

A vér–agy gát működése, öregedése és diszfunkciója. Átjutás a barrieren

Erdő Franciska dr. ■ Hutka Barbara ■ Dénes László dr.

Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar, Budapest

Az agy és a keringés kapcsolatát biztosító, mikroerek szintjén megjelenő védelmi vonal a vér–agy gát, amely az idegrendszer homeosztázisának fenntartásában, az agy védelmében, táplálásában és finoman regulált működésének biztosításában játszik jelentős szerepet. Funkcióját számos sejttípus összehangolt működése és molekuláris rendszerek szabályozott kifejeződése teszi lehetővé. Azonban ez a komplex rendszer bizonyos behatásokra károsodik, szerkezete megbomlik, s akkor a védelmi struktúra permeabilitása megnő. Ez nemkívánatos exogén és endogén anyagok idegrendszeri megjelenését vagy szintjének emelkedését eredményezi, amely számos akut és krónikus központi idegrendszeri betegség patomechanizmusában játszik szerepet. A vér–agy gát károsodásának legfőbb rizikófaktora maga az öregedés, amely DNS-mutáción, oxidatív károsodáson és gyulladási mediátorok megjelenésén keresztül destruktrálja a védelmi rendszert. Ez bizonyos fokig a természetes öregedés velejárója, de a membrántranszporterek működésének diszfunkciója patológiás állapotok kialakulásához is vezethet, amely a krónikus neurodegeneratív betegségek oki tényezői között szerepel. Ebben a közleményben a vér–agy gát felépítését, működését, károsodását és az agyi gyógyszerbeviteli lehetőségeket foglaljuk össze. *Orv. Hetil.*, 2016, 157(51), 2019–2027.

Kulcsszavak: vér–agy gát, membrántranszporterek, öregedés, gyógyszerátvitel a vér–agy gáton

Function, aging and dysfunction of blood–brain barrier. Crossing the barrier

The blood–brain barrier is an interface between the circulation and brain. It is responsible for the homeostasis of central nervous system, protection and feeding of the brain and for providing the conditions for fine regulation of neurons. The coordinated function of different cell types and the regulated expression of molecular systems make possible the functionality of blood–brain barrier. However, this complex system can be broken due to different insults with a consequence of appearance of elevated levels of unwanted exogenous and endogenous molecules in the brain involved in the pathomechanisms of several disorders. The most important risk factor for the damage of blood–brain barrier is the aging itself, which causes disruption of the barrier through DNA mutation, oxidative stress and release of inflammatory mediators. Although the physiological aging is accompanied by morphological changes, the dysfunction of membrane transporters could also lead to neurodegenerative disorders. Structure, function and breakdown of the blood–brain barrier and the possibilities to cross it, are presented.

Keywords: blood–brain barrier, membrane transporter proteins, aging, drug delivery

Erdő, F., Hutka, B., Dénes, L. [Function, aging and dysfunction of blood–brain barrier. Crossing the barrier]. *Orv. Hetil.*, 2016, 157(51), 2019–2027.

(Beérkezett: 2016. október 5.; elfogadva: 2016. november 3.)

Rövidítések

Ang-1 = angiopoetin-1, a vasculáris növekedési faktorok egyik típusa, az embrionális fejlődésben van szerepe; AQP-4 = aquaporin-4, membránprotein, amely a vízmolekulákat átvezeti a membránon; BBB = (blood–brain barrier) vér–agy gát; CNS =

(central nervous system) központi idegrendszer; FZD = receptor az endotheliumon; Gpr-124 = receptor az endotheliumon; HB-EGF = heparin-binding endothelial growth factor; IGF-1 = insulin-like growth factor; LRP-5, -6 = low-density lipoprotein receptor-related protein-5, -6; MFSD2a = major facilitator

superfamily domain-containing protein 2a; NVU = neurovascular unit; PDGF-BB = platelet-derived growth factor BB; PDGFR-BB = platelet-derived growth factor BB receptor; PTC-1 = a VEGF transzkripciójának aktivátora; SHH = sonic hedgehog gén, az általa kódolt protein az organogenezisben játszik fontos szerepet; Tie-2 = angiopoetinreceptor; VEGF = vascular endothelial growth factor; Wnt7a/7b = gén, amely számos fejlődési folyamatban részt vesz

Van de Haar és mtsai 2016-os közleményükben időskorú betegeken végzett MR-vizsgálatokkal bizonyították, hogy az Alzheimer-kór korai kórképéhez kapcsolható kognitív funkciócsökkenés és a vér-agy gát (BBB) átteresztőképessége között szoros összefüggés van [1]. Ismert adat, hogy a demencia a 65–74 éves korú népesség 3%-ánál diagnosztizálható, míg a 75–84 éves korcsoportban már 19%-ban mutatható ki, és 85 év felett közel a populáció felét érinti [2]. Az életkorfüggő memóriaromlás és a viselkedési aktivitás csökkenése között hasonló kapcsolatot találtak funkcionális MR-vizsgálatokkal egészséges fiatal és középkorú tanárok reakcióinak összehasonlításakor [3]. Bár ez a vizsgálat nem tesztelte a BBB integritását, mégis feltételezhető, hogy a neurális sejtaktivitás csökkenéséhez már a középkorú populációban megkezdődő BBB-funkciózavar is hozzájárulhatott. A szervezet öregedésével járó és a BBB-t érintő folyamatok ismerete, a kórfolyamatokban betöltött szerepének azonosítása új terápiás célpontokat jelenthet.

A BBB szelektív átteresztőképességgel rendelkező barrier, amely elválasztja a cirkuláló vért a központi idegrendszertől (central nervous system – CNS). A BBB-t a szorosan egymáshoz kapcsolódó endothelsejtek alkotják, amelyeket az úgynevezett „tight junction” fehérjék kötik össze. Aktuálisan több összefoglaló cikk foglalkozik a BBB működésével és fejlődésével [4, 5] és ezen belül a transzporter molekulák szerepével [6]. A központi idegrendszerben az idegsejtek normális működését a neurovascularis egység (neurovascular unit – NVU) biztosítja, amely egymással szoros kapcsolatban lévő egységekből áll, úgymint a kapilláris endothelsejtek, a pericyták, az astrocyták és a neuronális nyúlványok (*1. ábra*). A BBB a tápanyagok aktív transzportjéért és a potenciálisan toxikus anyagok kipumpálásáért is felelős. Jellemzi a membrántranszporterek polarizált expressziója, valamint a neurotranszmitterek vagy transzmitterdependens enzimek jelenléte.

Az NVU alkotóelemei részt vesznek a kétirányú kölcsönhatásokban. Biztosítják a BBB átjárhatóságát, a neuronális sejtek homeosztázisát, a szükséges remodellinget, a neurogenesis, valamint az angiogenesis. A BBB károsodott működése számos betegség patológiás folyamatához, a traumás, a vascularis gyulladással, neoplasiás, toxikus-metabolikus és degeneratív betegségek kialakulásához is hozzájárul. Neurodegeneratív betegségekben, mint az Alzheimer- és Parkinson-kór, a BBB működésének számos eleme sérül. A sejtek közötti szoros kapcsolatok meggyengülnek, megváltoznak az agyi endothelsejteken

keresztüli transzportfolyamatok, és így a vér és az agy közötti anyag- és sejtátjutás. Kórossá válik az érképződés, agyi hipoperfúzió alakul ki és gyulladással válaszreakciók jönnek létre [4, 7].

A BBB kulcsfontosságú az agyi homeosztázis létrehozásában: szállítófehérjék segítségével tápanyagokat, a szoros sejt közötti kapcsolatok és az efflux pumpák révén védelmet biztosít a CNS sejtjeinek.

A BBB-nek nemcsak a betegségek kialakulásában, hanem terápiájában is fontos szerepe van. Az utóbbi években több betegségben is a BBB-t mint új lehetséges terápiás célpontot azonosították.

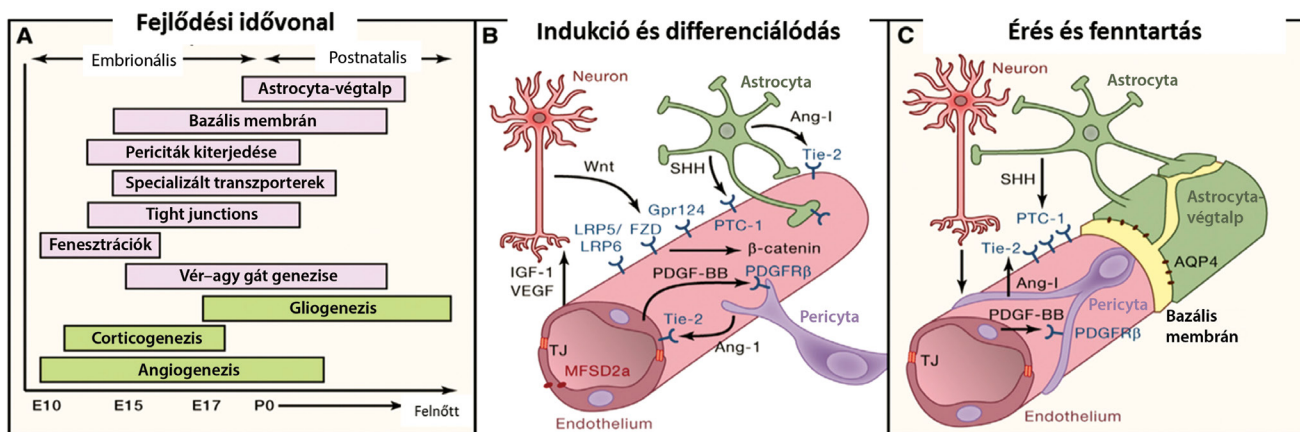
A vér-agy gát kialakulása

Az embryogenesis genetikai programja koordinálja a központi idegrendszer és benne a BBB kifejlődését. A vasculogenesisben, akárcsak az idegsejtek kifejlődésében, növekedési faktorok játszanak alapvető szerepet. A fejlődő érrendszer az idegrendszeri remodellingben és az érési folyamatban alapvető jelentőségű.

A BBB embrionális és postnatalis fejlődésének időbeli szakaszait az *1. ábra* mutatja be [8].

A vér-agy gát kialakulása során először az endothelsejtek közti rések megszűnnek, a paracelluláris és transzcelluláris transzport korlátozódik és a pinocytosis csökken. A folyamatos endothelsejt-monolayerben a sejtek „tight junction”-ön keresztül kapcsolódnak egymáshoz. Létrejön egy magas szelektivitású transzportrendszer és specializált, sejten kívüli struktúrák, mint a bazális membrán, az endothelsejtek borító pericyták és végül a hozzájuk kapcsolódó astrocyta-végtagok.

A BBB-tulajdonságok az endothelsejteken a neuronok, astrocyták és pericyták által kibocsátott humorális indukáló faktorok hatására jönnek létre. A Wnt-ligandok (Wnt7a/7b), amelyeket az idegsejtek választanak ki, az endothelsejteken lokalizálódó FZD, LRP-5 és -6 receptorokhoz kötődnek, amely a béta-catenin-szignált aktiválja és ez BBB-specifikus géneket indukál. A Gpr-124 receptor koaktiválja a Wnt/béta-catenin szignált. Az endothelsejtek PDGF-BB növekedési faktort szekretálnak, ami a PDGFR β -receptorokkal kölcsönhatásba lép a pericytákon, és ez további pericytákat toboroz. A pericyták és az astrocyták angiopoetin-1-et (Ang-1) szekretálnak, ami az endothelialis Tie-2 receptorokon hat, és ez microvascularis éréshez és stabil, nem átteresztő BBB-hez vezet. A pericyták szükségesek az endothelialis MFSD 2a expressziójához, ami alapvetően szükséges a BBB képződéséhez és fenntartásához. Az astrocyták SHH-t szekretálnak, ami az endothelialis PTC-1 receptorokon hat, elindítva egy szignálrendszert, ami szintén a BBB képződéséhez vezet. Az endothelsejtek VEGF-et és IGF-1-et is szekretálnak, amely hozzájárul a megfelelő neurovascularis mintázathoz. Ezekon kívül további szignáltranszdukciós útvonalak is szerepelnek még a BBB képződésében.



1. ábra A BBB fejlődése egér központi idegrendszerében. A) A BBB embrionális és postnatalis fejlődésének szakaszai. B) Főbb szignáltranszdukciós utak a vér-agy gát képződésében. A BBB indukciója és differenciálódása. C) A BBB érés és fenntartása (Zhao, Z., et al., 2015 [8], engedéllyel)

AQP4 = aquaporin-4 water channel; E = embrionális fejlődés naspjai; P = postnatalis fejlődés; TJ = tight junction.

Születés után az agyi mikroereket érett pericyták, bazális membrán és astrocyta-véglábak veszik körül. A pericyták és astrocyták folyamatosan szekretálják a bazális membránt alkotó mátrixproteineket (1. C) ábrán sárgával jelölve). Szignálutvonalak közvetítik a BBB-indukciót és -differenciálódást, és valószínűleg szerepet játszanak az érésben és fenntartásban is. Diszregulációjuk a BBB károsodásához és különböző központi idegrendszeri patológias folyamatok kialakulásához vezethet.

Az endothelsejtek és a pericyták részt vesznek a bazális membrán kialakulásában és indukálják az integrin expresszióját. Az endothel eredetű faktorok, vérlemezke eredetű növekedési faktor BB (PDGF) és a heparinkötő epidermalis növekedési faktor (HB-EGF) nagyon fontosak az érnövekedéshez. Az új erek már meglévő erekből alakulnak ki neuroectodermális sarjadzással. A korai ereknek vannak kezdeti „tight junction” fehérjék (magyarul szoros kapcsolat), vannak transzcitotikus vesiculárik és leukocyaadhéziós molekuláik. Az érett BBB mikroerei szoros kapcsolatba kerülnek a neurovascularis egység sejtjeivel, a pericytákkal és astrocytákkal, a transzcitotikus aktivitás csökken és a szabályozott effluxtranszport megerősödik. Az érés folyamata a „tight junction” struktúr-fehérjék teljes kialakulásával fejeződik be.

A vér-agy gát felépítése és működése

A BBB-t különböző sejt és molekuláris rendszerek építik fel, amelyek zárt, kis átérésztésű egységet alkotnak. A legfontosabb sejt típus az agyi kapillárisok falát felépítő endothel, amely sejtek között a szoros kapcsolatot különböző fehérjék biztosítják (caludinok, occludin, JAM – a zonula occludens [ZO] 1, 2, illetve 3-hoz kötődve). A „tight junction” fehérjék apicalisan, az úgynevezett „adherens junction” fehérjék ennél basolateralisan helyezkednek el az endothelsejtek közötti résben. Az adherens kapcsolatok felépítésében a cadherine és necti-

nek a β -catenin és afadinnal komplexet képezve vesznek részt.

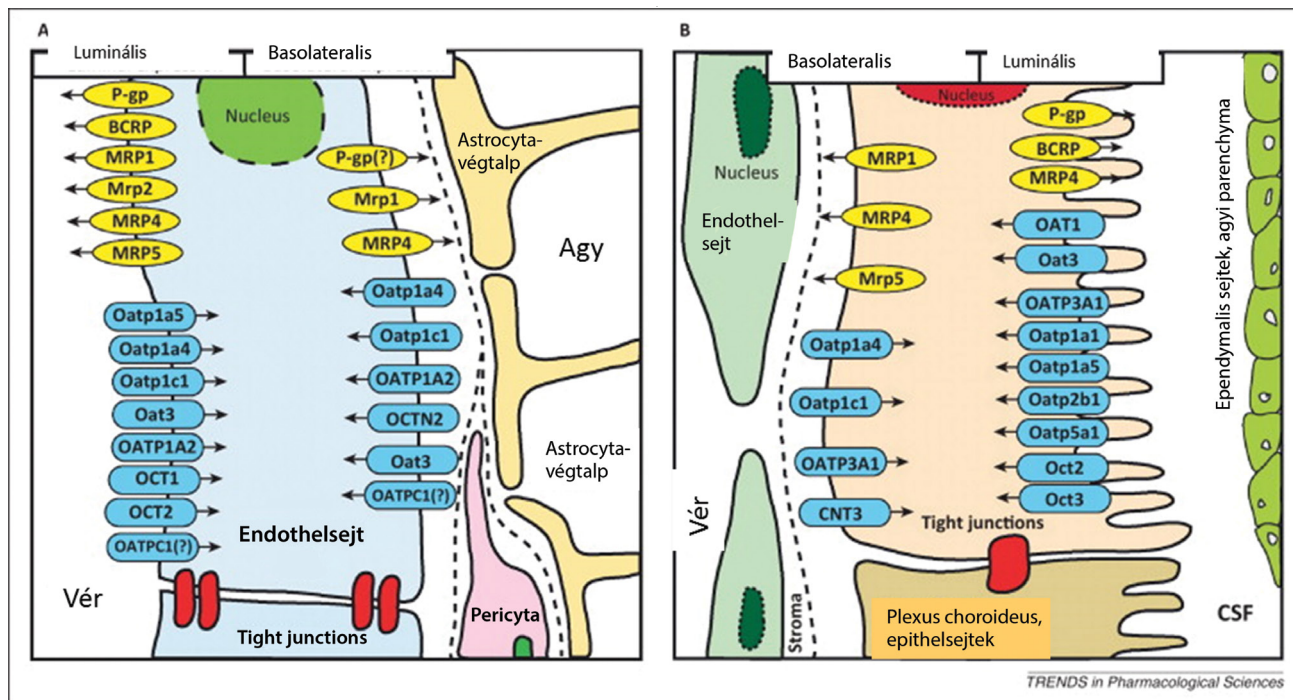
Az endothelsejtek basolateralis felszínén, a bazális membránba ágyazva helyezkednek el a pericyták. Mind e körül található az astrogliasejtek véglábait, amelyek a teljes kapilláris felszínt beborítják.

A bazális membrán, amely az endothelsejt körül található, az életkor előrehaladtával megvastagodik, időskorban akár sok mikron vastagságú is lehet.

Membrántranszporterek a vér-agy gátban és a vér-liquor gátban

A vér-agy gáton bizonyos anyagok szabadon átjutnak, mások különböző transzportfolyamatok révén keresztelik a barriert. A gázok (O_2 , CO_2) passzív diffúzióval szabadon jutnak át az endothelsejtmembránon. A tápanyagok – mint a glükóz, ketonok, aminosavak – transzporterfehérjék segítségével keresztelik a barriert. Ugyanígy az ionok pumpák segítségével és a peptidok (például inzulin, vasopressin) peptidtranszporterekkel keresztül lépnek be az agyszövetbe. Vannak azonban a szervezet számára idegen anyagok, xenobiotikumok, amelyeket a szervezet távol akar tartani a központi idegrendszer sejtjeitől, ezért a membránfehérjék itt nem influx, hanem efflux irányban hatnak. Ezt a keringés irányába mutató transzportot az ABC (ATP-binding cassette protein) transzporterek családjába tartozó efflux transzporterprotein-pumpák végzik.

A BBB-ben lévő efflux transzporterek közé tartoznak a P-glikoprotein (P-gp), a mellrákrezisztencia-protein vagy breast cancer resistance protein (BCRP) és a multidrug resistance proteinek (MRP-k). Vannak olyan transzporterek is, amelyek elősegítik bizonyos anyagok felvételét az agyszövetbe, ezek a solute carrier (SLC) transzporterek családjába tartoznak, és uptake vagy in-



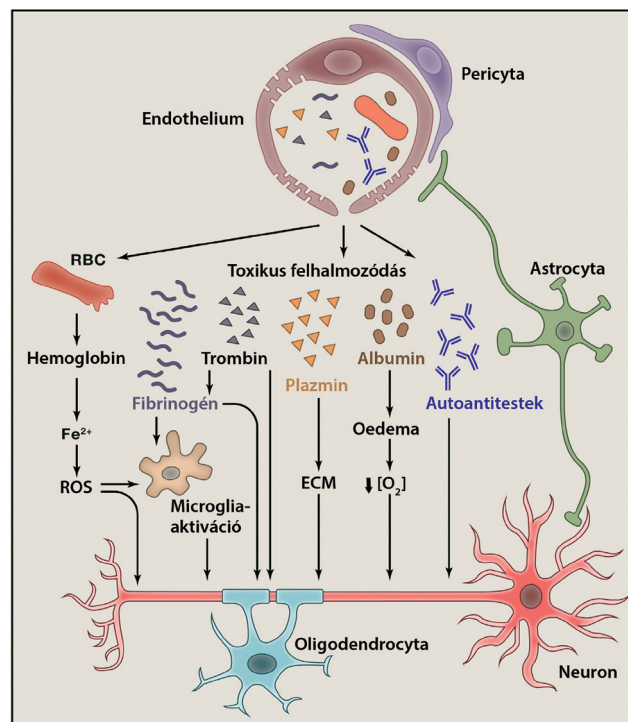
2. ábra Kiválasztott ABC és SLC transzportfehérjék (Chan, G. N., et al., 2013 [9], engedéllyel). A) Az agyi mikroerek endothelsejtjeiben a vér–agy gátban, illetve B) a plexus choroideus epithelsejtjeiben a vér–liquor gátban

ABC = ATP-binding cassette; CSF = cerebrospinalis folyadék; SLC = solute carrier

flux transzporterek, mint az organic anion transporting polypeptides (OATP-k), az organic anion transzporterek (OAT-k), az organic cation transzporterek (OCT-k), a nukleozid transzporterek, a monokarboxilát-transzporterek (MCT-k) és egyéb transzportrendszer, amelyek a peptidtranszportot segítik. A 2. ábra bemutatja a legfontosabb membrántranszporterek lokalizációját az agyi mikroerek és az agyi parenchyma között (a BBB-ben), illetve a plexus choroideus epithelsejtjei és az agykamrák belseje, a liquortér között (a vér–liquor gátban), az apicalis (luminális) és a basolateralis oldalon (2. A és B ábra) [9].

A transzporter fehérjék expressziója különböző behatásokra változik a BBB-ben. A legtöbb ismerettel ezzel kapcsolatban a P-gp-ről rendelkezünk. A P-gp expresszióját az alábbi, stressz indukálta faktorok fokozzák: oxidatív stressz, gyulladás, DNS-károsodás, görcsök, glutamátfelszabadulás, Diesel-szemcsék a levegőből stb. Mindezek hatására az NF- κ B és az AP-1 transzkripció faktorok aktiválódnak, és ez a P-gp-expressziót fokozza [10]. A protein feldúsulása az endothelsejt membránjában számos gyógyszer-molekula agyi felszívódását akadályozza meg. Így a P-gp legfontosabb szubsztrátjai: a citosztatikumok, kortikoszteroidok, opiátok, HIV-gyógyszerek, antipszichotikumok, antibiotikumok, antidepresszánsok és egyéb [10] agyi penetrációja is változik a transzporterek számának függvényében. Ezen anyagok jelentős részének elsődleges terápiás célpontja a központi idegrendszer, így ha a transzporter-pumpa felszaporodik, ezek az anyagok nem jutnak el a molekuláris

targetekhez és nem fejtik ki hatásukat. Más szubsztrátok esetében, mint amilyenek például a szívgyógyszerek, így a kinidin is [11], még kisebb lesz a centrális expozíció, ami éppen előnyös is lehet.



3. ábra Vascularisan mediált neurodegeneráció (Zhao, Z., et al., 2015 [8], engedéllyel)

I. táblázat | A BBB membrántranszportereinek részvétele különböző központi idegrendszeri betegségek patológiájában

Betegség	Részt vevő transzporterek	Referencia
Epilepszia	MRP-k, BCRP	Löscher, W., et al. (2005) [12]
Agydaganat, CNS-lymphoma	P-gp, MRP1, MRP4, BCRP	Bernhart, E., et al. (2015) [13] Liu, J., et al. (2015) [14] Sane, R., et al. (2014) [15]
Ischaemiás stroke	P-gp, MRP1	Kilic, E., et al. (2008) [16] El Ali, A., et al. (2011) [17]
Alzheimer-kór	ABCA1, ABCA2, P-gp, BCRP	Macé, S., et al. (2005) [18] Lam, F. C., et al. (2001) [19] Nelson, P. T., et al. (2015) [20]
Sclerosis multiplex	P-gp, BCRP, ABCD3	Kooij, G., et al. (2014) [21] Gray, E., et al. (2014) [22]
Parkinson-kór	P-gp, BCRP	Rapposelli, S., et al. (2009) [23] Liu, Q., et al. (2014) [24]
Amyotroph lateralsclerosis	P-gp, BCRP	Jablonski, M. R., et al. (2012) [25] Milane, A., et al. (2010) [26] Rapposelli, S., et al. (2009) [23]

A membrántranszporterek aktivitásának, illetve expressziójának változása nemcsak a gyógyszerek és más exogén anyagok felszívódását befolyásolhatja, hanem különböző központi idegrendszeri betegségek kialakulásához is vezethet. Erre mutatunk be néhány példát az *I. táblázatban* [12–26].

A vér–agy gát károsodása és a neurodegeneráció kialakulása

A BBB károsodásának számos oka lehet. Az egyik ilyen a pericyta-endothelsejt- vagy astrocytakárosodás, illetve az itt zajló szignáltranszdukciós utak zavara. A BBB radikális károsodásának, s így a permeabilitás súlyos fokozódásának következményei (*3. ábra*) [8]:

- A vörösvérsejtek akkumulációja az agyban és a belőlük származó neurotoxikus hemoglobin- és vas- (Fe^{2+}) felszabadulás, amely reaktív oxigéngyökök képződéséhez vezet.
- Szintén neurotoxikus a véreredetű proteinek agyszöveti megjelenése, ilyen a fibrinogén, a trombin és a plazminogén, amely plazminná konvertálódik és destruktorálja a neuronális extracelluláris mátrixot (ECM). Ez a neuronok leválásához és sejtpusztuláshoz vezet.
- A fibrinogén aktiválja a microgliasejteket, és neuronális gyulladást, demyelinisatiót okoz. Ugyanakkor megakadályozza a myelinisatiót az oligodendrocyta progenitor sejteken keresztül.
- Albumin jut a vérből az agyszövetbe, ami vasogen oedema kialakulásához vezet, kapilláris hipoperfúziót és hypoxiát indukál. A BBB károsodása az agy immunológiai privilégiumának károsodását is eredményezi,

így különböző axonális és membránösszetevőkkel szembeni ellenanyagok jelennek meg az agyban.

Ezek mellett a folyamatok mellett a vér–agy gát átteresztőképessége változhat az endothelsejtek membránjában működő transzporterek expressziójának, illetve aktivitásának függvényében is.

Az öregedés alapjai

Az élet első szakaszában építő, míg a másodikban bontó folyamatok kerülnek túlsúlyba. Így az öregedés során csökkenő működési kapacitásokkal kell számolni. Csökken a szervezet ellenálló képessége (immunaktivitása), ezért számos, az időskorra jellemző betegség alakulhat ki. Az összefoglaló elsősorban a CNS-hez tartozó BBB öregedés újabb eredményeit foglalja össze.

Az öregedés okainak magyarázatára számos, kísérleti adatokkal is alátámasztott elmélet született. Egyes kutatók az öregedést belső tényezőkkel, míg mások külső károsító hatásokkal magyarázzák. Az utóbbi évek kísérleti eredményei azt látszanak bizonyítani, hogy az öregedés okait genetikai tényezők határozzák meg, és a belső genetikai hatásokat a külső tényezők módosíthatják.

Az endothelsejtek életútjuk során részben belső gének irányította szabályozás alatt állnak és emellett külső károsító hatások is érik őket. Egyik ilyen károsító behatás az oxidatív stressz, amelynek a szoros sejt–sejt közötti kapcsolatok esnek áldozatul. A károsodott sejtek osztódásai során az öregedési folyamat a telomer rendszerben leírtak szerint (1. később) megy végbe. Minden egyes osztódás csökkenti a sejt további élettartamát.

A szabad gyökök és a mutációs elmélet

A szabad gyökök és a mutációs elmélet az egyik legnépszerűbb öregedésmélt. Az életműködéshez szükséges energiát a táplálékokból nyerjük, amelynek lebontása oxigén jelenlétében történik, ennek helye a sejtekben a mitokondrium. A lebontó folyamat során azonban melléktermékek, úgynevezett szabad reaktív gyökök keletkeznek. Súlyos következménye lehet, ha mutációt okozva a DNS-t károsítják. Különösen a mitokondriumok DNS-e veszélyeztetett, mert itt nincs hibajavító (repair) mechanizmus, amely a DNS-ben bekövetkező mutációkat korrigálná. A mitokondriumban keletkező szabadgyök-képződés egy önmagát erősítő folyamatot indít el, és a hibák az egész sejt, illetve szervezet működését befolyásolják. A DNS hibái a szervezet életkorával előrehaladva egyre nőnek, végül olyan mértékben felhalmozódhatnak, hogy zavarják a normális sejt működéseket. A szuperoxid dizmutáz, a kataláz és a peroxidáz ezeket a szabad gyököket megsemmisítik. Az idős állatokban a szuperoxid dizmutáz szintek magasabbak, mint a rövidebb ideig élőkben. A keletkező szabad gyökök károsító hatásának következménye az apoptózis, amely a sérült DNS-ű sejt pusztulásához vezet.

Ahogy látjuk, a szervezetet károsító szabad gyökök a tápanyagok lebontása során keletkeznek, amennyiben a táplálék mennyisége csökken, akkor csökken a lebontás, csökken a keletkező szabad gyökök mennyisége is. És valóban, a kalóriamegvonás növeli a maximális élettartamot. A legtöbb ember azonban nem képes az öregedési folyamatokat lassító szigorú diétát betartani.

A genetikai óra és a telomeraelmélet

A genetikai óra nem más, mint a kromoszómák vége, a telomerarégió. Az erre alapuló öregedési elmélet a telomeraelmélet [27]. A 2009-es orvosi-életteni Nobel-díjat a 2006-os telomeráz enzim és ezekkel kapcsolatos eddig ismeretlen mechanizmusok felfedezéséért három amerikai kutató (*Blackburn, Greider és Szostak*) megsztva kapták.

A telomerek a kromoszómát alkotó DNS-ek végén található ismétlődő szakaszok, amelyek megvédik azokat a pusztulástól, széteséstől. Minden egyes osztódás után a kromoszomális DNS néhány bázispárral rövidül. Minél hosszabb tehát a telomerrégió, annál több osztódás mehet végbe meghibásodás nélkül. A telomerek határozzák meg életünk hosszúságát. Minél többet osztódik a sejt, annál kisebb lesz a telomerrégió. Az emberi sejtek rendszerint 30–50 osztódás után érik el az osztódási küszöbértéket. A telomerrövidülés mértéke nem állandó, különösen a megnövekedett oxidatív stressz hatására emelkedhet.

Az embrionális sejtekben a telomeráz enzim képes a DNS nem rövidülő szálát meghosszabbítani. Az enzim tulajdonképpen egy reverz transzkriptáz, amely két külön molekulából áll: a telomeráz reverz transzkriptázból (TERT) és a telomeráz RNS-ből (hTR vagy TERC). Az enzim funkciója, hogy DNS-száilaihoz hozzáadja az ismétlődő 5'-TTAGGG – 3' szekvenciát (telomereket) 5'–3' irányban. Majd a TERC templát régiója, a 3'-CAAUCCCAAUC-5' telomeráz hozzákapcsolódik az utolsó telomerszekvenciához, ami a kromoszóma védelmét szolgálja.

Egy bizonyos minimális hossz elérése után a sejtek többé nem osztódnak, bekövetkezik a sejtek öregedése. Kimutatták, hogy a legtöbb tumorsejtben viszont működik a telomeráz, és ez magyarázza a tumorsejtek megnövekedett szaporodóképességét. Az öregedéssel és a tumorosodással kapcsolatos folyamatokat telomerázhiányos egerekben igazolták. Az öregedés és a tumorok kialakulása ellentétes folyamat. A tumorok kialakulása és az osztódási kapacitás között ugyanis igen szoros az összefüggés. A DNS-hibának bekövetkeztével a rosszindulatú tumorok több mutációval járnak. A számítások szerint, amennyiben az osztódások száma nem haladja meg a százat, jelentősen csökken a tumorok kialakulásának esélye [27, 28].

A sejtek az öregedés során, a telomerarégió rövidülésével morfológiájukat és biokémiai tulajdonságaikat megtartják. Bizonyos gének, a tumorszuppressziós gé-

nek expressziója megnő. Ezzel hozzájárulnak a sejtosztódás leállításához. Még egy adalékot kell kiemelni: az idő előtti öregedéshez az aktív p53 fehérje jelenléte szükséges, amelyet egérben végzett vizsgálatokkal igazoltak [29].

Más genomikai kutatásokban fiatal, középkorú és progeriában (Hutchinson–Gilford-szindróma) szenvedő betegek mintegy 6000 génexpressziós profiljának összehasonlításakor 61 csökkenő működésű gént találtak. A sejtek szaporodásáért felelős gének csökkent aktivitása mellett, főleg az idős egyéneknél, még több gén csökkent aktivitását figyelték meg [30].

A BBB öregedése számos morfológiai elváltozásban tetten érhető. Így a kapilláris endothel megvékonyodik és a sejtekben a mitokondriumok száma csökken. A „tight junction” fehérjék expressziója csökken. A bazális lamina megvastagodik, a kollagén IV- és az arginkoncentráció megnő, míg a lamininé csökken. Fokozott GFAP-expresszióval kísért astrocytaproliferáció figyelhető meg. A microgliasejtek alakja megváltozik, amőboid formát vesznek fel és proinflammatorikus mediátorokat termelnek. A pericyták száma csökken és ultrastrukturális elváltozásokat mutatnak. Végül a kapcsolódó neuronoknál a neurogenesis romlik, a szinaptikus plaszticitás csökken és neurodegeneráció alakul ki [31].

Átjutás a barrieren – gyógyszerbeviteli technológiák

A BBB komplex barrier, amely szabályozza és befolyásolja a gyógyszerek bejutását a központi idegrendszerbe. A terápiás anyagok bejuttatására innovatív stratégiák állnak a rendelkezésre. Hagyományos stratégia a paracelluláris transzport fokozása vagy a BBB-n a transzcelluláris transzport növelése. A transzcelluláris transzport során az anyagok az endothelsejtek lumenális oldalától indulva, a citoplazmán keresztül átjutnak az abluminális oldalra az agyi interstitiumba. A molekulák paracelluláris transzportját a TJ-k gátolják. Az aktív transcytosist a molekulák fizikai tulajdonságai (például molekula tömege, lipofilitása stb.) befolyásolják. A passzív transcytosist receptormediált formában (inzulin a GLUT-1 receptorral) vagy adszorpciómediált úton jön létre. Újabban szállítóanyagok segítségével is juttatnak át gyógyszereket a BBB-n.

Transzport a vér–agy gáton keresztül

Gyógyszerek bevitel a BBB-n invazív és nem invazív úton történhet. Az invazív technikák részletezésével a jelen dolgozatban nem foglalkozunk.

Gyógyszerbevitel ozmotikus hatással

Az intraarterialisan injektált hiperozmotikus anyagokkal gyógyszereket vittek be és így helyileg a gyógyszerek ma-

gas koncentrációját érték el. Először az endothelsejtek víztartalma jutott át a vérkeringésbe, miközben a sejt maga zsugorodott. A kiáramló víz megnyújtotta az endothelsejt membránját. Az aktin, cadherin és a citoskeletális rendszer Ca-függő mechanizmuson keresztül összehúzódott. A TJ-kapcsolat a mechanikus stressz hatására meglazult, miközben paracellulárisan a gyógyszer az agyi parenchymába ment át [32].

Gyógyszerbevitel kémiai hatással

Vazoaktív anyagok az endothelsejtekben átmeneti gyulladási reakciót hoznak létre. Az alkilglicerolok gyorsan beépülnek és destabilizálják az endothelsejtek membránját, és egy rövid ideig a BBB-t megnyitják. Számos más anyag is hasonló hatást vált ki. Ilyenek: citokinek (IL-2), leukotrién C4 és a bradikinin. A bradikinin (ia.) nagyon kis koncentrációban növeli a BBB permeabilitását [33].

Gyógyszerbevitel a transzcelluláris transzport fokozásával

Erősen lipofil prodrug molekulák képesek a BBB-n keresztül az agy parenchymalis részébe átmenni, ahol a metabolitjaik a biológiailag aktív formájukban fejtik ki hatásaikat. A transzcelluláris transzport fokozható inzulinreceptor vagy transzferrinreceptorokon keresztül. Monoklonális antitestet kapcsoltak humán transzferrinreceptorhoz (génterápiás szerkezethez), amely a BBB-n sikeresen átjutott [34].

Gyógyszerbevitel szállító ágens segítségével

A gyógyszerek célba vitelét karrierágensek segítségével (nanorészecskék, immunsejtek) végezhetik oly módon, hogy MR irányította fókuszált ultrahanggal (MRgFUS) reverzibilisen megnyitják a BBB-t. Ilyen módon hatékonyan fokozzák a gyógyszerek bevitelét a központi idegrendszerbe. A nanorészecskék mint hordozómolekulák sajátos jellemző tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyek közül a legfontosabb, hogy a kis méretük mellett fokozzák a gyógyszer oldékonyságát, ellenőrizhetővé válik a gyógyszerek leadása és a specifikus targetálást is lehetővé teszik. A nanorészecskék BBB-n történő áthaladásának pontos mechanizmusa még nem ismert. Annyit azonban tudni lehet, hogy a fémek, polimerek és lipid nanorészecskék különféle endocytoticus mechanizmusokkal jutnak be az agyba [35]. Az arany, ezüst és vas nanorészecskékkel szemben a polimerek szintetikus úton előállított kevésbé rigid részecskék, ezeket kemoterápiás gyógyszerek és kontrasztanyagok bevitelére használják. A lipid nanorészecskék és a liposzóma a sejtmembrán kettős lipidrétegét utánozzák. Mint hordozóanyagok akár hidrophil, akár hidrofób vagy amfoter gyógyszerek szállítására alkalmasak. A liposzómák, ha mannózzal vagy mannózanalogokkal borítják, akkor peptidok,

plazmaproteinek és monoklonális ellenanyagok agyi bevitelére is használhatók [36]. A BBB endothelsejtjei termelte ferritin-, laktoferritin- és folátreceptorokat használják fel, hogy a CNS-be a nanorészecskékkel szállított gyógyszereket specifikusan (monoklonális ellenanyaggal) a célsejtekhez kössék [37].

Gyógyszerbevitel sejtalapú gyógyszer szállítással

Az immunsejteket és az őssejteket mint terápiás hordozóanyagokat alkalmazzák a BBB-n keresztüli szállításra. Az immunsejtek és az őssejtek lokálisan a CNS sérült és gyulladási területein dúsulnak fel, ezért is mint karrier anyagok terápiás céllal alkalmazhatók gének, citokinek, enzimek, nanorészecskék bevitelére. Az immunsejtekhez hasonlóan az őssejtek is átvándorolnak (transzmigrációval) a BBB-n, érintve az integrinokat, adhéziós molekulákat és a szelektinokat. A mesenchymalis őssejtek migrációja sokkal lassúbb, mint az immunsejtek mozgása [38].

Gyógyszerbevitel fókuszált ultrahanggal

A fókuszált ultrahangos technológia (FUS) alkalmazásával a BBB reverzibilisen megnyílik és a gyógyszer keresztülhalad. A klinikai próbáknál a mágneses magrezonancia termometria (MRgFUS) segítségével tanulmányozzák a gyógyszerek hatását, elkerülve a hőmérsékleti és energiakárosodásokat. Fázis I klinikai próbákat végeztek esszenciális tremorban, Parkinson-kórban. Ezt a technológiát kemoterápiás gyógyszerek, antitestek, immunterápiás szerek, valamint génterápiás anyagok bevitelére alkalmazzák [39].

Gyógyszerek bevitel a CNS-be egyéb utakon

Intranasalis szállítással

Nem invazív, gyógyszerbevitelre alkalmas módszer az intranasalis kezelés. Az orrüregbe juttatott hatóanyag az ornyálkahártyán keresztül, az olfactorikus útvonalon át közvetlenül a liquorba jut, megkerülve a vér-agy gátat. Az intranasalis kezelés előnyei közé tartozik az intravénás kezeléssel szemben, hogy a beteg saját magának adagolhatja az alacsony dózisu gyógyszert, szállítókarrier szükségtelen, és az agyi célsejtek könnyen elérhetővé válnak [40]. Szemben az orális kezeléssel, az intranasalis adagolásnál a hatóanyag elkerüli a „first-pass” metabolizmust. Példaként említhető, hogy az ischaemia indukálta neurológiai deficitet patkányban intranasalis beadással kompenzálták 24–72 órán belül NAD⁺-dal, és glycolidroláz inhibitor adagolásával [41, 42]. Ezenfelül jobb transzporttevékenységet észleltek risperidon és olanzapin intranasalis emulziós beadása után, mint iv. injektálást követően [43].

Endogén aktivátorokkal

A rekombináns szöveti típusú plazminogénaktivátort (rt-PA) ischaemiás stroke terápiájában vezették be az észlelt roham első hat órájában a fokozott érelzáródás rekanalizációjára. Sajnos az rt-PA alkalmazásakor az intracranialis vérzés rizikója nagy. Az rt-PA növeli a cerebrovascularis permeabilitást különböző faktorokon keresztül, mint az ischaemiás reperfüziós sérüléskor aktiválódó vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF), az aktiválódó mátrixmetalloproteináz (MMPs). Továbbá a VEGF szabályozza a TJ-k megnyílását és az endocytosist. Ezenfelül az rt-PA egy sor sejtes reakcióban is részt vesz (sejtek migrációja, sebgyógyulás, gyulladás, immunválaszadás, tumormetasztázis). Összességében a rt-PA részt vesz a cerebrális vérerek remodelingjében, különösen stroke-os folyamatokban [44].

Következtetések

A BBB a neurovascularis egység dinamikus és integráns alkotóeleme. Az utóbbi időben az agyi homeosztázist szabályzó mechanizmusokról, számtalan neurológiai betegség kórélettanáról újabb ismeretek születtek. Új megvilágítást nyert az endothelialis sejtek és a TJ kapcsolata, valamint a membrántranszport molekuláris alapjai. Az endothelsejtek, pericyták, astrocyták és a bazális membrán szerepére is fény derült. A CNS-betegségek kezelésében használt gyógyszerek farmakokinetikai/farmakodinamikai vizsgálatok a BBB és a transzporterek kulcsfontosságú szerepét továbbra is hangsúlyozzák, amelynek alapján különböző applikációs stratégiákat dolgoztak ki. A további vizsgálatok feltehetőleg segítik majd az új szignáltranszdukciós molekulákat, illetve a membrántranszportereket moduláló gyógyszerek kifejlesztését. Ezek a vizsgálatok hozzájárulhatnak olyan terápiás stratégiák kidolgozásához, amelyekkel vagy megelőzni, vagy orvosolni lehet az öregedésből vagy az időskori patológiás folyamatokból adódó neurális elváltozások kialakulását vagy manifesztálódását.

Anyagi támogatás: A szerzők anyagi támogatásban nem részesültek.

Szerzői munkamegosztás: E. F., D. L.: Egyenlő arányban járult hozzá az összefoglaló megírásához. H. B.: A szövegezésben, editálásban végzett jelentős munkát. A cikk végleges változatát mindhárom szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Irodalom

- [1] van de Haar, H. J., Burgmans, S., Jansen, J. F., et al.: Blood-brain barrier leakage in patients with early Alzheimer disease. *Radiology*, 2016, 281(2), 527–535.
- [2] Larson, E. B., Yaffe, K., Langa, K. M.: New insights into the dementia epidemic. *N. Engl. J. Med.*, 2013, 369(24), 2275–2277.
- [3] Klaassen, E. B., Plukaard, S., Evers, E. A., et al.: Young and middle-aged schoolteachers differ in the neural correlates of memory encoding and cognitive fatigue: A functional MRI study. *Front. Hum. Neurosci.*, 2016, 10, 148.
- [4] Obermeier, B., Daneman, R., Ransohoff, R. M.: Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. *Nat. Med.*, 2013, 19(12), 1584–1596.
- [5] Erdő, F., Témesszentandrás-Ambrus, Cs., Beéry, E.: Role of drug transporters in the central nervous system. [Gyógyszertranszporterek szerepe a központi idegrendszerben.] *Orv. Hetil.*, 2016, 157(10), 370–378. [Hungarian]
- [6] Strazielle, N., Ghersi-Egea, J. F.: Efflux transporters in blood-brain interfaces of the developing brain. *Front. Neurosci.*, 2015, 9, 21.
- [7] Nelson, A. R., Sweeney, M. D., Sagare, A. P., et al.: Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016, 1862(5), 887–900.
- [8] Zhao, Z., Nelson, A. R., Betsholtz, C., et al.: Establishment and dysfunction of the blood-brain barrier. *Cell*, 2015, 163(5), 1064–1078.
- [9] Chan, G. N., Hoque, M. T., Bendayan, R.: Role of nuclear receptors in the regulation of drug transporters in the brain. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2013, 34(7), 361–372.
- [10] Mahringer, A., Fricker, G.: ABC transporters at the blood-brain barrier. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 2016, 12(5), 499–508.
- [11] Sziráki, I., Erdő, F., Trampus, P., et al.: The use of microdialysis techniques in mice to study P-gp function at the blood-brain barrier. *J. Biomol. Screen.*, 2013, 18(4), 430–440.
- [12] Löscher, W., Potschka, H.: Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2005, 6(8), 591–602.
- [13] Bernhart, E., Damm, S., Wintersperger, A., et al.: Interference with distinct steps of sphingolipid synthesis and signaling attenuates proliferation of U87MG glioma cells. *Biochem. Pharmacol.*, 2015, 96(2), 119–130.
- [14] Liu, J., Chi, N., Zhang, J. Y., et al.: Isolation and characterization of cancer stem cells from medulloblastoma. *Genet. Mol. Res.*, 2015, 14(2), 3355–3361.
- [15] Sane, R., Wu, S. P., Zhang, R., et al.: The effect of ABCG2 and ABCG4 on the pharmacokinetics of methotrexate in the brain. *Drug Metab. Dispos.*, 2014, 42(4), 537–540.
- [16] Kilić, E., Spudich, A., Kilić, U., et al.: ABCG1: a gateway for pharmacological compounds to the ischaemic brain. *Brain*, 2008, 131(10), 2679–2689.
- [17] El Ali, A., Hermann, D. M.: ATP-binding cassette transporters and their roles in protecting the brain. *Neuroscientist*, 2011, 17(4), 423–436.
- [18] Macé, S., Cousin, E., Ricard, S., et al.: ABCA2 is a strong genetic risk factor for early-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.*, 2005, 18(1), 119–125.
- [19] Lam, F. C., Liu, R., Lu, P., et al.: Beta-amyloid efflux mediated by p-glycoprotein. *J. Neurochem.*, 2001, 76(4), 1121–1128.
- [20] Nelson, P. T., Jicha, G. A., Wang, W. X., et al.: ABCG9/SUR2 in the brain: Implications for hippocampal sclerosis of aging and a potential therapeutic target. *Ageing Res. Rev.*, 2015, 24(Pt B), 111–125.

- [21] Kooij, G., Kroon, J., Paul, D., et al.: P-glycoprotein regulates trafficking of CD8(+) T cells to the brain parenchyma. *Acta Neuropathol.*, 2014, 127(5), 699–711.
- [22] Gray, E., Rice, C., Hares, K., et al.: Reductions in neuronal peroxisomes in multiple sclerosis grey matter. *Mult. Scler.*, 2014, 20(6), 651–659.
- [23] Rapposelli, S., Digiacomio, M., Balsamo, A.: P-gp transporter and its role in neurodegenerative diseases. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2009, 9(2), 209–217.
- [24] Liu, Q., Hou, J., Chen, X., et al.: P-glycoprotein mediated efflux limits the transport of the novel anti-Parkinson's disease candidate drug FLZ across the physiological and PD pathological *in vitro* BBB models. *PLoS ONE*, 2014, 9(7), e102442.
- [25] Jablonski, M. R., Jacob, D. A., Campos, C., et al.: Selective increase of two ABC drug efflux transporters at the blood–spinal cord barrier suggests induced pharmacoresistance in ALS. *Neurobiol. Dis.*, 2012, 47(2), 194–200.
- [26] Milane, A., Fernandez, C., Dupuis, L., et al.: P-glycoprotein expression and function are increased in an animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci. Lett.*, 2010, 472(3), 166–170.
- [27] Wright, W. E., Shay, J. W.: Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: the essential role of counting. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2001, 11(1), 98–103.
- [28] Samper, E., Flores, J. M., Blasco, M. A.: Restoration of telomerase activity rescues chromosomal instability and premature aging in *Terc*^{-/-} mice with short telomeres. *EMBO Rep.*, 2001, 2(9), 800–807.
- [29] Tyner, S. D., Venkatachalam, S., Choi, J., et al.: P53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature*, 2002, 415(6867), 45–53.
- [30] Ly, D. H., Lockhart, D. J., Lerner, R. A., et al.: Mitotic misregulation and human aging. *Science*, 2000, 287(5462), 2486–2492.
- [31] Rascher, G., Wolburg, H.: The blood-brain barrier in the aging brain. In: de Vellis, J. (ed.): *Neuroglia in the aging brain*. Humana Press, Totowa, New Jersey, 2002, 305–320.
- [32] Rapoport, S. I.: Osmotic opening of the blood–brain barrier: principles, mechanism, and therapeutic applications. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 2000, 20(2), 217–230.
- [33] Inamura, T., Black, K. L.: Bradykinin selectively opens blood–tumor barrier in experimental brain tumors. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1994, 14(5), 862–870.
- [34] Zhang, Y., Schlachetzki, F., Zhang, Y. F., et al.: Normalization of striatal tyrosine hydroxylase and reversal of motor impairment in experimental parkinsonism with intravenous nonviral gene therapy and a brain-specific promoter. *Hum. Gene Ther.*, 2004, 15(4), 339–350.
- [35] Alam, M. I., Beg, S., Samad, A., et al.: Strategy for effective brain drug delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2010, 40(5), 385–403.
- [36] Micheli, M. R., Bova, R., Magini, A., et al.: Lipid-based nanocarriers for CNS-targeted drug delivery. *Recent Pat. CNS Drug Discov.*, 2012, 7(1), 71–86.
- [37] Fornaguera, C., Dols-Perez, A., Calderó, G., et al.: PLGA nanoparticles prepared by nano-emulsion templating using low-energy methods as efficient nanocarriers for drug delivery across the blood–brain barrier. *J. Control. Release*, 2015, 211, 134–143.
- [38] Rüster, B., Göttig, S., Ludwig, R. J., et al.: Mesenchymal stem cells display coordinated rolling and adhesion behavior on endothelial cells. *Blood*, 2006, 108(12), 3938–3944.
- [39] Clement, G. T.: Perspectives in clinical uses of high-intensity focused ultrasound. *Ultrasonics*, 2004, 42(10), 1087–1093.
- [40] Partridge, W. M.: Drug transport across the blood–brain barrier. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2012, 32(11), 1959–1972.
- [41] Ying, W., Wei, G., Wang, D., et al.: Intranasal administration with NAD⁺ profoundly decreases brain injury in a rat model of transient focal ischemia. *Front. Biosci.*, 2007, 12, 2728–2734.
- [42] Wei, G., Wang, D., Lu, H., et al.: Intranasal administration of a PARG inhibitor profoundly decreases ischemic brain injury. *Front. Biosci.*, 2007, 12, 4986–4996.
- [43] Kumar, M., Misra, A., Babbar, A. K., et al.: Intranasal nanoemulsion based brain targeting drug delivery system of risperidone. *Int. J. Pharm.*, 2008, 358(1–2), 285–291.
- [44] Suzuki, Y., Nagai, N., Umemura, K.: A review of the mechanisms of blood-brain barrier permeability by tissue-type plasminogen activator treatment for cerebral ischemia. *Front. Cell. Neurosci.*, 2016, 10, 2.

(Erdő Franciska dr.,
Budapest, Práter u. 50/A, 1083
e-mail: erdo.franciska@itk.ppke.hu)