

Gennem hjernens forsvarsværker

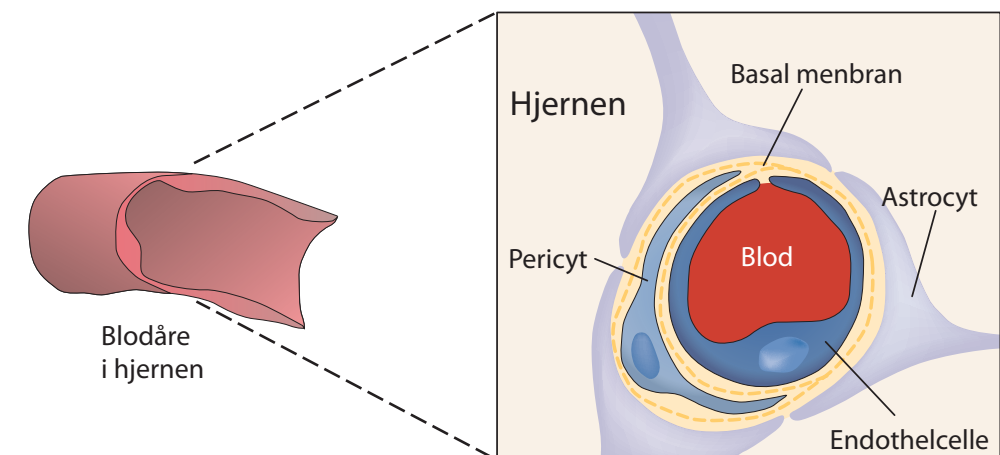
En kunstig blod-hjerne-barriere skabt af celler fra kalve og rotter kan danne grundlag for nye lægemidler til behandling af sygdomme i hjernen.

Af Hans Christian Helms

■ Hjernen er menneskets mest essentielle organ – hjernen gør os til dem vi er, og den styrer alle vores tanker og handlinger. Derfor er det også vigtigt at beskytte hjernen mod skadelige påvirkninger af både fysisk og kemisk karakter. Fysiske påvirkninger kan vi selv styre ved ikke at udsætte hovedet for kraftige slag, men hvad med de kemiske? Vi bliver alle dagligt udsat for et væld af kemiske stoffer, og hvordan undgår vi, at disse skader hjernen? Heldigvis har naturen været forudseende på dette punkt, da den har udstyret os alle med et meget effektivt forsvar – blod-hjerne-barrieren.

Effektiv udsmider

Blod-hjerne-barrieren sidder i de små blodkar, der forsyner hjernen med ilt og næringsstoffer. Barrieren består af en bestemt type celler – endothelceller – der danner indervæggen af blodkarrene. Endothelcellerne sidder i alle blodkar i hele kroppen, men cellerne i



Figur 1. En skematisk repræsentation af blod-hjerne-barrierens opbygning. Blod-hjerne-barrieren sidder i hjernens blodårer. Blodårenes indervægge og den fysiske barriere dannes af endothelcellerne. Uden for blodårene sidder støttecellerne pericytter og astrocytter, som sender signaler til endothelcellerne om at udvikle og opretholde blod-hjerne-barrieren.

blod-hjerne-barrieren adskiller sig fra blodkar i resten af kroppen på nogle vigtige punkter. Hvor der mellem endothelcellerne i almindelige blodkar findes porer, der

tillader udveksling af stoffer mellem blod og omkringliggende væv, er endothelcellerne i blod-hjerne-barrieren bundet ekstremt tæt sammen, så der ikke er den mindste pore eller

sprække i mellem dem. Dette giver en enorm fysisk tæthed og betyder, at stoffer ikke kan trænge ind til hjernen ved at passere imellem cellerne, men i stedet er nødt til at gå direkte



Endothelcellerne isoleres fra en kalvehjerne ved at skrabe det yderste lag – den grå substans – af hjernen. Den grå substans indeholder de fleste af de blodårer, der forsyner hjernen.

gennem cellerne. Blod-hjernebarrieren er dog også forsynet med en kemisk tæthed, idet den besidder specielle enzymer samt en række transportproteiner. Disse fungerer som effektive udsmidere og pumper uvedkommende stoffer tilbage til blodet. Samtidig har blodhjernebarrieren transportproteiner, der fungerer som porte for de specifikke stoffer, som hjernen har brug for – eksempelvis næringsstoffer.

Sammenlagt gør dette blodhjernebarrieren til et ekstremt selektivt system, som kun lader få udvalgte stoffer passere.

Endothelcellerne er dog ikke alene om at være ansvarlige for barrieren. Umiddelbart uden for blodårerne sidder andre celler; astrocytter og pericytter. Disse celler kommunikerer med endothelcellerne og instruerer

disse til at danne den tætte barriere. Uden signalerne mister endothelcellerne hurtigt deres barriereegenskaber og bliver utætte – ligesom blodkar fra andre dele af kroppen.

Svært at få medicin ind i hjernen

Blod-hjernebarrieren er helt central for vores eksistens. Den beskytter hjernen mod forgiftninger fra miljøet og sørger samtidig for, at hjernen kan opretholde det helt specifikke miljø, som de fintfølede hjerneceller kræver. Paradoksalt nok er blod-hjernebarrieren dog samtidig et af de største problemer, når det drejer sig om bekæmpelse af sygdomme i hjernen såsom Alzheimers, Parkinsons sygdom eller cancer. Barrieren blokerer nemlig alle stoffer, der genkendes som

fremmedlegemer, og det gælder ikke kun skadelige stoffer. Det gør det meget besværligt at finde ny medicin, der både har en god virkning mod sygdommen og kan trænge igennem blod-hjernebarrieren.

Det anslås, at 95 procent af alle testede lægemiddelstoffer til behandling af sygdomme i hjernen dumper, fordi de ikke kan passere blod-hjernebarrieren. Dette opdages ofte sent i udviklingsprocesserne, når stofferne testes i dyreforsøg, hvilket medfører et stort ressourcespild. Der er derfor behov for at udvikle hurtigere og simple teknikker til at undersøge stoffers evne til at gennemtrænge blod-hjernebarrieren – dels for at kunne teste flere mulige nye lægemidler i store screeningsprogrammer, dels for at mindske antallet af forsøgsdyr.

Laboriemodel efteraber virkeligheden

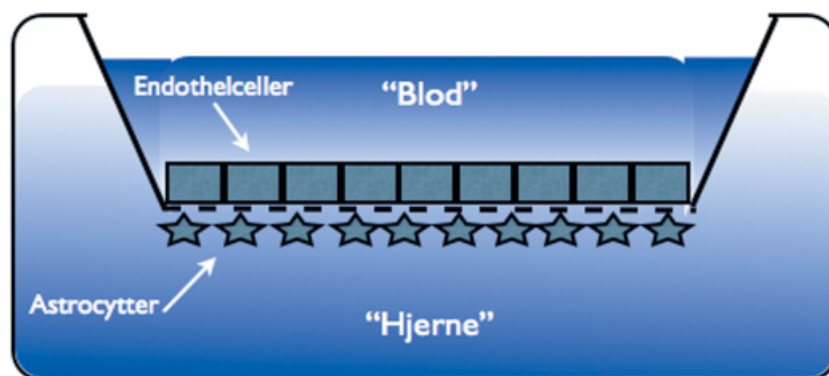
Forskningsgruppen *Drug Transporters in ADME* på Det Farmaceutiske Fakultet, Københavns Universitet, arbejder på et projekt, som fokuserer på udviklingen af en kunstig såkaldt *in vitro*-model af blod-hjernebarrieren i laboriet. Modellens hovedbestanddel er endothelceller fra kalvehjerner, som skaffes fra nyligt slagtede kalve. Små blodkar isoleres ved hjælp af mekanisk homogenisering og enzymatisk nedbrydning. Herefter kan blodkarrene dyrkes i et passende næringsmedium, hvorved endothelceller vokser frem som små kolonier. Disse celler kan så plades ud på et filter med små huller og dyrkes i næringsmedium.

Som nævnt tidligere er endothelcellerne dog afhængige af

deres naturlige vækstmiljø for at kunne danne blod-hjerne-barrieren. Dette miljø bevares i modellen ved at udså astrocytter sammen med endothelcellerne. Astrocytterne isoleres fra rottehjerner, og kan herefter udsås på bunden af filtret med endothelceller. Herved opnås et system, der efterligner blod-hjerne-barrierens opbygning, og som kan bruges til nemt at teste stoffers evne til at nå hjernen. Filtret med cellerne er placeret som skillevæg mellem to kamre. Det øverste kammer i kontakt med endothelcellerne repræsenterer blodet i et blodkar, mens det nederste kammer med astrocytterne repræsenterer hjernen. Ved at tilsætte et stof i øverste kammer og derefter måle, hvor meget der gennemtrænger cellerne og bevæger sig til det nederste kammer fås et mål for stoffets evne til at gennemtrænge den virkelige blod-hjerne-barriere.

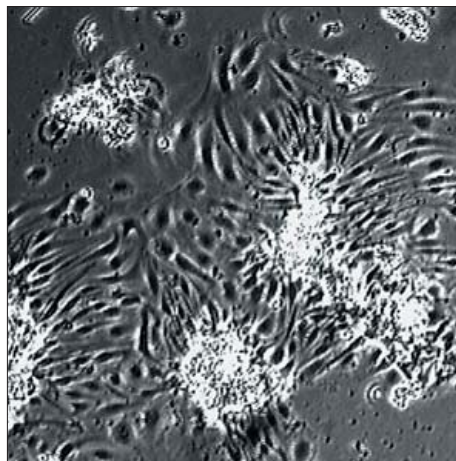
Før modellen kan bruges som alternativ til dyreforsøg, skal det dog fastslås, om den har egenskaber svarende til den rigtige blod-hjerne-barriere. Her er det vigtigt, at modellen efterligner både den fysiske og den kemiske tæthed. Dette er delvist lykkedes, da modellen foreløbigt efterligner den fysiske tæthed, mens den kemiske tæthed stadig skal forbedres. Modellen er altså i stand til effektivt at lukke af for transport af stoffer mellem cellerne, mens transporten gennem celler endnu ikke er endelig undersøgt. For at fastslå hvor god modellen egentlig er, skal den gennemgå et testbatteri af forskellige stoffer, hvis evne til at gennemtrænge barrieren er kendt fra mennesker eller dyr. Det kunne eksempelvis være allerede tilgængelige lægemidler – det kunne være beroligende eller anti-epileptiske – samt lægemiddelstoffer, der er blevet stoppet i udviklingsfasen pga. manglende evne til at gennemtrænge blod-hjerne-barrieren. Der venter altså stadig et stort arbejde i forskningsgruppen med at fastslå kvaliteten af den nuværende model og eventuelt forbedre den.

Dyrkning af endothelcellerne og astrocytter

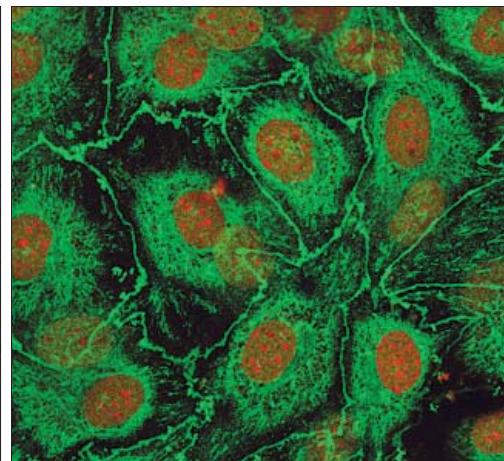


Figur 3: Endothelcellerne og astrocytterne dyrkes sammen på et filter forsynet med porer. Endothelcellerne dyrkes på toppen af filtret, hvor de kan danne en tæt barriere, mens astrocytterne dyrkes under filtret, hvorfra de kan sende signaler til endothelcellerne. Den øverste brønd repræsenterer den

indre blodåre, mens den nederste brønd repræsenterer hjernen. Når et lægemiddelstof testes i modellen, tilsættes det den øverste brønd. Efter et givent tidsforløb kan det måles, hvor meget stof der er passeret til den nederste brønd, og derved findes stoffets evne til at gennemtrænge blod-hjerne-barrieren.



De isolerede stykker blodåre, der ses som lysende klumper dyrkes i næringsmedium. Herved gror endothelcellerne frem og spreder sig, hvor de ses som små mørke øer.



Endothelceller udsæt på et filter set fra oven. Det røde viser cellernes kerner, mens det grønne viser de proteiner, der er ansvarlige for at binde cellerne tæt sammen.

Et supplement til dyreforsøg

Som det ser ud nu, kan den laboratoriskabte blod-hjerne-barriere ikke fjerne behovet for dyreforsøg. Barrieren er først og fremmest en forenklet model af virkeligheden, der ikke kan hamle op med en rigtig hjernes kompleksitet. Til gengæld er modellen et oplagt værktøj til at mindske antallet af nødvendige dyreforsøg. Hvis modellen anvendes i screeningsprogrammer af mulige nye lægemiddelstoffer, vil den kunne udvælge de bedste alternativer, som efterfølgende kan

afprøves i dyr for at opnå det fulde overblik over stoffernes evne til at gennemtrænge blod-hjerne-barrieren.

Derudover giver modellen nye muligheder for et andet aspekt i udviklingen af nye lægemidler til behandling af hjernens sygdomme. I stedet for at gå målrettet efter stoffer, der af sig selv kan gennemtrænge blod-hjerne-barrieren, kan man forsøge at ændre på lægemiddelstoffer, som ikke af sig selv kan gennemtrænge blod-hjerne-barrieren, men som man ved, ville have en effekt, hvis de kunne. Eksem-

pelvis kan man forsøge at koble det ønskede lægemiddelstof sammen med et molekyle, som hjernen har brug for, og som derfor lukkes over barrieren af en af de tilstedeværende transportører, som på den måde "smugler" lægemiddelstoffet gennem blod-hjerne-barrieren. Dette er forsøgt med gode resultater, men også dette kræver rigtig mange forsøg.

Modellen kan altså endnu ikke erstatte dyreforsøg, men den kan mindske omfanget og samtidig skabe mere eksperimentel viden om blod-hjerne-

barrierens egenskaber, og hvilke stoffer der kan gennemtrænge den.

Lighed mellem arterne

Man kan med rette stille spørgsmålstegn ved, om det overhovedet er muligt at få mere at vide om den menneskelige hjerne ved at sammenligne resultater med celler fra en ko? Der er i virkeligheden stor lighed mellem arterne på cellulært niveau, dvs. hvis et stof kan gennemtrænge blod-hjerne-barrieren på en ko, vil det sandsynligvis kunne gøre det samme i et menneske. Det kan dog ikke udelukkes, at der kan være forskel, hvilket også er en af grundene til, at modellen ikke vil kunne erstatte dyreforsøg fuldstændigt. Men hvorfor så ikke bare bruge menneskeceller i stedet? Dette er for søgt tidligere, men det har vist sig, at endothelceller fra mennesker har haft meget svært ved fastholde barriereegenskaberne i laboratoriet, og det har givet utætte barrierer. Cellerne fra køer har derimod vist sig at være gode til holde på deres egenskaber og er derfor velegnede til at

In vitro-forsøg

In vitro er latin og betyder direkte oversat "i glas". Betegnelsen bruges om forsøg, der foretages uden for en levende organisme, dvs. strengt taget alt der ikke er dyre- eller menneskeforsøg. In vitro-forsøg benyttes ofte til at undersøge små detaljer i en biologisk proces eller som indledende undersøgelser i en længere udviklingsproces. Fordele ved in vitro-forsøg er hovedsageligt, at de er billige og nemme at udføre. Samtidig kan man se på en isoleret hændelse, uden at en masse andre faktorer fra kroppen spiller ind. Til gengæld er in vitro-forsøg normalt en forsimpning af virkeligheden, der stort set aldrig kan overføres direkte, da kroppen fungerer i et kompliceret samspil, som in vitro-forsøg har svært ved at efterligne.

Om forskningsgruppen

Forskningsgruppen *Drug Transporters in ADME* arbejder med transportører i kroppens barrierevæv – f.eks. tarmen, nyrerne og blod-hjerne-barrieren. Når væv er designet til at blokere adgangen for et bredt udsnit af kemiske forbindelser, findes der som regel samtidig nogle specifikke transportører. Disse er ansvarlige for at lukke vigtige stoffer over barrieren som næringsstoffer og mineraler. Ved at opnå bedre viden om transportører, kan man udnytte disse, når nye lægemidler skal designes, så lægemidlerne bedre optages i kroppen.

etablere en laboratiemodell.

Det er en stor udfordring at finde på metoder til at omgå hjernens komplicerede for-

svar. Den kunstigt skabte blod-hjerne-barriere-model kan vise sig at blive et vigtigt værktøj til at finde den rette vej. ■

Om forfatteren



Hans Christian Helms er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi Det Farmaceutiske Fakultet, Københavns Universitet. E-mail: hch@farma.ku.dk Tlf: 35 33 64 76

Videre læsning

Artikel fra *Ingeniøren*:
Kunstig hjernebarriere udvikles til medicinindustri:
<http://ing.dk/artikel/98340-kunstig-hjernebarriere-udvikles-til-medicinindustri>

Forskningsgruppen *Drug Transporters in ADME* på Det Farmaceutiske Fakultet:
<http://www.farma.ku.dk/index.php/Drug-Transporters-in-ADME/437/0/>

Kold tyrker bedre end medicin

En artikel publiceret i onlinetidsskriftet *PLOS medicine* peger på, at den generelle dagsorden for at få folk til at holde op med at ryge er forvredet af interesser i at gøre rygestop til et medicinsk eller professionelt medieret anliggende. Simon Chapman og Ross S. MacKenzie fra University of Sydney har imidlertid fundet, at mellem 66 og 75 % af ex-rygerne har kvittet smøgerne uden nogen form for hjælp. I kontrast til dette er langt de fleste publicerede artikler om rygestop, studier af "assisteret" rygestop ved hjælp af forskellige behandlinger. Og mange af disse studier er finansieret af medicinalvirksomheder, der sælger produkter til formålet. Omvendt er meget få – og muligvis ingen – studier af "uassisterede" rygestop finansieret af sådanne virksomheder.

Forfatterne slår derfor til lyd for, at sundhedsmyndigheder verden over bør lægge vægt på det positive budskab, at den mest succesfulde metode til rygeafvænning er uafhængig af hjælpemidler.

Redaktionen af *PLOS medicine* har i forlængelse af bl.a. denne artikel taget det principielle skridt, ikke længere at acceptere manuskripter, hvor forskningen helt eller delvist er finansieret af tobaksindustrien. I deres begrundelse fremhæver de bl.a., at tobaksindustriens interesse i medicinske undersøgelser ikke kan have et sundhedsmæssigt sigte, da tobak indiskutabelt er dårligt for helbredet. Dermed er sundhedsforskning sponsoreret af tobaksindustrien reelt at regne for markedsføring, mener *PLOS medicine*.

CRK, Kilde: *PLoS Medicine* 7(2): e1000216.
doi:10.1371/journal.pmed.1000216

