

Kan - Beyin Bariyeri

Ayşe Altıntaş, Gülçin Benbir

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

İnsan vücudunda kan ile organ arasında yer alan en sıkı bariyer olan kan-beyin bariyeri sıkı bağlantılarla birbirine bağlanmış endotel hücreleri, bazal membran hücreleri ve perisitler ile astrositler tarafından oluşturulan glia limitans'tan meydana gelmektedir. Geçmişte statik bir yapı olduğuna inanılan kan beyin bariyerinin, günümüzde dinamik bir yapı olduğu bilinmektedir. İntravasküler alan ile santral sinir sistemi yapıları arasında bir ayırıcı görevi üstlenmiş olan kan-beyin bariyerinin birincil fonksiyonu; santral sinir sistemi içinde homeostazisi oluşturmak ve bunun devamlılığını sağlamaktır. Beyin endoteli, sirkülasyondaki hücrelerin ve plazma komponentlerinin beyne infiltrasyonunu sıkı bir şekilde denetlemekte ve düzenlemektedir. Serebral endotel hücrelerinin birçok özel yapısal ve fonksiyonel özellikleri bariyerin geçirgenliğini sınırlı kılmaktadır. Kan beyin bariyeri hasarında, santral sinir sisteminin, çalışmasını bozan plazma komponentleri ve hümorale nörotransmitterler ile karşılaşması söz konusu olacaktır. Tüm bu hücreler, normal şartlar altında, beyin parankimi ile serebral vasküler boşlukları birbirinden ayırmakta, sadece aktive olmuş immün hücreler bu bariyeri geçebilmektedir. Bu özellik santral sinir sisteminin multipl skleroz (MS) gibi immün-kökenli hastalıklarının oluşum ve seyrinde önemli bir rol oynamaktadır.

ABSTRACT

Blood-Brain Barrier

Blood-brain barrier, the tightest barrier in the body located between the blood and brain, is composed of endothelial cells, basal membrane cells, and glia limitans consisting of pericytes and astrocytes; with tight junctions in between. The blood-brain barrier was believed to be a static structure, but now it is known to be a dynamic structure. Primary function of the blood-brain barrier, which acts like a separator between the intravascular compartment and the central nervous system, is to form and protect the homeostasis within the central nervous system. Brain endothelium tightly regulates and modulates the infiltration of the plasma components and the cells in circulation. The specific and characteristic features of the cerebral endothelial cells limit the permeability of the blood-brain barrier. If the blood-brain barrier is damaged, central nervous system will be exposed to the humoral neurotransmitters and plasma components that disturb the functioning of the central nervous system. Under normal circumstances, cerebral endothelial cells separate the brain parenchyma and the cerebral vascular compartments, and only active immune cells are allowed to pass this barrier. This feature of the central nervous system plays an important role in the immune-mediated disorders, like multiple sclerosis.

Anahtar Kelimeler: kan-beyin bariyeri, multipl skleroz, inflamasyon, sitokinler, adezyon molekülleri, sıkı bağlantılar

Keywords: blood-brain barrier, multiple sclerosis, inflammation, cytokines, adhesion molecules, tight junctions

Yazışma Adresi: Prof. Dr. Ayşe Altıntaş
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı,
34300, İSTANBUL
Tel: 0212 414 35 94 aaltintas.md@superonline.com

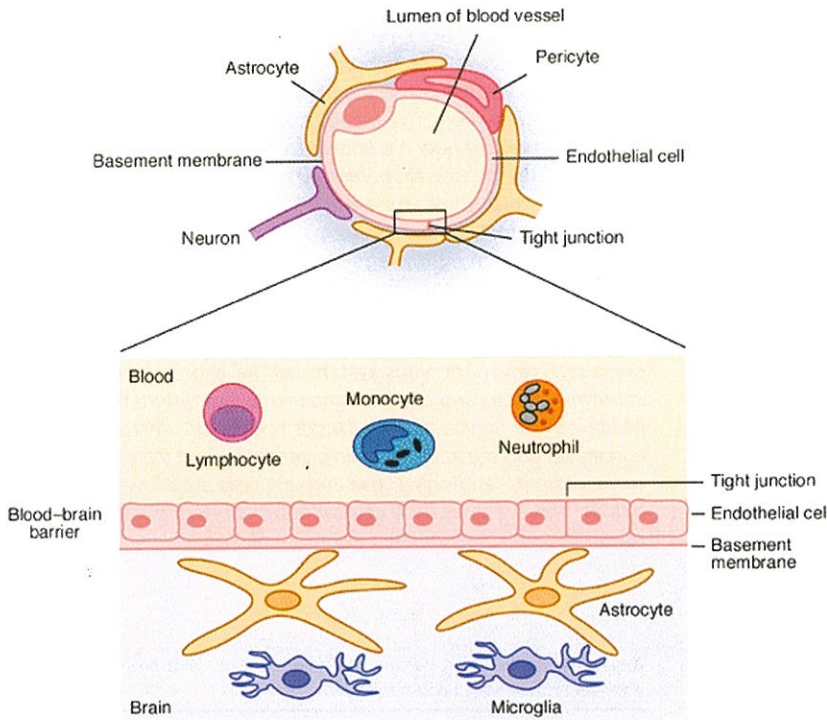
Dergiye Ulaşma Tarihi/Received: 24.06.2004
Kesin Kabul Tarihi/Accepted: 24.06.2004

GİRİŞ

İnsanda ve diğer organizmalarda iç ve dış dünyanın dengesinin korunması homeostazis'e bağlıdır. Beynin plazma içeriğinin değişkenliğe karşı korunması gerekliliği, kan-beyin bariyeri (KBB) adı verilen özgül kapiller yapı ile sağlanmıştır. Diğer kapillerlerin tersine beyin kapiller hücreleri süreklilik gösteren bir bariyer oluşturarak birçok maddenin beyin içine geçmesini engellemektedir. Devamlılık gösteren kapiller duvar, ilk kez 1960'larda tanımlanan kan-beyin bariyerinin temelini teşkil etmektedir⁽¹⁾. İzolasyonun tam olması durumunda beyin gerekli elemanlardan mahrum kalması söz konusu olacağından, bariyerin seçiciliği önem kazanmaktadır. Bariyer konsepti 19. yy sonlarında Alman bakteriyolog Paul Erlich tarafından denek hayvanlarında intravenöz madde enjeksiyonu sonrasında beyin dışında diğer organların boyandığını göstermesi ile ortaya atılmıştır⁽²⁾. Erlich'in bu konudaki yorumu, beynin diğer organlara kıyasla boya maddelerine karşı afinitesinin daha az olduğu şeklinde idi. 1898'de A. Biedl ve R. Krauss, sarılık hastalığında beynin bilirubin ile boyanmadığını göstermişler⁽³⁾, ardından 1913 yılında Edwin E Goldman, trypan blue adlı boyayı direkt olarak tavşan ve köpeklerin beyin omurilik sıvılarına

enjekte ettiğinde tüm beyin boyandığını, ancak diğer organların boyanmadığını ortaya koymuştur⁽⁴⁾. Böylece, santral sinir sisteminin (SSS) bir çeşit bariyer ile diğer organlardan ayrıldığını göstermiştir. 1921'de Stern ve Gautier tarafından ilk kez "kan-beyin bariyeri" terimi kullanılmıştır⁽⁵⁾. TS Reese ve MJ Karnousky, horseradish peroksidaz enjeksiyonu sonrasında, boyanın sıkı bağlantılarda tutulduğunu ve geçişinin engellendiğini tanımlamışlardır⁽⁶⁾. Daha sonraki çalışmalarda, boya maddeleri, bakteriyel toksinler, iyonlar, metabolitler ve ilaçlar kullanılarak serebral kapillerlerin geçirgenliğinin diğer dokulardan farklı olduğu gerçeği desteklenmiştir⁽⁷⁾ (Şekil 1).

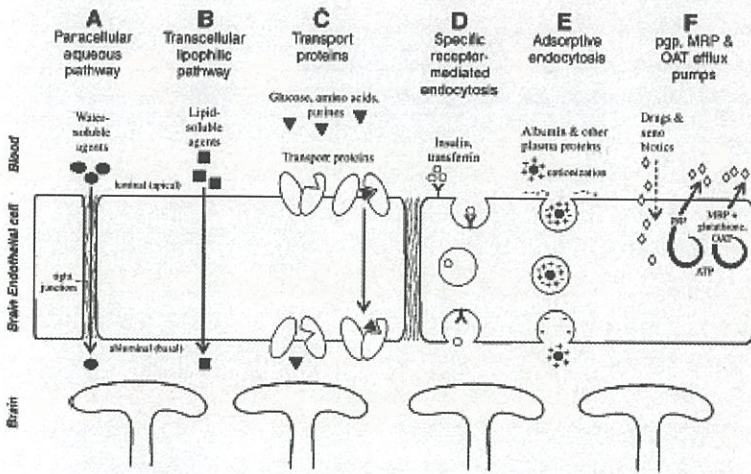
Beyin KBB ile korunmuş bir organdır. Santral sinir sisteminin kompleks yapısı; enerji kaynaklarının daima yakınında yerleşen nöronları koruyacak şekildedir. Hiçbir nöronun en yakın glikoz molekülüne 2 saniyeden fazla süre gerektiren bir mesafede yerleşemeyeceği tahmin edilmektedir⁽⁸⁾. Bu durum geniş vasküler yüzeyler tarafından oluşturulan difüzyon sayesinde gerçekleştirilebilmektedir. Kan damarları ile beyin arasında KBB; kan damarları ile koroid pleksus arasında kan-BOS bariyeri, ve kan damarları ile meninklerin araknoid tabakası arasında ise kan-araknoid bariyeri bulunmaktadır. KBB'nin amacı; beyni sirkülasyondaki zararlı maddelerden korumak ve serebral iyonik mikro-çevrenin sürekliliğini sağlamaktır. İnsan beyninde toplam 100 milyar kapiller mevcut olup, kapillerlerin uzunluğu 400 mil, yüzey alanı ise 20 metre karedir. KBB'nin bulunmadığı alanlar total yüzey alanının % 0.2'sini oluşturmaktadırlar. Bu nedenle de, daha geçirgen olan bu alanlar ilaçların geçişi gibi konularda pratik olarak önem taşımamaktadırlar⁽⁹⁾. Kan beyin bariyeri kapillerleri 4-6 nano-metrelilik fenestrasyonlara sahiptirler ve bu açıklıklar proteinlere karşı permeabiliteyi sağlamaktadırlar⁽¹⁰⁾. Yağda çözünen polar olmayan maddeler KBB'den pasif olarak geçebilirler. Polar yapılar ise ancak taşıyıcı sistemler ile geçiş yapabilmektedirler. Bu yapılar arasında; glikoz, amino asitler, aminler, monokarboksinatlar, nükleositler ve küçük peptidler sayılabilmektedir. Veziküler transport ise; ATP-sodyum-potasyum pompasına bağımlı aktif bir sistemdir⁽⁹⁾ (Şekil 2). KBB'de mitokondrilerin fazlalığı da bu bölgedeki metabolik aktivite yüksekliğinin bir göstergesidir⁽⁹⁾ (Şekil 3).



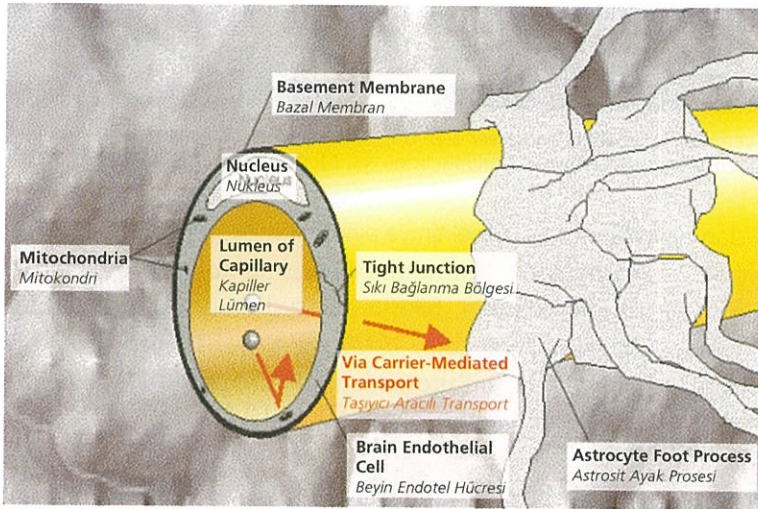
The blood-brain barrier (BBB)

Expert Reviews in Molecular Medicine ©2003 Cambridge University Press

Şekil 1. Kan beyin bariyerinin yapısı [Walsh L. (eds) Expert reviews in Molecular Medicine, Cambridge University Press, 2003 literatüründen alınmıştır].



Şekil 2. Kan beyin bariyerindeki taşıma mekanizmaları (Neuwelt EA. Mechanisms of disease: The blood-brain barrier. Neurosurgery 2004;54:131-142).



Şekil 3. Kan beyin bariyeri endotelinde bulunan yüksek sayıda mitokondriler (www.google.com/images adlı internet sitesinden alınmıştır).

Beynin mikrovasküler yapısı, meningeal damarlardan köken almakta ve angiogenesis ile tüm beyne yayılmaktadır. Bu endotel hücrelerinin embriogenesis sırasında nöroektoderm ile girdikleri ilişki yoluyla kan-beyin bariyerinin özelliklerini kazandıkları düşünülmektedir⁽¹¹⁾. Endotel hücrelerinin bariyer özelliklerini oluşturmalarına astrositler de katkıda bulunmaktadır. Ancak, son araştırmalar astrositlerin henüz oluşmadıkları gestasyonel erken dönemlerde bile, beyin endotel hücrelerinin bazı spesifik göstergeleri taşıdıklarını ortaya koymuştur⁽¹¹⁾.

Kan-beyin bariyerinin in vitro modeli, endotel hücreleri ile astrositler bir arada besiyerine konularak oluşturulmuştur. İntravenöz horseradish peroxidase boyası kullanılarak KBB incelenmiş ve bu yapının hipotalamus'un medial eminence

bölümünde, üçüncü ventrikülde, area postrema ve lamina terminalis'te daha gevşek olduğu saptanmıştır⁽⁹⁾. KBB'nin bulunmadığı, daha geçirgen SSS alanları; koroid pleksus, hipofiz, tuber cinereum, area postrema, pineal gland, preoptik oyuk ve dural damarlardır. Ancak bariyerin bulunmadığı bu alanlar kan-beyin değişim alanının sadece 1/5000'ini oluşturmaktadırlar. Kan-beyin bariyerinin aksine, kan-iskelet kası bariyeri kapiller direncinin daha az olması nedeniyle 100-1000 kez daha fazla geçirgendir⁽⁹⁾. Serebral iskemi, multipl skleroz (MS), AIDS, Alzheimer hastalığı, travma, neoplaziler, epilepsi, diyabet, ve hipertansiyon gibi hastalıklarda KBB bozulmaktadır; ancak bu bozulmanın primer bir patoloji mi, yoksa hastalıklara sekonder gelişen bir tablo mu olduğu bilinmemektedir⁽⁹⁾.

Geçmişte statik bir yapı gibi ele alınan KBB'nin dinamik bir yapı olduğu bilinmektedir. Kan-beyin bariyerinin primer fonksiyonu; SSS içinde homeostazisi oluşturmak ve bunun devamlılığını sağlamaktır. Son 20-30 yıl içinde beyin endotel hücrelerinin kan ve ekstra vasküler dokular arasında sadece pasif bariyer oluşturan yapılar olmadıkları, fizyolojik ve patolojik mekanizmalarda aktif rol oynadıkları anlaşılmıştır. Endotel hücrelerinin yapıları ve fonksiyonları türe ve lokalize oldukları organa göre değişkenlik göstermektedirler^(9,12). Serebral endotel hücrelerinin (cerebral endothelial cells, SEH) birçok özel yapısal ve fonksiyonel özellikleri KBB'nin geçirgenliğini sınırlı kılmaktadır. Kan-beyin bariyeri'ndeki düşük geçiş seviyesi, serebral endotel hücrelerin glikoz ve aminoasitler için birçok taşıma sistemine sahip olmasını gerektirmektedir; SEH'ler, aynı zamanda, hümorale taşıyıcı maddelerin

katabolizması için kolinesteraz, monoamino oksidaz, alkalın fosfataz, ve aromatik dekarboksilaz gibi enzimleri de yüzeylerinde bulundurmaktadır⁽¹³⁾. Bu yüzey enzimlerine ek olarak, SEH'ler, düşük dansiteli lipoprotein (low density lipoprotein, LDL) ve insülin reseptörleri gibi ortak endotel göstergelerine de sahiptirler⁽¹²⁾ (Şekil 2).

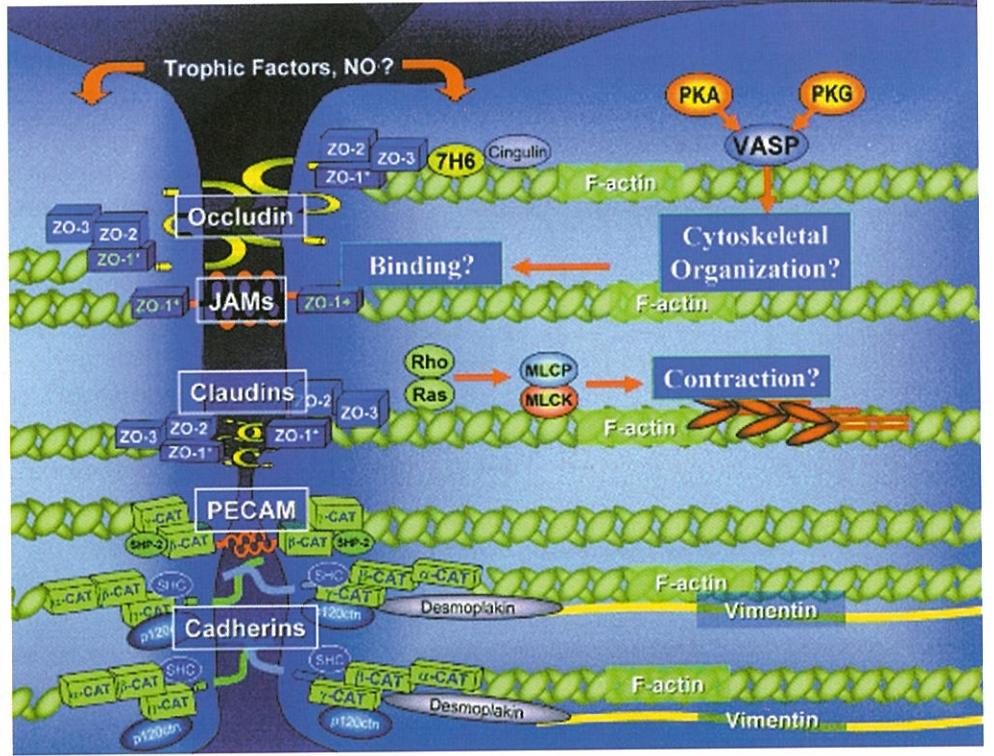
Kan-Beyin Bariyerinin Yapısı

İnsan vücudunda kan ile organ arasında yer alan en sıkı bariyer KBB'dir. Kan-beyin bariyeri; sıkı bağlantılarla (tight junctions) dizilmiş endotel hücreleri, bazal membran hücreleri ve perisitler ile astrositler tarafından oluşturulan glia limitans'tan meydana gelmektedir. Serebral endotel hücreleri tarafından oluşturulan bariyer; perisitler, glial hücreler, ve en önemlisi astrositler olmak üzere KBB'deki diğer

hücrelerden salgılanan trofik faktörler ile desteklenmektedir⁽¹⁴⁾. Kan-beyin bariyerinde dört hücre görev almaktadır; endotel hücreleri, perisitler, perivasküler astrositlerin son uzantıları (astroitik ayaklar), ve nöronların uzantıları. (Şekil 1). Beyin endotel hücreleri az sayıda pinositik vezikül içermektedirler. Perisitler, bazal membran içinde lokalize olan ve endotel hücreleri ile devamlılık gösteren hücrelerdir. Multifonksiyonel aktiviteye sahiplerdir. Perisitler ve endotel hücreleri arasındaki ilişki içerisinde, matürasyon, yeniden yapılanma ve vasküler sistemin devamlılığının sağlanması yer almaktadır. Perisitler, transport ve vasküler permeabiliteye katkıda bulunmaktadırlar. Astrositler KBB fenotipinin devamlılığının sağlanmasında ana rol

almaktadırlar. Serebral endotel hücre yüzeyinin %90'dan fazlası astrositlerle kaplanmıştır⁽¹²⁾. Astrositler SEH yüzeyinde MnSOD ekspresyonunu da arttırmakta, ve böylece KBB'ni oksidatif maddelere karşı korumakta, bu ilişkinin kaybolması KBB fenotipinin silinmesine yol açmaktadır⁽¹²⁾. Kan-beyin bariyerinde yer alan SEH'leri uyaran birçok trofik faktörler arasında transforme edici büyüme faktörü- β 1 (transforming growth factor, TGF- β 1), glial hücre serisinde elde edilen nörotrofik faktör (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF), temel fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor, bFGF), interlökin-6 (interleukin-6, IL-6), ve muhtemelen steroidler yer almaktadır⁽¹⁴⁾. İlginç olarak MS hastalarında BOS, idrar ve plazmada 17 kD gliotoksin tanımlanmış olup, bu maddenin MS'de astrositlere hasar vererek KBB hasarlanmasına yol açtığı öne sürülmüştür⁽¹²⁾.

Kan-beyin bariyerinde kısıtlayıcı özelliği sağlayan subselüler yapıda iki tip bağlantı bulunmaktadır⁽¹⁾: sıkı bağlantılar, ve⁽²⁾ adherens (yapışık) bağlantılar. Sıkı bağlantılar (tight junctions, zonula occludens: ZO), iki bileşik hücrenin ortak zarı üzerinde yerleşmiş birçok integral zar proteinleri içeren oldukça gelişmiş çok katlı periselüler yapıdır. Sıkı bağlantılar ayrı bir zar yapısı oluşturmakta, ve apikal yüzeyden bazale kadar uzanan ve hücreler arası solüt ve hücre geçişini engelleyen birçok taşıyıcı sistemlerini içermektedir⁽¹⁵⁾. Sıkı bağlantılarda fenestrasyon bulunmamaktadır, mitokondrial



Şekil 4. Kan beyin bariyerindeki sıkı bağlantılarda yer alan bileşke molekülleri (Kaynakça 9: Minagar A, Alexander S. Blood-brain barrier disruption in Multiple Sclerosis. Multiple Sclerosis. 2003;9:540-9).

volüm oranı yüksektir, ve pinositik veziküler aktivite düşüktür. Sıkı bağlantılarda multipl transmembran proteinlerden okludin, klaudin, bileşke adezyon molekülü (junctional adhesion molecule, JAM); ve sinyal üreten proteinler bulunmakta, bu proteinlerin dağılımları farklı dokularda değişkenlik göstermektedir⁽¹¹⁾ (Şekil 4).

Okludin beyin endotelinde yüksek düzeyde bulunmakta iken, nöronal olmayan dokularda düzeyi düşüktür. IL-1b ile indüklenmiş nötrofillerin SSS'e geçişi sırasında gözlenen KBB'de bozulmanın, okludin ve ZO proteini-1 boyanmasında azalma sonucu meydana geldiği gözlenmiştir⁽¹⁶⁾. Tersine, okludin artışı, artmış bariyer fonksiyonlarını göstermektedir⁽¹⁶⁾. Yapılan bir çalışmada, hidrokortizon tedavisi ile bovine retinal endotel hücrelerinde okludin ekspresyonunun 2 kat arttığı gösterilmiştir⁽¹⁷⁾.

Klaudin sıkı bağlantıları oluşturan diğer bir proteindir. Yapısal bütünlüğün korunması için önem taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda klaudin-1 defektli farelerin doğumdan sonraki bir gün içinde exitus olduğu, ve bir diğer çalışmada klaudin-11 defektinde nörolojik ve reproduktif disfonksiyon ortaya çıktığı gösterilmiştir⁽¹⁸⁾.

Yardımcı proteinler olan zonula okludens proteinleri (ZO ailesi) arasında ZO-1, 2, 3, 7H6 yer almaktadır. Sıkı bağlantı-

ların permeabilitesini düzenleyen sinyalizasyon molekülleri olan protein kinaz C, cAMP, G-proteini ile ilişkili olaylar ve kalsiyumun düzenlenmesinde görev almaktadırlar. Sitokin ve büyüme faktörleri de KBB sıkı bağlantı fonksiyonlarının regülasyonunda görev almaktadırlar. Bileşke adezyon molekülleri (JAM) ise immün globülin gen ailesi üyesi olarak bilinen moleküllerdir⁽¹⁸⁾.

Adherens-yapışık bileşkelere vasküler endotelial (VE)-cadherin ve trombosit endotelial hücre adezyon molekülü (platelet endotelial cell adhesion molecule (PECAM)-1) sentezi yapılmaktadır. VE-cadherin, hücre migrasyonu, proliferasyonu ve parasellüler geçirgenliğin düzenlenmesinde rol almaktadır⁽¹⁹⁾.

Kan-Beyin Bariyeri ve İmmün Kökenli Hastalıklar

Normal koşullarda KBB büyük moleküller ve hücreler için önemli bir bariyer özelliğindedir. Kan-beyin bariyeri, immün sisteminin pek çok hücresine karşı geçirgen değildir, sadece aktive immün hücreler bu bariyeri geçebilmektedir. Bu özellik SSS'nin immün-kökenli hastalıklarında (multipl skleroz-MS gibi) önemli bir rol oynamaktadır. Bu özellik dolayısıyla perivasküler demiyelinizan lezyonlarda T ve B lenfositler ile monositlerin saptanması ön plandaki histopatolojik bulgudur. Bu hücrelerin SSS içine geçişi ve birikmesi ile ilgili mekanizmaların ortaya konması, bu konuda KBB'nin rolünün aydınlatılması, immün-kökenli SSS hastalıklarının tedavisine yönelik yeni ufuklar açmaktadır^(9,20). Yapılan çalışmalar hem T hücreleri, hem de endotel hücreler üzerindeki adezyon moleküllerinin T hücrelerinin ve monositlerin ekstrasvazasyonunda önemli olduklarını göstermektedir⁽²¹⁾. Periferik immün aktivasyon nedeni ile aktive olmuş T hücreleri SSS içine geçiş sonrasında yönelmiş oldukları spesifik antijenlerini SSS içinde aramaktadırlar. Eğer spesifik antijenlerini bulamazlarsa, SSS içinde hızlıca temizlenmektedirler. Ancak, bu hücrelerin SSS'ini aktif bir şekilde terk mi ettikleri, yoksa SSS içinde mi yok edildikleri bilinmemektedir. Tersine, eğer antijenlerine rastlarsa; immünolojik olaylar dizisi meydana gelmekte ve bu mekanizma SSS içine diğer immün hücrelerin (makrofajlar, B lenfositler vb), antikorların ve immün mediatörlerin girmelerine olanak sağlamaktadır. Tüm bu olaylar sonucunda da SSS içinde inflamatuvar süreç başlamaktadır⁽²²⁾.

Kan-Beyin Bariyeri'nin Farmakolojik Yönden Önemi

Büyük moleküllü ilaçların % 100'ü, küçük moleküllü ilaçların ise % 98'i KBB'yi geçememektedir. Bu nedenle farmakolojik araştırmalar in vitro KBB modelleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Çünkü; santral sinir sistemine yönelik olarak

geliştirilen moleküllerin % 98'i KBB'yi geçişlerindeki yetersizlik nedeniyle ilaç olarak kullanım alanına dahi girememektedirler. İdeal KBB modelinin taşıması gereken özellikler; sıkı bağlantıların varlığı, aktif iki yönlü (kan-beyin ve beyin-kan) transportu mümkün kılan taşıma moleküllerinin varlığı, ilaçları metabolize eden enzimlerin ve reseptörlerin varlığı şeklinde sıralanabilir. Ayrıca permeabilite düzenleyici moleküllerin cevabının kültür ortamında da, canlı organizmadaki cevaba benzer nitelikte olması gerekmektedir⁽²³⁾. Kan-beyin bariyerini incelemek üzere oluşturulan hücre kültür sistemlerinde transport fonksiyonlarında belirgin azalma olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle in vitro modeller, in vivo ortamı yansıtmakta yetersiz kalmaktadırlar. Örneğin, deneysel modellerde L-dopayı taşıyan LAT-1 geninin 100 kat azaldığı gösterilmiştir⁽²⁴⁾.

Kan-beyin bariyerini geçip, beyin parankimine giriş ne kadar önemli ise, moleküllerin beyin dışına taşınmaları da aynı ölçüde önem taşımaktadır. Bir ilaç rezistans gen ürünü olan p-glikoprotein moleküllerin beyin dışına taşınmalarında aktif pompa fonksiyonunu üstlenmiştir. Eksikliğinde pek çok ilacın SSS içinde birikmesi söz konusu olmaktadır (siklosporin, vinblastin, kinidin, actinomycin D). P-glikoprotein astrositik ayaklara komşu olarak yerleşmiştir. Bu molekülü inhibe ederek ilaçların etkinliğini artırmaya yönelik klinik çalışmalar sürmektedir. Multidrug rezistans protein (MRP), KBB endotelinde bulunan ve ilaçların geçişi üzerinde etkileyerek ilaç direncine yolaçan diğer bir proteindir⁽²⁵⁾.

KAYNAKLAR

1. Goldstein GW, Betz AL. The Blood Brain Barrier. J of Sci Am. 1986;9:74-83.
2. Ehrlich P. Das Sauerstoff-Bedurfnis des Organismus. Eine Farbenalytische Studie. Berlin:Hirschwald, 1885.
3. Biedl A, Kraus R. Über einer bisher undekannte toxische Wirking der Gallensäuren auf das Zentral nervensystem Zentralbl Inn Med. 1898;19:1185-1200.
4. Goldmann EE. Vitalfärbung am Zentral nervensystem. Abh Preuss Akad Wiss Phys Klass Math Tech. 1913;1:1-60.
5. Stern L, Gautier R. Rapports entre le liquide céphalo-rachidien et al circulation canguine. Arch Int Physiol Biochim. 1921;17:138-192.
6. Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. J Cell Biol. 1967;34:207-217.
7. Karnovsky MJ. The ultra structural basis of transcapillary exchanges. J Gen Biol. 1968;52:64-95.
8. Farrel CL, Pardridge WM. Blood-brain glucose transporter is asymmetrically distributed on brain capillary endothelial luminal and abluminal plasma membranes; an electron microscopic study. Proc Natl Acad Sci. 1991;88:5779-5783.

-
9. Minagar A, Alexander S. Blood-brain barrier disruption in Multiple Sclerosis. *Multiple Sclerosis*. 2003;9:540-9.
 10. Pardridge WM. Overcoming the Blood-brain barrier. *Mol Intervent*. 2003;3:90-105.
 11. Lampugnani MG, Bazzoni G, Dejana E. The endothelium of the brain microvasculature and the organization of intercellular junctions. From Basic Immunology to immune-mediated demyelination. Eds by G.Martino and L.Adorini. Springer-Verlag Italia, Milano, 1999:47-57.
 12. Mandler RN. Dysfunction of the blood-brain barrier in the pathogenesis of multiple sclerosis. Proceedings of a 2001 Chicago International Conference (sponsored by Serono Symposia international).
 13. DE Vries HE, Kuiper J, de Boer AG, Van Berkel TJ, Breimer DD. The blood-brain barrier in neuroinflammatory diseases. *Pharmacol Rev*. 1997; 49:143-55.
 14. Abbott NJ. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain permeability. *J Anat*. 2002;200:629-38.
 15. Bradbury WM. The structure and the function of the blood-brain barrier. *Fed Proc*. 1984;43:186.
 16. Song L, Pachter JS. Monocyte chemoattractant protein-1 alters expression of tight junction-associated proteins in brain microvascular endothelial cells. *Microvasc Res*. 2004;67:78-89.
 17. Antonetti DA, Wolpert EB, DeMaio L, Harhaj NS, Scaduto RC Jr. Hydrocortisone decreases retinal endothelial cell water and solute flux coincident with increased content and decreased phosphorylation of occludin. *J Neurochem*. 2002;80:667-77.
 18. Orchard MD, Murphy CR. Alterations in tight junction molecules of uterine epithelial cells during early pregnancy in the rat. *Acta Histochem*. 2002;104:149-55.
 19. Breviario F, Caverda L, Corada M et al. Functional properties of human vascular endothelial cadherin (7B4/cadherin-5), an endothelium-specific cadherin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1229-39.
 20. Archelos JJ, Hartung HP. Adhesion molecules and the Blood-brain barrier in multiple sclerosis. From Basic Immunology to immune-mediated demyelination. Eds by G.Martino and L.Adorini. Springer-Verlag Italia, Milano, 1999:148-161.
 21. Hickey WF, Hsu BL, Kimura H. T-lymphocyte entry into the central nervous system. *J Neurosci Res*. 1991; 28:254-60.
 22. Lassmann H. Lymphocyte trafficking in the central nervous system. From Basic Immunology to immune-mediated demyelination. Eds by G.Martino and L.Adorini. Springer-Verlag Italia, Milano, 1999:82-88.
 23. Pardridge WM. Biochemistry of the human blood-brain barrier. *An Int Med*. 1986;105:82-95.
 24. Hosoya KI, Takashima T, Tetsuka K, Nagura T, Ohtsuki S, Takanaga H, Ueda M, Yanai N, Obinata M, Terasaki T. mRNA expression and transport characterization of conditionally immortalized rat brain capillary endothelial cell lines; a new in vitro BBB model for drug targeting. *J Drug Target*. 2000;8:357-70.
 25. Cisternino S, Mercier C, Bourasset F, Roux F, Scherrmann JM. Expression, up-regulation, and transport activity of the multidrug-resistance protein Abcg2 at the mouse blood-brain barrier. *Cancer Res*. 2004;64:3296-301.
-