

# Rola bariery krew–płyn mózgowo-rdzeniowy i bariery krew–mózg w utrzymaniu homeostazy ośrodkowego układu nerwowego

Olga M. Koper-Lenkiewicz<sup>1</sup>, Joanna Kamińska<sup>1</sup>, Sylwia Lewoniewska<sup>2</sup>, Ewelina Wilińska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

<sup>2</sup>Koło Naukowe przy Zakładzie Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

## STRESZCZENIE

Za utrzymanie homeostazy ośrodkowego układu nerwowego (OUN) odpowiadają dwie bariery — bariera krew–płyn mózgowo-rdzeniowy (BCSFB, *blood–cerebrospinal fluid barrier*) oraz bariera krew–mózg (BBB, *blood brain barrier*). Czynniciowo BCSFB ogranicza się do spłotu naczyńiówkowego i obejmuje nieliniowe oddziaływanie między dyfuzją białek z krwi do CSF a tempem jego przepływu, co wpływa na końcowe stężenie białka całkowitego w CSF. Bariera krew–mózg, w odróżnieniu od BCSFB, jest fizyczną barierą o ściślejszej lokalizacji między krwią a tkanką nerwową. Jej podstawowymi elementami strukturalnymi są komórki endotelialne naczyń włosowatych mózgu, astrocyty i pericyty. Składowe BBB, oprócz roli budulcowej, mają również znaczenie biochemiczne oraz metaboliczne. W dostępnej literaturze niewiele jest pozycji piśmiennictwa poświęconych zagadnieniu BCSFB. Zdecydowanie częściej przedmiotem analizy pozostaje BBB. Zdarza się także, że wspomniane bariery są mylone lub ich pojęcia stosowane zamiennie. Dlatego celem niniejszej pracy jest przedstawienie szczegółowych informacji na temat obu barier, które zapewniają prawidłowe funkcjonowanie OUN.

*Polski Przegląd Neurologiczny 2018; 14 (4): 200–208*

**Słowa kluczowe:** bariera krew–płyn mózgowo-rdzeniowy, bariera krew–mózg, płyn mózgowo-rdzeniowy

## Płyn mózgowo-rdzeniowy

Płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF, *cerebrospinal fluid*) pełni istotną rolę w zachowaniu homeostazy ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Utrzymanie odpowiedniej objętości i składu CSF jest niezbędne do zapewnienia optymalnych warunków funkcjonowania neuronów [1].

Płyn mózgowo-rdzeniowy jest wodojasną, przejrzystą cieczą wypełniającą komory mózgu, przestrzeń podpajęczynówkową, a także kanał środkowy rdzenia kręgowego. Szacuje się, że dzienna produkcja płynu wynosi około 500 ml, natomiast objętość krążącego płynu u dorosłego człowieka wynosi około 150 ml. W związku z tym całkowita wymiana płynu mózgowo-rdzeniowego zachodzi 3–4 razy/dobę [2].

Pierwsze wzmianki o CSF sięgają już czasów starożytnych; po raz pierwszy obecność CSF odnotowano w tak zwanym Papirusie Edwina Smitha pochodzącym z XVII w p.n.e. Kilkanaście wieków później grecki lekarz Hipokrates opisał wodogłowie wrodzone jako stan, w którym „woda otacza mózg”. Z kolei Galen określił tajemniczą ciecz obecną w komorach mózgu pacjenta jako „płyn ekstremalny”, który pojawił się wskutek wciągnięcia przez nos [3]. Warto zwrócić uwagę na ówczesną technikę autopsji, która charakteryzowała się obcinaniem głowy, doprowadzając tym samym do utraty CSF. Takie postępowanie sprawiło, że przez długi czas CSF nie był podstawą naukowych rozważań. Dopiero w latach 1741–1744 szwedzki naukowiec, Emanuel Swedenborg, określił

## Adres do korespondencji:

dr n. med. Olga M. Koper-Lenkiewicz  
Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. Waszyngtona 15A, 15-269 Białystok  
tel./faks 85 746 85 84  
e-mail: o.koper@wp.pl  
*Polski Przegląd Neurologiczny 2018; 14 (4): 200–208*  
Wydawca: VM Media sp. z o.o. VM Group sp.k.  
Copyright © 2018 Via Medica

CSF jako „chłonkę spirytualną” wydzielaną ze sklepienia IV komory do rdzenia przedłużonego i rdzenia kręgowego. W 1747 roku Albrecht von Haller uznał, że „woda” w mózgu jest wydzielana do komór i wchłaniana do naczyń żylnych oraz że jej nadmiar stanowi przyczynę wodogłowa. Thomas Willis wysnuł z kolei wniosek, że w przebiegu pewnych stanów patologicznych, takich jak zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, konsystencja płynu ulega zmianie. Henrich Quinckie w 1891 roku wprowadził technikę punkcji lędźwiowej do celów diagnostycznych i terapeutycznych. Opis chemicznych składników CSF w 1912 roku przedstawił William Mestrezat, natomiast dwa lata później Harvey W. Cushing dowiódł, że CSF jest wytwarzany przez spłot naczyńiówkowy [3].

### Wytwarzanie płynu mózgowo-rdzeniowego

Obecnie wiadomo, że głównym miejscem produkcji CSF są spłoty naczyńiówkowe komór bocznych mózgu, niewielka ilość jest także wytwarzana przez tkankę wyściełającą komory mózgu i przestrzeń podpajęczynówkową [4]. Powstały CSF z komór bocznych przemieszcza się przez otwór Monroe do komory III, następnie przez wodociąg Sylwiusza do komory IV, by z kolei poprzez otwór Magendiego i dwoma otworami bocznymi Luscki przedostać się do przestrzeni podpajęczynówkowej mózgowia oraz kanału rdzenia kręgowego. Płyn mózgowo-rdzeniowy ulega wchłanianiu przez ziarnistości pajęczynówki do zatok żylnych opony twardej, a następnie do krwi [2].

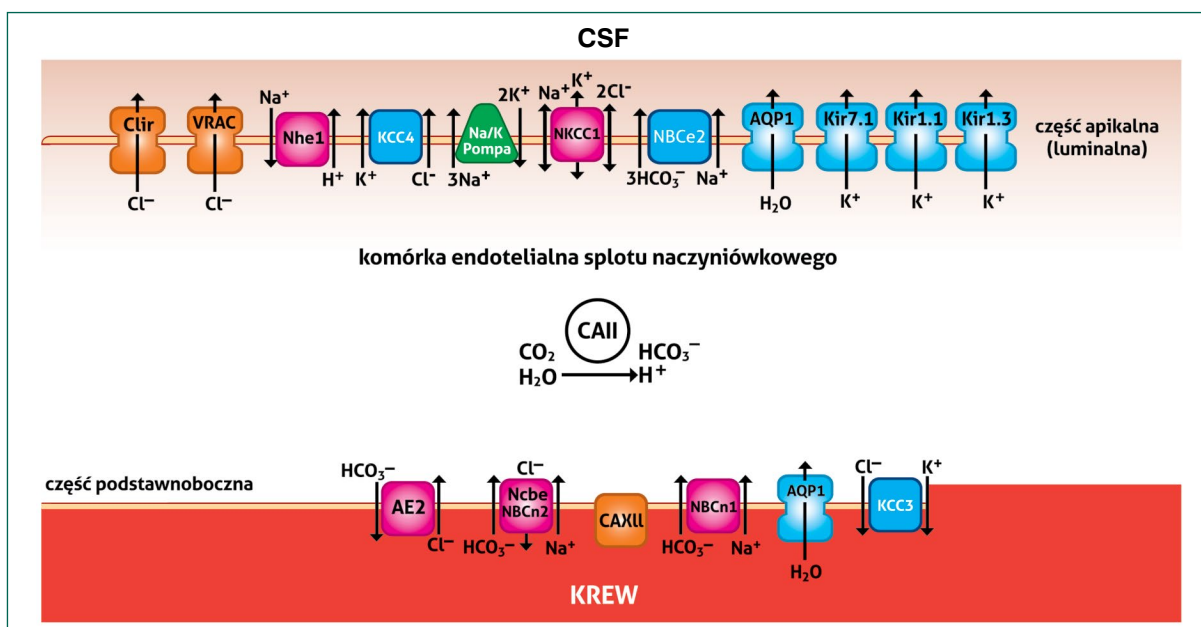
Powstawanie CSF nie polega na prostym ultraprzęsaczeniu osocza; mechanizm jego wytwarzania jest bardziej złożony. Dlatego jego skład jest odmienny od składu osocza [5]. Pierwszym etapem wytwarzania CSF jest filtracja osocza z naczyń krwionośnych miąższu spłotu naczyńiówkowego, uwarunkowana gradientem ciśnienia osmotycznego. Następnie dochodzi do aktywnego transportu jonów z udziałem białek transportowych błony komórek nabłonkowych spłotu naczyńiówkowego [5].

Komórki nabłonkowe spłotu naczyńiówkowego stanowią w pewnym stopniu składową bariery krew–płyn mózgowo-rdzeniowy (BCSFB, *blood–cerebrospinal fluid barrier*). Wspomniane komórki są ze sobą powiązane za pomocą charakterystycznych połączeń międzykomórkowych typu *tight junction* (tzw. ściśle złącza). Zapobiega to swobodnemu przenikaniu cząsteczek do powstającego CSF. Komórki nabłonkowe spłotu na-

czyniówkowego wyróżniają się także obecnością w błonie wielu systemów transportowych umożliwiających przechodzenie jonów i składników odżywczych do CSF, jak również eliminowania z CSF szkodliwych składników pochodzących z układu nerwowego [6].

Białka transportowe NBCn1 i Ncbe, obecne w części podstawno-bocznej komórek endotelialnych spłotu naczyńiówkowego, umożliwiają transport jonów sodowych ( $\text{Na}^+$ ) i wodorowęglanowych ( $\text{HCO}_3^-$ ) do wnętrza komórki. W procesie wytwarzania CSF istotną rolę odgrywa anhidraza węglanowa (CA, *carbonic anhydrase*), która katalizuje reakcję powstawania jonów wodorowych ( $\text{H}^+$ ) i  $\text{HCO}_3^-$  z dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ) i wody ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Powstające jony  $\text{H}^+$  opuszczają wnętrze komórki poprzez wymianę z jonami  $\text{Na}^+$  (kanał jonowy Nhe1). Transport jonów chlorkowych do wnętrza komórki odbywa się na zasadzie antyportu z jonami  $\text{HCO}_3^-$  przy udziale białka AE2. Nagromadzone we wnętrzu komórki jony, dzięki obecności białek transportowych na biegunie luminalnym komórki, przemieszczają się następnie do CSF wypełniającego komory. Transport jonów  $\text{Na}^+$  odbywa się z udziałem pompy sodowo-potasowej oraz kanałów jonowych NKCC1 i NBCe2, natomiast transport jonów chlorkowych ( $\text{Cl}^-$ ) zachodzi przy udziale NKCC1, KCC4, VRAC i Clir. W przenikaniu jonów  $\text{HCO}_3^-$  do płynu pośredniczy NBCe2. Transport jonów potasu ( $\text{K}^+$ ) odbywa się przy udziale pompy sodowo-potasowej, a także kanałów Kir, KCC4 i NKCC1. Natomiast we wchłanianiu jonów  $\text{Cl}^-$  i  $\text{K}^+$  z wnętrza komórki do krwi istotne znaczenie przypisuje się białku KCC3 części podstawno-bocznej błony. Transport jonów do tworzącego się CSF warunkuje powstawanie gradientu ciśnienia osmotycznego, co umożliwia transport wody, który odbywa się z udziałem akwaporyny 1 (AQP1) tworzącej kanały w błonie komórek nabłonkowych spłotu (ryc. 1) [1, 5, 7].

Transport białek do CSF odbywa się na zasadzie dyfuzji uwarunkowanej wielkością cząsteczki [8]. Przeważającą część białek obecnych w CSF stanowi albumina pochodząca z krwi, pewna część białka pochodzi również z OUN, o czym świadczy osiągnięcie wyższego stężenia tych białek w CSF w porównaniu z krwią. W tej grupie wyróżnia się między innymi transtyretynę, a także enolazę neuronospecyficzną, należy jednak zaznaczyć, że w pewnym stopniu ich synteza odbywa się również w innych komórkach organizmu [9]. Składnikiem CSF należącym do związków organicznych jest także glukoza, transportowana przy



**Rycina 1.** Transport jonów i wody przez komórki endotelialne spłotu naczyniówkowego; CSF (*cerebrospinal fluid*) — płyn mózgowo-rdzeniowy; CAII (*carbonic anhydrase II*) — anhidraza węglanowa II

udziale transportera glukozy 1 (GLUT-1) będącego glikoproteiną błonową komórek stanowiących komponentę BCSFB [10].

### Bariera krew–płyn mózgowo-rdzeniowy

W celu zapewnienia warunków prawidłowego funkcjonowania neuronów istotne jest utrzymanie homeostazy OUN. Zapewnia to obecność dwóch barier, tj. bariery krew–mózg (BBB, *blood brain barrier*) oraz BCSFB, dzięki którym OUN jest w pewnym stopniu odizolowany od środowiska krwi, które charakteryzuje się stosunkowo dużą dynamiką zmian [11].

W dostępnej literaturze niewiele jest pozycji piśmiennictwa, w których opisano zagadnienie BCSFB [6, 9, 11–14]. Zdecydowanie częściej przedmiotem analizy pozostaje BBB [7, 15–19].

Bariera krew–płyn mózgowo-rdzeniowy czynnościowo ogranicza się do spłotu naczyniówkowego, który — jak wcześniej wspomniano — pełni istotną rolę w wytwarzaniu CSF. W skład spłotu naczyniówkowego wchodzi naczynia krwionośne, miąższ spłotu, a także sześciennic komórki nabłonkowe. Naczynia włosowate, będące składową spłotu naczyniówkowego, swoją budową różnią się od innych naczyń krwionośnych OUN, gdyż ich śródbłonek ma budowę okienkową, co warunkuje swobodne przemieszczanie się białek oraz innych składników z krwi do miąższu spłotu [20].

Mimo że BCSFB można przypisać orientacyjnie struktury anatomiczne, a w związku z tym i lokalizację, to jednak ocenia się ją w aspekcie funkcjonalnym, a nie morfologicznym. W ujęciu czynnościowym BCSFB obejmuje nieliniowe oddziaływanie między dyfuzją białek z krwi do CSF a tempem jego przepływu, co wpływa na końcowe stężenie białka całkowitego w CSF [11, 14]. Prawidłowe funkcjonowanie BCSFB jest zatem determinowane głównie szybkością przepływu CSF [9, 14]. Nieprawidłowe funkcjonowanie BCSFB może wynikać między innymi ze zmniejszonej produkcji płynu przez spłot naczyniówkowy, zaburzonego przepływu CSF w przestrzeni podpajęczynówkowej czy też ograniczonego wchłaniania CSF do krwi żyłnej przez kosmki pajęczynówki [11, 14]. W związku z tym podwyższone stężenie białka całkowitego w CSF będzie wynikać ze zwiększonej dyfuzji białek wskutek zwolnionego przepływu płynu w przestrzeni podpajęczynówkowej [9, 11]. Dysfunkcja BCSFB ma zatem charakter jedynie czynnościowy i nie wynika ze zmian strukturalnych w elementach spłotu naczyniówkowego [9, 11, 14, 21].

Przez długi czas podwyższone stężenie białka całkowitego, stwierdzone w płodowym CSF, utożsamiano z niedojrzałością BCSFB pod względem strukturalnym. Obecnie uważa się, że jest to spowodowane wzmożoną dyfuzją białek osocza

wynikającą ze spowolnionego przepływu CSF w rozwijającym się mózgu. W badaniach przeprowadzonych na zarodkach wielu gatunków zwierząt dowiedziono, że połączenia typu *tight junctions* między sąsiadującymi komórkami nabłonkowymi spłotu naczyńwłokowego są dobrze wykształcone już we wczesnym etapie rozwoju mózgu [14].

### Współczynnik albuminowy ( $Q_{Alb}$ ) jako marker bariery krew–płyn mózgowo-rdzeniowy

Zaburzenie prawidłowego funkcjonowania BCSFB występuje w wielu stanach patologicznych w obrębie OUN, między innymi zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii bakteryjnej/ wirusowej, neuroboreliozie, a także zespole Guillaina-Barrégo [14, 21]. W związku z tym jednym z elementów diagnostyki tych chorób jest ocena czynności BCSFB. Parametrem służącym do oceny funkcjonalności tej bariery jest albumina. Jedynym źródłem obecnej w CSF albuminy pozostaje krew; jej synteza odbywa się wyłącznie w wątrobie [9, 11, 20]. Podwyższone stężenie innych białek, między innymi immunoglobulin, nie powinno służyć do oceny funkcjonalności tej bariery ze względu na fakt, że mogą one być syntetyzowane wewnątrzoponowo [11]. Należy jednak zaznaczyć, że nie wszystkim chorobom neurologicznym towarzyszy dysfunkcja BCSFB, czego przykładem jest stwardnienie rozsiane [14].

Stężenie albuminy w CSF zależy od jej wartości we krwi. Dlatego w celu zwiększenia wiarygodności oceny funkcjonalności BCSFB wykorzystuje się współczynnik albuminowy ( $Q_{Alb}$ ), który wyraża stosunek stężenia albuminy w CSF do stężenia albuminy w surowicy [9, 11, 13, 22]. W celu wyliczenia  $Q_{Alb}$  należy więc poddać jednoczesnej analizie zarówno CSF, jak i surowicę krwi pacjenta pobraną maksymalnie 12 h po pozyskaniu CSF [22]. Podwyższona wartość  $Q_{Alb}$  jednoznacznie wskazuje na dysfunkcję BCSFB.

Wyliczanie  $Q_{Alb}$  niesie za sobą pewne zalety, między innymi ogranicza wpływ indywidualnych wahań stężenia albuminy w surowicy, które z kolei miałyby przełożenie na stężenie albuminy w CSF i wynikające z tego trudności interpretacyjne. Ponadto jednoczesny pomiar stężenia albuminy w CSF i w surowicy w tych samych warunkach pomiarowych ogranicza możliwość powstania błędów zależnego od zastosowanej metody pomiaru i użytych wzorców, jak również błędów precyzji między oznaczeniami [13].

Prawidłowa górna wartość odcięcia  $Q_{Alb}$  (dolna nie istnieje) nie jest stała przez całe życie, bowiem zmienia się zależnie od wieku. U noworodków obserwuje się wyższe stężenia albuminy w CSF, a co za tym idzie — wyższe wartości  $Q_{Alb}$ , co wynika z niedojrzałości kosmków pajęczynówki uczestniczących we wchłanianiu CSF do krwi. Najniższa wartość  $Q_{Alb}$  jest natomiast osiągnięta około 4. miesiąca życia, gdy dochodzi do rozwinięcia tych struktur [9]. Od tego momentu wartość  $Q_{Alb}$  stopniowo się zwiększa i około 15. roku życia oscyluje na poziomie  $5 \times 10^{-3}$ . Dlatego u dzieci poniżej 15. roku życia górny zakres  $Q_{Alb}$  określa się za pomocą wykresu przedstawiającego zależność  $Q_{Alb}$  od wieku [14]. Dla osób między 15. a 60. rokiem życia opracowano ogólny wzór pozwalający na wyliczenie górnej wartości normy  $Q_{Alb}$  zależnie od wieku pacjenta:

$$Q_{Alb} = (\text{wiek w latach}/15) + 4$$

Natomiast u osób w wieku 60 lat i starszych za górną granicę normy  $Q_{Alb}$  przyjmuje się wartość  $8 \times 10^{-3}$  [11, 14, 22].

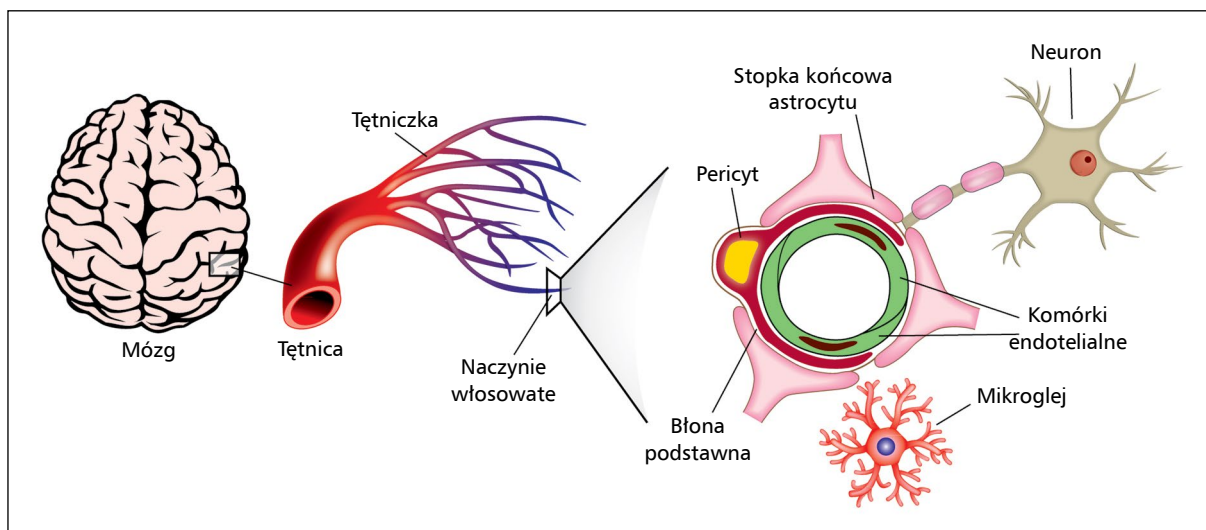
Współczynnik albuminowy stanowi także wartość odniesienia, na podstawie której, wraz z wyliczonym współczynnikiem  $Q$  dla odpowiedniej klasy przeciwciał, dokonuje się oceny wewnątrzoponowej syntezy immunoglobulin [20]. Do wizualnej oceny sprawności BCSFB i ewentualnej wewnątrzoponowej syntezy immunoglobulin służą tak zwane reibergramy [11, 14]. Jednak szczegółowe przedstawienie korzystania z reibergramów nie jest przedmiotem tego artykułu; więcej informacji Czytelnicy znajdą w odnośnej pozycji piśmiennictwa [8].

### Bariera krew–mózg

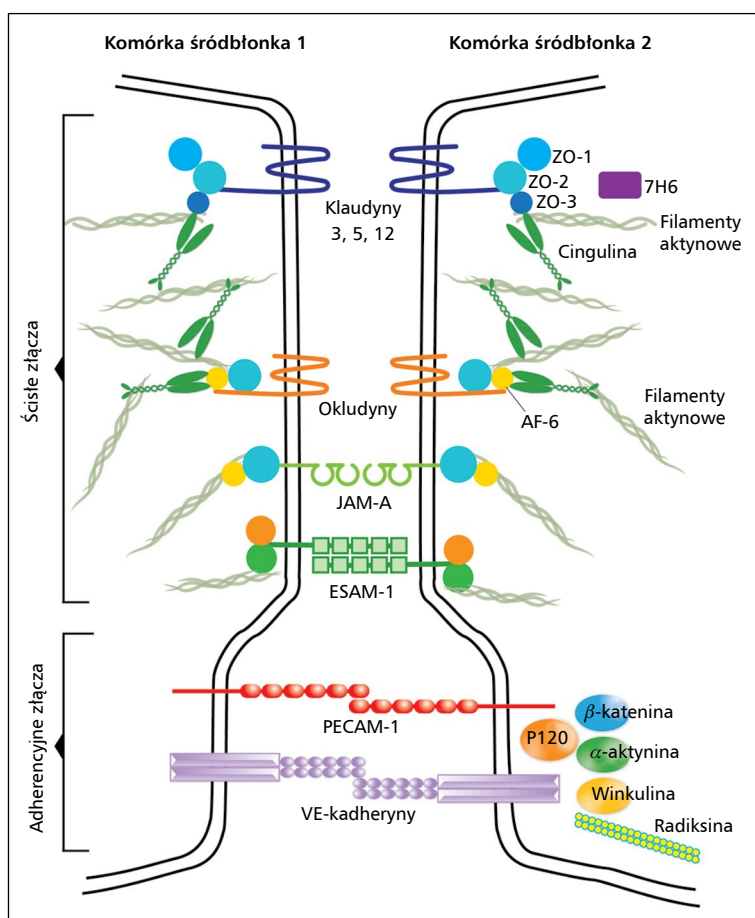
Bariera krew–mózg, w odróżnieniu od BCSFB, jest fizyczną barierą o ścisłej lokalizacji między krwią a tkanką nerwową. Jej podstawowymi elementami strukturalnymi są komórki endotelialne naczyń włosowatych mózgu, astrocyty i pericyty (ryc. 2) [6, 17]. Składowe BBB, oprócz roli budulcowej, mają również znaczenie biochemiczne oraz metaboliczne [6].

Kształtowanie BBB rozpoczyna się wtedy, gdy w układzie nerwowym powstaje siateczka naczyniowa [17]. Już podczas powstawania układu nerwowego pojawiają się pewne oddziaływania między krwią, mózgiem i CSF, które mają kluczowe znaczenie dla transportu metabolicznie ważnych





Rycina 2. Elementy strukturalne bariery krew-mózg



Rycina 3. Charakterystyka połączeń między komórkami endotelialnymi kapilar mózgu wchodzącymi w skład bariery krew-mózg; ZO — zonula occludens; JAM-A — junctional adhesion molecule; ESAM-1 (endothelial cell selective adhesion molecule) — cząsteczka adhezji komórek śródbłonna 1; PECAM-1 (platelet-endothelial cell adhesion molecule-1) — cząsteczka adhezji komórkowej płytkowo-śródbłonnkowej 1; VE-kadheryna — vascular endothelial-cadherin)

cząsteczek, takich jak glukoza, aminokwasy i hormony [14, 23]. Przyjmuje się, że około 6. miesiąca życia niemowlęcia BBB osiąga dojrzałość budowy oraz pełną funkcjonalność [24].

### Komórki endotelialne naczyń włosowatych mózgu

Pierwszą komponentę budulcową BBB stanowią komórki endotelialne naczyń włosowatych mózgu — wysoce wyspecjalizowane nabłonki płaskie wyściełające pojedynczą warstwę ściany włosniczek od wewnątrz. Od strony światła naczynia śródbłonek pokrywa warstwa glikokaliksu, zaś sam śródbłonek składa się mukopolisacharydów powiązanych z lipidami i białkami błony komórkowej [25]. Komórki endotelialne włosniczek OUN są unikatowe, gdyż charakteryzują się wieloma cechami nieobecnymi w innych komórkach endotelialnych organizmu. Do tych cech zalicza się: 1) brak fenestracji (okienek) w ścianach; 2) większą liczbę i objętość mitochondriów wskazującą na duży metabolizm energetyczny; 3) niską aktywność pinocytarną, która zapobiega przechodzeniu wielkocząsteczkowych związków organicznych z krwi do CSF; 4) obecność złącz ścisłych typu *tight junctions*; 5) selektywną przepuszczalność dla cząsteczek o odpowiedniej masie i lipofilności [6, 16, 19, 26]. Do markerów służących identyfikacji komórek endotelialnych kapilar mózgu należą: czynnik von Willebranda (vWF, *von Willebrand factor*), fosfataza alkaliczna (ALP, *alkaline phosphatase*), gamma-glutamylotranspeptydaza (GGTP), GLUT-1, endotelialny antygen bariery (EBA, *endothelial barrier antigen*) oraz OX-47 [16, 26]. Ponadto wyróżnia się markery charakterystyczne dla powierzchni luminalnej, tj. P-glikoproteinę (Pgp, *P-glycoprotein*) oraz białko 2 związane z opornością wielolekową (MRP, *multi-drug resistance-associated protein 2*) [26].

### Glej astrocytarny

Drugą komponentę BBB stanowią astrocyty, które z jednej strony łączą się z kapilarami mózgu, z drugiej zaś — z neuronami, stanowiąc swego rodzaju stację przekaźnikową między krwią a mózgiem. Spośród około jedenastu fenotypów astrocytów aż osiem jest związanych z naczyniami mózgowymi [26]. Wypustki astrocytów tworzą czapkopodobne (*cap-like*) struktury znane jako stopki końcowe (*end-feet*), które — łącząc się ze ścianą naczyń — pokrywają blisko 90% ich powierzchni [18]. Stopki końcowe astrocytów tworzą dodatkową zaporę na drodze związków chemicznych, które przeniknęły z krwi do mózgu

przez komórki endotelialne naczyń włosowatych [17]. W błonie komórkowej astrocytów i ich stoppek końcowych znajduje się duża liczba kanałów wodnych akwaporyny 4 (AQP4, *water channel aquaporin 4*) i kanałów Kir4.1 odpowiedzialnych za transport jonów potasu. Wymienione kanały wpływają na ekspresję oraz działanie arginy — proteoglikanu siarczanu heparanu (HSPG, *heparan sulphate proteoglycan*). Argina jest produkowana w macierzy zewnątrzkomórkowej przez komórki błony podstawnej [27]. Wykazano, że argina ma znaczenie dla integralności i szczelności BBB [26]. Markerem astrocytów jest glicynowe kwaśne białko włókienkowe (GFAP, *glial fibrillary acid protein*), którego ekspresja się zwiększa w stanach wzrostu przepuszczalności BBB (tj. w chorobach OUN, urazach, a także w trakcie starzenia się mózgu) [28].

### Pericyty

Trzecią komponentą BBB są pericyty, które są małymi komórkami ściśle związanymi z błoną podstawną komórek endotelialnych naczyń włosowatych mózgu. Okołonaczyniowe umiejscowienie pericytów sprawia, że mają one zdolność do kontrolowania wielu aspektów odpowiedzi immunologicznej OUN, włączając w to: usuwanie ubocznych produktów przemiany materii, nakierowanie oraz wynaczynianie komórek procesu zapalnego w kierunku BBB oraz miększu mózgu, rozprzestrzenianie się stanu zapalnego [29]. Ponadto pericyty mają zdolność do fagocytozy [18] oraz wpływają na średnicę kapilar komórek endotelialnych [30]. Immunologiczne markery ekspozowane przez pericyty przedstawia (tab. 1).

### Specyfika połączeń między komórkami endotelialnymi kapilar mózgu

Wśród połączeń występujących między komórkami endotelialnymi naczyń włosowatych mózgu wyróżnia się tak zwane **ściśle złącza** (*tight junctions*) oraz tak zwane **złącza adherencyjne** (*adherens junctions*) (ryc. 3) [6].

Najbardziej istotne dla integralności BBB są tak zwane ściśle złącza, które znajdują się na powierzchniach górno-bocznych (tzw. apikalnych) błon komórek endotelialnych kapilar mózgu. W tych miejscach powierzchnie sąsiadujących ze sobą komórek są do siebie najbardziej zbliżone [31]. Połączenia typu *tight junctions* wyróżniają się wysoką opornością elektryczną (1500–2000  $\Omega/\text{cm}^2$ ) zależną od prawidłowego zewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia, co warunkuje utrzymanie szczelności opisywanej bariery [6, 14, 15, 19, 26].

Tabela 1. Immunologiczne markery pericytów

Mediatory immunologiczne pericytów	Reaktywne formy azotu (ROS/RNS): iNOS/NO, NOX4/O2
	Molekuły adhezyjne: ICAM-1, VCAM-1, MCAM
	Cytokiny: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, IL-33, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , G-CSF, GM-CSF
	Receptory fagocytozy/endocytozy: Fc receptor, CR3, CD36, CD47, CD68, LRP-1
	Prezentacja antygeny: MHCII/HLA-DR
	Czynniki transkrypcyjne: NF- $\kappa$ B, C/EBP $\delta$ , STAT1, SMAD2/3
	Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej (MMP): MMP2, MMP9
	Chemokiny: CCL2 (MCP-1), CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, CXCL1, CXCL8 (IL-8), CXCL10 (IP-10), CX3CL1

Połączenia typu *tight junctions* są zbudowane z kompleksu transcelularnych białek: okludyn, kładyn i białek adhezji komórkowej (*junctional adhesion molecules*), związanych z cytoszkieletem aktynowym za pomocą grupy białek cytoplazmatycznych nazwanych *zonula occludens* (ryc. 3) [17, 26].

**Okludyna** jest przezbłonową fosfoproteiną o masie cząsteczkowej 60 kDa, która czterokrotnie przebija błonę komórkową [16, 26]. Główną funkcją okludyny jest regulacja przezkomórkowego transportu poprzez wpływ na utrzymanie odpowiedniego oporu elektrycznego połączeń typu *tight junctions* (ryc. 3) [32, 33]. Wśród rodziny **kładyn** wyróżnia się 24 białka, o masie cząsteczkowej 20–27 kDa. Kładyny są zbudowane z czterech domen transmembranowych [16, 18]. Kładyny 3, 5 i 12 (CLDN-3, -5, -12) stanowią podstawę budulcową *tight junctions* [34]. Prawidłowe interakcje między kładynami sąsiadujących ze sobą komórek endotelialnych są niezbędne do selektywnego ograniczenia przezkomórkowego transportu jonów, a co za tym idzie — utrzymania szczelności BBB (ryc. 3) [20 19].

**Białka adhezji komórkowej**, JAM-A, -B, -C i -D, są immunoglobulinami o masie cząsteczkowej około 40 kDa. Ich pojedyncza przezbłonowa domena jest połączona z zewnątrzkomórkowym fragmentem składającym się z dwóch „immunoglobulinopodobnych” pętli [17 26]. Dotychczas najlepiej w literaturze opisano JAM-A. Białka adhezji komórkowej wpływają na adhezję komórek, a także migrację monocytów przez BBB (ryc. 3) [35].

Białka kompleksu *zonula occludens* (ZO-1, ZO-2, ZO-3) są najważniejszymi **białkami cytoplazmatycznymi** połączeń typu *tight junctions*. Według niektórych autorów liczba połączeń typu *tight junctions* zależy od *zonula occludens*, ponieważ im więcej jest białek cytoplazmatycznych ZO, tym większa jest liczba tak zwanych złącz ścisłych, a co za tym idzie mniejsze są „odstępy”

między komórkami endotelialnymi [14]. Mniejszą rolę odgrywają inne białka cytoplazmatyczne, takie jak cingulina i 7H6. Białka cytoplazmatyczne łączą wewnątrzkomórkowe domeny kładyn, okludyn oraz białek adhezji komórkowej ze szkieletem aktynowym komórki endotelialnej, zapewniając ciągłość BBB [6].

Drugi typ połączeń między komórkami endotelialnymi naczyń włosowatych mózgu stanowią już wspomniane tak zwane połączenia adhezcyjne (*adherens junctions*) między sąsiednimi komórkami endotelialnymi. Znajdują się one bliżej błony podstawnej niż połączenia typu *tight junctions* [31]. Białka wchodzące w skład *adherens junctions* należą do dużej rodziny białek błonowych — kadheryn. Interakcja między zewnątrzkomórkowymi domenami kadheryn sąsiadujących ze sobą komórek endotelialnych warunkuje adhezję tych komórek. Jony wapnia są niezbędne do oddziaływania kadheryn ze sobą [6, 17]. Największą rolę w adhezji komórkowej odgrywa VE-kadheryna (*vascular endothelial-cadherin*), której cytoplazmatyczny ogon wiąże się z beta-kateniną i plakoglobiną (P120), które z kolei, poprzez beta-kateninę, alfa-aktyninę, winkulinę i radksinę, łączą się z cytoszkieletem komórki, stabilizując połączenie adhezcyjne (ryc. 3) [6, 16, 36].

Na powierzchni bocznej komórek endotelialnych kapilar mózgu znajdują się ponadto cząsteczki adhezji komórkowej płytkowo-śródbłonkowej 1 (PECAM-1, *platelet-endothelial cell adhesion molecule-1*), które biorą udział w stabilizacji i integralności *adherens junctions* poprzez interakcje z beta-kateniną (ryc. 3) [17, 26].

### Różnice między funkcjonowaniem barier krew–płyn mózgowo-rdzeniowy i krew–mózg dorosłego człowieka i w wieku rozwojowym

Istnieją cztery podstawowe mechanizmy odpowiedzialne za oddziaływania między krwią

a OUN, które inaczej kształtują się u dorosłego człowieka, a inaczej w rozwijającym się mózgu [23]. Wśród tych mechanizmów wyróżnia się:

- 1) oddziaływanie krew–mózg na poziomie naczyń mózgowych (BBB). Komórki endotelialne kapilar mózgu charakteryzują się niską aktywnością pinocytarną, która w rozwijającym się mózgu może być wyższa ze względu na większe występowanie pęcherzyków pinocytarnych. Należy jednak podkreślić, że badania te przeprowadzono na rozwijającym się mózgu owczym [37];
- 2) oddziaływanie między krwią a CSF na poziomie spłotu naczyńiówkowego (BCSFB). Połączenia typu *tight junctions* są obecne już na wczesnym etapie rozwoju unaczynienia mózgu, zapobiegając przezkomórkowemu transportowi małych cząsteczek [38];
- 3) oddziaływanie między CSF a mózgiem. U dorosłego człowieka tworzą je tak zwane *gap junctions* między komórkami ependymalnymi, które wyścielają komory oraz wodociąg mózgu, a także kanał środkowy rdzenia kręgowego. Połączenia typu *gap junctions* są to kanały jonowo-metaboliczne, przez które cząsteczki mogą być transportowane na drodze wolnej dyfuzji z CSF do komórek OUN oraz w przeciwnym kierunku [17, 23]. Z kolei wyłącznie u zarodków i płodów między komórkami ependymalnymi występują połączenia typu *strap junctions*, które uniemożliwiają pasaż cząsteczek między CSF a komórkami mózgu [14, 23];
- 4) oddziaływanie między oponą pajęczą a oponą mięką. U osób dorosłych za te oddziaływania odpowiadają połączenia typu *tight junctions* występujące między komórkami warstwy wewnętrznej opony pajęczej oraz komórkami endotelialnymi naczyń włosowatych opony miękkiej. W rozwijającym się mózgu oddziaływania te są bardziej złożone. Na modelu szczurzym wykazano, że oprócz połączeń typu *tight junctions* w tworzeniu tej „bariery” bierze także udział szeroka gama wyspecjalizowanych międzykomórkowych połączeń między naczyniami opony miękkiej, które mogą się przyczyniać do ograniczenia dyfuzji albuminy z przestrzeni podpajęczynówkowej do przestrzeni śródmiaższowej mózgu [14, 23].

### Układ limfatyczny a mózg

Układ limfatyczny składa się z liniowej sieci mniejszych i większych (tzw. pni chłonnych) naczyń limfatycznych oraz centralnych i obwodowych narządów limfatycznych. Pośredniczy

w wymianie substancji między tkankami a krwią, „pełni nadzór” nad odpornością organizmu (jest miejscem dojrzewania limfocytów, usuwa „martwe” leukocyty oraz inne komórki, w tym patogeny i nadmiar płynów z tkanek) oraz jest transportem lipidów w organizmie [39, 40].

Do niedawna uważano, że OUN nie ma naczyń limfatycznych. Jednak w czerwcu 2015 roku naukowcy z *University of Virginia Health System* — Louveau i wsp. [41] podważyli tę hipotezę. W badaniach przeprowadzonych na przekrojach mysich mózgow odkryli serię kanałów towarzyszących naczyniom krwionośnym. Następnie wykazali, że za „zarządzanie” systemem tych kanałów odpowiadają komórki glijowe otaczające kapilary mózgowe, co określili terminem *glymphatic system*. W kolejnym etapie badań Louveau i wsp. [41] przeprowadzili poszukiwania podobnych struktur w obrębie opon mózgowo-rdzeniowych i tam również stwierdzili obecność naczyniopodobnych wzorów, które wykazywały ekspresję wszystkich molekularnych markerów komórek limfatycznych śródbłonna. „Naczynia” te przebiegały w sąsiedztwie naczyń krwionośnych zatok i uchodziły do głębokich węzłów chłonnych szyjnych. Louveau i wsp. [41] wysunęli wniosek, że „naczynia” te mogą być również drogą odprowadzania CSF z mózgu do krwi. Analogiczne badania naukowcy przeprowadzili na próbkach ludzkich opon pobranych podczas autopsji, wykazując podobne struktury do obecnych u myszy [41].

### Podsumowanie

Podsumowując, BCSFB czynnościowo ogranicza się do spłotu naczyńiówkowego i obejmuje nieliniowe oddziaływanie między dyfuzją białek z krwi do CSF a tempem jego przepływu, co wpływa na końcowe stężenie białka całkowitego w CSF, natomiast BBB jest fizyczną barierą o ściślejszej lokalizacji między krwią a tkanką nerwową. W dostępnej literaturze niewiele jest pozycji piśmiennictwa, które opisują zagadnienie BCSFB. Zdecydowanie częściej przedmiotem analizy jest BBB. Zdarza się także, że wspomniane bariery są ze sobą mylone lub ich pojęcia stosowane zamiennie. Dlatego celem niniejszej pracy było przedstawienie szczegółowych informacji na temat obu barier, które zapewniają prawidłowe funkcjonowanie OUN.

### Podziękowania

Dziękujemy Piotrowi Abramowiczowi za pomoc w przygotowaniu rycin.



## PIŚMIENNICTWO

1. Sakka L, Coll G, Chazal J. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2011; 128(6): 309–316, doi: [10.1016/j.anorl.2011.03.002](#), indexed in Pubmed: [22100360](#).
2. Whedon JM, Glassey D. Cerebrospinal fluid stasis and its clinical significance. *Altern Ther Health Med.* 2009; 15(3): 54–60, indexed in Pubmed: [19472865](#).
3. Hajdu SI. A note from history: discovery of the cerebrospinal fluid. *Ann Clin Lab Sci.* 2003; 33(3): 334–336, indexed in Pubmed: [12956452](#).
4. Brinker T, Stopa E, Morrison J, et al. A new look at cerebrospinal fluid circulation. *Fluids Barriers CNS.* 2014; 11: 10, doi: [10.1186/2045-8118-11-10](#), indexed in Pubmed: [24817998](#).
5. Damkier HH, Brown PD, Praetorius J. Epithelial pathways in choroid plexus electrolyte transport. *Physiology (Bethesda).* 2010; 25(4): 239–249, doi: [10.1152/physiol.00011.2010](#), indexed in Pubmed: [20699470](#).
6. Engelhardt B, Sorokin L. The blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Semin Immunopathol.* 2009; 31(4): 497–511, doi: [10.1007/s00281-009-0177-0](#), indexed in Pubmed: [19779720](#).
7. Brown PD, Davies SL, Speake T, et al. Molecular mechanisms of cerebrospinal fluid production. *Neuroscience.* 2004; 129(4): 957–970, doi: [10.1016/j.neuroscience.2004.07.003](#), indexed in Pubmed: [15561411](#).
8. Reiber H. Cerebrospinal fluid — physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases. *Mult Scler.* 1998; 4(3): 99–107, doi: [10.1177/135245859800400302](#), indexed in Pubmed: [9762655](#).
9. Reiber H. Proteins in cerebrospinal fluid and blood: barriers, CSF flow rate and source-related dynamics. *Restor Neurol Neurosci.* 2003; 21(3–4): 79–96, indexed in Pubmed: [14530572](#).
10. Shestov AA, Emir UE, Kumar A, et al. Simultaneous measurement of glucose transport and utilization in the human brain. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011; 301(5): E1040–E1049, doi: [10.1152/ajpendo.00110.2011](#), indexed in Pubmed: [21791622](#).
11. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci.* 2001; 184(2): 101–122, indexed in Pubmed: [11239944](#).
12. González-Quevedo A, Fernández CR, García SG, Luis IS. Evaluation of the blood-cerebrospinal fluid barrier in neurological diseases. In: *The blood-brain barrier: new research.* Nova Science Publishers, New York 2012: 173–200.
13. Reiber H. External quality assessment in clinical neurochemistry: survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/serum quotients. *Clin Chem.* 1995; 41(2): 256–263, indexed in Pubmed: [7874779](#).
14. Saunders NR, Liddelow S, Dziegielewska K. Barrier mechanisms in the developing brain. *Front Pharmacol.* 2012; 3(46), doi: [10.3389/fphar.2012.00046](#), indexed in Pubmed: [22479246](#).
15. Abbott NJ, Patabendige AAK, Dolman DEM, et al. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2010; 37(1): 13–25, doi: [10.1016/j.nbd.2009.07.030](#), indexed in Pubmed: [19664713](#).
16. Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis.* 2004; 16(1): 1–13, doi: [10.1016/j.nbd.2003.12.016](#), indexed in Pubmed: [15207256](#).
17. Brzezińska K, Ziaja M. Struktura i funkcje bariery krew–mózg. *Post Biol Komórki.* 2012; 39(1): 84–99.
18. Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev.* 2005; 57(2): 173–185, doi: [10.1124/pr.57.2.4](#), indexed in Pubmed: [15914466](#).
19. Redzic Z. Molecular biology of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: similarities and differences. *Fluids Barriers CNS.* 2011; 8(1): 3, doi: [10.1186/2045-8118-8-3](#), indexed in Pubmed: [21349151](#).
20. Tumani H, Hegen H. CSF albumin: albumin CSF/serum ratio (marker for blood-CSF barrier function). *Cerebrospinal Fluid in Clinical Neurology.* 2015; 111–114, doi: [10.1007/978-3-319-01225-4\\_9](#).
21. Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) — a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci.* 1994; 122(2): 189–203, indexed in Pubmed: [8021703](#).
22. Kamińska J, Koper OM, Piechal K, et al. Stwardnienie rozsiane — etiopatogeneza i możliwości diagnostyczne. *Postep Hig Med Dosw.* 2017; 71: 551–563.
23. Stolp HB, Liddelow SA, Sá-Pereira I, et al. Immune responses at brain barriers and implications for brain development and neurological function in later life. *Front Integr Neurosci.* 2013; 7: 61, doi: [10.3389/fnint.2013.00061](#), indexed in Pubmed: [23986663](#).
24. Costa LG, Aschner M, Vitalone A, et al. Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004; 44: 87–110, doi: [10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121424](#), indexed in Pubmed: [14744240](#).
25. Walski M, Frontczak-Baniewicz M. Cechy ultrastrukturalne prawidłowego i dysfunkcyjnego śródbłonka naczyń krwionośnych. *Pol Arch Med Wewn.* 2012; 117(Suppl. 1): 46–49, doi: [10.20452/pamw.270](#).
26. Bernacki J, Dobrowolska A, Nierwińska K, et al. Physiology and pharmacological role of the blood-brain barrier. *Pharmacol Rep.* 2008; 60(5): 600–622, indexed in Pubmed: [19066407](#).
27. Sarrazin S, Lamanna WC, Esko JD. Heparan sulfate proteoglycans. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011; 3(7), doi: [10.1101/cshperspect.a004952](#), indexed in Pubmed: [21690215](#).
28. Eng LF, Ghirnikar R. GFAP and astrogliosis. *Brain Pathol.* 1994; 4(3): 229–237, doi: [10.1111/j.1750-3639.1994.tb00838.x](#).
29. Rustenhoven J, Jansson D, Smyth LC, et al. Brain pericytes as mediators of neuroinflammation. *Trends Pharmacol Sci.* 2017; 38(3): 291–304, doi: [10.1016/j.tips.2016.12.001](#), indexed in Pubmed: [28017362](#).
30. Ramsauer M, Krause D, Dermietzel R. Angiogenesis of the blood-brain barrier in vitro and the function of cerebral pericytes. *FASEB J.* 2002; 16(10): 1274–1276, doi: [10.1096/fj.01-0814fje](#), indexed in Pubmed: [12153997](#).
31. Petty MA, Lo EH. Junctional complexes of the blood-brain barrier: permeability changes in neuroinflammation. *Prog Neurobiol.* 2002; 68(5): 311–323, indexed in Pubmed: [12531232](#).
32. Hirase T, Staddon JM, Saitou M, et al. Occludin as a possible determinant of tight junction permeability in endothelial cells. *J Cell Sci.* 1997; 110 (Pt 14): 1603–1613, indexed in Pubmed: [9247194](#).
33. Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001; 2(4): 285–293, doi: [10.1038/35067088](#), indexed in Pubmed: [11283726](#).
34. Vorbrodt AW, Dobrogowska DH. Molecular anatomy of interendothelial junctions in human blood-brain barrier microvessels. *Folia Histochem Cytobiol.* 2004; 42(2): 67–75, indexed in Pubmed: [15253128](#).
35. Palmeri D, van Zante A, Huang CC, et al. Vascular endothelial junction-associated molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily, is localized to intercellular boundaries of endothelial cells. *J Biol Chem.* 2000; 275(25): 19139–19145, doi: [10.1074/jbc.M003189200](#), indexed in Pubmed: [10779521](#).
36. Dejana E, Tournier-Lasserre E, Weinstein BM. The control of vascular integrity by endothelial cell junctions: molecular basis and pathological implications. *Dev Cell.* 2009; 16(2): 209–221, doi: [10.1016/j.devcel.2009.01.004](#), indexed in Pubmed: [19217423](#).
37. Dziegielewska KM, Evans CA, Malinowska DH, et al. Studies of the development of brain barrier systems to lipid insoluble molecules in fetal sheep. *J Physiol.* 1979; 292: 207–231, indexed in Pubmed: [490348](#).
38. Ek CJ, Dziegielewska KM, Stolp H, et al. Functional effectiveness of the blood-brain barrier to small water-soluble molecules in developing and adult opossum (*Monodelphis domestica*). *J Comp Neurol.* 2006; 496(1): 13–26, doi: [10.1002/cne.20885](#), indexed in Pubmed: [16528724](#).
39. Choi I, Lee S, Hong YK. The new era of the lymphatic system: no longer secondary to the blood vascular system. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2(4): a006445, doi: [10.1101/cshperspect.a006445](#), indexed in Pubmed: [22474611](#).
40. Wang Y, Oliver G. Current views on the function of the lymphatic vasculature in health and disease. *Genes Dev.* 2010; 24(19): 2115–2126, doi: [10.1101/gad.1955910](#), indexed in Pubmed: [20889712](#).
41. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature.* 2015; 523(7560): 337–341, doi: [10.1038/nature14432](#), indexed in Pubmed: [26030524](#).