение и в лечението на заболявания на вътрешното ухо.

Познаването на структурата и механизмите за регулация на функцията на аквапорините е от голямо практическо значение за развитието на клиничната фармакология. Изясняване на връз-



ката между структура и функция на отделните субтипове аквапорини би могло да доведе до разработване на нови, силно специфични към съответния орган и неговото заболяване, лекарствени средства. Съществуват възможности за индиректно повлияване на функцията на аквапорините чрез рецептор зависима модулация. В конкретен план за AQP5 това би могло да се осъществи чрез холинергичните рецептори на парасимпатиковия дял на вегетативната нервна система, а за AQP2 чрез специфичните V2-рецептори за ADH.

Необходими са бъдещи задълбочени проучвания върху възможностите за регулация на функцията на аквапорините с оглед нейното фармакологично повлияване.

Благодарност

Това проучване е частично подкрепено от Европейската комисия, Marie Curie Training Site, HEARING (QLG3-CT-2001-60009).

Литература:

- Gresz V., Kwon T.H., Hurlley P.T., Varga G., Zelles T., Nielsen S., Case R.M., Steward M.C. Identification and localization of aquaporin water channels in human salivary glands. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2001, 281: 247-524.
- Ishibashi K., Kuwahara M., Gu Y., Kageyama Y., Tohsaka A., Suzuki F., Marumo F., Sasaki S. Cloning and functional expression of a new water channel abundantly expressed in the testis permeable to water, glycerol, and urea. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272: 20782-20786.
- Ishikawa Y., Ishida H. Aquaporin water channel in salivary glands. *Jpn. J. Pharmacol.*, 2000, 83:95-101.
- Kitano H., Suzuki M., Kitanishi T., Yazawa Y., Kitajima K., Isono T., Takeda T., Kimura H., Tooyama I. Regulation of inner ear fluid in the rat by vasopressin. *Neuroreport*, 1999, 10:1205-1207.
- Knepper M.A. The aquaporin family of molecular water channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1994, 91: 6255-6258.
- Krane C.M., Melvin J.E., Nguyen H.V., Richardson L., Towne J.E., Doetschman T., Menon A.G. Salivary acinar cells from aquaporin 5-deficient mice have decreased membrane water permeability and altered cell volume regulation. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276: 23413-23420.
- Kumagami H., Loewenheim H., Beitz E., Wild K., Schwartz H., Yamashita K., Schultz J., Paysan J., Zenner H.P., Ruppertsberg J.P. The effect of anti-diuretic hormone on the endolymphatic sac of the inner ear. *Pflugers Arch.*, 1998, 436: 970-975.
- Li J., Verkman A.S. Impaired hearing in mice lacking aquaporin-4 water channels. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276: 31233-31237.
- Löwenheim H., Hirt B. Aquaporine. *Entdeckung, Funktion und Bedeutung für die HNO-Heilkunde. HNO*, 2004, 52: 673-678.
- Mhatre A.N., Steinbach S., Kambridge H., Shamsul Hoque A.T.M., Lalwani A.K. Identification of aquaporin-5 (AQP5) within the cochlea: cDNA cloning and in situ location. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, 264: 157-162.
- Mhatre A.N., Stern R.E., Li J., Lalwani A.K. Aquaporin-4 in the mammalian inner ear and its role in hearing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 297: 987-996.
- Nielsen S., Chou C.L., Marples D., Christensen E.I., Kishore B.K., Knepper M.A. Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD water channels to plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1995, 92: 1013-1017.
- O'Connell B.C., Lillibridge C.D., Ambudkar I., Kruse D. Somatic gene transfer to salivary glands. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1998, 842:171-180.
- Penkova Zh., Hirt B., Mueller M., Loewenheim H., Dimov P., Lazarov N. Aquaporin 2 in the inner ear – a potential volume regulator of the endolymph. *IB ORL Journal*, 2007, 2: 53-56.
- Penkova Zh., Hirt B., Mueller M., Loewenheim H., Dimov P., Lazarov N. Localization of aquaporin-5 in the cochlea. *Trakia J. Sci.*, 2008, 6: 28-31.
- Song Y., Verkman A. Aquaporin-5 dependent fluid secretion in airway submucosal glands. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276: 41288-41292.
- Takeda T., Kakigi A., Saito H. Antidiuretic hormone (ADH) and endolymphatic hydrops. *Acta Otolaryngol.*, 1995, 519: 219-222.
- Takeda T., Sawada S., Takeda S., Kitano H., Suzuki M., Kakigi A., Takeuchi S. The effects of V2 antagonist (OPC-31260) on endolymphatic hydrops. *Hear. Res.*, 2003, 182: 9-18.
- Takumi Y., Nagelhus E.A., Eidet J., Matsubara A., Usami S., Shinkawa H., Nielsen S., Ottersen O.P. Select types of supporting cell in the inner ear express aquaporin-4 water channel protein. *Eur. J. Neurosci.*, 1998, 10: 3584-3595.

