

Veri-aivoeste lääkekehityksen haasteena

Veri-aivoeste rajoittaa useiden lääkeaineiden kulkeutumista keskushermostoon. Huolimatta neurotieteiden nopeasta kehitymisestä ja sairauksien synty- ja kehittymismekanismien selviämisestä lääkeaineiden saattaminen aivoihin on edelleen useissa tapauksissa tehokasta lääkehoitoa rajoittava tekijä. Veri-aivoestettä on pidetty aivokudoksen hiussuonten endoteelisolujen muodostamana stabiilina esteenä. Tämä teoria on johtanut rasvaliukoisuuden ja molekyyliseen korostamiseen lääkekehityksessä. Veri-aivoeste on kuitenkin myös toiminnallinen este, jonka kuljetusmekanismit ja runsas metabolia asettavat omat haasteensa lääkekehitykselle. Sen fysiologiaa käytetään nykyään hyväksi kehitettäessä tehokkaasti aivoihin kulkeutuvia lääkeaineita.

Lääkehoidon kannalta aivot ovat yksi elimistön vaikeimmin saavutettavista elimistä. Huolimatta aivojen runsaasta verenkierrosta veri-aivoeste ja veri-likvorieeste säätelevät tehokkaasti sekä endogeenisten että eksogeenisten yhdisteiden kulkeutumista verenkierrosta aivokudokseen ja aivoista takaisin verenkiertoon (Partridge 1995). Ainoastaan muutamilta pieniltä aivoalueilta (käpylisäke, osa hypotalamuksesta ja aivolisäke) puuttuu tiivis este, joka erottaa ne verenkierrosta. Lääkehoidon kannalta näillä alueilla ei ole merkitystä, koska gliasolut ja ependyyma suojaavat varsinaista aivokudosta (Abbott ym. 2003).

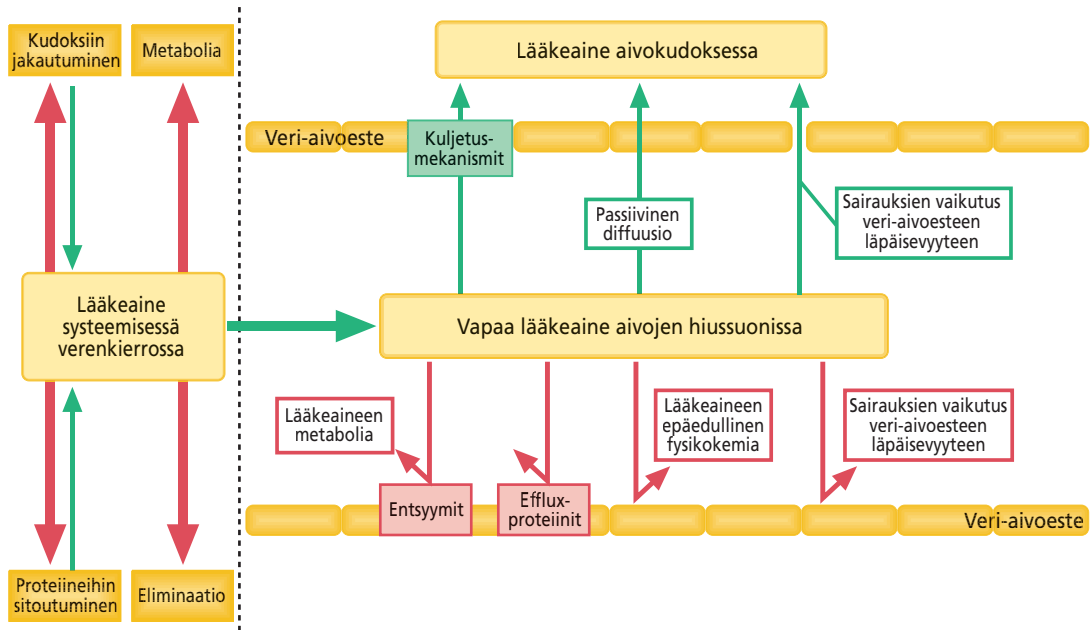
Useat tekijät vaikuttavat siihen, miten lääkeaineet kulkeutuvat keskushermostoon (kuva 1). Systeeminen metabolia, eliminaatio, proteiiniin sitoutuminen ja jakautuminen kudokseen vähentävät aivojen hiussuoniin pääsevän lääkeaineen määrää. Epäedullinen systeeminen farmakokinetiikka johtaa pahimmillaan siihen, ettei veri-aivoesteeseen kulkeudu lainkaan lääkeainetta, jolloin aivoihin kulkeutumista ei tapahdu. Imeytymispaikalle kulkeutuneen lääkeaineen

mahdollisuuksiin läpäistä veri-aivoeste vaikuttavat lääkeaineen fysikokemiallisten ominaisuuksien lisäksi veri-aivoesteen kuljetusmekanismit, metabolia ja sairauksien vaikutukset veri-aivoesteeseen. Veri-aivoesteen fysiologiaa käytetään nykyään hyväksi kehitettäessä tehokkaasti aivoihin kulkeutuvia lääkeaineita.

Veri-aivoesteen rakenne

Veri-aivoeste muodostuu pääasiassa aivojen hiussuonten sisäpinnan endoteelisoluista, jotka ovat liittyneet toisiinsa tiiviillä liitoksilla (kuva 2). Endoteelisolujen lisäksi veri-aivoesteessä on perisytyttejä, astrosytyttejä ja hermopäätteitä, joilla on tärkeä merkitys muun muassa veri-aivoesteen homeostaasin ylläpidossa (Rieckmann ja Engelhardt 2003).

Veri-aivoestettä on pidetty staattisena rakenteellisena esteenä verenkierron ja aivokudoksen välillä. Hyvän rasvaliukoisuuden ja pienen molekyylipainon on katsottu olevan edellytys lääkeaineiden hyvälle aivoihin kulkeutumiselle ja riittävän takaamaan kulkeutumisen. Tutkimus



KUVA 1. Tekijöitä, jotka vaikuttavat siihen, miten lääkeaine kulkeutuu keskushermostoon.

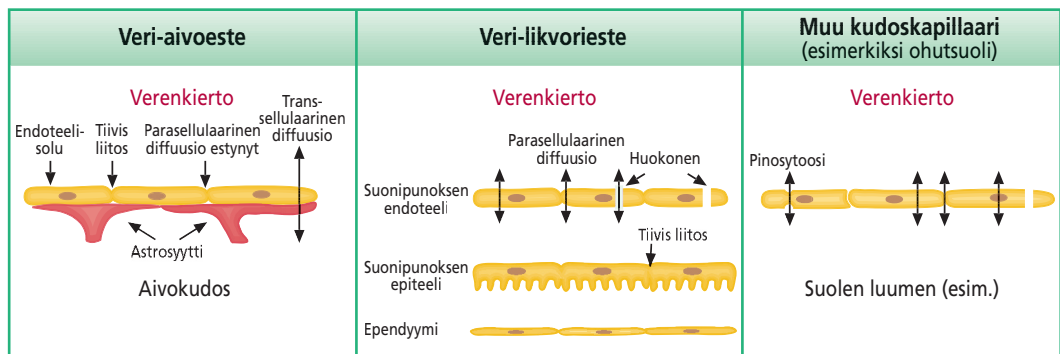
on kuitenkin muuttanut näitä käsityksiä. Veri-aivoestettä ei pidetä enää staattisena lipidikalvona, jonka ainutlaatuisuus verrattuna moniin muihin elimistön kalvorakenteisiin perustuisi ainoastaan solujen välisiin tiiviisiin liitoksiin ja solukalvon eheyteen. Veri-aivoeste on myös toiminnallinen este. Siinä on lukuisia kuljetusmekanismeja (influx- ja efflux-mekanismit) useille pienimolekyylisille yhdisteille ja reseptorivälitteinen endosytoosimekanismi peptideille (Anderson 1996, Taylor 2002, de Boer ym. 2003). Kuljetusmekanismit varmistavat elimistölle tärkeiden yhdisteiden riittävän kulkeutumisen aivokudokseen ja toisaalta estävät elimistölle vieraiden yhdisteiden pääsyn aivoihin. Edellä mainitut toiminnalliset mekanismit yhdistettynä runsaaseen metaboliseen aktiivisuuteen tekevät veri-aivoesteestä hyvin organisoituneen esteen, joka aktiivisesti ja selektiivisesti säätelee yhdisteiden – myös lääkeaineiden – kulkua verenkierrosta aivoihin ja aivoista verenkiertoon.

Veri-likvorieste

Aivokammioiden suonipunoksessa sijaitseva veri-likvorieste erottaa aivo-selkäydinnesteen

verenkierrosta (kuva 2). Suonipunosta perfusoiivat verisuonet ovat läpäisevimpiä kuin veri-aivoesteen hiussuonet, joten lääkeaineet pääsevät suhteellisen helposti perivaskulaaritalaan. Suonipunoksen tiiviit liitokset rajoittavat kuitenkin lääkeaineiden kulkeutumista perivaskulaaritalasta likvoriin. Lisäksi veri-likvoriesteen pinta-ala on vain noin viidestuhannesosa veri-aivoesteen pinta-alasta. Päästäkseen aivokudokseen lääkeaineiden onkin käytännössä läpäistävä veri-aivoeste (Scherrmann 2002).

Arvioitaessa lääkeaineiden kulkeutumista keskushermostoon on huomattava, ettei likvorin lääkeainepitoisuus aina korreloi hyvin aivokudoksen lääkeainepitoisuuden kanssa. Passiivisesti diffundoituvien lääkeaineiden osalta tämä johtuu siitä, että kyseisten aineiden diffuusio likvorista aivokudokseen on hidasku suhteessa likvorin korvautumiseen. Lisäksi kuljetusmekanismien erilainen ilmentyminen veri-aivoesteessä ja veri-likvoriesteessä aiheuttaa joidenkin lääkeaineiden erilaisen kulkeutumisen aivokudokseen ja likvoriin (Pardridge 1995). Esimerkiksi sentraalisen HIV:n hoidossa käytetty käänteiskopioijaentsyymien estäjä tsidovudiini kulkeutuu nopeasti likvoriin mutta erittäin huonosti aivokudokseen



KUVA 2. Veri-aivoesteen ja veri-likvoriesteen solukalvon rakenne.

(Cornford ja Oldendorf 1975, Yarchoan ja Broder 1987, Terasaki ja Pardridge 1988). Rakenteeltaan tsidovudiini muistuttaa tyymiä. Veri-likvoriesteessä oleva aktiivinen tyymiä kuljettava mekanismi tunnistaa tsidovudiinin substraatikseen ja kuljettaa sen likvoriin. Vastaavaa kuljetusmekanismia ei ole veri-aivoesteessä, eikä tsidovudiini kulkeudu tämän vuoksi merkittävästi aivoihin (Cornford ja Oldendorf 1975, Terasaki ja Pardridge 1988). Lisäksi tsidovudiinin on osoitettu olevan veri-aivoesteessä olevan eflux-proteiinin substraatti, ja tämä ominaisuus heikentää edelleen tsidovudiinin pääsyä aivoihin (Wong ym. 1993).

Passiivinen diffuusio lääkeaineiden kulkeutumisessa keskushermostoon

Suurin osa lääkeaineista kulkeutuu elimistön solukalvojen läpi passiivisesti diffundoitumalla suuremmasta pitoisuudesta pienempään. Passiivinen diffuusio tapahtuu joko solukalvojen läpi (transsellulaarinen diffuusio) tai solujen väleistä (parasellulaarinen diffuusio) (Rowland ja Tozer 1995). Transsellulaarisessa diffuusiosta lääkeaineen täytyy olla riittävän rasvaliukoinen ja pienikokoinen (alle 600 Da), jotta se liukeneisi solukalvoon ja läpäisisi tämän tehokkaasti. Parasellulaarisen imeytymisen edellytyksenä on lääkeaineen hyvä vesiliukoisuus ja pieni koko (alle 200 Da).

Aivojen hiussuonten sisäpinnan endoteelisolut ovat liittyneet toisiinsa tiivillä liitoksilla, mikä

estää jopa yksittäisten ionien kulkeutumisen solujen väleistä (Miller 2002). Toisin kuin muihin elimiin passiivisesti diffundoituvat lääkeaineet kulkeutuvat aivoihin ainoastaan transsellulaarisesti.

Kun lääkeaine on huonosti rasvaliukoinen, sen rasvaliukoisuutta voidaan lisätä estämällä funktionaalisten ryhmien ionittuminen, muokkaamalla vetysidoksiin pystyviä rakenteita ja lisäämällä molekyyliin rasvaliukoisia ryhmiä. Usein farmakokineettisistä lähtökohdista kehitettyjen rasvaliukoisten johdosten farmakologinen teho on kuitenkin riittämätön (Temsamani ym. 2000). Aihiolääkkeet ovat lääkeaineiden farmakologisesti inaktiivisia johdoksia (Niemi ym. 1997). Niiden avulla voidaan muokata lääkeaineiden rasvaliukoisuutta, kuten myös muita ominaisuuksia reversiibelisti menettämättä farmakologista aktiivisuutta. Imeydyttyään tai kulkeuduttuaan kohdekudokseen aihiolääkkeet pilkkoutuvat entsyymaattisesti aktiiviseksi lääkeaineeksi. Klassinen esimerkki on heroiini. Se on morfiinin johdos, jossa morfiinin vapaat hydroksyyli-ryhmät on korvattu rasvaliukoisemmilla asetyyli-ryhmillä. Heroiini läpäisee veri-aivoesteen noin sata kertaa paremmin kuin morfiini. Keskushermostoon imeytymisen jälkeen heroiini deasetyloituu morfiiniksi pseudokoliiniesteraasin vaikutuksesta. Koska muodostuneen morfiinin rasvaliukoisuus on pieni, morfiinin siirtyminen aivokudoksesta takaisin verenkiertoon on hitaampaa kuin heroiinin kulkeutuminen aivoihin. Tämä johtaa heroiinin suureen, sentraaliseen aktiivisuuteen.

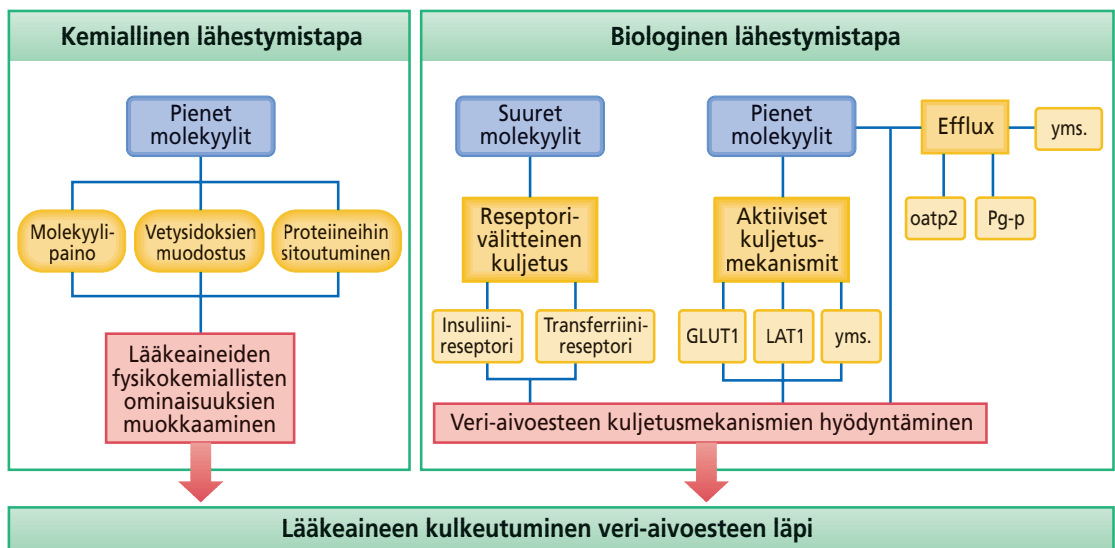
Usein hyvinkin pieni muutos lääkeaineen rakenteessa johtaa farmakokinetiikan merkittävästi parantumiseen. HIV-potilaiden yhdistelmähoitossa käytetty käänteiskopioijaentsyymiin estäjä didanosini kulkeutuu aivoihin erittäin huonosti. Aivokudoksen didanosiinipitoisuus on alle 5 % didanosiinipitoisuudesta plasmassa (Morgan ym. 1992). Didanosiinin rasvaliukoisen aihiolääkkeen 6-Cl-ddP:n annon jälkeen aivokudoksen didanosiinipitoisuus on yli 50 % plasman didanosiinipitoisuudesta (Morgan ym. 1992, Savolainen ym. 2002). 6-Cl-ddP:n ainut ero didanosiniin verrattuna on yhden happiatomin korvautuminen klooriatomilla.

Influx-kuljetusmekanismit

Keskushermostolääkkeiden kehittämisessä on keskitytty totunnaisesti pienimolekyyliisiin lääkeaineisiin, ja kehitystä ohjaavana tekijänä on ollut pienimolekyyllisyyden lisäksi lääkeaine-ehdokkaiden riittävä rasvaliukoisuus (ns. kemiallinen lähestymistapa, kuva 3). On huomattava, että suuri osa elimistölle välttämättömistä yhdisteistä ei fyysikokemiallisten ominaisuuksiensa perusteella läpäisisi veri-aivoestettä. Muun muassa

glukoosi, välttämättömät aminohapot, nukleosidit, orgaaniset ionit ja peptidit eivät täytä pienen koon ja rasvaliukoisuuden vaatimuksia. Elimistö huolehtii kuitenkin näiden tärkeiden yhdisteiden kuljettamisesta aivoihin veri-aivoestessä olevien mekanismien avulla (Tamai ja Tsuji 2000, Taylor 2002, de Boer ym. 2003). Lisäksi endogeeniset peptidit ja proteiinit läpäisevät veri-aivoesteen myös reseptorivälitteisen transsytoosin avulla. Veri-aivoestessä on reseptoreita esimerkiksi insuliinille ja transferriniinille.

Lisääntynyt perustietämys veri-aivoesteen rakenteesta ja toiminnasta ja edellä mainituista kuljetusmekanismeista on johtanut uudenlaiseen strategiaan keskushermostolääkkeiden kehittämisessä (ns. biologinen lähestymistapa, kuva 3). Hyvä esimerkki veri-aivoesteen kuljetusmekanismien hyödyntämisestä lääkeaineiden kuljettamisessa keskushermostoon on dopamiinin esiaste L-dopa, joka läpäisee veri-aivoesteen suurten neutraalien aminohappojen kuljetusmekanismien (LAT1) avulla. Aivoissa dopadekarboksyylaasi metaboloii L-dopan dopamiiniksi (Tamai ja Tsuji 2000). Myös glukoosin (GLUT1) ja C-vitamiinin kuljetusmekanismeja käytetään hyväksi lääkekehityksessä. Biologinen lähestymistapa



KUVA 3. Kemiallinen ja biologinen tapa parantaa lääkeaineiden kulkeutumista keskushermostoon. GLUT1 = glukoosikuljetusproteiini, LAT1 = suurien neutraalien aminohappojen kuljetusproteiini, oatp2 = orgaanisten anionien kuljetusproteiini, Pg-p = P-glykoproteiini.

mahdollistaa suurienkin molekyylien kehittämisen keskushermostosairauksien lääkkeiksi (Pardridge 2001 ja 2003).

Kuljetusmekanismien hyväksikäyttö vaatii yleensä, että lääkeaineeseen on liitetty jokin endogeeninen yhdiste tai sellaista läheisesti muistuttava osarakenne. Usein tämä johtaa lääkeaineen farmakologisen aktiivisuuden menettämiseen. Tämän vuoksi lääkeaineessa kuljetusmekanismia varten kiinni olevan osarakenteen tulee pilkkoutua pois, ennen kuin lääkeaine voi toimia farmakologisesti. Aiholiäketeknologiaa sovelletaan laajalti pyrittäessä kehittämään lääkeaineita, jotka käyttävät hyväksi kuljetusmekanismeja.

Kuljetusmekanismien käyttöön liittyy joitakin ongelmia (Anderson 1996). Lääkeaineen täytyy kilpailla sitoutumispaikastaan kuljetusmekanismien endogeenisten substraattien kanssa. Tällöin endogeenisen yhdisteen kulkeutuminen aivoihin voi tilapäisesti vähentyä. Toisaalta endogeenisen substraatin affiniteetti kuljetinproteiiniin voi olla niin suuri, etteivät lääkeainejohdokset pysty sitoutumaan kuljetinproteiiniin riittävästi. Vastaavasti kuljetusmekanismiin sitoutuvan lääkeaineen osarakenteen affiniteetti kuljetusmekanismiin voi olla riittämätön loppurakenteen vuoksi.

Efflux-proteiinit

Efflux-proteiinit ovat osa elimistön puolustusjärjestelmää. Ne ovat kalvoproteiineja, jotka tunnistavat elimistölle vieraita yhdisteitä. Tunnistettuaan vieraan yhdisteen efflux-proteiinit poistavat sen solusta ja estävät näin esimerkiksi lääkeaineen kulkeutumisen solukalvon läpi (Marvola ym. 1999). Useat efflux-proteiinit, kuten P-glykoproteiini, ilmenevät veri-aivoesteessä (Cordon-Cardo ym. 1989). P-glykoproteiinin merkitys lääkeaineiden kulkeutumisessa keskushermostoon on todettu muun muassa poistogeenisillä hiirillä tehdyissä tutkimuksissa (Schinkel 1999). P-glykoproteiini tunnistaa ja kuljettaa solusta ulos rakenteellisesti hyvin erilaisia lääkeaineita, eli sitä voidaan pitää hyvin epäspesifisenä efflux-proteiinina.

P-glykoproteiinin kyky tunnistaa rasvaliuko-

sia molekyyliä vaikeuttaa keskushermostoon kulkeutuvien lääkeaineiden kehittämistä, koska yhdisteiden kykyä läpäistä veri-aivoeste pyritään usein parantamaan tekemällä niistä rasvaliukoisempia. Lisääntyvä tietämys efflux-proteiinien toiminnasta on johtanut siihen, että näiden proteiinien substraatteina olevien lääkeaineiden kulkeutumista keskushermostoon on pyritty parantamaan antamalla niitä yhdessä efflux-proteiineja salpaavien yhdisteiden kanssa (Taylor 2002). Esimerkiksi HIV-lääkkeinä käytetyt proteaasintäjäajat ovat P-glykoproteiinin substraatteja (Choo ym. 2002). Muun muassa nelfinaviirin kulkeutuminen aivoihin paranee noin 100-kertaisesti, kun sitä annetaan yhdessä P-glykoproteiinin estäjän probenesidin kanssa (Choo ym. 2000, Savolainen ym. 2002).

Efflux-proteiinien yhtenä tehtävänä on poistaa aivokudoksessa syntyneitä metaboliitteja takaisin verenkiertoon. Efflux-proteiinien salpaaminen saattaaakin johtaa myrkyllisten metaboliittien kertymiseen aivokudokseen (Minn ym. 1991). Efflux-inhibiittoreiden kliinistä käyttöä rajoittaa myös niiden tehokkuuden edellyttämä suuri pitoisuus ja se, että ne saattavat muuttaa lääkeaineiden farmakokineettisiä ominaisuuksia ja muuttaa terapeuttiset annokset toksisiksi (Rousselle ym. 2000). Inhibiittori voi esimerkiksi syrjäyttää lääkeaineen plasman proteiineista tai muuttaa sen eliminoitumista. Lisäksi efflux-proteiinien salpaaminen saattaa aiheuttaa ei-spesifisesti useiden lääkeaineiden ja endogeenisten yhdisteiden kulkeutumista keskushermostoon (Taylor 2002).

Efflux-salpaajien käytön sijasta lääkeaineiden kulkeutumista keskushermostoon voidaan pyrkiä parantamaan muokkaamalla lääkeaineiden rakennetta sellaiseksi, etteivät efflux-proteiinit enää tunnista niitä. Esimerkiksi peptidivektoriin liitetyn doksorubisiinin lisääntynyt kulkeutuminen aivokudokseen saattaa osittain johtua siitä, ettei P-glykoproteiini tunnista doksorubisiinia substraatikseen (Rousselle ym. 2000).

Entsymaattinen veri-aivoeste

Parasellulaarisen diffuusion vähäisyyden vuoksi transsellulaarisesti veri-aivoesteen läpäisevät

lääkeaineet altistuvat automaattisesti entsyymi-toiminnalle. Usean entsyymien kuten gamma-glutamylitransferaasin, alkalisen fosfataasin, adenosiinideaminaasin ja puriininukleosidifosforylaasin aktiivisuus on suurempi veri-aivoesteen endoteelisoluissa kuin aivokudoksessa (Walker ja Coleman 1995, Johnson ja Anderson 1996). Myös perisyyteissä ja astrosyyteissä joidenkin entsyymien aktiivisuus on suhteellisen suuri (Pardridge 1995). Entsyymit toisaalta suojaavat aivoja vierasaineilta mutta toisaalta rajoittavat useiden tärkeiden lääkeaineiden pääsyä aivoihin. Esimerkiksi adenosiinideaminaasi ja puriininukleosidifosforylaasi saattavat rajoittaa joidenkin HIV-lääkkeinä käytettyjen dideoksinukleosidien kulkeutumista aivoihin (Johnson ja Anderson 1996).

Entsyymitoiminta on lähtökohtaisesti elimistön puolustusmekanismi vierasaineita vastaan. Sitä voidaan kuitenkin hyödyntää myös lääkekehityksessä kohdentamalla lääkeaineita veri-aivoesteen entsyymeihin. Tällöin farmakologisesti inaktiivinen yhdiste muuttuu aktiiviseksi metaboliitiksi kulkeutuessaan veri-aivoesteen läpi aivokudokseen. Esimerkiksi endoteelisolujen sytokromi P450 -entsyymit demetyloivat kodeiinista morfiinia (Minn ym. 1991).

Veri-aivoeste sairauksissa

Tiiviiden liitosten monimutkaisen proteiininrakenteen ja signaalijärjestelmien ansiosta veri-aivoeste ei ole jäykkä, rakenteellinen este verenkierron ja aivokudoksen välillä vaan muuntautumiskykyinen järjestelmä, jonka koostumus ja toiminta voivat muuttua (Huber ym. 2001). Veri-aivoeste pystyy näin turvaamaan aivojen homeostaasin patologisissa tiloissa lyhyen aikaa. Pitkäaikainen tai vaikea sairaus voi muuttaa veri-aivoesteen rakennetta ja toimintaa pysyvästi (Rieckmann ja Engelhardt 2003). Veri-aivoesteen rakenteen löystyminen tai siinä

olevien kuljetusmekanismien häiriö saattaa johdattaa lääkeaineiden ja endogeenisten yhdisteiden pitoisuuksien suurentumiseen toksisiksi ja edelleen aivovaurion syntyyn. Toisaalta veri-aivoesteen heikentymistä sairauden tai hypertonisen liuksen vaikutuksesta voidaan käyttää myös hyväksi keskushermostosairauksien hoidossa, jos lääkeainetta tällä tavoin saadaan aivoihin riittäviä määriä.

Veri-aivoesteen rakenteessa ja toiminnassa on havaittu muutoksia muun muassa Alzheimerin taudissa, multippelliskleroosissa, AIDSiin liittyvässä dementiaassa, aivokalvontulehduksessa, iskemiassa ja aivoödemassa (Claudio 1996, de Vries ym. 1997, Plumb ym. 2002). Näihin sairauksiin liittyy aivojen hiussuonten tulehdusprosessi, joka muuttaa veri-aivoesteen läpäisevyyttä. Veri-aivoesteen osuutta tulehdusprosessissa ei tunneta tarkasti, mutta on mahdollista, että rakenteellisten ja toiminnallisten muutosten lisäksi veri-aivoesteen endoteelisolut osallistuvat tulehdusprosessiin erittämällä tulehdusvälittäjäaineita (de Vries ym. 1997). Tällä tavoin ne vaikuttaisivat neuroinflammatoristen sairauksien syntyyn ja kehittymiseen.

YDINASIAT

- **Aivojen runsas verenkierto mahdollistaa teoriassa lääkeaineen saattamisen jokaisen yksittäisen neuronin luo.**
- **Yli 98 % keskushermostosairauksiin kehitetyistä lääkeaineista ei pääse vaikutuspaikalleen veri-aivoesteen vuoksi.**
- **Siihen, miten lääkeaine kulkeutuu keskushermostoon, vaikuttavat useat tekijät, kuten systeeminen farmakokinetiikka, lääkeaineen fysikokemialliset ominaisuudet, veri-aivoesteessä olevat entsyymit ja kuljetusmekanismit sekä monet sairaudet.**
- **Menetelmät, jotka parantavat lääkeaineen kykyä läpäistää veri-aivoeste ja kulkeutumista keskushermostoon ovat avainasemassa kehitettäessä uusia tehokkaita keskushermostolääkkeitä.**

Lopuksi

Aivojen verenkierto on runsasta, ja aivokudoksen kapillaarien välimatka on vain noin 40 µm (Duvernoy ym. 1983). Tämän vuoksi hyvin aivokapillaarin läpäisevä lääkeaine saavuttaa systeemisen infuusion jälkeen käytännössä aivokudoksen kaikki neuronit. Veri-aivoeste ja veri-likvorieste salpaavat kuitenkin aivojen runsaasta verenkierrosta huolimatta tehokkaasti lääkeaineiden niin kuin muidenkin eksogeenisten yhdisteiden kulkeutumisen verenkierrosta aivokudokseen, mikä tekee aivoista yhden lääkehoidossa vaikeimmin saavutettavista elimistä.

Veri-aivoeste ja veri-likvorieste muodostavat sekä rakenteellisen että toiminnallisen esteen keskushermoston ja systeemisen verenkierron

Kirjallisuutta

- Abbott NJ, Mendonca LLF, Dolman DEM. *Lupus* 2003;12:908–15.
- Anderson BD. Prodrugs for improved CNS delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1996;19:171–202.
- de Boer AG, van der Sandt CJ, Gaillard PJ. The role of drug transporters at the blood-brain barrier. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:629–56.
- Choo EF, Leake B, Wandel C, ym. Pharmacological inhibition of P-glycoprotein transport enhances the distribution of HIV-1 protease inhibitors into brain and testes. *Drug Metab Dispos* 2000;28:655–60.
- Claudio L. Ultrastructural features of the blood-brain barrier in biopsy tissue from Alzheimer's disease patients. *Acta Neuropathol* 1996;91:6–14.
- Conford EM, Oldendorf WH. Independent blood-brain barrier transport systems for nucleic acid precursors. *Biochim Biophys Acta* 1975;25:825–9.
- Cordon-Cardo C, O'Brian JP, Casals D, ym. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:695–8.
- Duvernoy H, Delon S, Vannson JL. The vascularization of the human cerebellar cortex. *Brain Res Bull* 1983;11:419–80.
- Huber JD, Egleton RD, Davis TP. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. *Trends Neurosci* 2001;24:719–25.
- Johnson MD, Anderson BD. Localization of purine metabolizing enzymes in bovine brain microvessel endothelial cells: an enzymatic blood-brain barrier for dideoxynucleosides? *Pharm Res* 1996;13:1881–6.
- Marvola M, Urtti A, Mönkkönen J. *Biofarmasia ja farmakokinetiikka*. Fortis ry, 1999.
- Miller G. Breaking down barriers. *Science* 2002;297:1116–8.
- Minn A, Ghersi-Egea JF, Perrin R, Leininger B, Siest G. Drug metabolizing enzymes in the brain and cerebral microvessels. *Brain Res Rev* 1991;16:65–82.
- Morgan ME, Chi S-C, Murakami K, Mitsuya H, Anderson BD. Central nervous system targeting of 2',3'-dideoxyinosine via adenosine deaminase-activated 6-halo-dideoxypurine prodrugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2156–65.
- Niemi R, Rautio J, Järvinen T. *Aihiolääkkeet*. *Duodecim* 1997;113:2564–8.
- Pardridge WM. BBB-genomics: creating new openings for brain-drug targeting. *Drug Discov Today* 2001;6:381–3.
- Pardridge WM. Blood-brain barrier drug targeting: the future of brain drug development. *Molec Interv* 2003;3:90–105.
- Pardridge WM. Transport of small molecules through the blood-brain barrier: biology and methodology. *Adv Drug Del Rev* 1995;15:5–36.
- Plumb J, McQuaid S, Mirakhur M, Kirk J. Abnormal endothelial tight junctions in active lesions and normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Brain Pathol* 2002;12:154–69.
- Rieckmann P, Engelhardt B. Building up the blood-brain barrier. *Nature Medicine* 2003;9:828–9.
- Rousselle C, Clair P, Lefauconnier JM, Kaczorek M, Scherrmann JM, Tamsamani J. New advances in the transport of doxorubicin through the blood-brain barrier by a peptide vector-mediated strategy. *Mol Pharmacol* 2000;57:679–86.
- Rowland M, Tozer TN. *Clinical pharmacokinetics, concepts and applications*. Philadelphia: Williams&Wilkins, 1995, s.109–18, 267–89.
- Savolainen J, Edwards JE, Morgan ME, McNamara PJ, Anderson BD. Effects of a P-glycoprotein inhibitor on brain and plasma concentrations of anti-human immunodeficiency virus drugs administered in combination in rats. *Drug Metab Dispos* 2002;30:479–82.
- Scherrmann J-M. Drug delivery to brain via the blood-brain barrier. *Vascular Pharmacol* 2002;38:349–54.
- Schinkel AH. P-glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev* 1999;36:179–94.
- Tamai I, Tsuji A. Transporter-mediated permeation of drugs across the blood-brain barrier. *J Pharm Sci* 2000;89:1371–88.
- Taylor EM. The impact of efflux transporters in the brain on the development of drugs for CNS disorders. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:81–92.
- Tamsamani J, Scherrmann JM, Rees AR, Kaczorek M. Brain drug delivery technologies: novel approaches for transporting therapeutics. *Pharm Sci Technol Today* 2000;3:155–62.
- Terasaki T, Pardridge WM. Restricted transport of AZT and dideoxynucleosides through the blood-brain barrier. *J Infect Dis* 1988;158:630–2.
- de Vries HE, Kuiper J, de Boer AG, van Berkel TJC, Breimer DD. The blood-brain barrier in neuroinflammatory diseases. *Pharmacol Rev* 1997;49:143–55.
- Walker I, Coleman MD. The blood-brain barrier: in vitro methods and toxicological applications. *Toxicol in Vitro* 1995;9:191–204.
- Wong SL, van Belle K, Sawchuk RJ. Distributional transport kinetics of zidovudine between plasma and brain extracellular fluid/cerebrospinal fluid in the rabbit: investigation of the inhibitory effect of probenecid utilizing microdialysis. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;264:899–909.
- Yarchoan R, Broder S. Development of antiretroviral therapy for acquired immunodeficiency syndrome and related disorders. *N Engl J Med* 1987;316:557–64.

JOUKO SAVOLAINEN, dosentti
jouko.savolainen@uku.fi

ANNE MANNILA, tutkija

Kuopion yliopisto, farmaseuttisen kemian laitos
PL 1627, 70211 Kuopio