

A vér-agy gát

Farkas Eszter


2019. szeptember 12.



Dr. Sándor Péter,
Dr. Benyó Zoltán

AZ AGYI VÉRKERINGÉS ÉLETTANI ALAPJAI:
ÖNSZABÁLYZÓ MECHANIZMUSOK



 Simmelweis Kiadó

Az agyi vérkeringés élettani alapjai. Önszabályozó mechanizmusok



dr. Sándor Péter - dr. Benyó Zoltán

Simmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió Kft. , Megjelenés: 2016.
február 11.

Könyv

Az orvos számára az agyi vérkeringés minden más szervünktől eltérő egyedi sajátosságainak vizsgálata a legérdekesebb kutatási területek közé tartozik. A kutatásoknak azonban csak akkor van igazán értelme, ha eredményei az agyi keringési katasztrófák megelőzését, az...



A vér-agy gát felfedezése

- Paul Ehrlich (1854-1915): anilin-festéket injektált a keringésbe → minden szerv megfestődött a központi idegrendszert kivéve

- Edwin Goldmann (1913): a festéket a gerincvelőbe fecskendezte → az agy megfestődött, de más szervek nem

⇒ **A vér-agy gát létezése: az agy izolálása a vérkeringéstől**

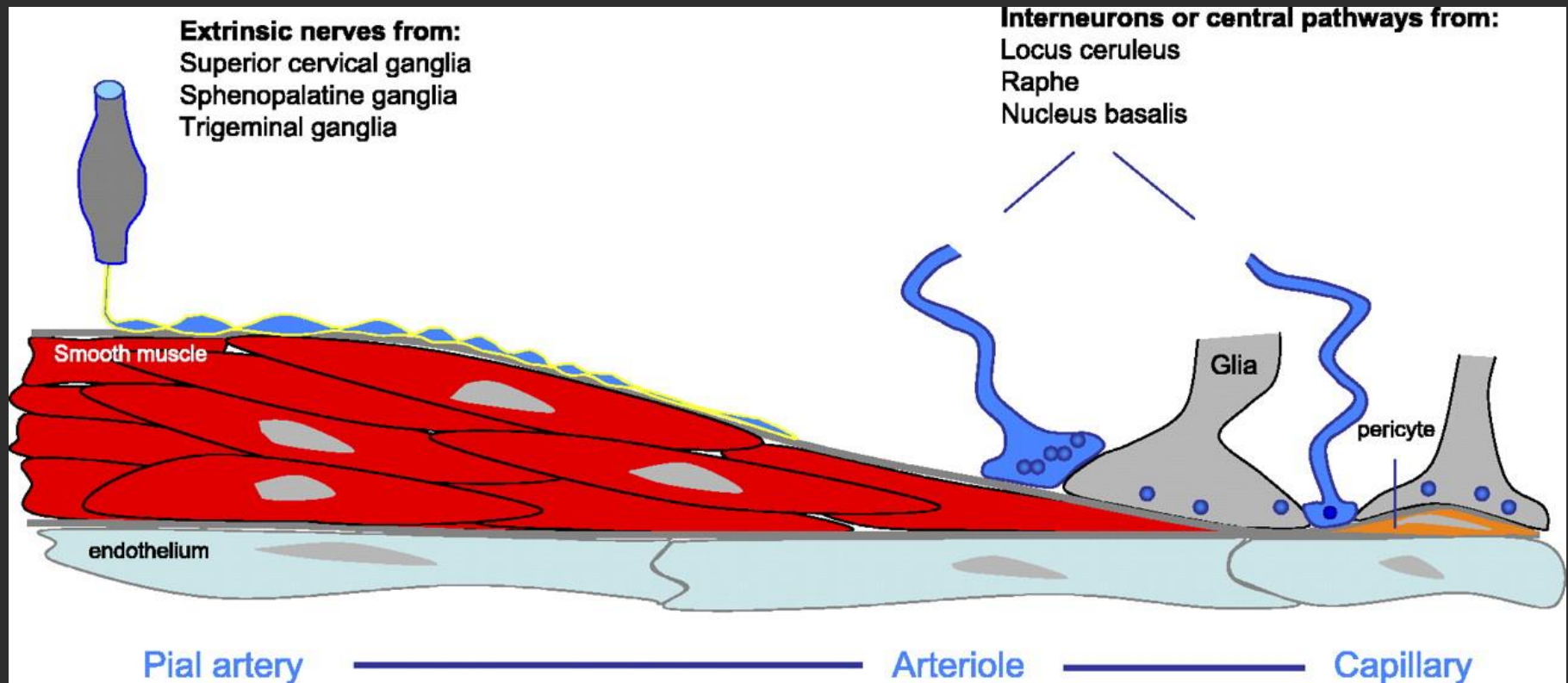


A vér-agy gát szerepe

- Védelem:
 - Fertőzések
 - Neuroaktív anyagok
- Táplálás:
 - Szelektív transzport
- Anyagcsere-bomlástermékek eltávolítása



Átmenet az artériás rendszer és a kapillárisok között

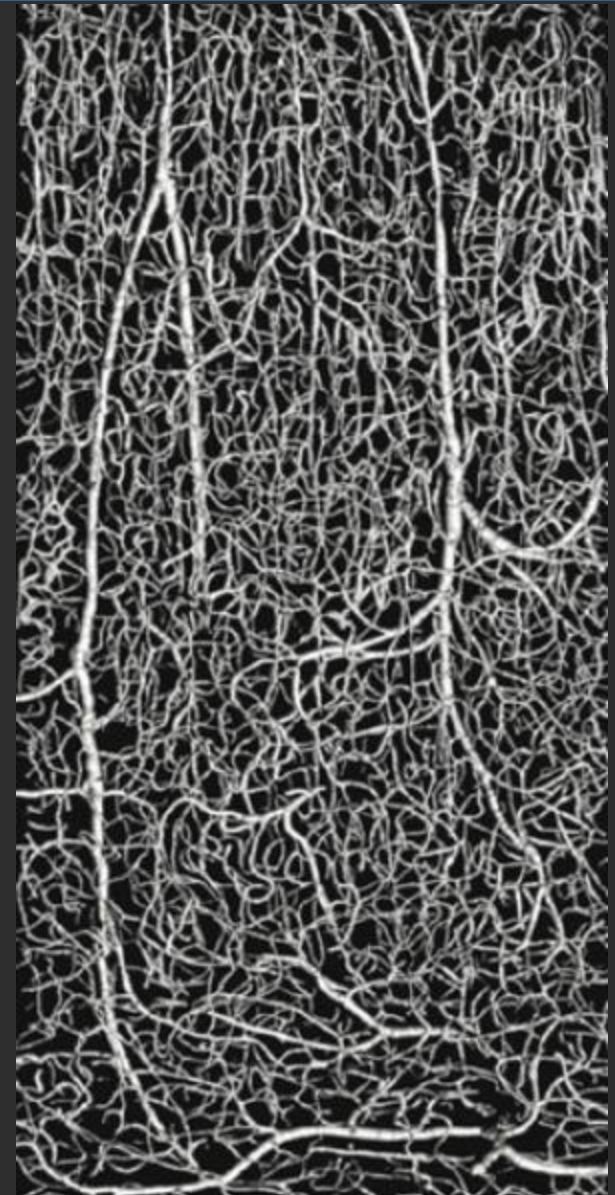


Girouard et al., J Appl Physiol, 2006

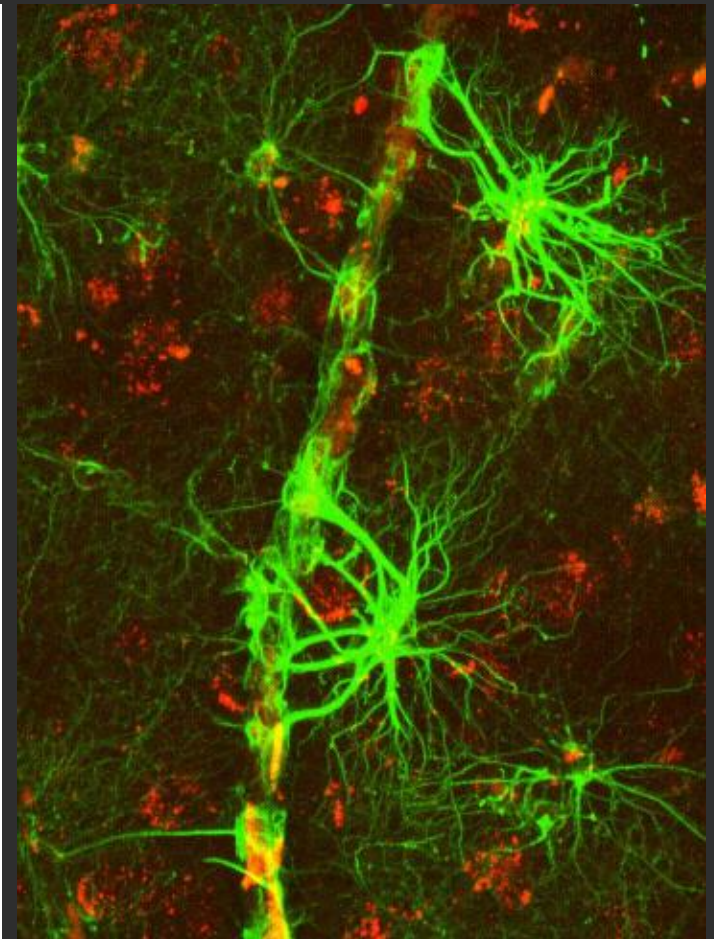
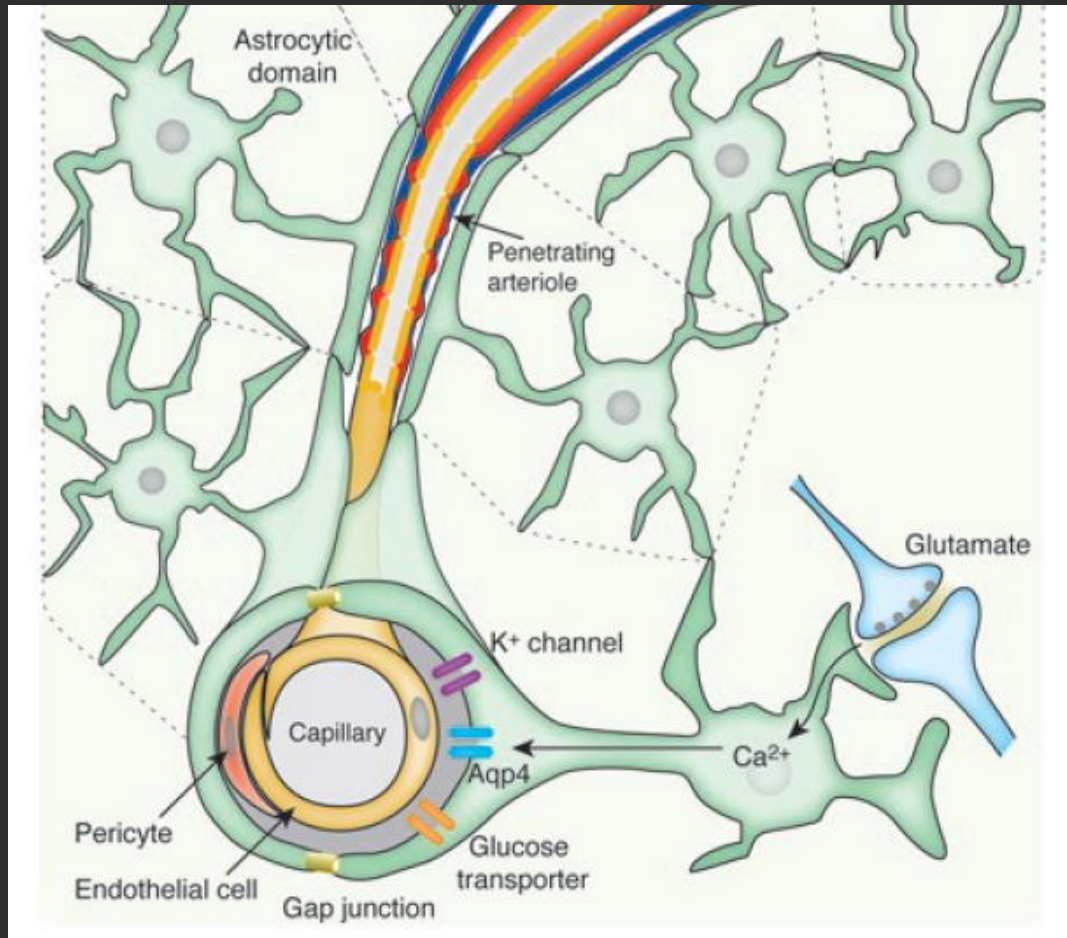
Az agyi kapillárishálózat

- Sűrű kapillárishálózat:
Átlagos távolság a kapillárisok között:
 $40\mu\text{m}$
- Nagy felszín:
endothelium: $100\text{ cm}^2/\text{g}$
- Térfogat:
Erek: 5%; endothelsejtek: 0,1%.

Petzold and Murthy, Neuron, 2011

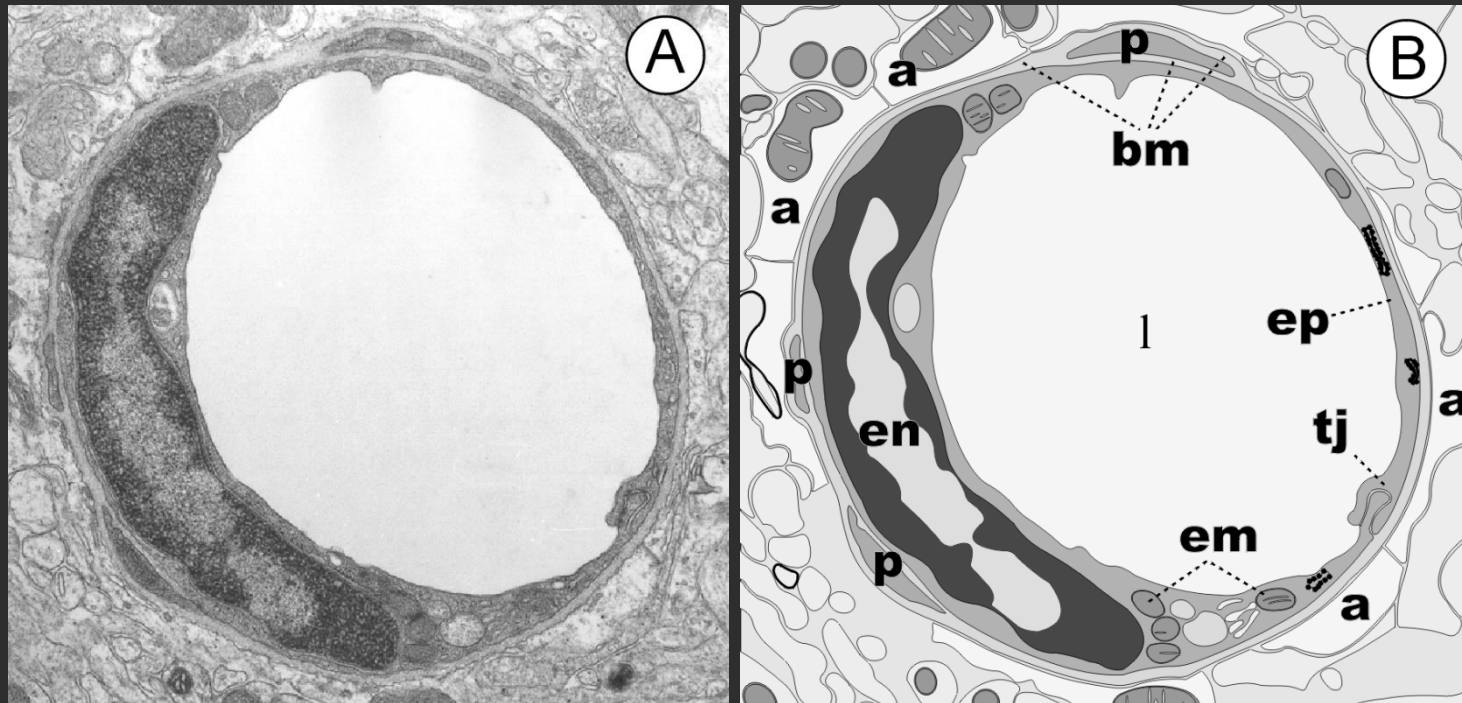


Az agyi kapilláris hálózat szerveződése



A vér-agy gát ultrastruktúrája

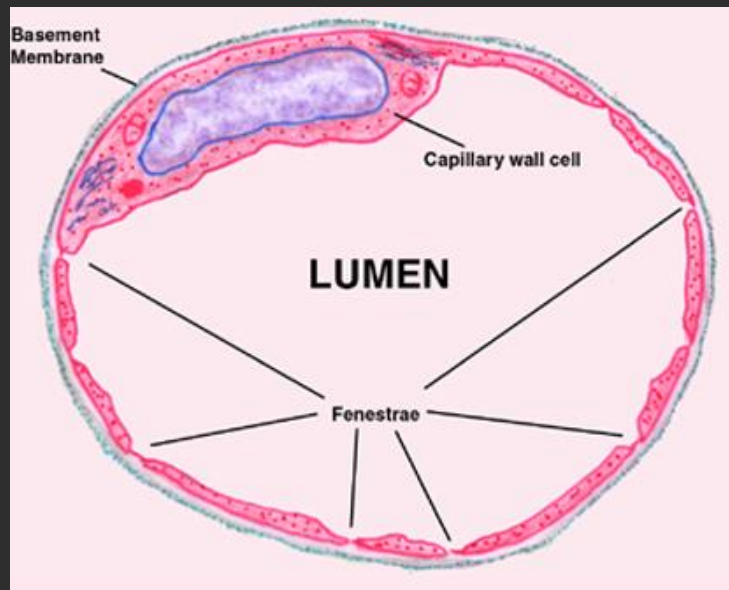
Falvastagság: a periférás kapillárisok 40%-a (0.3-0.5 μm) \rightarrow
Rövidebb tápanyagtranszport



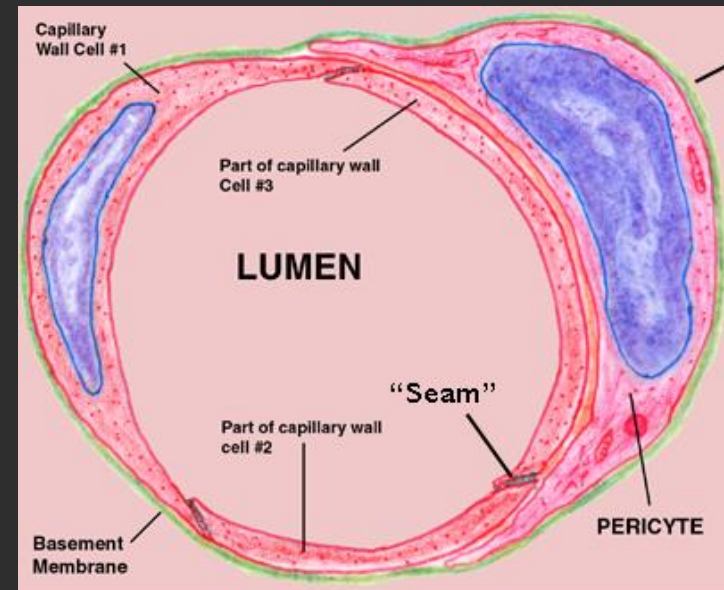
Farkas& Luiten, Progr Neurobiol, 2001

Az agyi erek endotheliuma

Endothelium: Nem fenesztrált → minimális transzcelluláris diffúzió



Fenestrated Capillary

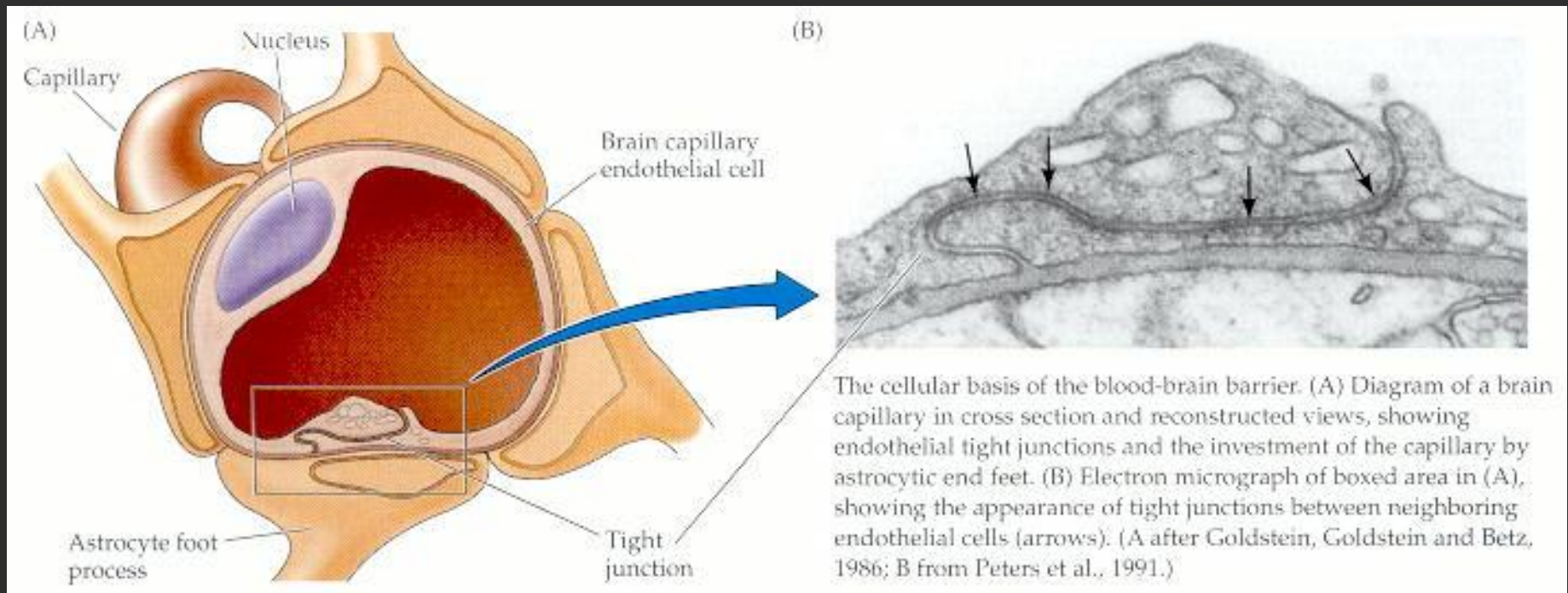


Closed or Continuous Capillary

<http://www.vetmed.vt.edu/education/curriculum/vm8054/labs/Lab12b/Lab12b.htm>

Az agyi erek endotheliuma

Endothelium: Tight junction-ok → nincs paracelluláris diffúzió



http://www.daviddarling.info/encyclopedia/B/blood-brain_barrier.html

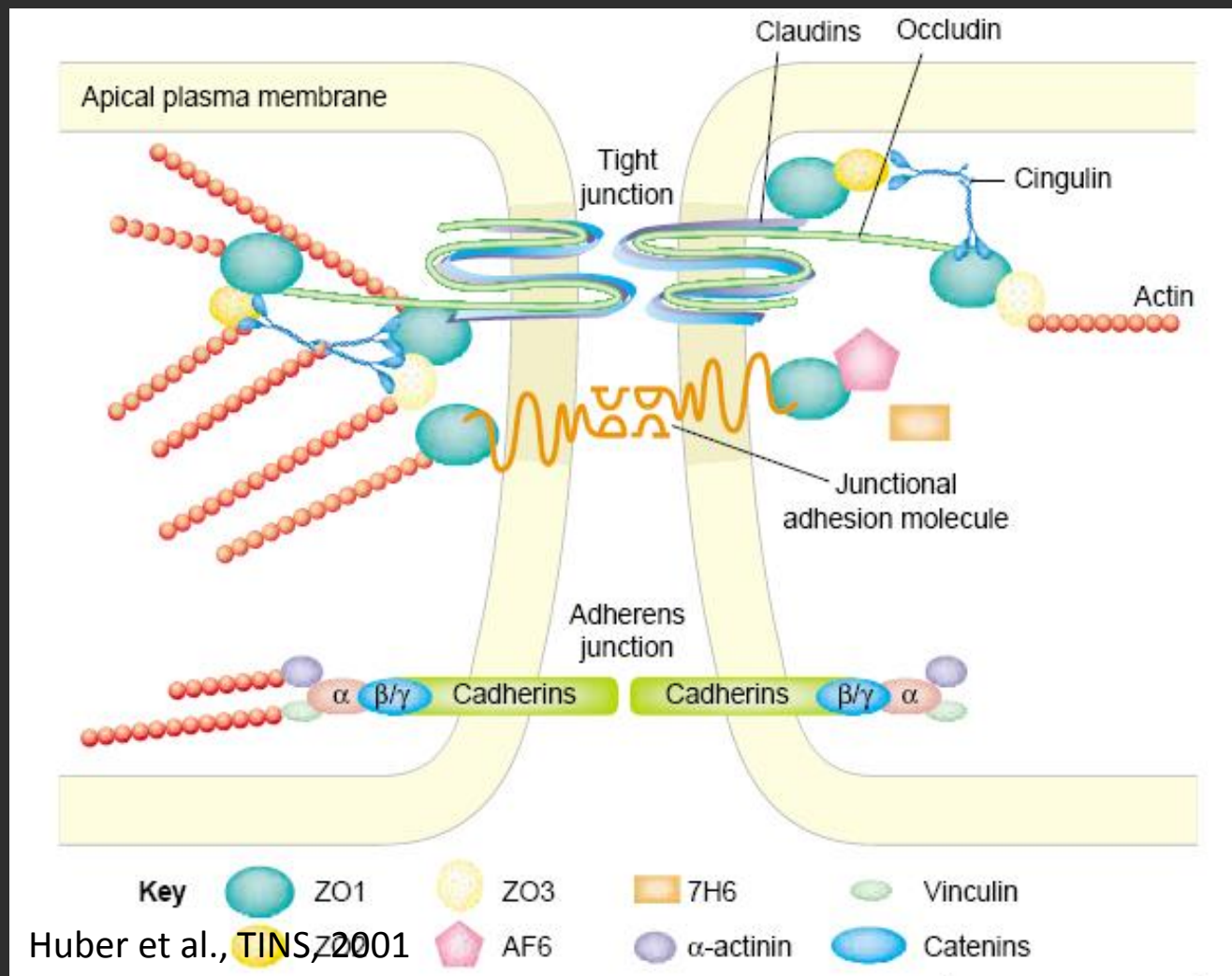
A tight junction-ok molekuláris szerkezete

Koleszterinben
gazdag
membrán

Claudinok: váz

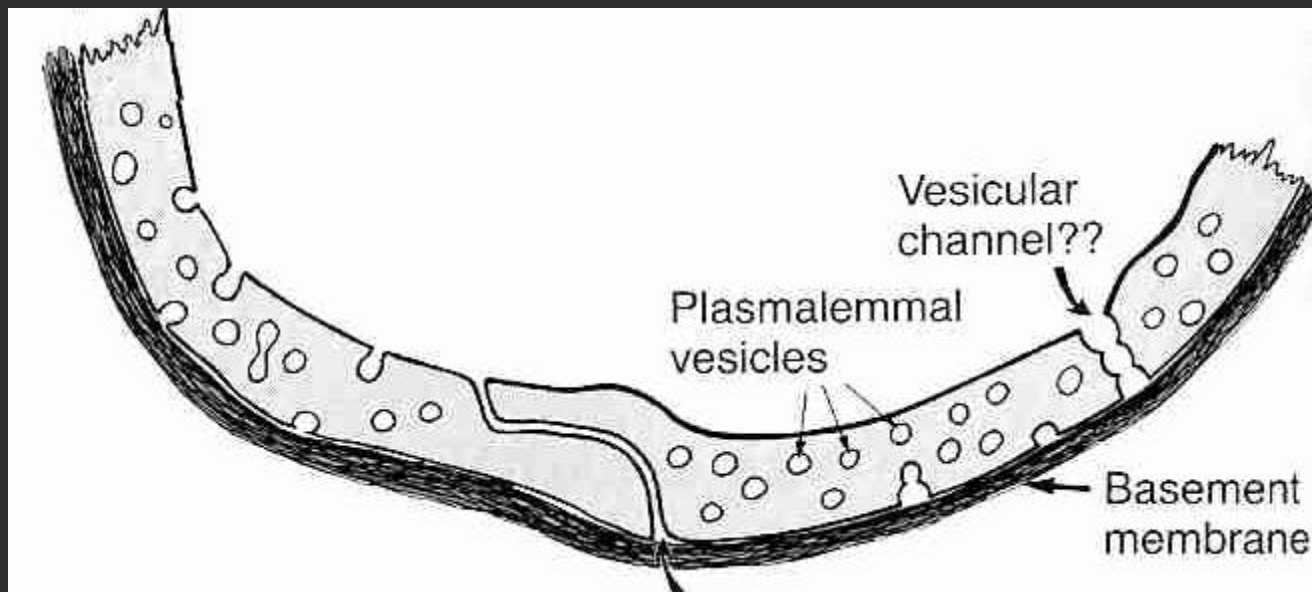
Occludin:
szabályozó
fehérje →
elektro-sztatikus
ellenállás

ZO: zonula
occludens
fehérjék,
strukturális
támasz, a
junction helyének
kijelölése



Az agyi erek endotheliuma

Endothelium: Minimális pinocitikus transzport → átjárhatóság alacsony

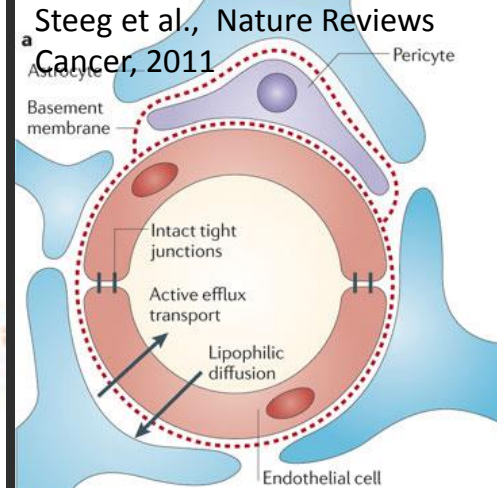
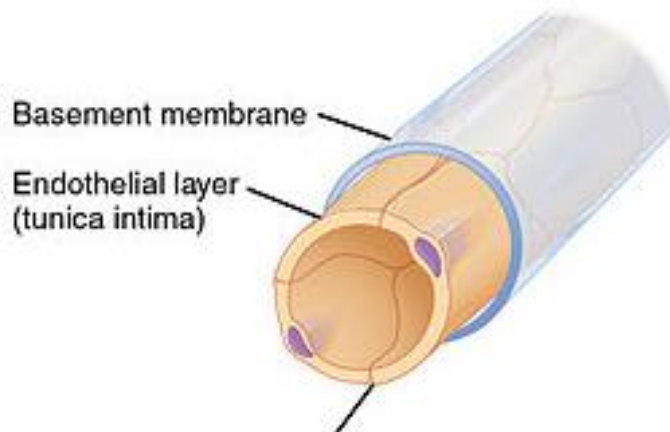


<http://www.benbest.com/cryonics/protocol.html>

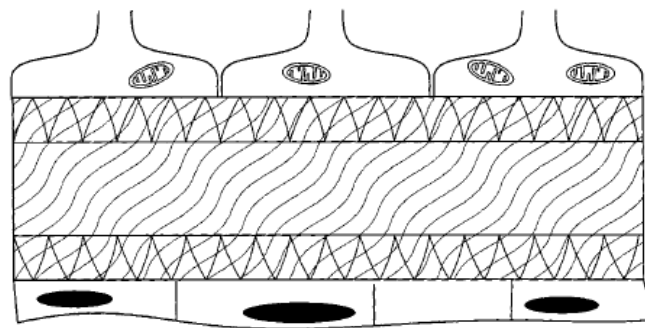
Az agyi erek endotheliuma

Endothelium:
vastag bazális
membrán

<http://en.wikipedia.org/wiki/Capillary>



Abluminal surface



Astrocytic endfeet

Lamina rara externa
(HSPG, laminin, collagen IV)

Lamina densa
(Collagen IV)

Lamina rara interna
(HSPG, laminin, collagen IV)

Endothelium

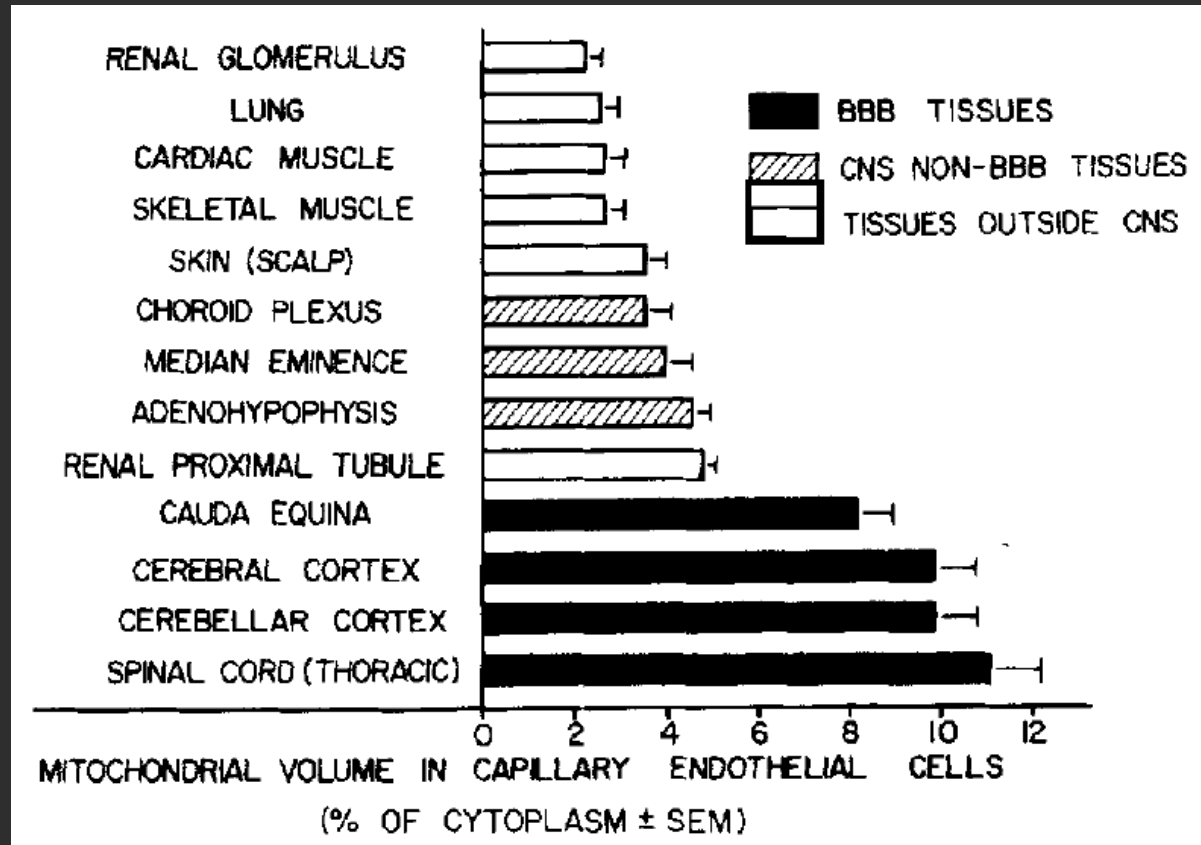
Basement
Membrane

Luminal surface

Farkas & Luiten, Progr Neurobiol, 2001

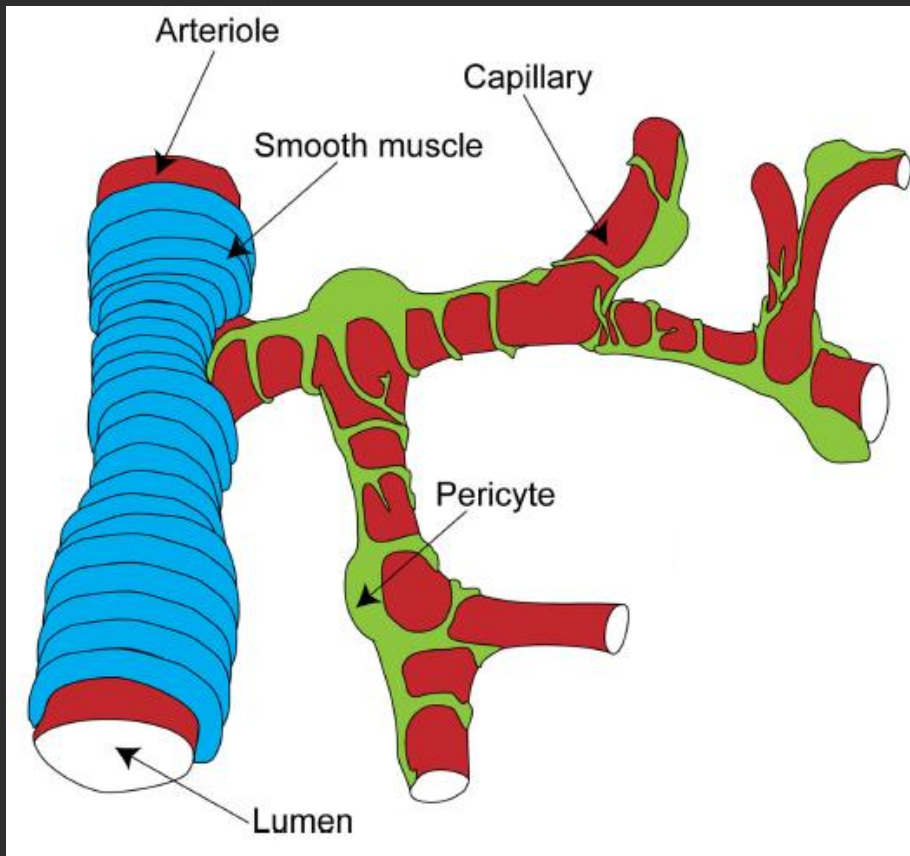
Az agyi erek endotheliuma

Mitokondriumok nagy mennyiségben (az endothelsejt plazmájának 10%-át kitöltik) → emelkedett metabolikus aktivitás a barrier funkció fenntartására



Oldendorf et al., Ann Neurol, 1977

Periciták



Szóma-denzitás: 2 per 100 μm kapillaris hossz

Hamilton et al., Front. Neuroenergetics, 2010.

A periciták aktívan szabályozzák a kapillarisok átmérőjét:

In vitro élő agyszeleten:
Noradrenalin: kapillarisok átmérőjének csökkenése (konstrikció)
Glutamát: kapillarisok átmérőjének növekedése (dilatáció) –
prostaglandin E2 (EP4 receptoron), és NO (a konstriktor 20-HETE termelődésének gátlása révén)

Állatmodellben:

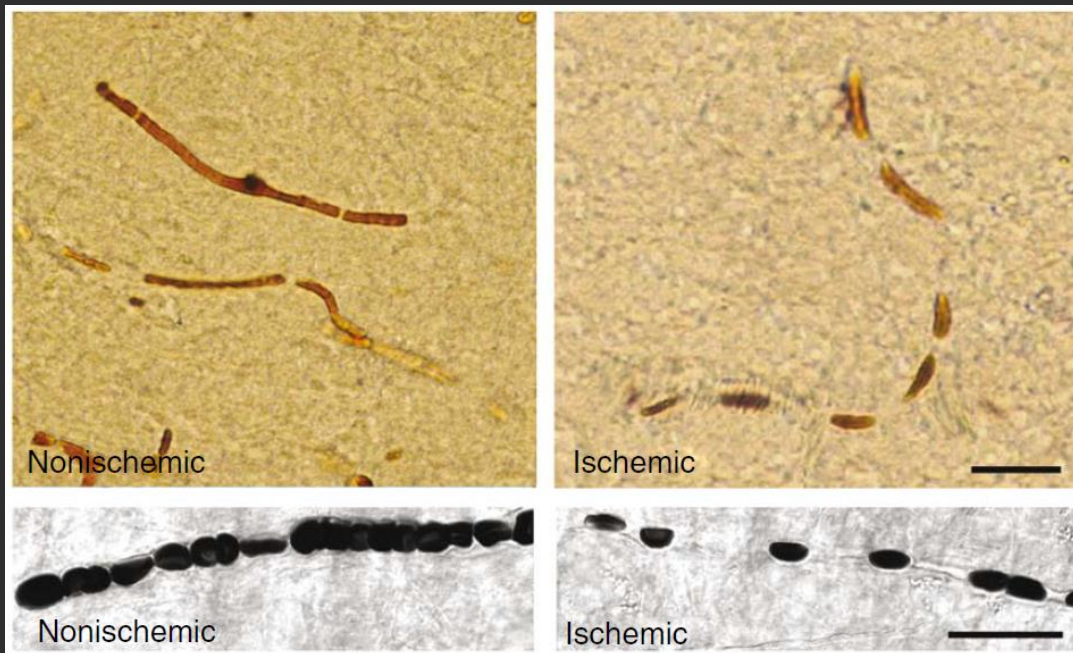
Bajuszpárna-ingerlés: kapillarisok dilatációja (pericitákkal fedett szakaszon), az arteriolákat megelőzően.

Hall et al., Nature, 2014.

Periciták szerepe stroke betegségben

Ischemiás stroke: egy nagyobb agyi ér elzáródása

Primer beavatkozás: rekanalizáció (az elzáródás megszüntetése)

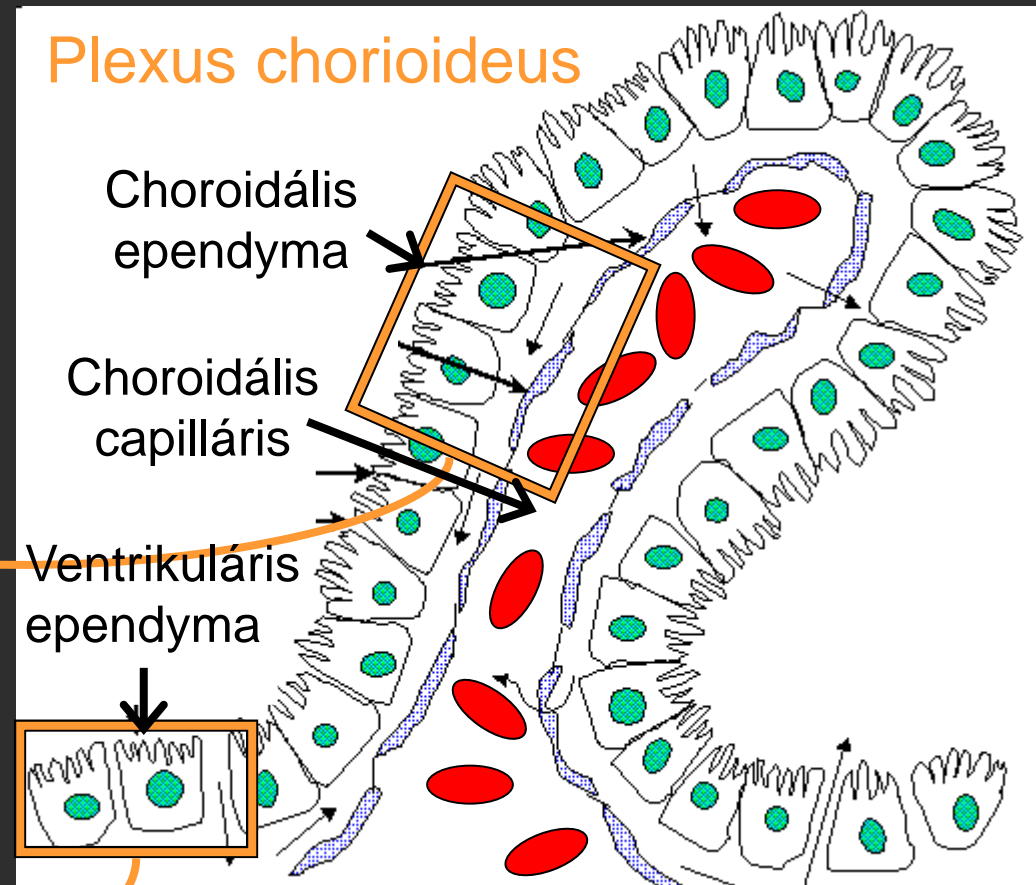
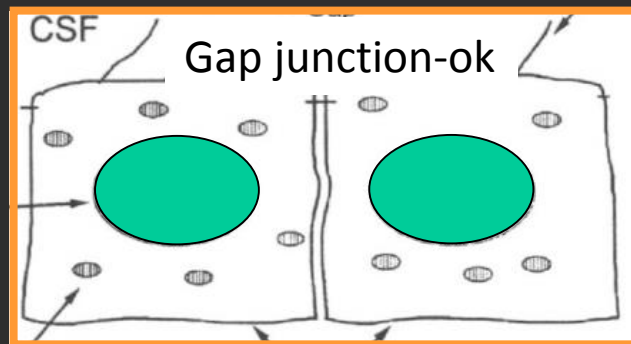
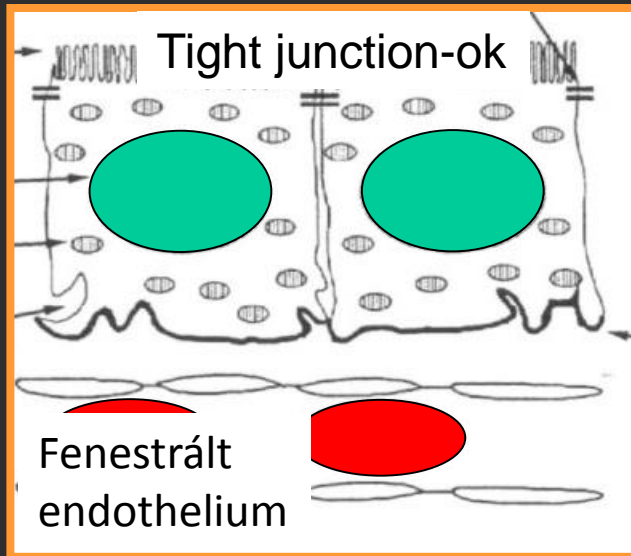


Periciták összehúzzák a kapillárisokat:

- A vérátáramlás nem áll helyre a kapillárisokban → a szövet továbbra sem jut megfelelő mennyiségű tápanyaghoz
- Gyógyszerek nem jutnak célba

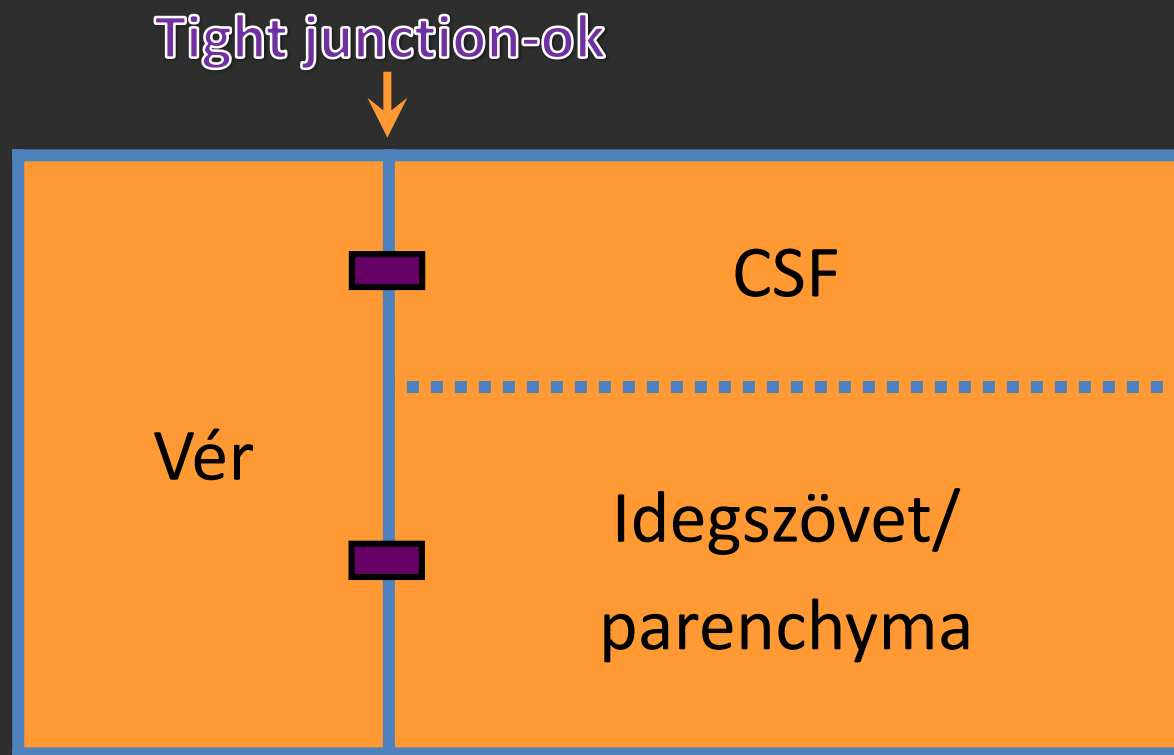
Yemisci et al., *Front. Nature Medicine*, 2009.

A vér-liquor gát

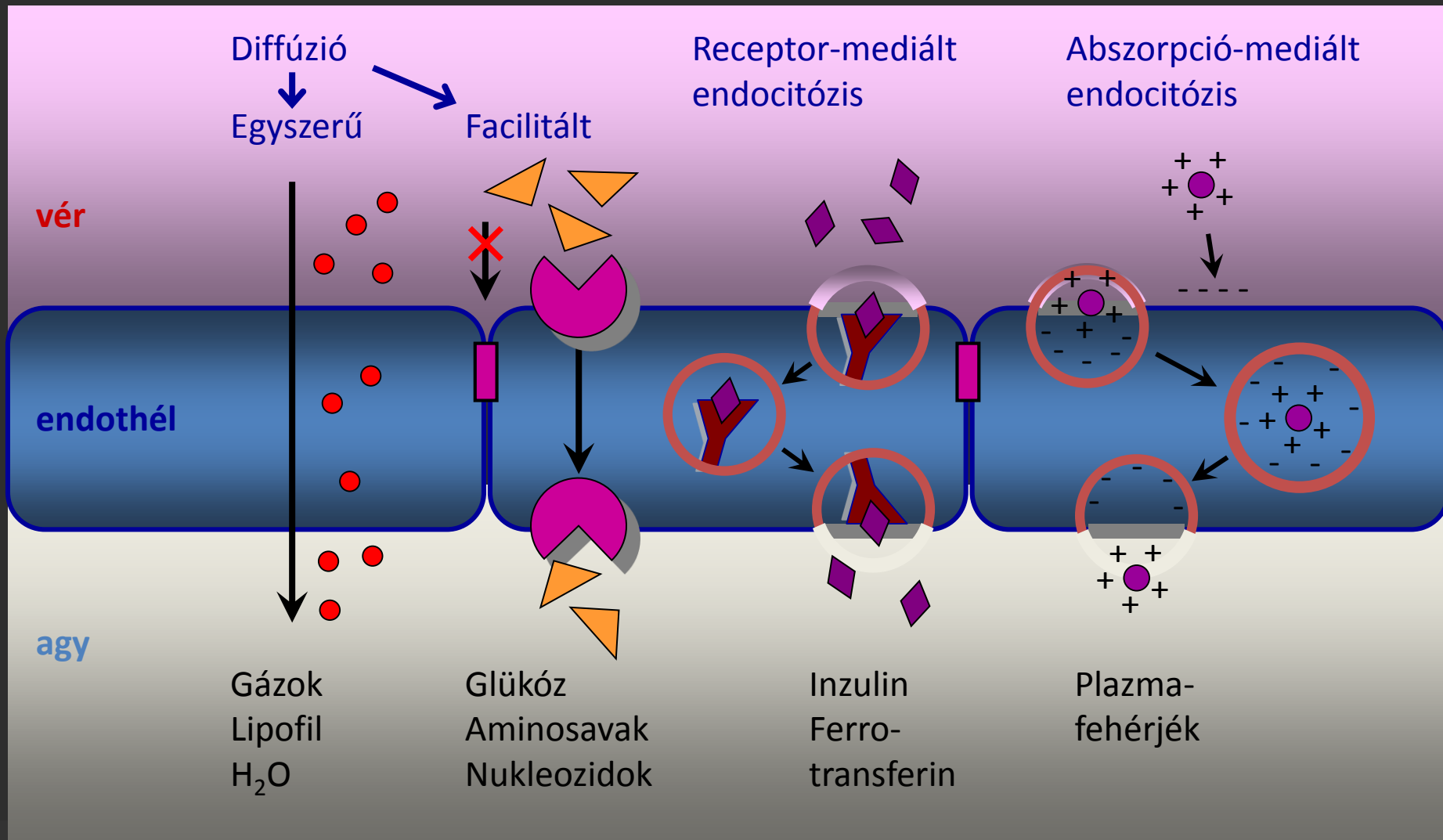


http://www.daviddarling.info/images/choroid_plexus.gif

A központi idegrendszeri barrierek összefoglalása



Transzport folyamatok a vér-agy gáton át: vér → agy (influx)



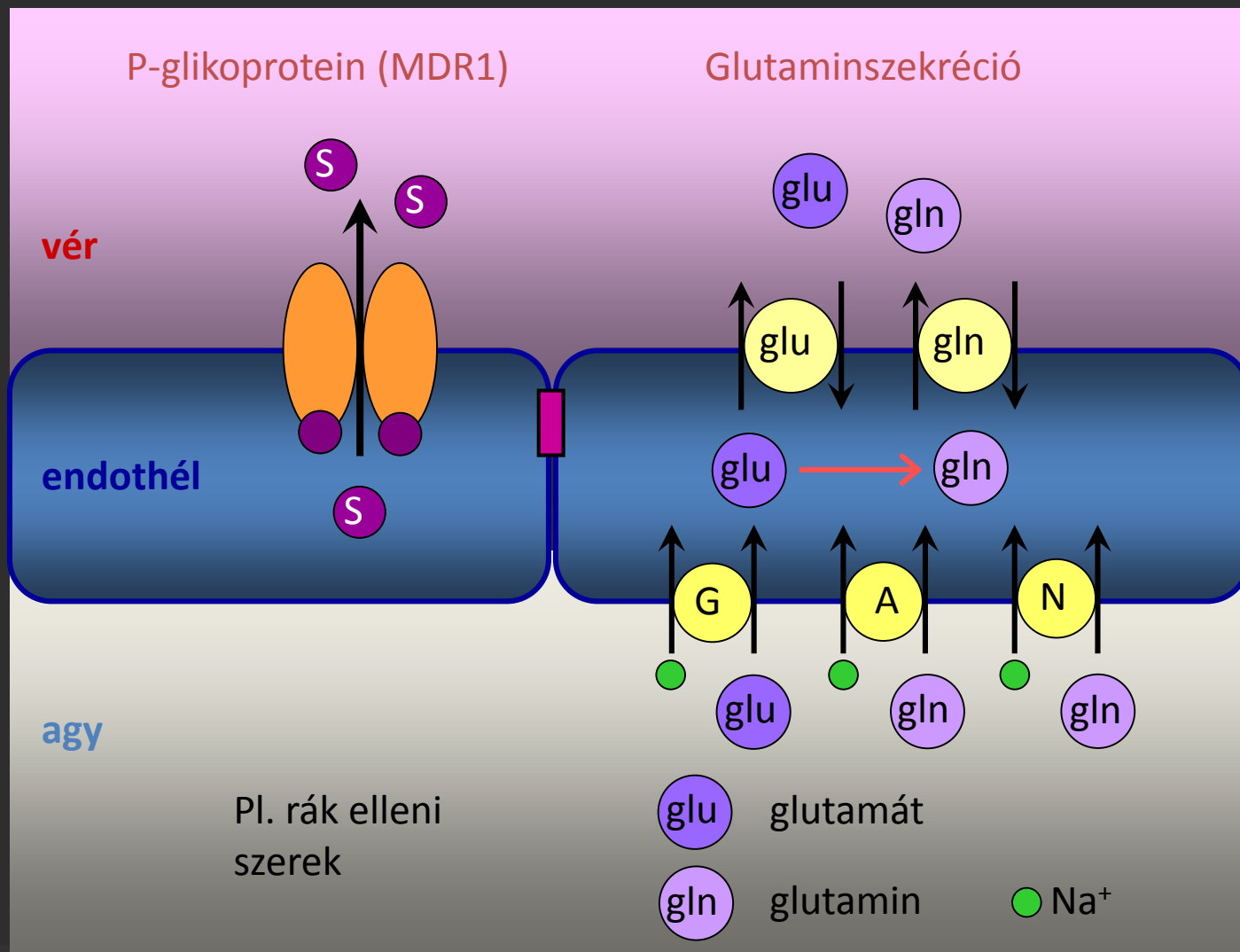
Transzport folyamatok a vér-agy gáton át: agy → vér (efflux)

P-glikoprotein:

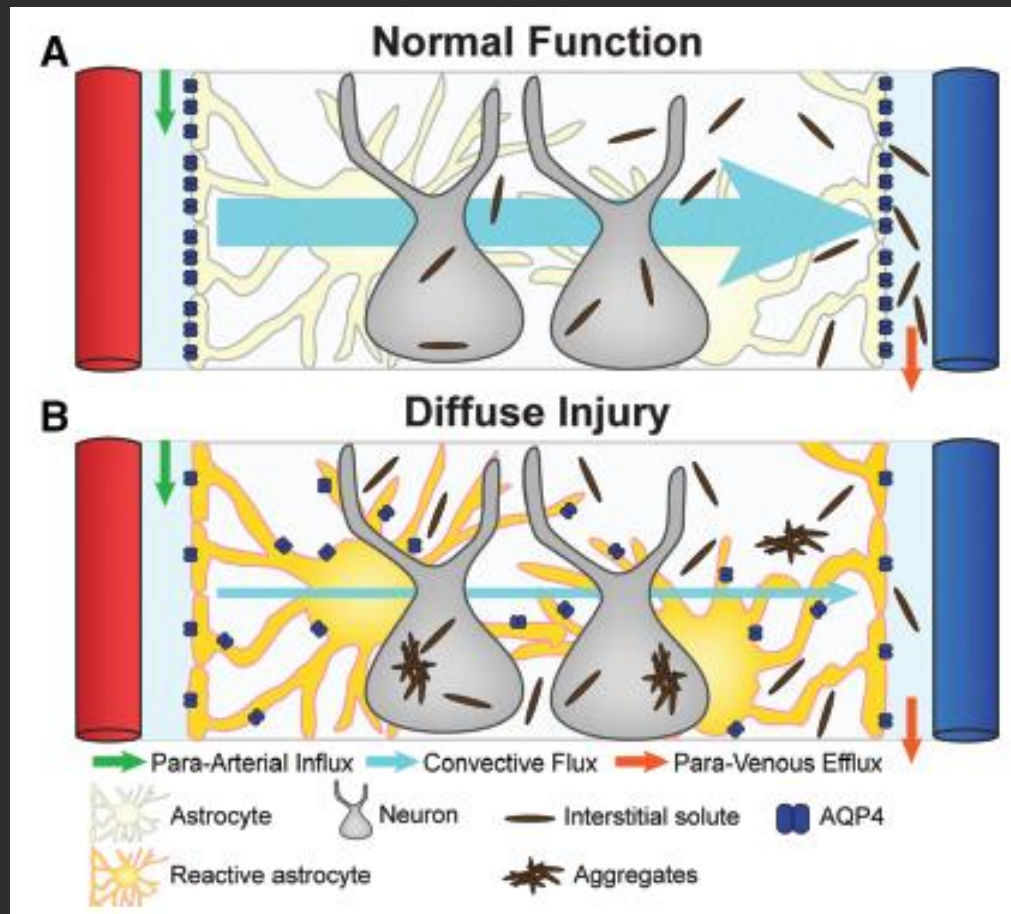
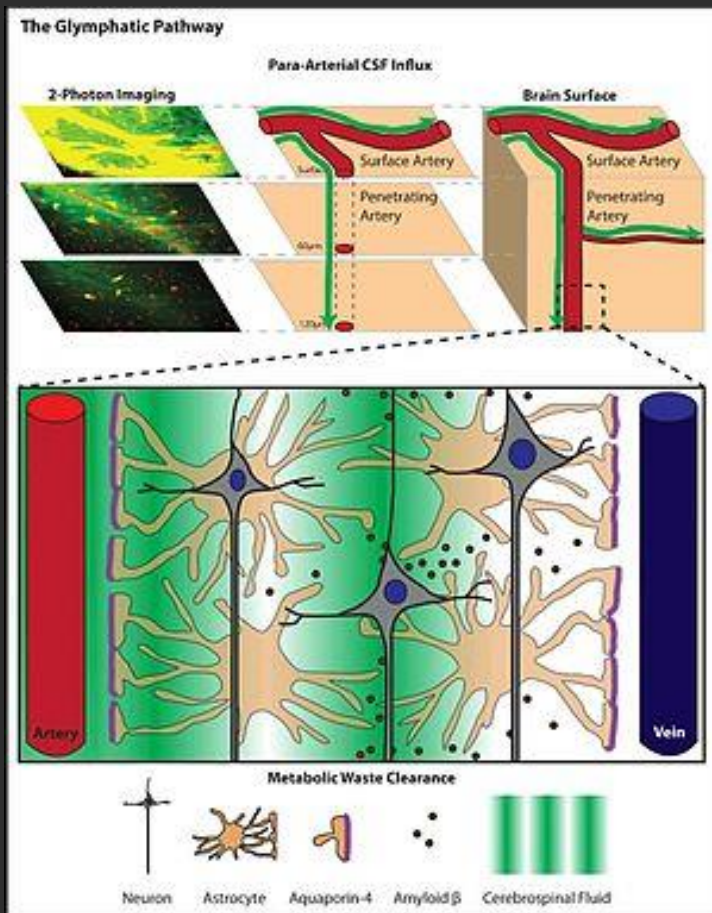
- ATP-függő
- A hidrofób vegyületek aktív kipumpálása

A Na^+ -függő transzport rendszerek:

- A nem-esszenciális és a toxikus AAs eltávolítása,
- Minden más aminosav optimális koncentrációjának fenntartása.



Anyagcsere-végtermékek eltávolítás: alternatív útvonal: a „glymphatic system”

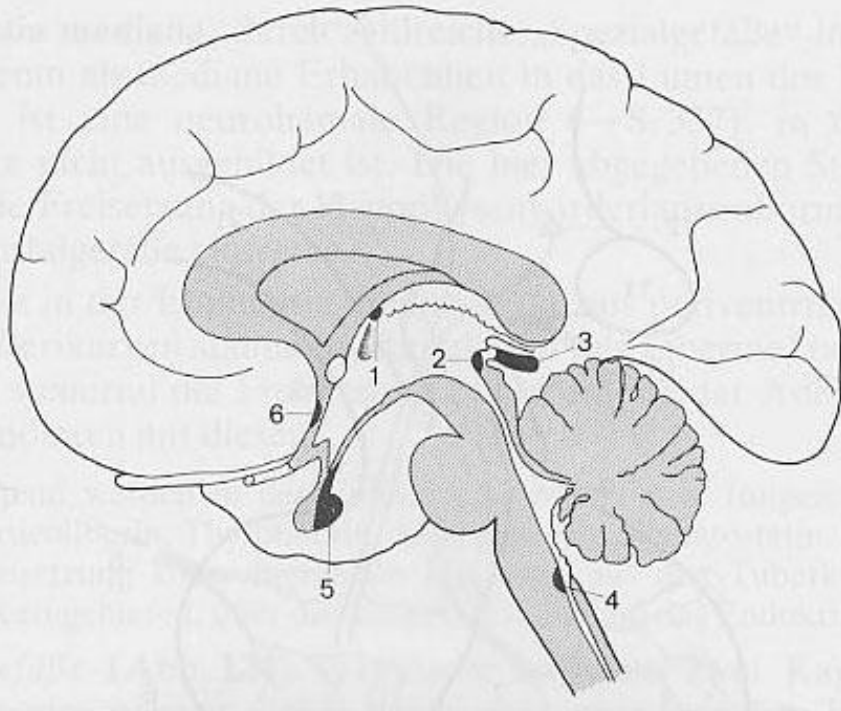


Az enzimatis barrier

Enzimatis barrier: neuroaktív anyagok lebontása
(*: általánosan elfogadott BBB marker)

Enzim	Funkció
Alkalin-foszfataz*	Purin és pirimidin metabolizmus
Monoamin-oxidáz	Katekolaminok inaktiválása
Amino-peptidáz A	Angiotenzin metabolizmus
Endopeptidáz	Neuropeptidek lebontása (pl. bradikinin, dinorfin, neurotenzin)
γ -glutamil-transzpeptidáz*	Leukotrién C4 \rightarrow D4 átalakítás

Vér-agy gát mentes agyterületek



Circumventrikuláris szervek:

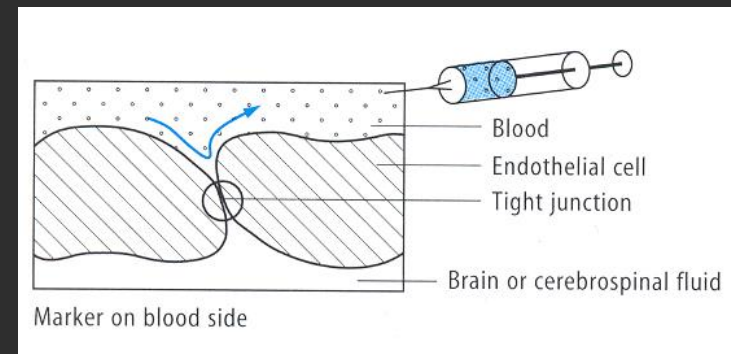
- Tobozmirigy (glandula pinealis) (3)
- Eminentia mediana
- Neurohypophysis (5)
- Subfornicalis szerv (1)
- Subcomissuralis szerv (2)
- Area postrema (4)
- Organum vasculosum (lamina terminalis) (6)
- Plexus choroideus

Feladatuk:

- Hormontermelés
- Szenzoros funkció
- A cerebrospinális folyadék termelése

A vér-agy gát funkciójának vizsgálata

- Kísérletes állatmodellek
- Evans-kék infúzió: nagy molekulású fehérjék (60-70 kDa) extravazációjának jelölése
- Na⁺-fluorescin: kis molekulású fehérjék (0,3-0,4 kDa) extravazációjának jelölése
- Makroszkópos megfigyelés: az egyszövet jelölődik – kvalitatív analízis
- Spektroszkópia: kvantitatív analízis



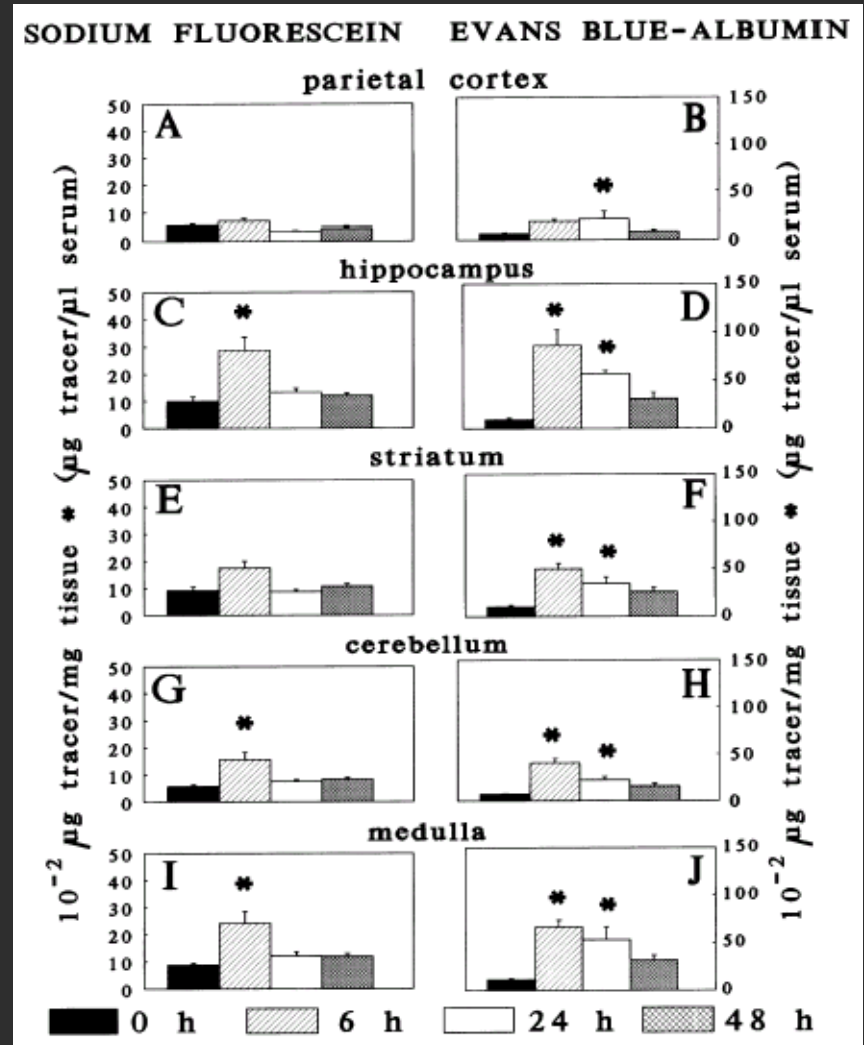
A vér-agy gát sérülésének vizsgálata



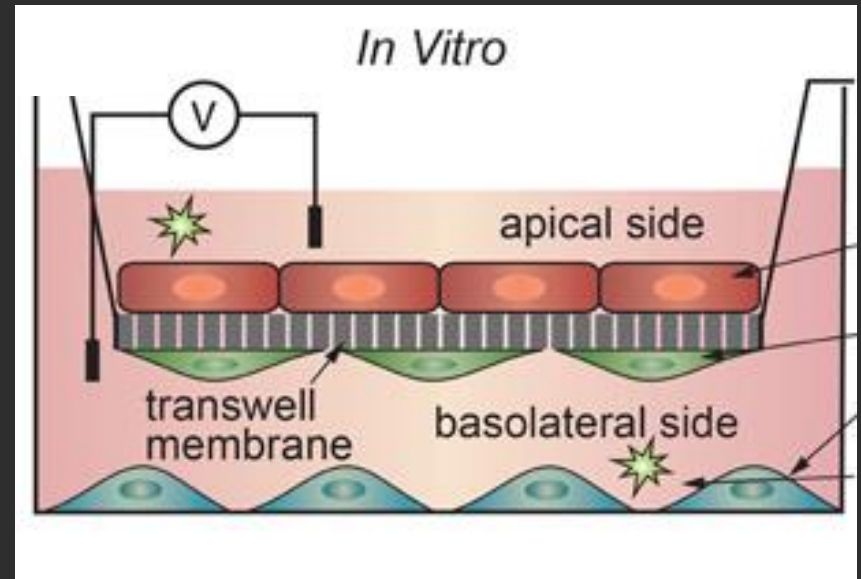
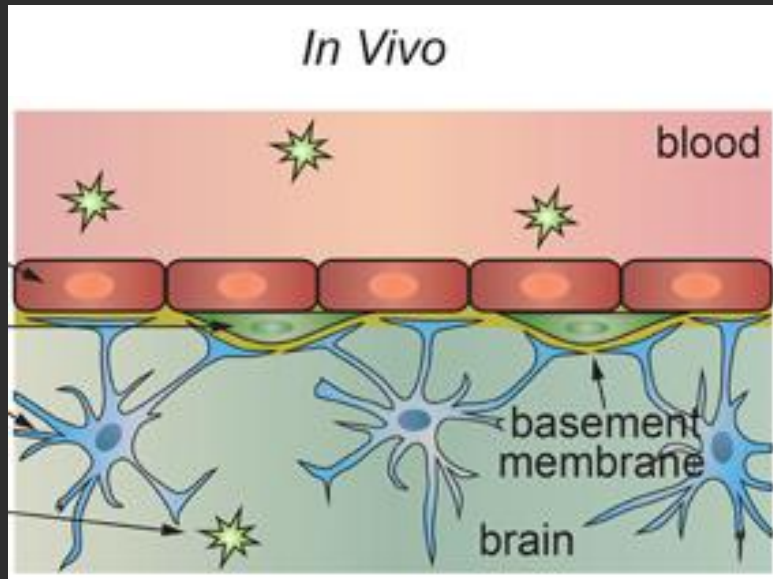
A

Farkas IG et al.,
Acta Histochem, 2003

Farkas G. et al., Neurosci Lett, 1998



Mesterséges vér-agy gát modellek

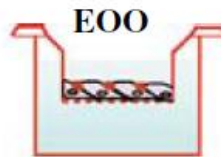


Wong et al., Front Neuroeng, 2013

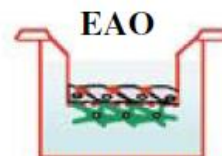
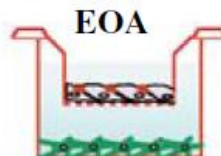


Mesterséges vér-agy gát modellek

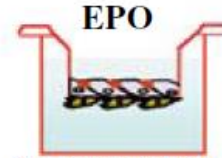
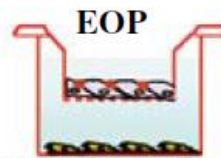
Monokultúra:
endothelsejtek



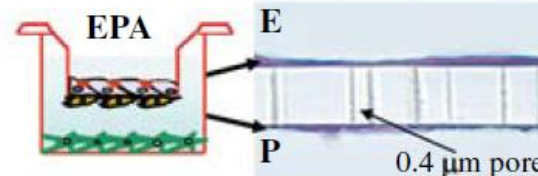
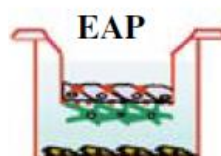
Kétsejtes ko-kultúra:
- asztrocitákkal







- pericitákkal



Háromsejtes ko-kultúra:
pericitákkal és
asztrocitákkal



 endothelsejt (E)
  pericita (P)
  asztrocita (A)
  sejtmentes (O)

Nakagawa et al., Cell Mol Neurobiol, 2007

A vér-agy gát funkció sérülése: átjárhatóság fokozódása

Gyulladásos folyamatok

- Zárt koponyasérülés
- Stroke

A vér-agy gát gyulladással összefüggő megnyílásának következményei

Előnyös:

- Pathogének és az elhalt szöveti elemek eltakarítása

Káros:

- Életképes szöveti elemek sérülése
- Ödéma kialakulása, mely csökkenti az agyi vérátáramlást, és az érfalon keresztül zajló transzportot
- Toxikus metabolitok is bejuthatnak az agyba

A vér-agy gát megnyílása

Paracelluláris:
tight junction-ok
meglazulása

Transzcelluláris:
Pinocitikus transzport

vér

endothél

agy



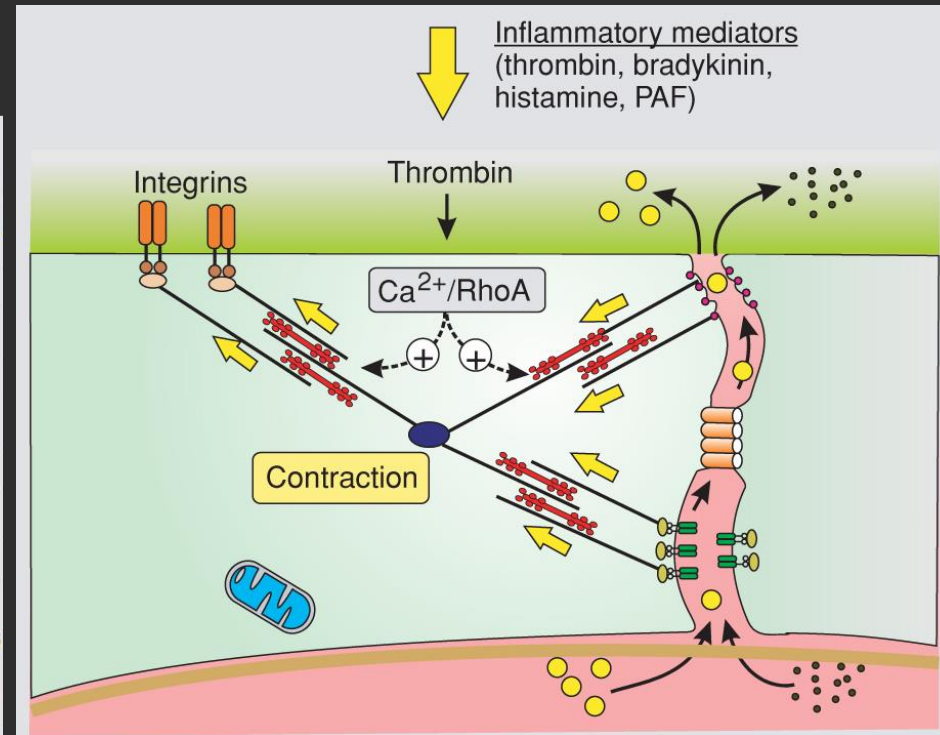
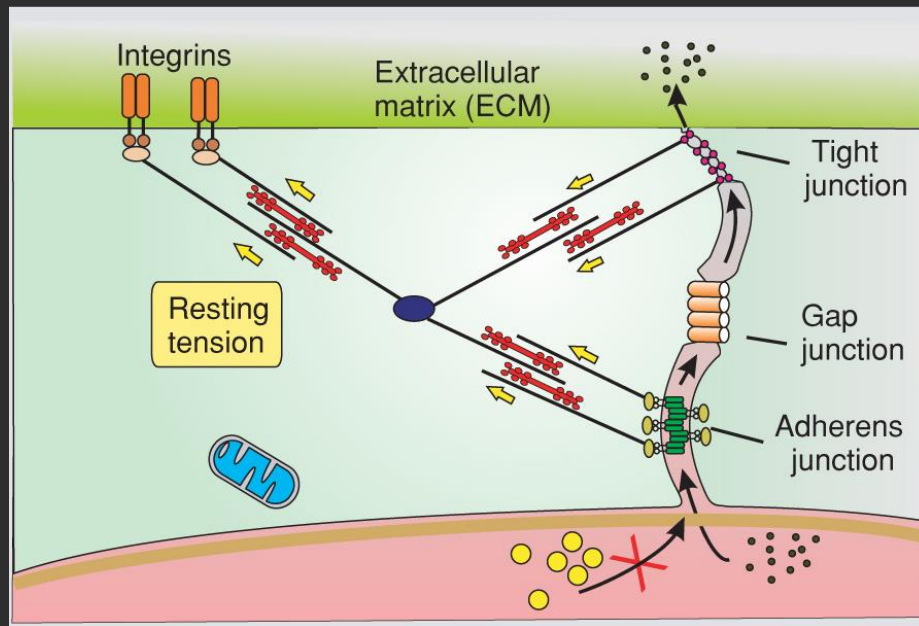
Pl. gyulladás, ischemia, trauma

A barrier funkció sérülése

A megnyílás módja	A megnyílás feltétele/betegségek	Mediátorok
Tight junction-ok meglazulása	Hyperozmolaritás, savas pH, agyhártyagyulladás, sclerosis multiplex, ischaemia	TNF- α , IL- β , hisztamin, bradykinin, szerotonin, arachidonsav, stb...
Pinocytikus aktivitás	Hipertenzió, trauma, görcs, tumor	TNF- α , IL- β , hisztamin, bradykinin, szerotonin, arachidonsav, stb...
Membrán-fluiditás növekedése	Oldószerek (etanol, propanol, butanol, DMSO)	
Pórusok kialakulása	Egyes (triciklikus) antidepresszánsok (pl. chlorpromazin, nortriptylin)	

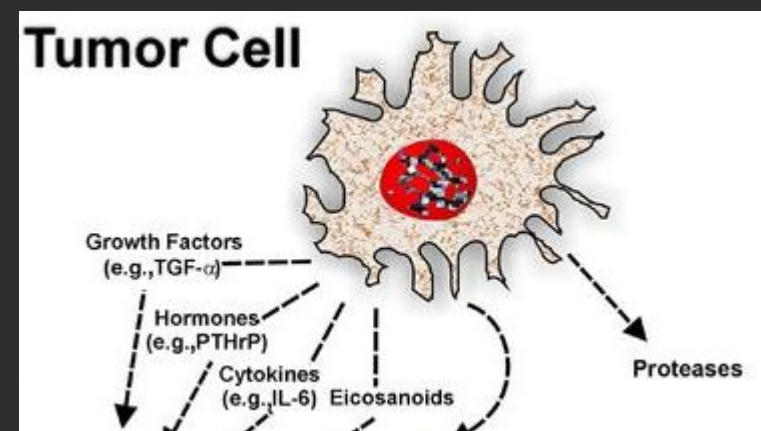
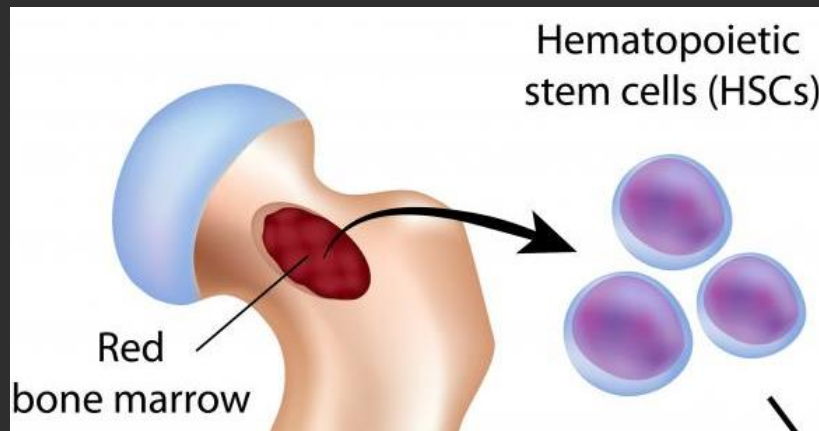
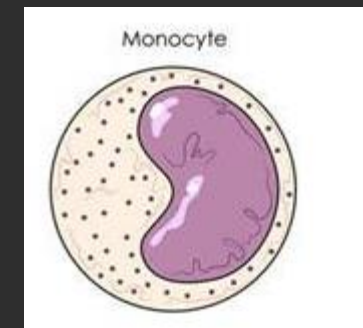
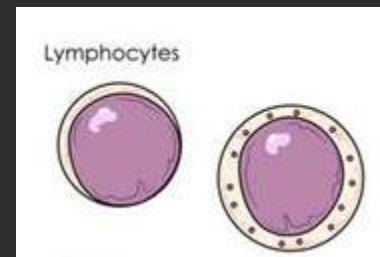
A vér-agy gátat érintő gyulladásos folyamatok

- Okok: fertőzés, trauma, necrosis (stroke)
- Pro-inflammatorikus mediátorok aktiválják a citoszkeleton kontraktilis elemeit → a sejtközötti kapcsolatok fellazulnak
- Nő a permeabilitás, lehetővé válik a paracelluláris migráció

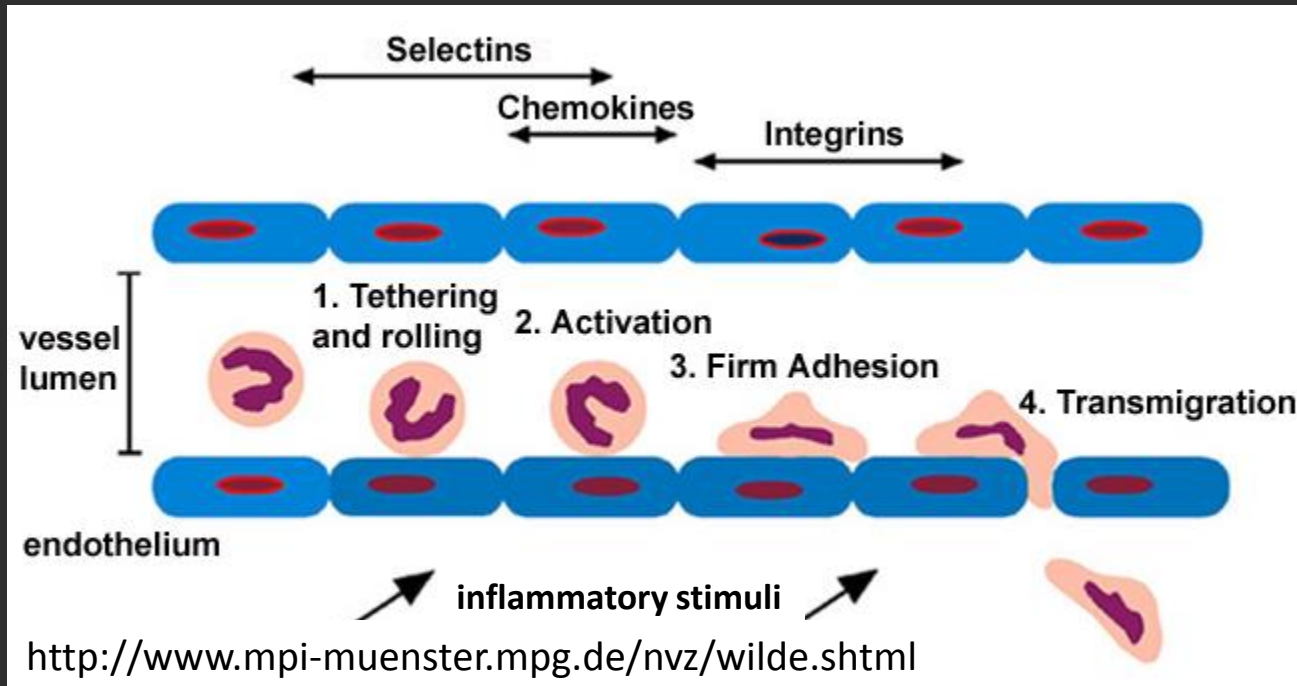


Sejtvándorlás a vér-agy gáton keresztül

- Leukociták
- Őssejtek
- Tumor sejtek

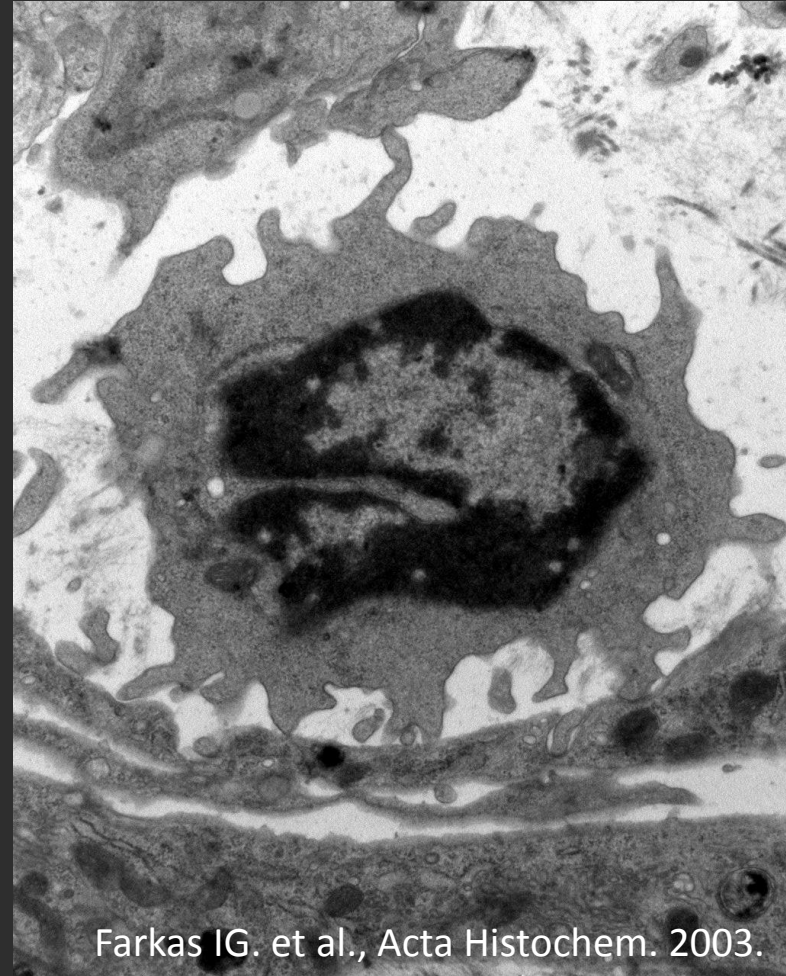
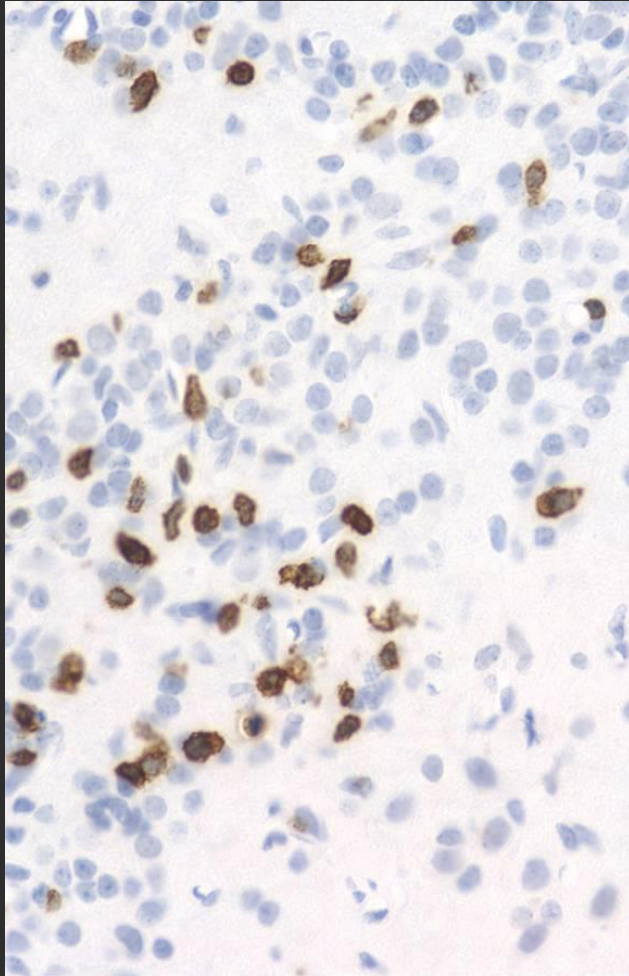


Leukociták kilépése az érpályából



- Selectin-függő kitapadás
- Chemokin-függő aktiválódás,
- Integrin-függő adhézió és alakváltozás,
- Transzmigráció

Leukociták kilépése az érpályából

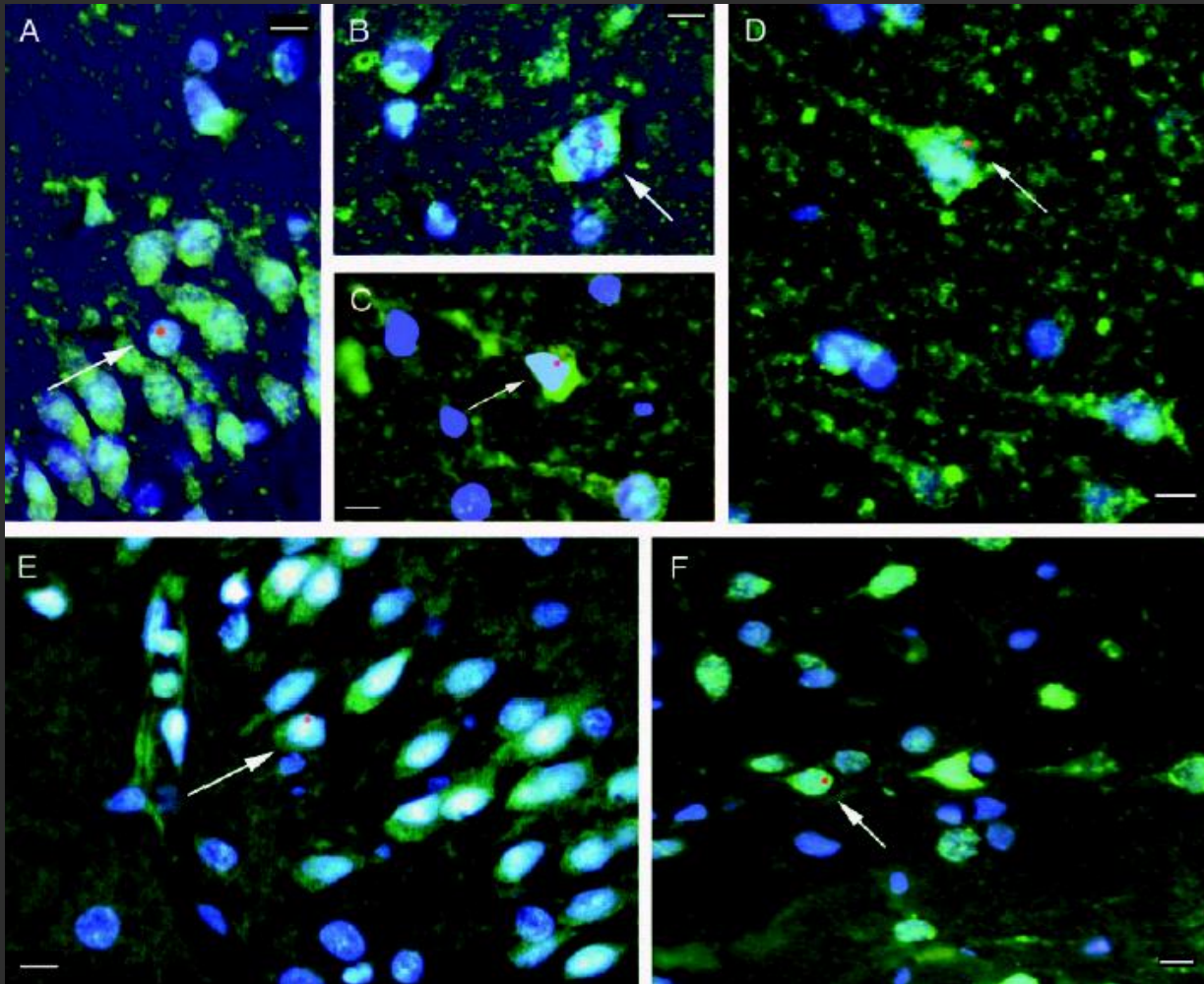


Farkas IG. et al., Acta Histochem. 2003.

Csontvelői őssejtek áramlása a vér-agy gáton keresztül

- Női, leukémiás betegek
- Csontvelőátültetés férfi rokonból
- Az agyszövet vizsgálata immuncytokémiai módszerekkel
- Y-kromoszómát tartalmazó sejtcsoportok az agyszövetben
- Nagy részük glia
- Kis hányaduk neuron (7/10 000)

Csontvelői őssejtek áramlása a vér-agy gáton keresztül



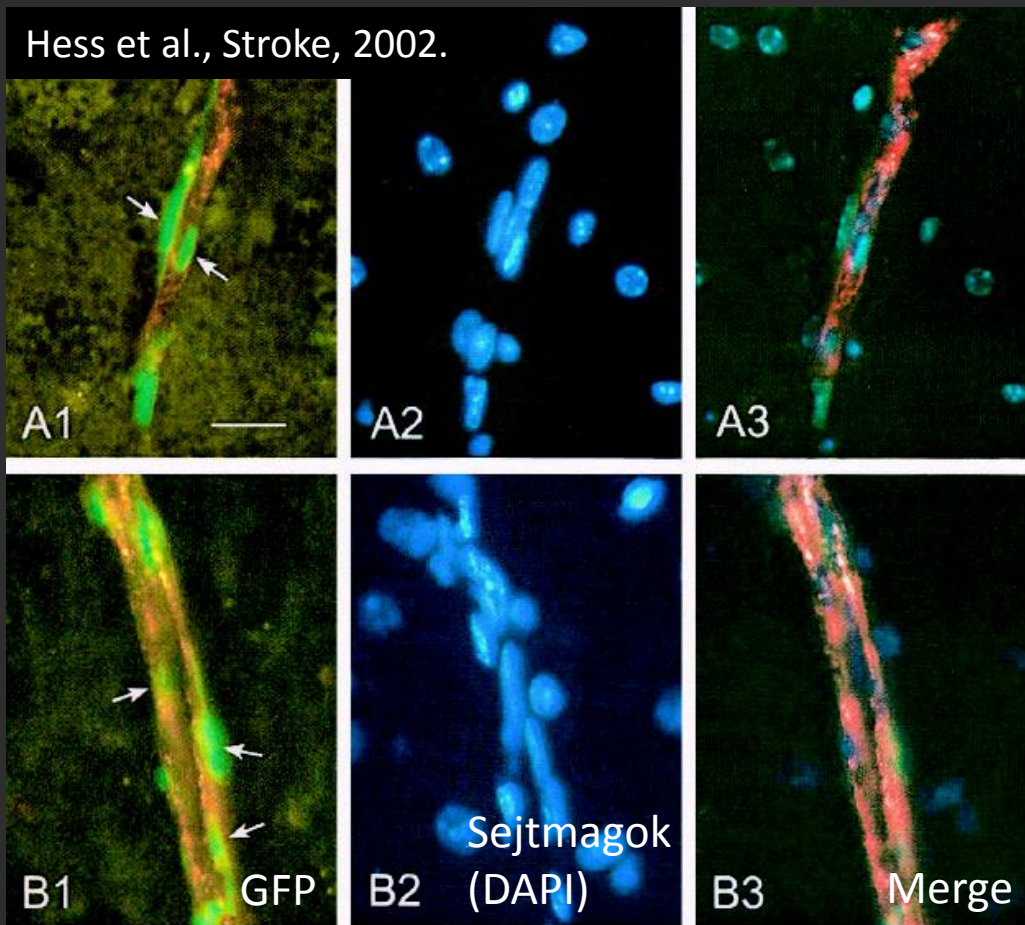
Zöld: NeuN
Kék: sejtmag
Piros: Y-kromoszóma

Csontvelői őssejtek: terápiás lehetőség stroke betegségben?

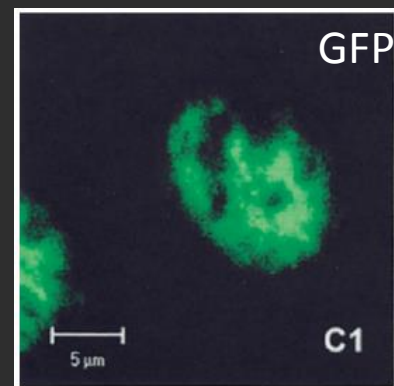
- Csontvelőátültetés hím egerekből nőstényekbe, a hím csontvelői sejtek zöld fluorescens proteint (GFP) is expresszálnak
- A. cerebri media oklúzió → stroke
- Az agyszövet szövettani vizsgálata: GFP és Y-kromoszóma jelölése
- Jelölt sejtek beépülve az agyi erek endotheljébe
- Jelölt, neuron tulajdonságú sejtek megjelenése az agyszövetben

Csontvelői őssejtek: terápiás lehetőség betegségben?

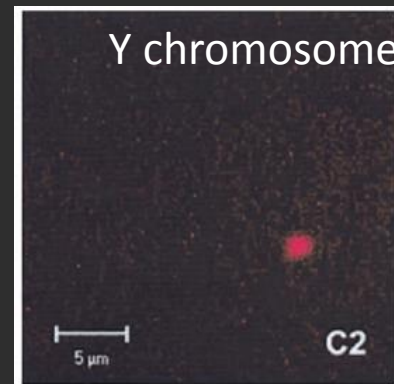
Hess et al., Stroke, 2002.



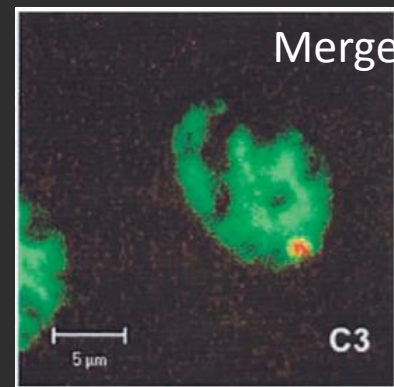
Neuronok



Y chromosome

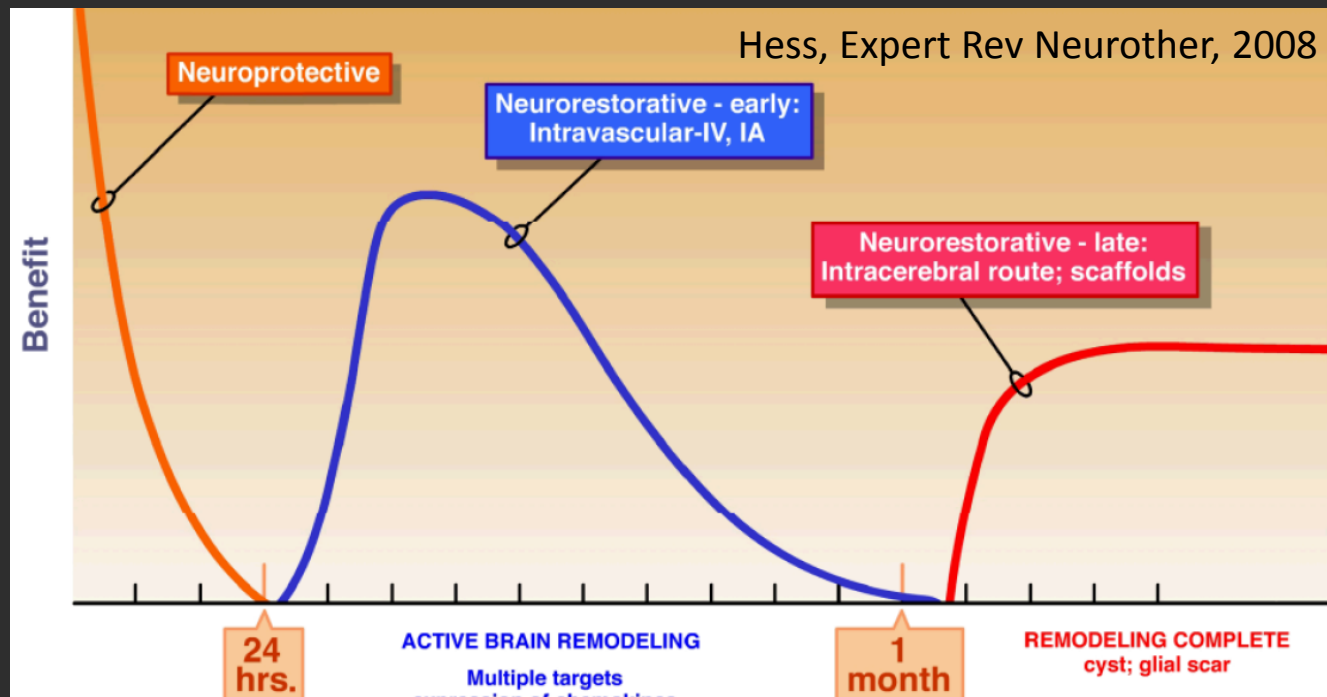


Endothel-
sejtek

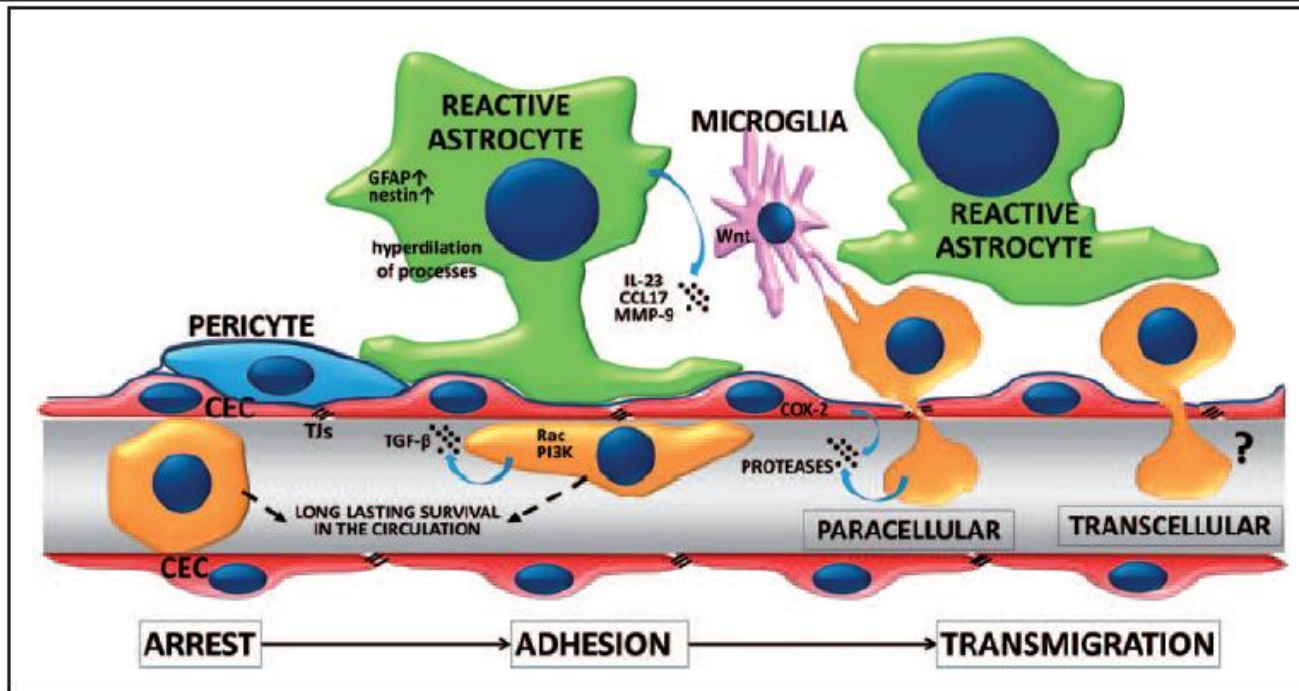


Csontvelői őssejtek: terápiás lehetőség stroke betegségben?

- Megújulási folyamatokra koncentrál
- A neuroprotektív kezelésekhez képest hosszabb terápiás ablak (a stroke-ot követő egy hétben)



Tumor sejtek kivándorlása



MMPs
↓
BM
TJ
Glycocalyx

Figure 1. Extravasation of tumor cells through the BBB. Successful metastasis formation is dependent on arrest of tumor cells in the microvessels, followed by the adhesion and transmigration step. Extravasating tumor cells survive for days in the capillary lumen before transmigration is completed. During this process, tumor cells activate the Rac and PI3K signaling pathways and release TGF- β and proteases. CECs may also enhance transendothelial migration of metastatic cells through activation of COX-2 and secretion of MMP-2. Reactive astrocytes and microglia are recruited at initial steps of extravasation. Astrocytes may secrete cytokines, chemokines and proteases to enhance transendothelial migration of tumor cells. Microglia may also enhance invasion of the brain serving as transporters for malignant cells.

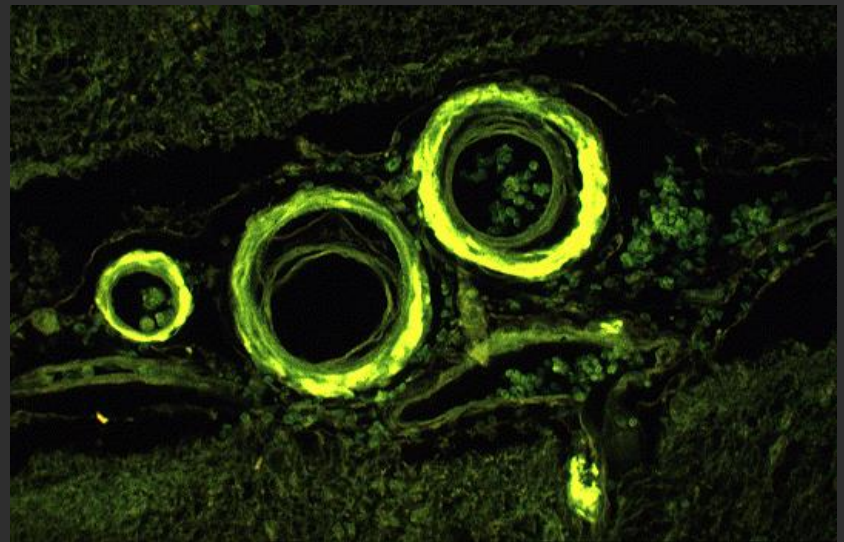
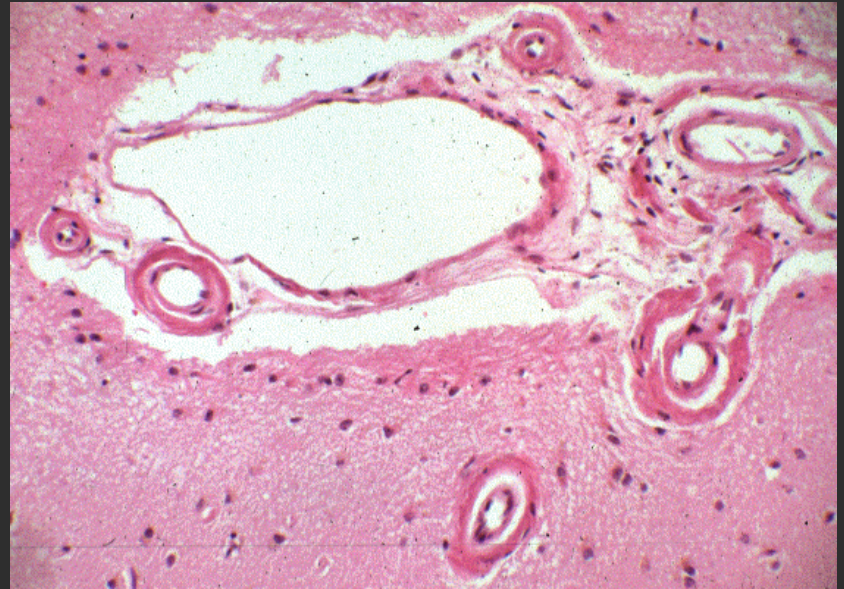
Wilhelm et al., JCBFM, 2017

A vér-agy gát funkció sérülése: átjárhatóság gyengülése

- Amyloid angiopátia – Alzheimer-kór
- Bazális membrán megvastagodása – öregedés, neurodegeneratív betegségek, hipertenzió
- (Atherosclerosis) - hipertenzió

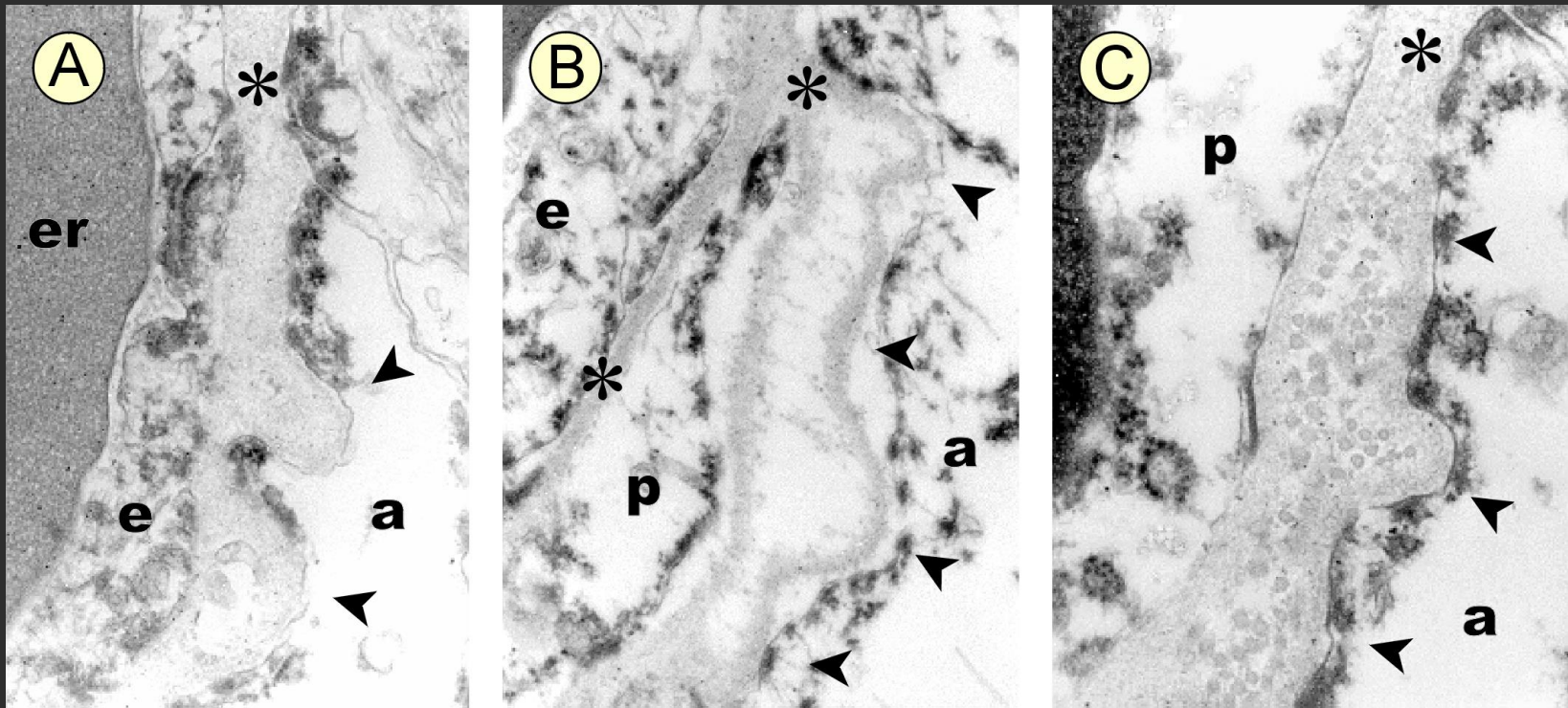
Amyloid angiopátia

- Amyloid prekursor protein: rossz hasítás → β -amyloid peptid
- Lerakódás az érfalakba
- Kettős gyűrű: a t. intima & media között jelentkezik
- Alzheimer-kór



A bazális membrán megvastagodása

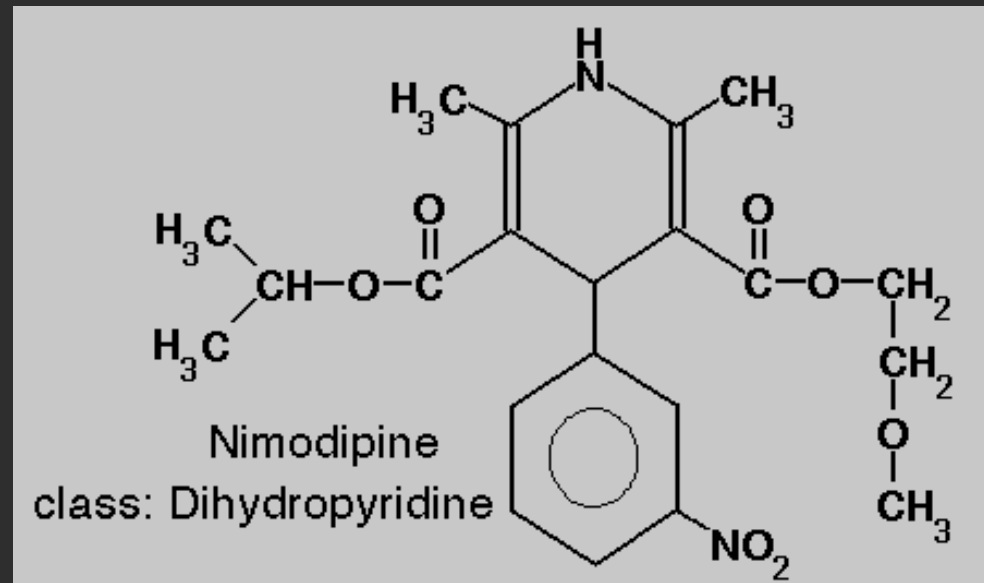
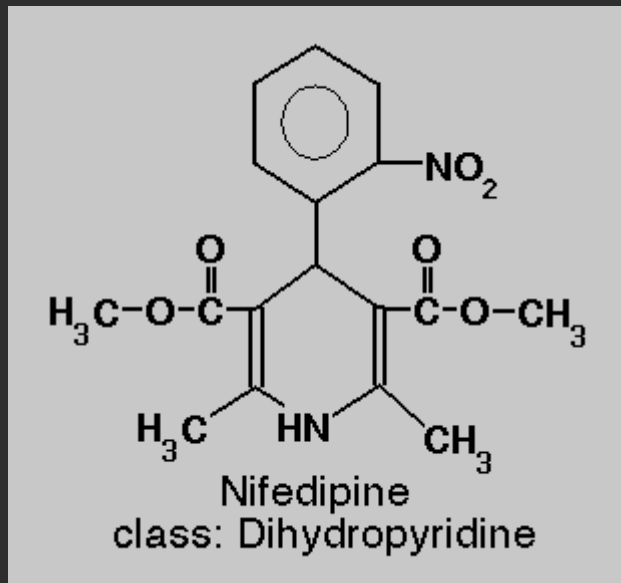
- Öregedés, demencia, hipertenzió
- Gátolt transzport



Gyógyszerek és a vér-agy gát

- A vér-agy gát akadályozza a gyógyszerek bejutását az agyba
- Központi idegrendszeri megbetegedések kezelésénél probléma
- Megoldások:
 - A vér-agy gát átmeneti megnyitása
 - Anyagok „becsomagolása”
 - Az orrüregből a szaglórostok mentén, a vér-agy gát megkerülésével bejuthatnak anyagok az agyba, DE: veszélyes lehet (pl. orrcseppek hatóanyaga nagy dózisban károsíthatja az agyat)

A zsírdékonyság növelése



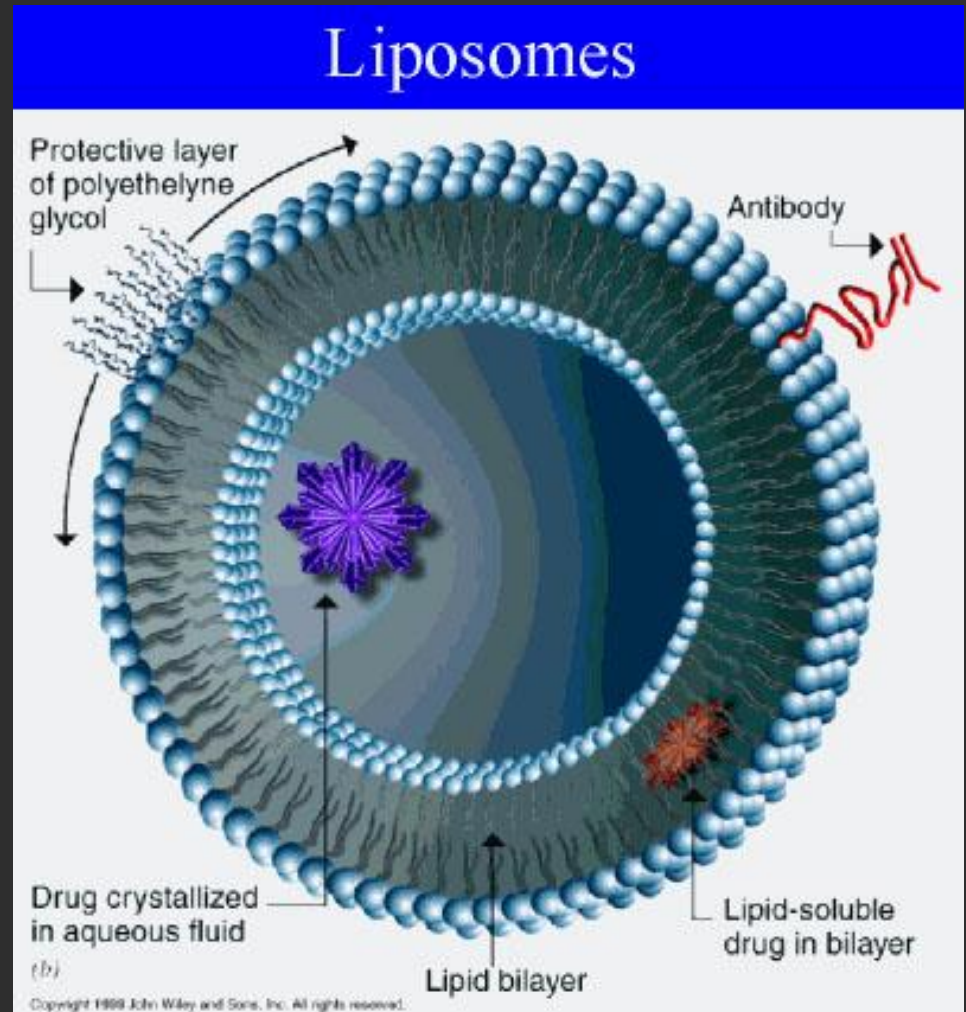
- Dihidropiridinek: Ca²⁺ csatorna blokkolók
- Hypertenzió kezelésére
- Lipidoldékonyabb vegyület: stroke kezelése

Ozmótikus vér-agy gát megnyitás

- Hiperozmótikus anyagok intra-carotikus infúziója (pl. mannitol)
- Az endothelsejtek átmeneti zsugorodása → tight junction-ok megnyílása
- Meghatározó tényezők:
 - Az infúzió hossza
 - Az anyag ozmolaritása
- Élettani paraméterek befolyásolják:
 - Vérgáz koncentráció
 - Perctérfogat
- Terápiás cél: pl. agyi tumorok kezelése kemoterápiával

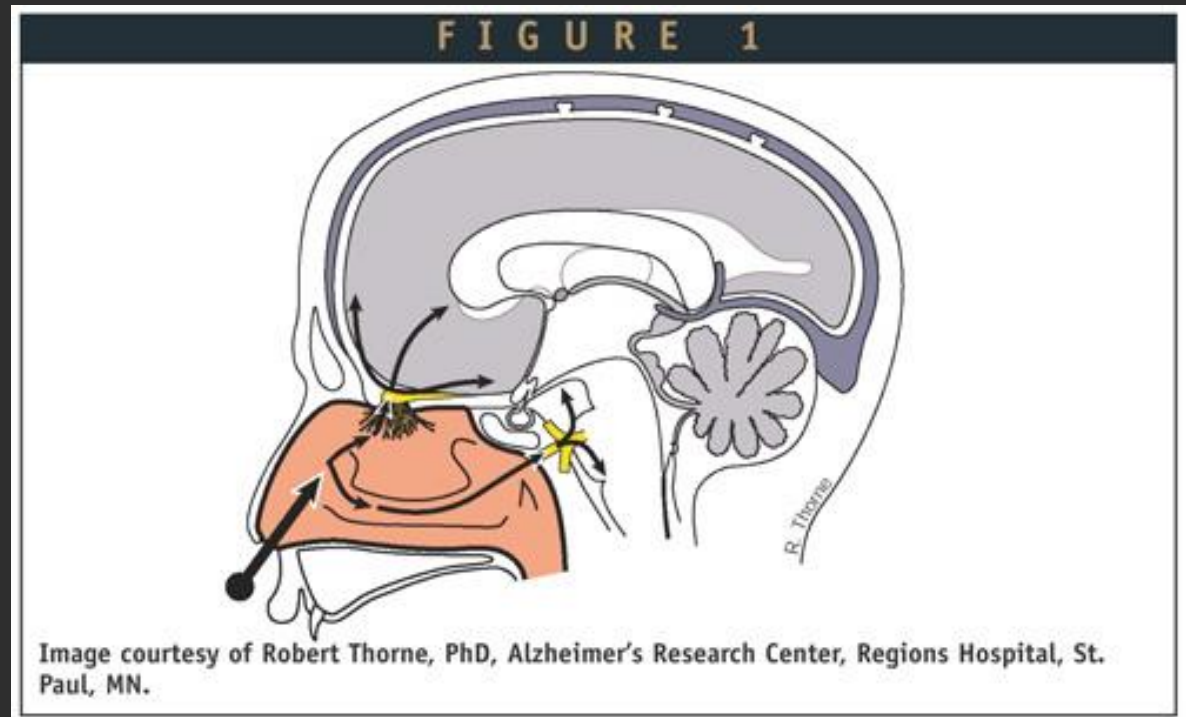
Liposzómák alkalmazása

- 40 éve ismert (Bangham)
- Kicsi, mesterséges foszfolipid vezikulák
- Gyógyszerek célbajuttatására
- Stroke kezelésében: pl. SOD bejuttatása



Intranazális kezelési lehetőségek

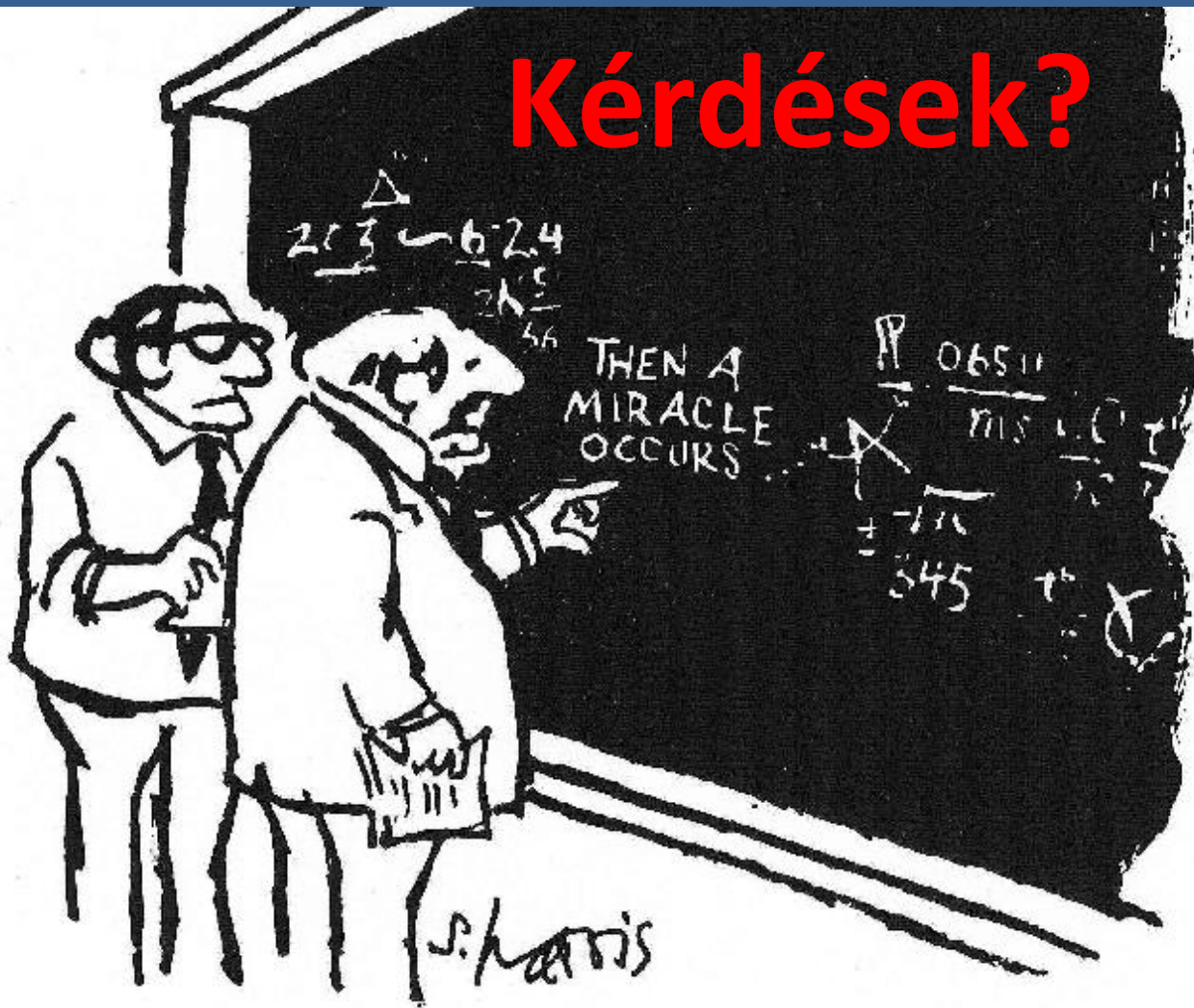
- Szenzoros idegvégződések:
 - n. olfactorius
 - n. trigeminalis
- Non-invazív terápiás lehetőség
- NGF, IGF, FGF



Bejutás módja:

- Intraneuronális: axonális transport, órák-napok → célzott agyterület
- Extraneuronális: perineuronális, percek alatt → agyi parenchima, CSF

Kérdések?



"I think you should be more explicit here in step two."