

Magdalena Justyna Kacperska, Karol Jastrzębski,
Andrzej Głabiński

Received: 19.03.2013

Accepted: 29.03.2013

Published: 30.04.2013

Procesy patologiczne w mózgu podczas jego niedokrwienia

Pathological processes in the brain during ischaemia

Klinika Neurologii i Epileptologii z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Adres do korespondencji: Klinika Neurologii i Epileptologii z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi,
ul. Żeromskiego 113, 90-546 Łódź, e-mail: magda-kacperska@o2.pl, centurio@mp.pl, aglabinski@gmail.com

Praca finansowana przez UM w Łodzi z zadania badawczego nr 502-03/5-062-01/502-54-111

Streszczenie

Udar mózgu (*stroke*) jest obecnie jedną z najczęstszych przyczyn zgonów i trwałego kalectwa. Udar niedokrwienny mózgu (*ischaemic stroke*, IS) jest niebezpieczną chorobą nie tylko ze względu na dużą śmiertelność, ale również z powodu niepełnosprawności u pacjentów, którzy go przeżywają (około 76% przypadków). Jest to niejednorodna jednostka chorobowa, będąca zespołem objawów ogniskowych powstałych w wyniku niedokrwienia lub krwotoku do tkanki mózgowej spowodowanych wieloma różnymi przyczynami. Rozróżniamy dwa typy udarów mózgowych: krwotoczne i niedokrwienne. Udary krwotoczne stanowią 15% wszystkich udarów, pozostałe 80% to udary niedokrwienne. Udar mózgu jest chorobą ogólnoustrojową, głównie wynikającą z patologii naczyniowej. Ogromną rolę odgrywa tu miażdżycza i mechanizmy z nią związane. Proces chorobowy dotyczy całego organizmu, a nie tylko naczyń mózgowych. Z punktu widzenia patologii udar niedokrwienny mózgu jest dynamicznie rozwijającym się procesem neurodegeneracyjnym, który prowadzi do śmierci komórek (*cell death*). Oprócz uszkodzenia naczyniopodobnego choroba ta indukuje komórkowo-molekularną odpowiedź immunologiczną ośrodkowego układu nerwowego i układu naczyniowego, ukierunkowaną na rozwój reakcji zapalnej. Aktywowane komórki mózgu, a także komórki układu naczyniowego zaangażowane są w syntezę różnych molekuł, m.in. cytokin, chemokin, cząsteczek adhezyjnych oraz enzymów prozapalnych. Ciągłe rośnie liczba doniesień potwierdzających duże znaczenie czynników zapalnych w rozwoju udaru niedokrwiennego mózgu. W procesie tym znaczącą rolę odgrywa bariera krew-mózg. Na poziomie komórkowym mikroglej stanowi główną linię nadzoru immunologicznego nad ośrodkowym układem nerwowym, odpowiedzialną za indukcję reakcji zapalnej w udarze mózgu. W udarze mózgu następuje gwałtowna zmiana ekspresji cytokin, które ujawniają neurodegeneracyjny efekt cytokin prozapalnych oraz neuroprotektoryjny efekt cytokin antyzapalnych. Procesy zachodzące w mózgu podczas jego niedokrwienia są bardzo skomplikowane i wiele czynników jest w nie zaangażowanych.

Słowa kluczowe: mózg, udar niedokrwienny, neurodegeneracja, zapalenie, autofagia, procesy patologiczne, chemokiny, bariera krew-mózg, cytokiny, interleukiny

Summary

Stroke to the present is one of the most common causes of death and permanent disability. Ischemic stroke (ischemic stroke called IS) is not only a dangerous disease because of its high mortality rate, but also because of a disability in patients who do survive, which represents approximately 76% of cases. It is a heterogeneous disease entity, which is a set of symptoms caused by focal ischemia or bleeding into the brain tissue caused by a wide variety of reasons. There are two types of strokes: haemorrhagic and ischemic. Haemorrhagic strokes account

for 20% of all strokes, the other 80% are ischemic strokes. Stroke is a systemic disease, mainly resulting from vascular pathology. It plays a huge role in atherosclerosis and the mechanisms involved. The disease process affects the whole of the body, not just the cerebral vessels. From the point of view of pathological, ischemic stroke is the rapidly developing neurodegenerative process that leads to cell death. This disease is beyond the vascular damage, induces cell-molecular immune response to central nervous system and the vascular system, aimed at the development of the inflammatory response. The activated cells of the brain and vascular cells are involved in the synthesis of various molecules, among others, cytokines, chemokines, adhesion molecules and inflammatory enzymes. Continues to grow numerous reports confirming the importance of inflammatory factors in the development of ischemic stroke. In this process, the blood-brain barrier plays an important role. At the cellular level it is the main line of microglia immune surveillance of the central nervous system, which is responsible for the induction of the inflammatory response in stroke. In stroke, a sudden change in the expression of cytokines proceeds, which reveal the neurodegenerative effects of inflammatory cytokines and anti-inflammatory cytokines neuroprotective effect. Processes occurring in the brain during ischemia are very complicated and is not involved in a number of factors.

Key words: brain, ischaemic stroke, neurodegeneration, inflammation, autophagy, pathological processes, chemokines, blood-brain barrier, cytokines, interleukins

WSTĘP

Według wciąż aktualnej i powszechnie stosowanej definicji WHO udar mózgu to nagłe wystąpienie ogniskowego lub globalnego zaburzenia czynności mózgu, trwającego dłużej niż 24 godziny i wynikającego wyłącznie z przyczyn naczyniowych. Powyższa definicja wprowadza kryterium czasu trwania objawów (24 godziny), które pośrednio służy do zdefiniowania innego zaburzenia o charakterze naczyniowym – przemijającego ataku niedokrwiennego (*transient ischaemic attack*, TIA)⁽¹⁾. W krajach wysoko i średnio rozwiniętych udary stanowią drugą przyczynę zgonów, ustępując jedynie chorobie niedokrwiennej serca. Z kolei w państwach słabo rozwiniętych udary stanowią szóstą przyczynę zgonów, po infekcjach dolnych dróg oddechowych, biegunkach, HIV/AIDS, chorobie niedokrwiennej serca i malarii. Pod pojęciem *udar* kryje się: krwawienie podpajęczynówkowe (około 5% przypadków), krwotok śródmożgowy (około 15%) i udar niedokrwienno (około 80%)⁽²⁾. Udar niedokrwienno dzielony jest ze względu na etiologię i tym samym rokowanie. Wyróżniamy chorobę dużych naczyń spowodowaną zmianami miażdżycowymi w głównych naczyniach tętniczych mózgu, udar sercowo-zatorowy, chorobę małych naczyń (udary lakunarne), udary o innej określonej etiologii oraz udary o niezdefiniowanej etiologii^(3,4). Najlepiej rokującym udarem jest udar lakunarny, a najgorzej krwotok śródmożgowy i krwawienie podpajęczynówkowe^(3,5). Głównymi patologicznymi procesami prowadzącymi do uszkodzenia tkanki nerwowej podczas udaru niedokrwiennego są zatrzymanie produkcji energii, zaburzona homeostaza jonów wapnia (Ca^{2+}), ekscytotoksyczność, stres oksydacyjny i powstający oraz rozwijający się w tym miejscu proces zapalny⁽⁶⁾. Uszkodzenie mózgu podczas udaru niedokrwiennego spowodowane jest głównie niedotlenieniem

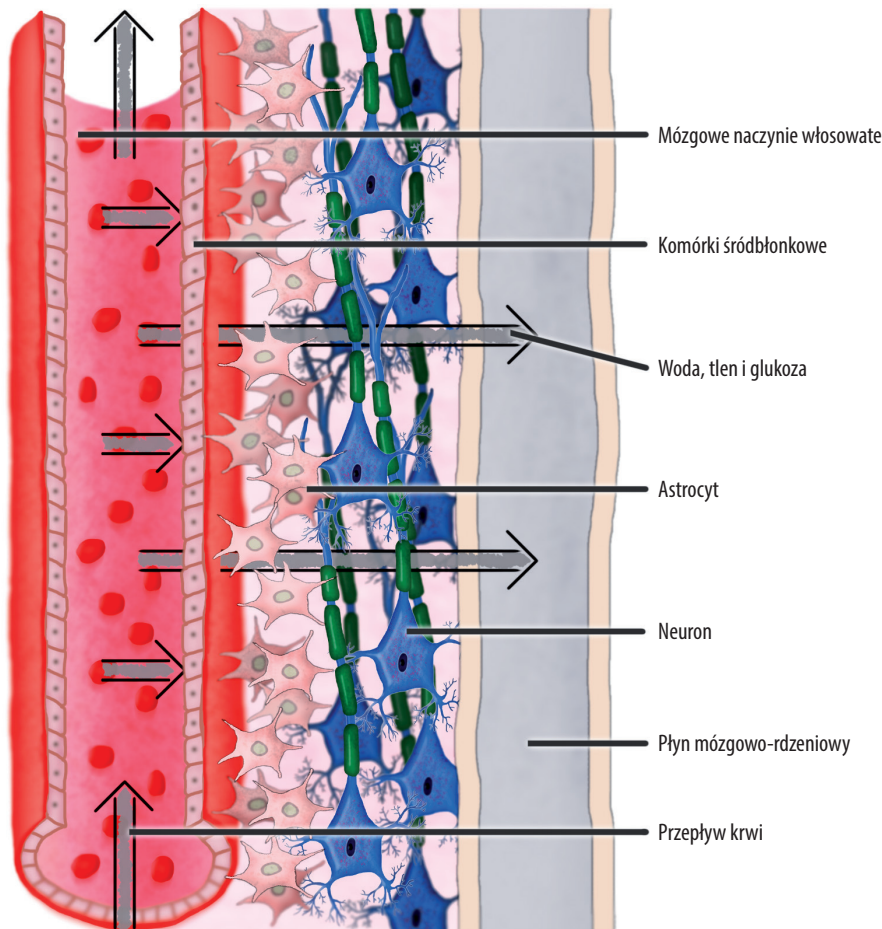
komórek nerwowych. Brak tlenu oraz glukozy to podstawowy czynnik uszkadzający neurony. Brak energii (w postaci ATP-adenozynotryfosforanu) powoduje zaburzenia w depolaryzacji błony komórkowej neuronu i prowadzi ostatecznie do zwiększenia w komórce stężenia jonów Na^+ , Ca^{2+} i Cl^- , a jonów K^+ w przestrzeni międzykomórkowej^(6,7). Wzrost stężenia jonów Ca^{2+} w komórce jest istotnym elementem niedokrwiennego uszkodzenia komórek nerwowych. Skutkuje aktywacją zależnych od wapnia enzymów, m.in. takich jak: kinaza proteina C, fosfolipaza A2, fosfolipaza C, oraz szeregiem innych proteaz i endonukleaz prowadzących do apoptozy i nekrozy⁽⁷⁾. W trakcie udaru niedokrwiennego mózgu dochodzi także do reakcji zapalnej w parenchymie, zainicjowanej przez jej niedotlenienie⁽⁸⁾. Neutrofile należą do pierwszych komórek, które wnikają do niedotlenionej tkanki, i dzieje się to już w ciągu pierwszych godzin od reperfuzji. Makrofagi i monocyty migrują tam w ciągu pierwszych kilku dni^(8,9). Funkcja komórek zapalnych w ognisku niedotlenienia nie jest do końca wyjaśniona, ale wiadomo, że przez produkcję cytokin, tlenu azotu, wolnych rodników mogą one uszkadzać tkankę nerwową oraz indukować apoptozę. Do innych patologicznych zmian w przebiegu udaru niedokrwiennego mózgu należy zaliczyć uszkodzenie bariery krew-mózg (*blood-brain barrier*, BBB). Głównymi czynnikami uszkadzającymi BBB są metaloproteiny macierzy międzykomórkowej uwalniane m.in. przez komórki zapalne i uszkadzające błonę podstawną, czynniki prozapalne oraz wolne rodniki wydzielane przez komórki zapalne, a ponadto czynniki mechaniczne i niedotlenienie uszkadzające śródbłonek naczyniowy^(8,10,11). Uszkodzona BBB staje się przepuszczalna dla leukocytów indukujących procesy zapalne. Dochodzi do obrzęku naczyń mózgowych, co może przekładać się na obrzęk tkanki nerwowej i zwiększenie ciśnienia śródczaszkowego.

BARIERA KREW-MÓZG

Mózg ze względu na swoje funkcje jest izolowany zarówno od środowiska zewnętrznego, jak i wewnętrznego. Funkcję tę spełniają czaszka, opony mózgu, płyn mózgowo-rdzeniowy oraz unikatowy system mechanizmów i barier ograniczających wymianę tlenu, substancji rozpuszczalnych i elementów komórkowych między krwią, tkanką nerwową i płynem mózgowo-rdzeniowym. Anatomiczna lokalizacja BBB znajduje się w komórkach śródbłonkowych tętnic, naczyń włosowatych, żył oraz na powierzchni komórek nabłonka spłotu naczyńwłokowego. Transport przez BBB odbywa się przezkomórkowo, w odróżnieniu od transportu poprzez szczeliny międzyśródbłonkowe następującego w naczyniach włosowatych tkanki obwodowej. Wiele naczyń włosowatych ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jest bezszwowych, inne mają ściśle połączenia (*tight junctions*), nie występuje fenestracja, w związku z czym nie zachodzi pinocytoza. W przypadku uszkodzenia BBB funkcję ochronną przejmują komórki okołonaczyniowe, a tworzenie się włośniczek o typie bariery dokonuje się po otrzymaniu sygnału z przyległych astrocytów.

BBB jest fizyczną i metaboliczną barierą, która oddziela OUN od tkanek obwodowych. Jej obecność została zidentyfikowana przez Paula Ehrlicha w 1885 roku, który po obwodowym podaniu barwnika zaobserwował, że nie przemieszcza się on do mózgu w takim stopniu jak do innych tkanek. Chociaż termin *bariera krew-mózg* (niem. *Blut-Hirn-Schranke*) został użyty pierwszy raz w 1900 roku przez Lewandowskiego, to obecność jej komórkowej struktury została dobrze poznana dopiero w latach 60.⁽¹²⁾

Łączna powierzchnia BBB, tworzonej przez: ściśle połączone komórki śródbłonka (*zonula occludens*), błonę podstawną, perycyty, które dzielą błonę podstawną z komórkami śródbłonka, wypustki astrocytów i zakończenia nerwowe, wynosi około 20 m²⁽¹³⁾, co wynika z obecności w ludzkim mózgu ponad 100 miliardów naczyń włosowatych o łącznej długości 650 km⁽¹⁴⁾. Przepuszczalność tej bariery zależy głównie od komórek śródbłonka, których błony komórkowe (błona luminalna i abluminalna) oddzielone są tylko 200-nanometrową cytoplazmą, co stanowi zaledwie 5% wielkości większości komórek⁽¹³⁾, a w samej błonie komórkowej znajdują się nierównomierne (asymetrycznie) rozmieszczone białka transportujące



18 Rys 1. Przepływ substancji przez barierę krew-mózg

ułatwiające przenikanie substancji do mózgu lub je usuwające do światła naczynia^(13,15,16). Transportery, biorące udział w tworzeniu BBB, można podzielić ze względu na sposób transportu na białka wykorzystujące: 1) transport z udziałem nośnika (*carrier-mediated transport*, CMT), 2) transport z udziałem receptora (*receptor-mediated transport*, RMT), 3) transport aktywny (*active efflux transport*, AET)⁽¹⁶⁾.

ZAPALENIE W ÓŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM A BARIERA KREW-MÓZG

Przez długi czas uważano, że ścisłe połączenia pomiędzy komórkami śródbłonka naczyniowego w nienaruszonej BBB uniemożliwiają leukocytom przemieszczanie się z krwi do OUN⁽¹⁷⁾. Ścisłe połączenia pomiędzy komórkami śródbłonka mogą zostać zniszczone w procesie patologicznym, któremu towarzyszy uwolnienie cytokin⁽¹⁸⁾. Wiadomo, że TNF- α (*tumour necrosis factor*) jest głównym czynnikiem powodującym zwiększenie przepuszczalności BBB. TNF- α podczas wstrząsu septycznego indukuje ekspresję IL-1 β , a następnie IL-6. Obie interleukiny również powodują wzrost przepuszczalności tej bariery^(19,20). IL-1 β redukuje liczbę ścisłych połączeń pomiędzy komórkami śródbłonka w hodowlach ludzkich astrocytów. Dodatkowo wzrost ilości mediatorów zapalenia, który często związany jest z apoptozą neuronów, dysfunkcją astrocytów i zwiększoną migracją komórek zapalnych do parenchymy mózgu, powoduje dalsze zmiany w BBB^(21,22).

REAKCJA IMMUNOLOGICZNO-ZAPALNA

Ostre niedokrwienie mózgu indukuje rozwój komórkowo-molekularnego mechanizmu prozapalnego obejmującego swoim działaniem OUN i układ naczyniowy. W szeregu badań eksperymentalnych i klinicznych udokumentowano m.in.:

- aktywację komórek OUN, zwłaszcza mikrogleju i astrogleju;
- infiltrację obszaru niedokrwienia przez leukocyty;
- silną ekspresję cytokin, chemokin, interleukin, cząstek adhezyjnych oraz enzymów prozapalnych;
- związki pomiędzy stopniem nasilenia zapalenia a rozmiarem zawału mózgu i zakresem deficytu neurologicznego^(10,11).

KOMÓRKOWE ELEMENTY ZAPALNE

Znaczącą rolę wśród komórek OUN odgrywa mikroglej. Jak wykazano, jego stopień i efekt aktywacji zależą od stopnia uszkodzenia mózgu oraz czasu trwania niedokrwienia. Aktywowany mikroglej produkuje czynniki prozapalne i neurodegeneracyjne w ilościach proletalnych⁽²³⁾. Astrocyty produkuje czynniki prozapalne, ale jednocześnie, przy syntezie czynników antyzapalnych,

biorą udział w przywracaniu metabolizmu i funkcji neuronów⁽²⁴⁾. Odgrywają również znaczącą rolę w procesach regeneracyjnych⁽²⁴⁾. Istotną funkcję ma śródbłonek naczyń włosowatych mózgu. Wykazuje się on unikatową specjalizacją morfologiczno-czynnościową (ściśle połączenia międzykomórkowe, brak fenestracji, niska ekspresja cząstek adhezyjnych, a przy tym zdolność do dwukierunkowego działania, tj. mózg-krew i krew-mózg). W przypadku niedokrwienia mózgu dochodzi do wzrostu ekspresji śródbłonkowych cząstek adhezyjnych dla leukocytów oraz uruchomienia elementów selektywnego transportu molekuł. Wykazano, iż BBB odgrywa znaczącą rolę w rozwoju reakcji zapalnej (daje możliwość cyrkulacji molekularnych mediatorów zapalnych między płynem mózgowo-rdzeniowym a układem krwionośnym, a przy tym infiltracji ogniska udarowego przez leukocyty)^(25,26). Poszczególne subpopulacje leukocytów infiltrują ognisko zapalne w specyficznej sekwencji czasowej. Neutrofile zapoczątkowują proces infiltracji w pierwszych godzinach zawału. W dużej mierze przyczyniają się do powiększania obszaru zawału mózgu. Monocyty gromadzą się podczas pierwszych 24 godzin udaru, a swoje najwyższe nasilenie osiągają w 48. godzinie. Limfocyty pojawiają się najpóźniej, gdyż w czasie 24–48 godzin od wystąpienia udaru^(11,27).

MOLEKULARNE ELEMENTY ZAPALNE

ENZYMY PROZAPALNE

Istotną rolę odgrywają NOS (*nitric oxide synthase*), których źródło i zwiększona ekspresja warunkują działanie tlenu azotu (NO) w udarze niedokrwinnym mózgu. Tlenek azotu wywiera bardzo negatywny efekt cytotoksyczny w udarze niedokrwinnym mózgu⁽²⁸⁾. W ostrej fazie udaru niedokrwinnego mózgu następuje znaczny wzrost ekspresji MMP-9 (*matrix metalloproteinase 9*) w obszarze niedokrwienia i widoczny wzrost stężenia we krwi obwodowej, który koreluje z pogorszeniem stanu neurologicznego. Podwyższona ekspresja MMP-2 obecna jest po kilku miesiącach od wystąpienia udaru. Badania potwierdzają, iż bierze ona udział w późniejszych procesach regeneracyjnych⁽²⁹⁾.

CHEMOKINY I ICH RECEPTORY

Chemokiny w niedokrwinnym mózgu są syntetyzowane przez mikroglej, astrocyty, neurony oraz komórki śródbłonka. Badania przeprowadzone w warunkach eksperymentalnych wykazują na przykład w niedokrwinnym mózgu transkrypcje genów szeregu chemokin należących do podrodziny CCL oraz CXCL⁽³⁰⁾. Chemokiną, której funkcja w trakcie niedokrwienia mózgu została najdokładniej udokumentowana i opisana, jest CCL2. CCL2 jest zasadowym peptydem o 76 aminokwasach i masie 8700 daltonów kodowanym u ludzi przez gen *CCL2*,

zlokalizowany na chromosomie 17. CCL2 to mała chemokina, która należy do rodziny chemokin CC. Wydzielana jest przez limfocyty, monocyty, komórki śródbłonka, fibroblasty, komórki dendrytyczne, niektóre komórki nowotworowe, a nawet komórki mięśni gładkich aorty. Wiąże się z receptorami powierzchni komórek CCR2 i CCR4. Jej rola polega na aktywacji i chemotaktycznym oddziaływaniu na monocyty, limfocyty pamięci T i komórki dendrytyczne oraz ich rekrutacji do miejsc uszkodzenia tkanek, zakażenia i zapalenia. Jest współodpowiedzialna za powstawanie reakcji zapalnej, a także formowanie nacieku makrofagów. Bierze udział w chorobach zapalnych charakteryzujących się powstawaniem nacieków monocytarnych, takich jak łuszczyca i reumatoidalne zapalenia stawów, oraz w tworzeniu ognisk miażdżycy. Uważa się, że jest główną chemokiną indukującą infiltrację ogniska niedokrwiennego przez monocyty. Zwiększoną ekspresję CCL2 zanotowano w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów, u których wystąpił niedokrwieny udar mózgu⁽³¹⁾ oraz w ich surowicy⁽³²⁾. Wykazano, iż myszy z wyłączonym genem *CCL2*^{-/-} produkują mniej IL-1 β w ognisku niedotlenienia, co ma protekcyjne znaczenie dla uszkodzonej tkanki⁽³³⁾. CCL2 może też być zaangażowana w rozszczelnienie BBB w trakcie niedotlenienia, co potwierdzają badania *in vitro*, w których użycie antysensownych nukleotydów bądź przeciwciał skierowanych przeciwko CCL2 w znacznym stopniu uszczelniało uszkodzoną BBB⁽³⁴⁾. Użycie myszy z wyłączonym genem *CCR2*^{-/-} pozwoliło stwierdzić, że brak ekspresji tego receptora zmniejsza obrzęk, obszar uszkodzenia, uszczelnia BBB oraz zmniejsza infiltrację uszkodzonej tkanki nerwowej przez makrofagi i neutrofile w porównaniu z myszami typu dzikiego⁽³⁵⁾. Istnieją też dowody świadczące o tym, że CCL2 i CCR2 mogą wpływać na proces regeneracji uszkodzonej przed niedokrwieniem tkanki nerwowej. W innych pracach zaobserwowano, że chemokina CXCL12 ulega silnej ekspresji w obrębie martwicy i w obszarze do niej przylegającym między 2. a 10. dniem od indukcji niedokrwienia. W obszarze niedokrwienia zaobserwowano także silną ekspresję receptora dla CXCL12 – CXCR4. W trakcie niedotlenienia obserwuje się ponadto silny wzrost ekspresji innego receptora dla CXCL12, którym jest CXCR7, zlokalizowany głównie w okolicy naczyń krwionośnych ogniska niedotlenienia. Taka lokalizacja tej chemokiny i jej receptorów może sugerować, że CXCL12 poprzez receptor CXCR7 może wpływać na naczynia, astroglejozę oraz funkcje neuronów⁽³⁶⁾. Blokowanie receptora CXCR4 specyficznym antagonistą AMD3100 hamowało migrację mezenchymalnych komórek macierzystych z krwi obwodowej w kierunku uszkodzonej tkanki nerwowej⁽³⁷⁾. Plejotropowe działanie wydaje się także posiadać chemokina CXCL10, w przypadku której odnotowywano dwufazowy wzrost jej ekspresji po indukcji MCAo. Pierwsza faza wzrostu ekspresji CXCL10 odnotowana była po 3 godzinach z maksymalną ekspresją po 6 godzinach

od indukcji MCAo, natomiast druga faza następowała po upływie 10–15 dni. Receptorem, który prawdopodobnie ulega aktywacji przez CXCL10 podczas niedokrwienia, jest CXCR3⁽³²⁾. Kolejną chemokinę, której wzrost ekspresji odnotowano w przypadku trwałego lub czasowego MCAo, stanowi CCL7. Znaczny wzrost CCL7 utrzymywał się na obwodzie ogniska zapalnego przez 5 dni. Wykazano, iż występował równolegle z infiltracją tego ogniska przez komórki zapalne⁽³⁸⁾. Maksymalna ekspresja mRNA dla CCL20 przypadła na 8 godzin i 24 godziny od indukcji MCAo oraz 48 godzin w przypadku CCR6⁽³⁹⁾. Zmniejszenie obrzęku po 24 godzinach oraz obszaru martwicy po 7 dniach od reperfuzji zaobserwowano w przypadku dootrzewnowego podania przeciwciała neutralizującego chemokinę CINC (sztuczny odpowiednik CXCL8 i chemokiny CXCL1). Barwienia immunohistochemiczne wykazały obecność tej chemokiny na powierzchni śródbłonka naczyń oraz na niektórych neutrofilach w obrębie ogniska niedokrwiennego od 6 do 24 godzin po reperfuzji⁽⁴⁰⁾.

AUTOFAGIA W UDARZE NIEDOKRWIENNYM MÓZGU

Obecnie pojawia się coraz więcej danych wskazujących na udział autofagii w patomechanizmie niedokrwienia mózgu. Uważa się, iż efektywna autofagia jest procesem ochronnym, aktywowanym dużo wcześniej w odpowiedzi na czynniki apoptogenne. Szlaki sygnałowe związane z autofagią mogą być podstawą nowych strategii neuroprotekcyjnych.

Autofagia (gr. *autós* – ‘sam’, *phageín* – ‘jeść’) jest definiowana jako wysoce zachowawczy filogenetycznie mechanizm, w przebiegu którego komórka degraduje uszkodzone, obumarłe bądź zużyte elementy swej struktury (rys. 1)⁽⁴¹⁾. Występuje u wszystkich eukariontów i odbywa się zarówno w komórkach zdrowych, jak i patologicznych. Trawieniu ulegają wytworzone w nadmiarze, stare lub niepotrzebne makrocząsteczki oraz organella komórkowe (mitochondria, peroksysony, fragmenty aparatu Golgiego i retikulum endoplazmatycznego)⁽³⁶⁾. Ostatnie lata przyniosły wiele danych wskazujących, że zaburzenia autofagii mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie schorzeń OUN, w tym choroby Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona czy niedokrwienia mózgu⁽⁴²⁾. Autofagię obserwuje się zarówno podczas prawidłowego wzrostu i różnicowania komórek, jak i w sytuacjach patologicznych, np. obecności uszkodzonych komórkowych elementów strukturalnych^(43,44). Mimo iż autofagia odgrywa ważną, „pro-życiową” rolę i warunkuje homeostazę komórki, może także prowadzić do jej śmierci⁽⁴⁰⁾. Jak wykazano, autofagia może odgrywać znaczącą rolę w patomechanizmie niedokrwienia mózgu^(45,46). Rola autofagii w komórkach nerwowych narażonych na ischemię jest nadal dyskusyjna, jednak nie ulega wątpliwości, że poznanie zarówno szlaków sygnalizacyjnych prowadzących

do autofagii w niedokrwieniu, jak i mechanizmów regulujących współzależność: autofagia-apoptoza może przyczynić się do opracowania nowych strategii terapeutycznych. Potencjalny wpływ autofagii na ischemiczne neurony jest obecnie opisywany następująco:

- Autofagia może przyczyniać się do degeneracji neuronów w niedokrwieniu mózgu^(47,48).
- Udział autofagii w ochronie komórek neuronalnych przed śmiercią indukowaną hipoksją/ischemią. Istotnym mechanizmem neuroprotekcijnego działania autofagii w ischemii jest eliminacja uszkodzonych mitochondriów i przerwanie apoptozy⁽⁴⁹⁾.
- Wykazano pozytywny wpływ autofagii na neuroprotekcjne działanie rapamycyny – farmakologicznego aktywatora procesu^(50,51). Stwierdzono między innymi nasilenie neuronalnej autofagii z jednoczesnym osłabieniem apoptozy i wyraźnym zmniejszeniem uszkodzenia mózgu po podaniu rapamycyny noworodkom szczurzym narażonym na ischemię/hipoksję⁽⁵²⁾.
- Wykazano, że u podstaw neuroprotekcijnego wpływu hartowania ischemicznego (*preconditioning*) leży aktywacja autofagii⁽⁵³⁾.
- Autofagia może opóźnić początek nekrozy przez utrzymanie homeostazy jonowej⁽⁵⁴⁾. Główny regulator autofagii – kinaza mTOR odgrywa znaczącą rolę czujnika

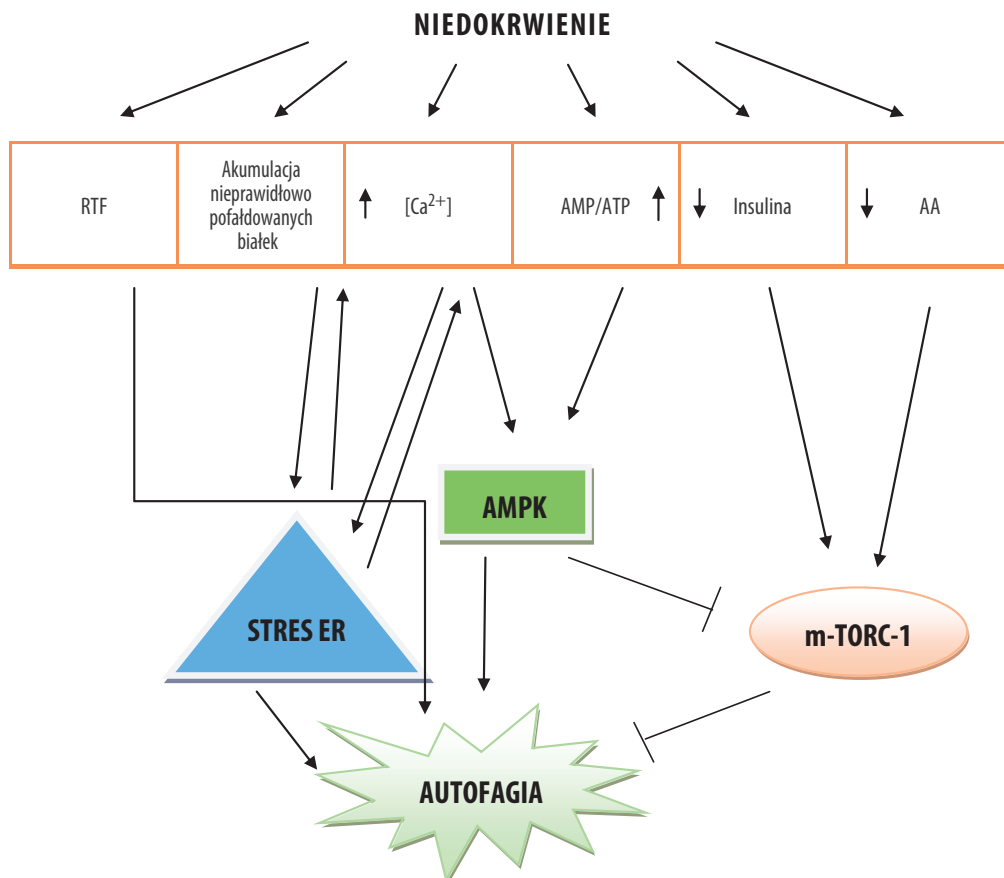
zmian w wewnątrzkomórkowym poziomie ATP⁽⁵⁵⁾. Prawdopodobnie zmiany w ATP są przekazywane do mTOR za pośrednictwem aktywnej AMPK. Aktywacja AMPK hamuje ścieżki sygnałowe zależne od mTOR⁽⁵⁶⁾.

- Mitofagia w niedotlenieniu jest uważana za mechanizm przystosowawczy komórki na poziomie metabolicznym, niezbędny do utrzymania homeostazy redoks i przeżycia⁽⁵⁷⁾.

Na podstawie przytoczonych wyżej danych można przypuszczać, że autofagia, apoptoza i nekroza współwystępują w obszarze objętym niedokrwieniem, prowadząc do śmierci komórkowej o mieszanych cechach biochemicznych i morfologicznych. Autofagia jest procesem decydującym o losach neuronów. Wiele danych wskazuje na znaczący udział autofagii w patomechanizmie niedokrwienia mózgu.

NEURODEGENERACJA I MECHANIZM JEJ ROZWOJU

Mechanizmy prowadzące do uszkodzenia neuronów w OUN w chorobach demielinizacyjnych i neurodegeneracyjnych to procesy i wieloczynnikowe, i niejednorodne. Poszczególne czynniki mogą się na siebie nakładać, wzmagając tym samym poziom ubytku tkanki nerwowej.



Rys. 2. Czynniki indukujące autofagię w niedokrwieniu mózgu

Chociaż zjawisko obumierania neuronów jest obecne w chorobach o odmiennej patogenezie i przebiegu, takich jak stwardnienie rozsiane (SM)⁽⁵⁸⁾ czy niedokrwienny udar mózgu⁽⁵⁹⁾, większość mechanizmów prowadzących do neurodegeneracji może być wspólna. Wydaje się, iż jednym z najistotniejszych etapów procesu odpowiedzialnego za zjawisko apoptozy komórek nerwowych jest znaczny wzrost stężenia w cytoplazmie jonów wapniowych (Ca^{2+})⁽⁶⁰⁾. Do przeładowania komórki nerwowej jonami Ca^{2+} dochodzi najczęściej w sytuacji, gdy mamy zaburzone działanie różnych kanałów jonowych w błonie komórkowej neuronu. Do zablokowania części kanałów zużywających ATP może dojść w sytuacji niedotlenienia komórki nerwowej, np. w czasie udaru niedokrwiennego mózgu⁽⁵⁵⁾. Zablokowana produkcja ATP najszybciej odbija się na funkcjonowaniu Na^+ - K^+ -zależnej ATP-azy, zlokalizowanej na błonie komórkowej. Zablokowanie Na^+ - K^+ -zależnej ATP-azy hamuje usuwanie napływających do komórki jonów Na^+ . Kolejnym czynnikiem powodującym przeładowanie neuronu jonami Ca^{2+} jest ich uwolnienie z magazynów wewnątrzkomórkowych – retikulum aksoplazmatycznego, a dzieje się to przez zdepolaryzowane kanały Ca^{2+} typu L. Wzrost stężenia jonów Ca^{2+} w aksoplazmie powoduje aktywację szeregu enzymów proteolitycznych (kalpaina), lipolitycznych (fosfolipaza C, fosfolipaza A2) i kinaz białkowych (kinaza proteinowa C). Aktywacji ulega też syntetaza tlenu azotu, co wraz z aktywacją ww. enzymów może prowadzić do uszkodzenia neuronu i jego śmierci^(61,62). W sytuacji gdy włókno nerwowe zostanie pozbawione mieliny, wszystkie kanały K^+ zostają odkryte i bardzo szybko dochodzi do wypływu jonów K^+ z komórki do środowiska zewnątrzkomórkowego. Przewodzenie impulsu nerwowego w zdmielinizowanym aksonie jest o wiele bardziej energochłonnym procesem niż w nieuszkodzonym neuronie. Dodatkowo zaburzony gradient jonów Na^+ i K^+ powoduje, że komórka zużywa znacznie większe ilości ATP niż normalnie, szczególnie przez Na^+ - K^+ -zależną ATP-azę, co razem z upośledzoną pracą mitochondriów wywołaną przez NO wprowadza neuron w stan tzw. „wirtualnej hipoksji”, prowadzącej do zaburzenia gospodarki jonów Ca^{2+} , a w konsekwencji do uszkodzenia struktury neuronu i ostatecznie do przerwania jego ciągłości⁽⁶³⁾.

PODSUMOWANIE

Z powyższego wywodu wynika, że udar niedokrwienny mózgu jest procesem skomplikowanym i wieloetapowym. Choroba ta poza uszkodzeniem naczyniopochodnym indukuje komórkowo-molekularną odpowiedź immunologiczną OUN i układu naczyniowego w celu rozwoju reakcji zapalnej. Dochodzi do aktywacji zarówno komórek mózgu, jak i komórek układu naczyniowego, które z kolei syntetyzują szereg różnorodnych molekuł. Objawy uszkodzenia mózgu powstałe w wyniku niedokrwienia na skutek zakrzepu lub zatoru tętnic mózgowych są

konsekwencją masowej śmierci komórek w obszarze ogniska niedokrwiennego. Już kilka sekund po zatrzymaniu mózgowego przepływu krwi dochodzi do uruchomienia tzw. kaskady niedokrwienia obejmującej kolejne zmiany biochemiczne, prowadzące do degradacji struktur i błon komórkowych i ostatecznie do śmierci komórek mózgowych. U chorych dotkniętych ostrym udarem niedokrwiennym obserwuje się utratę około 120 milionów neuronów na godzinę. Uszkodzeniu podlegają jednak nie tylko obszary mózgowia bezpośrednio dotknięte niedokrwieniem, ale także tkanka z nim granicząca, określana jako tzw. strefa penumbry, czyli półcienia niedokrwiennego. Obszar penumbry stanowi cel potencjalnych strategii neuroprotektoryjnych. Mimo że czynność komórek strefy półcienia zanika, to jednak nie następują w nich natychmiastowe i trwałe zmiany morfologiczne.

PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

- Whisnant J.P., Basford J.R., Bernstein E.F. i wsp.: Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke* 1990; 21: 637–676.
- Warlow C., Sudlow C., Dennis M. i wsp.: *Stroke*. *Lancet* 2003; 362: 1211–1224.
- Adams H.P. Jr, Bendixen B.H., Kappelle L.J. i wsp.: Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993; 24: 35–41.
- Goldstein L.B., Jones M.R., Matchar D.B. i wsp.: Improving the reliability of stroke subgroup classification using the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) criteria. *Stroke* 2001; 32: 1091–1098.
- Ryglewicz D.: Epidemiologia udaru mózgu. W: Szczudlik A., Członkowska A., Kwieciński H., Słowik A. (red.): *Udar mózgu*. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2007: 85–95.
- Chan P.H.: Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 1996; 27: 1124–1129.
- Lee J.M., Zipfel G.J., Choi D.W.: The changing landscape of ischaemic brain injury mechanisms. *Nature* 1999; 399 (6738 suppl.): A7–A14.
- McIlvoy L.H.: The effect of hypothermia and hyperthermia on acute brain injury. *AACN Clin. Issues* 2005; 16: 488–500.
- Iadecola C., Alexander M.: Cerebral ischemia and inflammation. *Curr. Opin. Neurol.* 2001; 14: 89–94.
- Emerich D.F., Dean R.L., Bartus R.T.: The role of leukocytes following cerebral ischemia: pathogenic variable or bystander reaction to emerging infarct? *Exp. Neurol.* 2002; 173: 168–181.
- Nilupul P.M., Ma H.K., Arawaka S. i wsp.: Inflammation following stroke. *J. Clin. Neurosci.* 2006; 13: 1–8.
- Dirnagl U., Iadecola C., Moskowitz M.A.: Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci.* 1992; 22: 391–397.
- Pardridge W.M.: The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development. *NeuroRx* 2005; 2: 3–14.
- Schlachetzki F., Zhang Y., Boado R.J., Pardridge W.M.: Gene therapy of the brain: the trans-vascular approach. *Neurology* 2004; 62: 1275–1281.
- Pardridge W.M.: Blood-brain barrier genomics and the use of endogenous transporters to cause drug penetration into the brain. *Curr. Opin. Drug. Discov. Devel.* 2003; 6: 683–691.

16. Pardridge W.M.: Blood-brain barrier delivery. *Drug Discov. Today* 2007; 12: 54–61.
17. Abbott N.J.: Dynamics of CNS barriers: evolution, differentiation, and modulation. *Cell Mol. Neurobiol.* 2005; 25: 5–23.
18. Abbott N.J., Rönnebeck L., Hansson E.: Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7: 41–53.
19. Anthony D., Dempster R., Fearn S. i wsp.: CXC chemokines generate age-related increases in neutrophil-mediated brain inflammation and blood-brain barrier breakdown. *Curr Biol.* 1998; 8: 923–926.
20. Farkas G., Márton J., Nagy Z. i wsp.: Experimental acute pancreatitis results in increased blood-brain barrier permeability in the rat: a potential role for tumor necrosis factor and interleukin 6. *Neurosci. Lett.* 1998; 242: 147–150.
21. Kim K.S., Wass C.A., Cross A.S.: Blood-brain barrier permeability during the development of experimental bacterial meningitis in the rat. *Exp. Neurol.* 1997; 145: 253–257.
22. Huber J.D., Egleton R.D., Davis T.P.: Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. *Trends Neurosci.* 2001; 24: 719–725.
23. Langford D., Masliah E.: Crosstalk between components of the blood brain barrier and cells of the CNS in microglial activation in AIDS. *Brain Pathol.* 2001; 11: 306–312.
24. Kato H., Walz W.: The initiation of the microglia response. *Brain Pathol.* 2000; 10: 137–143.
25. Allan S., Stock C.: Cytokines in stroke. *Ernst Schering Res. Foun. Workshop* 2004; 47: 39–66.
26. Banks W.A.: Blood-brain barrier transport of cytokines: a mechanism for neuropathology. *Curr. Pharm. Des.* 2005; 11: 973–984.
27. De Simoni M.G.: Two-way communication pathways between the brain and the immune system. *Neurosci. Res. Common.* 1997; 21: 163–172.
28. Emsley H.C., Tyrrell P.J.: Inflammation and infection in clinical stroke. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2002; 22: 1399–1419.
29. Cartier L., Hartley O., Dubois-Dauphin M., Krause K.H.: Chemokine receptors in the central nervous system: role in the brain inflammation and neurodegenerative diseases. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2005; 48: 16–42.
30. Losy J., Zaremba J.: Monocyte chemoattractant protein-1 is increased in the cerebrospinal fluid of patients with ischemic stroke. *Stroke* 2001; 32: 2695–2696.
31. Arakelyan A., Petrakova J., Hermanova Z. i wsp.: Serum levels of the MCP-1 chemokine in patients with ischemic stroke and myocardial infarction. *Mediators Inflamm.* 2005; 2005: 175–179.
32. Hughes P.M., Allegrini P.R., Rudin M.: Monocyte chemoattractant protein-1 deficiency is protective in a murine stroke model. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2002; 22: 308–317.
33. Dimitrijevic O.B., Stamatovic S.M., Keep R.F., Andjelkovic A.V.: Effects of the chemokine CCL2 on blood-brain barrier permeability during ischemia-reperfusion injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2006; 26: 797–810.
34. Dimitrijevic O.B., Stamatovic S.M., Keep R.F., Andjelkovic A.V.: Absence of the chemokine receptor CCR2 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *Stroke* 2007; 38: 1345–1353.
35. Schönemeier B., Schulz S., Hoell V., Stumm R.: Enhanced expression of the CXCL12/SDF-1 chemokine receptor CXCR7 after cerebral ischemia in the rat brain. *J. Neuroimmunol.* 2008; 198: 39–45.
36. Wang Y., Deng Y., Zhou G.Q.: SDF-1 α /CXCR4-mediated migration of systemically transplanted bone marrow stromal cells towards ischemic brain lesion in a rat model. *Brain Res.* 2008; 1195: 104–112.
37. Wang X., Li X., Schmidt D.B. i wsp.: Identification and molecular characterization of rat CXCR3: receptor expression and interferon-inducible protein-10 binding are increased in focal stroke. *Mol. Pharmacol.* 2000; 57: 1190–1198.
38. Terao S., Yilmaz G., Stokes K.Y. i wsp.: Blood cell-derived RANTES mediates cerebral microvascular dysfunction, inflammation, and tissue injury after focal ischemia-reperfusion. *Stroke* 2008; 39: 2560–2570.
39. Yamasaki Y., Matsuo Y., Zagorski J. i wsp.: New therapeutic possibility of blocking cytokine-induced neutrophil chemoattractant on transient ischemic brain damage in rats. *Brain Res.* 1997; 759: 103–111.
40. Mizushima N., Ohsumi Y., Yoshimori T.: Autophagosome formation in mammalian cells. *Cell Struct. Funct.* 2002; 27: 421–429.
41. Uchiyama Y., Shibata M., Koike M. i wsp.: Autophagy-physiology and pathophysiology. *Histochem. Cell Biol.* 2008; 129: 407–420.
42. Alirezaei M., Kemball C.C., Whitton J.L.: Autophagy, inflammation and neurodegenerative disease. *Eur. J. Neurosci.* 2011; 33: 197–204.
43. Komatsu M., Waguri S., Ueno T. i wsp.: Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J. Cell Biol.* 2005; 169: 425–434.
44. Kuma A., Hatano M., Matsui M. i wsp.: The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 2004; 432: 1032–1036.
45. Cuervo A.M.: Autophagy: in sickness and in health. *Trends Cell Biol.* 2004; 14: 70–77.
46. Adhami F., Liao G., Morozov Y.M. i wsp.: Cerebral ischemia-hypoxia induces intravascular coagulation and autophagy. *Am. J. Pathol.* 2006; 169: 566–583.
47. Zhu C., Wang X., Xu F. i wsp.: The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ.* 2005; 12: 162–176.
48. Xue L., Fletcher G.C., Tolkovsky A.M.: Mitochondria are selectively eliminated from eukaryotic cells after blockade of caspases during apoptosis. *Curr. Biol.* 2001; 11: 361–365.
49. Pan T., Kondo S., Zhu W. i wsp.: Neuroprotection of rapamycin in lactacystin-induced neurodegeneration via autophagy enhancement. *Neurobiol. Dis.* 2008; 32: 16–25.
50. Malagelada C., Jin Z.H., Jackson-Lewis V. i wsp.: Rapamycin protects against neuron death in *in vitro* and *in vivo* models of Parkinson's disease. *J. Neurosci.* 2010; 30: 1166–1175.
51. Carloni S., Girelli S., Scopa C. i wsp.: Activation of autophagy and Akt/CREB signaling play an equivalent role in the neuroprotective effect of rapamycin in neonatal hypoxia-ischemia. *Autophagy* 2010; 6: 366–377.
52. Sheng R., Zhang L.S., Han R. i wsp.: Autophagy activation is associated with neuroprotection in a rat model of focal cerebral ischemic preconditioning. *Autophagy* 2010; 6: 482–494.
53. Adhami F., Schloemer A., Kuan C.Y.: The roles of autophagy in cerebral ischemia. *Autophagy* 2007; 3: 42–44.
54. Dennis P.B., Jaeschke A., Saitoh M. i wsp.: Mammalian TOR: a homeostatic ATP sensor. *Science* 2001; 294: 1102–1105.
55. Codogno P., Meijer A.J.: Autophagy and signaling: their role in cell survival and cell death. *Cell Death Differ.* 2005; 12: 1509–1518.
56. Semenza G.L.: Mitochondrial autophagy: life and breath of the cell. *Autophagy* 2008; 4: 534–536.
57. Trapp B.D., Bö L., Mörk S., Chang A.: Pathogenesis of tissue injury in MS lesions. *J. Neuroimmunol.* 1999; 98: 49–56.
58. Justicia C., Ramos-Cabrer P., Hoehn M.: MRI detection of secondary damage after stroke: chronic iron accumulation in the thalamus of the rat brain. *Stroke* 2008; 39: 1541–1547.
59. Stys P.K.: General mechanisms of axonal damage and its prevention. *J. Neurol. Sci.* 2005; 233: 3–13.
60. Lappe-Siefke C., Goebbels S., Gravel M. i wsp.: Disruption of Cnp1 uncouples oligodendroglial functions in axonal support and myelination. *Nat. Genet.* 2003; 33: 366–374.
61. Taylor C.P.: Na⁺ currents that fail to inactivate. *Trends Neurosci.* 1993; 16: 455–460.
62. Stys P.K.: Axonal degeneration in multiple sclerosis: is it time for neuroprotective strategies? *Ann. Neurol.* 2004; 55: 601–603.
63. Stys P.K., Sontheimer H., Ransom B.R., Waxman S.G.: Noninactivating, tetrodotoxin-sensitive Na⁺ conductance in rat optic nerve axons. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1993; 90: 6976–6980.