

ROLUL STRESSULUI OXIDATIV ȘI A DISRUPTĂRII BARIEREI HEMATOENCEFALICE ÎN BOALA ALZHEIMER

T. Papacocea¹, Raluca Papacocea²

¹ Clinica de Neurochirurgie, Spitalul Clinic de Urgență "Sf. Pantelimon" București

² Catedra de Fiziologie I, UMF Carol Davila București

Cuvinte cheie

bariera hematoencefalică, stress oxidativ, boala Alzheimer

Bariera hematoencefalică este alcătuită din celule endoteliale, aflate într-o strânsă legătură cu membrana bazală și astrocite care înconjoară capilarele cerebrale. Astrocitele acționează ca un filtru între capilare și neuroni asigurând permanent reglarea permeabilității barierei hematoencefalice

Un număr crescut de procese patologice sunt implicate în lezarea barierei hematoencefalice, unele dintre acestea fiind în legătură directă cu stressul oxidativ. De exemplu, ischemia cerebrală este asociată cu creșterea permeabilității barierei hematoencefalice. Mai mult, radicalii liberi de oxigen pot crește permeabilitatea transcelulară. Stressul oxidativ conduce la creșterea migrării celulelor proinflamatorii, la creșterea expresiei moleculelor de adeziune pe anumite celule și induce peroxidarea lipidică a barierei hematoencefalice

Rezultate similare au fost observate și în cazul probelor cerebrale prelevate postmortem de la pacienții cu boală Alzheimer. Mai mult de 30% dintre pacienții cu boală Alzheimer prezintă patologie cerebrovasculară în care sunt implicate elemente celulare ale structurii barierei hematoencefalice

Boala Alzheimer este cea mai frecventă boală neurodegenerativă, caracterizată prin declin cognitiv progresiv. Histologic, este caracterizată prin apariția unei plăci senile în care constituentul principal este o proteină fibrilară, β amiloid

Relația dintre β amiloid și stressul oxidativ reprezintă pentru cercetători o controversă. În timp ce o parte dintre ei susțin teoria rolului prooxidativ, o altă parte îl consideră ca având un rol protector și antioxidant, acționând ca un chelator sau ca un antioxidant.

The oxidative stress role and blood brain barrier disruption in Alzheimer disease

The blood-brain barrier (BBB) consists of the vascular wall, represented by endothelial cells belonging to cerebral microvessels connected by tight junctions on a basal membrane and astrocytes which surround the cerebral capillaries. The astrocytes act as a filter between blood microvessels and neurons, providing the permanent regulation of BBB permeability.

A number of pathological instances can injury the BBB, some of these related with the oxidative stress. For instance, the cerebral ischemia is associated with an increase in BBB permeability due to tight junction involvement (Mark et al., 2002). More, free oxygen radicals may increase the transcellular permeability (Cipolla et al., 2004). The oxidative stress increases the proinflammatory cells migration, increases the expression of some cell adhesion molecules and induces the lipidic peroxidation in BBB (Haorah J., 2005).

Keywords

blood brain barrier, oxidative stress, Alzheimer disease

Similar findings were identified in postmortem samples of brain from patients with Alzheimer disease (AD). More than 30% of patients with AD present cerebrovascular pathology involving cellular elements from BBB structure.

AD is the most frequent neurodegenerative progressive disease, characterized by cognitive decline to dementia. Histologically is characterized by senile plaques appearance, and the main constituent of the plaques is a fibrillar protein, β amyloid (β A).

The relation between β A and oxidative stress is still controversial: while some researchers are claiming a prooxidative role (Butterfield DA. et al., 1996) others are showing the opposite: a protective and antioxidant role, acting as an iron/cooper chelator (Cuajungco et al., 2000) or as an antioxidant (Nunomura et al., 2001).

In the last decade, the concept of neurovascular unit was introduced and can be applied in AD approaching for a global view of injuries. Together with neuronal injuries, the vascular oxidative aggression is a target for intense research. It was demonstrated that oxygen and nitrogen free radicals not only decrease the vascular response to various vasodilators, but also can induce a vascular remodeling. The NADPH oxidase was identified as the major source of free radicals because, acting by reducing of vascular NO (nitric oxide) bioavailability

(Park et al. 2005). Cerebral microvessels represent early targets for oxidative stress and β A (Park et al. 2004). The role of the vascular component in AD development is growing and the very early cerebral hypoperfusion could be an important contributor to neuronal and cognitive deficits. (Benarroch, 2007). The BBB increased permeability due to β A deposits in vascular wall, followed by serum protein extravasation (Kumar Singh et al, 2005) can also contribute to extravascular damage initiation.

The identification of new molecules able to modulate the BBB function in response to oxidative stress aggression, could be a potential hope for AD patients as much as antioxidants alone were not able to improve the AD evolution (Luchsinger A. J, Tang M. X et al, 2003)

Existența BHE a fost observată pentru prima dată în 1885 de către Erlich care a constatat că după injectarea unui colorant în plasmă, acesta se regăsește în toate organele, cu excepția creierului și a măduvei spinării.

Prima interpretare a fost aceea a lipsei de afinitate pentru colorant a țesutului nervos, ulterior descriindu-se și lipsa transferului unei substanțe din lichidul cefalorahidian în sânge.

Lewandowsky a introdus pentru prima dată în 1900 termenul de barieră hematoencefalică, iar structura a început a fi descrisă începând cu anii 60, suferind completări ulterioare.

Anatomic, celulele endoteliale ale microvaselor cerebrale se disting de restul celulelor de același tip prin numărul mare de mitocondrii, lipsa fenestrațiilor, o activitate pinocitotică minimă și prezența joncțiunilor strânse. Acestea sunt formate din proteine transmembranare -occludina/cludina-5 și proteine intracelulare zonula occludens (ZO-1,

-2, și -3). Joncțiunile strânse asigură integritatea structurală și permeabilitatea redusă a barierei.

Celulele endoteliale au atașate pericite pe versantul extern, la intervale neregulate și sunt așezate pe o membrană bazală de 30-40 nm grosime, formată din fibre de colagen tip IV, proteoglicani, heparin sulfat, laminină, fibronectină și alte proteine matriceale (Farkas et al., 2001). Membrana bazală se continuă cu prelungirile astrocitelor, care învelesc capilarele cerebrale. Astrocitele acționează ca intermediari între neuroni și microvasele cerebrale, asigurând reglarea permanentă a permeabilității microcirculației cerebrale.

Pericitele pot migra la distanță de vasele cerebrale ca răspuns la hipoxie și injurii cerebrale traumatiche, ambele situații fiind asociate cu creșterea permeabilității BHE.

O serie de condiții patologice determină lezarea barierei și unele dintre acestea sunt asociate cu stressul oxidativ cerebral (ischemia, abuzul de alcool,

diferite toxice - cocaina și neuroinflamația).

Ischemia cerebrală se asociază cu creșterea permeabilității/disrupția BHE prin afectarea joncțiunilor strânse (Mark et al., 2002), deși radicalii liberi generați în procesul de ischemie-reperfuție pot crește și permeabilitatea transcelulară (Cipolla et al., 2004).

Hayashi a arătat în 2004 că astrocitele protejează celulele endoteliale și pericitele de stresul hipoxic în coculturi. Reorganizarea hipoxică a BHE este mediată parțial de VEGF (vascular endothelial growth factor) și de NO (Hayashi et al., 2004).

În injuriile de reperfuție postischemică apare o disrupție dependentă de timp a rețelei moleculare din membrana bazală a barierei hematoencefalice. Aceste alterări se datorează intervenției MMP-9 și implică joncțiunile strânse de la nivelul BHE.

Mediatorii inflamației cresc permeabilitatea BHE acționând tot la nivelul joncțiunilor strânse. Leziunile experimentale ale BHE cu celule inflamatorii activate au arătat scăderea ocludinei și a ZO-1 în microvase. Acest efect este rezultatul eliberării de citokine: TNF- α , IL1B, interferon- γ etc.

Studii imagistice au demonstrat că modificările intervenite la nivelul substanței albe au legătură cu disrupția BHE, evidențiată prin traversarea barierei de către monocite și macrofage. Au fost evidențiate elemente caracteristice neurodegenerării, de la modificări dendritice și sinaptice minore până la moarte neuronală.

Stresul oxidativ amplifică migrarea celulelor proinflamatorii, crește expresia unor molecule de adeziune pe suprafața celulelor endoteliale și induce peroxidarea lipidică la nivelul BHE (Haorah J., 2007).

Un alt element este afectarea funcționalității joncțiunilor strânse exprimate prin scăderea expresiei ocludinei și claudinei. Această disfuncție a joncțiunilor strânse se datorează concentrațiilor crescute de factori proangiogenetici precum și numărului scăzut de astrocite (Papadopoulos et al., 2004).

În examinările postmortem ale unor cazuri de boală Alzheimer (BA) au fost identificate modificări asemănătoare.

Studii efectuate la pacienții cu boală Alzheimer au arătat că peste 30% dintre cazuri prezintă patologie cerebrovasculară cu implicarea elementelor celulare din structura BHE. În majoritatea cazurilor de boală Alzheimer pot fi evidențiate leziuni vasculare certe –degenerări microvasculare cu afectarea endoteliului, angiopatie amiloidă cerebrală și leziuni

ale substanței albe periventriculare.

BA este cea mai frecventă boală progresivă degenerativă, caracterizată prin declin cognitiv până la demență. Simptomele principale asociate cu BA sunt reducerea funcției cognitive, pierderea memoriei, deficite de limbaj, depresie, agitație, tulburări de dispoziție și chiar psihoze.

Ipotezele producerii BA, multiple, s-au succedat pe parcursul anilor și include o serie de factori; factorii genetici (aneuploidia cromozomilor 17 și 21, leziunile oxidative ale ADN-ului și scurtarea telomerelor determină exprimarea anormală a APP, β amiloidului și proteinei tau; polimorfismul genei apolipoproteinei E constituie determinantul major al riscului familial și populațional de BA cu debut tardiv); vârsta avansată; inflamația; rolul toxic al unor compuși (aluminii); reducerea cantitativă sau alterarea funcției acetilcolinesterazei (AChE), enzimă asociată cu cogniția; stresul oxidativ.

Dintre factorii enumerați, vârsta înaintată este considerată cel mai puternic factor de risc pentru apariția bolii Alzheimer; **riscul de face a boala se dublează la fiecare 5 ani după vârsta de 65 de ani. Se estimează că până la jumătate dintre persoanele de 85 de ani au boală Alzheimer.**

Patologia BA e caracterizată microscopic de prezența plăcilor senile și a proteinelor neurofibrilare alături de reducerea numărului de sinapse, iar macroscopic de atrofia cerebrală.

Dovezile privind leziunile oxidative au fost obținute din creierul pacienților cu BA prin recoltări postmortem.

Principalul constituent al plăcilor senile este β amiloidul. Totuși, acesta nu este un compus specific AD ci mai degrabă este asociat cu îmbătrânirea.

Relația β amiloidului cu stresul oxidativ este controversată. O serie de studii îl consideră drept o sursă de radicali liberi și îi atribuie un rol prooxidativ (Butterfield DA. et al., 1996) și inductor al apoptozei neuronale.

Expunerea culturilor de neuroni la β amiloid poate declanșa apoptoza, manifestată prin alterări caracteristice ale membranei mitocondriale și eliberarea citocromului c în citoplasmă urmată de activarea caspazei. β Amiloidul stimulează sinteza de proteine proapoptotice incluzând Par-4, Bax și proteina de supresie tumorală.

Analizele postmortem de la pacienții cu BA au evidențiat markeri de apoptoză neuronală, upreglarea Par-4 și activarea caspazei.

Experimental, agenții care stabilizează funcția mitocondrială și inhibă caspaza, protejează neuronii

împotriva apoptozei induse de β amiloid.

Alte studii, consideră β amiloidul un produs de reacție a țesutului cerebral la variate agresii dimpotrivă, iar altele, în fine, îi atribuie un rol protector în BA. Astfel, el ar putea acționa ca un chelator de fier și cupru, reducând efectul prooxidant al acestora. (Cuajungco et al., 2000). β amiloidul atenuează stressul oxidativ in vivo acționând ca antioxidant (Nunomura et al., 2001).

La nivelul neuronilor bolnavilor cu BA au fost identificați markeri ai unui stress oxidativ intens, constând în concentrații crescute de produși de peroxidare lipidică și produși avansați de glicozilare (AGE).

Un compus isoprostanic, 8-isoprostaglandina F₂ (iPF₂ α -III), a fost identificat în țesuturile, plasma și urina pacienților cu BA și este considerat un marker redutabil al stressului oxidativ in vivo (Roberts LJ, , 2000).

Deși clasic aluminului i se atribuie un rol în geneza BA, legat de eliberarea de citokine proinflamatorii, acesta intervine și prin intermediul stressului oxidativ. Aluminul singur nu poate induce formarea de radicali liberi de oxigen, în schimb el poate amplifica acțiunea prooxidantă a Fe atunci când acționează în asociere cu acesta (Campbell A, 2002).

Creșterea concentrației de Ca mitochondrial combinată cu creșterea producției de RL este caracteristică atât pentru BA cât și pentru injuriile cerebrale ischemice (Toescu et al., 2003).

O serie de studii sugerează corelația între intervenția RL asupra neuronilor și inițierea morții celulare programate. Legătura dintre prezența β amiloidului și producerea de radicali liberi și apoptoză este subiectul unor cercetări ample; activarea caspazei 2 este o etapă necesară pentru activarea apoptozei induse de amiloid S-a mai arătat că RL inhibă eliberarea de NGF (nerve growth factor), factor ce amână activarea apoptozei (Troy, 2000).

În ultima vreme se vorbește din ce în ce mai des despre conceptul de "unitate neurovasculară", subliniind necesitatea unei abordări globale leziunilor vasculare și neuronale. Totodată se evidențiază faptul că neuronii sunt implicați ca parte a unui răspuns integrativ al creierului, alături de alte celule, dar și de matricea intercelulară și de vase.

Ca și în cazul altor boli, abordarea creierului ca o unitate neurovasculară este necesară și pentru BA. Astfel stressul oxidativ nu acționează numai asupra neuronilor ci și asupra vaselor. Celulele endoteliului cerebral, pericitele și celulele muscu-

lare netede vasculare sunt ținta RL și contribuie la integrarea semnalelor primite sub forma unui răspuns vasomotor. Creșterea concentrației de RL de oxigen și azot nu alterează numai responsivitatea vasculară la diferiți agenți vasomotori, în special dilatatori, dar determină în timp și o remodelare vasculară. NADPH oxidaza a fost identificată drept sursa majoră de radicali liberi deoarece producerea speciilor reactive de oxigen precum și disfuncțiile induse de prezența acestora au fost prevenite prin inhibarea NADPH oxidazei. Mecanismul prin care aceasta enzimă provoacă disfuncții cerebrovasculare este reducerea biodisponibilității NO (EDRF) (Park et al. 2005).

S-a arătat că șoarecii transgenici care dezvoltă precursori proteici ai plăcilor de amiloid, prezintă semne ale stressului oxidativ/nitrozativ în vasele cerebrale înainte ca aceste semne să se manifeste la nivel neuronal sau glial ceea ce susține ipoteza că vasele sunt o țintă precoce pentru peptidul A β (Park et al. 2004)

Creșterea expresiei SOD perivascular reprezintă un mecanism adaptativ în BA; pe de altă parte, stressul oxidativ nu pare a fi singurul mecanism care modulează responsivitatea vasculară, de aceea, este probabil ca administrarea singură de antioxidanți să nu fie utilă, așa cum s-a dovedit în cazul HTA, aterosclerozei și diabetului zaharat. (Tong et al., 2005).

Un număr impresionant de dovezi acuză stressul oxidativ pentru alterarea profundă a reglării circulației cerebrale. Prezența markerilor stressului oxidativ în vasele cerebrale a fost demonstrată nu numai în boala Alzheimer dar și la pacienți cu hipertensiune arterială și AVC, (Girouard H, 2006).

Mai mult, o formă aparte de depozit a amiloidului este în pereții arterelor mici, arteriolelor și capilarelor leptomeningelui și cortexului, sub forma unor depozite segmentare sau concentrice (angiopatie cerebrală amiloidă). Fibrilele de amiloid se întind din vase în neuropilul înconjurător și se asociază cu distrofia neuritelor și pierderea neuronilor învecinați. Relația dintre plăcile dense vasculare și țesutul perivascular a fost abordată într-un studiu care a arătat că modificările ultrastructurale microvasculare sunt asociate cu disfuncția BHE mai ales în vecinătatea plăcilor dense de amiloid. Folosind tehnici imunohistochimice s-a demonstrat fenomenul de extravazare a proteinelor serice, care normal este restricționat de BHE. (Kumar Sinhg et al, 2005).

Numărul dovezilor care evidențiază rolul compo-

nentei vasculare în dezvoltarea BA este în continuă creștere; hipoperfuzia foarte precoce a parenchimului cerebral contribuie la deficitele neuronale și cognitive. (Benarroch, 2007).

Se justifică astfel identificarea unor molecule cu acțiuni complexe, parenchimotoase și vasculare. O serie de substanțe au fost testate în scopul ameliorării factorului vascular în boala Alzheimer, cu rezultate promițătoare: Galantamina - inhibitor de acetilcolinesterază care modulează și receptorii nicotini centrali în scopul creșterii transmisiei colinergice (Auchus A. P. et al, 2007); memantina - antagonist necompetitiv cu afinitate moderată al receptorilor NMDA, folosită în scopul reducerii neurotoxicității induse de glutamat (Molinuevo J.L. et al 2005).

În ceea ce privește tratamentul antioxidant ca atare, constând în administrari de beta caroten și acid ascorbic, nu au demonstrat reducerea riscului de BA (Luchsinger A. J, Tang M.Xet al, 2003).

Bibliografie

1. **Auchus A. P. et al (2007)** Galantamine treatment of vascular dementia: A randomized trial *Neurology*; **69**: 448 - 458.
2. **Benarroch E (2007)**. Neurovascular unit dysfunction: a vascular component of Alzheimer's disease. *Neurology* 68, 1730–1732.
3. **Butterfield DA. et al., (1996)** Alzheimer's disease: a disorder of oxidative stress. *Alzheimer's Disease Review*;1:68-70.
4. **Campbell A, (2002)**, The potential role of aluminium in Alzheimer's disease, *Nephrol Dial transplant*, 17 suppl. 2 17-20
5. **Cipolla MJ, Crete R, Vitullo L, and Rix RD (2004)** Transcellular transport as a mechanism of blood-brain barrier disruption during stroke. *Front Biosci* 9:777
6. **Cuajungo M.P. et al, (2000)** Metal Chelation as a Potential Therapy for Alzheimer's Disease , *Annals of the New York Academy of Sciences* 920:292-304
7. **Ehrlich P (1885)** Das sauerstoffbedürfnis des organismus, in *Eine Farbenanalytische Studie*, Hirschwald, Berlin.
8. **Farkas E et al., (2001)** Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 64:575–611.
9. **Girouard H. et al., (2006)** Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension stroke, and Alzheimer disease, *J Appl Physiol*. 100: 328–335
10. Hayashi H. et al (2004) A Seed for Alzheimer Amyloid in the Brain, *Journal of Neuroscience*, May 19, 2004, 24(20):4894-490
11. **Haorah J., (2007)** Oxidative stress activates protein tyrosine kinase and matrix metalloproteinases leading to blood-barrier dysfunction, *J Neurochem* , 101 (2), 566–576
12. **Kumar-Singh S., Pirici D et al, (2005)** Dense-Core Plaques in Tg2576 and PSAPP Mouse
13. **Models of Alzheimer's Disease Are Centered on Vessel Wall ,Am. J. Pathol, 167:2, 567-573**
14. **Lewandowsky M.** 1900. Zur Lehre der Zerebrospinalflüssigkeit. *Z Klin Med* 40: 480-484 Luchsinger A. J, Tang M.Xet al.(2003) Antioxidant Vitamin Intake and Risk of Alzheimer Disease *Arch Neurol*. 60:203-208.
15. **Mark KS et al., (2002)** Cerebral microvascular changes in permeability and tight junctions induced by hypoxia-reoxygenation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282:H1485–H1494.
16. **Molinuevo J.L. et al (2005)** Memantine: Targeting glutamate excitotoxicity in Alzheimer's disease and other dementias *Am.J. Alzheimer Dis. Other Dementias*, **20**:77 – 85
17. **Nunomura A et al., (2001)** Oxidative Damage Is The Earliest Event In Alzheimer Disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 60: 759-767
18. **Papadopoulos MC et al., (2004)** Molecular mechanisms of brain tumor edema. *Neuroscience* 129:1011–1020.
19. **Park L. et al, (2004)** A β -induced vascular oxidative stress and attenuation of functional hyperemia in mouse somatosensory cortex. *J Cerebr Blood Flow Metab* 24, 334–342.
20. **Park L. et al, (2005)**. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species mediate the cerebrovascular dysfunction induced by the amyloid β peptide. *J Neurosci* 25, 1769–1777.
21. **Roberts LJ, et al., (2000)** Measurement of F2-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radic Biol Med*;28:505-513.
22. **Tang X. et al., (2005)** The Journal of Neuroscience, November 30, 25(48):11165–11174
23. **Toescu EC. et al., (2003)**. Neuronal ageing from an intraneuronal perspective: roles of endoplasmic reticulum and mitochondria. *Cell Calcium* 34, 311-323.