

ACUAPORINAS Y EDEMA CEREBRAL*

Alejandra López-Domínguez y Herminia Pasantes

RESUMEN

El edema cerebral es una condición asociada a numerosas patologías, con consecuencias clínicas frecuentemente más graves que la propia patología de origen. El edema ocurre como consecuencia de una alteración en la distribución del agua entre el líquido cefalorraquídeo y el plasma, y los compartimientos intersticial e intracelular, en respuesta a cambios en la presión hidrostática y presión osmótica. El edema vasogénico ocurre cuando hay daño en la barrera hematoencefálica, entrada de agua y proteínas plasmáticas generando la expansión del espacio intersticial. El edema citotóxico ocurre cuando hay una acumulación de agua en el citosol, debida a perturbaciones en la distribución normal de osmolitos. La importancia de las acuaporinas en la generación y/o en la prevención del edema celular o vasogénico está siendo activamente investigada. En esta revisión se informa acerca de los resultados más recientes en este tema.

PALABRAS CLAVE: Acuaporina, transporte de agua, edema cerebral, edema vasogénico, edema citotóxico.

ABSTRACT

Brain water is distributed between blood, cerebrospinal fluid, interstitial and intracellular compartments and moves across these compartments following differences in osmotic and hydrostatic pressures. Brain edema occurs by water accumulation resulting from blood brain barrier disruption (vasogenic edema) or by increase in cell water resulting either from a hyponatremic condition or by osmolyte redistribution between the extracellular and intracellular compartments (cytotoxic edema). In most pathologies, one type of edema gradually results in the development of the other type. The role of aquaporins in the generation or/and the control of brain edema is now extensively investigated. This review informs about recent result on this topic.

KEY WORDS: Aquaporin, water transport, brain edema, vasogenic edema, cytotoxic edema.

INTRODUCCIÓN

Las células animales tienen una proporción muy alta de agua, por lo que su volumen está directamente relacionado con los movimientos de agua que ocurren a través de la membrana celular. Una proporción importante de los flujos transmembranales de agua ocurre por el mecanismo de difusión pasiva a través de la bicapa lipídica. El paso del agua a través de la sección hidrofóbica de la membrana, restringe en parte su difusión pero ésta se puede acelerar enormemente cuando intervienen proteínas membranales que forman canales específicos, a través de los cuales el agua pasa con muy

pocas restricciones. Estas moléculas son las acuaporinas. Tanto el flujo a través de la bicapa lipídica como el movimiento a través de las acuaporinas ocurren siguiendo el gradiente del potencial químico del agua. Este potencial es inversamente proporcional a la concentración de solutos y está en función de la presión osmótica.

TRANSPORTE DE AGUA A TRAVÉS DE LAS ACUAPORINAS

La permeabilidad al agua es una propiedad general de las membranas de las células animales, por lo que durante mucho tiempo se pensó que era

transportada únicamente a través de la bicapa lipídica, que es común a todas las membranas. Sin embargo, desde hace varias décadas se habían reunido evidencias que apuntaban hacia un mecanismo adicional mucho más rápido para el transporte del agua a través de la membrana, mediado por moléculas proteicas. Fue hasta 1988 que se pudo aislar y caracterizar el primero de estos componentes moleculares, que resultaron ser poros o canales para el transporte específico del agua. Se les dio el nombre de acuaporinas (1). Su funcionamiento es extremadamente eficiente, logrando a transportar hasta tres mil mi-

*Recibido: 2 de julio de 2009 Aceptado: 13 de octubre de 2009

División de Neurociencias, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 04510, México. Autor responsable: Dra. Herminia Pasantes Tel: 5622-5608; Fax: 5622-5607. Correo E: hpasante@ifc.unam.mx

TABLA 1
Patrón de expresión, función y distribución de las acuaporinas en el humano

AQP	Locus genético	No. aminoácidos	Transporte	Permeabilidad al agua	Localización
AQP0	12q13	263	Agua, iones	Baja	Cristalino (ojo)
AQP1	7p14	269	Agua, CO ₂ , NO, iones	Alta	Eritrocitos, pulmón, riñón, cerebro, ojo y endotelio vascular
AQP2	12q13	271	Agua	Alta	Riñón
AQP3	9p13	292	Agua, glicerol	Alta	Piel, riñón, pulmón, ojo y tracto gastrointestinal
AQP4	18q22	323	Agua	Alta	Riñón, cerebro, pulmón, tracto gastrointestinal y músculo
AQP5	12q13	265	Agua	Alta	Glándula salival, lagrimal y sudorípara, pulmón y ojo
AQP6	12q13	282	Aniones NO ₃ ⁻ > I ⁻ > Br ⁻ > Cl ⁻ > F ⁻	Baja	Riñón
AQP7	9p13	170	Agua, urea, glicerol, arsenito	Alta	Tejido adiposo, riñón y testículos
AQP8	16p12	255	Agua, urea, amoníaco	Alta	Riñón, hígado, páncreas, tracto gastrointestinal y testículos
AQP9	15q22	295	Agua, urea, polioles (glicerol y manitol), purinas, pirimidinas, arsenito	Baja	Hígado, leucocitos, cerebro y testículos
AQP10	1q21	264	Agua, glicerol, urea	Baja	Tracto gastrointestinal
AQP11	11q13	271	-	-	Cerebro, hígado y riñón
AQP12	2q37	265	-	-	-

llones de moléculas de agua por segundo. Las acuaporinas forman canales que son notablemente selectivos, excluyendo el paso de iones de todo tipo y sólo algunos subtipos de acuaporinas permiten el paso de moléculas pequeñas como la urea y el glicerol. El desplazamiento del agua a través de estos canales es bidireccional, determinado por el gradiente electroquímico del agua. La familia de las acuaporinas en las células de mamíferos consta hasta la fecha de trece subtipos, designados en

una serie secuencial de AQP0 a AQP12. Las AQP3, AQP7 y AQP9 son también permeables al glicerol (Tabla 1).

El subtipo mejor caracterizado es la AQP1, que fue la primera en ser aislada de la membrana de eritrocitos humanos (Fig. 1). El estudio cristalográfico de la AQP1 muestra que se trata de una proteína monomérica, que para formar el canal de paso del agua se organiza en forma de tetrámeros, con cuatro monómeros idénticos. Esta organización permite la formación de un

poro, cuyo diámetro es de 2 nanómetros de largo y 0.3 nanómetros de ancho (Fig. 1). Esta dimensión limita el paso de la mayoría de las moléculas presentes en los fluidos biológicos. Una de las propiedades más interesantes de las acuaporinas es su capacidad para impedir el paso de iones, que por su tamaño, podrían permear fácilmente a través del poro de las acuaporinas. Esto se consigue en parte mediante la presencia de una barrera formada por un aminoácido con carga positiva, la arginina, el cual

está situado en una posición estratégica dentro del poro. Esta estructura está conservada en todos los subtipos de acuaporinas. Existen también fuerzas electrostáticas que dificultan el paso de los iones, y a la vez determinan la orientación de las moléculas de agua, las que de esta forma, ingresan al poro de manera ordenada, permitiendo una difusión muy rápida.

Los distintos tipos de acuaporinas: características y localización en el sistema nervioso

La importancia fisiológica de los distintos subtipos de acuaporinas se ha establecido en diversos tejidos y órganos. Entre los mejor conocidos se encuentra el sistema renal, en el que varios subtipos de acuaporinas tienen un papel determinante en la

reabsorción del agua durante el proceso de concentración de la orina. Las acuaporinas tienen también una función crítica en el intercambio de fluido en los capilares, en el humor acuoso y en la producción del líquido cefalorraquídeo, lo que sugiere su participación en patologías como el edema pulmonar, el edema cerebral o el glaucoma. El cristalino, la córnea, el músculo esquelético, los epitelios glandulares e intestinales, son otros tantos tejidos en los que las acuaporinas desempeñan un papel muy importante en la regulación de los fluidos celulares (Tabla 1) (2). Asimismo, las acuaporinas parecen ser el medio a través del cual ocurre en buena parte el movimiento del agua osmótica durante los cambios en el volumen celular.

En el sistema nervioso se expresan principalmente las acuaporinas AQP1, 4 y 9. La AQP1 se localiza preferentemente en el epitelio del plexo coroideo, en la membrana apical de las células epiteliales. Participa en la formación del líquido cefalorraquídeo y su expresión se incrementa en tumores del plexo coroideo que se asocian con una formación excesiva del líquido cefalorraquídeo. La AQP1 se localiza en neuronas sensoriales de la raíz dorsal y se ha relacionado con la percepción del dolor. La AQP9 tiene la particularidad de que además de ser permeable al agua, permite el paso de pequeñas moléculas sin carga tales como glicerol, urea, lactato, purinas y pirimidinas. La AQP9 se expresa en los astrocitos en la región periventricular del parénquima y en la glía que bordea el espacio subaracnoideo, coincidiendo en algunas zonas con la AQP4. La AQP9 se localiza en los tanicitos, en los astrocitos que forman los principales tractos de sustancia blanca, en núcleos del septo y del hipotálamo y en la glía de Bergmann. Funcionalmente se ha involucrado a la AQP9 en el movimiento de osmolitos como el lactato y la urea, contribuyendo a la regulación osmótica. Recientemente se ha detectado la presencia en el cerebro de las acuaporinas AQP3, AQP5, AQP6, AQP7 y AQP8. Las acuaporinas AQP3, AQP5 y AQP8 se localizan en astrocitos y en la membrana basolateral de las células del epitelio endotelial. Las acuaporinas AQP5, AQP6 y AQP7 se han encontrado hasta ahora sólo en las neuronas. La AQP8 se encuentra en neuronas y oligodendrocitos. La AQP11 se ha localizado en las espinas dendríticas de las células de Purkinje, en las neuronas de las regiones CA1 y CA3 del hipocampo y en neuronas corticales (3).

La AQP4 se expresa abundantemente en el cerebro, encontrándose en concentraciones diez veces más ele-

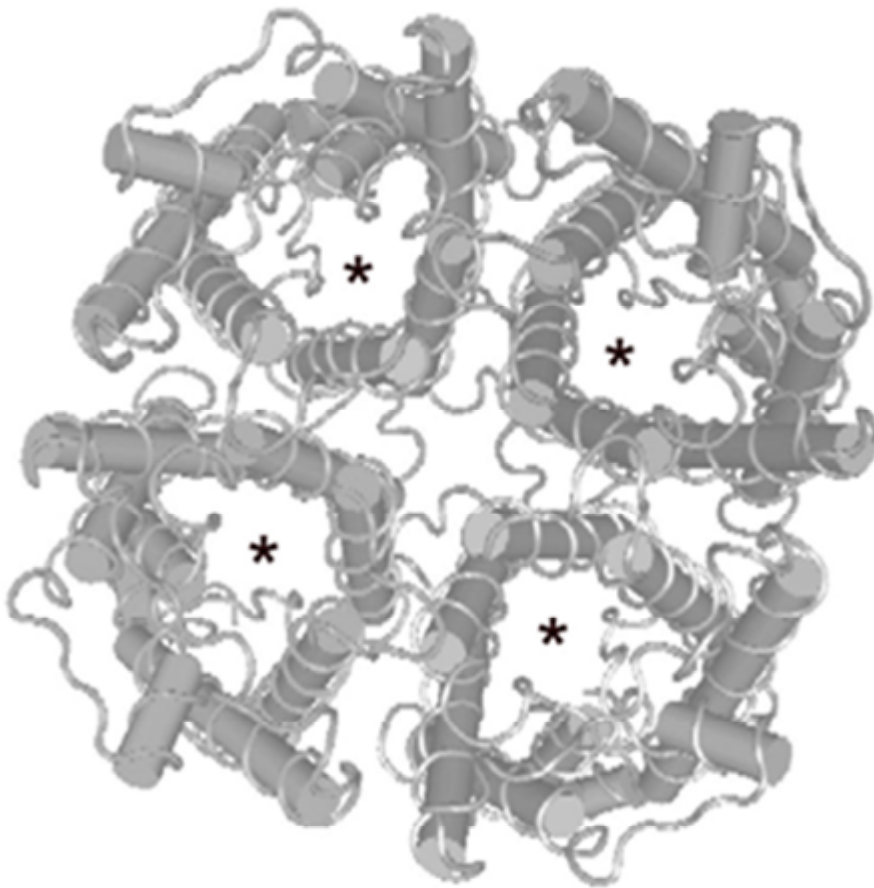


Figura 1. Modelo estructural de la AQP-1 tetramérica vista desde la superficie extracelular. Cada monómero está representado con diferente color. Los asteriscos representan los poros de agua para cada subunidad.

vadas que en otros órganos. Es la acuaporina con mayor relevancia en la eliminación del edema vasogénico y participa también en el desplazamiento de agua en el edema citotóxico (Fig. 2). La AQP4 se clonó de células de pulmón de ratón (4, 5) y posteriormente se clonó una segunda isoforma en cerebro de ratón, que contiene un segmento amino terminal más largo (Tabla 1) (6). Ambas isoformas se encuentran en el cerebro, pero la más corta, con 301 residuos de aminoácidos, es la más abundante (Tabla 1). Una característica típica de la AQP4 es que, a diferencia de las otras acuaporinas no se inhibe por mercuriales, debido a la ausencia de algunos residuos de cisteína que son críticos para la unión de estos agentes. La AQP4 se localiza en los astrocitos, en las células endoteliales y en las células de Müller de la retina. En los astrocitos se encuentra en forma predominante en las células que forman las interfases cerebroventricular y cerebrovascular, con una distribución polarizada, concentrándose en las zonas de los astrocitos que entran en contacto directo con los capilares y la piamadre. Se encuentra también en zonas de alta vascularización y en aquellas que están a cargo de la osmopercepción y la osmorregulación a nivel sistémico, como son el órgano subfórmico y el núcleo supraóptico. La AQP4 no se encuentra en neuronas.

La comprensión y la extensión del papel que juega la AQP4 en la fisiopatología del sistema nervioso se ha visto facilitada por la generación de un ratón transgénico AQP4^{-/-} (5, 7). Otros ratones transgénicos con efecto sobre la funcionalidad de AQP4 son el modelo de ratón distrofina^{-/-} y el α -sintrofina^{-/-}. La presencia y funcionalidad adecuadas de estas proteínas son necesarias para la localización correcta de la AQP4 en la membrana.

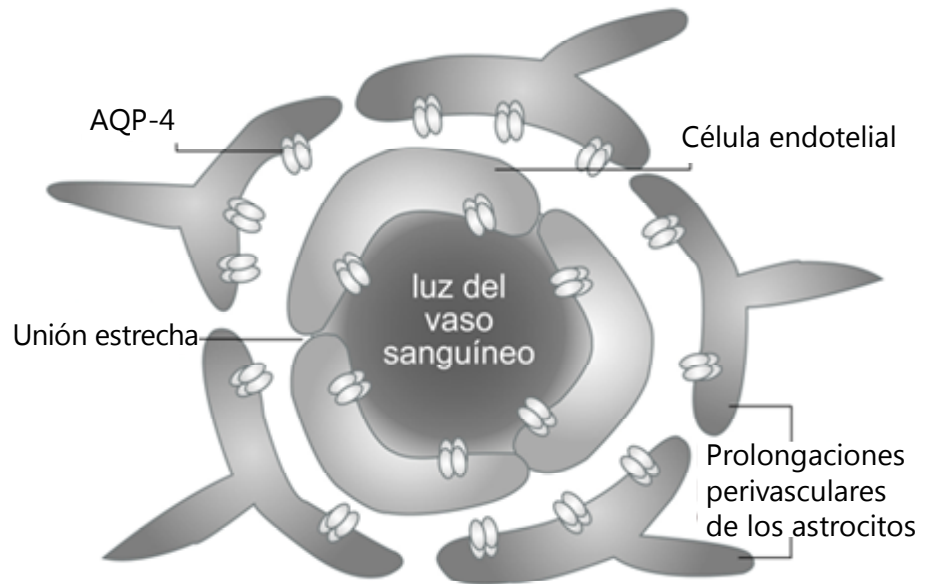


Figura 2. Vía de salida del agua de la barrera hematoencefálica a la corriente sanguínea durante el edema cerebral.

ACUAPORINAS Y EDEMA CEREBRAL

En condiciones fisiológicas el agua en el cerebro adulto se distribuye entre varios compartimientos: el líquido cefalorraquídeo, el plasma, el intersticial y el intracelular, desplazándose entre estos distintos compartimientos en respuesta a las diferencias en presión homeostática y presión osmótica. El edema cerebral se origina cuando se presenta una distribución inadecuada de agua entre estos distintos compartimientos. El edema cerebral se presenta en un gran número de patologías, y es una complicación clínica grave, en ocasiones aún más seria que la propia patología que le dio origen. El edema cerebral puede ser vasogénico o citotóxico. El edema vasogénico es el que ocurre al haber daño de la barrera hematoencefálica y como consecuencia, el agua y algunas proteínas plasmáticas entran al parénquima cerebral siguiendo el desbalance en la presión hidrostática. El edema vasogénico es primordialmente una expansión del espacio intersticial. El fluido que se acumula

durante el edema vasogénico se elimina a través de la glía limitante externa hacia el espacio subaracnoideo y luego a través de la glía limitante interna y el epéndimo hacia los ventrículos. El edema citotóxico ocurre cuando hay acumulación de agua en el citosol, a consecuencia de perturbaciones en la distribución normal de iones y osmolitos orgánicos a consecuencia de situaciones patológicas.

AQP4 Y EDEMA VASOGÉNICO

Como se mencionó anteriormente, la distribución de la AQP4 en elementos celulares sugería su participación en los desplazamientos de agua ya sea para la generación del edema como para la eliminación de los fluidos que lo causan. Esta predicción derivada de los sitios de expresión de la AQP4 se ha confirmado experimentalmente. Hay evidencia de que la AQP4 juega un papel clave en la eliminación del líquido intracerebral durante el edema vasogénico, sustentada en las siguientes observaciones: 1. En un modelo experimental de edema vasogénico consistente en la infusión

de líquido cefalorraquídeo, se observa un incremento en la presión intracraneal en animales deficientes en AQP4, 2. El incremento en la presión intracraneal generado por inyección de fluido isotónico en el parénquima cerebral es mayor en los ratones AQP4^{-/-}, 3. En condiciones de traumatismo cranoencefálico, los animales deficientes en AQP4 muestran mayor daño neurológico, un incremento en la presión intracraneal y mayor acumulación de agua que sus correspondientes controles con un daño semejante en la barrera hematoencefálica (8, 7), 4. En un modelo experimental de edema vasogénico generado por el implante de células que generan un melanoma, los animales deficientes en AQP4 mostraron un incremento en la presión intracraneal y un pronóstico neurológico adverso en comparación con los controles (5). Estas evidencias, en conjunto, sustentan la participación de la AQP4 en el mecanismo de eliminación de fluido desde el parénquima cerebral hacia el plasma en el curso del edema vasogénico. Estos resultados confirman la participación de la AQP4 en el edema vasogénico, afectando al proceso de eliminación de los fluidos acumulados más que al de desplazamiento dentro del parénquima cerebral.

AQP4 Y EDEMA CITOTÓXICO

El edema citotóxico se define como la acumulación de agua en las células nerviosas a consecuencia de una condición patológica. Aunque en términos de definición hay una clara diferencia entre el edema vasogénico y el citotóxico, en el curso de muchas de las patologías que los originan es frecuente que coincidan los dos tipos de edema, a veces con diferente patrón temporal, generándose uno a consecuencia del otro. El edema citotóxico a su vez, puede originarse a consecuencia de un decremento en la osmolaridad del plasma, en todas aquellas patolo-

gías que conllevan un cuadro de hiponatremia o bien en condiciones isosmóticas en situaciones patológicas como la epilepsia, la isquemia, el traumatismo cefálico o de médula espinal y la encefalopatía hepática.

Hiponatremia

La hiponatremia es una condición que se presenta en numerosas patologías. La hiponatremia puede ser consecuencia de un incremento en los niveles de agua o de un decremento en el contenido plasmático de electrolitos, en particular el sodio que es el que se encuentra en mayor concentración.

Un exceso en el contenido en agua plasmática ocurre en la polidipsia psicótica. En esta condición, el enfermo muestra una necesidad continua de ingerir agua, lo que termina diluyendo el plasma y generando un cuadro de edema cerebral. Otra situación en la que se incrementa el contenido de agua plasmática es durante el consumo de la droga llamada éxtasis. Este compuesto es un bloqueador del transportador de la serotonina y a través de este efecto desregula los centros de control de la temperatura localizados en el hipotálamo, haciendo que el individuo tenga una sensación de calor insoportable que lo induce a ingerir líquido en grandes cantidades durante un tiempo corto. Se presenta entonces, un cuadro de hiponatremia y el edema cerebral que genera es la causa de los pocos casos de muerte asociados a esta droga. Una condición de hiponatremia se presenta también en los corredores de maratón. Algunos casos de edema cerebral fatal, por desgracia demasiado frecuentes, ocurren a consecuencia de la administración de fluidos durante la terapia postoperatoria, que no están cuidadosamente ajustados a los niveles de sodio/agua y otros osmolitos en el momento de la infusión.

El edema en condiciones de hiponatremia se genera simplemente

por el desbalance osmótico que tiene lugar entre los compartimientos extracelular e intracelular. La concentración de solutos en el interior de la célula es mayor y el agua se desplaza de acuerdo a su potencial, hasta igualar la osmolaridad. En estas condiciones, la gran mayoría de las células animales, incluyendo las células nerviosas, incrementan su volumen, pero en forma muy rápida se inicia un mecanismo regulador que ha persistido en las células animales a través de la evolución. Se trata de una respuesta activa, que se pone en movimiento a pesar de que persistan las condiciones hiposmóticas externas. Este mecanismo conocido como decremento regulador del volumen consiste en la expulsión de solutos osmóticamente activos presentes en concentraciones altas en la célula, hacia el espacio extracelular, con la finalidad de restablecer el equilibrio osmótico. Las moléculas que tienen a su cargo este proceso, son llamadas osmolitos. En términos moleculares los osmolitos caen en dos grandes categorías: 1. Los iones K⁺ y Cl⁻ y 2. Un grupo de moléculas pequeñas de naturaleza diversa, que son los osmolitos orgánicos. Los aminoácidos glutamato, aspartato, GABA, glicina y taurina, el mioinositol y las aminas fosfoetanol amina y creatina son los osmolitos orgánicos que participan mayoritariamente en la recuperación del volumen (9). El decremento regulador del volumen se observa tanto en el cerebro completo como en distintas preparaciones nerviosas como rebanadas de tejido o neuronas y astrocitos en cultivo (10). El papel de las acuaporinas en los desplazamientos de agua en hiponatremia no está bien establecido y los pocos estudios que se han dirigido a examinar este aspecto han sido en ocasiones, contradictorios. Un incremento en la expresión inmunológica de la AQP4 se reporta en el cerebro de ratas con hiponatremia, pero que no se acom-

pañá de un incremento a nivel transcripcional ni de un cambio en distribución intracelular. En astrocitos obtenidos del cerebro del ratón AQP4^{-/-} se observa una disminución muy marcada, de más de siete veces, en el desplazamiento del agua en condiciones de hiponatremia. Sin embargo, en astrocitos en los que se bloquea la expresión funcional de la AQP4 por RNA de interferencia, no se observó ningún cambio en la permeabilidad del agua en condiciones hiposmóticas (11). Resulta claramente necesario incrementar el número de investigaciones sobre este tópico antes de tener una conclusión acerca del papel de la AQP4 o de otras acuaporinas en el decremento regulador del volumen en células nerviosas.

Como se mencionó antes, una patología en la que se produce hiponatremia es la intoxicación por agua, una condición presente en padecimientos sicóticos. Un modelo experimental de esta condición es simplemente la infusión de agua. Para llegar a producirse edema citotóxico, el agua en el plasma debe desplazarse a través de los compartimientos representados por la barrera hematoencefálica, y el compartimiento intersticial, antes de llegar al citosol. En el ratón deficiente en AQP4, la infusión de agua en el plasma induce una significativamente menor mortalidad (8%) que en los controles nativos (76%). Esta diferencia parece deberse a una menor acumulación de agua en el cerebro del ratón AQP4^{-/-}, debida a un desplazamiento menor a través de la barrera hematoencefálica como sugieren los resultados que muestran un mayor hinchamiento en el pie de los astrocitos de los ratones nativos (5,12). Básicamente los mismos resultados se observan cuando la localización de la AQP4 está alterada en los ratones transgénicos sin distrofina o sin α -sintrofina (13).

Epilepsia

La relación entre una condición de hiponatremia y el incremento en la actividad convulsiva se conoce desde hace tiempo. Diversos estudios *in vitro* han confirmado el vínculo entre edema e hiperexcitabilidad y han tratado de establecer el mecanismo celular y molecular de esta asociación. El aumento en volumen de los astrocitos inducido por hiponatremia, que lleva a una reducción correspondiente del espacio extracelular, induce actividad epileptiforme en varias preparaciones nerviosas. Otra evidencia en este sentido es la reducción de la actividad epileptiforme por furosemida, un inhibidor del cotransportador NKCC, que participa en el aumento en volumen en los astrocitos asociado a hiperexcitabilidad neuronal y acumulación de K⁺ (14). Con estos antecedentes, se plantea la posibilidad de que la AQP4 esté participando en el control de la excitabilidad. En un estudio reciente se comparó la susceptibilidad convulsiva al pentilentetrazol de los ratones AQP4^{-/-} en comparación con los animales control. Los resultados mostraron una menor tasa de mortalidad, pero un menor umbral de aparición y una duración significativamente mayor de las convulsiones (14). Este efecto puede deberse a una capacidad reducida por parte de los astrocitos y al exceso de K⁺ que se libera al espacio extracelular como consecuencia de la hiperexcitabilidad neuronal.

Isquemia

Durante un episodio isquémico, la reducción o el cese en el aporte de oxígeno y de glucosa lleva a una insuficiencia energética que disipa los gradientes transmembranales de Na⁺ y K⁺. Esto trae como consecuencia un incremento en las concentraciones intracelulares de Na y un aumento en los niveles de K extracelular debido a la interrupción de la actividad de la ATPasa Na⁺/K⁺ al interrumpirse la

cadena respiratoria mitocondrial por ausencia de oxígeno. El nivel extracelular de K⁺ en isquemia severa puede llegar hasta 80 mM, lo que lleva a la activación del sistema de amortiguamiento espacial a cargo de los astrocitos. Los niveles extracelulares de K⁺ en el cerebro deben mantenerse dentro de márgenes muy controlados, debido a su papel fundamental en la excitabilidad neuronal. Los astrocitos tienen un papel clave en esta regulación a través del mecanismo conocido como amortiguamiento espacial del K⁺. Durante este proceso, el K⁺ se acumula en los astrocitos que se encuentran en el área de los focos epiléptico o isquémico y es transferido a otros astrocitos a través de las uniones comunicantes, para ser liberado en regiones alejadas del sitio de máxima concentración extracelular. En condiciones de isquemia severa y prolongada, el proceso de transferencia se ve sobrepasado y el K⁺ se acumula en los astrocitos. Esto es seguido por la entrada de Cl⁻ para mantener la electroneutralidad y de agua que sigue su potencial químico, llevando a un incremento en el volumen del astrocito. A diferencia de lo que ocurre en el edema en condiciones de hiponatremia, en este caso los astrocitos no son capaces de regular su volumen, por lo que permanecen hinchados (Fig. 3). Un elemento adicional que lleva a un incremento en el volumen en los astrocitos, es la lactacidosis. En condiciones de isquemia incompleta, cuando las células no reciben oxígeno pero hay todavía un aporte remanente de glucosa, los astrocitos tienen la capacidad de generar energía mediante la vía de glucólisis anaeróbica. Como resultado de la operación acelerada de esta cadena de reacciones, junto con la imposibilidad de que el piruvato se metabolice en la mitocondria, se genera lactato que incrementa sus niveles intracelulares, movilizándolo el agua

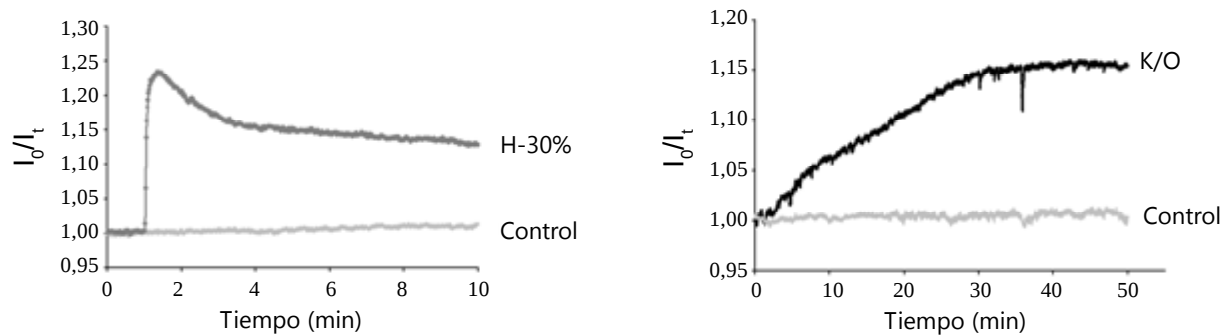


Figura 3. Incremento en el volumen de astrocitos corticales en cultivo expuestos a medio hiposmolar al 30% (H-30%) o a una condición experimental que simula la isquemia consistente en un medio con KCl (100 mM), que reemplaza equiosmolarmente NaCl, y ouabaína (1mM) K/O. Los cambios en el volumen celular fueron estimados empleando un sistema de dispersión de luz. Los datos están expresados como el inverso de la magnitud de la emisión de señal y fueron calculados de acuerdo con la ecuación I_t/I_0 (donde: I_0 = el promedio de la señal de emisión antes del estímulo; I_t = la señal de emisión a tiempo t) (Vázquez-Juárez et al., no publicado).

para restablecer el equilibrio osmótico. Junto con el lactato se generan también protones (H^+), que activan al intercambiador Na^+/H^+ que se acopla al intercambiador aniónico Cl^-/HCO_3^- , incrementando aún más el desplazamiento de agua al interior de la célula. Un estudio reciente en astrocitos en cultivo muestra que la lactacidosis incrementa la expresión de la AQP4 (15).

El incremento en el volumen de los astrocitos por todos estos mecanismos conlleva a un daño adicional, pues esta condición induce la movilización del glutamato al espacio extracelular. En condiciones fisiológicas, el glutamato que se libera por la actividad de las neuronas es inmediatamente removido del extracelular y re-introducido a las células, particularmente a los astrocitos, mediante transportadores dependientes de la energía derivada de los gradientes de Na^+ y de K^+ . En condiciones de isquemia, estos gradientes se disipan ya que a su vez dependen de la actividad de la ATPasa Na^+/K^+ , que se encuentra colapsada por la condición de anoxia inherente a la isquemia. Ante esta situación, los transportadores no sólo son incapaces de eliminar al glutamato del espacio extracelular sino que incluso lo movilizan desde el interior de la célula. El riesgo de esta condición es que ocu-

rra la muerte neuronal por excitotoxicidad, un fenómeno bien caracterizado que ocurre por la sobrefunción de los receptores ionotrópicos al glutamato del tipo NMDA, presentes en las neuronas, que permiten la entrada de Na^+ y Ca^{2+} . El Na^+ contribuye al colapso de los gradientes iónicos mientras que el Ca^{2+} inicia una cadena de daño que lleva a la muerte neuronal, a través de la activación de proteasas y la generación de estrés nitrooxidativo.

La participación de las acuaporinas en el edema cerebral durante la isquemia se ha sugerido por el incremento en la expresión de AQP4 en condiciones de isquemia *in vivo*, aunque los estudios que muestren un incremento real son muy escasos. Este aspecto se ha estudiado también comparando el daño cerebral y la mortalidad de ratones a los que se genera un cuadro de isquemia por oclusión de la arteria cerebral media, con aquellos ratones deficientes en AQP4. Los resultados de estas investigaciones muestran que la lesión cerebral, la magnitud del edema celular y la tasa de mortalidad son significativamente menores en los animales AQP-/- (16). Esta protección se ha encontrado también en ratones mutantes en los que se ha eliminado la proteína α -sintrofina. Esta proteína participa en

el andamiaje que permite la inserción adecuada de la AQP4, de modo que en su ausencia, la funcionalidad de la AQP4 se ve afectada (13). Estos resultados indican que la AQP4 participa en el desplazamiento del agua que ocurre durante la isquemia y que lleva al incremento en volumen en los astrocitos con el consecuente daño antes descrito.

Traumatismos craneano y de la médula espinal

El edema cerebral es una de las primeras y más importantes manifestaciones clínicas del traumatismo craneoencefálico. Es también posiblemente la causa principal de la mortalidad asociada a este tipo de accidentes. El edema se genera por una serie de factores, mecánicos y químicos. Una de las primeras respuestas es una onda de despolarización que incrementa los niveles intracelulares de Na^+ y Cl^- , a los que sigue el agua osmóticamente dirigida. Se presenta también una deformación mecánica de la membrana celular lo que incrementa su permeabilidad, a veces en forma descontrolada. Si el trauma conlleva cuadros hemorrágicos, se presentan entonces las alteraciones inherentes a la isquemia, incluyendo el edema citotóxico causado por los factores antes señalados. Finalmente, con fre-

cuencia se asocia una alteración en la secreción de la hormona antidiurética, con lo que se genera hiponatremia, que contribuye también al cuadro edematoso. La participación de la AQP4 en el edema asociado al traumatismo craneano se ha sustentado en estudios que muestran un cambio en la expresión de este canal que abarca la zona de la lesión en la que se ve un aumento en la expresión, así como un decremento en las zonas adyacentes a la lesión. Estos resultados se interpretan como un mecanismo de protección para evitar la propagación del edema a las zonas vecinas (17). El mecanismo que induce estos cambios podría ubicarse a nivel de una redistribución en la membrana celular o a una degradación de la molécula mediada por factores todavía desconocidos.

Encefalopatía hepática

La encefalopatía hepática es una complicación clínica de una condición de hiperamonemia, generada por una insuficiencia hepática severa. En el ce-

rebro solamente los astrocitos pueden eliminar el exceso de amonio, ya que son los únicos que tienen una enzima, la glutamina-sintetasa, que lo deriva hacia la síntesis de glutamina. Como consecuencia de esta reacción y de la propia acumulación del amonio, se genera un cuadro de estrés oxidativo, que activa una cadena autopropagada de daño membranar y mitocondrial, sobrecarga iónica y de agua, causante del edema característico de la encefalopatía hepática. La participación de las AQPs en la encefalopatía hepática se está apenas investigando. En un modelo de astrocitos en cultivo se ha encontrado que el daño mitocondrial aparentemente induce la sobreexpresión de AQP4, que puede contribuir al edema, y que se revierte por antioxidantes (18).

Conclusiones y perspectivas

El conocimiento actual de la participación de las acuaporinas en el edema cerebral generado por distintas

patologías es apenas incipiente. Aunque en el caso del edema vasogénico si se cuenta con evidencia experimental sólida de su participación en la eliminación del fluido acumulado, para el caso del edema citotóxico, los pocos resultados con los que se cuenta hasta la fecha se han obtenido en distintas preparaciones biológicas y con diferentes abordajes experimentales. Entre las perspectivas en el campo de las acuaporinas y el edema cerebral están de manera notable, el estudio mucho más amplio de su papel en el edema citotóxico, en todas las patologías en las que se presenta. El análisis y la caracterización de los mecanismos que modulan la activación o la inactivación de las acuaporinas por los distintos factores que generan el edema es un tópico muy poco explorado. El avance en este tema ofrece una amplia gama de posibilidades para la prevención y el control de los daños asociados al edema cerebral.

REFERENCIAS

1. Carbre JM, Agre P (2009) Discovery of the aquaporins and development of the field. *Handb Exp Pharmacol* 190:3-28.
2. Verkman AS (2005) More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J Cell Sci* 118: 3225-3232.
3. Tait MJ, Saadoun S, Bell BA, Papadopoulos MC (2008) Water movements in the brain: role of aquaporins. *Trends Neurosci* 31:37-43.
4. Hasegawa H, Ma T, Skach W, Matthay MA, Verkman AS (1994) Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. *Biol Chem* 269:5497-5500.
5. Verkman AS, Binder DK, Bloch O, Auguste K, Papadopoulos MC (2006) Three distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice. *Biochim Biophys Acta* 1758:1085-1093.
6. Jung JS, Bhat RV, Preston GM, Guggino WB, Baraban JM, Agre P (1994) Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. *Proc Natl Acad Sci* 91:13052-13056.
7. Papadopoulos MC, Verkman AS (2007) Aquaporin-4 and brain edema. *Pediatr Nephrol* 22:778-784.
8. Papadopoulos MC, Manley GT, Krishna S, Verkman AS (2004) Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J* 18:1291-1293.
9. Hoffmann EK, Lambert IH, Pedersen SF. (2009) Physiology of cell volume regulation in vertebrates. *Physiol Rev* 89:193-277.
10. Pasantes-Morales H, Franco R (2005) Astrocyte cellular swelling: mechanisms and relevance to brain edema. En: *The Role of Glia in Neurotoxicity*. Editores: Aschner M, Costa L. CRC-Press, pp.173-190.

11. Solenov E, Watanabe H, Manley GT, Verkman AS (2004) Sevenfold-reduced osmotic water permeability in primary astrocyte cultures from AQP-4-deficient mice, measured by a fluorescence quenching method. *Am J Physiol Cell Physiol* 286:C426-C432.
12. Manley GT, Fujimura M, Ma T, Noshita N, Filiz F, Bollen AW, Chan P, Verkman AS (2000) Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med* 6:159-163.
13. Zador Z, Bloch O, Yao X, Manley GT (2007) Aquaporins: role in cerebral edema and brain water balance. *Prog Brain Res* 161:185-194.
14. Hsu MS, Lee DJ, Binder DK (2007) Potential role of the glial water channel aquaporin-4 in epilepsy. *Neuron Glia Biol* 3:287-297.
15. Morishima T, Aoyama M, Iida Y, Yamamoto N, Hirate H, Arima H, Fujita Y, Sasano H, Tsuda T, Katsuya H, Asai K, Sobue K (2008) Lactic acid increases aquaporin 4 expression on the cell membrane of cultured rat astrocytes. *Neurosci Res* 61:18-26.
16. Manley GT, Binder DK, Papadopoulos MC, Verkman AS (2004) New insights into water transport and edema in the central nervous system from phenotype analysis of aquaporin-4 null mice. *Neuroscience* 129: 983-991.
17. Sun MC, Honey CR, Berk C, Wong NL, Tsui JK (2003) Regulation of aquaporin-4 in a traumatic brain injury model in rats. *J Neurosurg* 98:565-569.
18. Rama Rao KV, Norenberg MD (2007) Aquaporin-4 in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 22:265-275.