

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Glymfatická sústava mozgu

Alexandra Záhorská

Bakalárska práca

2018

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Brain Glymphatic System

Alexandra Záhorská

Bachelor thesis

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Alexandra Záhorská**
Osobní číslo: **C15435**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Glymfatická soustava mozku**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Seznamte se s literaturou týkající se CNS, morfologie tkání a buněk CNS, základů fungování imunitního systému, funkce a anatomie lymfatické soustavy lidského těla.
2. Vypracujte literární rešerši o Glymfatické soustavě centrálního nervového systému.
3. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů vyvoďte závěry, jak budou tyto nové informace o fungování CNS využity při výzkumu neurodegenerativních chorob (např. AD, PD, RS).

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Databáze lékařsky zaměřených odborných článků, knih, monografií dostupných na webu dle pokynů školitele

Vedoucí bakalářské práce:

prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd


Datum zadání bakalářské práce: **27. listopadu 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prehlasujem:

Túto prácu som vypracovala samostatne. Všetky literárne pramene a informácie, ktoré som pri práci použila sú uvedené v zozname použitej literatúry.

Bola som oboznámená s tým, že sa na moju prácu vzťahujú práva a povinnosti vyplývajúce zo zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, hlavne so skutočnosťou, že Univerzita Pardubice má právo na uzatvorenie licenčnej zmluvy o použití tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tým, že ak dôjde k použitiu tejto práce mnou alebo bude poskytnutá licencia o použití inému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávnená odo mňa požadovať primeraný príspevok na úhradu nákladov, ktoré na vytvorenie diela vynaložila a to podľa okolností až do ich skutočnej výšky.

Beriem na vedomie, že v súlade s § 47b zákona č.111/1998 Sb., o vysokých školách a o zmene a doplnení ďalších zákonov (zákon o vysokých školách), v znení neskorších predpisov a smernice Univerzity Pardubice č. 9/2012 bude práca zverejnená v Univerzitnej knižnici a prostredníctvom Digitálnej knižnice Univerzity Pardubice.

V Pardubiciach dňa

Alexandra Záhorská

Chcela by som vyjadriť svoje poďakovanie prof. RNDr. Zuzane Bílkovej, Ph.D. za poskytnutie možnosti vypracovávať bakalársku prácu na Katedre biologických a biochemických vied, tiež za jej odborné rady, vzorné vedenie pri vypracovávaní bakalárskej práce a v neposlednej rade za jej vždy trpezlivý a prívetivý prístup. Na záver by som chcela poďakovať mojej rodine a najbližším priateľom za ich vernú podporu v priebehu môjho štúdia.

ANOTÁCIA

Táto práca je venovaná problematike glymfatického systému, ako potenciálneho mechanizmu pre odstránenie metabolického odpadu z mozgu. Jedná sa o kapitoly, ktoré zahŕňajú základné poznatky o anatómii a funkcii centrálného nervového systému a mozgu, objav glymfatického systému, jeho popis a aktuálnu metodiku výskumu. Práca sa ďalej zameriava na zobrazovacie techniky laboratórnej diagnostiky a na využitie znalostí o glymfatickom systéme vo výskume neurodegeneratívnych chorôb.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

mozog, glymfatický systém, aquaporín-4, β -amyloid, spánok, neurodegeneratívne ochorenia

ANNOTATION

This work deals with the issue of the glymphatic system as a potential mechanism for removing metabolic waste from the brain. These chapters include basic information about the anatomy and function of the brain, the discovery of the glymphatic system, its description and recent methodology of research. The work also focuses on imaging techniques of laboratory diagnostics and the exploitation of the glymphatic system knowledge in the research of neurodegenerative diseases.

KEY WORDS

brain, glymphatic system, aquaporin-4, β -amyloid, sleep, neurodegenerative diseases

ZOZNAM OBRÁZKOV A SCHÉM

Obrázok 1: Anatómia mozgu.....	17
Obrázok 2: Krvno-mozgová bariéra	20
Obrázok 3: Typy mozgový buniek a ich komponenty.....	22
Obrázok 4: Cirkulácia MMT cez glymfatický systém.....	30
Obrázok 5: Model porovnávajúci glymfatickú funkciu pri subjekte mladšieho a staršieho veku	36
Obrázok 6: Odoberanie vzorky MMT lumbálnou punkciou	39
Obrázok 7: Model porovnávajúci normálny mozog a mozog počas Alzheimerovej choroby ..	46
Obrázok 8: Model porovnávajúci normálny mozog a mozog počas Parkinsonovej choroby ..	47
Obrázok 9: Model porovnávajúci zdravý neporušený nerv a nerv, ktorý je ovplyvnený MS ..	48
Schéma 1: Fosforylácia glukózy za vzniku glukóza-6-fosfátu katalyzovaná hexokinázou	24

ZOZNAM SKRATIEK

A β	β -amyloid
A488-ca	Fluorescenčne konjugovaný kadaverín (z angl. „Fluorescently Conjugated Cadaverine“)
AD	Alzheimerova choroba (z angl. „Alzheimer's Disease“)
ApoE	Apolipoproteín E
AQP	Aquaporín
ATP	Adenozíntrifosfát (z angl. „Adenosine Triphosphate“)
BOLD	Zmena pomeru okysličenej a neokysličenej krvi (z angl. „Blood Oxygenation Level Dependent“)
CD4 ⁺	Regulačné Th lymfocyty
CD8 ⁺	Cytotoxické Tc lymfocyty
CNS	Centrálny nervový systém
CRP	C-reaktívny proteín
CT	Počítačová asistovaná tomografia (z angl. „Computed Tomography“)
EEG	Elektroencefalografia
fMRI	Funkčná magnetická rezonancia (z angl. „Functional Magnetic Resonance Imaging“)
Fruktóza-6F	Fruktóza-6-fosfát (z angl. „Fructose 6-Phosphate“)
GA3F	Glyceraldehyd-3-fosfát (z angl. „Glyceraldehyde 3-Phosphate“)
GFAP	Gliálny fibrilárny kyslý proteín (z angl. „Glial Fibrillary Acidic Protein“)
Glo-1; Glo-2	Glyoxaláza 1 a 2
Glukóza-6F	Glukóza-6-fosfát (z angl. „Glucose 6-Phosphate“)
GLUT	Glukózové transportéry
HK	Hexokináza

IST	Intersticiálna tekutina
KMB	Krvno-mozgová bariéra
MEG	Magnetoencefalografia
MG	Metylglyoxal
MHC	Hlavný histokompatibilný komplex (z angl. „Major Histocompatibility Complex“)
MMEB	Mozgové mikrovaskulárne endoteliálne bunky
MMT	Mozgovo-miechová tekutina
MRI	Magnetická rezonancia (z angl. „Magnetic Resonance Imaging“)
MRS	Magnetická rezonančná spektroskopia
MS	Roztrúsená skleróza (z angl. „Multiple sclerosis“)
NADH	Nikotínamidadenín dinukleotid (z angl. „Nicotinamide Adenin Dinucleotide“)
NSE	Neurón špecifická enoláza (z angl. „Neuron-Specific Enolase“)
OG	Oxidovaný glutatión
PAMP	Molekulové vzory typické pre patogény (z angl. „Pathogen-Associated Molecular Patterns“)
PD	Parkinsonova choroba (z angl. „Parkinson Disease“)
PET	Pozitrónová emisná tomografia
PFC	Pentózofosfátový cyklus
PRR	Receptory rozoznávajúce molekulové vzory (z angl. „Pattern Recognition Receptor“)
RAS	Retikulárny aktivačný systém
S100	Vápnik viažuci proteín (z angl. „Calcium-Binding Protein“)
SPECT	Jednofotónová emisná počítačová tomografia (z angl. „Single Photon Emission Computed Tomography“)
TPG	Tripeptid glutatión

OBSAH

ÚVOD.....	14
2 CENTRÁLNA NERVOVÁ SÚSTAVA A MOZOG	15
2.1 Základné anatomické a fyziologické poznatky	15
2.2 Tekutiny mozgu	17
2.3 Krvno – mozgová bariéra.....	18
2.4 Typy mozgových buniek.....	20
2.5 Mozgová činnosť a metabolizmus mozgu	24
2.6 Mozog ako imunoprivilegované tkanivo.....	25
3 GLYMFATICKÝ SYSTÉM.....	27
3.1 Lymfatický systém tela	27
3.2 Charakteristika glymfatického systému	28
3.3 Vodné kanály Aquaporíny	30
3.4 Beta-amyloid.....	31
3.5 Spánok vs. bdelosť vo vzťahu ku glymfatickému systému.....	32
3.6 Transport lipidov glymfatickým systémom	33
3.7 Regulácia glymfatickej aktivity	34
3.8 Vek jedinca vo vzťahu ku glymfatickému systému	35
3.9 Glymfatický systém ako cesta pre podávanie a distribúciu liekov	36
3.10 Možnosť využitia potenciálu glymfatického systému v klinickej praxi	37
4 METODIKA LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY	39
4.1 Analýza likvoru – likvorológia	39
4.2 Tkanivá centrálného nervového systému	41
4.2.1 Zobrazovacie techniky neinvasívne	41
4.2.2 Zobrazovacie techniky invazívne.....	42
4.3 Metódy využívané na posúdenie glymfatickej funkcie.....	43
5 NEURODEGENERATÍVNE OCHORENIA	45
5.1 Využitie znalostí o glymfatickom systéme vo výskume neurodegeneratívnych chorôb	45

5.1.1	Alzheimerova choroba	45
5.1.2	Parkinsonova choroba	46
5.1.3	Roztrúsená skleróza	47
5.2	Transport biomarkerov traumatického poškodenia mozgu	49
6	ZÁVER	50
5	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	51
6	ZOZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKOV A SCHÉM.....	56

ÚVOD

Zmysel spánku zaujíma ľudstvo už od staroveku. Donedávna bolo známe, že odpočinok v podobe spánku slúži najmä k upevneniu pamäti, je tu však ešte niečo dôležitejšie, čo je primárne a nevyhnutné. Mnohé výskumy preukázali, že hlavným účelom spánku, je eliminácia metabolického odpadu z mozgu a odhalili existenciu systému, ktorý bol nazvaný glymfatický, v dôsledku jeho podobnosti k lymfatickému systému tela a jeho závislosti na gliálnych bunkách mozgu.

Pre mozog je odstraňovanie odpadu životne dôležitá funkcia a zdá sa, že je potrebné mnoho energie, čo zjavne nie je zlučiteľné so stavom bdenia. Práve znížená schopnosť odstraňovania odpadu spôsobená nedostatočnosťou spánku, môže byť hlavným dôvodom vzniku neurodegeneratívnych ochorení. Doposiaľ, to boli iba hypotézy, ktoré predpokladali prítomnosť glymfatického systému. Avšak, objavili sa štúdie, ktoré pomocou zobrazovacích techník potvrdili, že glymfatický systém existuje a je neoddeliteľnou súčasťou mozgu.

2 CENTRÁLNA NERVOVÁ SÚSTAVA A MOZOG

2.1 Základné anatomické a fyziologické poznatky

Prenatálne obdobie, obdobie detstva a dospelovania sú obdobia, kedy mozog prechádza značnými zmenami v anatomickej štruktúre ako aj v konektivite. Tieto zmeny sú možné vďaka funkčnej tvarovateľnosti mozgu. Zatiaľ čo sa mozog anatomicky javí ako pevná masa, je to vlastne zmes niekoľkých miliárd neurónov a synapsií, zväčša navzájom prepojených rôznymi spôsobmi. Anatómia mozgu je lepšie popisovaná vo vzťahu k jej funkciám. Hoci existujú významné pokroky v chápaní mozgovej funkcie, vedomosti nie sú úplné a niektoré významné časti ľudského mozgu zostávajú nepopísané.

Hmotnosť mozgu dospelého človeka je v priemere približne 1400 g, čo predstavuje približne 2 % z celkovej telesnej hmotnosti. Mozog a miecha spolu tvoria centrálny nervový systém, ktorý obsahuje až 100 miliárd neurónov.

Mozog (encefalón) je mäkký, jemne ružovo - želatínový orgán, ktorý je chránený v kostnatej lebke. Je presnejšie definovaný ako kompozit z piatich hlavných divízií, odvodených z nervových vezikúl, ktoré sa tvoria v embryonálnych štádiách vývoja: myelencefalón, metencefalón, mezencefalón, diencefalón a telencefalón. Anatomicky vid' obr. 1 a vývinovo je mozog rozdelený do troch oblastí: predný mozog (proencefalón), stredný mozog (mezencefalón) a zadný mozog (rombencefalón). Predný mozog pozostáva z dvoch mozgových hemisfér a diencefalónu. Stredný mozog sa nachádza medzi diencefalónom a zadným mozgom. Zadný mozog pozostáva z Varolovho mostu, mozočku a predĺženej miechy a predstavujú funkčnú jednotku nazývanú mozgový kmeň, ktorý tvorí dôležitý portál pre prenos signálov medzi telom a mozgom.

Mozgový kmeň je časť mozgu, ktorá spája cerebrálne hemisféry s miechou. Skladá sa zo stredného mozgu, Varolovho mostu a predĺženej miechy. Mozgový kmeň má radu neurónov rozšírených pozdĺž centrum, nazývaných retikulárny aktivačný systém (RAS), ktorý má prvoradý význam v rozvoji vedomia, regulácii spánku, udržiavanie svalového tonusu a držania tela.

Najviac kaudálny aspekt mozgového kmeňa, predĺžená miecha, reguluje primárne telesné funkcie a reflexné akcie, ako napríklad prehltnutie, kašeľ, kýchanie a zvracanie. Varolov most prichádza z ventrálnej časti metencefalónu a slúži prevažne ako mohutná

nervová stanica medzi oblasťami mozgu. Posledná zložka mozgového kmeňa je stredný mozog, ktorý ovláda mnoho senzorických a motorických funkcií.

Smerujúc k mieche je štruktúra nazývaná mozoček, ktorý tvorí iba 10 % celkového objemu mozgu, ale obsahuje takmer 50 % z celkového počtu neurónov v CNS. Husto osídlená štruktúra koordinuje všetky motorické centrá mozgového kmeňa.

Diencefalón alebo medzimizog, je hlboko zakotvená časť mozgu, vytvorená z niekoľkých skupín jadier v bielej hmote. Skladá sa z talamu, hypotalamu (vrátane hypofýzy), subtalamu a epitalamu (vrátane epifýzy). Najväčšou zložkou diencefalónu je talamus, ktorý pozostáva z niekoľkých jadier, ktoré slúžia ako centrá na spracovanie informácií. Je to druh mozgového rozvádzača, ktorý pôsobí ako prenášač medzi lalokmi mozgu. Talamus tiež hrá dôležitú úlohu pri regulácii stavu spánku a bdenia.

Pod talamom je malá, ale dôležitá skupina jadier nazývaná hypotalamus, ktorý sa podieľa na regulácii homeostázy. Reguluje rovnovahu tekutín a elektrolytov, potravín, tepla, imunitných reakcií a tiež reprodukčných funkcií. Hypotalamus ovláda funkcie tela priamym ovplyvnením autonómneho systému a dosahuje nervovú odpoveď prostredníctvom nervov. Taktiež ovplyvňuje hypofýzu a dosahuje endokrinnú odpoveď prostredníctvom krvi.

Hipokampus, nachádzajúci sa po boku hypotalamu, zohráva dôležitú úlohu v prevedení informácií z krátkodobej pamäte do dlhodobej pamäte.

Hypofýza je uložená uprostred spodiny lebečnej a je pripojená k hypotalamu, ktorý riadi jej činnosť a je jej nadradeným centrom. Hypofýza pozostáva z dvoch oddelených žliaz - predná hypofýza (adenohypofýza) a zadná hypofýza (neurohypofýza). Adenohypofýza vylučuje hormóny ako je somatotropín (rastový hormón), prolaktín (v období dojčenia), adrenokortikotropín (funkcia nadobličiek), tyreotropín (funkcia štítnej žľazy), luteinizačný hormón (reguluje hladinu testosterónu u mužov a estrogénu u žien, folikulostimulačný hormón (stimuluje spermatogéziu u mužov a rast ovariálnych folikulov u žien).

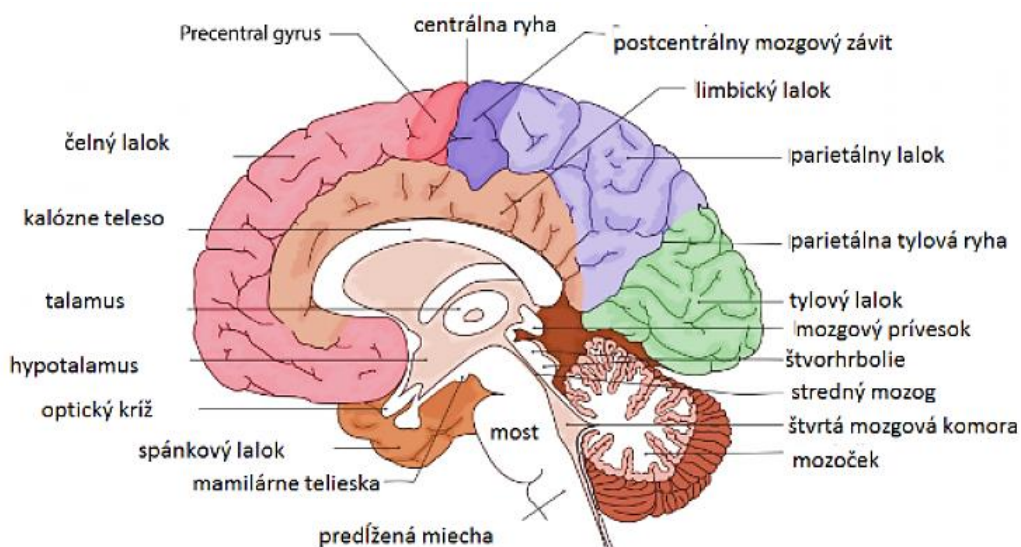
Neurohypofýza je prepojená s hypotalomom pomocou nervových vlákien, cez ktoré sa do neurohypofýzy dostáva oxytocín a vazopresín.

Epifýza je červenkasto-šedý orgán, ktorý sa nachádza v zadnej oblasti talamu. Je to endokrinná žľaza, ktorá je produkciou melatonínu zapojená v regulácii cirkadiálneho rytmu tela.

Mozgové hemisféry tvoria najväčšiu oblasť mozgu. Každá mozgová hemisféra obsahuje celú sériu komôr, ktoré obsahujú mozgovomiechovú tekutinu. Cerebrálne hemisféry pozostávajú z mozgovej kôry z bunkových telies (šedá hmota) a rozsiahlej siete nervových vlákien (biela hmota), ktorá prechádza do mozgových hemisfér, ako aj do talamu, mozgového kmeňa a miechy.

Bazálna uzlina pozostáva zo skupiny veľkých subkortikálnych neurónov, nachádzajúcich sa medzi mozgovou kôrou a talamom. Jej úlohou je kontrola pohybov a správania, ktoré sú vhodné pre danú situáciu. Poruchy týchto mechanizmov sú klasicky pozorované pri Parkinsonovej chorobe ¹.

Povrch mozgovej kôry je značne skrútený a vrhá sa do záhybov, čo umožňuje veľkému povrchu mozgu, prispôbiť sa v obmedzenom priestore lebky.



Obrázok 1: Anatómia mozgu. Prevzaté a upravené ^a.

2.2 Tekutiny mozgu

Tekutiny, ktoré obklopujú mozog a omývajú bunky, majú niekoľko dôležitých úloh. Poskytujú najvhodnejšie iónové a živné mikroprostredie, aby mohli neuróny a súvisiace bunky správne fungovať, dodávajú všetky látky, ktoré bunky vyžadujú, odstránia nežiaduci materiál a poskytujú ochranu proti fyzickému poškodeniu.

Intersticiálna tekutina (IST) obklopuje parenchymálne bunky mozgu a miechy, zatiaľ čo mozgovo-miechová tekutina (MMT) obklopuje väčšie priestory v rámci CNS ².

MMT je číra, bezfarebná tekutina, ktorá je vylučovaná najmä ako ultrafiltrát krvi choroidnými plexusom. Zvyšok MMT tvorí interstícium a meningy³. Tvorba MMT začína v okamžiku, keď je plazma filtrovaná cez priepustné choroidné kapiláry. V súlade so Starlingovým zákonom filtrácie, tekutina tečie voľne z plazmy do IST na bazolaterálnom povrchu epitelu buniek⁴. Produkcia MMT choroidným plexom je sprostredkovaná výmenou a transportom iónov (najmä Cl^- , Na^+ a HCO_3^-) cez epiteliálne bunky, čo generuje osmotický gradient, ktorý riadi pohyb vody z krvi do lumen komôr. Podľa novej hypotézy sa MMT a IST nepretržite vymieňajú a objem obsadený každým oddielom závisí od hydrostatických a osmotických síl⁵.

MMT a IST majú veľmi podobné zloženie, avšak líšia sa v porovnaní s krvnou plazmou. Je to spôsobené tým, že sa mnohým hydrofilným látkam účinne zabraňuje od vstupu do mozgu z krvi a mnohé látky, vrátane neurotransmiterov, sú značne obmedzené pri výstupe z mozgu.

Predpis koncentrácií iónov v IST je dôležitý pre správnu nervovú aktivitu, osmolalita IST je rozhodujúca pre reguláciu objemu buniek².

Dôležitou funkciou MMT je poskytnúť mechanickú ochranu mozgu a brániť poškodeniu, spôsobenému kolíziami medzi mozgom a lebkou. Okrem toho MMT ovplyvňuje metabolickú homeostázu CNS, udržiavaním elektrolytického prostredia a systémovej bilancie kyselín a zásad. Slúži ako prostriedok na zásobovanie živín neurálnych a gliálnych buniek, funguje ako lymfatický systém pre CNS odstránením produktov degradácie bunkového metabolizmu³. Môže tiež slúžiť ako cesta, na rozptýlenie určitých živín, hormónov a ďalších látok, ktoré môžu byť obzvlášť dôležité v rozvoji mozgu². Odstránenie hromadiaceho sa, potenciálneho neurotoxického odpadu (napr. b-amyloidu), sa vyskytuje prevažne v prirodzenom spánku alebo anestézii³.

2.3 Krvno – mozgová bariéra

Anatomický základ krvno-mozgovej bariéry (KMB) vid'. obr. 2, pozostáva z tesne uzavretej vrstvy mozgových mikrovaskulárnych endoteliálnych buniek (MMEB), ktorá je charakterizovaná prepracovaným spojitým komplexom⁶, ktorý udržiava jemnú rovnováhu iónov, živín a ďalších molekúl nevyhnutných pre správnu funkciu mozgu. Ide o proces, ktorý zahŕňa interakciu MMEB s množstvom rôznych buniek, vrátane neurálnych progenitorov, astrocytov, ako aj ďalších podnetov⁷.

KMB je priepustná pre kyslík, oxid uhličitý a iné plynné molekuly, ako sú mnogogénne anestetiká. Látky rozpustné v tukoch môžu prejsť bariérou pomocou difúzie. V zásade je KMB tiež priepustná pre vodu, avšak nosiče rozpustných látok na apikálnych a bazálnych membránach spolu s ektoenzýmami a endoenzýmami regulujú vstup a vytekanie malých rozpustených látok.

Veľké molekuly (peptidy a proteíny) vstupujú do mozgu regulovaným spôsobom, pomocou adsorpčnej a receptorom sprostredkovanej transcytózy⁸. Plazmatické proteíny, ako je albumín, protrombín a plazminogén, sú škodlivé pre nervové tkanivo, pretože spôsobujú aktiváciu a delenie gliálnych buniek, až bunkovú smrť.

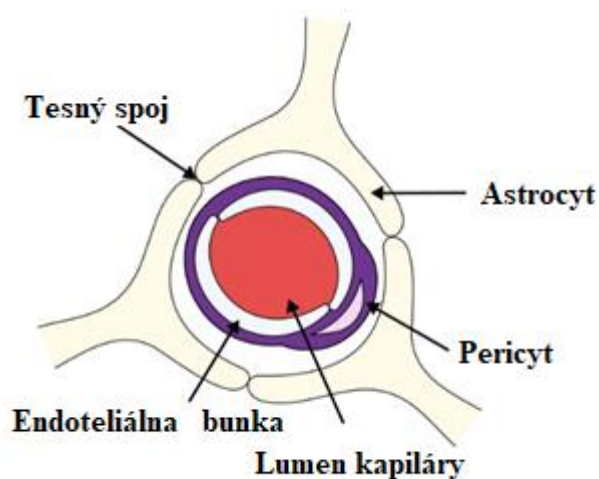
KMB udržuje kombináciou špecifických iónových kanálov a transportérov, iónovú kompozíciu optimálnu pre synaptickú signalizačnú funkciu⁹. Hladina pH je taktiež aktívne regulovaná cez KMB.

KMB reguluje nábor a vstup leukocytov a imunitných látok a zahrňuje tak reaktívne ako aj dozorné funkcie imunity CNS. Migrácia leukocytov zahŕňa komplex adhézných molekúl na povrchu leukocytov a vaskulárnych endoteliálnych buniek. Naviazanie a valcovanie leukocytov sa uskutočňuje u integrínov a adhézných molekúl, ktoré prispievajú k adhézii a migrácii odlišných podskupín leukocytov do CNS prostredníctvom endotelu mozgu aktivovaného cytokínom.

Molekulám ktoré nemôžu difundovať cez bunkovú membránu, ako sú glukóza, aminokyseliny a nukleozidy, poskytuje KMB transport, ktorý môže byť pasívny alebo sekundárne aktívny.

Endotelové bunky mozgovej miechy, astrocyty a choroidný plexus exprimujú glukózový transportér nezávislý na inzulíne GLUT1. Ďalší transportérom je GLUT4 a GLUT3 sa exprimuje v neurónoch a poskytuje zachytenie glukózy do neurónov.

Ďalším aspektom je ochrana mozgu proti neuroaktívnym látkam, ako je aspartát a glutamát. KMB je pre tieto aminokyseliny z veľkej časti nepriepustná. Glutamátový metabolizmus poskytuje rýchlu transformáciu na glutamín a aspartát spotrebovaný potravou sa rýchlo vylučuje prostredníctvom obličiek⁸.



Obrázok 2: Krvno-mozgová bariéra. Prevzaté a upravené ^b.

2.4 Typy mozgových buniek

Neurón

Neurón je základnou jednotkou nervového systému, ktorý plní funkciu prenosu informácie z jedného neurónu na druhý za pomoci chemických a elektrických signálov. Existujú mnohé druhy neurónov, ktoré vykonávajú rôzne špecializované funkcie, ako sú senzorické neuróny, motorické neuróny, interneuróny atď.

Neuróny tvoria rozsiahle neurálne obvody, odhadnuté na dĺžku stoviek tisíc kilometrov ¹. Neurón má bunkové telo, ktoré zahŕňa jadro a cytoplazmu a množstvo jemných vlákien - dendritov. Tieto štruktúry prenášajú informácie od susediacich neurónov v okolitom prostredí. Z neurónu vedie štruktúra variabilnej dĺžky, nazývaná axón vid'. obr. 3, ktorý vedie informácie preč z neurónu. Niektoré neuróny však nemajú axóny a tak dendrity zastávajú úlohu prenosu informácie. Lipoproteínová vrstva nazývaná myelínové puzdro, obklopuje axón hlavnej bunky. Ranvierový zárez zabezpečuje rýchlu komunikáciu medzi neurónmi. Neuróny komunikujú navzájom pomocou synapsí. Väčšina z týchto spojovacích bodov sú chemické synapsie, kde sa uvoľňuje tzv. neurotransmitter, ktorý difunduje v priestore medzi dvoma neurónmi. Druhý typ synapsie je elektrický. Vysielanie impulzov sa vyskytuje v oboch smeroch a prebieha veľmi rýchlo ³.

V kôre sú tri hlavné typy neurónov - pyramídové bunky, spinálne - granulóne, a nespínálne granulóne bunky. Najvýznamnejšími neurónmi v kôre sú pyramídové bunky, ktoré sú veľké a ich charakteristickým prvkom je prítomnosť hustého apikálneho dendritu,

ktorý siaha k najvrchnejšej vrstve kortexu, a končí jemnou sieťou z vlákien, ktoré prebiehajú paralelne v najvyššej vrstve nazývanej molekulárna vrstva.

Od bazálnej oblasti pyramídových buniek vznikajú dendrity a horizontálne sa rozprestierajú a dosahujú vzdialenosť až do 1 mm a silne sa vetvia pozdĺž ich dĺžky. Všetky tieto dendrity sú zahalené mnohými dendritickými trňmi, ktoré sú miestami pre synaptické spojenia so susednými axónmi. Samostatný axón začína od axónovej vrchoviny, ktorá sa nachádza na základni pyramídálnej bunky. Pyramídálne bunky využívajú buď glutamát, alebo aspartát ako neurotransmitery.

Spinálne granulárne bunky sú menšie, ale ich dendrity vykazujú bohaté vetvenie. Ich axóny sa rozširujú v kôre a prechádzajú vertikálne skôr ako horizontálne. Ich neurotransmitterom je glutamát. Tieto neuróny sú vo všeobecnosti senzorické.

Nespinálne granulárne bunky vytvárajú skupinu heterogénnych neurónov, ktoré tvoria hlavne interneuróny. Ich axóny sú obmedzené na šedú hmotu. Veľa z nich sú inhibítormi a používajú kyselinu gama-aminomaslovú ako ich neurotransmitter, ale niektoré používajú iné neuropeptidy ako je cholecystokinín, somatostatín, atď.

Neuroglie

Hmotnosť, ktorá tvorí mozog, zahŕňa taktiež podporné tkanivo nervového systému nazývané neuroglie, a tieto bunky prevyšujú počet neurónov 10 až 50 krát. Sú zodpovedné za vytvorenie priaznivého prostredia pre funkciu neurónov, aj keď sami nemajú neurologické funkcie. Existujú dva typy neuroglií: centrálna, medzi ktoré patria makroglie a mikroglie; periférna, ktoré zahŕňajú Schwannove a satelitné bunky ¹.

Mikroglie majú obrannú úlohu ako fagocytárne bunky. Nájdené sú v celom mozgu a mieche a môžu zmeniť svoj tvar, najmä ak pohlcujú časticový materiál. Slúžia ako ochrana pre nervový systém. Makroglie sú rozdelené na rôzne typy, z ktorých každý má špecifickú úlohu ³.

Astrocyty

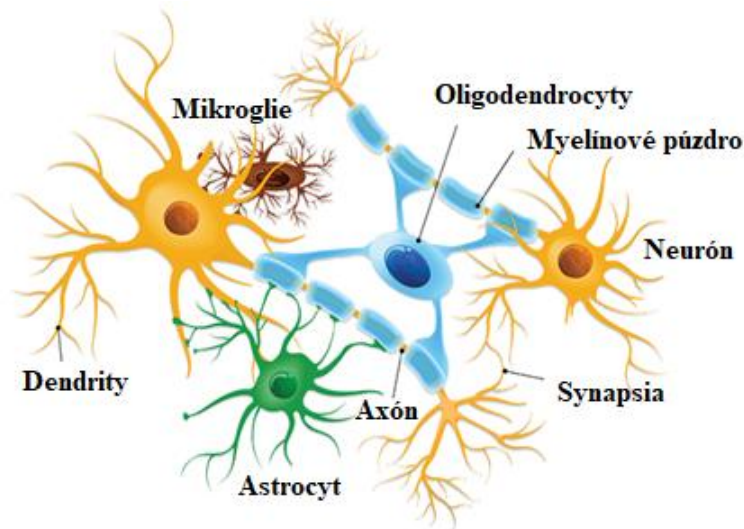
Astrocyty vyplňujú medzery medzi neurónmi a zabezpečujú ich štrukturálnu integritu. Pripájajú sa ku kapilárom krvných ciev, a preto sú pre ich tesnú aplikáciu na krvné cievy zodpovedné za výmenu metabolitov medzi neurónmi a cievami.

Ependymálne bunky

Existujú tri typy ependymálnych buniek - ependymocyty, tanycyty a chorioidálne epitelové bunky. Ependymocyty umožňujú voľný pohyb molekúl medzi MMT a neurónmi. Tanycyty sú zapojené do reakcie na zmenu hormonálnych hladín krvných hormónov v MMT. Chorioidálne epitelové bunky sú bunky, ktoré riadia chemické zloženie MMT.

Oligodendrocyty

Oligodendrocyty sú zodpovedné za výrobu myelínových puzdier v CNS.



Obrázok 3: Typy mozgových buniek a ich komponenty. Prevzaté a upravené ^c.

Radiálne gliálne bunky

Radiálne gliálne bunky pôsobia ako platforma, na ktoré nové neuróny migrujú v centrálnom nervovom systéme.

Enterické gliálne bunky

Tieto bunky sa nachádzajú v gastrointestinálnom trakte a napomáhajú tráveniu a udržiavaniu homeostázy. Nachádzajú sa v periférnom nervovom systéme.

Schwannove bunky

Rovnako ako oligodendrocyty sú Schwannove bunky zodpovedné za výrobu myelínového puzdra, ale v periférnom nervovom systéme. Majú tiež ďalšiu úlohu vo fagocytóze akýchkoľvek zvyškov.

Satelitné bunky

Satelitné bunky obklopujú neuróny autonómneho a aj senzorického systému. Udržiavajú stabilnú chemickú rovnovahu okolitého prostredia. Nachádzajú sa v periférnom nervovom systéme³.

Metabolický profil neurónov

V súlade s vyššími energetickými požiadavkami, neuróny udržiavajú vysokú mieru oxidačného metabolizmu v porovnaní s gliálnymi bunkami. Neuróny môžu efektívne využívať laktát ako energetický substrát, a dokonca vykazujú preferenciu pre laktát nad glukózou v prípade, ak sú oba tieto substráty prítomné. Neuróny vykazujú pomalšiu glykolytickú rýchlosť¹⁰.

Štúdie ukázali, že enzým fruktóza-2,6-bisfosfatáza 3, kľúčový pozitívny modulátor glykolýzy v bunkách, neustále podlieha proteázovej degradácii, zatiaľ čo v astrocytoch je tento enzým plne aktívny, čo umožňuje zvyšovanie glykolýzy. Glukóza je teda v neurónoch prevažne využívaná na udržanie antioxidantného stavu skôr, ako na účely bioenergetiky¹¹.

Metabolický profil astrocytov

Astrocyty aj napriek tomu, že vykazujú nižšiu mieru oxidačného metabolizmu v porovnaní s neurónmi, vnímajú glukózu a charakteristicky vykazujú vysokú glykolytickú rýchlosť¹⁰. Expresia a zosťih vybraných génov metabolizmu glukózy prinášajú astrocytom schopnosť dynamicky regulovať glykolýzu, zatiaľ čo neuróny sú zablokované v ustálenom stave glykolýzy.

Ďalším rozlišovacím znakom medzi astrocytmi a neurónmi, v súvislosti s glykolýzou, je vedľajší vysoko reaktívny produkt glykolýzy - metylglyoxal (MG), ktorý podporuje tvorbu pokročilej glykácie konečných produktov, ktoré sú spojené s niekoľkými neurodegeneratívnymi poruchami. MG je detoxikovaný bunkami prostredníctvom glyoxalázového systému obsahujúceho glyoxalázu 1 (Glo-1) a 2 (Glo-2). Oba enzýmy sú vyjadrené vo výrazne vyšších hladinách u astrocytov, v porovnaní s neurónmi. Tieto funkcie poskytujú astrocytom možnosť udržiavať vysokú hladinu glykolýzy, pretože môžu detoxifikovať MG¹¹.

2.5 Mozgová činnosť a metabolizmus mozgu

Približne 20 % kyslíka a 25 % glukózy spotrebovaných ľudským telom sú venované mozgovým funkciám a mozog pritom predstavuje iba 2 % z celkovej telesnej hmotnosti ¹⁰. Evolučné štúdie naznačujú, že vznik vyšších kognitívnych funkcií je spojený so zvýšenými nárokmi na glukózu ¹¹.

Rôzne bunkové typy majú odlišné metabolické profily s osobitným rozlíšením neurónov a astrocytov ¹¹. Význam metabolických interakcií neurónov a astrocytov je dôležitý, pretože narušenia v týchto procesoch prispievajú k neurodegeneratívnym ochoreniam.

Glukóza je hlavným energetickým substrátom mozgu. Napriek tomu, za určitých okolností má mozog schopnosť používať iné substráty z krvi, napr. laktát, počas intenzívnej fyzickej aktivity. Glukóza vstupuje do buniek cez špecifické glukózové transportéry (GLUT) a je fosforylovaná hexokinázou (HK) za vzniku glukóza-6-fosfátu (glukóza-6F) vid'. schéma 1.

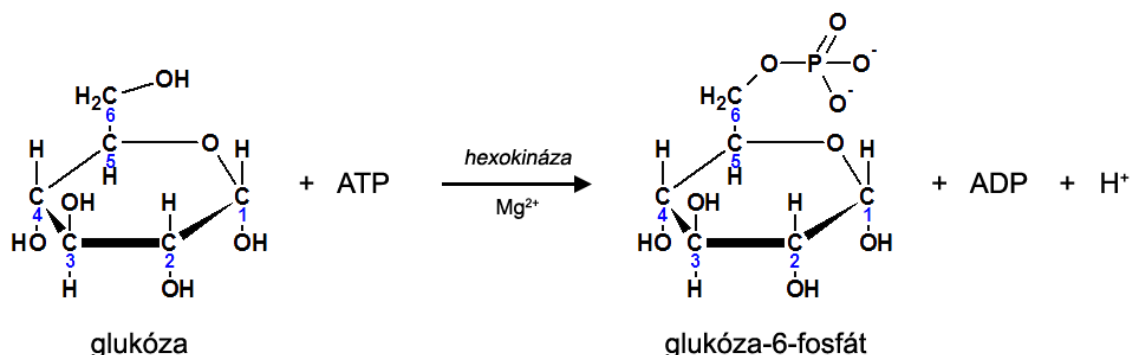


Schéma 1: Fosforylácia glukózy za vzniku glukóza-6-fosfátu katalyzovaná hexokinázou. Prevzaté ⁸.

Ako aj v iných orgánoch, glukóza-6F môže byť spracovaná cez rôzne metabolické dráhy, pričom hlavnými sú: glykolýza, pentózovofosfátová dráha a glykogenéza.

Za normálnych podmienok je glukóza vstupujúca do mozgu úplne oxidovaná na CO₂ a H₂O, avšak, každá jednotlivá mozgová bunka nemusí nutne metabolizovať glukózu na CO₂ a H₂O. V skutočnosti vznikne široký rozsah metabolických medziproduktov, kedy môže byť následne oxidovaná na energiu, napr. laktát, pyruvát, glutamát alebo acetát ¹⁰.

Po prvé, môže byť glukóza metabolizovaná prostredníctvom glykolýzy, čo vedie k dvom molekulám pyruvátu a k produkcii ATP a NADH. Pyruvát môže potom vstúpiť do mitochondrií, kde sa metabolizuje prostredníctvom cyklu troch karboxylových kyselín

a oxidačnou fosforyláciou, čím dôjde k produkcii ATP a CO₂ za spotreby kyslíka. Za podmienok hypoxie, alebo v závislosti od bunkového metabolického profilu, môže byť pyruvát redukovaný na laktát pomocou laktátdehydrogenázy, ktorý sa uvoľňuje do extracelulárneho priestoru prostredníctvom monokarboxylátových transportérov.

Glukóza-6F môže byť spracovaná pomocou pentózofosfátového cyklu (PFC), čo vedie k produkcii redukovaných ekvivalentov vo forme NADPH. PFC a glykolýza sú prepojené pri glyceraldehyd-3-fosfáte (GA3F) a fruktóza-6-fosfáte (fruktóza-6F). NADPH produkovaný v PFC je dôležitý pre obranu proti oxidačnému stresu prostredníctvom metabolizmu tripeptidu glutatiónu (TPG). Oxidovaný glutatión (OG) vzniknutý ako výsledok, je recyklovaný späť na glutatión pôsobením glutatiónreduktázy, za využitia NADPH ako donora elektrónov. V astrocytoch môže byť glukóza-6F využitá pre ukladanie glukosylových jednotiek ako glykogénu¹¹.

2.6 Mozog ako imunoprivilegované tkanivo

Historicky sa predpokladalo, že CNS je anatomicky a fyziologicky izolované z imunitného systému. Dnes je známe, že bunky a mediátory imunitného systému rutinne prichádzajú do neporušeného mozgu. Konkrétne nové údaje naznačujú, že CNS a imunitný systém sa aktívne regulujú navzájom prostredníctvom bunkových a molekulárnych mechanizmov¹².

Nedávne dôkazy podporujú potenciál pre molekulovú expresiu MHC I. triedy (hlavný histokompatibilný komplex) pre neuróny za okolností, kedy bola expresia preukázaná na niektorých neurónoch za patologických stavov. Avšak, diferencované neuróny sa zdajú byť schopné potlačenia expresie MHC I. triedy na ich povrchu prostredníctvom neurochemických a elektrických vplyvov. To znamená, že tieto bunky sa môžu kvalifikovať ako imunologicky inertné za vhodných podmienok.

Na rozdiel od neurónov, všetky gliálne bunky exprimujú MHC molekuly I. triedy. Mikroglie exprimujú molekuly MHC II. triedy konštitutívne a astrocyty môžu byť indukované tieto molekuly exprimovať za patologických podmienok.

Gliálne bunky prispievajú k imunologickým privilégiám tým, že obmedzujú rozsahu imunitne sprostredkovaných poranení. Po spoločnej kultivácii sú T lymfocyty menej citlivé k zápalovým stimulom. Astrocyty produkujú transformujúci rastový faktor β a interleukín 10,

ktoré sú známe tým, že znižujú imunitnú odpoveď. Navyše, mikroglie aj astrocyty fagocytujú, mikroglie oveľa efektívnejšie než astrocyty.

KMB a jej úloha pri vytváraní imunitnej výsady zahŕňa svoje miesto v prechode imunitných buniek zo systémovej vaskulatúry do mozgového parenchýmu. Je to brána, ktorá obmedzuje vstup buniek do CNS a následne vývoj zranenia ¹³.

3 GLYMFATICKÝ SYSTÉM

3.1 Lymfatický systém tela

Lymfatický systém ľudského organizmu je organizovaná sieť pozostávajúca z funkčne prepojených ciest. Jeho hlavné komponenty sú migrujúce dendritické bunky, makrofágy a lymfocyty; organizované lymfatické tkanivá, ako sú lymfatické uzliny, týmus, slezina, kostná dreň a lymfatické tkanivo v čreve a pľúcach; pečeňové lymfoidné bunky; cievy (medzibunkový priestor, lymfatické a perivaskulárne priestory); tekutiny (tkanivová tekutina a lymfa) ¹⁴.

Počas ustáleného stavu udržuje lymfatický systém periférnu toleranciu ¹⁵ a rozlišuje medzi "vlastným" a "nevlastným", a tiež medzi „bezpečným“ a „nebezpečným“. Vďaka existencii tzv. PAMP (molekulové vzory typické pre patogény) štruktúr a špecifických receptorov PRR (receptory rozoznávajúce molekulové vzory) je organizmus schopný tolerovať potrebné mikroorganizmy črevnej mikroflóry a pritom okamžite reagovať na prítomnosť tzv. nebezpečných patogénnych mikroorganizmov. Pre ich likvidáciu má ľudský organizmus dokonalé nástroje, prenikajúce mikroorganizmy sú okamžite uznané ako "cudzie" a je iniciovaná adaptačná imunitná odpoveď ¹⁴, kedy sú produkované protilátky, cytotoxické imunitné bunky a pamäťové bunky.

Lymfatické cievy majú tri základné úlohy. Prvou je udržiavať rovnováhu tekutín. Tekutina, ktorá uniká z krvných ciev v periférnych tkanivách, sa prepravuje cez lymfatické cievy a vráti sa do krvného obehu. Druhou úlohou je absorbovať tuky v čreve a transportovať ich do krvného obehu. Treťou funkciou je uľahčenie imunitnej obrany hostiteľa. Lymfatické cievy sú dobre známe ako kanály, cez ktoré sú antigény a imunitné bunky transportované do odtokových lymfatických uzlín za účelom ochrany ¹⁵.

3.2 Charakteristika glymfatického systému

O mozgu sa už dávno myslelo, že nemá systém lymfatického odtoku. Nedávne štúdie však dokazujú prítomnosť systému v mozgu nazývaného ako glymfatický systém, ktorý je založený na jeho podobnosti s lymfatickým systémom¹⁶ a jeho závislosti od gliálnych buniek, konkrétne vodných kanálov aquaporínov 4 (AQP4) umiestnených na konci astrocytov, ktoré obklopujú krvné cievy v mozgu. Ak by neboli prítomné vodné kanály, MMT by sa musela transportovať pomocou difúzie, ktorá je príliš pomalá, a preto by bola neúčinná¹⁷.

Okrem odstránenia MMT a IST glymfatický systém tiež uľahčuje vylučovanie intersticiálnych látok, ako je β -amyloid¹⁶. Zložkami glymfatického systému sú MMT, IST, periarteriálne a perivenózne priestory¹⁷.

Glymfatický hydrodynamický proces je obojsmerný z hľadiska komunikačného toku a je čiastočne poháňaný pulzáciami dýchacieho a srdcového tlaku¹⁶. Sila, ktorá riadi prietok MMT do perivaskulárnych priestorov a kombinácia arteriálnej pulzatility, dýchania, a tlakových gradienov, prispieva ku glymfatickému toku¹⁷.

Bola preskúmaná úloha viacerých faktorov, ktoré znižujú glymfatickú aktivitu. Jednou z manipulácií je deprivácia spánku. Dysfunkcia tohto "čistiaceho" mechanizmu by mohla byť zodpovedná za vývoj ochorení charakterizovaných akumuláciou metabolitov¹⁷. Existuje taktiež množstvo nových dôkazov, že odstraňovanie potenciálne neurotoxických odpadových produktov sa počas spánku zvyšuje rozšírením extracelulárnych priestorov v mozgu¹⁸. Glymfatický systém je tiež považovaný zodpovedným za výskyt markerov v periférnej krvi pri traumatickom poškodení mozgu¹⁷.

Manipulácia s glymfatickým systémom môže byť použitá na podporu experimentálnych štúdií na nefarmakologické, neinvazívne zvládanie neurologických porúch¹⁶.

História a výskum objavu glymfatického systému

Aby sme mohli prežiť, mozog musí mať spôsob pre odstránenie odpadu. Je nepredstaviteľné, že by orgánu tak jemne vyladenému, chýbal účinný systém likvidácie odpadu. Až do nedávnej doby bol čistiaci systém mozgu záhadou⁵.

Prvý vedecký objav sa však pripisuje švédskemu vedcovi, Emanuelovi Swedenborgovi, ktorý už v roku 1741 opísal rozšírenie mozgu a jeho produkcie extrémne rafinovanej látky, ktorú nazval „duchovnou tekutinou“. Povedal, že táto rafinovaná kvapalina prechádza

v celom tele a vráti sa do krvi prostredníctvom lymfy. Vo svojom opise Swedenborg vytvoril prvé spojenie medzi MMT a lymfatickým systémom ¹⁸.

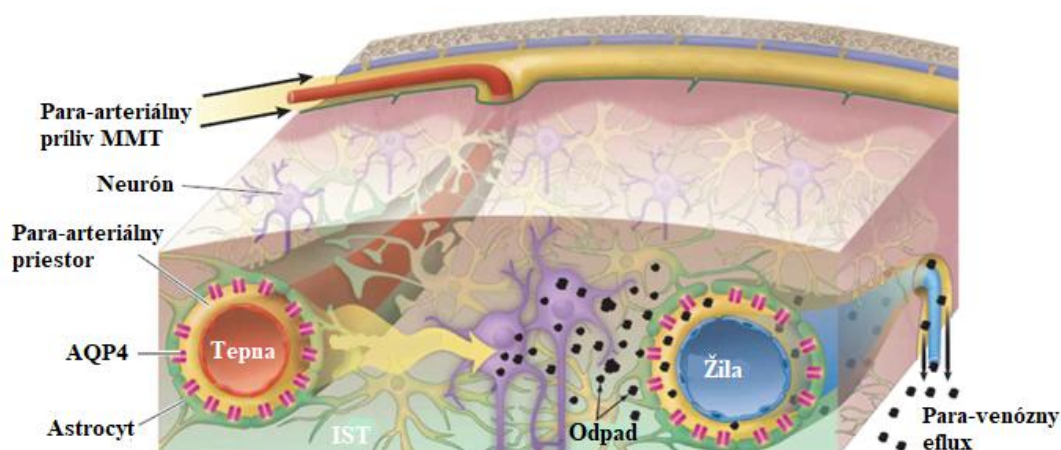
Novodobé výskumy zistili, že systém odstraňovania je najaktívnejší počas spánku. Potreba odstrániť potenciálne toxické odpady z mozgu môže v skutočnosti pomôcť objasniť tajomstvo toho, prečo spíme.

Na testovanie tejto myšlienky skupina vedcov vycvičila myši, aby v klúde sedeli pod mikroskopom, a tak mohli u nich zachytiť snímky stopovacej chemikálie v MMT použitím novej snímacej techniky nazývanej dvojfotónová mikroskopia ¹⁹.

Označením MMT fluorescenčnými indikátormi injektovanými do subarachnoidálnej cisterny v oblasti medzi mozočkom a predĺženou miechou sa ukázalo, že MMT rýchlo vstupuje do mozgu pozdĺž kortikálnych tepien. Záznam bol nasledovaný prítokom do Virchowov-Robinovho priestoru, kde lymfatické priestory obklopujú cievy v CNS a sú vyplnené likvorom, nasledujúc pozdĺž prenikajúcich arteriol. Bolo zrejmé, že stopovacie látky MMT namiesto difúzneho a náhodného rozptýlenia v parenchýme vstúpili do parenchýmu periarteriálnou cestou obklopujúcou bunky vaskulárneho hladkého svalstva ohraničené perivaskulárnym astrocytickým koncom a ukázalo sa, že stopovacie prvky rýchlo opustili mozog pozdĺž centrálnych hlbokých žíl ⁵.

Vedci porovnávali ako sa pohybuje látka cez glymfatický systém u myši v bdelom a spiacom stave. Pretože toto zobrazovanie nebolo ani invazívne, ani bolestivé, myši zostávajú tiché a kompatibilné, a to tak, že často zaspali počas zobrazovania, takže bolo možné zobrazovať prítok počas spánku a bdelosti. MMT dramaticky poklesla, kým boli študované myši v stave bdelosti. Počas niekoľkých minút po nástupe spánku alebo účinkom anestézie, sa však prírastok tekutiny výrazne zvýšil, až o viac ako 60 %, pretože priestor medzi bunkami sa začal rozširovať, čo pomáhalo vytláčať tekutinu mozgovým tkanivom.

Výskum tiež dokázal, že neurotransmitter nazývaný norepinefrín reguluje objem intersticiálnej oblasti a následne tempo glymfatického toku. Úrovně norepinefrínu sa zvýšili, keď sa myši prebudili a počas spánku boli nedostatočné, čo naznačuje, že prechodné poklesy spánku súvisiace s dostupnosťou norepinefrínu viedli k zvýšenému glymfatického toku ¹⁹.



Obrázok 4: Cirkulácia MMT cez glymfatický systém. Prevzaté a upravené ²⁰.

3.3 Vodné kanály Aquaporíny

Rodina proteínov tzv, Aquaporíny (AQP) je identifikovaná šiestimi membránami zahŕňajúcimi domény s vnútrobunkovými karboxylovými a aminovými koncami a molekulovou hmotnosťou približne 30 kDa. Spoločná vlastnosť je ich kľúčová úloha pri tvorbe pórov, 13 členov AQP je všadeprítomne distribuované a môžu byť rozdelené do troch podskupín: Aquaporíny (AQP0, 1, 2, 4, 5, 6 a 8) považované za "rodinu vodných kanálov", ktoré sú priepustné pre vodu. AQP1, 4, 5, 6 a 8 boli popísané v mozgových bunkách u hlodavcov a primátov, z ktorých je najviac študovaný a popisovaný AQP4. Druhá podskupina, Aquaglyceroporíny (AQP3, 7, 9 a 10) prispievajú k difúzii vody, ako aj glycerolu, močovine a niektorým monokarboxylátom, ktoré môžu uľahčiť difúziu laktátu. Nakoniec bola navrhnutá tretia podskupina Super-aquaporínov, vrátane AQP11 a 12, ktoré sú lokalizované v cytoplazme, ich úloha však ešte nie je zatiaľ dobre pochopená.

Prítomnosť aquaporínov vo všetkých živých organizmoch naznačuje dôležitosť tekutej homeostázy a súvisiaci pozitívny selekčný tlak pre proteíny spojené s týmto procesom ²¹. Doprava vody a solutov prostredníctvom AQP závisí od koncentračných gradientov, ale veľkosť transportu je vo veľkej miere určená hlavne jednosmernou priepustnosťou AQP a ich početnosťou v bunkovej membráne ²².

AQP4 je najrozšírenejší vodný kanál nachádzajúci sa vo všetkých štruktúrach mozgu v kontakte s mozgovou vaskulatúrou. Vysoká koncentrácia AQP4 sa nachádza v mozgovej kôre, kde je jeho expresia na konci astrocytov v kontakte so všetkými krvnými cievami,

kde uľahčuje perivaskulárny tok a prípadné zapojenie sa do odstránenia niektorých proteínov, ako je β -amyloid. Nedávne štúdiá potvrdzujú dôležitosť AQP4 súvisiacich s odstránením potenciálne škodlivých látok v centrálnej nervovej sústave ²³.

Intersticiálny tok bol postulovaný tak, aby zohrával úlohu podobnú systémovému lymfatickému systému pre mozog, ktorý nemá konvenčný lymfatický systém. Tento koncept sa nedávno obnovil vo vzťahu na dynamiku MMT a amyloidného odstránenia. Hoci choroidový plexus tiež produkuje MMT, intersticiálna tekutina vstupuje do systému MMT a prispieva významne k jej objemu. Tento systém mozgového lymfatického ekvivalentu je v súčasnosti všeobecne označovaný ako glymfatický systém.

Systém AQP-4 funguje ako obehový systém intersticiálnej tekutiny v KMB a je zodpovedný za tvorbu pohybu intersticiálnej tekutiny pre glymfatický prietok ²⁴.

3.4 Beta-amyloid

Keďže mozog je v stave konštantnej vysokej metabolickej aktivity, potrebuje účinný systém na odstránenie jeho metabolitov. Intersticiálne rozpustené látky, ako napr. β -amyloid (β A), boli považované za vyčistené z mozgu vďaka KMB. Nedávno objavený glymfatický systém, v ktorom je MMT vymieňaná s IST, uľahčuje AQP4 na astrogliálnom konci. IST je čerpaná do paravenózneho priestoru, z ktorého siaha do lymfatických uzlín. Tento glymfatický tok môže vyčistiť rozpustené látky z intersticiálneho priestoru, a preto sa zdá, že má rovnakú funkciu ako lymfatické uzliny mimo mozgu. Nedávne štúdie preukázali, že odstránenie nahromadeného β A, ktorý sa akumuluje v prípade porušenia KMB, je do značnej miery závislý na glymfatickom systéme. ²⁵.

Produkcia β A je najvyššia v stave bdelého stavu, keď je neuronálna aktivita najvyššia. Avšak β A nie je produkovaný iba neurónmi. V skutočnosti ho produkujú všetky bunky a najmä oligodendrocyty a ich prekursorové bunky. U zdravých mladých jedincov sa 8,3 % celkového β A čistí každú hodinu cez MMT.

Glymfatický systém môže v kombinácii s transportom cez KMB, poskytnúť nevyhnutné a dostatočné odstránenie extracelulárneho β A. To naznačuje, že nízka aktivita glymfatického systému môže byť hlavným rizikovým faktorom pre vývoj neurodegeneratívnych ochorení ⁵, ako napr. Alzheimerova choroba (AD), ktorá sa vyznačuje patologickou depozíciou A β . Astrocyty sa považujú za subjekty, ktoré sa podieľajú na odstraňovaní A β z mozgového

parenchýmu do perivaskulárneho priestoru, cez hematoencefalickú bariéru alebo enzymatickou degradáciou. Akumulácia A β v astrocytoch naznačuje zlyhanie odstraňovania A β v AD. To vedie k záveru, že astrocyty zohrávajú dôležitú úlohu pri odstraňovaní A β ²⁶.

3.5 Spánok vs. bdelosť vo vzťahu ku glymfatickému systému

Spánok je univerzálne a evolučne konzervatívne správanie a hoci ešte nemá základné pochopenie toho, prečo potrebujeme spať, je všeobecne akceptované, že spánok umožňuje mozgu vykonávať kritické operácie, ktoré sú do značnej miery nezlučiteľné s bdelosťou ²⁷.

Metabolizmus mozgu počas spánku klesá o 25 %, čo naznačuje, že spánok slúži nielen na šetrenie energie. Nedávna analýza ukazuje, že stav spánku je jedinečný v tom zmysle, že glymfatická aktivita je výrazne zvýšená, zatiaľ čo jej funkcia je potlačená počas bdlosti. In vivo 2-fotónové zobrazenie glymfatickej funkcie ukázalo, že tok MMT v stave bdlosti bol znížený o 90 % v porovnaní s anestetizovanými myšami. Aby sa otestovalo, či je to špecifické pre stav bezvedomia alebo vedľajší účinok použitých anestetík, rovnaký experiment sa uskutočnil pri prirodzene spiacich myšiach. Táto analýza prílivu MMT ukázala nápadnú podobnosť medzi skutočným spánkom a anestetizovanými myšami. Rozdiel spánku a bdenia glymfatického prítoku koreloval s objemovou frakciou intersticiálneho priestoru, ktorý bol 13 – 15 % v stave bdlosti a rozšíril sa na 22 – 24 % u myši spiacich aj u anestetizovaných. Toto pozorovanie naznačuje, že stav spánku je zvlášť priaznivý pre konvekčné toky tekutín a tým pre odstránenie metabolitov ⁵, pretože počas spánku glymfatický systém skutočne odstránil A β z mozgu s pozoruhodnou účinnosťou. Jeho miera čistenia sa viac ako zdvojnásobila spánkom. Na druhej strane, myši geneticky upravené tak, že im chýbali vodné kanály - AQP4 v astrocytoch, preukázali výrazne zníženú glymfatickú funkciu a vyčistili o 40 % menej A β ako kontrolné zvieratá ¹⁹.

Aktivita mozgu počas bdenia je spojená s vysokými metabolickými rýchlosťami, o ktorých sa predpokladá, že podporujú spracovanie informácií a kódovanie pamäte. Nedávne štúdie ukazujú, že astrocyty reagujú na redukciu neuromodulátorov podporujúcich budenie tým, že regulujú objem, zloženie a glymfatickú drenáž ²⁷. Neuromodulátor norepinefrín je dôležitým regulátorom glymfatickej aktivity a môže byť zodpovedný za potlačenie glymfatického toku počas bdlosti. Uvoľňovanie norepinefrínu pri rozrušení zvyšuje frakciu bunkového objemu, čo vedie k zníženiu intersticiálneho priestoru. Na druhej strane sa zvyšuje odpor voči výmene MMT a IST, čo vedie k potlačeniu glymfatických tokov počas bdlosti.

Norepinefrín tiež priamo pôsobí na epiteliálne bunky choroidného plexu a inhibuje tak produkciu MMT. Preto sa norepinefrín taktiež môže považovať za regulátor prechodu medzi stavom spánku a bdlosti a tým aj regulátorom glymfatickej funkcie ⁵.

Transport KMB je čiastočne zodpovedný za zvýšenie odstraňovania A β počas spánku. Konvekčný prietok presúva A β viac smerom k KMB, takže doprava KMB sa nepriamo zvyšuje prostredníctvom sprostredkovania glymfatického systému ²⁵.

Zdá sa, že hlavnou funkciou spánku je aktivácia glymfatického systému, prostredníctvom ktorého sa mozog dokáže zbaviť neurotoxických odpadných produktov, ktoré sú produkované počas bdlosti ⁵.

3.6 Transport lipidov glymfatickým systémom

Napriek tomu, že mozog je vysoko obohatený o cholesterol, KMB zabraňuje prílivu lipidov a lipoproteínov vrátane cholesterolu z krvi do mozgu. Na rozdiel od periférnych tkanív, ktoré získavajú krvný cholesterol vylučovaný pečeňou, mozog si cholesterol syntetizuje de novo. Nadbytočný cholesterol sa vylučuje z mozgu hydroxyláciou cholesterolu na 24-OH cholesterol. V skutočnosti 80 % 24-OH cholesterolu v tele sa nachádza v mozgu a obehový systém pôsobí ako záchyt nadmerného cholesterolu v mozgu. Mozog je dobre vybavený pre vnútornú prepravu lipidov prostredníctvom vlastných lipidových nosičov typu lipoproteínov s vysokou hustotou vylučovaných astrocytmi. Sekrécia týchto častíc z astrocytov závisí hlavne od apolipoproteínu E (ApoE). Apolipoproteínové nosiče tiež sprostredkovávajú odstránenie nadbytku hydroxylovaného cholesterolu ako aj A β .

ApoE je multifunkčný proteínový nosič s ústrednými úlohami v metabolizme lipidov, neurobiológii a neurodegeneratívnych chorobách. Má tri hlavné izoformy (apoE2, apoE3 a apoE4) s rôznymi účinkami na lipidovú a neuronálnu homeostázu. Hlavnou funkciou apoE je sprostredkovanie väzby lipoproteínov alebo lipidových komplexov v plazme alebo IST na špecifické povrchové receptory buniek ²⁸.

ApoE je obzvlášť koncentrovaný v astrocytických procesoch na povrchu kôry a okolo krvných ciev. Navyše choroidný plexus a tancyty taktiež produkujú ApoE a jeho produkcia je preto spoločne lokalizovaná s miestami produkcie MMT a transportnými cestami, čo naznačuje, že lipidy sú transportované glymfatickým systémom, ktorý hrá úlohu pri distribúcii lipidov v mozgu, a že stredné až veľké molekuly rozpustné v lipidoch môžu

vyžadovať častice nosiča na to, aby boli dodávané cez MMT. Astrocyty teda zohrávajú kľúčovú úlohu pri syntéze lipidov a distribúcii lipidov uvoľňovaním lipidových nosičových proteínov, ako je ApoE, a pri udržiavaní cesty glymfatickému systému⁵.

Štúdie pomocou in vivo 2-fotónového zobrazovania taktiež potvrdili, že paravaskulárny obeh uľahčuje selektívny transport malých lipofilných molekúl a rýchly pohyb IST. Odstránenie tlaku paravaskulárneho systému vedie k neselektívnej lipidovej difúzii, akumulácii intracelulárnych lipidov a patologickej signalizácii v astrocytoch. Pretože CNS nemá lymfatické cievy, paravaskulárny priestor môže slúžiť ako ekvivalent lymfatického systému, ktorý predstavuje samostatnú cestu na prepravu lipidov a signálnych molekúl²⁹.

3.7 Regulácia glymfatickej aktivity

Funkcie mozgového lymfatického drenážneho systému sú regulované starnutím, genetickým fenotypom, cyklusom spánok-bdenie, srdcovou pulzáciou, dýchaním a držaním tela. Stále zostáva nejasné, či pohlavie alebo pohlavné rozdiely ovplyvňujú priamo výkon glymfatického systému. Účinnosť systému je tiež ovplyvnená rôznymi patologickými stavmi alebo ochoreniami, ako sú malé vaskulárne ochorenia, lokálny edém, mŕtvica, nádor na mozgu apod.

Starnutie sa považuje za základný faktor pri regulácii glymfatického systému. Zmeny v mozgovej vaskulatúre sa vyskytujú s rastúcim vekom, čo vedie k dysfunkcii glymfatického systému³⁰. Výskum tiež preukázal, že tlmenie srdcového cyklu a súvisiaca pulzatilita kortikálne penetrujúcich tepien, viedla k zhoršenému prírastku glymfatického indikátora MMT do mozgových tkanív²⁰.

Laktátová hladina v mozgu sa spája s cyklom spánok-bdenie. Koncentrácia sa zvyšuje v stave bdenia, zatiaľ čo sa v stave spánku zníži. Takéto dynamické zmeny mozgového laktátu sú regulované glymfatickým systémom.

Vplyv postoja tela na funkciu glymfatického systému bol študovaný, s cieľom preskúmať, ako telesné pozície ovplyvňujú glymfatický transport markerov u anestetizovaných potkanov. Kinetické modelovacie parametre ukázali, že bočná poloha reprezentujúca prirodzený spánok, bola najefektívnejšou pozíciou pre mozog, k odstráneniu metabolického odpadu cez glymfatickú dráhu³⁰. Je teda zrejmé, že posturálne alebo gravitačné faktory taktiež vykonávajú regulačnú činnosť nad glymfatickým systémom²⁰.

3.8 Vek jedinca vo vzťahu ku glymfatickému systému

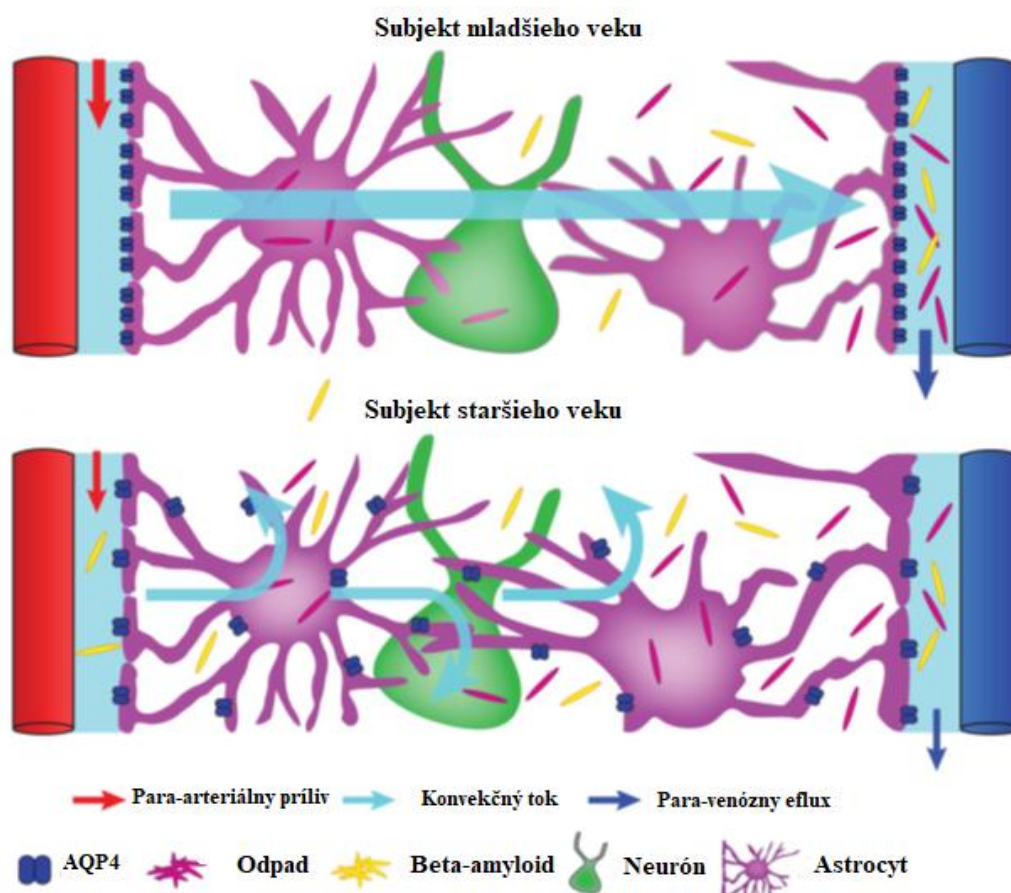
Štúdie, ktoré skúmali vzťah veku k funkcii glymfatického systému preukázali, že u starých myší došlo k výraznému poklesu glymfatickej aktivity v porovnaní u mladých myší vid'. obr. 5. Dôvodom je genetická delécia AQP4, ktorá znižuje výmenu MMT-IST. Starnutie je spojené so stratou perivaskulárnej polarizácie AQP4, a je pravdepodobné, že tieto kanály sú hlavným dôvodom zníženia glymfatickej funkcie súvisiacej s vekom.

Rovnako so starnutím dochádza ku zníženiu arteriálnej pulzatility v dôsledku spevnenia arteriálnej steny a môže tak viesť k zmene glymfatickej funkcie¹⁷, pri ktorej sa často pozoruje zväčšenie perivaskulárneho priestoru, v dôsledku fyzikálnych a tiež bunkovo-sigálnych zmien. Jedným z vysvetlení môže byť periarteriálna blokáda, ktorá vedie k lokálnej obštrukcii glymfatického toku, čo môže ovplyvniť šírku periarteriálneho priestoru⁵. To môže byť dôvod, prečo riziko neurodegeneratívnych porúch stúpa s vekom¹⁷.

Výmena MMT-IST bola hodnotená fluorescenčnou mikroskopiou in vivo a ex vivo štúdiami, zatiaľ čo intersticiálne odstraňovanie rozpustenej látky sa hodnotilo pomocou testov rádioaktívneho odstraňovania u mladých myší (2 až 3 mesiace), u myší stredného veku (10 až 12 mesiacov) a starých myší (18 až 20 mesiacov). Vzťah medzi vekom a súvisiacimi zmenami v expresii astrocytického vodného kanála AQP4 a zmenami vo funkcii glymfatickej dráhy boli hodnotené imunofluorescenciou. Výsledok tejto štúdie súvisel s dramatickým poklesom efektívnosti výmeny medzi MMT a mozgovým parenchýmom. V porovnaní s mladými myšami, bolo odstránenie injektovaného A β u starých myší znížené o ~ 40 %³¹. Ďalším faktorom prispievajúcim k zníženiu glymfatickej aktivity pri starnutí bol pokles produkcie MMT o ~ 66 % a tlaku MMT o ~ 27 %⁵.

Existujú hypotézy, ktoré poukazujú na negatívny vplyv spánku najmä u starších ľudí, spojené s nedostatočným alebo nadmerným spánkom, čo môže vplývať na zvýšenie úmrtnosti a zníženú kvalitu života³².

Vedci postulovali myšlienku, že funkcia glymfatickej dráhy je dramaticky narušená v starnúcom mozgu, a že znížená glymfatická aktivita prispieva k poklesu kognitívnych schopností u starších jedincov a môže tak predstavovať nový terapeutický cieľ pre liečbu neurodegeneratívnych ochorení³¹.



Obrázok 5: Model porovnávajúci glymfatickú funkciu pri subjekte mladšieho a staršieho veku. Prevezaté a upravené ⁵.

3.9 Glymfatický systém ako cesta pre podávanie a distribúciu liekov

Glymfatický systém ponúka príležitosť pre doručenie liekov do cieľových miest v mozgovom parenchýme. Génová terapia založená na endymálnych bunkách poskytujúcich dlhodobý biologický rezervoár, podporujú kontinuálny vstup látok priamo do mozgovomiechových komôr a potom sa distribujú po celom obvode mozgu prostredníctvom cirkulácie MMT ³⁰.

Intranazálne podávanie liekov je ďalšou sľubnou stratégiou pre podávanie terapeutických látok. Účinnosť faktora stimulujúceho kolónie granulocytov, dodané do MMT a mozgového parenchýmu prostredníctvom intranazálneho podávania bola 8-12 krát vyššia v porovnaní so subkutánnou injekciou. Treba poznamenať, že intranazálne podanie lieku je cez čuchovú dráhu v opačnom smere drenáže nosovej lymfatickej. Hnaciú silu a iné prietokové mechanizmy je preto potrebné ešte naďalej skúmať ³⁰.

Uvedené štúdie sa zhodujú so záujmom pri skúmaní novej cesty dodania liečiv do mozgu, vďaka lepšiemu prístupu glymfatickej dráhy, ktorá je náznakom toho, že existuje priestor, ktorý ponúka vysokú vodivosť pre tekutiny a naznačuje prísun nových metód na využitie pre celé odvetvie kortikálnej oblasti liečby za vhodných okolností³³.

Zatiaľ čo zvýšená produkcia IST môže byť užitočná pre zlepšenie vylučovania intersticiálnych rozpustených látok z mozgu, nízka tvorba IST prostredníctvom zvýšenia prílivu glymfatickej MMT môže predstavovať potenciálny nástroj pre distribúciu liekov do väčšej oblasti mozgu a do štruktúr, ktoré nie sú v priamom kontakte s oddelením MMT²⁰.

Peristaltika v glymfatickom systéme je mimoriadne silná v doprave, v porovnaní s objemovým intersticiálnym tokom a vedci považujú glymfatický systém za dôležitý mechanizmus pri rozšírení infúzných molekúl. Či takýto priestor bude účinne pôsobiť v peristaltike mimo zjednodušujúceho predpokladu použitých modelov ešte nie je jasné a je predmetom ďalších výskumov³³.

3.10 Možnosť využitia potenciálu glymfatického systému v klinickej praxi

Vízia a pochopenie glymfatického toku sa výrazne rozšírila a ponúka vstup do hlbších úrovní terapie, ktoré zahŕňa mozog. Tento nový vedecký dôkaz tiež otvára cestu pre nové techniky, ktoré sú dôslednejšie a ponúkajú vyššiu úroveň dôveryhodnosti v oblasti zdravotnej starostlivosti¹⁸.

V budúcich štúdiách je nevyhnutné vyvinúť diagnostický test glymfatickej aktivity schopnej identifikovať pacientov s predčasným poklesom glymfatického toku. S použitím rovnakej logiky môže posúdenie glymfatickej aktivity u pacientov po traumatickom poškodení mozgu presne určiť pacientov s najťažším potlačovaním glymfatického systému a tým identifikovať jedincov, ktorí sú vystavení vyššiemu riziku⁵.

Nedávne publikácie používajúce najmodernejšiu mikroskopiu, molekulárne charakterizovali a posúdili funkciu meningeálnych lymfatických ciev vo väčšej hĺbke. Funkcia a dysfunkcia meningeálnych lymfatických ciev a ich spojenie s glymfatickým systémom by mali byť riešené budúcimi prácami. Tento zložitý, ale mechanicky pevný systém by mohol poskytnúť nové terapeutické ciele pre neurologické poruchy spojené s poruchou funkcie imunitného systému alebo agregáciou proteínov, čo môže viesť k novým liečebným postupom.

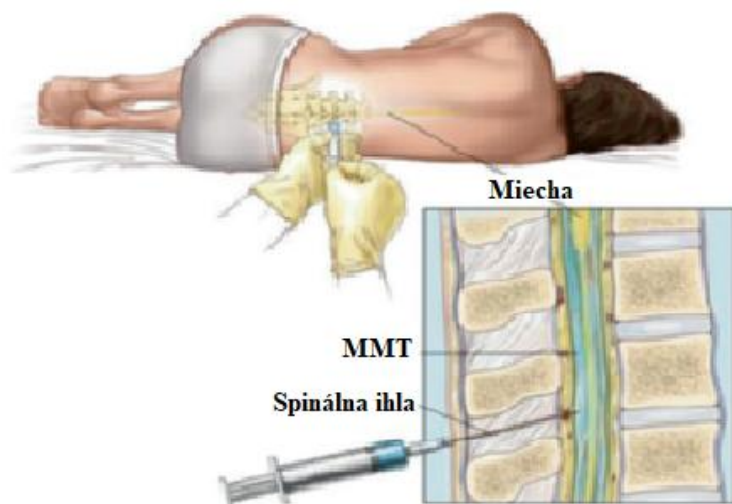
Hĺbkovú analýzu a funkcie rôznych dráh za štandardných a patologických podmienok je potrebné úplne pochopiť a pomocou ďalších štúdií a výskumov naďalej preskúmať, ako je aj ³⁴ pre budúce úsilie nevyhnutné vytvorenie bezpečného a minimálne invazívneho zobrazovacieho prístupu na vizualizáciu glymfatickej funkcie ⁵. Nové vedecké poznatky týkajúce sa glymfatického systému budú postupne odhaľovať presnejšie anatomické mapy schopné zobrazit' naše vedomie na oveľa rafinovanejšej úrovni ¹⁸.

4 METODIKA LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY

4.1 Analýza likvoru – likvorológia

Súčasná technika na analýzu MMT nie sú striktné štandardizované a sú vysoko variabilné vzhľadom na špecifickosť, citlivosť, presnosť a spoľahlivosť. Bunková analýza by sa mala vykonať krátko (~ 2 hodiny) po získaní vzorky, aby sa minimalizovalo poškodenie buniek a nevedlo tak k bunkovej deštrukcii³⁵.

Vzorky MMT, tiež nazývanej ako likvor, sa získavajú invazívnym postupom, tzv. lumbálnou punkciou, kedy sa používa sterilná ihla na odoberanie vzoriek tekutiny z priestorov medzi tretím a štvrtým alebo štvrtým a piatym stavcom vid'. obr. 6.



Obrázok 6: Odoberanie vzorky MMT lumbálnou punkciou. Prevzaté a upravené³⁶.

Zatiaľ čo počiatočný vzhľad normálnej vzorky MMT je kryštalový a čistý, krvavá vzorka MMT môže byť indikáciou vnútorného krvácania alebo punkcie ciev pri zbere vzorky. Diferenciácia medzi subarachnoidálnym krvácaním a traumatickou punkciou je dôležitá a je prvotným krokom pri hodnotení MMT.

Rutinné laboratórne vyšetrenie je rozdelené na niekoľko fáz. Po fyzickom vyšetrení vzorky pre jasnosť a prítomnosť krvi sa uskutočňuje počítanie červených a bielych krviniek, pomocou sofistikovaných automatizovaných počítačov, ale najčastejšie sa vykonáva ručne pomocou mikroskopu a špeciálne navrhnutého hemocytometru. Rutinné testy najčastejšie vykonávané na všetkých vzorkách sú testy pre počet bielych a červených krviniek, diferenciácia bielych krviniek, glukózy, proteínov a bakteriálnych kultúr³⁷.

Väčšina analýz MMT sú určené na stanovenie prítomnosti bakteriálnej meningitídy a v menšej miere prítomnosti mykobakteriálnych infekcií CNS. Menej častým dôvodom na testovanie tekutiny je určenie prítomnosti hubových alebo parazitárnych prípadov meningitídy. Úrovne bielkovín v MMT sú zvyčajne zvýšené u pacientov s bakteriálnou meningitídou a v menšej miere vo vírusovej meningitíde. Keďže albumín sa syntetizuje len v pečeni, kvocient MMT-sérový albumín, by mal slúžiť ako lepší index porušenia KMB ako bielkoviny. Avšak, tento index zatiaľ nie je populárne používaným v rutinnej praxi ³⁸.

Bežne dostupným a používaným parametrom je stanovenie koncentrácie C-reaktívneho proteínu (CRP) v krvi, ktorého úlohou je najmä opsonizácia substrátu určeného k fagocytóze.

Výrazný vzostup CRP v krvi môže indikovať bakteriálnu infekciu a taktiež je zvýšený pri infekciách spôsobených inými patogénnymi agens, vrátane vírusových, ale tiež pri neinfekčnom zápalovom postihnutí ³⁹.

Pleocytóza (zvýšený počet buniek) môže byť spôsobená infekčným alebo neinfekčným procesom. Klinické zariadenia musia však presvedčivo dokázať spoľahlivosť ich automatizovaných systémov v rutinnej praxi pri spoľahlivej diferenciácii nielen zvýšeného počtu buniek, ale aj veľmi nízkeho počtu buniek v MMT ³⁸.

Kvalitatívny cytologický obraz likvoru možno určiť len mikroskopickým vyšetrením pomocou vytvorenia trvalého preparátu. V normálnom cytologickom obraze likvoru možno nájsť lymfocyty a monocyty vo vzájomnom pomere približne 7:3. Iné elementy by za normálneho stavu nemali byť v likvore prítomné.

V rámci cytologického vyšetrenia likvoru na úrovni základnej likvorológie zahrňame medzi lymfocyty funkčne pomerne heterogénnu skupinu elementov, ako napr. regulačné T_H lymfocyty (CD4⁺), cytotoxické T_C lymfocyty (CD8⁺), B lymfocyty, ale aj NK bunky. Nález nádorových elementov v cytologickom obraze likvoru je zistením zásadným a odhaľuje malígny proces v CNS ³⁹.

4.2 Tkanivá centrálného nervového systému

4.2.1 Zobrazovacie techniky neinvazívne

Počas niekoľkých posledných desaťročí boli vyvinuté nové techniky zobrazovania mozgu o ktorých sa hovorí, že sú neinvazívne v porovnaní s dlhodobo používanými invazívnymi štúdiami na zvieratách alebo chirurgickými zákrokmi. Pre klinické alebo experimentálne vyšetrenie u ľudí, ako aj pre in vivo štúdium cicavcov, je bezpečnosť neinvazívnych metód nevyhnutná⁴⁰.

Príkladom techník molekulárneho zobrazovania s anatomickými a fyziologickými zobrazovacími technológiami sú napr:

- Počítačová asistovaná tomografia (CT) používa špeciálne röntgenové zariadenie na získanie trojrozmerných anatomických snímok z kostí, mäkkých tkanív a vzduchu. Počítač používa rozdiely v absorpcii röntgenových lúčov na vytvorenie rezov mozgu nazývaných "tomogramy".
- Elektroencefalografia (EEG) meria elektrickú aktivitu, ktorú produkujú neuróny, a tento signál zaznamenávajú elektródy umiestnených pozdĺž pokožky hlavy⁴¹.
- BOLD (zmena pomeru okysličenej a neokysličenej krvi) je kontrastné činidlo, ktoré odzrkadľuje interakciu medzi objemom krvi, jej tokom a transportom kyslíka proteínom obsahujúcim železo v červených krvinkách⁴². Funkčný kontrast sa vytvára, keď sa kyslík uvoľní zo železa a je prijatý mozgovými bunkami, čo značí, že sú aktívne⁴¹.
- Fluorescenčné mikroskopy sa používajú s fluorescenčnými sondami, ktoré vyžarujú svetlo s krátkou vlnovou dĺžkou na odhalenie biochemických aktivít v bunke tkaniva.
- Magnetoencefalografia (MEG) mapuje činnosť mozgu meraním magnetických polí, ktoré sú generované nervovou aktivitou v mozgu. Používa sa na skúmanie základov zmyslového spracovania a plánovania v mozgu.
- Funkčná magnetická rezonancia (fMRI) slúži na objasnenie procesov spojených s vyšším kognitívnym fungovaním⁴¹, a taktiež umožňuje výskumníkom posúdiť funkčné zmeny v systéme mozgu spôsobené chorobnými procesmi, poranením alebo odpoveďou na liečbu. fMRI sa tiež používa ako sprievodca operačnej stratégie v neurochirurgii⁴³. Magnetická rezonancia (MRI), sa používa rovnako ako fMRI na zobrazenie štruktúry

a funkcie mozgu a tieto techniky sú založené na zmenách regionálneho mozgového krvného toku a metabolizmu, ktoré sa spájajú so zmenami regionálnej neurálnej aktivity ⁴¹.

- Magnetická rezonančná spektroskopia (MRS) meria biochemické zmeny v mozgu v priebehu času a vytvára farebné spektrum, ktoré odráža koncentrácie molekúl podľa ich chemického zloženia ⁴³.

- Štruktúrna magnetická rezonancia meria nukleárnu magnetickú rezonanciu vlastných molekúl tela a vodných protónov. Mnohé chorobné procesy vedú k zmenám obsahu vody, tie sa potom odrážajú na obraze vytvorenom pre poskytnutie diagnostických informácií.

- Röntgenové žiarenie meria hustotu tkanív. Používa fotóny, ktoré prechádzajú telesom, odchyľujú sa, absorbujú sa tkanivom a zaznamenáva sa, keď prechádzajú z tela na fóliu s halogenidom striebra ⁴¹.

4.2.2 Zobrazovacie techniky invazívne

- Bioluminiscenčné sondy používajú enzým luciferázu na generovanie a vyžarovanie svetla organizmom, poskytujúc v reálnom čase analýzu chorobných stavov na molekulárnej úrovni ⁴¹.

- Dendrimerové nanočastice sú zlúčeniny, ktoré sa v laboratóriu syntetizujú z polymérov a zostavujú sa do sférických častíc s vysokou molekulovou hmotnosťou. Pridá sa fluorescenčná sonda, ktorá rozsvieti špecifické bunky. Technika dendrimérov ponúka výhody ako sú nano-sférické štruktúry a nízka viskozita v porovnaní s lineárnymi polymérmi s rovnakou molekulovou hmotnosťou ⁴⁴.

- Hlboká stimulácia mozgu zahŕňa implantovanie elektród do špecifických oblastí mozgu a externé stimulovanie elektród na meranie elektrických aktivít neurónov a ich elektrochemických ciest ⁴¹.

- Ultrazvuk je minimálne invazívna technika, ktorá používa zvukové vlny na určenie umiestnenia povrchov v tkanivách a rozlišuje povrchy od tekutín. Meria sa čas, ktorý nastane medzi výrobou ultrazvukového impulzu a produkciou ozveny vytvorenej, keď povrch odráža impulz. Snímač nielen generuje energiu, ale tiež pôsobí ako prijímač vracajúceho sa signálu ⁴⁵.

- Pozitronová emisná tomografia (PET) meria fyziologické fungovanie v mozgu. PET sa pomocou indikátorov viaže výhradne na proteínový A β , a môže sa teda stať prostriedkom, ktorý pomôže diagnostikovať neurodegeneratívne ochorenia ⁴¹. PET možno označiť ako invazívnu metódu, pretože vyžaduje ihlu na vstreknutie rádioaktívneho stopového prvku do ramena subjektu ⁴⁰.

- Jednofotónová emisná počítačová tomografia (SPECT) je podobná ako PET. Rozdielom je, že používa komerčne dostupné stabilné nízkoúrovňové rádioizotopy a je preto lacnejšia a vhodnejšia na klinické použitie ⁴¹.

4.3 Metódy využívané na posúdenie glymfatickej funkcie

Prvá technika použitá na zobrazenie glymfatickej funkcie bola in vivo 2-fotónová mikroskopia a in vitro fluorescenčné zobrazenie intracisternálnej infúzie fluorescenčnými indikátormi MMT ²⁵.

Pre posúdenie glymfatického toku bol použitý fluorescenčne konjugovaný kadaverín (A488-ca), kedy sa po intracisternálnej infúzii rozrezali myšie mozgy na pláty a pripravili sa na fluorescenčné zobrazovanie. Niektoré rezy mozgu sa imunologicky farbili, aby bola pozorovateľná distribúcia indikátoru a bunkový príjem. A488-ca do parenchýmu mozgu vstúpil ľahšie a viac sa rozšíril, ako ďalší bežne používaný indikátor, taktiež fluorescenčne konjugovaný ovalbumín, ktorý však prevažne zostal v extracelulárnom priestore, zatiaľ čo A488-ca vykazoval zrejme bunkové vychytávanie astrocytmi obklopujúcimi krvné cievy a neuróny v mozgovej kôre. MMT pretekala do mozgového parenchýmu cez glymfatický tok, v ktorom bola sledovaná dráha intracisternálnej infúzie s fluorescenčne konjugovaným kadaverínom. Tieto pozorovania rozšírili poznatky o glymfatickom systéme ⁴⁶.

Tieto techniky však nie sú vhodné v dôsledku komplikácií spojených s intracisternálnou infúziou u ľudí. Predchádzajúce pokusy o cisternové prepichnutie u ľudí vyústili do akútneho neurologického poškodenia. Lumbálna intratekálna infúzia je bezpečnejšia a teda klinicky užitočná infúzna metóda ²⁵. Po lumbálnych intratekálnych infúziách indikátoru TR-d3 s malou molekulovou hmotnosťou vstúpil do mozgu pozdĺž perivaskulárneho systému dráhy a vymenil sa s IST mozgu. Indikátor FITC-d500 s veľkou molekulovou hmotnosťou zostal obmedzený na perivaskulárne priestory ³¹.

Výskumníci využívajú dynamickú, kontrastom vylepšenú magnetickú rezonanciu s intratekálnou cestou infúzie kontrastných látok v mozgu potkanov. Distribúcia kontrastného činidla sa použila na mapovanie cesty obratu MMT-IST v čase a identifikáciu prítokových ciest a ciest odklonu. S touto štúdiou, vedci položili základy pre zobrazovanie aktivity glymfatického systému s jednoduchou technikou vhodnou pre klinickú prax.

Túto techniku, uplatnili rovnako v ľudskom mozgu ženy, ktorá podstúpila rutinnú MRI po intratekálnej infúzii prvku gadolína. Gadolínium bol distribuovaný cez mozog a miechu, čo znamenalo voľnú prepravu v MMT a voľný obrat MMT-IST. Ich zistenia potvrdili prítomnosť glymfatického systému aj v ľudskom mozgu. Táto nová zobrazovacia technika na vizualizáciu gadolína v MMT a perivaskulárnom priestore ponúka nový spôsob, ako zobrazit' cestu odstraňovania cez glymfatický systém u ľudí ²⁵.

5 NEURODEGENERATÍVNE OCHORENIA

5.1 Využitie znalostí o glymfatickom systéme vo výskume neurodegeneratívnych chorôb

5.1.1 Alzheimerova choroba

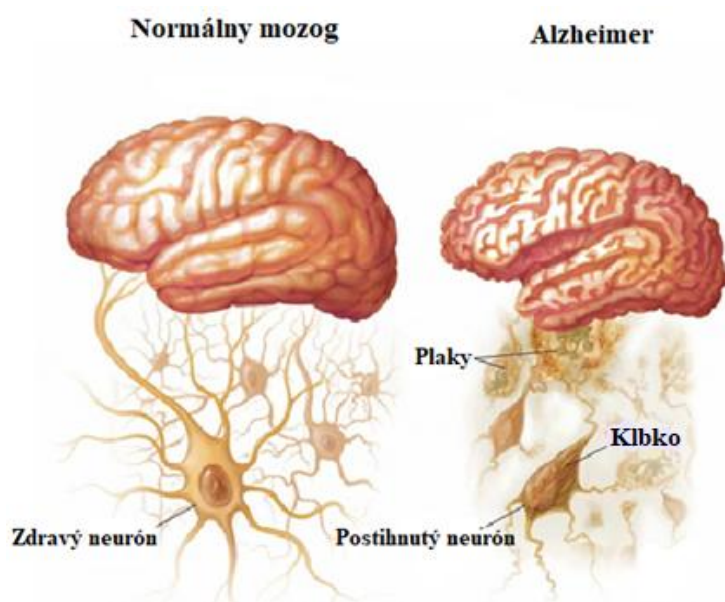
Alzheimerova choroba je čoraz bežnejšia neurodegeneratívna porucha vedúca k progresívnej strate pamäti, poznávania, jazykových zručností, a osobnostných črt. Je charakterizovaná progresívnou akumuláciou extracelulárnych plakov zložených z A β ⁴⁷.

Zatiaľ čo genomika identifikovala niekoľko genetických variant, ktoré môžu ovplyvniť riziko pre AD, nedávne údaje získané u ľudí a zvierat identifikovali cyklus spánok-bdenie ako nový regulátor. Hladiny A β sa zvyšujú počas bdelosti a postupne klesajú počas spánku. Okrem toho rastúca literatúra naznačuje, že patológia A β môže narušiť cyklus spánok-bdenie a tým vyvolať ďalšie navýšenie A β . Preto je potrebné posunúť dopredu vzťah medzi cyklom spánok-bdenie a A β patológiu, kde A β agregácia narušuje spánok a narušený spánok urýchľuje agregáciu A β , ktorý môže významne zvýšiť riziko AD ⁴⁸.

Patológia AD je spojená s výrazným neuro-zápalom, vrátane reaktívnej astrogliózy a mikrogliózy. Zistila sa aj zmena dynamiky MMT v starnutí mozgu. Zatiaľ čo neuro-zápal súvisiaci s AD a zmeny v dynamike MMT boli považované za odlišných prispievateľov k rozvoju AD v rámci starnutia mozgu, nedávne štúdie naznačujú, že tieto udalosti môžu vzájomne ovplyvňovať nástup AD ⁴⁹.

Choroidný plexus je štruktúra, ktorá bola takmer ignorovaná, pokiaľ išlo o AD, ale opäť získala záujem výskumníkov v posledných rokoch. Pretože ako výrobca MMT je jedným z hnacích síl, jeho funkcia, dysfunkcia a signalizácia do/z mozgu by mala byť predmetom budúceho výskumu. Druhou hybnou silou odtoku tekutiny je pulzácia mozgových artérií. Oba účinky spolu vytvárajú tok MMT a IST v celom mozgu, ktorý je rozhodujúcou súčasťou odstránenia A β . V dôsledku zahustenia bazálnej membrány kapilár, dochádza k spomaleniu výmeny MMT-IST v mozgu a peptidy náchylné k agregácii začínajú vytvárať veľké zhluky, ktoré narušujú perivaskulárny tok tým, že ničia kapiláry (vedúce k amyloidnej angiopatii vo vyšších cievach) a vedú k vzniku A β plakov vid'. obr. 7. Treba vziať do úvahy aj stuhnutie arteriálnej vaskulatúry v dôsledku metabolického syndrómu, hypertenzie, hyperlipidémie, cukrovky alebo starnutia, pretože tieto faktory spomaľujú glymfatický prietok ⁵⁰.

Pretože depozícia A β môže byť zvýšená u pacientov s presymptómami roky alebo dokonca desaťročia pred charakteristickými príznakmi AD manifestu, pochopenie odstránenia A β môže nakoniec poskytnúť stratégie na obnovenie mechanizmov eliminácie nadbytočných depozitov A β a oneskoriť alebo dokonca zabrániť nástupu choroby. Či je pozorovaná degenerácia v odstraňovaní odpadu AD príčinou alebo následkom patológie, alebo je len náhodná, zostáva neznáme. Bez ohľadu na to sú defekty likvidácie A β konzistentným nálezom u pacientov s AD, a môžu poskytnúť užitočný biomarker a indikátor klinickej patológie ⁵¹.



Obrázok 7: Model porovnávajúci normálny mozog a mozog počas Alzheimerovej choroby. Prevzaté a upravené ^d.

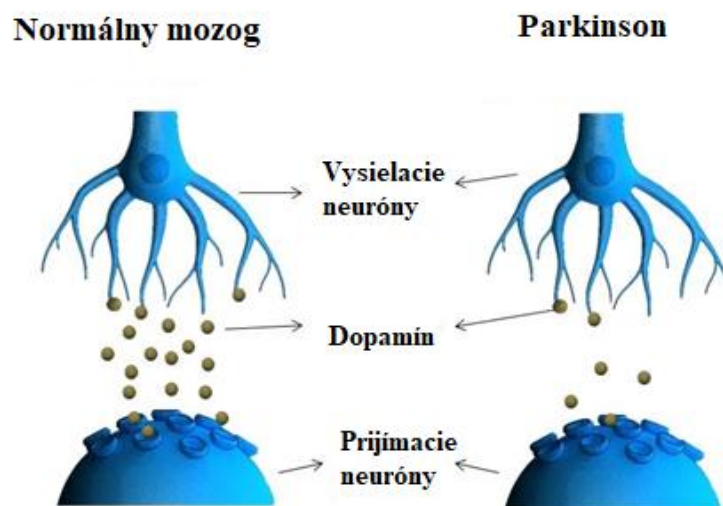
5.1.2 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba (PD) je chronická, progresívna, neurodegeneratívna porucha, zapríčinená stratou neurónov. Zobrazovacie štúdie, preukázali abnormality v oblastiach mozgu, ktorý reguluje spánok a cirkadiánne rytmy. Výsledky analýz uviedli, že nedostatočný spánok, môže byť spojený so zvýšeným rizikom PD ⁴⁷.

Etiológia porúch spánku je multifaktoriálna. Zahŕňa degeneráciu oblastí, ktoré regulujú spánok, účinok liekov na štruktúru spánku, a fragmentáciu spánku v dôsledku viacerých faktorov. Dopaminergický systém zohráva dôležitú úlohu pri regulácii cyklu spánok-bdelosť v PD ⁵². Dopamínové receptory sú fyziologicky exprimované v epiteliálnej bunkovej vrstve choroidného plexu ⁵³. In vitro štúdie PET ukázali, že dostupnosť postsynaptických

receptorov dopamínu u pacientov s PD je nízka vid'. obr. 8, preto môžu prispieť aj k poruchám spánku ⁵².

Nedávno zavedený glymfatický systém, ktorého funkcia klesá s vekom, a to prispieva k akumulácii abnormálnych bielkovín v extracelulárnom priestore, ako je A β alebo α -synukleín. Tieto bielkoviny nie sú odstránené, a tým sa stáva mozog zraniteľnejší. Zvláštnosťou tohto systému je, že je aktivovaný iba počas spánku, a preto každý proces vedúci k fragmentácii spánku môže narušiť tento systém, výsledkom čoho je potenciálne nepriaznivý dôsledok na homeostázu mozgu. Je známe, že demencia v PD často vyplýva z anémie, preto sa vedci domnievajú, že glymfatické abnormality môžu mať nešpecifický mechanizmus predisponujúci ku kognitívnej dysfunkcii PD ⁵⁴.



Obrázok 8: Model porovnávajúci normálny mozog a mozog počas Parkinsonovej choroby. Prevzaté a upravené ^e.

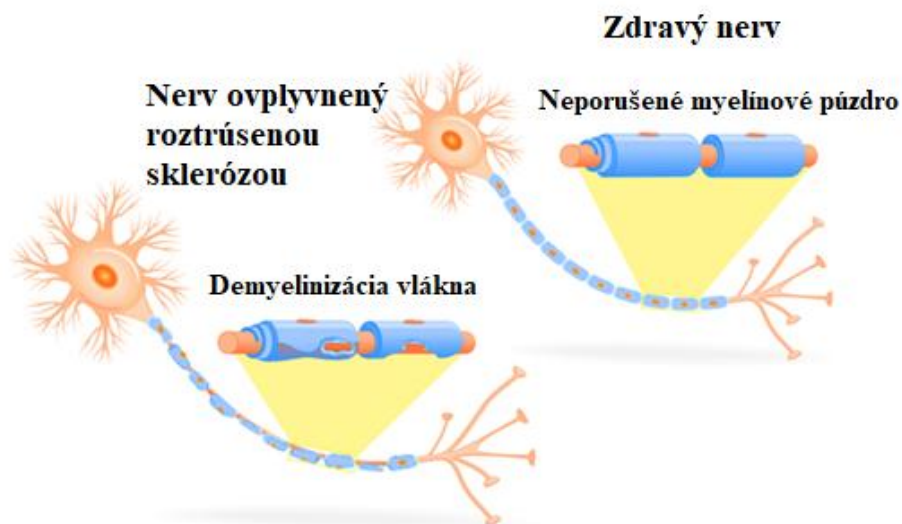
5.1.3 Roztrúsená skleróza

Okrem neurodegeneratívnych ochorení a poranení mozgu, je klasifikovaná ďalšia trieda neurologických porúch postihujúcich CNS, ktorá je úzko spojená s funkciou MMT. Ide o neurozápalové poruchy, z ktorých najčastejšou a najrozsiahlejšou v štúdiách je roztrúsená skleróza (MS) ⁴⁹. Ide o chronické zápalové demyelinizačné ochorenie CNS vid'. obr. 9, ktoré vyvoláva ohniská v šedej a bielej hmote, a rozptýli neurodegeneráciu v celom mozgu. Ohniskové zápalové infiltráty v meningách a perivaskulárne priestory produkujú rozpustné faktory, ktoré indukujú demyelinizáciu alebo neurodegeneráciu buď priamo alebo nepriamo prostredníctvom aktivácie mikroglií. Charakter týchto faktorov, ktoré sú zodpovedné za demyelinizačnú aktivitu u pacientov, je v súčasnosti nedefinovaný ⁵⁵.

Nedávne štúdiá zistili, že test u pacientov s autoimunitným zápalovým ochorením neuromyelitis optica (NMO) bol pozitívny na autoprotílátky AQP4, zatiaľ čo u pacientov s MS bol negatívny. Toto rozlíšenie umožňuje obrátiť pozornosť k MMT a k ďalším rozlišujúcim biomarkerom.

Objavenie autoprotílátok zameraných na AQP4 v NMO je zaujímavou otázkou, týkajúcou sa úlohy cirkulácie MMT pri autoimunitných ochoreniach. Ak sa autoprotílátky zameriavajú a inhibujú AQP4 v astrocytoch, potom môže byť glymfatický tok cez parenchým tiež narušený. Navyše, v modeli MS, kde sa protílátky zamerané na AQP4 nenachádzali, bola zistená strata perivaskulárnej lokalizácie AQP4. Zhoršenie funkcie AQP4, či už zacielením na autoprotílátky v NMO, alebo jeho nesprávnou lokalizáciou v MS, môže viesť k ďalším následkom, vrátane akumulácie neurotoxických látok v parenchýme a progresii neurodegenerácie⁴⁹.

Novo objavený glymfatický systém je potenciálnym novým hráčom v komplexných neurologických ochoreniach, pretože má ústrednú úlohu v odstránení molekulového odpadu. Takýto prístup, by mohol odhaliť nové potenciálne terapeutické perspektívy. Ak je priame postihnutie glymfatickej funkcie preukázané pre akúkoľvek neurologickú poruchu, modulácia alebo úprava tohto systému môže predstavovať novú generáciu spôsobov liečby týchto ochorení⁵⁶. Preto sa MMT v patológii nervového systému, vrátane MS, stále považuje za najlepšiu biologickú kvapalinu odrážajúcu patogénne udalosti vyskytujúce sa v mozgu⁵⁷.



Obrázok 9: Model porovnávajúci zdravý neporušený nerv a nerv, ktorý je ovplyvnený MS. Prevzaté a upravené^f.

5.2 Transport biomarkerov traumatického poškodenia mozgu

Traumatické poranenie mozgu (TPM) je zranenie mozgu spôsobené traumou hlavy¹⁷. Nešpecifická a variabilná prezentácia TPM motivovala intenzívne vyhľadávanie krvných biomarkerov, ktoré môžu objektívne predvídať závažnosť poranenia⁵⁸.

Vzhľadom na to, že TPM spôsobuje narastajúci problém, vedci sústredili pozornosť tomu, ako bunkové proteíny vstupujú do krvi a naznačili, že tieto biomarkery opúšťajú mozog cez glymfatický systém¹⁷.

Medzi biomarkery, ktoré dostali najväčšiu klinickú pozornosť, sú cytosolické proteíny (S100; GFAP) a enzýmy špecifické pre neuróny (NSE), ktoré unikli z gliálnych buniek alebo neurónov s poškodením plazmatickej membrány. Gliálny fibrilárny kyslý proteín (GFAP) je proteín tvoriaci astrogliálny cytoskelet a vápnik viažúci proteín (S100), má expresiu špecifickú pre astrocyty, a je uvoľnený v reakcii na rôzne stavy poranenia. Neurón špecifická enoláza (NSE) je glykolytický enzým a indikátor poškodenia a smrti neurónov, ktorý sa prevažne vyskytuje v neurónoch, a následne sa pri poškodení uvoľňuje do extracelulárneho priestoru⁵⁸.

Ak nie je pacient s traumatickým poranením mozgu schopný spať, tak prenos biomarkerov bude nízky. Nízka hladina biomarkerov v krvi za týchto podmienok nemusí odrážať stupeň poškodenia tkaniva, ale skôr naznačuje, že je nízka glymfatická aktivita. Niektoré štúdie ukázali, že akútne poranenie mozgu má hlboký vplyv na glymfatickú funkciu a zhoršuje tok tekutiny⁵. Potlačenie výmeny MMT-IST má bezprostredné dôsledky na obmedzenie diagnostického významu plazmatických biomarkerov, a môže tak brániť dodávke markerov poškodenia mozgu do periférnej krvi, a brániť presne predpovedať prítomnosť alebo závažnosť úrazu⁵⁹.

6 ZÁVER

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo priblížiť nedávno objavený glymfatický systém, ktorý ponúka veľa možností v oblasti štúdií, a taktiež vo využití pri výskume neurodegeneratívnych ochorení.

Glymfatický systém slúži ako drenážny systém pre odpadové produkty mozgu, ktoré vyprodukuje počas bdelosti. Aby mal spánok optimálny prínos pre zdravie, musí byť dodržaný pravidelný spánkový rytmus. Nižšia aktivita glymfatického systému spojená s nedostatočnosťou spánku môže prispieť k vývoju rôznych chorôb a porúch spojenými s akumuláciou rôznych proteínov, najmä pri Alzheimerovej a Parkinsonovej chorobe. Tiež môže byť faktorom, ktorý ovplyvňuje prítomnosť biomarkerov v periférnej krvi pri traumatickom poškodení mozgu. V klinickej praxi môže spôsob posúdenia glymfatickej funkcie pomôcť pri včasnej diagnostike a sledovaní progresie ochorení mozgu.

Vzhľadom k tomu, že tento systém je pomerne nový, je nutné aby bol neustále preskúmaný, pretože je sľubným poľom, ktoré sa neustále inovuje a prináša nové poznatky v oblasti medicíny.

5 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- (1) Dharani, K. Chapter 1 – Functional Anatomy of the Brain. *Biol. Thought* 2015, 3–29.
- (2) Hladky, S. B.; Barrand, M. A. Mechanisms of Fluid Movement into, through and out of the Brain: Evaluation of the Evidence. *Fluids Barriers CNS* 2014, 11 (1), 1–32.
- (3) Rea, P. Chapter 2 – Essential Anatomy and Function of the Brain. *Essent. Clin. Anat. Nerv. Syst.* 2015, 51–76.
- (4) Johanson, C. E.; Duncan, J. A.; Klinge, P. M.; Brinker, T.; Stopa, E. G.; Silverberg, G. D. Multiplicity of Cerebrospinal Fluid Functions: New Challenges in Health and Disease. *Cerebrospinal Fluid Res.* 2008, 5, 1–32.
- (5) Jessen, N. A.; Finmann Munk, A. S.; Lundgaard, I.; Nedergaard, M. The Glymphatic System – A Beginner’s Guide Nadia. *Neurochem. Res.* 2015, 40 (12), 2583–2599.
- (6) Cardoso, F. L.; Brites, D.; Brito, M. A. Looking at the Blood-Brain Barrier: Molecular Anatomy and Possible Investigation Approaches. *Brain Res. Rev.* 2010, 328–363.
- (7) Blanchette, M.; Daneman, R. Formation and Maintenance of the BBB. *Mech. Dev.* 2015, 138, 8–16.
- (8) Serlin, Y.; Shelef, I.; Knyazer, B.; Friedman, A. Anatomy and Physiology of the Blood-Brain Barrier. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2015, 38, 2–6.
- (9) Abbott, N. J.; Patabendige, A. A. K.; Dolman, D. E. M.; Yusof, S. R.; Begley, D. J. Structure and Function of the Blood-Brain Barrier. *Neurobiol. Dis.* 2010, 37 (1), 13–25.
- (10) Bélanger, M.; Allaman, I.; Magistretti, P. J. Brain Energy Metabolism: Focus on Astrocyte-Neuron Metabolic Cooperation. *Cell Metab.* 2011, 14 (6), 724–738.
- (11) Magistretti, P. J.; Allaman, I. A Cellular Perspective on Brain Energy Metabolism and Functional Imaging. *Neuron* 2015, 86 (4), 883–901.
- (12) Bos, J. D.; Kapsenberg, M. L. [The Immune System of the Skin]. *Ned Tijdschr Geneesk* 1995, 139 (31), 1587–1591.
- (13) Nicholas, M. K.; Lukas, R. *Immunologic Privilege and the Brain*; Elsevier BV, 2010; Vol. 9.

- (14) Olszewski, W. L. The Lymphatic System in Body Homeostasis: Physiological Conditions. *Lymphat. Res. Biol.* 2003, *1* (1), 11–24.
- (15) Liao, S.; von der Weid, P. Y. Lymphatic System: An Active Pathway for Immune Protection. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2015, *38*, 83–89.
- (16) Hitscherich, K.; Smith, K.; Cuoco, J. A.; Ruvolo, K. E.; Mancini, J. D.; Leheste, J. R.; Torres, G. The Glymphatic-Lymphatic Continuum: Opportunities for Osteopathic Manipulative Medicine. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 2016, *116* (3), 170.
- (17) Vukić, V.; Zelić, D. The Brain's Lymphatic System? *Gyrus.Hiim.Hr* 2017, *4* (2), 199–202.
- (18) Chikly, B.; Chikly, A. Lymph in the Brain New Scientific Paradigms About the Brain, Cerebrospinal Fluid Dynamics, Lymph, and Their Applications for Manual Therapy. 2016, 46–53.
- (19) Nedergaard, M.; Goldman, S. A. Brain Drain. *Sci. Am.* 2016, *314* (3), 44–49.
- (20) Plog, B. A.; Nedergaard, M. The Glymphatic System in Central Nervous System Health and Disease: Past, Present, and Future. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2018, *13* (1), 15.1-15.16.
- (21) Alleva, K.; Chara, O.; Amodeo, G. Aquaporins: Another Piece in the Osmotic Puzzle. *FEBS Lett.* 2012, *586* (19), 2991–2999.
- (22) Zelenina, M. Neurochemistry International Regulation of Brain Aquaporins. *Neurochem. Int.* 2010, *57* (4), 468–488.
- (23) Badaut, J.; Fukuda, A. M.; Jullienne, A.; Petry, K. G. Aquaporin and Brain Diseases. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 2014, *1840* (5), 1554–1565.
- (24) Nakada, T.; Kwee, I. L.; Igarashi, H.; Suzuki, Y. Aquaporin-4 Functionality and Virchow-Robin Space Water Dynamics: Physiological Model for Neurovascular Coupling and Glymphatic Flow. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, *18* (8).
- (25) Verheggen, I. C. M.; Van Boxtel, M. P. J.; Verhey, F. R. J.; Jansen, J. F. A.; Backes, W. H. Interaction between Blood-Brain Barrier and Glymphatic System in Solute Clearance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2018, *90*, 26–33.
- (26) Thal, D. R. The Role of Astrocytes in Amyloid β -Protein Toxicity and Clearance. *Exp.*

- Neurol.* 2012, 236 (1), 1–5.
- (27) Dinuzzo, M.; Nedergaard, M.; Neuroscience, T.; Sciences, M. HHS Public Access. 2017, 65–72.
- (28) Huang, Y.; Mahley, R. W. Apolipoprotein E: Structure and Function in Lipid Metabolism, Neurobiology, and Alzheimer’s Diseases. *Neurobiol. Dis.* 2014, 72 (Part A), 3–12.
- (29) Thrane, V. R.; Thrane, A. S.; Plog, B. A.; Thiagarajan, M.; Iliff, J. J.; Deane, R.; Nagelhus, E. A.; Nedergaard, M. Paravascular Microcirculation Facilitates Rapid Lipid Transport and Astrocyte Signaling in the Brain. *Sci. Rep.* 2013, 3, 4–8.
- (30) Sun, B. L.; Wang, L. hua; Yang, T.; Sun, J. yi; Mao, L. lei; Yang, M. feng; Yuan, H.; Colvin, R. A.; Yang, X. yi. Lymphatic Drainage System of the Brain: A Novel Target for Intervention of Neurological Diseases. *Prog. Neurobiol.* 2018, 163–164, 118–143.
- (31) Yang, L.; Kress, B. T.; Weber, H. J.; Thiagarajan, M.; Wang, B.; Deane, R.; Benveniste, H.; Iliff, J. J.; Nedergaard, M. Evaluating Glymphatic Pathway Function Utilizing Clinically Relevant Intrathecal Infusion of CSF Tracer. *J. Transl. Med.* 2013, 11 (1), 1–9.
- (32) Mendelsohn, A. R.; Larrick, J. W. Sleep Facilitates Clearance of Metabolites from the Brain: Glymphatic Function in Aging and Neurodegenerative Diseases. *Rejuvenation Res.* 2013, 16 (6), 518–523.
- (33) Kapoor, D. N.; Kaur, R.; Sharma, R.; Dhawan, S. Therapeutic Delivery. 2015, 6, 41–58.
- (34) Louveau, A.; Plog, B. A.; Antila, S.; Alitalo, K.; Nedergaard, M.; Kipnis, J. Understanding the Functions and Relationships of the Glymphatic System and Meningeal Lymphatics. *J. Clin. Invest.* 2017, 127 (9), 3210–3219.
- (35) Giovannoni, G. *Cerebrospinal Fluid Analysis*, 1st ed.; Elsevier B.V., 2014; Vol. 122.
- (36) Glück, T.; Reng, M.; Linde, H. J.; Schölmerich, J. Cerebrospinal Fluid Analysis. *Internist (Berl)*. 2000, 41 (3), 293–303.
- (37) Luque, F. A.; Jaffe, S. L. Cerebrospinal Fluid Analysis in Multiple Sclerosis. *Int. Rev. Neurobiol.* 2007, 79 (07), 341–356.

- (38) Yap, C. Y. F.; Aw, T. C. Revisiting Cerebrospinal Fluid (CSF) Examination. *Proc. Singapore Healthc.* 2010, *19* (4), 355–359.
- (39) Ing, R.; Kel, P.; Ada, P.; Ond, M.; Koudelková, M. M.; Procházka, M. J.; Eva, H.; Válková, M. R.; Miloslav, M.; Martin, M. Základní Vyšetření Likvoru v Diagnostice Postižení Centrálního Nervového Systému. 2009, 266–270.
- (40) Editors, É.; Dupras, C.; Chenel, V.; Affdal, A.; Clarke, S.; Aspler, P. J. “ Invasive ” and “ Non-Invasive ” Technologies in Neuroscience Communication. 2017, *11*, 1–10.
- (41) Asbury, C. Brain Imaging Technologies and Their Applications in Neuroscience. *Dana Found.* 2011, 1–45.
- (42) Pan, H.; Epstein, J.; Silbersweig, D. A.; Stern, E. New and Emerging Imaging Techniques for Mapping Brain Circuitry. *Brain Res. Rev.* 2011, *67* (1–2), 226–251.
- (43) Tingley, D. Neurological Imaging as Evidence in Political Science. *Natl. Institutes Heal.* 2010, 1–2.
- (44) Mishra, V.; Kesharwani, P. Dendrimer Technologies for Brain Tumor. *Drug Discov. Today* 2016, *21* (5), 766–778.
- (45) Appel, A. A.; Anastasio, M. A.; Larson, J. C.; Brey, E. M. Imaging Challenges in Biomaterials and Tissue Engineering. *Biomaterials* 2013, *34* (28), 6615–6630.
- (46) Zhang, C.; Lin, J.; Wei, F.; Song, J.; Chen, W.; Shan, L.; Xue, R.; Wang, G.; Tao, J.; Zhang, G.; et al. Characterizing the Glymphatic Influx by Utilizing Intracisternal Infusion of Fluorescently Conjugated Cadaverine. *Life Sci.* 2018, *201*, 150–160.
- (47) Barone, D. A.; Chokroverty, S. Neurologic Diseases and Sleep. *Sleep Med. Clin.* 2017, *12* (1), 73–85.
- (48) Bero, A. W.; Tsai, L. H. *Alzheimer’s Disease and the Sleep-Wake Cycle*; Elsevier Inc., 2016.
- (49) Simon, M. J.; Iliff, J. J. Regulation of Cerebrospinal Fluid (CSF) Flow in Neurodegenerative, Neurovascular and Neuroinflammatory Disease. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* 2016, *1862* (3), 442–451.
- (50) Pahnke, J.; Langer, O.; Krohn, M. Alzheimer’s and ABC Transporters--New Opportunities for Diagnostics and Treatment. *Neurobiol. Dis.* 2014, *72* (391), 54–60.

- (51) Cedernaes, J.; Osorio, R. S.; Varga, A. W.; Kam, K.; Schiöth, H. B.; Benedict, C. Candidate Mechanisms Underlying the Association between Sleep-Wake Disruptions and Alzheimer's Disease. *Sleep Med. Rev.* 2017, *31*, 102–111.
- (52) Falup-Pecurariu, C.; Diaconu, Ş. *Sleep Dysfunction in Parkinson's Disease*, 1st ed.; Elsevier Inc., 2017; Vol. 133.
- (53) Mollenhauer, B.; Parnetti, L.; Rektorova, I.; Kramberger, M. G.; Pikkarainen, M.; Schulz-Schaeffer, W. J.; Aarsland, D.; Svenningsson, P.; Farotti, L.; Verbeek, M. M.; et al. Biological Confounders for the Values of Cerebrospinal Fluid Proteins in Parkinson's Disease and Related Disorders. *J. Neurochem.* 2016, *139*, 290–317.
- (54) Kaminska, M.; Lafontaine, A.-L.; Kimoff, R. J. The Interaction between Obstructive Sleep Apnea and Parkinson's Disease: Possible Mechanisms and Implications for Cognitive Function. *Parkinsons. Dis.* 2015, *2015*, 1–11.
- (55) Lassmann, H. Multiple Sclerosis Pathology. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2018, *8* (3), 1–16.
- (56) Louveau, A.; Da Mesquita, S.; Kipnis, J. Lymphatics in Neurological Disorders: A Neuro-Lympho-Vascular Component of Multiple Sclerosis and Alzheimer's Disease? *Neuron* 2016, *91* (5), 957–973.
- (57) Gastaldi, M.; Zardini, E.; Franciotta, D. An Update on the Use of Cerebrospinal Fluid Analysis as a Diagnostic Tool in Multiple Sclerosis. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2017, *17* (1), 31–46.
- (58) Plog, B. A.; Dashnaw, M. L.; Hitomi, E.; Peng, W.; Liao, Y.; Lou, N.; Deane, R.; Nedergaard, M. Biomarkers of Traumatic Injury Are Transported from Brain to Blood via the Glymphatic System. *J. Neurosci.* 2015, *35* (2), 518–526.
- (59) Agoston, D. V.; Shutes-David, A.; Peskind, E. R. Biofluid Biomarkers of Traumatic Brain Injury. *Brain Inj.* 2017, *31* (9), 1195–1203.

6 ZOZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKOV A SCHÉM

- (a) Zdravie, [online], [cit. 24. 4. 2018], dostupné z: <https://www.zdravie.sk/galeria/142-1/mozog/anatomia-mozgu>
- (b) Medbullets Step 1, [online], [cit. 2. 5. 2018], dostupné z: <https://step1.medbullets.com/neurology/113003/blood-brain-barrier>
- (c) Science News for Students, [online], [cit. 20.6 2018], dostupné z: <https://www.sciencenewsforstudents.org/blog/scientists-say/scientists-say-glia>
- (d) Mayo Clinic News Network, [online], [cit. 13.6 2018], dostupné z: <https://newsnetwork.mayoclinic.org/discussion/tuesday-q-and-a-alzheimers-can-often-be-identified-in-its-earliest-stages/>
- (e) CliniCrowd, [online], [cit. 13.6 2018], dostupné z: <https://clinicrowd.info/researchers-find-new-path-promising-parkinsons-treatment/>
- (f) BioNews Texas, [online], [cit. 13.6 2018], dostupné z: <https://bionews-tx.com/news/2014/04/11/slowing-down-primary-progressive-multiple-sclerosis-disability-progression-worth-safety-risks-for-new-drugs-say-surveyed-u-s-neurologists/>
- (g) Biopedia, [online], [cit. 20.6 2018], dostupné z: <https://biopedia.sk/bunka/glykolyza-co-sa-to-v-tom-cytosole-deje>