

Kan-Beyin Bariyeri

The Blood-Brain Barrier

Sefa Gültürk,

Asst. Prof. Dr., MD.
Department of Physiology,
Cumhuriyet University Medical Faculty,
sgulturk@yahoo.com

Gonca İmir,

Asst. Prof. Dr., MD.
Department of Obstetrics and Gynecology,
Cumhuriyet University Medical Faculty,
imirgonca@yahoo.com

Ersin Tuncer,

Asst. Prof. Dr., MD.
Department of Patology,
Cumhuriyet University Medical Faculty,
etuncel@cumhuriyet.edu.tr

This manuscript can be downloaded from the webpage:
[http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/download/2007;29\(2\)147-154.pdf](http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/download/2007;29(2)147-154.pdf)

Submitted : October 10, 2006
Accepted : January 10, 2007

Corresponding Author:

Sefa Gültürk
Department of Physiology,
Cumhuriyet University Medical Faculty,
58140, Sivas, Turkey

Telephone : +90 346 2191310 - 1067
E-mail : sgulturk@yahoo.com

Özet

Merkezi sinir sistemindeki (MSS) hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçların beyin parankim dokusu içine girişlerinin önünde büyük bir engel vardır. MSS hastalıklarına karşı etkili ilaçlar geliştirebilmek için kan beyin bariyeri (K-BB)'nin fonksiyonlarını tamamen anlamak zorundayız. K-BB esas olarak tight junction (TJ) kompleksi denen sıkı bağlantılardan oluştuğu çok iyi bilinmektedir. Ana bileşen TJ, okludin, kladin, zonula okludinler (ZO) ve kavşak yapışma molekülü (JAM) en çok çalışılan konulardır. K-BB'nin TJ yapılarındaki kopmalar inme, HIV ensefaliti, Alzheimer hastalığı, multipl skleroz bakteriyel menenjit gibi birçok MSS patolojilerinde anahtar rol oynamaktadır. Biz, sitoskeletal yapıların TJ molekül bileşenleri arasındaki etkileşimde kritik bir rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: **Kan beyin bariyeri; Sıkı bağlantılar.**

Abstract

A major problem in the treatment of diseases in central nervous system (CNS) lies in the impediment of drug delivery into tissues. It is imperative to have a thorough understanding of the function of blood brain barrier to develop effective therapeutics. It is known that the barrier is mainly made up of the physical elements of tight junction (TJ) complex. The major constituents of TJ, such as occludin, claudins, zonula occludens and junctional adhesion molecule have been subjects of studies. We believe that cytoskeletal components may play a critical role in interacting TJ molecular constituents.

Key Words: **Blood-brain barrier; Tight junctions**

Giriş

Kan-beyin bariyeri (K-BB) kavramı ilk defa 1902 de Alman mikrobiyolog P. Ehrlich tarafından geliştirildi. Tripan mavisi intravenöz olarak hayvanlara uyguladığında beyin hariç diğer organların boyandığını gördü ve K-BB olarak ifade etti. K-BB, Broman (1940)'ın ifade ettiği gibi beyin kapiller endotel hücrelerinin spesifik yapısı ile açıklanmıştır (1).

Kan-beyin bariyeri, beyni kanda dolaşan zararlı maddelerden ve toksinlerden korurken serebral hücre fonksiyonları için gerekli besinlerin geçişine izin veren özelleşmiş karmaşık sellüler bir sistemdir. Periferik kapillerin hücre içine veya intersellüler madde geçişine nispeten izin vermesinin aksine K-BB, beyin hücrelerine madde geçişi hem fiziksel (tight junction (TJ): sıkı bağlantılar) hem de metabolik (enzim) bariyeri sayesinde çok sıkı kontrol edilir. Böylece terapötiklerin beyne yayılımı belli sınırlarda tutulur. Ayrıca, K-BB yıkılımı santral sinir sistemi patolojileri ile ilişkili durumlarda anahtar rol oynadığı düşünülmüştür. K-BB çalışmaları gittikçe artarak farmakologlar, nöro bilimciler, patoloğlar, fizyologlar ve nörologlar tarafından ilgi odağı olmuştur.

Kan-beyin bariyerinin anatomi ve fizyolojisi

Kan-beyin bariyerini meydana getiren önemli elemanlar kabaca şöyle sıralanabilir: 1. Kapiller damarların endotel hücreleri, 2. Perisitler (adventitia-damar çeperinin dış tabakasındaki hücreler), 3. Astrositler, 4. Bazal membran, 5. Koroid pleksus ve pia-araknoid zarlar (2). Merkezi sinir sistemi kapillerinin periferik kapillerden farklı olarak bazı karakteristik özellikleri vardır.

Beyin kapillerini oluşturan endotel hücreler arasında TJ denilen sıkı bağlantı bölgeleri bulunur ve devamlı bir bazal membrana sahiptirler. Bu bağlantılar K-BB endotel hücreleri arasında yüksek bir elektrik direnci oluştururlar ve diğer dokularda $3-33 \Omega/\text{cm}^2$ iken K-BB de $1500-2000 \Omega/\text{cm}^2$ olur (3). Bunun sonucunda parasellüler permeabilite düşer. Molekül ağırlığı 10.000'in altındaki moleküllerin geçişine izin veren porlar ve fenestrasyonların yokluğu ile periferik kapillerden farklı özellik gösterirler (4, 5, 6). Şekil 1 ve 2'de sürekli bazal membran, astrositik ayakçıklar görülmektedir.

İntersellüler aralıklar 200 \AA genişliğindedir ve dokularda çözünmüş olan maddelerin geçişine olanak sağlar. Şekil 2'de moleküler seviyede serebral kapiller bağlantılar moleküler düzeyde görülmektedir. Bir TJ membran proteini

olan okludin 65 Kda ağırlığında ve temas bölgelerinin karşısında yer alırlar. Klaudinler 20 izomerden oluşan multijenik bir ailedir. TJ yapılarının komşu hücreyle temas ettiği bağlantılarda bulunurlar ve primer yapılardır (7, 8). Zonula okludinler (ZO-1/2/3) okludin ile etkileşim halindeki sitoplazmik proteinlerdir. TJ bölgeleri için tanıyıcı proteinler olarak görev yaparlar (9). MAGUK (membran bağlantılı guanilat kinaz benzeri proteinler) protein ailesine ait olan ZO's, sitokelatinler ve kinazlar ile bağlantı yapabileceği çok sayıda bölgesi vardır (10). Kavşak yapıma molekülü (Junctional adezyon molecule: JAM) TJ'da yerleşmiş immunglobulin süper ailesinin bir üyesidir (IgSF) (11) (Şekil 3).

Endotelyal hücrenin sitoplazması tek düze bir yoğunluktadır. Pinositik vezikülleri oldukça az ve fenestralar yoktur. Bu yüzden K-BB'ni geçecek olan bir madde I- kapiller endoteli, II- internal stoplazmik alanı, III- daha sonra abluminal membran, perisit veya bazal laminayı aşmak zorundadır. Bu konuda üç ana teori önceden beri kabul görmektedir. Bunlar veziküler kanallar (12), birleşme-bölünme (13), ve transitozis (makromoleküllerin veziküller olarak taşınımı) teorileridir (12). Patolojik durumda bazal membran sürekliliği bozulur. Vezikül sayısı artar, iyon ve proteinler beyne geçer (6).

Sıçanların periferik endoteli ile karşılaştırıldığında büyük sayı ve volümdeki mitokondriler besinlerin kandan beyne geçişinde gereklidir (14). Mitokondrilerdeki ve dolayısı ile enerji potansiyelindeki bu artış besinlerin kandan beyne aktif transportu sırasında gereklidir. Oldendorf ve Brown (15) sıçan beyin kapillerinin mitokondrileri içeriklerinin iskelet kası kapillerininkinden 5-6 katı fazla olduğunu hesap etmişlerdir. Bu bulgular serebral fizyolojik fonksiyonların enerji bağımlı transkapiller madde taşınımı ile yakından ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Özellikle bazı nörotransmitterler ve ilaçlar kapiller endotel hücrenin luminal yüzeyinden sitoplazmaya girince, buradaki çeşitli enzimlerle inaktif formlarına dönüştürülür ve böylece beyne geçişleri engellenir. Bu nedenle serebral endotelde besin ve ilaçları metabolize edebilen enzimatik bir bariyer vardır (6, 16). Gama glutamil transpeptidaz (-GTP), alkalin fosfataz ve aromatik asid dekarboksilaz gibi enzimler kan ile taşınan maddeleri metabolize ederler. Bu enzimler serebral kılcıl damarlarda yüksek konsantrasyonlarda iken nöronal olmayan dokularda çok az veya yoktur. Bu enzimlerin bazıları ve fonksiyonları Tablo I'de gösterilmektedir.

Coomber ve Stewart (17) morfometrik çalışmalarında beyin kapiller duvar kalınlığının diğer kapiller duvarlara (kas v.s) göre yaklaşık olarak % 39 oranında ince ve pinositik vezikül sayısının da yedi kez az olduğunu göstermişlerdir. Duvar kalınlığındaki bu değişikliklerin, besinlerin beyin parankimine girişini belli sınırlar içinde tutacağı görüşü kabul edilmiştir.

K-BB endotel hücre luminal ve abluminal membran yüzeyleri arasında bir polarite mevcuttur. γ -GTP ve alkalin fosfataz enzimleri luminal tarafta bulunmakta iken $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPaz}$ ve sodyum bağımlı nötral aminoasit taşıyıcılar abluminal yüzeyde bolca bulunur (18). Glukoz reseptörü GLUT-1, elektron mikroskop çalışması ile abluminal yüzeyden luminal yüzeye doğru gösterilmiştir (19). Ayrıca luminal membran yüzeyinde istenmeyen maddelerin dışarı çıkışını sağlayan PGP'ler bulunur (4, 5). PGP'ler ile endotelial hücreleri saran astrositlerler arasındaki ilişki halen tam olarak anlaşılamamıştır. Tüm bu yapılar; luminal ve abluminal yüzeydeki reseptörlerin polarizasyonu, enzimler ve kanallar K-BB'yi oluştururlar. Sonuçta K-BB beyin homeostazisinin temelini oluşturan hareketli membranlardan meydana gelmiştir.

Kan-Beyin Bariyerinin Etkisi

Fizyolojik koşullarda nöronların homeostazisini sağlayan K-BB, hem yapısal hem de metabolik bariyer ile beyni kandaki değişimlerden koruma, selektif transport kan ve beyindeki maddelerin metabolizma ve modifikasyonu ile nöronlar için optimum bir ortam sağlar. Ayrıca K-BB permeabilitesinin artması, vazojenik beyin ödemi gelişmesine neden olduğu için klinikte önemlidir.

Sirkumventriküler Organlar

K-BB bulunmayan bölgeler sirkumventriküler organlar olarak ifade edilir. Orta hatta üçüncü ve dördüncü ventrikül sınırında yerleşmişlerdir. Bu yapılar; area postrema, pineal bez, alt komissural organ, nörohipofiz, koroid pleksus, subfornikal organ, median eminens ve supraoptik laminadır. Bunun önemi periferik değişikliklerin beyin tarafından algılanabilmesidir (20).

Kan-Beyin Bariyerinden Madde Geçişi

Özel maddelerin K-BB'inden geçişi ve beyne girişleri primer ve sekonder olmak üzere birçok faktöre bağlıdır (Şekil 4). Primer (K-BB'e ait) faktörler; maddenin molekül ağırlığı, molekülün konformasyonel değişim kabiliyeti, hücrenin enzimatik sabitliği, hücresel sekresyon, akıma karşı afinite (PGP: P-glycoprotein), hidrojen bağlayıcı

potansiyeller, taşıyıcılara karşı afinite ve mevcut patolojik durumların etkisi olarak sayılabilir (21). Sekonder veya periferik faktörler ise sistemik enzimatik sabitlik, plazma protein bağlayıcıların afinitesi, serebral kan akımı ve mevcut patolojik durumların etkisi (21). Transport sistemleri genellikle K-BB'nin luminal yüzünde bulunur. Beyinden kana geçişine izin veren sistemler ise K-BB'nin abluminal yüzünde bulunur. K-BB'den transport şekilleri; basit difüzyon, kolaylaştırılmış difüzyon, aktif transport, veziküler transport olarak sıralanabilir. K-BB'den madde transportunda maddenin lipitte çözünürlüğü, difüzyon yeteneği, molekül ağırlığı, elektrik yükü önemlidir. K-BB, beyne terapötik ilaçların geçişinde hız sınırlayan bir faktördür (22, 23) (Şekil 4).

Seks Steroidlerinin Kan-Beyin Bariyerine Etkisi

Kadınlarda gonadal hormonların azalması ve yaşlanma ile K-BB'inin nasıl etkilendiği tam anlaşılamamıştır. Yaşlanmayla birlikte serebral damarlarda permeabilite artışı olur, böylece yaşlandıkça toksinlerin beyine geçişi artar (24). Östrojen replasmanının, bilinen endokrin fonksiyonları yanında beyin hasarı sonrası nöroprotektif etkisi de gösterilmiştir (25, 26). Östrojen replasmanı yapılmış oofektomize genç erişkin ratlarda, beyinden salınan nörotrofik faktörleri artırırken, yaşlı ratlarda ters etki yapmıştır (27). Son yapılan çalışmalarda, yaşlı hayvanların ön beyinlerinde bazal veya indüklenmiş inflamatuvar sitokinler artmıştır ki bu nöro-dejeneratif hastalık riskinin yaşlı bireylerde arttığını gösterir (28). Beyin ve dolaşım sisteminin östrojen için hedef organ olduğu düşünülürse, hormon seviyelerindeki yaşa bağlı değişiklikler K-BB bütünlüğünü önemli oranda etkiler. Dolayısı ile kanla bulaşan patojenlerin ve sitotoksik ajanların beyine zarar vermesini kolaylaştırır.

Kan-Beyin Bariyerinin Yaşla Değişimi

K-BB, beyin olgunlaşmasının önemli bir komponentidir. K-BB selektif geçirgen özelliği vücut gelişimi sırasında değişebilir (29). Pozitif basınçlı ventilasyon preterm yenidoğan kuzularda bölgesel permeabilite artışına sebep olmuştur (30). Ayrıca K-BB permeabilitesinin lokal artışına dayanan periventriküler kanama, preterm infantlarda term infantlara göre daha sık oluşmaktadır.

Antenatal kortikosteroid tedavisi prematür infantlarda intraventriküler kanama riskini azaltmaktadır. Kortikosteroid uygulaması, prematür canlının K-BB maturasyonunu artırdığı ve bariyer geçirgenliğini azalttığı gösterilmiştir (31). Fetus ve yenidoğanda, K-BB daha az

geçirgendir, böylece gelişmekte olan beyni nöronal fonksiyonları bozacak faktörlerden de korur. Erişkin kemirgenlerde, K-BB'nin hormonal kontrol altında olduğu bilinmektedir (32). Adrenelektomi, K-BB permeabilitesini artırmıştır ve sonrasında kortikosteroidler verildiğinde bu etki geriye dönmüştür (33). Yani hipofizer-adrenokortikal aks bariyer fonksiyonunun fizyolojik regülatörü olarak çalışır (34). Ayrıca farmakolojik dozlarda deksametazon erişkin kemirgen bariyer geçirgenliğini azaltır (35). Gebelikte verilen kortikosteroid erken dönemde K-BB'nin geçirgenliğini azaltır ayrıca artmış endojen plazma kortizol konsantrasyonu da K-BB geçirgenliğinde azalmaya neden olur (36). Evans mavisini kullanılarak yapılan bir K-BB çalışmasında, gebe olmayan dişi ratlar ile gebe ratlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Fakat bikukullin ile indüklenmiş konvülziyon durumunda gebe ratlarda K-BB geçirgenliği anlamlı olarak azalmıştır. Ayrıca gebe olmayan dişi ratlarda bilateral talamus, midkaudat, hipotalamus ve mezensefalonda K-BB'de aşırı geçirgenlik gözlenmiştir (37). Sonuç olarak K-BB geçirgenliği canlı gelişim düzeyi, yaş ve hormonal etkiler ile değişebilmektedir.

Kan-Beyin Bariyeri Patofizyolojisi

Hipertansiyon, radyoaktiviteye maruziyet, ödem, inflamasyon, iske mi ve reoksijenizasyon gibi birçok durum K-BB geçirgenliğinde artışa neden olur. Patolojik durumlardaki çeşitli faktörler ilaçların biyoyararlanımdaki değişikliklere (K-BB, protein taşıyıcılar, reseptör yeri, enzimlerdeki değişiklikler) neden oldukları için ilaçların geliştirilmesinde dikkate alınmalıdır (2). K-BB deki spesifik değişiklikler TJ'ların açılması, pinositik aktivite artışı, membran stabilitesinin azalması, hastalık veya toksinlerin neden olduğu besin taşınımındaki değişiklikler, por oluşumu ilacın biyoyararlanımını azaltabilir veya artırabilir. Tablo II'de K-BB permeabilite artışına neden olan birtakım olaylar ve faktörler gösterilmiştir.

K-BB geçirgenliğinin, deneysel olarak da gerçekleştirilebilen bazı patolojik durumlarda arttığı gösterilmiştir. Rapoport (38), plazma ozmolaritesinde kısa süreli yükselmenin kan-beyin engelinin geçirgenliğinde geçici olarak artışa sebep olduğunu, ozmolarite yükseldiğinde kapiller endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların bir fermuar gibi açıldığını ileri sürmüştür. Hatta bazı araştırmacılar, normalde K-BB'ni aşamayan ama tedavi maksadıyla verilmesi gereken ilaçları, hipertonic üre çözeltisini karotislerden verip engeli açtıktan sonra uygulamaktadırlar (39, 40). Biz de

2004'de yaptığımız çalışmada K-BB permeabilitesini mannitol kullanarak büyük oranda artırırken magnezyum tedavisi ile düzeltmeye çalıştık. Amacımız antibiyotikler veya tümör tedavisinde kullanılan antineoplastikler bizim istediğimiz zaman ve miktarda beyne kadar ulaşip etki gösterebilecekti. Ayrıca bu tür ilaçların bariyeri geçememesinden dolayı etkisini artırmak için yüksek dozda kullanılmaları mecburiyeti ile ortaya çıkan yan etkileri (özellikle antineoplastikler, parkinson ilaçları ve antibiyotikler gibi) önlemeyi hedefledik (40). Diğer taraftan, serebral ödemlerde kan-beyin engelinin yıkılması tersi bir sonuç doğurarak zararlı olabilmektedir (2,41,42).

Eikozanoidler, oksijen türevi serbest radikaller, histamin, bradikinin, serotonin, sitokinler, platelet aktive eden faktör, kompleman faktörler, arasıdonik asit ve metabolitleri kan-beyin engelinin açan ajanlardandır. Beyin damarlarına hiperosmolar solüsyonların uygulanması, soğuk yaralanması, iske mi ve reperfüzyon, radyasyon, akut hipertansiyon, ensefalomiyelitler, beyin tümörleri, hiperkapni, hipoksi, konvulsiyonlar K-BB permeabilite artışına neden olurlar (22, 43, 44) (Tablo II).

Sonuç olarak, K-BB beynin oldukça fragil olan beyin hücrelerinin bütünlüğünü korumaktadır. Dolayısıyla bu bariyer, beynin normal fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için oldukça önemlidir. K-BB'ni bir nedenle bozulursa nöronal inflamasyon başlar ve beyin hücreleri zararlanır. Son yıllarda bilim adamları sıkı bağlantıları artırarak bozulan K-BB'ni düzelden bir ajan ile beynin patolojik durumlarda hasarlanmasının önüne geçmek istemişlerdir. Ayrıca K-BB ile ilgili düzenlemeler ilerledikçe serebrovasküler ve nörolojik hastalıklara yeni tedavi yaklaşımlarına zemin hazırlayacaktır.

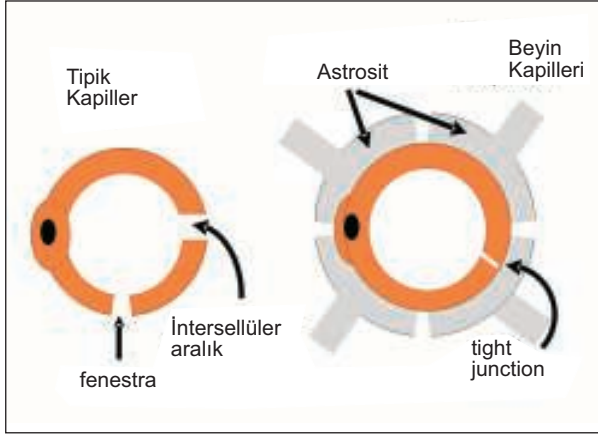
Tablo I. Kan-beyin bariyerindeki ilaç degradasyon enzimleri (42)

Enzimler	Fonksiyonları
Dopa-dekarboksilaz	L-Dopa'nını dopamin'e dönüşümü
Monoamine oksidaz-B	Katekolaminlerin inaktive edilmesi (5-HT)
Psödokolinesteraz	Eroininin morfine deasetilasyonu
Sitokrom P450	Kodeinin morfine demetilasyonu
Renin	Anjiotensinojenin anjiotensin I'e çevirilmesi
Dipeptidyl dipeptidase	Enkefalin metabolizması
ACE	Enkefalin, anjiotensin I, nörotensin ve bradikinin metabolizması
Aminopeptidaz A	Angiotensin metabolizması
Aminopeptidaz M (N)	Opioid degradasyonu
Glutamil aminopeptidaz	Anjiotensin II 'nin anjiotensin III'e çevirilmesi
Enkefalinaz	Enkefalin, endotelin, and bradikinin degradasyonu
Endopeptidaz	Dinorfin, bradikinin, anjiotensin II ve LHRH degradasyonu
γ -glutamiltanspeptidaz	Lökotrien C4'ün lökotrien D4'e dönüştürülmesi
Alkaline phosphatase	Pürine ve pirimidin metabolizması

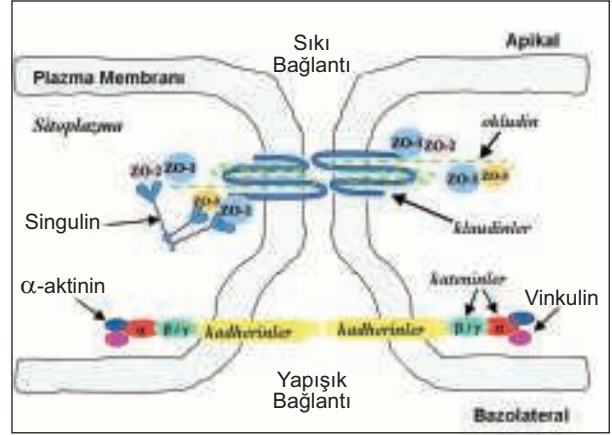
Tablo II. Kan-beyin bariyeri yıkımına neden olan durumlar (39, 40, 45)

Parasellüler açılma (Tight-junction'ların açılması)	Hiperosmolarite, asidik pH, ensefalopati, deneysel otoimmün ensefalit, multipl skleroz, inflamasyon (inflamasyonun kimyasal mediatörleri; TNF α , IL-1 β , histamin, serotonin, bradikinin, trombin ve reaktif oksijen örnekleri), iskemi (hücre içi Ca artışı ve protein kinaz C artışı), kurşun, aliminyum, iskemi sonrası reperfüzyon, elektromanyetik alanlar, sistemik lupus eritematozis (SLE).
Pinositik aktivite artışı	Akut hipertansiyon, mikrowave radyasyon, hepatik ensefalopati, iskemi, nöbetler, stroke, beyin hasarı, tümörler, hipervolemi, immobilizasyon stresi, hipotermi (<16 ^o C), post-radyasyon, hiperbarik durumlar, ensefalopati, civa, anjiotensin II, trisiklik antidepresanlar, menenjit, multipl skleroz, lenfostatik ensefalopati
Por oluşumu	Trisiklik antidepresanlar (klorpromazin, nortriptilin), iskemi
Hastalık veya toksinlerin uyardığı besin taşınımındaki değişiklikler	Diabetes Mellitus (GLUT-1), Alzheimer hastalığı (β -amiloid), Wernike Korsakof sendromu (tiamin), ailesel mental gerilik (glukoz), yeme bozuklukları (insülin ve leptin), Stroke (GLUT-1), multipl skleroz (ICAM-1), aliminyum (Alzheimer hastalığı ve lipofilik bileşiklere permeabilite artışı ile ilgili protein taşıyıcılarını inhibisyonu), hipertansiyon (kolin)

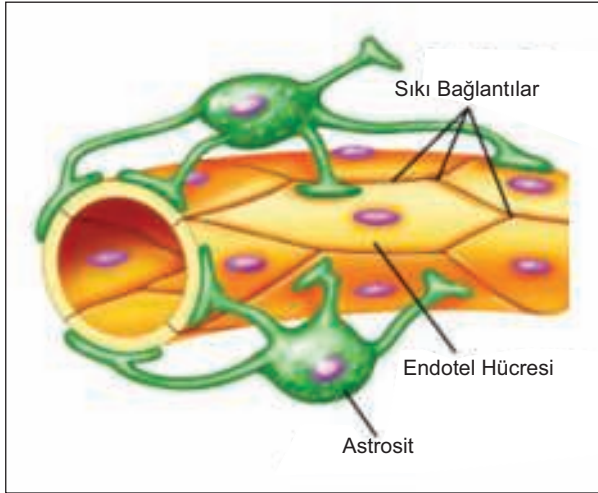
TNF α : doku nekrozis faktör- α ; IL-1b : interlökin-1b ; DMSO: dimetilsülfoksit; GLUT-1: glukoz taşıyıcı-1; ICAM-1: intrasellüler adezyon molekülü-1



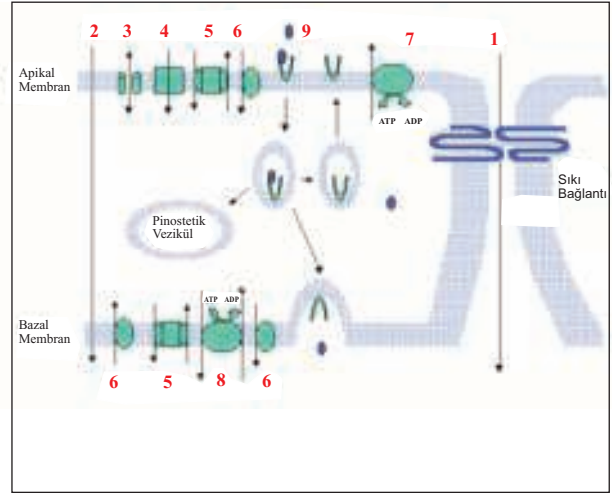
Şekil 1- Vücut ve beyin kapiller yapıları.



Şekil 3- Kan-beyin bariyerinde tight junction ve adezyon junction proteinlerinin ilişkisi (21, 45)



Şekil 2- Astrosit ayakçıklarının kapiller damar ile ilişkisi.



Şekil 4- Kan-beyin bariyerinden transport mekanizmaları. 1. Parasellüler diffüzyon (sükroz), 2. Transellüler diffüzyon (ethanol), 3. İyon kanalı (K^+ kapılı), 4. İyon-import kanalı ($Na^+/K^+/Cl^-$ kotransporter), 5. İyon-antiport kanalı (Na^+/K^+ değiştirici), 6. Kolaylaştırılmış diffüzyon (GMT-1 yoluyla glikoz), 7. Aktif çıkış pompası (P-glikoprotein), 8. Aktif antiport transport ($Na^+/K^+/ATPaz$), 9. Reseptör aracılı endositoz (transferin/insülin) (21, 45).

Kaynaklar

1. Engelhardt B. Development of the blood-brain barrier. *Cell Tissue Res.* 2003; 314:119-129.
2. Germano AF, Tomasello F. Blood-brain barrier permeability changes after subarachnoid haemorrhage: an update. *Clinical implications, experimental findings, challenges and future directions.* New York: Springer-Verlag Wien; 2001. p. 5-18.
3. Butt AM, Jones HC, Abbott NJ. Electrical resistance across the blood-brain barrier in anaesthetized rats: a developmental study. *J Physiol.* 1990; 429:47-62.
4. Cornford EM, Hyman S. Localization of brain endothelial luminal and abluminal transporters with immunogold electron microscopy. *NeuroRx.* 2005;2:27-43.
5. Bendayan R, Lee G, Bendayan M. Functional expression and localization of P-glycoprotein at the blood brain barrier. *Microsc Res Tech.* 2002 ;57:365-380.
6. Davson H and Segal MB (eds). *The blood brain-barrier.* In: *Physiology of the CSF and of the Blood-Brain Barrier.* New York CRC, 1995. p.49-91.
7. Nitta T, Hata M, Gotoh S, et al. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *J Cell Biol.* 2003; 161:653-660.
8. Forster C, Silwedel C, Golenhofen N, et al. Occludin as direct target for glucocorticoid-induced improvement of blood-brain barrier properties in a murine in vitro system. *J Physiol.* 2005;565:475-486.
9. Haskins J, Gu L, Wittchen ES, Hibbard J, Stevenson BR. ZO-3, a novel member of the MAGUK protein family found at the tight junction, interacts with ZO-1 and occludin. *J Cell Biol.* 1998;141:199-208.
10. Joh T, Yamamoto K, Kagami Y, et al. Chimeric MLL products with a Ras binding cytoplasmic protein AF6 involved in t(6;11) (q27;q23) leukemia localize in the nucleus. *Oncogene.* 1997; 15:1681-1687.
11. Nusrat A, Turner JR, Madara JL. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions. IV. Regulation of tight junctions by extracellular stimuli: nutrients, cytokines, and immune cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000; 279:G851-857.
12. Lossinsky AS, Shivers RR. Structural pathways for macromolecular and cellular transport across the blood-brain barrier during inflammatory conditions. *Histol Histopathol.* 2004; 19:535-564.
13. Clough G, Michel CC. The role of vesicles in the transport of ferritin through frog endothelium. *J Physiol.* 1981; 315:127-142.
14. Pardridge WM, Oldendorf WH. Transport of metabolic substrates through the blood-brain barrier. *J Neurochem.* 1977; 28:5-12.
15. Oldendorf WH, Brown WJ. Greater number of capillary endothelial cell mitochondria in brain than in muscle. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1975; 149:736-738.
16. Brownson EA, Abbruscato TJ, Gillespie TJ, Hruby VJ, Davis TP. Effect of peptidases at the blood brain barrier on the permeability of enkephalin. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994; 270:675-680.
17. Coomber BL, Stewart PA. Morphometric analysis of CNS microvascular endothelium. *Microvasc Res.* 1985; 30:99-115.
18. Betz AL, Firth JA, Goldstein GW. Polarity of the blood-brain barrier: distribution of enzymes between the luminal and antiluminal membranes of brain capillary endothelial cells. *Brain Res.* 1980; 192:17-28.
19. Cornford EM, Hyman S. Localization of brain endothelial luminal and abluminal transporters with immunogold electron microscopy. *NeuroRx.* 2005; 2:27-43.
20. Schulz M, Engelhardt B. The circumventricular organs participate in the immunopathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Cerebrospinal Fluid Res.* 2005; 30:2-8.
21. Huber JD, Egleton RD, Davis TP. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. *Trends Neurosci.* 2001; 24:719-725.
22. Fenstermacher JD, Rapoport ST. Blood brain barrier. In *Handbook of Physiology - The Cardiovascular System.* 4 th ed. New York: American Physiological Society; 1984. p. 969-1000.
23. Grant GA, Abbott NJ, Janigro D. Understanding the Physiology of the Blood-Brain Barrier: in Vitro Models. *News Physiol Sci* 1998; 13:287-293.
24. Zheng W. Toxicology of choroid plexus: a special reference to metal induced neurotoxicities. *Microsc Res Tech* 2001; 52:89-113.
25. Sohrabji F, Peeples KW, Marroquin OA. Local and cortical effects of olfactory bulb lesions on trophic support and cholinergic function and their modulation by estrogen. *J Neurobiol* 2000; 45:61-74.

26. Bake S, Sohrabji F. *17beta-estradiol differentially regulates blood-brain barrier permeability in young and aging female rats. Endocrinology. 2004; 145:5471-5475.*
27. Jezierski MK, Sohrabji F. *Neurotrophin expression in the reproductively senescent forebrain is refractory to estrogen stimulation. Neurobiol Aging 2001; 22:309-319.*
28. Nordell VL, Scarborough MM, Buchanan AK, Sohrabji F. *Differential effects of estrogen in the injured forebrain of young adult and reproductive senescent animals. Neurobiol Aging 2003; 24:733-743.*
29. Stonestreet BS, Sadowska GB, McKnight AJ, Patlak C, Petersson KH. *Exogenous and endogenous corticosteroids modulate blood-brain barrier development in the ovine fetus. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000; 279:468-477.*
30. Stonestreet BS, McKnight AJ, Sadowska G, Petersson KH, Oen JM, and Patlak CS. *Effects of duration of positive-pressure ventilation on blood-brain barrier function in premature lambs. J Appl Physiol 2000; 88:1672-1677.*
31. Stonestreet BS, Petersson KH, Sadowska GB, Pettigrew KD, Patlak CS. *Antenatal steroids decrease blood-brain barrier permeability in the ovine fetus. Am J Physiol. 1999; 276:283-289.*
32. Ziylan YZ, LeFauconnier JM, Bernard G, and Bourre JM. *Effect of dexamethasone on transport of alpha-aminoisobutyric acid and sucrose across the blood-brain barrier. J Neurochem 1988; 51: 1338-1342.*
33. Long JB, Holaday JW. *Blood-brain barrier: endogenous modulation by adrenal-cortical function. Science 1985; 227: 1580-1583.*
34. Sysyn GD, Petersson KH, Patlak CS, Sadowska GB, Stonestreet BS. *Effects of postnatal dexamethasone on blood-brain barrier permeability and brain water content in newborn lambs. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001; 280:R547-553.*
35. Hedley-Whyte ET, Hsu DW. *Effect of dexamethasone on blood-brain barrier in the normal mouse. Ann Neurol 1986; 19: 373- 377.*
36. Stonestreet BS, Sadowska GB, McKnight AJ, Patlak C, and Petersson KH. *Exogenous and endogenous corticosteroids modulate blood-brain barrier development in the ovine fetus. Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol 2000; 279: 468-477.*
37. Oztas B, Kaya M, Camurcu S. *Influence of pregnancy on blood-brain barrier integrity during seizures in rats. Pharmacol Res. 1993; 28:317-323.*
38. Rapoport SI. *Advances in osmotic opening of the blood-brain barrier to enhance CNS chemotherapy. Expert Opin Investig Drugs. 2001; 10:1809-1818.*
39. Abbott NJ, Mendonca LL, Dolman DE. *The blood-brain barrier in systemic lupus erythematosus. Lupus. 2003; 12:908-915.*
40. Kaya M, Gulturk S, Elmas I, et al. *The effects of magnesium sulfate on blood-brain barrier disruption caused by intracarotid injection of hyperosmolar mannitol in rats. Life Sci. 2004; 76:201-212.*
41. Witt KA, Davis TP. *CNS drug delivery: opioid peptides and the blood-brain barrier. AAPS J. 2006,8:E76-88.*
42. Joo F. *The role of second messenger molecules in the regulation of permeability in the cerebral endothelial cells. Adv Exp Med Biol 1993; 331:155-164.*
43. Stanness KA, Westrum LE, Fornaciari E, et al. *Morphological and functional characterization of an In vitro blood-brain barrier model. Brain Res 1997; 771:329-342.*
44. *The Davis Lab. About the blood brain barrier. (December 13, 2004) <http://users.ahsc.arizona.edu/davis/bbb.htm> (July 15, 2006).*
45. Mark KS, Davis TP. *Cerebral microvascular changes in permeability and tight junctions induced by hypoxia-reoxygenation. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002; 282:1485-1494.*