

Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo

Escobar Alfonso,* Gómez González Beatriz*

RESUMEN

La barrera hematoencefálica (BHE) es una estructura compleja constituida por células endoteliales de la red capilar del sistema nervioso central (SNC). Además, participan funcionalmente los pericitos, la lámina basal abluminal, los astrocitos perivascuales y la microglía. El endotelio de los capilares cerebrales se caracteriza porque cada borde celular está íntimamente unido a la célula adyacente que hace impermeable a la pared interna del capilar. En los mamíferos la BHE regula y restringe el acceso al parénquima nervioso de múltiples sustancias y moléculas que circulan en la sangre, para mantener la homeostasis del microambiente químico del SNC.

El sellado del endotelio se asocia a tres proteínas: claudina, ocludina y moléculas de adhesión de la unión, y a otras proteínas citoplasmáticas accesorias, tales como ZO1, ZO2, ZO3 y cingulina. La actina también participa. Las claudinas son importantes para la unión estrecha intercelular. Las claudinas – 1 y – 5 con la ocludina forman la BHE. La ocludina es una fosfoproteína. Las moléculas de adhesión de la unión pertenecen a las inmunoglobulinas; aunque hasta ahora no se sabe que papel desempeñan en la BHE.

Las funciones implícitas en la BHE son protección al cerebro y transporte selectivo de la red capilar al parénquima cerebral. La BHE es la estructura esencial de difusión en el SNC. Las sustancias atraviesan la BHE por: caveolas, transcitosis mediada por receptores, difusión transmembranal y mecanismos de acarreo y transportadores. También por vía retrógrada de flujo axónico. Aunque la BHE parece implicar total impermeabilidad, en realidad posee características de permeabilidad selectiva, constituye en sí un tipo de filtro activo que regula el flujo por medio de sus elementos estructurales y metabólicos. El endotelio capilar es la estructura que restringe el paso de las moléculas hidrofílicas al tejido nervioso. Los componentes que regulan el intercambio son los transportadores y enzimas que dejan cruzar elementos esenciales, como aminoácidos, glucosa, transferrina y sustancias neuroactivas como neuromoduladores y sus análogos, sustancias liposolubles como alcohol y esteroides.

En el cerebro hay áreas desprovistas de BHE. La mayoría de esas áreas se hallan alrededor de los ventrículos cerebrales, lo cual justifica la designación de órganos circunventriculares: los plexos coroides, el órgano vasculoso de la lámina terminal, el órgano subfornical, el órgano subcomisural, la eminencia media, la glándula pineal, la neurohipófisis, y el área postrema. Esas áreas sin BHE permiten el libre intercambio bidireccional de moléculas sanguíneas con las neuronas del parénquima cerebral adyacente, y contribuyen a regular el sistema nervioso autónomo y las glándulas endocrinas.

Existen diversas condiciones neuropatológicas en las que se modifica el funcionamiento normal de la BHE, como hipoxia e isquemia. El estrés también constituye un factor importante que afecta el funcionamiento y desarrollo de la BHE; en el mamífero adulto el estrés agudo aumenta la permeabilidad de la BHE a macromoléculas circulantes en la sangre. Durante etapas tempranas del neurodesarrollo, el estrés altera la maduración de la BHE; en un modelo experimental en la rata se encontró que la exposición a estrés prenatal o postnatal aumentó la permeabilidad de la BHE al colorante azul de Evans en prácticamente todo el encéfalo.

Palabras clave: barrera hematoencefálica, unión estrecha, desarrollo, estrés, azul de Evans.

Blood-brain barrier. Neurobiology, clinical implications and effects of the stress on his development

ABSTRACT

The blood-brain barrier (BBB) is an essential diffusion system to the central nervous system (CNS) function. BBB controls access to the nervous tissue of a significant number of compounds normally circulating in the blood, thus keeping homeostasis in the CNS microenvironment. Functions of the BBB include protection to the brain, selective transport from brain capillaries to the nervous tissue, and metabolism or modification of blood elements that will get into the nervous tissue. Tight junctions of the capillary endothelial cells form the BBB, thus making brain capillary wall impermeable. Other participant cells are pericytes, the abluminal basal lamina, perivascular astrocytes and microglia. The endothelial cells in the other body organ capillaries are fenestrated. However, the BBB constitutes a structure of selective permeability with active transporters and enzymes that allow crossing of essentials such as aminoacids, glucose, and transferrin, plus other liposoluble elements among them steroids, and alcohol. Crossing of BBB is associated to the inherent chemical properties of each element. Several membrane proteins: claudins, occludin, junctional adhesion molecules, ZO1, ZO2, ZO3, cingulin, constitute the molecular bases of the BBB. Actin is essentially associated to the endothelial tight junctions.

In some areas of the brain capillary endothelial cells do not form tight junctions, thus allowing free bi-directional exchange of molecules between blood and neurons in the adjacent cerebral parenchyma. Most of those areas deprived of BBB are close to the ventricular cavities in the brain, and are therefore called circunventricular organs: the choroid plexuses, the organum vasculosum of the lamina terminalis, the subfornical organ, the subcommissural organ, the median eminence, the pineal gland, the neural lobe of the pituitary gland, and the area postrema.

In general, substances and molecules can cross the BBB by several mechanisms: vesicular mediated transport, receptor mediated transcytosis, transmembranal diffusion, transport systems. Also retrograde axonic flow that eludes the BBB.

Stress is known to be an important factor that impairs development of structures during ontogenesis in the brain. The BBB among other structures. An experimental study was done in our laboratory in order to assess the effects of prenatal and postnatal stress on the BBB development in an altricial mammal, the rat. Chronic perinatal stress increased BBB permeability to Evans blue in the whole brain.

Key words: Blood-brain barrier, tight junction, development, stress, Evans blue.

* Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria.

INTRODUCCIÓN

La barrera hematoencefálica (BHE) es la estructura morfológica constituida por las células del endotelio vascular. Además, otros componentes celulares que apoyan en forma secundaria a la BHE incluyen a los pericitos que se encuentran en la lámina basal abluminal, los astrocitos perivasculares cuyas prolongaciones forman pies terminales alrededor de los capilares, la lámina basal de la pared capilar y la microglía (Figura 1). El endotelio de los capilares cerebrales que forman la BHE se caracteriza porque cada borde celular está íntimamente unido a la célula adyacente, sella de ese modo la hendidura intercelular lo que hace impermeable a la pared interna del capilar cerebral. Adicionalmente, el endotelio de los capilares encefálicos que forman la BHE es continuo, a diferencia del endotelio presente en los otros tejidos corporales; en los que el endotelio es fenestrado y por ende permeable.^{1,2} La BHE regula el intercambio entre la sangre circulante y el tejido nervioso. La BHE es un sistema de difusión, esencial para el buen funcionamiento del sistema nervioso central (SNC). La BHE como sistema de difusión restringe el acceso al parénquima nervioso de un sinnúmero de compuestos que circulan en la sangre. En sí, la BHE conforma un mecanismo de intercambio bidireccional de la interfase del componente intravascular y el parénquima cerebral, provee al cerebro con los nutrientes esenciales y se encarga del eflujo de productos de desecho, lo cual permite mantener la homeostasis del microambiente químico del SNC. Otras funciones de la BHE incluyen

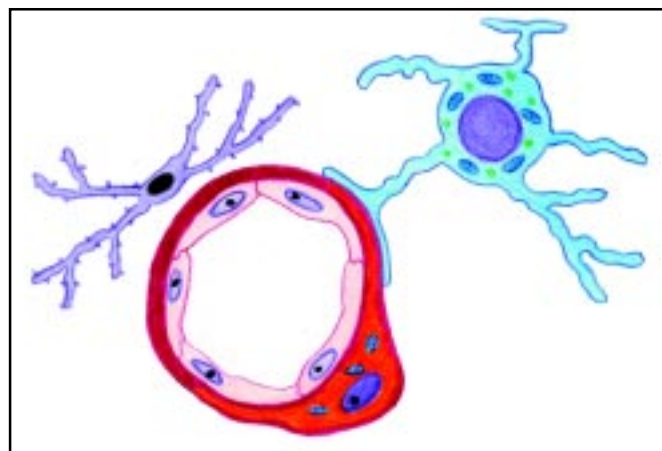


Figura 1. Componentes celulares de la barrera hematoencefálica. En color rosa se esquematizan las células endoteliales, en color naranja aparecen los pericitos, en color azul se observa un astrocito con su pie perivascular, en color morado aparece la microglía y en rojo la lámina o membrana basal.

la protección del SNC para evitar los efectos deletéreos de agentes potencialmente neurotóxicos que comúnmente circulan en la sangre, así como el transporte activo y la difusión de sustancias neuroactivas desde la periferia o sea desde los capilares del sistema circulatorio al tejido nervioso, y el metabolismo de sustancias del SNC y de la sangre.³⁻⁵ Ese conjunto de funciones lo desempeña exitosamente la BHE para el control del intercambio de esas sustancias neurobiológicamente relevantes.

En resumen, tres funciones importantes se hallan implícitas en la BHE:

1. Protege al cerebro de los compuestos y las moléculas circulantes en la corriente sanguínea gracias a las bien consolidadas uniones estrechas del endotelio de los capilares cerebrales, lo cual permite que sólo el oxígeno, la glucosa, aminoácidos y otros nutrientes esenciales crucen la BHE.
2. Transporte selectivo desde la red capilar al parénquima cerebral, por medio de transporte facilitado como ocurre con la glucosa, o bien por difusión activa que depende del ATP.
3. La BHE metaboliza o modifica elementos de la sangre hacia el tejido nervioso y viceversa.

Desde un punto de vista molecular⁶ las uniones estrechas en el endotelio se asocian a tres proteínas integrales de la membrana: claudina, ocludina y moléculas de adhesión de la unión,⁷⁻¹⁰ así como algunas proteínas citoplasmáticas accesorias, tales como ZO1, ZO2, ZO3 y cingulina. Las proteínas del citoplasma están ligadas a la actina, proteína primaria del citoesqueleto, esencial para el mantenimiento estructural y funcional del endotelio. Las claudinas, fosfoproteínas de 22 kDa son los componentes más importantes de la unión estrecha intercelular (UEI). Asociadas las claudinas -1 y -5 con la ocludina forman la BHE. La ocludina es también una fosfoproteína de 65 kDa. Las moléculas de adhesión de la unión, de aproximadamente 40 kDa, pertenecen a la familia de las inmunoglobulinas; sin embargo, hasta ahora no se sabe con precisión cuál es el papel que desempeñan en la función de la BHE. Las proteínas citoplasmáticas accesorias son proteínas de la zonula ocludens (ZO1, ZO2, ZO3) cingulina, 7H6 y algunas otras; el peso en kDa oscila entre 220 y 130 kDa, pertenecen a la familia de proteínas conocidas como proteína guanilato-cinasa asociada a la membrana (MAGUK).¹¹ La actina se liga con la porción terminal de estas proteínas y así se ancla la unión estrecha al citoesqueleto de las células endoteliales. Las cadherinas son un tipo de proteínas de la membrana que forman

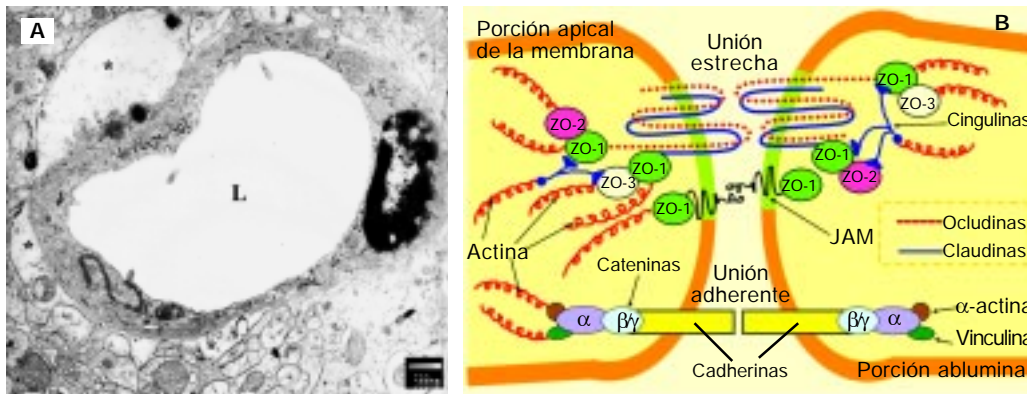


Figura 2. Unión estrecha entre las células endoteliales de la BHE. **A.** Microfotografía al microscopio electrónico que muestra la unión estrecha en un capilar del hipocampo de la rata, * indican pies perivasculares de astrocitos. **B.** Proteínas que forman el complejo de unión entre las células endoteliales de la BHE (unión estrecha y unión adherente).

uniones adherentes, se unen a la actina por medio de cateninas para formar el contacto adhesivo intercelular e interactúan con las UEIs (Figura 2).

Astrocitos y BHE.^{12,13} El papel que desempeñan los astrocitos en el desarrollo y mantenimiento de la BHE se halla, hasta ahora, sujeto a controversia. Con base en una serie de experimentos de trasplante y cultivo de células se concluyó que la glía astrocitaria es esencial para el desarrollo de la BHE;¹⁴ sin embargo, otros investigadores criticaron y pusieron en duda la validez de esos experimentos (de cultivo de células y de trasplante) y consideran que los astrocitos no son necesarios para el desarrollo ni para el mantenimiento de la BHE.¹⁴ El factor de crecimiento transformante beta (TGFb), que secretan los astrocitos, inhibe el activador de plasminógeno y el anticoagulante trombomodulina; posiblemente esto puede proteger al cerebro de las hemorragias parenquimatosas e intraventriculares, sobre todo las que ocurren en los bebés prematuros.¹⁵ También se ha postulado que el factor de crecimiento neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) parece tener efectos favorables para la maduración de la BHE. Todo esto sugiere que los astrocitos constituyen un factor importante en la morfogénesis y organización de la pared vascular. Asimismo, la asociación de glía y endotelio en co-cultivo produce aumento de la aquaporina-4 en los pies terminales de los astrocitos.¹⁶ Otros hallazgos de estudios experimentales sugieren que el endotelio de los capilares cerebrales puede tener efectos sobre la neurogénesis y gliogénesis y, por ende, en el desarrollo cerebral. No hay duda que los astrocitos desempeñan un papel importante en el mantenimiento de las propiedades de la BHE.

PERICITOS Y BHE

Los pericitos son células de la adventicia, con capacidad contráctil, que envuelven a las células

endoteliales, junto a la lámina basal abluminal, de arteriolas, vénulas y capilares.¹⁷ Se considera que los pericitos dan apoyo estructural y capacidad vasodinámica a la red microvascular y, además, contribuyen a la estabilidad de la pared vascular. Esta función se ve apoyada por la pérdida de pericitos en los capilares de la retina en casos de diabetes humana que conlleva a la formación de microaneurismas.¹⁸ También los pericitos degeneran en los casos de amiloidosis cerebral, de ahí las hemorragias que caracterizan a esa enfermedad.¹⁹ En estudio experimental de cultivo de tejido endotelial y astrocitos, los pericitos evitan la apoptosis del endotelio y obviamente se concluye que los pericitos son elementos esenciales para la angiogénesis, integridad y diferenciación de la BHE.²⁰

MICROGLÍA Y BHE

Las células de microglía perivascular, diferentes de la microglía de parénquima cerebral²¹ se originan en la médula ósea y migran al cerebro.²² Dado que la microglía es de hecho un macrófago, puede desempeñar funciones importantes en los mecanismos de ruptura de la BHE, en la interfase entre los vasos sanguíneos y el neurópilo, como ocurre en las enfermedades inflamatorias y autoinmunes en los que se incluye la migración transendotelial de monocitos y neutrófilos.²³⁻²⁵ Véase descripción de los mecanismos moleculares en la patología clínica y ruptura de la BHE.

Aunque el término BHE parece implicar una total impermeabilidad, en realidad posee características de permeabilidad selectiva.¹⁻⁵ Esto no significa que la BHE sea una barrera pasiva entre el cuerpo y el cerebro, más bien constituye un tipo de filtro activo que regula el flujo entre los dos compartimientos por medio de sus elementos estructurales y metabólicos. El endotelio de los capilares con la unión estrecha entre sus células constituye la estructura más efectiva que restringe el

paso libre de las moléculas hidrofílicas hacia el cerebro. Los componentes activos que regulan el intercambio en ambas direcciones son los transportadores y enzimas que permiten el paso de elementos esenciales, como los aminoácidos, glucosa y la transferrina. Entre las sustancias neuroactivas que pueden ser transportadas están algunos neuromoduladores y sus análogos, sustancias liposolubles como el alcohol y los esteroides que atraviesan la membrana endotelial libremente.

En general las sustancias pueden atravesar la BHE por medio de cuatro vías diferentes:

- Penetración por caveolas y transcitosis.
- Difusión transmembranal.
- Mecanismos de acarreo y transportadores.
- Transporte por vía retrógrada de flujo axónico que elude la BHE.

Según las propiedades químicas inherentes a cada sustancia le permite cruzar la BHE. Las características que influyen en la permeabilidad incluyen la solubilidad en lípidos, el peso molecular y la capacidad para formar complejos electro-neutrales. Algunas sustancias neuroactivas como la α MSH cruzan la BHE por medio de este último mecanismo. Sin embargo, el mecanismo más usual por el que las sustancias cruzan la BHE es por medio de receptores o por transportadores. Para ello la sustancia debe ligarse a un receptor en el endotelio, y luego el complejo receptor-ligando debe asociarse con endosomas para entrar al citoplasma de la célula endotelial. Una vez en el citoplasma el ligando debe separarse del receptor y una vez liberado el ligando pasa por exocitosis al otro lado de la BHE. Este mecanismo de acarreo, útil para las sustancias liposolubles como los péptidos (la α MSH es un ejemplo). Otras sustancias neuroactivas utilizan transportadores específicos para el cruce de la BHE. De hecho la BHE puede operar en ambas direcciones; el transporte unidireccional se lleva a cabo de la sangre al parénquima nervioso como en el caso de la leucoencefalina o en dirección opuesta como en los neuropéptidos Tyr-MIF-1 y la Met-enkefalina, esta última parece depender del sistema de transporte peptídico-1 que acarrea péptidos pequeños del cerebro a la sangre. El sistema de transporte bidireccional ha sido descrito para la hormona liberadora de gonadotropina. No se debe olvidar que algunas neurotoxinas y virus pueden alcanzar el parénquima cerebral por medio del transporte axónico neuronal retrógrado desde las terminales sensitivas y, por lo tanto, eludir de ese modo la BHE, como es el caso del virus de la rabia y de la toxina tetánica.

Ontogenia de la BHE

El desarrollo de la BHE se halla íntimamente asociado al proceso de vasculogénesis y a la proliferación endotelial; la vascularización del tubo neural forma al comienzo el plexo perineural en el día embrionario E2 en el pollo y en el E9 en los roedores;^{26,27} del plexo vascular perineural brotan múltiples ramificaciones (angiogénesis) que invaden en forma radial la matriz germinal del neuroectodermo, en el día E4 para el pollo y el día E11 para los roedores; la angiogénesis es máxima al principio del periodo posnatal, disminuye paulatinamente en la medida que el animal se desarrolla. La vascularización del parénquima tiende a establecer anastomosis abundantes con los vasos cercanos, anastomosis que eventualmente constituyen un denso plexo periventricular.^{28,29} Al igual que en otras estructuras del SNC hay un periodo de desarrollo y maduración de la BHE. En estudios experimentales se estableció que en el pollo la BHE inicia el desarrollo en el día E13, y aproximadamente al mismo tiempo en el ratón. Esos estudios también han precisado que el desarrollo de la BHE ocurre en forma secuencial, desde la médula espinal hacia otras estructuras del SNC. Asimismo, en un principio se consideró que un factor angiogénico como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) en sus variedades ácida y básica podría activar receptores específicos que determinasen la migración y la proliferación de las células endoteliales; sin embargo, posteriormente se descubrió el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) factor específico para angiogénesis, remodelación y supervivencia de los vasos sanguíneos embrionarios, y proliferación endotelial, en sus variedades VEGF R1 y VEGF R2.³⁰ Otros factores angiogénicos se han identificado, pero hasta ahora no hay evidencia definida sobre los mecanismos que desempeñan cada uno de ellos en la angiogénesis cerebral. Como ya se hizo mención al principio de este trabajo, las células endoteliales de los capilares cerebrales, íntimamente unidas unas con otras, constituyen la base morfológica y funcional de la BHE. Los capilares cerebrales embrionarios dejan de ser fenestrados para pasar a ser capilares continuos. El proceso por el cual las células endoteliales adquieren las características para formar la BHE es, en sí, un proceso que se desarrolla topográficamente en forma progresiva alternadamente de una región a otra, aunque hasta ahora no existen mapas que indiquen con precisión cuál es la secuencia de formación de la BHE (Figura 3). En la maduración de la BHE ocurren cambios en el fenotipo de las células endoteliales. El primer cambio demostrado es la expresión del transpor-

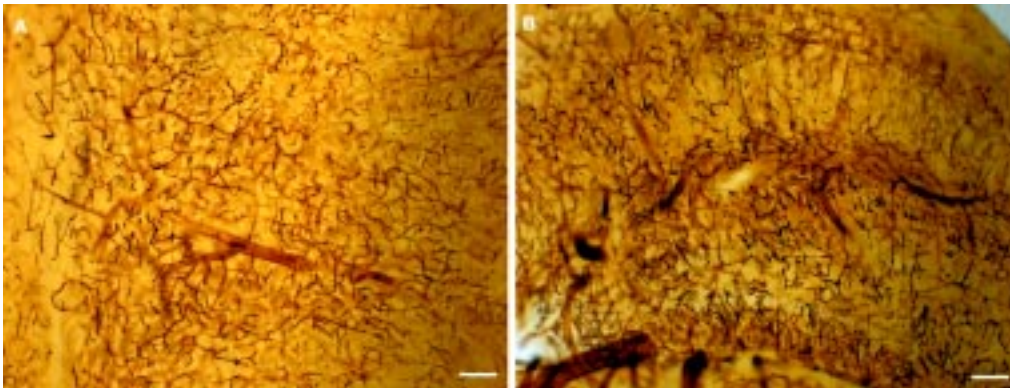


Figura 3. Patrón de vascularización diferencial en el encéfalo de la rata juvenil. **A.** Corteza somatosensorial. **B.** Hipocampo. Vasos sanguíneos marcados con el conjugado WGA-peroxidasa. Barra de escala: 100 μ m.

tador de glucosa (Glut1) en las ramificaciones de los vasos que penetran en el tubo neural; el Glut1 aumenta significativamente en las células endoteliales,³¹ aumento progresivo en la medida que el requerimiento de glucosa aumenta con el crecimiento del SNC. Además, se ha demostrado en etapas tempranas de la angiogénesis, la expresión de la tirosina-cinasa lyn y de genes que codifican para la glicoproteína P; esta última localizada en la capa luminal de las células endoteliales aunque también se ha localizado en los pies terminales de los astrocitos, es esencial para la diferenciación de la BHE, y para remover metabolitos y moléculas lipofílicas tóxicas que se generan en el neuroectodermo y proteger al cerebro en desarrollo de los que ingiere la madre, ya que la barrera placentaria es ineficiente ante las moléculas lipofílicas.³² En una primera fase se observa la inducción de genes específicos como el lyn y la glicoproteína P en las células endoteliales. En una segunda fase esas células endoteliales “comprometidas” en interacción con el neuroectodermo inducen la maduración de la BHE. Otra característica fenotípica de la BHE es el antígeno HT7 cuya expresión en las células endoteliales de la BHE y su ausencia en los capilares de los órganos circunventriculares y de los capilares corporales fuera del SNC lo hace significativo para la diferenciación de la BHE.³³⁻³⁵

Todo lo anterior señala que una variedad de factores celulares participa para iniciar inducción de las características de la BHE en el neuroectodermo en desarrollo y en el endotelio vascular inmaduro. Neuroblastos, células neuroepiteliales, glía radial, astrocitos y pericitos, son todas células en contacto con las células endoteliales. El trasplante de cerebro de codorniz induce BHE en los vasos de la cavidad celómica del embrión de pollo, que a su vez manifestaron el antígeno HT7 marcador de la BHE.^{36,37} Ya antes se dijo que los astrocitos, sus precursores y sus pies terminales, que forman una banda perivascular, han sido implicados en

la inducción de la BHE, dado que se hallan muy próximos a las células endoteliales, separados solamente por la lámina basal. Sin embargo, varias evidencias ponen en duda el papel que desempeñan los astrocitos en la formación de la BHE, por ejemplo, también hay astrocitos alrededor de los órganos circunventriculares y allí los capilares son fenestrados. Se concluye que los astrocitos pueden ser necesarios, pero no esenciales para inducir la BHE. Los pericitos, prevalentes en los capilares del tejido nervioso, son otra estirpe celular asociada con las células endoteliales desde etapas tempranas del desarrollo embrionario; hasta ahora se ha establecido que participan en la maduración vascular en asociación con factores como el Tie2/angiopoietina-1, PDGF-B y la molécula de adhesión N-cadherina; la molécula N-cadherina posiblemente participa también en la maduración de la BHE de los mamíferos.

De todo lo anterior se puede decir que la BHE totalmente diferenciada y funcionalmente madura consiste de un sistema celular complejo: las células endoteliales altamente especializadas, los pericitos asociados a la lámina basal, macrófagos (microglía) y los pies terminales de los astrocitos en el espacio perivascular. Queda bien claro que las células endoteliales constituyen en sí la BHE, sus características morfológicas asociadas con proteínas (claudina-5, claudina-3) y otras moléculas hacen un endotelio de características únicas en el cuerpo; sin embargo, la interacción con el conjunto celular adyacente es el prerrequisito para que la BHE sea totalmente funcional.^{38,39}

Órganos circunventriculares y BHE

Es necesario mencionar que en el cerebro existen también áreas cuyos capilares tienen endotelio fenestrado, en otras palabras no poseen BHE con el consecuente libre intercambio de moléculas entre la sangre y las neuronas. Esos sitios se localizan princi-

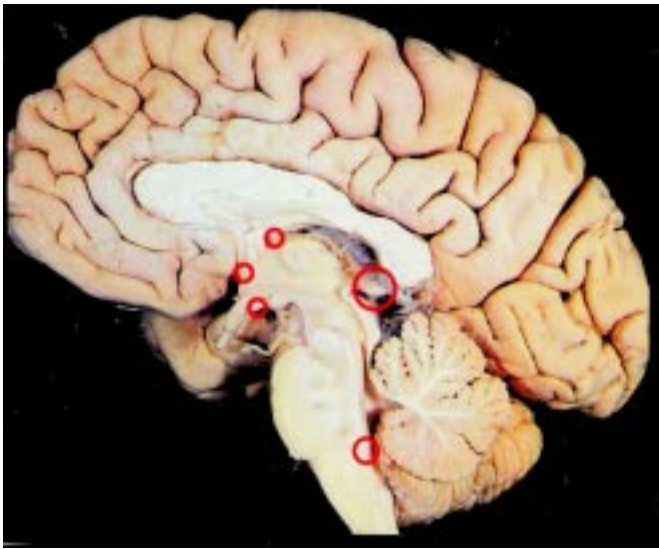


Figura 4. Localización de las estructuras encefálicas que no poseen BHE en el cerebro humano. Encerrados en círculos rojos aparecen la eminencia media en el piso del tercer ventrículo, el órgano vasculoso de la lámina terminalis en la pared anterior del tercer ventrículo, el órgano subfornical en el techo del tercer ventrículo, la glándula pineal y el área postrema en el piso del cuarto ventrículo.

palmente alrededor de las cavidades ventriculares; y por ende son denominados como órganos circunventriculares. En esas estructuras se incluyen el órgano vasculoso de la lamina terminalis (OVLT), el órgano subfornical (OSF), el órgano subcomisural (OSC), la eminencia media, la glándula pineal, la neurohipófisis, y el área postrema (AP) (Figura 4). Se debe hacer mención que los plexos coroides han sido excluidos de la lista de órganos circunventriculares aunque no se explica claramente la razón para ello. La función principal de los plexos coroides es la secreción del LCR; a pesar que sus capilares son fenestrados, el epéndimo que recubre a los plexos coroides establece uniones estrechas intercelulares, con lo que se constituye la barrera sangre-LCR. Asimismo, el OSC posee una red capilar con endotelio no fenestrado y por ende posee BHE, lo cual sería una razón para excluirlo de los órganos circunventriculares. Sin embargo, las células ependimarias del OSC producen una glicoproteína cuya condensación forma la fibra de Reissner, estructura que desciende a lo largo del acueducto de Silvio hasta la entrada al cuarto ventrículo de tal modo que el OSC vierte su secreción al LCR. Es posible que en asociación con el área postrema el OSC contribuya a la osmolaridad y presión del LCR; ésta posible función y otras que se le atribuyen al OSC no han sido confirmadas. Esas áreas desprovistas de BHE en el cerebro constituyen en sí áreas reguladoras para

el sistema nervioso autónomo y las glándulas endocrinas.^{40,41}

Algunos datos históricos

La primera señal de la existencia de la BHE la dio a conocer Paul Ehrlich, en 1885.⁴² Ehrlich observó que la inyección de un colorante (por ejemplo, azul de metileno) en la red vascular venosa o en la arterial en el conejo, teñía todos los tejidos del cuerpo del animal, excepto el tejido nervioso. Poco después uno de los colaboradores de Ehrlich, Edwin E. Goldmann,⁴³ llevó a cabo la inyección del colorante directamente en el LCR, lo cual produjo tinción del cerebro, pero no de los tejidos corporales. Ese hallazgo generó estudios para determinar qué factores anatómicos, bioquímicos o fisiológicos intervenían en esa separación entre el tejido cerebral, el líquido cefalorraquídeo y la circulación sanguínea. El término barrera hematoencefálica fue acuñado por el neurólogo Lewandowsky.⁴⁴ Fue hasta 1967, gracias a estudios de microscopía electrónica de Karnovsky, Brightman y Reese, que se descubrió por medio del marcador peroxidasa de rábano (proteína de 40 kDa) que el endotelio capilar del cerebro tenía uniones intercelulares íntimamente unidas y que allí se localizaba la estructura morfológica que conforma la BHE.⁴⁵

IMPLICACIONES CLÍNICAS Y LA BHE

Dado que la BHE es una estructura cuya impermeabilidad es relativa (vide supra) y la estructura que la conforma requiere de un periodo de maduración, prenatal y posnatal, es de comprender que la integridad de la BHE está sujeta a la acción de múltiples sustancias que pueden modificar o destruir la integridad anatómica y funcional de la BHE y llevarla al estado que se denomina apertura de la BHE. Se conocen mediadores químicos que se liberan en condiciones patológicas y que tienden a aumentar la permeabilidad de la BHE. Sólo para mencionar unos cuantos: glutamato, aspartato, taurina, ATP, endotelina-1, óxido nítrico (NO), TNF- α , MIP-2, IL-1 β , todos producidos por los astrocitos o por las neuronas.⁴⁶ Otros agentes humorales liberados por el mismo endotelio capilar y que también aumentan la permeabilidad de la BHE incluyen bradicinina, 5HT, histamina, trombina, UTP, UMP, sustancia P, ácido quinolínico, factor activador de las plaquetas y radicales libres. Todos esos agentes actúan por mecanismos similares aunque hasta ahora no están precisados.

Hemorragia intraventricular del bebé prematuro

Este evento casi siempre fatal se debe a la ruptura de la red microvascular en la matriz germinal que irrumpe en la cavidad ventricular. Se debe a múltiples factores que indudablemente contribuyen a elevar la presión intravascular sobre un común denominador de una BHE inmadura cuyas paredes vasculares no se hallan totalmente desarrolladas: hendiduras intercelulares en proceso de formar la unión estrecha, pies terminales de los astrocitos, pericitos y membrana basal en vías de completar el desarrollo estructural.⁴⁷ Dado que la hemorragia de la matriz germinal destruye la glía radial y los neuroblastos destinados a poblar las capas II a VI de la neocorteza, se presentan en los pocos sobrevivientes alta frecuencia de convulsiones, retraso mental, parálisis cerebral y, en la mayoría de los afectados, la muerte.

BHE, hipoxia e isquemia en niños y adultos

Cualquier evento hipóxico o isquémico va asociado a alteración de las uniones intercelulares y por ende de la BHE, el evento es mediado por citocinas, factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y NO. Principalmente aumentan las citocinas inflamatorias, IL-1 β y el TNF- α . El aumento de las citocinas y de moléculas de adhesión en las células endoteliales y en los monocitos y neutrófilos conduce a la extravasación de los leucocitos a través del endotelio vascular de la BHE. En otras palabras, la hipoxia/isquemia induce una cascada de eventos, las citocinas, el VEGF, y el NO son los protagonistas, mientras que los astrocitos parecen desempeñar principalmente un papel protector.^{48,49}

BHE en otras patologías. La BHE se afecta también en otras entidades neurológicas como las encefalitis infecciosas, los tumores cerebrales, las enfermedades degenerativas como la enfermedad de Alzheimer, trauma craneano, en la esclerosis múltiple y la demencia por VIH. Las manifestaciones clínicas y las lesiones que las caracterizan están directamente relacionadas con la ruptura de la BHE. La pérdida de la impermeabilidad de la BHE está asociada tanto a la migración de leucocitos hacia el parénquima cerebral con pérdida de las moléculas endoteliales: ocludina y zonula occludens, así como a la interacción astrocitos, microglía y sistema inmune que conduce a la expresión de citocinas inflamatorias, producción de toxinas y neurotrofinas, o bien daño vascular como en el edema cerebral por causas traumáticas o por aumento de pre-

sión intracraneal o destrucción del parénquima cerebral.⁵⁰⁻⁵² En los casos de tumor cerebral, además de la significativa reducción de las proteínas claudina-1, claudina-5 y ocludina, que ocurre en el caso del glioblastoma multiforme⁵³ se asocia, además, en el edema cerebral, concomitante en los tumores cerebrales (edema vasogénico) la molécula AQP4, que alcanza niveles altos en casos de astrocitoma y adenocarcinoma metastásico, y como consecuencia la apertura de la BHE.⁵⁴ Indudablemente el desarrollo de edema cerebral vasogénico que se observa en casos de trauma, por irradiación por rayos X, en infecciones y desde luego en tumores primarios o secundarios en el SNC, es determinante de ruptura de la BHE, ruptura que permite el paso de los medios de contraste yodados a los tejidos anormales para el diagnóstico topográfico preciso. En estudios experimentales la irradiación aguda no solamente causa ruptura de la BHE, sino también lesiona los elementos celulares del tejido nervioso,^{55,56} la ruptura de la BHE puede durar hasta seis años por una dosis de irradiación con rayos X en la dosis usual. La lesión en los capilares subsecuente a irradiación afecta primariamente a la túnica adventicia, pero también a las otras capas vasculares, aunque en menor magnitud. La BHE también se altera por la inyección intracarotídea de soluciones hiperosmóticas. Sin embargo el aumento de permeabilidad en la BHE es transitorio y no se reporta daño alguno al tejido cerebral. Se aduce que la solución hiperosmolar puede inducir enjutamiento brusco de los capilares y en una etapa tardía dilatación de la pared capilar, en ambos casos habría separación de las uniones interendoteliales con apertura subsecuente de la BHE.^{57,58}

Estrés y su efecto sobre la morfología y fisiología de la BHE

Desde el descubrimiento de la BHE por Paul Ehrlich,⁴² se han empleado numerosos trazadores exógenos para estudiar la permeabilidad de la BHE a moléculas circulantes en la sangre en distintas condiciones fisiológicas y patológicas; entre los trazadores exógenos empleados están los denominados colorantes vitales, como el azul de Evans y el azul trípano. En condiciones fisiológicas se sabe que el azul de Evans administrado por vía intracardiaca o intravenosa se acumula en todos los órganos del cuerpo excepto el SNC, debido a la existencia de la BHE (Figura 5); sin embargo, en condiciones patológicas aumenta la permeabilidad de la BHE a los trazadores vitales.⁵⁹

El estrés y las hormonas que se liberan durante la exposición del organismo al mismo, pueden también al-



Figura 5. Coloración azul intensa del soma de una cría de rata tras la administración intracardiaca.

terar el funcionamiento normal de la BHE, puesto que la mayoría de las células que participan en la formación de la BHE (células endoteliales, astrocitos, microglía) poseen receptores para glucocorticoides,⁶⁰⁻⁶² hormona liberadora de corticotrofina^{63,64} y adrenalina.⁶⁵ En el mamífero adulto se sabe que el estrés agudo modifica la permeabilidad de la BHE a moléculas circulantes en la sangre, varios reportes en la literatura describen aumento en la permeabilidad de la BHE después de estrés agudo;^{5,66-69} mientras que otros muestran que el estrés produjo efectos benéficos sobre el funcionamiento de la BHE.⁷⁰ En la rata el estrés agudo por nado forzado o inmovilización aumentó la permeabilidad de la BHE a trazadores vitales, como el azul de Evans y el azul trípiano, en la neocorteza, cerebelo, hipocampo, núcleo caudado, diencéfalo, tallo cerebral y segmentos cervicales y torácicos de la médula espinal.⁵⁶⁶⁻⁶⁸ Por el contrario, se ha descrito que el estrés agudo por inmovilización durante la vida adulta aumentó las propiedades de barrera de la BHE al impedir la extravasación de piridostigmina, un inhibidor de la acetilcolinesterasa.⁷⁰

Como se mencionó previamente, el desarrollo de la BHE ocurre de forma paralela al desarrollo del SNC durante las etapas prenatal y posnatal temprana; por lo que, cualquier estímulo adverso durante el periodo perinatal puede retardar la maduración de la BHE. Si se retarda el desarrollo de la BHE, los agentes tóxicos que pasen a la BHE desde el torrente sanguíneo⁴ pueden afectar el funcionamiento de neuronas y neuroglía, y dañar estructuras nerviosas que conlleven a deficiencias de aprendizaje, memoria o movimiento. El estrés entre otros factores adversos puede alterar el desarrollo normal de la BHE. En

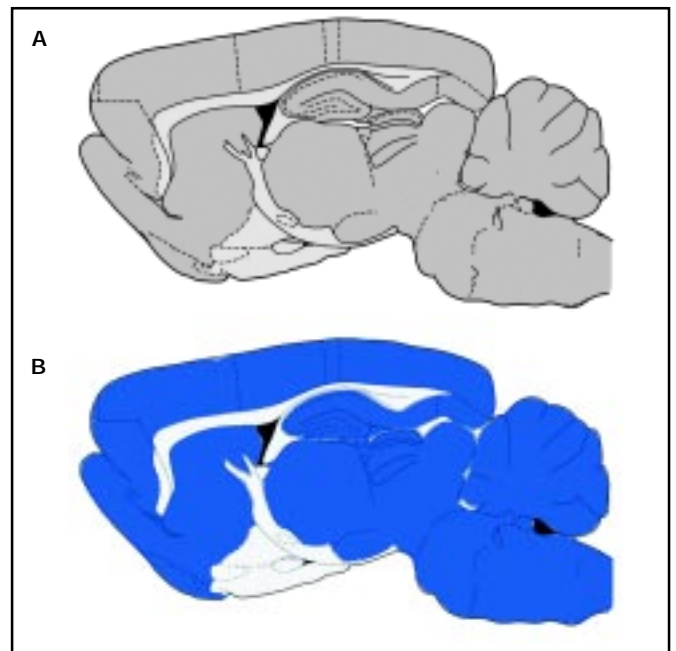


Figura 6. Regiones del SNC inmaduro que presentaron aumento en la permeabilidad de la BHE al colorante azul de Evans por exposición a estrés crónico perinatal (prenatal o postnatal). **A.** Control. **B.** Estrés Perinatal.

un modelo experimental en la oveja, un mamífero precoz, se encontró que la administración de corticosteroides durante el último tercio de la gestación retardó el desarrollo de las uniones estrechas entre las células endoteliales encefálicas fetales en comparación con fetos que no estuvieron expuestos a glucocorticoides *in útero*.⁷¹ Paradójicamente, en el mismo modelo experimental, los glucocorticoides administrados prenatalmente parecieron fortalecer las características de barrera de la BHE al momento del nacimiento; en la oveja recién nacida, el tratamiento con dexametasona durante el último tercio de la gestación redujo la permeabilidad de la BHE a un aminoácido sintético en la neocorteza, formación hipocámpica, cerebelo, tallo cerebral y porción cervical de la médula espinal.^{72,73}

En el mamífero altricio, estudios realizados en nuestro laboratorio indican que el estrés crónico perinatal (prenatal o postnatal) retrasa el desarrollo funcional de la BHE (Figura 6). En la rata Wistar se encontró que la exposición a estrés *in útero* por nado forzado de la madre gestante aumentó el paso del colorante azul de Evans a través de la BHE en la circunvolución del cíngulo, las cortezas auditiva, motora y visual, el hipocampo, septum, ganglios basales, tálamo, hipotálamo, mesencéfalo, puente, cerebelo y los segmentos cervicales de la médula espinal a los 20 días de edad en comparación con las crías control de la misma edad. De igual forma, el estrés posnatal por

tres horas de separación materna diaria, también aumentó el paso del azul de Evans en la circunvolución del cíngulo, las cortezas orbitofrontal, entorrinal y de la ínsula, las áreas motora, visual, somatosensorial y auditiva, el cerebelo, hipocampo, tálamo, hipotálamo, ganglios basales, bulbo olfativo, tallo cerebral y segmentos cervicales de la médula espinal en las crías de diez días posnatales en comparación con el grupo control. El estrés crónico perinatal afectó adversamente la permeabilidad de la BHE, sólo durante el periodo de inmadurez, puesto que al mes de edad, todos los sujetos (expuestos a estrés prenatal o posnatal y controles) presentaron baja permeabilidad al colorante azul de Evans, con coloración azul restringida a las regiones que carecen de BHE como los órganos circunventriculares y el plexo coroideo.

COROLARIO

Debe hacerse énfasis que dado que la BHE influye en la migración neuronal durante la ontogenia, indudablemente si la BHE no logra consolidarse habrá alteraciones en la conformación de la neocorteza y seguramente la repercusión caerá sobre la organización de las funciones cognitivas y no sería raro que casos de malformaciones cerebrales también obedezcan a una BHE defectuosa; por ejemplo, en el autismo, la dislexia, el retraso mental y posiblemente en casos de displasias corticales focales. Desde el punto de vista inmunológico se ha establecido con precisión que la permeabilidad de la BHE aumenta significativamente ante cualquier fenómeno inflamatorio del SNC con la presencia del antígeno correspondiente, lo cual permite la migración al parénquima cerebral de linfocitos T y leucocitos neutrófilos, que caracterizan a la inflamación; los mecanismos moleculares incluyen una serie de factores que conllevan a la ruptura de la BHE en asociación con las células perivasculares, sobre todo, la microglía.²⁵

REFERENCIAS

1. Ballabh P, et al. The blood-brain barrier: an overview. Structure, regulation and clinical implications. *Neurobiol Dis* 2004; 16: 1-13.
2. Vollmer G. Crossing the barrier. *Sci Amer/ Mind* 2008; 34-9.
3. Bohlen HO, von Dermietzel R. Neurotransmitters and Neuromodulators. *Handbook of Receptors and Biological Effects*. Weinheim, Germany: Wiley VCH Verlag; 2006, p. 16-8.
4. Fishman RA. Blood-brain barrier. En: Fishman RA (ed.). *Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Central Nervous System*. Philadelphia: Saunders; 1990, p. 43-62.
5. Sharma HS. Blood-brain and spinal cord barriers in stress. En: Sharma HS, Westman J (eds.). *Blood-spinal cord and brain barriers in health and disease*. San Diego: Elsevier; 2004, p. 231-98.
6. Krause D, Faustmann PM, Dermietzel R. Molecular anatomy of the blood-brain barrier in development and aging. En: de Vellis J (ed.). *Neuroglia and the Aging Brain*. Totowa New Jersey: Humana Press; 2002, Chap. 16, p. 291-303.
7. Tsukita S, Furuse M. Occludin and claudins in tight-junction strands: leading or supporting players? *Trends Cell Biol* 1999; 9: 268-73.
8. Furuse M, et al. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol* 1993; 123: 1777-88.
9. Furuse M, et al. Membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol* 1998; 141: 1539-50.
10. Papadopoulos MC, et al. Occludin expression in microvessels of neoplastic and non-neoplastic human brain. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2001; 27: 384-95.
11. Itoh M, et al. Direct binding of the three tight junction-associated MAGUKs, ZO-1, ZO-2, and ZO-3, with the COOH termini of claudins. *J Cell Biol* 1999; 147: 1351-63.
12. Abbott NJ, et al. Astrocytes-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Rev/Neurosci* 2006; 7: 41-53.
13. Janzer RC, Raff MC. Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature* 1987; 325: 253-7.
14. Holash JA, et al. Re-evaluating the role of astrocytes in blood-brain barrier induction. *Dev Dyn* 1993; 197: 14-25.
15. Tran ND, et al. Transforming growth factor-beta mediates astrocyte specific -regulation of brain endothelial anticoagulant factors. *Stroke* 1999; 30: 1671-8.
16. Nico B, et al. Role of aquaporin-4 water channel in the development and integrity of the blood-brain barrier. *J Cell Sci* 2001; 114: 1297-307.
17. Sims DE. The pericyte - a review. *Tissue Cell* 1986; 18: 153-74.
18. Kern TS, Engermann RL. Capillary lesions develop in retina rather than cerebral cortex in diabetes and experimental galactosemia. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 306-10.
19. Verbeek MM, et al. Rapid degeneration of cultured human brain pericytes by amyloid beta protein. *J Neurochem* 1997; 68: 1135-41.
20. Balabanov R, Dore-Duffy P. Role of the CNS pericyte in the blood-brain barrier. *J Neurosci Res* 1998; 53: 637-44.
21. Perry VH, Gordon S. Macrophages and microglia in the nervous system. *TINS* 1988; 11: 273-7.
22. Hickey WF, Kimura H. Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen in vivo. *Science* 1988; 240: 190-2.
23. Giri R, et al. Effect of endothelial cell polarity on beta-amyloid-induced migration of monocytes across normal and AD endothelium. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283: C895-C904.
24. Lee TH, et al. Vascular endothelial growth factor modulates neutrophil transendothelial migration via up-regulation of interleukin-8 in human brain microvascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 10445-51.
25. Pachter JS, et al. The blood-brain barrier and its role in immune privilege in the central nervous system. *J Neuropathol Exper Neurol* 2003; 62: 593-604.
26. Rissaud W, Wolfburg H. Development of the blood-brain barrier. *TINS* 1990; 13: 174-8.
27. Bauer HC, et al. Neovascularization and the appearance of morphological characteristics of the blood-brain barrier in the embryonic mouse central nervous system. *Brain Res* 1993; 75: 269-78.
28. Roncali L, et al. Microscopical and structural investigations on the development of the blood-brain barrier in the chick embryo optic tectum. *Acta Neuropathol (Berl)* 1986; 70: 193-201.
29. Stewart PA, Hayakawa K. Early ultrastructural changes in blood-brain barrier vessels of the rat embryo. *Brain Res Dev Brain Res* 1994; 78: 25-34.
30. Gale NW, Yancopoulos GD. Growth factors acting via endothelial cell specific receptor tyrosine kinases: VEGFs angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999; 13: 1055-66.
31. Dermietzel R, et al. Pattern of glucose transporter (Glut-1) expression in embryonic brains is related to maturation of blood-brain barrier tightness. *Dev Dyn* 1992; 193: 152-63.
32. Schinkel AH, et al. Disruption of the mouse Mdr1a P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell* 1994; 77: 491-502.

33. Emgelhardt B. Development of the blood-brain barrier. *Cell Tis Res* 2003; 314: 119-29.
34. Albrecht U, et al. Correlation of blood-brain barrier function and HT7 protein distribution in chick brain circumventricular organs. *Brain Res* 1990; 535: 49-61.
35. Bertossi M, et al. Developmental changes of HT7 expression in the microvessels of the chick embryo brain. *Anat Embryol* 2002; 205: 229-33.
36. Stewart PA, Wiley MJ. Developing nervous tissue induces formation of blood-brain barrier characteristics in invading endothelial cells: a study using quail-chick transplantation chimeras. *Dev Biol* 1981; 84: 183-92.
37. Ikeda E, et al. Developing brain cells produce factors capable of inducing the HT7 antigen, a blood-brain barrier-specific molecule, in chick endothelial cells. *Neurosci Lett* 1996; 209: 149-52.
38. Wolfburg H, Lippoldi A. Tight junctions of the blood-brain barrier: development, composition and regulation. *Vasc Pharmacol* 2002; 28: 323-37.
39. Wolfburg H, et al. Localization of claudin-3 in tight junctions of the blood-brain barrier is selectively lost during experimental autoimmune encephalomyelitis and human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol* 2003; 105: 586-92.
40. Duvernoy HM, Risold PY. The circumventricular organs: an atlas of comparative anatomy and vascularization. *Brain Res Rev* 2007; 56: 119-47.
41. Joly JS, et al. Windows of the brain: towards a developmental biology of circumventricular and other neurohemal organs. *Sem Cell Develop Biol* 2007; 18: 512-24.
42. Davson H. History of the Blood-Brain Barrier Concept. New York: Plenum Press; 1989 (Cit. por: Pachter JS, et al. Ref. 25).
43. Goldmann EE. *Vitalfärbung am Zentralnervensystem*, Berlin: Eimer; 1913 (Cit. por: Pachter JS, et al. Ref. 25).
44. Lewandowsky M. Zur Lehre der Zerebrospinalflüssigkeit. *Zschr Klin Med* 1890; 40: 480-94.
45. Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol* 1967; 34: 207-17.
46. Abbott NJ. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J Anatomy* 2002; 200: 629-38.
47. Antoniuk S, da Silva RV. Periventricular and intraventricular hemorrhage in the premature infants. *Rev Neurol* 2000; 31: 238-43.
48. Zhang W, et al. Inflammatory activation of human brain endothelial cells by hypoxic astrocytes *in vitro* is mediated by IL-1 beta. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000; 29: 967-78.
49. Fisher S, et al. Hypoxia-induced hyperpermeability in brain microvessels endothelial cells involves VEGF-mediated changes in the expression of zonula occludens-1. *Microvascul Res* 2002; 63: 70-80.
50. Bolton SJ, et al. Loss of the tight junctions occludin and zonula occludens-1 from cerebral vascular endothelium during neutrophil-induced blood-brain barrier breakdown *in vivo*. *Neuroscience* 1998; 86: 1245-57.
51. Papadopoulos MC, et al. Pathophysiology of septic encephalopathy: a review. *Crit Care Med* 2000; 28: 3019-24.
52. Minagar A, et al. The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease and multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2002; 202: 13-23.
53. Liebner S, et al. Claudin-1 and claudin-5 expression and tight junction morphology are altered in blood vessels of human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol (Berl)* 2000; 100: 323-31.
54. Sadoun S, et al. Aquaporin-4 expression is increased in oedematous human brain tumours. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2002; 72: 262-5.
55. Pitcock JA. An electron microscopic study of acute radiation injury of the rat brain. *Lab Invest* 1962; 11: 32-44.
56. Hopewell JW. Late radiation damage to the central nervous system. A radiobiological interpretation. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1979; 5: 329-43.
57. Rapoport SJ, et al. Chronic effects of osmotic opening of the blood-brain barrier in the monkey. *Science* 1972; 176: 1242-4.
58. Rapoport SJ. Experimental modification of blood-brain barrier permeability by hypertonic solutions, convulsions, hypercapnia and acute hypertension. En: Cserr HF, et al. (eds.). *Fluid Environment of the Brain*. New York: Academic Press; 1975, p. 61-80 (Cit. por: Pollay M, Roberts PA. *Blood-brain barrier: a definition of normal and altered function*. *Neurosurgery* 1980; 6: 675-85).
59. Nag S. Blood-brain barrier permeability using tracers and immunohistochemistry. En: Nag S (ed.). *The Blood-brain barrier: biology and research protocols*. *Methods Mol Med* 2003; 89: 133-44.
60. Bohn MC, et al. Glial cells express both mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *J Ster Biochem Mol Biol* 1991; 40: 105-11.
61. Tanaka J, et al. Glucocorticoid- and mineralocorticoid receptors in microglial cells: the two receptors mediate differential effects of corticosteroids. *Glia* 1997; 20: 23-37.
62. Wolff JEA, et al. Steroid inhibition of neural microvessel morphogenesis *in vitro*: receptor mediation and astroglial dependence. *J Neurochem* 1992; 58: 1023-32.
63. Bale TC, et al. Corticotropin-releasing factor receptor 2 is a tonic suppressor of vascularization. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 7734-9.
64. Wang W, et al. Functional expression of corticotropin-releasing hormone (CRH) receptor 1 in cultured rat microglia. *J Neurochem* 2002; 80: 287-94.
65. Abdul-Rahman A, et al. Increase in local cerebral blood flow induced by circulating adrenaline: involvement of blood-brain barrier dysfunction. *Acta Physiol Scand* 1979; 107: 227-32.
66. Belova TI, Jonsson G. Blood-brain barrier permeability and immobilization stress. *Acta Physiol Scand* 1982; 116: 21-9.
67. Friedman A, et al. Pyridostigmine brain penetration under stress enhances neuronal excitability and induces early immediate transcriptional response. *Nature Med* 1996; 2: 1382-5.
68. Sharma HS, et al. Probable involvement of serotonin in the increased permeability of the blood-brain barrier by forced swimming. An experimental study using Evans blue and ¹³¹I-sodium tracers in the rat. *Behav Brain Res* 1996; 72: 189-96.
69. Theoharides TC, Konstantinidou A. Corticotropin-releasing hormone and the blood-brain barrier. *Front Biosci* 2007; 12: 1615-28.
70. Sinton CM, et al. Stressful manipulations that elevate corticosterone reduce blood-brain barrier permeability to pyridostigmine in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 165: 99-105.
71. Huang WL, et al. Repeated prenatal corticosteroid administration delays astrocyte and capillary tight junction maturation in fetal sheep. *Int J Dev Neurosci* 2001; 9: 487-93.
72. Stonestreet BS, et al. Antenatal steroids decrease blood-brain barrier permeability in the ovine fetus. *Amer J Physiol: Reg Integ Comp Physiol* 1999; 45: R283-R289.
73. Stonestreet BS, et al. Exogenous and endogenous corticosteroids modulate blood-brain barrier development in the ovine fetus. *Amer J Physiol: Reg Integ Comp Physiol* 2000; 279: R468-R477.

REFERENCIAS ADICIONALES

1. Allt G, Lawrenson JG. Pericytes: cell biology and pathology. *Cell Tissues Organs* 2001; 169: 1-11 (Cit. por: Ballabh P, et al. *The blood-brain barrier: an overview. Structure, regulation and clinical implications*. *Neurobiol Dis* 2004; 16: 1-13).
2. Bolz S, et al. Subcellular distribution of glucose transporter (GLUT-1) during development of the blood-brain barrier in rats. *Cell Tissue Res* 1996; 284: 355-65.
3. Bouchaud C, Boler O. The circumventricular organs of the mammalian brain with special reference to monoaminergic innervation. *Int Rev Cytol* 1986; 105: 283-327.
4. Broadwell RD. Transcytosis of macromolecules through the blood-brain barrier: a cell biological perspective and critical appraisal. *Acta Neuropathol (Berl)* 1989; 79: 117-28.

5. Cucullo L, et al. A new dynamic in vitro model for the multidimensional study of astrocyte-endothelial cell interactions at the blood-brain barrier. *Brain Res* 2002; 951: 243-54.
6. Dermietzel R, Krause D. Molecular anatomy of the blood-brain barrier as defined by immunocytochemistry. *Int Rev Cytol* 1991; 127: 57-109.
7. Fischer S, et al. Hypoxia induces permeability in brain microvessel endothelial cells via VEGF and NO. *Am J Physiol* 1999; 276: C812-C820.
8. Goldstein GW. Endothelial cell-astrocyte interactions. A cellular model of the blood-brain barrier. *Ann NY Acad Sci* 1988; 529: 31-9.
9. Hambleton G, Wiggesworth JS. Origin of intraventricular haemorrhage in the preterm infant. *Arch Dis Child* 1976; 51: 651-9.
10. Jeppson B, et al. Blood-brain barrier derangement in sepsis: cause of septic encephalopathy? *Am J Surg* 1981; 141: 136-42.
11. Kniessel U, Wolburg H. Tight junctions of the blood-brain barrier. *Cell Mol Neurobiol* 2000; 20: 57-76.
12. Morita K, et al. Endothelial claudin: claudin 5/TMVCF constitutes tight junction strands in endothelial cells. *J Cell Biol* 1999; 147: 185-94.
13. Pardridge WM. Recent advances in blood-brain barrier transport. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1988; 28: 25-39.
14. Pardridge WM. Receptor mediated peptide transport through the blood-brain barrier. *Endocrinol Rev* 2000; 7: 314-30.
15. Pollay M, Roberts PA. Blood-brain barrier: a definition of normal and altered function. *Neurosurg* 1980; 6: 675-85.
16. Rapoport SI. Sites and functions of the blood-brain barrier. In: Rapoport SI (ed.). *Blood-Brain Barrier in Physiology and Medicine*. New York: Raven Press; 1976, p. 43-86.
17. Stonestreet BS, et al. Ontogeny of the blood-brain barrier function in ovine fetuses, lambs, and adults. *Am J Physiol* 1996; 271: R1594-R1601.
18. Zhang Y, Pardridge WM. Rapid transferring efflux from brain to blood across the blood-brain barrier. *J Neurochem* 2001; 76: 1597-600.



Correspondencia: Dr. Escobar Alfonso
Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Circuito Escolar, 04510, México, D.F.