

Uszkodzenie bariery krew–mózg w neurodegeneracji

Blood-brain barrier impairment in neurodegeneration

Anna Palejko¹, Anna Członkowska²

¹Pracownia Neuroimmunologii, II Klinika Neurologiczna, Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa

²II Klinika Neurologiczna, Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa

Neuropsychiatria i Neuropsychologia 2020; 14, 1

Adres do korespondencji:

mgr Anna Palejko

Pracownia Neuroimmunologii, II Klinika Neurologiczna

Instytut Psychiatrii i Neurologii

ul. Sobieskiego 9, bud. H, 02-957 Warszawa

tel. +22 458 28 04

e-mail: apalejko@ipin.edu.pl

Streszczenie

Do najbardziej znanych chorób neurodegeneracyjnych należą choroba Alzheimera (*Alzheimer's disease* – AD), choroba Parkinsona (*Parkinson's disease* – PD) i choroba Huntingtona (*Huntington's disease* – HD). Pomimo że różnią się one obrazem klinicznym i zmianami neuropatologicznymi, mają wiele cech wspólnych. W przypadku każdej z nich zwiększone stężenie patologicznych białek (β -amyloidu [A β] w AD, α -synukleiny w PD, huntingtyny w HD) w cytoplazmie skutkuje uszkodzeniem i śmiercią komórek nerwowych. Toczący się w odpowiedzi proces zapalny przejawia się pobudzeniem mikrogleju i astrocytów, wytwarzaniem cytokin oraz tlenku azotu, indukacją stresu oksydacyjnego, a także napływem komórek zapalnych do ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Może on w swej kaskadzie przyczynić się do zaburzeń w obrębie bariery krew–mózg (*blood-brain barrier* – BBB) – struktury niezbędnej do utrzymania homeostazy OUN. Bariere krew–mózg tworzą ściśle połączone ze sobą komórki śródbłonna naczyń włosowatych OUN, które wraz z towarzyszącymi perycytami są pokryte wspólną błoną podstawną. Taka struktura BBB w warunkach fizjologicznych umożliwia kontrolę migracji komórek układu immunologicznego oraz wymiany związków chemicznych pomiędzy krwią a parenchymą mózgu. Utrata integralności BBB w chorobach neurodegeneracyjnych może prowadzić do pogłębienia uszkodzeń mózgu. Dokładniejsze poznanie patomechanizmów tych chorób ma na celu usprawnienie procesu diagnostycznego, a także odnalezienie nowych potencjalnych celów terapeutycznych. W pracy omówiono budowę BBB oraz funkcje jej poszczególnych elementów. Przedstawiono także obecny stan wiedzy o uszkodzeniu BBB w przebiegu AD, PD i HD.

Słowa kluczowe: zapalenie, neurodegeneracja, bariera krew–mózg.

Wstęp

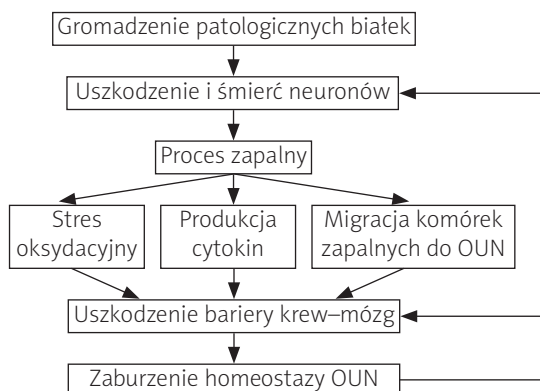
Patogeneza chorób neurodegeneracyjnych nie jest do końca poznana, jednak przyjmuje się, że rolę odgrywają tu zarówno predyspozycje

Abstract

Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD) and Huntington's disease (HD) are the most widely studied neurodegenerative diseases. Although these diseases differ clinically and pathologically, they share some features. For example, neuronal death in these diseases occurs due to the accumulation of pathological proteins: amyloid β (A β) in AD, α -synuclein in PD and huntingtin in HD. Neuronal death in turn induces neuroinflammation, which is characterized by the activation of microglia and astrocytes, production of cytokines and nitric oxide, induction of oxidative stress, and migration of inflammatory cells to the central nervous system (CNS). These processes disrupt the blood-brain barrier (BBB), which is needed to maintain CNS homeostasis. The BBB is built by closely connected endothelial cells of the CNS capillaries, which, together with pericytes, are covered with a layer of basal membrane. Under physiological conditions, the BBB controls the migration of immune cells and the exchange of chemical compounds between the blood and the brain. Loss of BBB integrity in neurodegenerative diseases can worsen brain damage. A better understanding of the mechanisms of neurodegenerative diseases should improve the diagnosis and help find new treatment targets. In this article we present the structure and function of the BBB, including examples of BBB damage in AD, PD and HD.

Key words: neuroinflammation, neurodegeneration, blood-brain barrier.

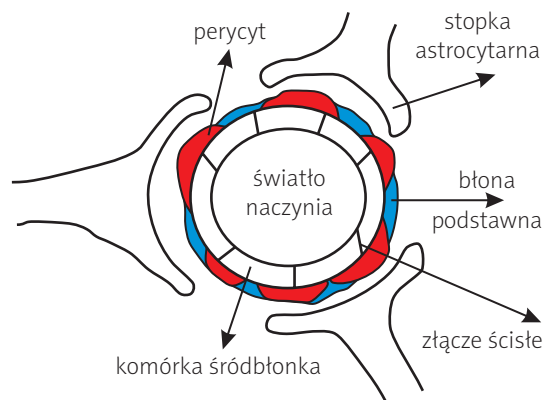
genetyczne, jak i czynniki środowiskowe, a ich współwystępowanie zwiększa stopień utraty komórek nerwowych. Do najbardziej znanych chorób z tej grupy należą choroba Alzheimera (*Alzheimer's disease* – AD), choroba Parkinsona



Ryc. 1. Schemat etapów procesu zapalnego i uszkodzenia bariery krew-mózg w procesie neurodegeneracji

(*Parkinson's disease* – PD) i choroba Huntingtona (*Huntington's disease* – HD). Pomimo że różnią się one obrazem klinicznym i zmianami neuropatologicznymi, mają wiele cech wspólnych. W przypadku każdej z nich zwiększone stężenie patologicznych białek w cytoplazmie (β -amyloidu [A β] w AD, α -synukleiny w PD, huntingtyny w HD) przyczynia się do uszkodzenia i śmierci neuronów. W wyniku tego dochodzi do procesu zapalnego, początkowo lokalnego, który w swojej kaskadzie może pogłębiać występujące uszkodzenia (ryc. 1). Proces zapalny przejawia się pobudzeniem mikrogleju i astrocytów, wytwarzaniem cytokin oraz tlenku azotu, indukcją stresu oksydacyjnego, a także napływem komórek zapalnych do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) (Clark i Kodadek 2016).

W chorobach neurodegeneracyjnych dochodzi do zmian zwyrodnieniowych w obrębie naczyń, w tym także włosowatych, co może prowadzić do uszkodzenia bariery krew-mózg (*blood-brain barrier* – BBB) (Drouin-Ouellet i wsp. 2015; Malek i wsp. 2016; Toledo i wsp. 2013). Na skutek patologii w obrębie naczyń wchodzących w skład BBB może dochodzić m.in. do mikrokrwawień,



Ryc. 2. Budowa bariery krew-mózg

co obserwowano u pacjentów z AD i PD (Goos i wsp. 2009; Ham i wsp. 2014; Heringa i wsp. 2014; Olazarán i wsp. 2014; Poliakova i wsp. 2016). Wynaczynianie erytrocytów prowadzi do okołonaczyniowego nagromadzenia białek, takich jak hemosyderyna (pochodząca z hemoglobiny), które uwalniają wolne żelazo w miarę ich rozpadu, co sprzyja wytwarzaniu reaktywnych form tlenu oraz nasila toczący się już proces zapalny.

Termin „bariera krew-mózg” funkcjonuje w medycynie od 1900 r. Przez długi czas uważano, że stanowi ona szczelną granicę pomiędzy OUN a krwiobiegiem, jednak obecnie wiadomo, że BBB jest zdolna do reagowania na bodźce chemiczne pochodzące z osocza oraz do komunikowania się z komórkami układu odpornościowego. Główną częścią składową BBB jest pojedyncza warstwa wyspecjalizowanych komórek nabłonka płaskiego tworząca śródbłonek mózgowych naczyń włosowatych. Komórki te wraz z towarzyszącymi perycytami pokryte są wspólną błoną podstawną, którą pokrywają stopki astrocytarne (Zlokovic 2008). Budowę BBB przedstawiono na ryc. 2.

Śródbłonek naczyń włosowatych

Śródbłonek naczyniowy (*endothelium*) określany jest mianem „narządu rozproszonego”. Pełni istotne funkcje w takich procesach, jak regulacja przepływu i ciśnienia krwi, wydzielanie czynników aktywnych biologicznie, kontrola wymiany różnych substancji (odżywczych lub toksycznych) przez ścianę naczynia, angiogeneza czy reakcje zapalne i immunologiczne. Komórki śródbłonna charakteryzują się specyfiką narządową. W zależności od lokalizacji endotelium może wykazywać inną przepuszczalność, co uwarunkowane jest różnicami morfologicznymi oraz odrębnościami antygenowymi.

Śródbłonek naczyń włosowatych tworzący BBB należy do tzw. typu bezokienkowego. Gęsta sieć wysokooporowych połączeń uniemożliwia występowanie fenestracji (okienek) pomiędzy komórkami i utrudnia samorzutną wymianę związków chemicznych oraz migrację komórek pomiędzy krwią a macierzą zewnątrzkomórkową mózgu, dzięki czemu procesy te podlegają precyzyjnej regulacji. Wśród tych połączeń wyróżnia się złącza ścisłe (*tight junctions* – TJs) oraz połączenia przylegające (*adherens junctions* – AJs). Najważniejszą rolę w utrzymaniu prawidłowej struktury BBB odgrywają TJs. Składają się one z okludyny i kładyn: -1, -3, -5 i -12, połączonych z cytoszkieletem przy udziale białek wchodzących w skład kompleksu *zonula*

occludens: ZO-1, ZO-2 i ZO-3. Najistotniejszym białkiem z rodziny kładyn odgrywającym rolę w utrzymaniu szczelności BBB jest kładyna-5. Okładyna natomiast pełni funkcje regulatorowe (Zlokovic 2008).

W procesach patologicznych, którym towarzyszy uwalnianie cytokin, może dojść do zniszczenia ścisłych połączeń pomiędzy komórkami śródbłonka, a tym samym do wzrostu przepuszczalności BBB. Największe znaczenie przypisuje się wpływowi czynnika martwicy nowotworów α (*tumour necrosis factor α* – TNF- α), który indukuje ekspresję interleukin, takich jak IL-1 β i IL-6 (Farkas i wsp. 1998).

W badaniach nad AD stwierdzono, że śródbłonek naczyń szurzej kory mózgowej traktowany A β 1-42 wykazywał spadek ekspresji okładyny oraz redystrybucję kładyny-5 i ZO-2 do cytoplazmy komórek (Marco i Skaper 2006). W badaniach *in vitro* udowodniono, że oligomery A β 1-42 niszczą TJs poprzez hamowanie ekspresji ZO-1, kładyny-5 i okładyny oraz poprzez indukcję ekspresji metaloproteinaz (*metalloproteinase* – MMP) 2 i 9 (Kook i wsp. 2012; Wan i wsp. 2015).

U myszy po ekspozycji na 1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydynę (MTPT), które są wykorzystywane jako tzw. toksyczny model PD, zaobserwowano spadek ekspresji ZO-1 i okładyny (Chen 2008).

U pacjentów z HD, a także na mysim modelu choroby wykazano zmniejszoną ekspresję kładyny-5, okładyny i ZO-1 (Drouin-Ouellet i wsp. 2015). Stwierdzono, że u myszy do uszkodzenia białek TJs dochodzi w obrębie naczyń kory mózgowej i prądkowia już we wczesnym etapie HD, a także że zaburzenia te utrzymują się w trakcie choroby. Ponadto zaobserwowano, że w fazie przedobjawowej zwiększa się ekspresja mRNA kodującego ZO-1, co może świadczyć o próbie kompensowania rozwijających się patologicznych zmian strukturalnych w obrębie BBB. Ekspresja mRNA pozostałych dwóch omawianych białek tworzących TJs pozostawała na tym etapie na poziomie nieróżniącym się od grupy kontrolnej (Di Pardo i wsp. 2017).

Cząsteczki adhezyjne

Leukocyty mogą omijać śródbłonkowe połączenia międzykomórkowe i przechodzić przez ścianę włosniczek mózgowych (Wolburg i wsp. 2005). W warunkach prawidłowych warstwa śródbłonka pozostaje w spoczynku, a ekspresja cząsteczek adhezyjnych (*cell adhesion molecules* – CAMs) regulujących przepuszczalność naczyń

i pośredniczących w przechodzeniu leukocytów do OUN pozostaje na minimalnym poziomie. Reakcje zapalne polegają na aktywacji śródbłonka, co skutkuje silnym wzrostem ekspresji cząsteczek adhezyjnych (zapoczątkowującym kaskadę adhezyjną i infiltrację leukocytów) oraz uwalnianiem cytokin w odpowiedzi na różne bodźce zewnętrzne. Dodatkowo proces zapalny w obrębie OUN stymulowany jest przez komórki glejowe.

Przedostawanie się leukocytów przez warstwę komórek endotelialnych do mózgu jest procesem kilkietapowym i obejmuje ich toczenie się po śródbłonku oraz ścisłą adhezję przy udziale CAMs i ich ligandów. Z aktywacją endotelium są związane dwie główne klasy cząsteczek adhezyjnych: cząsteczki immunoglobulinopodobne i selektyny. Do pierwszej grupy należą cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1 (*intracellular adhesion molecule-1* – ICAM-1) oraz cząsteczka adhezji komórkowej naczyń 1 (*vascular cell adhesion molecule-1* – VCAM-1). Obie cząsteczki ulegają ekspresji na komórkach śródbłonka, a ICAM-1 także na leukocytach. Cząsteczki te działają jako ligandy integryn na powierzchni leukocytów. Ligandem dla ICAM-1 jest antygen związany z funkcją limfocytów 1 (*lymphocyte function-associated antigen-1* – LFA-1), a dla VCAM-1 – bardzo późny antygen 4 (*very late antigen-4* – VLA-4) (Rossi i wsp. 2011). Na zwiększenie stężenia ICAM-1 i VCAM-1 ma wpływ stymulacja takimi cytokinami, jak TNF- α , interferon γ (IFN- γ) i IL-1. Selektyny są odpowiedzialne za etap toczenia się leukocytów po śródbłonku. Do tej grupy należą m.in. E-selektyna (endotelialna) występująca na powierzchni śródbłonka oraz P-selektyna (płytkowa), która dodatkowo zlokalizowana jest także w ziarnistościach α płytek krwi. Wraz ze wzrostem ekspresji CAMs część z nich ulega złuszczeniu z powierzchni aktywowanych komórek i jest uwalniana do krążenia w postaci rozpuszczalnej. Poziom uwolnionych rozpuszczalnych cząsteczek adhezyjnych koreluje z ich ekspresją na powierzchni komórki, co umożliwia pośrednią ocenę ekspresji CAMs na powierzchni komórek.

Ekspresję tych molekuł obserwowano w okolicach blaszek amyloidowych u pacjentów z AD oraz w mysich modelach choroby. W badaniach na transgenicznym mysim modelu AD stwierdzono podwyższoną ekspresję VCAM-1, ICAM-1, E-selektyny i P-selektyny (Zenaro i wsp. 2015). Podobne wyniki świadczące o toczącym się procesie zapalnym w obrębie naczyń uzyskano u pacjentów z AD, ze względu m.in. na większe stężenia rozpuszczalnych form

VCAM-1, ICAM-1, E-selektyny i P-selektyny w porównaniu z dopasowanymi wiekowo grupami kontrolnymi (Huang i wsp. 2015; Järemo i wsp. 2013; Nielsen i wsp. 2007; Rentzos i wsp. 2005; Zuliani i wsp. 2008). Co więcej, stężenie rozpuszczalnej VCAM-1 u pacjentów korelowało ze stopniem zaawansowania choroby i zmianami w badaniu rezonansem magnetycznym (*magnetic resonance imaging* – MRI), przez co powstała hipoteza, że cząsteczka ta mogłaby znaleźć zastosowanie jako potencjalny marker spadku zdolności poznawczych, a co za tym idzie – jako negatywny czynnik prognostyczny w przebiegu AD (Huang i wsp. 2015). Ponadto we wspomnianych modelach zwierzęcych zaobserwowano ekspresję cząsteczek adhezyjnych nie tylko we wczesnej fazie choroby, lecz także u starszych zwierząt, co wskazuje na ciągłą rolę patogenną zapalenia naczyń (Zenaro i wsp. 2015).

Poziom ekspresji ICAM-1 wzrasta także na komórkach endotelium i występuje na mikrogleju w uszkodzonych regionach mózgu w modelu doświadczalnym PD (Kurkowska-Jastrzębska i wsp. 1999).

Śródbłonkowe układy transportowe

Proces patologiczny w obrębie naczyń w chorobach neurodegeneracyjnych prowadzi do słabszego transportu substancji energetycznych i odżywczych przez BBB oraz ogranicza oczyszczanie mózgu z potencjalnych neurotoksyn.

Ponieważ mózg jest narządem o szczególnym zapotrzebowaniu energetycznym, zaburzenia dotyczące transportu glukozy przez BBB niosą za sobą negatywne konsekwencje dla funkcjonowania neuronów. Najważniejszym białkiem odpowiedzialnym za transport glukozy i innych heksoz z krwi do OUN jest niezależny od insuliny transporter glukozy typu 1 (*glucose transporter 1* – GLUT1) (Zlokovic 2008).

U pacjentów z AD, a także na mysim modelu choroby obserwuje się obniżoną ekspresję GLUT1 (Hooijmans i wsp. 2007; Kalaria i Harik 1989; Merlini i wsp. 2011; Mooradian i wsp. 1997; Simpson i wsp. 1994). U myszy zauważono, że niedobór GLUT1 w komórkach śródbłonka skutkuje redukcją stężenia białek TJs i uszkodzeniem BBB (Winkler i wsp. 2015). Badania wykorzystujące pozytonową tomografię emisyjną z fluorodeoksyglukozą (*fluorodeoxyglucose positron emission tomography* – FDG-PET) pozwoliły natomiast zaobserwować zmniejszony wychwyt glukozy u pacjentów z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi (*mild cognitive impairment* – MCI), przez co pojawiła się hipoteza, że

mogą one poprzedzać procesy neurodegeneracyjne, a FDG-PET może znaleźć zastosowanie w diagnostyce AD przed wystąpieniem objawów klinicznych. U pacjentów z AD również obserwuje się te zmiany i są one bardziej nasilone (Hunt i wsp. 2007). W innych zaburzeniach neurodegeneracyjnych rola transportu glukozy nie została jeszcze dokładnie poznana i wymaga dalszych badań. Dotychczas osłabioną ekspresję GLUT1 stwierdzono w naczyniach w obrębie prążkowania u myszy po ekspozycji na MTPT (Sarkar i wsp. 2014).

Niedostateczna podaż związków energetycznych oraz dysfunkcja mitochondriów w przebiegu AD skutkuje niedostateczną produkcją ATP, co upośledza czynność białek transportowych zależnych od niego, np. pompy sodowo-potasowej, pompy wapniowej czy transporterów z rodziny białek ABC, takich jak glikoproteina P (P-gp) (Di Marco i wsp. 2015).

W AD systemy przENOŚnikowe uczestniczą także w aktywnym transporcie peptydów A β przez BBB. W procesie tym biorą udział głównie dwa białka charakteryzujące się przeciwstawnym działaniem: 1) LRP1 (*low density lipoprotein receptor-related protein 1*) uczestniczący w usuwaniu A β z OUN oraz 2) receptor dla końcowych produktów zaawansowanej glikacji (*receptor for advanced glycation end products* – RAGE) odpowiedzialny za dostarczanie A β do mózgu. Stan, w którym aktywność RAGE przewyższa aktywność LRP1, sprzyja akumulacji A β w mózgu (Zlokovic 2008). Badania *in vitro* wykazały, że oligomery A β mogą bezpośrednio zwiększać ekspresję RAGE, a ich wiązanie z receptorem powoduje aktywację śródbłonka, indukuje powstawanie wolnych rodników oraz wyzwala liczne szlaki sygnalizacyjne (Wan i wsp. 2015). Przykładem może być zwiększenie stężenia MMP-2 oraz spadek ekspresji P-gp, która podobnie jak LRP1 odpowiada za usuwanie A β z OUN (Du i wsp. 2012; Park i wsp. 2014). W mysim modelu AD obserwuje się osłabienie ekspresji P-gp w sąsiedztwie płytek starczych (Park i wsp. 2014). U myszy z nokautem w genach *mdr1a* i *mdr1b* kodujących P-gp obserwowano osłabioną zdolność do usuwania A β z OUN, a także zmniejszenie stężenia LRP1 w kapilarach mózgowych (Cirrito i wsp. 2005). Interakcje pomiędzy A β a RAGE przyczyniają się do obumierania neuronów zarówno bezpośrednio poprzez indukcję stresu oksydacyjnego, jak i pośrednio poprzez aktywację mikrogleju (Yan i wsp. 1996). Hamowanie tych oddziaływań ogranicza toczący się proces zapalny i napływu A β oraz stabilizuje BBB, dlatego też rozważa się

rolę inhibitorów RAGE jako potencjalnych opcji terapeutycznych w AD (Deane i wsp. 2003).

Nie jest obecnie jasne, czy nieprawidłowe usuwanie białek innych niż A β (tau w AD, α -synukleiny w PD i/lub huntingtyny w HD) również sprzyja ich akumulacji w mózgu. Dotychczasowe badania doświadczalne sugerują, że α -synukleina jest transportowana do i z mózgu przez BBB jako wolny peptyd (Sui i wsp. 2014). Obecność patologicznej huntingtyny stwierdzono natomiast w monocytach obwodowych (Weiss i wsp. 2012), przez co rozważa się możliwość, że białko to dostarczane jest do OUN przez komórki pochodzące z krwi obwodowej (Drouin-Ouellet i wsp. 2015).

Glikoproteina P odpowiada za usuwanie nie tylko A β , lecz także ksenobiotyków. Jedną z hipotez dotyczących PD w patogenezie choroby uwzględnia rolę wadliwej eliminacji toksyn z OUN. Uważa się, że dysfunkcja transportu z udziałem P-gp prowadzi do gromadzenia czynników szkodliwych w mózgu. U pacjentów z PD wraz z postępem choroby dochodzi do stopniowego osłabienia funkcji P-gp w śródmózgowiu, co stwierdzono w badaniu PET z [11 C]-wera-pamilem (Kortekaas i wsp. 2005). Znaczenie tej glikoproteiny w PD wykazano także w badaniach polimorfizmu genu *MDR1* w chińskiej populacji, w których stwierdzono, że niektóre polimorfizmy mogą mieć działanie ochronne i zmniejszać ryzyko wystąpienia choroby (Lee i wsp. 2004). W innych doświadczeniach udowodniono, że mutacja w genie *MDR1* może predysponować do wystąpienia fenotypu PD (Drożdżik i wsp. 2003).

W HD obserwowano z kolei wzrost ekspresji P-gp w kapilarach prążkowania i kory mózgowej zarówno w modelu zwierzęcym, jak i u ludzi. Ponadto stwierdzono związek pomiędzy wzrostem aktywności P-gp w korze mózgowej a stopniem zaawansowania choroby (Kao i wsp. 2016).

Błona podstawna

Błona podstawna jest podłożem dla komórek endotelium, stabilizuje je, co sprzyja formowaniu TJs pomiędzy nimi. Zbudowana jest m.in. z kolagenu typu IV i glikoprotein, takich jak fibronektyna czy laminina-4 i laminina-5.

W patogenezie chorób związanych z uszkodzeniem BBB biorą udział metaloproteiny, enzymy uczestniczące m.in. w degradacji białek błon podstawnych i macierzy zewnątrzkomórkowej. Aktywność MMP-2, MMP-3 i MMP-9 przyczynia się do uszkodzenia BBB poprzez

rozkład białek błony podstawnej oraz białek TJs (Qiu i wsp. 2011; Zhang i wsp. 2012).

U pacjentów z AD zaobserwowano, że błona podstawna staje się cieńsza i że w jej obrębie dochodzi do powstawania nieciągłości (Farrall i Wardlaw 2009; Zipser i wsp. 2007). W badaniach z wykorzystaniem hodowli komórek śródbłonna potraktowanych A β 1-42 stwierdzono wzrost ekspresji MMP-2 i MMP-9 (Wan i wsp. 2015). U osób z AD stwierdzono wzrost stężenia MMP-3 i MMP-9 oraz spadek stężenia inhibitora metaloproteinaz TIMP1 (*tissue inhibitor of metalloproteinases 1*) w płynie mózgowo-rdzeniowym. Wzrost współczynnika MMP-9/TIMP1 dodatkowo korelował z poziomem całkowitego białka tau (Stomrud i wsp. 2010). Wzrost ekspresji MMP-9 obserwowano także w zwierzęcych modelach PD i HD (Annese i wsp. 2014; Duran-Vilaregut i wsp. 2011).

Uważa się, że istotną rolę w przebiegu AD odgrywa kolagen XVIII, który fizjologicznie występuje w błonie podstawnej w niewielkiej ilości, jednak A β wpływa na nasilenie jego syntezy przez endotelium, neurony i komórki gleju. Białko to uczestniczy m.in. w tworzeniu płytek starczych, angiogenezie i apoptozie komórek śródbłonna (Walski i Frontczak-Baniewicz 2005).

Perycyty

Perycyty są uważane za multipotencjalne komórki macierzyste współtworzące ściany naczyń krwionośnych włosowatych oraz przed- i pozawłosowatych, skupiające się głównie w obrębie połączeń między komórkami śródbłonna. Perycyty przylegające do naczyń wchodzących w skład BBB pełnią wiele funkcji zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych. Wspomagają one utrzymanie integralności BBB poprzez stabilizację strukturalną. Odpowiadają za utrzymanie homeostazy oraz stanu spoczynkowego endotelium. Poprzez skurcze komórkowe i relaksację regulują napięcie naczyń krwionośnych, a tym samym przepływ krwi przez włosniczki mózgowe. Ponadto ze względu na lokalizację perycytów w bezpośrednim sąsiedztwie komórek śródbłonna postuluje się, że silne oddziaływanie pomiędzy nimi może odgrywać rolę w procesach aktywacji szlaków sygnałowych. Znaczenie perycytów w dysfunkcji nerwowo-naczyniowej nie jest do końca poznane i wymaga dalszych badań. Wiadomo jednak, że komórki te uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej mózgu i mają wpływ na regulację napływu leukocytów do OUN. Perycyty w odpowiedzi na takie czynniki, jak np. TNF- α , mogą przybierać fenotyp proza-

palny charakteryzujący się m.in. zwiększeniem stężenia ICAM-1, chemokin CXCL1 i CXCL8 oraz IL-6, a także przyczyniać się do nasilenia migracji leukocytów (Stark i wsp. 2013). W badaniach eksperymentalnych na myszach z niedoborem perycytów stwierdzono upośledzenie mikrokrążenia mózgowego i uszkodzenie BBB prowadzące do neurodegeneracji oraz zaburzeń poznawczych (Bell i wsp. 2010).

U pacjentów z MCI odnotowano korelację pomiędzy stopniem uszkodzenia perycytów a zwiększoną przepuszczalnością BBB w niektórych regionach hipokampa. Ponadto badania płynu mózgowo-rdzeniowego osób z MCI wykazały podwyższone stężenie rozpuszczalnego receptora płytkopochodnego czynnika wzrostu β (*soluble platelet-derived growth factor receptor β – sPDGFR β*), będącego jednym z biomarkerów uszkodzenia perycytów (Montagne i wsp. 2015). U pacjentów z AD stwierdza się znaczną utratę perycytów w korze mózgowej i hipokampie, która koreluje ze stopniem uszkodzenia BBB (Sengillo i wsp. 2013). Halliday i wsp. zaobserwowali, że ekspresja *APOE4* (głównego genetycznego czynnika ryzyka dla AD), ale nie *APOE3*, może prowadzić do utraty perycytów w AD (Halliday i wsp. 2016).

Badania dotyczące perycytów w HD nie doprowadziły na razie badaczy do konsensusu. Drouin-Ouellet i wsp. nie stwierdzili zmniejszonej liczby perycytów w mysim modelu choroby (Drouin-Ouellet i wsp. 2015). Z kolei w badaniu Hsiao i wsp. zaobserwowano redukcję liczby perycytów zarówno u myszy R6/2, jak i w ludzkim mózgu. W dalszych badaniach Hsiao i wsp. postawili i potwierdzili hipotezę, że to astrocyty są jednym z czynników odpowiedzialnych za ubytek perycytów w HD (Hsiao i wsp. 2015).

Astrocyty

Astrocyty stanowią największą frakcję gleju w OUN. Stopki astrocytarne tworzą glejową błonę okolonaczyniową uszczelniającą BBB, a także umożliwiającą komunikację pomiędzy astrocytami a śródbłonkiem włócznieczek mózgowych i perycytami. Komórki te pełnią wiele istotnych funkcji:

- wpływają na homeostazę glutaminianu, bilans wodny i równowagę jonową,
- regulują przewodnictwo synaptyczne,
- regulują przepuszczalność BBB, m.in. poprzez utrzymywanie szczelności TJs,
- wpływają na poziom ekspresji oraz lokalizację białek transportowych śródbłonka, takich jak P-gp czy GLUT1,

- uczestniczą w procesach zapalnych poprzez produkcję cytokin,
- mogą wydzielać substancje zarówno neuroprotekcyjne, m.in. czynnik wzrostu nerwów (*nerve growth factor – NGF*), czynnik wzrostu fibroblastów (*fibroblast growth factor – FGF*), jak i potencjalnie toksyczne dla komórek nerwowych,
- w przypadku długotrwałych stanów zapalnych mają zdolność do prezentowania antygenów,
- wypełniają ubytki po obumarłych neuronach.

Reaktywna astroglioza jest główną reakcją astrocytów na uszkodzenia mózgu, takie jak infekcje, procesy zapalne, urazy, niedokrwienie i choroby neurodegeneracyjne. Właściwości immunologiczne astrocytów są nadal przedmiotem dyskusji, jednak wydaje się, że ich udział w rozwoju procesów neurozwyrodnieniowych jest wynikiem utraty ich zdolności ochronnych, jak również wydzielania czynników potencjalnie toksycznych dla komórek (Zlokovic 2008).

W chorobach neurodegeneracyjnych, w tym w AD, PD i HD, może dochodzić do akumulacji patologicznych białek nie tylko w neuronach, lecz także w astrocytach (Braidys i wsp. 2013; Nagele i wsp. 2003; Shin i wsp. 2005). Uważa się, że α -synukleina jest egzogennym stymulatorem astrocytów. Stwierdzono, że niefibrylarna α -synukleina odkłada się w cytoplazmie astrocytów protoplazmatycznych (ale nie włóknistych) we wczesnej fazie PD (Song i wsp. 2009). Sugeruje się, że gromadzenie tego białka prowadzi do zaburzenia funkcji astrocytów, takich jak wychwyt glutaminianu, oraz do naruszenia integralności BBB (Gu i wsp. 2010). Ponadto w badaniach nad HD wykazano, że równoczesna ekspresja patologicznej huntingtyny w astrocytach i neuronach u myszy skutkuje bardziej nasilonymi objawami neurologicznymi w porównaniu z jej ekspresją w samych neuronach (Bradford i wsp. 2010).

W przebiegu AD i PD w badaniach immunohistochemicznych na powierzchni niektórych astrocytów zaobserwowano obecność ICAM-1. Lokalizacja reaktywnych astrocytów ICAM-1-pozytywnych była związana z obszarami ciężkiej utraty neuronalnej w istocie czarnej w PD (Miklossy i wsp. 2006). W AD niektóre z reaktywnych astrocytów występujących w sąsiedztwie płytek amyloidowych charakteryzowały się obecnością ICAM-1 (Akiyama i wsp. 1993).

Badania wykazują, że rozpuszczalne czynniki uwalniane przez astrocyty, takie jak cytokiny czy chemokiny, mogą sprzyjać napływowi leukocytów do OUN (Choi i wsp. 2014). W płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z MCI i AD

zaobserwowano na przykład wyższe niż w grupie kontrolnej stężenia IL-8, która jest silnym chemoatraktantem dla neutrofilów (Galimberti i wsp. 2006).

Stany zapalne są jedną z przyczyn spadku poziomu kanałów potasowych Kir4.1 na powierzchni astrocytów. W wyniku tego nieusunięte jony potasu występują w nadmiarze w przestrzeni pozakomórkowej, powodują nadpobudliwość neuronów i ostatecznie przyczyniają się do ich obumierania. Tego typu zaburzenia obserwuje się m.in. w chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak AD i HD (Wilcock i wsp. 2009; Tong i wsp. 2014).

Podsumowanie

Bariera krew–mózg odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy OUN. Jej prawidłowe funkcjonowanie zależy od ścisłej i prawidłowej współpracy pomiędzy jej poszczególnymi elementami. Niezwykle ważne jest więc dokładniejsze poznanie mechanizmów prowadzących do jej uszkodzenia w chorobach neurodegeneracyjnych oraz ustalenie, w jaki sposób wpływają one na przebieg tych schorzeń. Obecnie badacze rozważają wykorzystanie parametrów zapalnych i śródłonkowych jako markerów umożliwiających przyżyciowe postawienie diagnozy i/lub określenie rokowania. Ponadto pogłębienie wiedzy w tym obszarze może się przyczynić do odnalezienia nowych potencjalnych celów terapeutycznych, które nawet jeśli nie umożliwią całkowitego wyleczenia, to mogą pozwolić na złagodzenie i opóźnienie rozwoju objawów klinicznych.

Piśmiennictwo

1. Akiyama H, Kawamata T, Yamada T i wsp. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 by a subset of astrocytes in Alzheimer disease and some other degenerative neurological disorders. *Acta Neuropathol* 1993; 85: 628-634.
2. Annese V, Herrero MT, Di Pentima M i wsp. Metalloproteinase 9 contributes to inflammatory glia activation and nigro-striatal pathway degeneration in both mouse and monkey models of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridine (MPTP)-induced Parkinsonism. *Brain Struct Funct* 2015; 220: 703-727.
3. Bell RD, Winkler EA, Sagare AP i wsp. Pericytes control key neurovascular functions and neuronal phenotype in the adult brain and during brain aging. *Neuron* 2010; 68: 409-427.
4. Bradford J, Shin JY, Roberts M i wsp. Mutant huntingtin in glial cells exacerbates neurological symptoms of Huntington disease mice. *J Biol Chem* 2010; 285: 10653-10661.
5. Braidy N, Gai WP, Xu YH i wsp. Uptake and mitochondrial dysfunction of alpha-synuclein in human astrocytes, cortical neurons and fibroblasts. *Transl Neurodegener* 2013; 2: 20.
6. Chen X, Lan X, Roche I i wsp. Caffeine protects against MPTP-induced blood-brain barrier dysfunction in mouse striatum. *J Neurochem* 2008; 107: 1147-1157.
7. Choi SS, Lee HJ, Lim I i wsp. Human astrocytes: secretome profiles of cytokines and chemokines. *PLoS One* 2014; 9: e92325.
8. Cirrito JR, Deane R, Fagan AM i wsp. P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid-beta deposition in an Alzheimer disease mouse model. *J Clin Invest* 2005; 115: 3285-3290.
9. Clark LF, Kodadek T. The immune system and neuroinflammation as potential sources of blood-based biomarkers for Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and Huntington's disease. *ACS Chem Neurosci* 2016; 7: 520-527.
10. Deane R, Du Yan S, Subramanian RK i wsp. RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nat Med* 2003; 9: 907-913.
11. Di Marco LY, Venneri A, Farkas E i wsp. Vascular dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease – a review of endothelium-mediated mechanisms and ensuing vicious circles. *Neurobiol Dis* 2015; 82: 593-606.
12. Di Pardo A, Amico E, Scalabri F i wsp. Impairment of blood-brain barrier is an early event in R6/2 mouse model of Huntington Disease. *Sci Rep* 2017; 7: 41316.
13. Drouin-Ouellet J, Sawiak SJ, Cisbani G i wsp. Cerebrovascular and blood-brain barrier impairments in Huntington's disease: Potential implications for its pathophysiology. *Ann Neurol* 2015; 78: 160-177.
14. Drożdżik M, Białecka M, Myśliwiec K i wsp. Polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene: a possible link between environmental and genetic factors in Parkinson's disease. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 259-263.
15. Du H, Li P, Wang J i wsp. The interaction of amyloid β and the receptor for advanced glycation endproducts induces matrix metalloproteinase-2 expression in brain endothelial cells. *Cell Mol Neurobiol* 2012; 32: 141-147.
16. Duran-Vilaregut J, del Valle J, Manich G i wsp. Role of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in striatal blood-brain barrier disruption in a 3-nitropropionic acid model of Huntington's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011; 37: 525-537.
17. Farkas G, Márton J, Nagy Z i wsp. Experimental acute pancreatitis results in increased blood-brain barrier permeability in the rat: a potential role for tumor necrosis factor and interleukin 6. *Neurosci Lett* 1998; 242: 147-150.
18. Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood-brain barrier: ageing and microvascular disease – systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging* 2009; 30: 337-352.
19. Galimberti D, Schoonenboom N, Scheltens P i wsp. Intrathecal chemokine synthesis in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2006; 63: 538-543.
20. Goos JD, Kester MI, Barkhof F i wsp. Patients with Alzheimer disease with multiple microbleeds: relation with cerebrospinal fluid biomarkers and cognition. *Stroke* 2009; 40: 3455-3460.
21. Gu XL, Long CX, Sun L i wsp. Astrocytic expression of Parkinson's disease-related A53T alpha-synuclein causes neurodegeneration in mice. *Mol Brain* 2010; 3: 12.
22. Halliday MR, Rege SV, Ma Q i wsp. Accelerated pericyte degeneration and blood-brain barrier breakdown in apolipoprotein E4 carriers with Alzheimer's disease. *J Cereb Blood Flow Metab* 2016; 36: 216-227.

23. Ham JH, Yi H, Sunwoo MK i wsp. Cerebral microbleeds in patients with Parkinson's disease. *J Neurol* 2014; 261: 1628-1635.
24. Heringa SM, Reijmer YD, Leemans A i wsp. Multiple microbleeds are related to cerebral network disruptions in patients with early Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2014; 38: 211-221.
25. Hooijmans CR, Graven C, Dederen PJ i wsp. Amyloid beta deposition is related to decreased glucose transporter-1 levels and hippocampal atrophy in brains of aged APP/PS1 mice. *Brain Res* 2007; 1181: 93-103.
26. Hsiao HY, Chen YC, Huang CH i wsp. Aberrant astrocytes impair vascular reactivity in Huntington disease. *Ann Neurol* 2015; 78: 178-192.
27. Huang CW, Tsai MH, Chen NC i wsp. Clinical significance of circulating vascular cell adhesion molecule-1 to white matter disintegrity in Alzheimer's dementia. *Thromb Haemost* 2015; 114: 1230-1240.
28. Hunt A, Schönknecht P, Henze M i wsp. Reduced cerebral glucose metabolism in patients at risk for Alzheimer's disease. *Psychiatry Res* 2007; 155: 147-154.
29. Järemo P, Milovanovic M, Buller C i wsp. P-selectin paradox and dementia of the Alzheimer type: circulating P-selectin is increased but platelet-bound P-selectin after agonist provocation is compromised. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; 73: 170-174.
30. Kalaria RN, Harik SI. Reduced glucose transporter at the blood-brain barrier and in cerebral cortex in Alzheimer disease. *J Neurochem* 1989; 53: 1083-1088.
31. Kao YH, Chern Y, Yang HT i wsp. Regulation of P-glycoprotein expression in brain capillaries in Huntington's disease and its impact on brain availability of antipsychotic agents risperidone and paliperidone. *J Cereb Blood Flow Metab* 2016; 36: 1412-1423.
32. Kook SY, Hong HS, Moon M i wsp. A β 1-42-RAGE interaction disrupts tight junctions of the blood-brain barrier via Ca²⁺-calineurin signaling. *J Neurosci* 2012; 32: 8845-8854.
33. Kortekaas R, Leenders KL, van Oostrom JC i wsp. Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo. *Ann Neurol* 2005; 57: 176-179.
34. Kurkowska-Jastrzębska I, Wrońska A, Kohutnicka M i wsp. The inflammatory reaction following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3, 6-tetrahydropyridine intoxication in mouse. *Exp Neurol* 1999; 156: 50-61.
35. Lee CG, Tang K, Cheung YB i wsp. MDR1, the blood-brain barrier transporter, is associated with Parkinson's disease in ethnic Chinese. *J Med Genet* 2004; 41: e60.
36. Malek N, Lawton MA, Swallow DM i wsp. Vascular disease and vascular risk factors in relation to motor features and cognition in early Parkinson's disease. *Mov Disord* 2016; 31: 1518-1526.
37. Marco S, Skaper SD. Amyloid beta-peptide1-42 alters tight junction protein distribution and expression in brain microvessel endothelial cells. *Neurosci Lett* 2006; 401: 219-224.
38. Merlini M, Meyer EP, Ulmann-Schuler A i wsp. Vascular β -amyloid and early astrocyte alterations impair cerebrovascular function and cerebral metabolism in transgenic arcA β mice. *Acta Neuropathol* 2011; 122: 293-311.
39. Miklossy J, Doudet DD, Schwab C i wsp. Role of ICAM-1 in persisting inflammation in Parkinson disease and MPTP monkeys. *Exp Neurol* 2006; 197: 275-283.
40. Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD i wsp. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron* 2015; 85: 296-302.
41. Mooradian AD, Chung HC, Sha GN. GLUT-1 expression in the cerebra of patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 469-474.
42. Nagele RG, D'Andrea MR, Lee H i wsp. Astrocytes accumulate A beta 42 and give rise to astrocytic amyloid plaques in Alzheimer disease brains. *Brain Res* 2003; 971: 197-209.
43. Nielsen HM, Londos E, Minthon L i wsp. Soluble adhesion molecules and angiotensin-converting enzyme in dementia. *Neurobiol Dis* 2007; 26: 27-35.
44. Olazarán J, Ramos A, Boyano I i wsp. Pattern of and risk factors for brain microbleeds in neurodegenerative dementia. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* 2014; 29: 263-269.
45. Park L, Kook SY, Park JC i wsp. A β 1-42 reduces P-glycoprotein in the blood-brain barrier through RAGE-NF- κ B signaling. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1299.
46. Poliakova T, Levin O, Arablinsky A i wsp. Cerebral microbleeds in early Alzheimer's disease. *J Neurol* 2016; 263: 1961-1968.
47. Qiu LB, Zhou Y, Wang Q i wsp. Synthetic gelatinases inhibitor attenuates electromagnetic pulse-induced blood-brain barrier disruption by inhibiting gelatinases-mediated ZO-1 degradation in rats. *Toxicology* 2011; 285: 31-38.
48. Rentzos M, Michalopoulou M, Nikolaou C i wsp. The role of soluble intercellular adhesion molecules in neurodegenerative disorders. *J Neurol Sci* 2005; 228: 129-135.
49. Rossi B, Angiari S, Zenaro E i wsp. Vascular inflammation in central nervous system diseases: adhesion receptors controlling leukocyte-endothelial interactions. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 539-556.
50. Sarkar S, Chigurupati S, Raymick J i wsp. Neuroprotective effect of the chemical chaperone, trehalose in a chronic MPTP-induced Parkinson's disease mouse model. *Neurotoxicology* 2014; 44: 250-262.
51. Sengillo JD, Winkler EA, Walker CT i wsp. Deficiency in mural vascular cells coincides with blood-brain barrier disruption in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 2013; 23: 303-310.
52. Shin JY, Fang ZH, Yu ZX i wsp. Expression of mutant huntingtin in glial cells contributes to neuronal excitotoxicity. *J Cell Biol* 2005; 171: 1001-1012.
53. Simpson IA, Chundu KR, Davies-Hill T i wsp. Decreased concentrations of GLUT1 and GLUT3 glucose transporters in the brains of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1994; 35: 546-551.
54. Song YJ, Halliday GM, Holton JL i wsp. Degeneration in different parkinsonian syndromes relates to astrocyte type and astrocyte protein expression. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009; 68: 1073-1083.
55. Stark K, Eckart A, Haidari S i wsp. Capillary and arteriolar pericytes attract innate leukocytes exiting through venules and 'instruct' them with pattern-recognition and motility programs. *Nat Immunol* 2013; 14: 41-51.
56. Stomrud E, Björkqvist M, Janciauskiene S i wsp. Alterations of matrix metalloproteinases in the healthy elderly with increased risk of prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2010; 2: 20.
57. Sui YT, Bullock KM, Erickson MA i wsp. Alpha synuclein is transported into and out of the brain by the blood-brain barrier. *Peptides* 2014; 62: 197-202.
58. Toledo JB, Arnold SE, Raible K i wsp. Contribution of cerebrovascular disease in autopsy confirmed neurodegenerative disease cases in the National Alzheimer's Coordinating Centre. *Brain* 2013; 136: 2697-2706.
59. Tong X, Ao Y, Faas GC i wsp. Astrocyte Kir4.1 ion channel deficits contribute to neuronal dysfunction in Huntington's disease model mice. *Nat Neurosci* 2014; 17: 694-703.

60. Walski M, Frontczak-Baniewicz M. Neurodegeneracja w chorobie Alzheimera: postępujące starzenie organizmu czy zmiany na poziomie kodu genetycznego? *Gerontol Pol* 2005; 13: 94-98.
61. Wan W, Cao L, Liu L i wsp. A β (1-42) oligomer-induced leakage in an in vitro blood-brain barrier model is associated with up-regulation of RAGE and metalloproteinases, and down-regulation of tight junction scaffold proteins. *J Neurochem* 2015; 134: 382-393.
62. Weiss A, Träger U, Wild EJ i wsp. Mutant huntingtin fragmentation in immune cells tracks Huntington's disease progression. *J Clin Invest* 2012; 122: 3731-3736.
63. Wilcock DM, Vitek MP, Colton CA. Vascular amyloid alters astrocytic water and potassium channels in mouse models and humans with Alzheimer's disease. *Neuroscience* 2009; 159: 1055-1069.
64. Winkler EA, Nishida Y, Sagare AP i wsp. GLUT1 reductions exacerbate Alzheimer's disease vasculo-neuronal dysfunction and degeneration. *Nat Neurosci* 2015; 18: 521-530.
65. Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Engelhardt B. Diapedesis of mononuclear cells across cerebral venules during experimental autoimmune encephalomyelitis leaves tight junctions intact. *Acta Neuropathol* 2005; 109: 181-190.
66. Yan SD, Chen X, Fu J i wsp. RAGE and amyloid-beta peptide neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 1996; 382: 685-691.
67. Zenaro E, Pietronigro E, Della Bianca V i wsp. Neutrophils promote Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline via LFA-1 integrin. *Nat Med* 2015; 21: 880-886.
68. Zhang YM, Zhou Y, Qiu LB i wsp. Altered expression of matrix metalloproteinases and tight junction proteins in rats following PEMF-induced BBB permeability change. *Biomed Environ Sci* 2012; 25: 197-202.
69. Zipsper BD, Johanson CE, Gonzalez L i wsp. Microvascular injury and blood-brain barrier leakage in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2007; 28: 977-986.
70. Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 2008; 57: 178-201.
71. Zuliani G, Cavalieri M, Galvani M i wsp. Markers of endothelial dysfunction in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Neurol Sci* 2008; 272: 164-170.