

## “Małe naczynia krwionośne: duże problemy zdrowotne?”: Rekomendacje naukowe z Warsztatów National Institutes of Health

Francesca Bosetti, PharmD, PhD;\* Zorina S. Galis, PhD;\* Margaret S. Bynoe, PhD; Marc Charette, PhD; Marilyn J. Cipolla, PhD; Gregory J. del Zoppo, MD; Douglas Gould, PhD; Thomas S. Hatsukami, MD; Teresa L. Z. Jones, MD; James I. Koenig, PhD; Gerard A. Luty, PhD; Christine Maric-Bilkán, PhD; Troy Stevens, PhD; H. Eser Tolunay, PhD; Walter Koroshetz, MD; w imieniu uczestników Warsztatów “Małe naczynia krwionośne: duże problemy zdrowotne”●

Małe naczynia krwionośne (zwykle o średnicy wewnętrznej  $<100 \mu\text{m}$ ) przyczyniają się do wielu fundamentalnych procesów fizjologicznych i zdarzeń patologicznych, choć niekoniecznie przyciągają uwagę związaną z fizjologią i powikłaniami makronaczyniowymi. Głównymi przyczynami luki w badaniach całościowych typu „bench-to bedside” (od badań laboratoryjnych po kliniczne) jest złożoność i niewielki rozmiar małych naczyń w całym ciele. Małe naczynia zawierają różne składniki komórkowe i oddziałują z dużą różnorodnością nienaczyniowych populacji komórek mięszkowych, które różnią się zależnie od tego, w jakim narządzie występują. W zależności od ich lokalizacji nakładający się na siebie wpływ czynników środowiskowych, epigenetycznych i rozwojowych zwiększa jeszcze tę złożoność, utrudniając przełożenie fundamentalnych odkryć na badania kliniczne. Lepsze zrozumienie specyficznych cech strukturalnych i funkcjonalnych małych naczyń w całym ciele oraz tego, jak ich lokalne zaburzenia mogą przyczyniać się do ogólnoustrojowych stanów patofizjologicznych, może zmienić podejście diagnostyczne i terapeutyczne.

Aby rozwinąć tę ważną dziedzinę nauki, National Institutes of Health zorganizowało w dniach 18-19 września 2014 r. warsztaty, które zgromadziły naukowców i klinicystów z różnych dziedzin badań mikronaczyniowych, aby podzielić się najnowszymi odkryciami, zidentyfikować wspólne wyzwania i wspierać wspólne badania nad fizjologią i patologią drobnych naczyń krwionośnych w wielu narządach i tkankach. Warsztaty obejmowały 7 sesji naukowych, zatytułowanych: (1) Podstawy biologii i historii naturalnej małych naczyń; (2) Dynamika naczyniowa; (3) Oddziaływania komórkowe małych naczyń; (4) Transport przezśródbłonkowy, w tym przez

barierę krew-mózg (BBB) w sytuacjach zdrowia i choroby; (5) Małe naczynia w sytuacjach chorobowych; (6) Wpływ Internal Milieu i chorób na małe naczynia; oraz (7) Narzędzia badawcze i innowacje. Wszystkie sesje i dyskusje panelowe są dostępne w archiwum wideocastów National Institutes of Health (<http://videocast.nih.gov/PastEvents.asp>). Niniejszy oficjalny raport nie ma stanowić wyczerpującego przeglądu wszystkich tematów, ale ma raczej określić luki i możliwości zidentyfikowane przez uczestników warsztatów. Jeśli doszło do poważnych pominięć, żałujemy, że tak się stało, a najważniejsze priorytety naukowe zidentyfikowane przez uczestników, wymagające dalszych badań, podsumowano w tabeli.

### Podstawy biologii i historii naturalnej małych naczyń

Wspólnym składnikiem strukturalnym wszystkich małych naczyń krwionośnych i limfatycznych w całym ciele jest śródbłonek. Warstwa śródbłonka jest jedynym wspólnym składnikiem komórkowym naczyń włosowatych, najprostszymi struktur naczyniowych o najmniejszej średnicy. Choć naczyniowe komórki mięśni gładkich otaczają warstwę śródbłonkową w tętniczkach i żyłkach, poza mózgiem perycyty występują dość obficie na małych żyłkach i tętniczkach, ale raczej nielicznie na naczyniach włosowatych.<sup>1</sup> Pojawiają się jednak kontrowersje dotyczące pokrycia przez perycyty naczyń włosowatych w obrębie mózgu.<sup>2</sup> Niejednorodność komórek śródbłonka jest szczególnie widoczna na poziomie naczyń włosowatych, gdzie komórki śródbłonka specyficznie dostosowują się do potrzeb otaczających je tkanek.<sup>3</sup> Śródbłonek różni się wyglądem strukturalnym w różnych narządach i może mieć charakter ciągły, nieciągły, z otworami lub być sinusoidalny. Poza kontrolowaniem wysoce wyspecjalizowanej wymiany krwi z tkanką, potrzebnej do transferu składników odżywczych, sygnalizacji lub funkcji immunologicznych, śródbłonek pełni też wiele innych kluczowych funkcji

Z Narodowych Instytutów Zaburzeń Neurologicznych i Udaru (FB, JIK, WK) oraz Cukrzycy i Chorób Układu Pokarmowego i Nerek (TLZJ) oraz Narodowego Instytutu Serca, Płuc i Krwi (ZSG, MC, CM-B., HET), Narodowych Instytutów Zdrowia (NIH), Bethesda, MD; Cornell University, Ithaca, NY (M.S.B.); University of Vermont, Burlington, VT (M.J.C.); University of Washington, Seattle, WA (G.J.d.Z., T.S.H.); University of California, San Francisco, CA (D.G.); Johns Hopkins University, Baltimore, MD (G.A.L.); University of South Alabama, Mobile, AL (T.S.).

\*Dr Bosetti i Dr Galis wnieśli jednakowy wkład.

● Uczestnicy warsztatów wymienieni zostali w Załączniku na końcu tekstu.

**Tabela.** Najważniejsze priorytety naukowe Warsztatów National Institutes of Health (NIH) „Małe naczynia krwionośne: duże problemy zdrowotne?”

Podstawy biologii i historii naturalnej małych naczyń	Zrozumienie mechanizmów kierujących złożoną specjalizacją lokalną komórek śródbłonka oraz rozwojem małych naczyń w celu identyfikacji celów terapeutycznych uwzględniających niejednorodność struktury i funkcji śródbłonka pomiędzy różnymi narządami i w obrębie tkanki oraz wpływ uwarunkowań genetycznych, płci, stanu hormonalnego i wieku
Dynamika naczyniowa	Wizualizacja z dokładnością przestrzenną i czasową istotnych sieci transdukcji sygnałów subkomórkowych, interakcji międzycząsteczkowych (np. anatomia molekularna) oraz właściwości komórka-komórka i komórka-macierz w zdrowiu i chorobie
Oddziaływania komórkowe małych naczyń	Zrozumienie procesów molekularnych i komórkowych w homeostazie i odpowiedzi na uszkodzenia małych naczyń oraz tego jak środowiska komórkowe i narządowe wpływają na tę odpowiedź
Transport przezśródbłonkowy, w tym przez barierę (BBB) w sytuacjach zdrowia i choroby	Dekonstrukcja regulacji i funkcji jednostki nerwowo-naczyniowej (w tym adhezja, macierz zewnątrzkomórkowa, połączenia ścisłe i przylegające oraz transcytoza) w zdrowiu i jej rekonstrukcja w chorobie
Małe naczynia w sytuacjach chorobowych	Opracowanie translacyjnych, opartych na mechanizmach terapii, aby zapobiegać lub spowolnić postęp chorób małych naczyń i określić, których pacjentów należy leczyć oraz kiedy i jak ich leczyć
Wpływ Internal Milieu i chorób na małe naczynia	Opracowanie lepszych, klinicznie odpowiednich modeli chorób małych naczyń i wyjaśnienie interakcji między układem naczyniowym, stanem zapalnym i aktywacją immunologiczną przez cały okres życia
Narzędzia badawcze i innowacje (zespoły multidyscyplinarne)	Rozwijanie i integracja synergicznych osiągnięć biologicznych, technologicznych i obliczeniowych w celu zrozumienia złożonych, dynamicznych interakcji między różnymi ścieżkami sygnałowymi, typami komórek, komórkami i białkami macierzy, małymi i dużymi naczyniami oraz naczyniami i ich mikrośrodkami

fizjologicznych, w tym zachowanie powierzchni przeciwzakrzepowej, a w tętniczkach napięcia naczynioruchowego.<sup>4</sup> W rzeczywistości śródbłonek można postrzegać jako jeden organ, gigantyczną mozaikę, której części są zgodne ze wzorami ukształtowanymi przez czynniki środowiskowe i rozwojowe.<sup>5,6</sup>

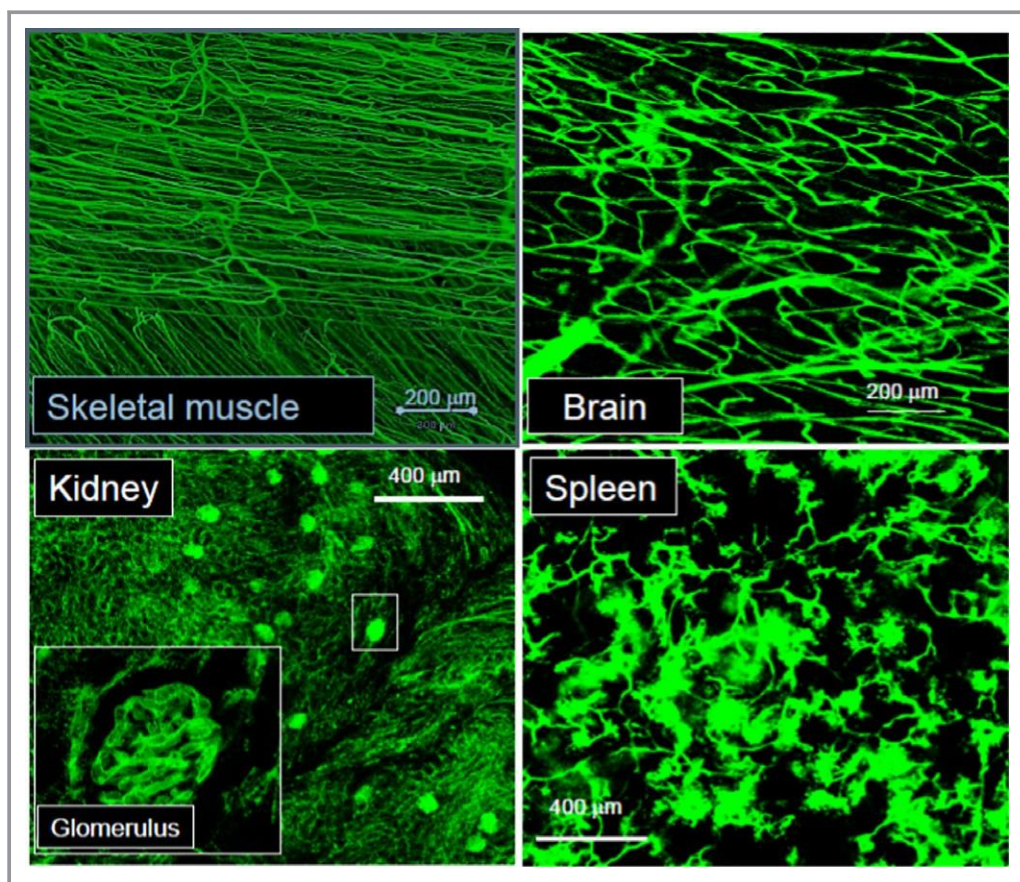
Wiele trzeba jeszcze się nauczyć o mechanizmach zaangażowanych w rozwój naczyń, w tym czynnikach związanych ze specjalizacją śródbłonka; czynnikach molekularnych i fizycznych, które decydują o dokładnym ułożeniu czasowym, kształcie, rozgałęzieniu i rozmiarze układu naczyniowego; oraz elementach, które modulują funkcję bariery śródbłonkowej (rys. 1).<sup>7</sup> Podczas tej sesji zidentyfikowano potrzebę współpracy zespołów interdyscyplinarnych, które pomogłyby w odkodowaniu wszystkich prawidłowych i patologicznych wzorców molekularnej heterogeniczności śródbłonka, specyficznych dla danych tkanek. Ta wiedza jest potrzebna do opracowania lepszych markerów prognostycznych i diagnostycznych dla różnych chorób miejscowych i ogólnoustrojowych, a pewnego dnia może pozwolić na precyzyjne ukierunkowanie nowych terapii poprzez dostarczenie ich prosto na prawidłowy „śródbłonkowy kod pocztowy”.<sup>8</sup>

Funkcja wyściółki śródbłonka obejmuje istotną „wymianę krzyżową” w ramach ściany naczynia, między komórkami naczyniowymi śródbłonka i przyściennymi oraz między komórkami krwiopochodnymi a sygnałami, małymi naczyniami i otaczającymi je tkankami. Integracja struktury i funkcji naczyń w skali przestrzennej i czasowej, od genów po tkanki, jest kluczem do zrozumienia rozwoju naczyń oraz przebudowy fizjologicznej i patologicznej. Angiogeneza, arteriogeneza, rozrost naczyń pobocznych i regresja struktur naczyniowych to dynamiczne zdarzenia, które mogą

wystąpić w stosunkowo krótkim czasie. Te zjawiska przebudowy mogą wpływać na skłonność osobnika do występowania problemów, takich jak zawał mięśnia sercowego i udar, oraz na ich wyraźne nasilenie, na co wpływają indywidualne czynniki genetyczne i środowiskowe.<sup>9,10</sup> Różne szczepy myszy wykazują różnice w arteriogenezie, w zależności od lokalizacji wcześniej istniejących połączeń między tętniczkami, jak również różnice w ich podatności na choroby,<sup>11</sup> potwierdzając rolę genetyki w przebudowie naczyń. Na przykład gęstość krążenia obocznego mózgu jest silnie zdeterminowana genetycznie i jest ważnym wyznacznikiem udaru u zwierząt i potencjalnie u ludzi.<sup>12,13</sup>

Aspekty układu limfatycznego, które mogą wpływać na stan zapalny i odpowiedź naczyniową na chorobę, są również podobnie uwarunkowane genetycznie.<sup>14</sup> Nie jest jednak jasne, jakie konkretnie geny określają zmienność w tworzeniu, utrzymaniu i przebudowie małych naczyń. Co więcej, brakuje informacji o tym, jak warianty genetyczne wpływają na reakcję małych naczyń w ciągu całego życia. Wydaje się tylko, że niektóre genetyczne czynniki podatności są wspólne dla różnych objawów choroby małych naczyń.<sup>15</sup>

Ostatnie dane wskazują, że to komórki okołowłośniakowe mogą kontrolować przebudowę mikronaczyniową i zmianę angiogeniczną.<sup>16</sup> „Angiofagia” prowadząca do utraty struktur naczyniowych (również rozpoznawana w procesie starzenia) okazuje się potencjalnie kluczowa dla okluzji i rekanalizacji naczyń.<sup>17-19</sup> Podczas tej sesji uznano, że nowe podejścia obliczeniowe, które mogłyby zintegrować wszystkie czynniki wpływające na rozwój i przebudowę naczyń w celu symulacji tych procesów przy użyciu reguł stochastycznych lub deterministycznych, mogą znacznie zwiększyć zdolność



**Rys. 1.** Różnice w architekturze małych naczyń krwionośnych i prawidłowej perfuzji różnych narządów myszy (mięsień szkieletowy, mózg, nerka, śledziona). Systematycznie wstrzykiwane mikrosfery fluorescencyjne są ściśle powiązane ze strukturami naczyniowymi z ciągłym śródbłonkiem, co pokazuje gładki wygląd małych naczyń w mięśniach szkieletowych i mózgu. Inaczej mikrosfery przechodzą przez „okienkowy” śródbłonek kłębuszków nerkowych i wydostają się przez pory nieciągnięgo śródbłonka zatok śledziony (Zorina Galis, dane niepublikowane).

przewidywania indywidualnego ryzyka i prawdopodobnie zapobiec chorobom.

Płeć jest krytycznym czynnikiem biologicznym, który moduluje patofizjologię naczyń mikrokrążenia.<sup>20</sup> Stężenie hormonów płciowych występujących u mężczyzn i u kobiet jest różne, co oznacza, że czynniki biologicznego odchylenia w przypadku płci różnią się też w ciągu życia.<sup>21</sup> Różnice między płciami widoczne są w częstości występowania i obrazowaniu chorób sercowo-naczyniowych, przewlekłej choroby nerek i otyłości wielozawałowej.<sup>22–24</sup> Stan przedrzucawkowy, menopauza i zaburzenia erekcji są stanami specyficznymi dla płci, odzwierciedlającymi relację między chromosomami płciowymi i hormonami.<sup>25</sup> Wiążą się one z niewielką dysfunkcją naczyń krwionośnych, ale nadal nie rozumiemy tych skojarzeń nawet na ich podstawowym poziomie. Zmienność hormonalna wpływa na ekspresję genów, a mozaikowość inaktywacji chromosomu X u kobiet może nie być tak losowa, jak wcześniej sądzono. Co ciekawe, zmiany w funkcji i budowie małych naczyń (takie jak przekształcanie) mogą być znacząco różne u mężczyzn i kobiet ze względu na hormony płciowe. Na przykład wahania poziomu hormonów płciowych mają istotny wpływ na przebieg udaru u samic zwierząt, a wyraźne

zmiany w wyściółce śródbłonkowej małych naczyń krwionośnych pojawiają się podczas patologii związanych z ciążą, takich jak stan przedrzucawkowy i rzucawka.<sup>26–30</sup> W mikrokrążeniu obwodowym wazodylatacja i wazokonstrykcja związana z endoteliną są znacząco zależne od sterydów i mogą one stanowić podstawę patologii w zespole jajników policystycznych.<sup>31</sup> Dlatego należy zwrócić szczególną uwagę na płeć i historię rozrodu w planowaniu zarówno badań przedklinicznych, jak i klinicznych. Potrzebne jest podejście integracyjne, aby odkryć, w jaki sposób płeć wpływa na funkcję naczyń we wszystkich elementach układu krążenia.

Aby pogłębić wiedzę na temat choroby małych naczyń, konieczne są interdyscyplinarne badania i opracowanie nowych narzędzi, które obejmują modelowanie obliczeniowe i obrazowanie. Umożliwią one integrację danych w różnych skalach, od poziomów molekularnych po tkankowe. Ponadto należy lepiej zrozumieć mechanizmy odpowiedzialne za złożoną miejscową specjalizację strukturalną i funkcjonalną komórek śródbłonka oraz sposób, w jaki naczynia krwionośne rozwijają się i przebudowują przez całe życie. Potrzebna jest lepsza definicja „choroby małych naczyń”, która może wpływać na mózg, serce, nerki lub inne narządy, a także zintegrowane

podejście do rozpoznawania przyczyn choroby małych naczyń, aby zidentyfikować nowe cele diagnostyczne i terapeutyczne oraz biomarkery.

## Dynamika naczyniowa

Napięcie naczyń (opór) jest regulowane, aby dopasować przepływ krwi do zapotrzebowania metabolicznego, zapewniając jej odpowiednią ilość tkankom w różnych warunkach fizjologicznych. Na przykład, opory tętniczek doprowadzających i odprowadzających są różnie kontrolowane, aby regulować dynamikę filtracji w naczyniach włosowatych kłębuszków nerkowych, które znajdują się pomiędzy tymi elementami oporowymi. Siły mechaniczne są bodźcami, które pośredniczą w działaniach regulacyjnych. Mechanosensacja ciśnienia i przepływu krwi przyczynia się do waskulogenezy i przebudowy naczyń. Zmiany w transdukcji sygnału mechanicznego, tj. mechanotransdukcji, są związane z procesami chorobowymi, takimi jak nadciśnienie, cukrzyca, miażdżyca i zeszywnienie dużych naczyń. Chociaż zidentyfikowano wiele domniemych czynników mechanotransdukcji,<sup>32</sup> wiele jeszcze trzeba zrobić, by dokładnie zrozumieć, w jaki sposób te różne komponenty koordynują reakcje na naprężenia.

Zrozumienie dynamiki naczyń stawia nam wiele wyzwań. W skali makro ważna jest identyfikacja określonych sensorów w komórkach mięśni gładkich śródbłonna i naczyń krwionośnych, ich biochemicznych i komórkowych szlaków sygnałowych w różnych narządach oraz ich synergii z ogólnoustrojowymi czynnikami ryzyka progresji choroby. W skali mezo potrzebne są prace opisujące topologię komórek mikronaczyniowych w odniesieniu do funkcji narządów. W skali mikro ważne jest wyjaśnienie w jaki sposób funkcja pojedynczej komórki w samych małych naczyniach krwionośnych wpływa na układ naczyniowy. Cele te można osiągnąć dzięki lepszemu zrozumieniu mikroanatomii i mikrofizjologii, genomiki, proteomiki i metabolomiki w całym układzie krążenia. Szanse na postęp naukowy obejmują wyjaśnienie niejednorodności fenotypów komórkowych; zrozumienie mechaniki i rozwoju macierzy oraz interakcji dalekiego zasięgu (mechanicznych, elektrochemicznych i przenoszonych przez krew); rozwój ruszowań bezkomórkowych do wykorzystania w inżynierii tkankowej; obrazowanie w 3 wymiarach z wysoką rozdzielczością czasową i przestrzenną; oraz modelowanie matematyczne w celu zintegrowania tych konceptów z rzeczywistymi wymiarami naczyń, funkcjami i procesami biochemicznymi.

W naszym zrozumieniu roli mikrokrążenia w fundamentalnych mechanizmach w zdrowiu i chorobie, takich jak przekrwienie metaboliczne i etiologia choroby małych naczyń (SVD), wciąż pozostaje kilka luk. Jedną z nich dotyczy np. związku przyczynowego między chorobą naczyń

wieńcowych a chorobą niedokrwienną serca. Nowe metody obrazowania wysokorozdzielczego *ex vivo* i morfometrii całego układu wieńcowego u świń, innych dużych ssaków<sup>33</sup> i myszy<sup>34</sup> pomogą wypełnić te luki. Jednak aby dalej rozwijać tę dziedzinę, potrzebny jest postęp technologiczny, taki jak bioczuJNIKI umożliwiające zrozumienie sygnalizacji wewnątrzkomórkowej oraz jej makroskali i mechaniki; wyższa rozdzielczość i szybkość, technologiczne obrazowania, które mogą przeniknąć do głębszych warstw tkanek *in vivo*, w tym fluorescencja wewnętrzna; mapowanie w celu etiologii choroby, np. miejsca angiogenezy; oraz nowe transgeniczne i warunkowe modele zwierzęce.

## Interakcje komórkowe małych naczyń krwionośnych

Chociaż mikrounaczynienia mają wspólne cechy strukturalne i funkcjonalne w wielu narządach, istnieją również ważne cechy specyficzne dla poszczególnych narządów. Komórki śródbłonna małych naczyń ściśle oddziałują z komórkami mięśni gładkich, perycytami i komórkami nienaczyniowymi specyficznymi dla danej tkanki, jak również z krążącymi lub rezydującymi w tkankach komórkami odpornościowymi. Komórki mięśni gładkich naczyń oddziałują i komunikują się z komórkami śródbłonna także w kontroli napięcia naczyniowego. Interakcje nienaczyniowe i naczyniowe kształtują reakcje fizjologiczne i skutki patofizjologiczne po urazie i powikłaniach mikronaczyniowych.<sup>7</sup> Na interakcje te z kolei wpływają czynniki mikrośrodowiskowe i narządowe.<sup>35</sup> Na przykład zapalenie, w którym pośredniczą przeciwciała i uszkodzenie naczyń włosowatych kłębuszków nerkowych, które są pierwszym etapem filtrowania krwi, leżą u podstaw wielu zaburzeń kłębuszkowych w nerkach.<sup>36</sup>

Wraz z wiekiem system odpornościowy staje się bardziej skłonny do agresywnych stanów zapalnych. Zmiany w układzie odpornościowym przyczyniają się do zachorowalności i śmiertelności związanej z wiekiem, a wzrost poziomu cytokin prozapalnych (np. interleukiny-6) w procesie starzenia wiąże się m.in. z nadciśnieniem tętniczym, miażdżycą, demencją i cukrzycą. Istnieje jednak ściśle terytorialne zachowanie choroby zapalnej, a starzenie się nie zawsze jest przyczyną. Wyjaśnienie roli stanu zapalnego w zdrowiu i chorobie naczyń stanowi ważną lukę naukową.

Wiele cech interakcji immunologicznych z małymi naczyniami krwionośnymi nadal jest słabo znanych. Te interakcje obejmują czynniki podatności narządów, które narzucają zakres odpowiedzi immunologicznej i uszkodzeń inicjowanych przez przeciwciała<sup>37</sup>, różnice w charakterystyce odpowiedzi immunologicznych oraz mechanizmy, przez które neutrofile i ich oddziaływanie z innymi komórkami układu odpornościowego wywołują uszkodzenia. Na przykład w nerkach nadal musimy zrozumieć, w jaki sposób komórki odpornościowe przyczyniają się do przewlekłego kłębuszkowego zapalenia nerek; jak zapalenie kłębuszków nerkowych prowadzi do uszkodzenia kanalików śródmiąższowych, co z kolei prowadzi do schyłkowej niewydolności nerek; czy jak zapalenie mikronaczyniowe zwiększa ryzyko choroby makronaczyniowej (np. miażdżycy). Pewne podobieństwa między patologią choroby małych naczyń krwionośnych w nerkach i mózgu sugerują, że mogą tam działać podobne mechanizmy.

Nadmierny stres oksydacyjny komórek ściany naczyniowej, wynikający ze zmienionego metabolizmu, cytokin zapalnych lub sił mechanicznych, przyczynia się do chorób naczyniowych. Jednak duże badania kliniczne, w których pacjentom z grupy wysokiego ryzyka podawano przeciwutleniające, by zapobiec problemom sercowo-naczyniowym, nie wykazały oczekiwanych korzyści,<sup>38-40</sup> po części dlatego, że ścieżki redoks, które indukują określone patologie narządowe, pozostały niezbadane. Przeszkodą w rozszyfrowaniu specyficznych szlaków redoks jest miejscowy charakter wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS) (np. w kaweolach, raftach lipidowych, endosomach lub mitochondriach), szczególne właściwości utleniaczy (np. nadtlenek, peroksyazotyn) oraz mnóstwo chemicznych modyfikacji białek (np. sulfenylacja, glutationylacja) i ich odwracalny charakter.<sup>41</sup> Nowe technologie rozkładu przestrzennego i czasowego wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu, zintegrowane z algorytmami in silico do przewidywania modyfikacji redoks, oraz rzetelne metody identyfikacji modyfikacji redoks z pomocą spektroskopii masowej ułatwiłyby zrozumienie naczyniowego stresu oksydacyjnego. Ponadto sygnalizacja redoks zachodzi równoległe z innymi kluczowymi zdarzeniami sygnalizacyjnymi, np. szlakami sygnalizacyjnymi zależnymi od wapnia i reaktywnych form tlenu, które mogą wchodzić w interakcje i modulować wzajemną aktywność.<sup>42</sup> Aby określić znaczenie fizjologiczne swoistych naczyniowych szlaków redoks i ich wzajemnego oddziaływania z innymi kluczowymi procesami w sąsiednich komórkach i w tkankach, konieczne jest zintegrowane podejście.

Systemy modelowania naczyń *ex vivo* mogą dać możliwość badania mechanizmów chorobowych. Takie systemy stosowano do badania zakrzepicy, w szczególności samoorganizacji czynnika von Willebranda, funkcji bariery śródbłonkowej, angiogenezy i chorób wpływających na małe naczynia, w tym mikroangiopatii zakrzepowych (w tym zakrzepowej płamicy małopłytkowej), posocznicy, malarii i choroby sierpowatokrwinkowej.<sup>43</sup> Systemy te umożliwiają badanie w czasie rzeczywistym wpływu zmian różnych parametrów fizjologicznych lub patologicznych, takich jak napięcie, szybkość przepływu, geometria naczyń i rola innych typów komórek. Jednak te systemy wymagają ulepszeń i rozwinięcia ich do zastosowania w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) i innych narządach.

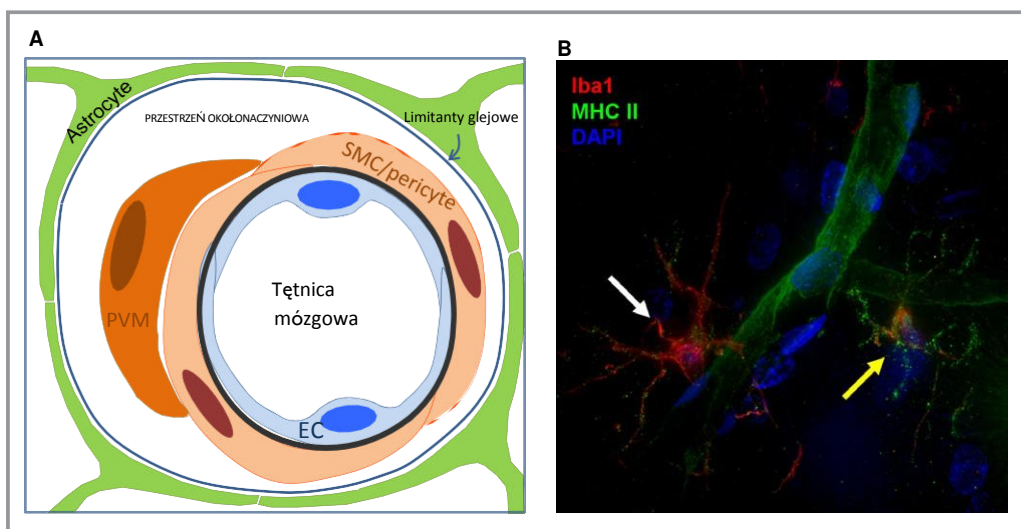
## Transport przezśródbłonkowy, w tym przez barierę (BBB) w sytuacjach zdrowia i choroby

Główne bariery mikronaczyniowe mózgu, bariera krew-mózg (BBB) i bariera krew-płyn mózgowo-rdzeniowy oraz nerwów obwodowych, bariera krew-nerw (BNB), mają unikalne właściwości wymagane do ścisłej regulacji transportu jonów, substancji rozpuszczonych, składników odżywczych i makrocząstek między krążeniem obwodowym a mięszem nerwowym, a także kontrolują transport krwiotwórczych leukocytów w warunkach fizjologicznych i patofizjologicznych.

BBB jest bardzo restrykcyjną warstwą wysoce wyspecjalizowanych komórek śródbłonka, które istnieją w naczyniach mózgowych, a jeszcze bardziej wyspecjalizowaną w naczyniach włosowatych i wewnętrznych warstwach żyłek postkapilarnych w mózgu (rys. 2A). W mózgu procesy z sąsiednich astrocytów i komórek mikrogleju przyczyniają się do powstania BBB, tworząc jednostkę nerwowo-naczyniową (rys. 2B). Komórki te mogą regulować funkcję bariery, przyczyniając się do wewnętrznej homeostazy mózgu wymaganej do transdukcji sygnału. Komórki krwi, zwłaszcza komórki wielojądrowe, limfocyty i monocyty, również oddziałują ze śródbłonkiem i mogą wpływać na jednostkę nerwowo-naczyniową.<sup>44</sup> Podobnie BNB jest tworzona przez wyspecjalizowane komórki śródbłonka, tworzące mikronaczynia w najbardziej wewnętrznej warstwie nerwów obwodowych i korzeni nerwowych (endoneurium).<sup>45</sup> Te komórki śródbłonka wykazują wysoce ograniczony potencjał pinocytozy i transcytozy, ale są swoistymi przenośnikami regulującymi napływ/wypływ składników odżywczych/toksycznych, wykazują niski poziom cząsteczek adhezyjnych leukocytów w normalnych stanach fizjologicznych oraz szereg wyspecjalizowanych białek, które tworzą zwarte i przylegające połączenia międzykomórkowe, które skutecznie ograniczają pasywną dyfuzję cząsteczek przenoszonych przez krew i przyczyniają się do wysokiego przezśródbłonkowego oporu elektrycznego (rys. 3A). Ponadto adhezja komórek śródbłonka do macierzy pozakomórkowej przez integryny może determinować ścisłość połączeń.<sup>46</sup> Te wyspecjalizowane komórki śródbłonka są otoczone perycytami, które mają wspólną błonę podstawną.

Zmienioną przepuszczalność BBB powiązano z chorobą małych naczyń, udarem lakunarnym, otępieniem naczyniowym i chorobą Alzheimera.<sup>47</sup> Zmiany w strukturze BBB, takie jak pogrubienie błony podstawnej (rys. 3B), opisano w przewlekłych zaburzeniach nerwów obwodowych, takich jak neuropatia cukrzycowa i przewlekła zapalna polineuropatia demielinizacyjna.<sup>48</sup>

Szczególne przestrzeń paranaczyniowa opisana w mózgu gryzonia służy jak układ limfatyczny w OUN.<sup>49</sup> Ten wysoce spolaryzowany makroskopowy system transportu płynów został nazwany układem „glimfatycznym”. Wydaje się, że starzenie się i mikrozawały są powiązane ze znacznym zmniejszeniem aktywności glimfatycznej. Uważa się również, że choroba Alzheimera jest następstwem zmienionego drenażu okołonaczyniowego na skutek nieprawidłowego usuwania  $\beta$ -amyloidu z mózgu przez transport glimfatyczny i akumulację białek  $\beta$ -amyloidowych. Wpływ zmian przepuszczalności BBB, nadciśnienia tętniczego, cukrzycy, SVD i innych chorób współistniejących oddziałujących na klirens glimfatyczny, jak również wpływ poszczególnych typów komórek w jednostce nerwowo-naczyniowej na aktywność glimfatyczną są nieznanne. Co ważniejsze, do



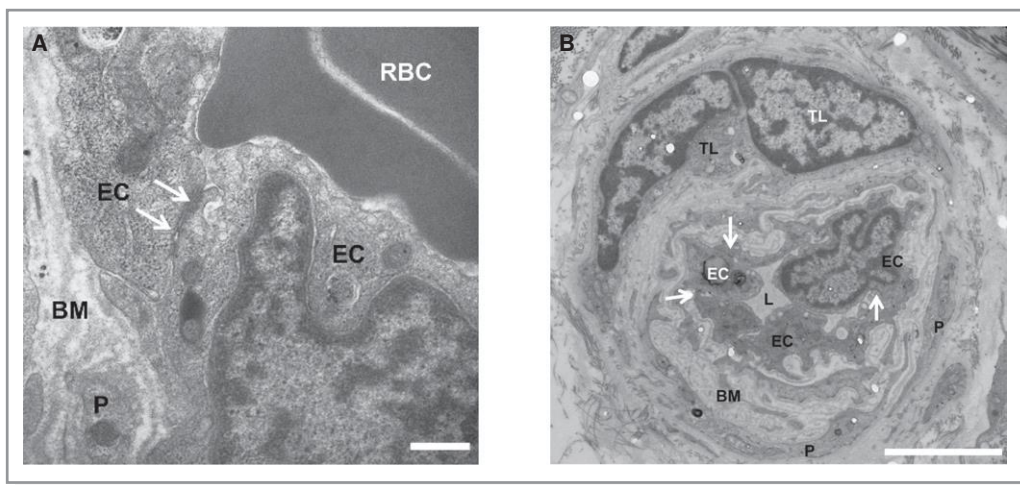
**Rys. 2.** A, Jednostka nerwowo-naczyniowa na poziomie tętniczki „piał” (opony miękkiej) (Dzięki uprzejmości dr Giuseppe Faraco, Weill Cornell Medical College). B, Okołonaczyniowe komórki mikrogleju. Ten obraz dekonwolucji z mikroskopu fluorescencyjnego ilustruje bliskość komórek mikrogleju do naczyń włosowatych mózgu w tyłomózgowiu dorosłego szczura. 30- $\mu\text{m}$  zamrożony skrawek mózgu szczura wybarwiono pod kątem Iba 1 (czerwony), markerem mikrogleju, i MHC II (zielony), który jest podwyższony w aktywowanym mikrogleju, ale także barwi komórki śródbłonna. Jądra wybarwiono 40,6-diamidyno-2-fenylindolem (DAPI) (niebieski). Mikroglej to makrofagi rezydujące w OUN, pełniące szereg ról, w tym ochronę przed patogenami, które przechodzą przez BBB. Należy zwrócić uwagę na różnicę między mikroglejem „stanu nadzoru” (biała strzałka), który ma niewielką ilość punktowego zielonego barwienia MHCII w obrębie zachodzących procesów, a „aktywowanym” mikroglejem (żółta strzałka), który ma zwiększone punktowe barwienie MHCII, które określa zarys procesów. Kapilara, wskazana przez zielone zabarwienie MHCII, związa się między 2 komórkami mikrogleju. Ten obraz jest projekcją o maksymalnej intensywności fragmentu wycinka mózgu o grubości 10  $\mu\text{m}$ . BBB oznacza barierę krew-mózg; CNS, ośrodkowy układ nerwowy; EC, komórka śródbłonna; PVM, makrofagi okołonaczyniowe; SMC, komórka mięśni gładkich.

wykazania pozostaje obecność układu glimfatycznego w ludzkim mózgu, co wymaga opracowania ludzkich biomarkerów aktywności glimfatycznej.

SVD mózgu może być sporadyczna lub dziedziczna, a charakteryzuje się wyciekaniem białek osocza do ścian naczyń i przestrzeni okołonaczyniowych. Uważa się, że SVD odgrywa rolę w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, w tym chorobie Alzheimera, demencji i upośledzeniu funkcji poznawczych, waskulopatii siatkówki z leukodystrofią mózgu, chorobie istoty białej i zaniku istoty szarej. Procesy inicjujące SVD ośrodkowego układu nerwowego nie są dokładnie poznane, ale mogą obejmować niedotlenienie/niedokrwienie, stan zapalny, zwyrodnienie perycytów i zmianę funkcji naczyń włosowatych BBB, skutkującą przeciekaniem BBB. Potrzebne są ulepszenia w neuroobrazowaniu i badania na modelach zwierzęcych, aby wyeliminować luki w wiedzy na temat etiologii, czynników ryzyka lub bodźców SVD.

Transport transkomórkowy to kolejny dynamiczny proces, który wymaga dalszego wyjaśnienia. W zależności od tkanki lub stanu chorobowego przejście makrocząsteczki z krążenia obwodowego do OUN lub nerwów obwodowych może być wynikiem zwiększonego transportu parakomórkowego, który można przypisać zmianom funkcji

ściślejszych połączeń międzykomórkowych lub procesowi aktywnego transportu (np. transcytoza pośredniczona przez kawole). Lepsza wiedza na temat transporterów oraz ich funkcji i regulacji mogłaby poprawić podawanie leków małowcząsteczkowych do mózgu i nerwów obwodowych, a co za tym idzie, leczenie zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych. Inne luki w wiedzy i obszary dla przyszłych badań obejmują lepsze zrozumienie tworzenia i rozpadu połączeń BBB i BNB, takich jak szlaki sygnałowe, które ponownie łączą zarówno przylegające, jak i ściśle połączenia w celu przywrócenia bariery śródbłonkowej; precyzyjne działanie szlaków transcytozy śródbłonkowej i porów transkomórkowych oraz sposoby ich wykorzystania do podawania tzw. leków „polarnych” lub dużocząsteczkowych przez ograniczające bariery; mechanizmy, dzięki którym bariera śródbłonkowa koordynuje przepływ płynów i substancji rozpuszczonych, jak również krążenie komórek krwiotwórczych i nowotworowych; przyczyny leżące u podstaw niezdolności niektórych systemów barier mikronaczyniowych do odpowiedniej naprawy; oraz przywrócenie integralności śródbłonna. Musimy również zidentyfikować różnice między angiogenezą rozwojową/naprawczą, kolaterogenezą i patologiczną neowaskularyzacją, opracować metody terapeutyczne naprawy naczyń oraz lepiej zrozumieć rolę i interakcje czynników komórkowych i humoralnych w tworzeniu i adaptacji mikronaczyniowej bariery w zdrowiu i chorobie.



**Rys. 3.** A, Ścisłe połączenia ludzkiej bariery krew-nerw (BNB). Zdjęcie z mikroskopu elektronowego BNB w nerwie łydkowym nieleczzonego dorosłego pacjenta z zespołem Guillaina-Barrégo pokazuje nienaruszone ścisłe połączenia międzykomórkowe (białe strzałki). Skala = 0,5  $\mu\text{m}$ . B, Zmiany ludzkiego BNB w stanie chorobowym. Zdjęcie z mikroskopu elektronowego BNB w nerwie łydkowym dorosłego pacjenta z przewlekłą zapalną polineuropatią demielinizacyjną pokazuje pogrubienie/duplikację BM między śródnierwowym EC i perycytami (P). Widoczne są nienaruszone, gęste elektronowo połączenia międzykomórkowe (białe strzałki). Obserwuje się również okołonaczyniowe limfocyty T (TL), wspólną cechą polineuropatii o podłożu immunologicznym. Skala = 5  $\mu\text{m}$ . BM oznacza błonę podstawną; EC, komórka śródbłonna; L, prześwit; P, perycyt; RBC, czerwona krwinka.

## Małe naczynia w sytuacjach chorobowych

Powikłania mikronaczyniowe są dobrze znanymi skutkami długotrwałego nadciśnienia tętniczego lub cukrzycy.<sup>50</sup> Ponadto same małe naczynia krwionośne powodują lub przyczyniają się do różnych chorób i procesów patogennych, takich jak nadciśnienie, choroba naczyń wieńcowych, nadciśnienie płucne, posocznica, udary ogniskowe, mikrozawały, duże lub mikroskopijne krwotoki mózgowie (mikrokrwotoki), czy demencja.<sup>26</sup> Ponadto subtelne i przewlekłe zmiany w strukturze i funkcjonowaniu naczyń mogą prowadzić do uszkodzenia istoty białej mózgu i dysfunkcji poznawczych. Towarzyszy im zwiększona przepuszczalność BBB, dysfunkcja śródbłonna oraz zmiany napięcia miogenego, sprzężenia nerwowo-naczyniowego, a w konsekwencji autoregulacja naczyniowo-mózgowa.<sup>27</sup> Nadciśnienie jest czynnikiem ryzyka choroby Alzheimera, a wzrosty ciśnienia krwi są liniowo związane z obniżeniem zdolności poznawczych.<sup>28</sup> Szkodliwe zmiany mikronaczyniowe, takie jak te leżące u podłoża przewlekłego nadciśnienia, mogą wystąpić bardzo wcześnie i zaostrić inne procesy patologiczne w wielu tkankach i narządach.<sup>51</sup> Na przykład cukrzyca nałożona na nadciśnienie nasila przebudowę małych tętnic, a stopień przebudowy jest większy u diabetyków niż u osób z nadciśnieniem tętniczym bez cukrzycy.<sup>52,53</sup> W nerkach uszkodzenie kłębuszków nerkowych prowadzące do niewydolności nerek może wynikać z nadciśnienia, upośledzenia funkcji mikrokrążenia, urazu zapalnego lub chorób autoimmunologicznych.<sup>36,54</sup>

Upośledzenie regulacji naczyniowej w nerkach przez dłuższy czas może przyspieszyć uszkodzenie nerek, a w mózgu może prowadzić do upośledzenia funkcji poznawczych poprzez chroniczne niedopasowanie dostarczania składników odżywczych przez przepływ krwi z wysokim zapotrzebowaniem mózgu na energię, szczególnie w podkorowej istocie białej.<sup>24</sup>

Duże tętnice mózgowie, tętniczki pialowe (opony miękkiej), tętniczki śródmiażdżowe, naczynia włosowate i żyłki reagują na nadciśnienie w zupełnie inny sposób. W różnych rejonach naczyniowych obserwuje się usztywnienie, miażdżycę, przebudowę, kolagenozę i lipohyalinozę, co prowadzi do różnych patologii. Na przykład, w przypadku miażdżycy, odpowiedź naczynioruchowa śródbłonna wieńcowego na acetylocholinę jest często zredukowana, ale u pacjentów jest ona zmienna.<sup>55</sup> Miażdżycy dużych naczyń w OUN może prowadzić do niedrożności naczyń i udaru ogniskowego, miażdżycy małych naczyń do mikrozawałów, lipohyalinoza do choroby istoty białej, a kolagenoza żylna może sprzyjać krwotokom lub mikrokrwawieniom.<sup>26</sup> Trzeba jednak ustalić, w jaki sposób różne segmenty naczyniowe mikrokrążenia mózgowego reagują lub przyczyniają się do etiologii nadciśnienia pierwotnego i jakie są mechanizmy leżące u jego podstaw. Dlatego ważne jest zbadanie wpływu nadciśnienia tętniczego i innych czynników ryzyka na różne segmenty krążenia oraz zidentyfikowanie odpowiednich mechanizmów komórkowych i molekularnych prowadzących do dysfunkcji i uszkodzenia naczyń, szczególnie na poziomie małych naczyń.

Jednym z głównych wyzwań, które nas czeka, jest opracowanie opartych na mechanizmach terapii translacyjnych, aby zapobiegać lub spowolnić postęp zaburzeń związanych z małymi naczyniami. Kluczowymi elementami jest bowiem określenie kogo, kiedy i jak leczyć. Dokładna ocena stanu naczyń jest skomplikowana, ponieważ mikronaczynia są małe, a

w miąższu tkankowym, z nielicznymi wyjątkami (np. siatkówka), stosunkowo niedostępne do obserwacji bez inwazyjnej biopsji.

Znalezienie metod leczenia naczyniowych zaburzeń poznawczych utrudnia heterogeniczność pacjentów i brak biomarkerów kluczowych procesów mikronaczyniowych związanych z zaburzeniami poznawczymi i neurologicznymi. Rozwój skutecznych terapii przyspieszy identyfikacja jednorodnych podgrup pacjentów z naczyniowymi zaburzeniami poznawczymi (np. chorobą Binswagera) za pomocą multimodalnych badań klinicznych opartych na biomarkerach, jak również badania obrazowania rezonansu magnetycznego przepuszczalności i mikrostruktury BBB oraz badania płynu mózgowo-rdzeniowego wskazujące na stan zapalny i patofizjologię uszkodzenia istoty białej.<sup>56</sup> Nadal potrzebne są walidacje podejścia opartego na biomarkerach w większych populacjach, identyfikacja wskaźników wyników oraz opracowanie leków do testowania w badaniach terapeutycznych.

Szybka, solidna i nieinwazyjna ocena stanu naczyń z wystarczającą rozdzielczością jest dużym wyzwaniem, zwłaszcza w przypadku mikronaczyń. Postęp technologiczny w opracowywaniu nieinwazyjnego monitorowania i ulepszaniu technik obrazowania w celu podłużnej wizualizacji małych naczyń bez biopsji umożliwi wczesne wykrywanie i monitorowanie postępu choroby oraz zapewni lepsze zrozumienie historii naturalnej chorób typu SVD.

Istotny postęp stanowią będą badania kliniczne i przedkliniczne mające na celu identyfikację wrażliwych i dokładnych biomarkerów krążących (i nienaczyniowych) jako zastępczych wskaźników stanu naczyń. Opracowanie metod szybkiego, solidnego i nieinwazyjnego sprawdzania stanu zdrowia naczyń umożliwi wczesne wykrycie, wczesną interwencję i lepszą ocenę progresji choroby u pacjentów. Z kolei wcześniejsze wykrycie choroby może prowadzić do identyfikacji leżących u jej podłoża czynników, w tym potencjalnie modyfikowalnych czynników ryzyka, które nie wymagają terapii. Identyfikacja pierwszych oznak choroby za pomocą zaawansowanego obrazowania lub krążących biomarkerów określi również okno terapeutyczne i ukierunkuje wybór pacjentów do leczenia oraz czas leczenia. Możliwość nieinwazyjnego monitorowania postępu, stabilności lub regresji choroby może wpływać na modyfikację opieki nad pacjentem. Co ważne, dokładne i niezawodne metody ilościowego określania tych parametrów poprawią możliwość niezwykle ważnej oceny wczesnych sukcesów lub niepowodzeń potencjalnych terapii w badaniach klinicznych. Z czasem metody zaawansowanego wykrywania staną się prostsze, szybsze i tańsze, dzięki czemu staną się one ogólnie akceptowanymi metodami badania stanu naczyń, co będzie skutkowało większą liczbą badanych pacjentów. Przełoży się to na lepsze działania na rzecz zapobiegania SVD i na poprawę zdrowia naczyń.

Badania genetyczne będą nadal odgrywać ważną rolę w definiowaniu, identyfikowaniu i leczeniu pacjentów, u których występuje największe ryzyko choroby naczyniowej. Wraz z rosnącą liczebnością kohort w wysoce rozbudowanych badaniach asocjacji całego genomu, które są dychotomizowane ze względu na płeć, oraz coraz większą dostępnością spersonalizowanych danych poprzez sekwencjonowanie genomu lub egzomu, zrozumienie genetycznych czynników

ryzyka rośnie w niespotykanym dotąd tempie. Dostępność indywidualnych danych genetycznych doprecyzuje zarówno ogólne, jak i osobiste genetyczne czynniki ryzyka, które pozwolą ustalić pacjentów kwalifikowanych do ścisłego monitoringu. Na przykład polimorfizmy w nowych genach, które są odpowiedzialne za zmienność w zakresie natywnego krążenia obocznego w mózgu i innych tkankach, a także przebudowę oboczną w modelach choroby okluzyjnej, zostały ostatnio zidentyfikowane u myszy i są badane pod kątem podobnego wpływu na ludzi.<sup>12,57,58</sup> Wczesna identyfikacja i interwencja u osób z największym ryzykiem genetycznym może pozwolić na zapobieganie chorobom mikronaczyniowym, nie prowadząc do leczenia pacjentów długo po rozpoczęciu choroby. Nie znajdziemy raczej „cudownego lekarstwa” na złożone choroby wieloczynnikowe, ale będą one wymagały leczenia mechanicznie powiązanych podgrup pacjentów. Większa definicja krajobrazu genetycznego i architektury chorób naczyń pozwoli na identyfikację indywidualnych sygnatur w celu genetycznej stratyfikacji klinicznych badań leków, co pozwoli uniknąć niepotrzebnego odrzucenia jakiegoś leku skutecznego w pewnej podgrupie pacjentów, lub pozwoli lepiej przewidzieć indywidualne reakcje na lek.

Kluczowym krokiem jest opracowanie i wykorzystanie modeli zwierzęcych związanych z chorobą, aby zrozumieć podstawowe mechanizmy molekularne i rozłożyć złożoność biologiczną wynikającą z interakcji między wieloma procesami (stres oksydacyjny, stan zapalny, macierz zewnątrzkomórkowa), które mogą różnić się w zależności od płci, wieku, chorób współistniejących itp.. Wykorzystanie kombinacji alleli ryzyka i wsobnych szczepów myszy umożliwi ścisłą kontrolę i uproszczenie czynników genetycznych, które przyczyniają się do choroby, czyniąc te złożone interakcje przystępnymi. Z drugiej strony, niekrewniacze szczepy zwierząt i niedawno opracowane populacje mapowania genetycznego myszy są również przydatne do zrozumienia odpowiedzi populacji i zapewnienia różnorodności genetycznej, która może być bardziej odpowiednia do oceny wyników populacji w modelach przedklinicznych.<sup>59</sup> Opracowanie i scharakteryzowanie modeli zwierzęcych związanych z chorobą poprzez oparte na hipotezach celowanie genowe lub walidacja ludzkich loci będą nieocenione w zrozumieniu szlaków komórkowych i przedklinicznych testach nowych terapii. Na przykład, metodologia CRISPR umożliwiła skonstruowanie mysich linii ze słabymi, pośrednimi i obfitymi kolateralami w mózgu i innych tkankach poprzez mutację pojedynczej pary zasad na innym tle izogenicznym, zapewniając w ten sposób oczywisty model zmienności krążenia obocznego u ludzi.<sup>57</sup> Wspólne badania łączące koncepcje z badań na ludziach z podstawowymi modelami komórkowymi i zwierzęcymi są postrzegane jako najlepsze podejście do tego, by przyspieszyć ich przełożenie na poprawę opieki nad pacjentem.



## Wpływ Internal Milieu i chorób na małe naczynia

Małe naczynia w różny sposób reagują na lokalne sygnały i siły hemodynamiczne. Zależy to od ich budowy, lokalizacji, mikrośrodowiska, środowiska systemowego i/lub stanu zdrowia. Długotrwałe zmiany miejscowych warunków środowiskowych, w tym bodźców hemodynamicznych, krwiopochodnych i tkankowych, mogą prowadzić w małych naczyniach do zmian kompensacyjnych lub patologicznych, należy też wziąć pod uwagę wkład genetyczny.

Wiadomo, że małe naczynia są dynamiczne i plastyczne. Przykładem jest farmakologiczna kontrola cukrzycy lub nadciśnienia, która może zmniejszyć uszkodzenie małych naczyń, patologiczne tworzenie nowych naczyń oraz może zapewnić normalne funkcjonowanie.<sup>60,61</sup>

W chorobach takich jak cukrzyca i udar mózgu oraz w przypadku wcześniaków przebudowa może obejmować odpowiedzi angiogeniczne, w wyniku których powstają nowe naczynia, które nie zawsze są funkcjonalne i mogą służyć jedynie do zaostrenia procesów zapalnych w organizmie.<sup>28,30</sup> W przypadku nadciśnienia małe naczynia przebudowują się do wewnątrz, by wytworzyć mniejsze prześwity, a grubsze ścianki mogą chronić przed uszkodzeniem naczyń poprzez zwiększenie oporu naczyniowego i zapobieganie niszczeniu naczyń włosowatych przez wysokie ciśnienie perfuzji.<sup>62</sup> Jednak mniejsze średnice prześwitów mogą powodować przewlekłą hipoperfuzję i zawał oraz mogą ograniczać rezerwę na rozszerzenie naczyń w narządzie, a także zwiększyć całkowity opór obwodowy, co też przyczynia się do nadciśnienia.<sup>63</sup> Chociaż ta reakcja na nadciśnienie jest znana od dziesięcioleci, nie wiadomo, jak różni się ona u mężczyzn i kobiet, w reakcji na stan hormonalny lub jaki jest wpływ genetyki. Ponadto, nie do końca wiadomo również jak różnie małe naczynia krwionośne reagują na choroby w różnych narządach. Ważnym przykładem jest stan przedzucawkowy, który wpływa na małe naczynia wielu narządów, w tym nerkę, łożysko, mózg i serce.<sup>10</sup> Wpływ na małe naczynia każdego narządu stanu przedzucawkowego może być znacząco różny, ale ważne jest zrozumienie tej sytuacji dla skutecznego leczenia i zapobiegania.

## Narzędzia badawcze i innowacje

Złożone interakcje między typami komórek wpływają zarówno na mikro-, jak i makrośrodowisko układu naczyniowego. Zdarza się, że nakładające się na siebie procesy mogą być szkodliwe w ostrej fazie choroby lub urazu, ale podczas gojenia mogą działać adaptacyjnie i korzystnie. Dlatego należy wziąć pod uwagę, że reakcje na chorobę i uraz mogą zależeć od czasu i typu komórki, jak również narządu. Aby zbadać zachodzące reakcje, potrzebny jest ciągły rozwój technologii systematycznych pomiarów, w tym obrazowania, genomiki, proteomiki, bioinformatyki, a także modeli matematycznych i obliczeniowych do opisywania i przewidywania złożonych zachowań dynamicznych.<sup>64</sup>

Systemy modelowe odegrały ważną rolę w wyjaśnianiu mechanizmów patologii i chorób oraz w opracowywaniu procedur terapeutycznych. Ostatnie postępy

w bioinżynierii, technologii komórek macierzystych i mikroskopii doprowadziły do powstania systemów modelowych, które przyspieszą odkrycia naukowe i ich translację.<sup>65</sup> Techniki takie jak mikroskopia 2-fotonowa i optogenetyka<sup>2</sup> dostarczają nowych informacji na temat fizjologii i patologii chorób naczyń w modelach zwierzęcych. Opracowywane są modele *in vitro*, które wykorzystują inżynierię tkankową i technologię komórek macierzystych do rekapitulacji mikrośrodowiska naczyniowego różnych narządów z ludzkimi liniami komórkowymi. Modele obliczeniowe odegrały ważną rolę w zrozumieniu krążenia w makroskopowych skalach długości, a postępy w mocy obliczeniowej umożliwiają opracowywanie modeli na poziomie komórkowym i molekularnym. Te nowe modele są w stanie symulować dynamikę błon, interakcje receptor/ligand, procesy transportu przezkomórkowego, a w niedalekiej przyszłości będą w stanie symulować wzrost i przebudowę naczyń.<sup>66</sup>

Obecnie heterogeniczne grupy procesów chorobowych są często łączone w pojedyncze diagnozy (np. naczyniowe zaburzenia poznawcze lub nadciśnienie). Ponadto uważa się, że niektóre procesy chorobowe są spowodowane głównie chorobą dużych naczyń, podczas gdy inne przypisuje się chorobie małych naczyń. Istnieje więc potrzeba lepszego nakreślenia subtelności choroby i interakcji między dużymi i małymi naczyniami, jak również między różnymi obszarami naczyniowymi (np. obszar zewnątrzczaszkowy i wewnątrzczaszkowy lub aortalny i nerkowy).<sup>67</sup>

Potrzebne jest podejście multidyscyplinarne i integracyjne, aby ulepszyć narzędzia do wizualizacji i analizy odpowiedniej do zrozumienia biologii i patofizjologii systemów w różnych skalach, zarówno w modelach zwierzęcych, jak i u poszczególnych pacjentów, a także do walidacji bardzo potrzebnych integracyjnych, wieloskalowych modeli obliczeniowych. Na przykład istnieje potrzeba uzyskania lepszych informacji na temat struktury 3D, funkcji i warunków hemodynamicznych w małych i dużych naczyniach w różnych, choć połączonych ze sobą łożyskach naczyniowych,<sup>68-70</sup> a także lepszej walidacji zarówno integralności danych, jak i wiarygodności metod wykorzystywanych do ich analizy lub symulacji.

W tej dziedzinie należy wykorzystać pojawiające się narzędzia, aby poprawić naszą podstawową wiedzę na temat funkcji mikrokrążenia u osoby zdrowej, abyśmy dzięki temu mogli określić zmiany w stanie chorobowym, w tym opracować wysokoprzepustowe, przesiewowe badania metabolomiczne; mapować zmiany epigenetyczne w stanie zdrowia i choroby; oraz lepiej zrozumieć rolę, jaką wywiera mikrośrodowisko na mikronaczynia w różnych tkankach.

Pojawiające się dane sugerują, że „waskulom” (z ang. *vasculome*) małych naczyń, zdefiniowany jako integracja ekspresji RNA, profili epigenetycznych, białkowych i metabolomicznych, jest specyficzny dla danego narządu i może przyczyniać się do patofizjologii choroby i generowania biomarkerów.<sup>71</sup> Mapowanie funkcjonalnego „waskulomu” w różnych narządach oraz posiadanie zintegrowanej bazy danych dla wszystkich głównych narządów docelowych mogłoby być unikalnym źródłem/narzędziem do poszukiwania wskazówek terapeutycznych i diagnostycznych w zaburzeniach małych naczyń.

Ewentualne różnice wynikające z płci, rasy i wieku, które mogą wpływać na dostarczanie leków, ich penetrację, przyjmowanie i wyniki terapeutyczne, również pozostają w dużej mierze niedostatecznie zbadane. Wreszcie, dziedzina ta musi stworzyć lepsze możliwości wymiany pomysłów i danych, zwłaszcza między różnymi dyscyplinami, od naukowców i inżynierów po klinicystów. Aby osiągnąć ten cel, potrzebna jest precyzyjna terminologia, standaryzacja i udostępnianie technologii pozyskiwania i analizy danych oraz interdyscyplinarna współpraca.

## Podsumowanie i kierunki na przyszłość

Warsztaty były pierwszą okazją dla naukowców z różnych dyscyplin do spotkania się i zidentyfikowania wspólnych wyzwań i możliwości naukowych dla badań podstawowych i klinicznych nad małymi naczyniami krwionośnymi i limfatycznymi. Wśród krzyżujących się priorytetów uczestnicy wskazali potrzebę poszerzenia wiedzy o podstawowej biologii małych naczyń; strukturalną i funkcjonalną heterogeniczność oraz zróżnicowaną podatność na urazy i choroby; interakcjach komórek naczyniowych z sąsiednimi komórkami i czynnikami krążącymi; molekularnych mechanizmach fizjologicznej i patologicznej autoregulacji małych naczyń w różnych narządach; oraz specyficznych tkankowo fenotypach komórek śródbłonna, perycytów lub komórek naczyniowych mięśni gładkich, które przyczyniają się do różnej dynamiki odpowiedzi naczyń. Docenienie takich czynników, jak płeć, stan hormonalny, stadium rozwojowe, wiek, choroby współistniejące i genetyka ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia złożoności fizjologicznych i patologicznych odpowiedzi małych naczyń krwionośnych. Nowatorskie, zintegrowane i multidyscyplinarne podejście do modelowania obliczeniowego, nieinwazyjnego obrazowania, uwarunkowań genetycznych i opracowania nowych modeli zwierzęcych mają kluczowe znaczenie dla naszego radzenia sobie z patofizjologią małych naczyń krwionośnych.

Wyzwaniem dla uczestników tych dwudniowych warsztatów było sformułowanie konkretnych i możliwych do przełożenia zaleceń, które można szeroko zastosować w przypadku różnych narządów, chorób i dyscyplin. Uzasadnione są jednak dalsze działania i ukierunkowane inicjatywy mające na celu bardziej szczegółowe rozwiązanie konkretnych problemów. W związku z tym, oprócz wspierania badań interdyscyplinarnych poprzez granty naukowe (P01, RC2, R24 itp.), zasoby baz danych dla badań omicznych, zasoby tkanek ludzkich i wsparcie grantami konferencyjnymi (U13 i R13), National Institutes of Health obecnie rozważa lub już rozpoczął inicjatywy ukierunkowane na małe naczynia, czego przykładami są: M2OVE Alzheimer's disease (AD) ([https://www.nih.gov/news-events/news-](https://www.nih.gov/news-events/news-releases/decoding-molecular-ties-between-vascular-disease-alzheimers)

releases/decoding-molecular-ties-between-vascular-disease-alzheimers); Small Vessel Contributions to Cognitive Impairment and Dementia (VCID, Wkład małych naczyń w upośledzenia funkcji poznawczych i demencji) Biomarkers Consortium: Coordinating Center (RFA-NS-16-019); Small Vessel Contributions to Cognitive Impairment and Dementia (VCID) Biomarkers Development Projects (RFA-NS-16-020); oraz Mechanistyczne podstawy rozlanej choroby istoty białej jako wpływ naczyń na upośledzenie funkcji poznawczych i demencję (RFA-NS-16-021), które zostały uwzględnione podczas warsztatów i innych odpowiednich działań planistycznych.<sup>72-74</sup>

## Załącznik

Uczestnicy warsztatów (w kolejności alfabetycznej): Dritan Agalliu, PhD, Columbia University Medical Center; William Aird, MDH, Harvard University; David A. Antonetti, PhD, University of Michigan; Manfred Boehm, MD, National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health (NIH); Claudette E. Brooks, MD, Office of Research on Women's Health, National Institutes of Health (NIH); Kathleen M. Caron, PhD, University of North Carolina at Chapel Hill; William Chilian, PhD, Northeast Ohio Medical University; Mat J. Daemen, MD, PhD, University of Amsterdam's Faculty of Medicine; Robert D'Amato, MD, PhD, Harvard University; Thomas P. Davis, PhD, University of Arizona College of Medicine; Advije Ergul, MD, PhD, Georgia Regents University; James E. Faber, PhD, University of North Carolina at Chapel Hill; Ariel R. Gomez, MD, University of Virginia; Peter Grayson, MD, MSc, National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, National Institutes of Health (NIH); Isabella Grumbach, MD, PhD, Iowa City VA Medical Center; Jaime Grutzendler, MD, Yale University; Chenghua Gu, PhD, Harvard University; David Gutterman, MD, Medical College of Wisconsin; John Hallenbeck, MD, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health (NIH); Ira Herman, PhD, Tufts University; Jay Humphrey, PhD, Yale University; Costantino Iadecola, MD, Cornell University; Edward W. Inscho, PhD, University of Alabama at Birmingham; David Kleinfeld, PhD, University of California, San Diego; Eng H. Lo, PhD, Harvard University; Jose A. Lopez, MD, Puget Sound Blood Center, Seattle; Stephen Macknik, PhD, St. Joseph's Hospital and Medical Center, Arizona; Asrar Malik, PhD, University of Illinois at Chicago; Tanya N. Mayadas, PhD, Harvard University; Dorian McGavern, PhD, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health (NIH); Gerald A. Meininger, PhD, University of Missouri; Virginia M. Miller, PhD, Mayo Clinic; Maiken Nedergaard, MD, PhD, University of Rochester; Mark T. Nelson, PhD, University of Vermont; Shayn Peirce-Cottler, PhD, National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, National Institutes of Health (NIH); Ipolia Ramadan, PhD, National

Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health (NIH); Gary A. Rosenberg, MD, University of New Mexico Health Sciences Center; Ernesto L. Schiffrin, MD, PhD, McGill University; Peter Searson, PhD, Johns Hopkins University; Nina Stachenfeld, PhD, Yale University; Radu V. Stan, MD, PhD, Dartmouth College; Yajaira Suarez, PhD, Yale University; Eroboghene E. Ubogu, MD, University of Alabama at Birmingham; Zinaida S. Vexler, PhD, University of California, San Francisco; Cornelia M. Weyand, MD, PhD, Stanford University; Berislav V. Zlokovic, MD, PhD, University of Southern California.

## Podziękowania

Warsztaty były wspierane przez National Institute of Neurological Disorders and Stroke (Narodowy Instytut Zaburzeń Neurologicznych i Udaru), National Heart, Lung and Blood Institute (Narodowy Instytut Serca, Płuc i Krwi), National Eye Institute (Narodowy Instytut Oka), National Institutes of Health Office of Disease Prevention (Biuro Zapobiegania Chorobom NIH) oraz Office of Research on Women's Health (Biuro Badań nad Zdrowiem Kobiet). Microcirculatory Society (Towarzystwo ds. Mikrokrażenia) sponsorowało 6 nagród Travel Awards, aby wesprzeć uczestnictwo stażystów i młodszych członków wydziałów.

## Bibliografia

1. Bergers G, Song S. The role of pericytes in blood-vessel formation and maintenance (Rola perycytów w tworzeniu i utrzymaniu naczyń krwionośnych). *Neuro Oncol.* 2005;7:452–464.
2. Hill RA, Tong L, Yuan P, Murikinati S, Gupta S, Grutzendler J. Regional blood flow in the normal and ischemic brain is controlled by arteriolar smooth muscle cell contractility and not by capillary pericytes (Miejscowy przepływ krwi w zdrowym i niedokrwiowym mózgu jest kontrolowany przez kurczliwość tętniczek mięśni gładkich, a nie przez perycyty naczyń włosowatych). *Neuron.* 2015;87:95–110.
3. Ghitescu L, Galis Z, Simionescu M, Simionescu N. Differentiated uptake and transcytosis of albumin in successive vascular segments (Zróznicowany pobór i transcytoza albuminy w następujących po sobie segmentach naczyniowych). *Submicrosc Cytol Pathol.* 1988;20:657–669.
4. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, Pober JS, Wick TM, Konkle BA, Schwartz BS, Barnathan ES, McCrae KR, Hug BA, Schmidt AM, Stern DM. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders (Komórki śródbłonna w fizjologii i patofizjologii zaburzeń naczyniowych). *Blood.* 1998;91:3527–3561.
5. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms (Niejednorodność fenotypowa śródbłonna: I. Budowa, funkcja i mechanizmy). *Circ Res.* 2007;100:158–173.
6. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: II. Representative vascular beds (Niejednorodność fenotypowa śródbłonna: II. Reprezentatywne łożyska naczyniowe). *Circ Res.* 2007;100:174–190.
7. Johnson C, Sung HJ, Lessner SM, Fini ME, Galis ZS. Matrix metalloproteinase-9 is required for adequate angiogenic revascularization of ischemic tissues: potential role in capillary branching (MMP-9 niezbędna do odpowiedniej angiogennej rewaskularyzacji niedokrwiwnych tkanek: potencjalna rola w rozgałęzianiu naczyń włosowatych). *Circ Res.* 2004;94:262–268.
8. Arap W, Kolonin MG, Trepel M, Lahdenranta J, Cardó-Vila M, Giordano RJ, Mintz PJ, Ardeli PU, Yao VJ, Vidal CI, Chen L, Flamm A, Valtanen H, Weavind LM, Hicks ME, Pollock RE, Botz GH, Bucana CD, Koivunen E, Cahill D, Troncoso P, Baggerly KA, Pentz RD, Do KA, Logothetis CJ, Pasqualini R. Steps toward mapping the human vasculature by phage display (Kroki w kierunku mapowania ludzkiego układu naczyniowego za pomocą techniki prezentacji fagowej). *Nat Med.* 2002;8:121–127.
9. Lapi D, Colantuoni A. Remodeling of cerebral microcirculation after ischemia-reperfusion (Przebudowa mikrokrążenia mózgowego po zespole porperfuzyjnym). *J Vasc Res.* 2015;52:2–31.
10. Wang S, Zhang H, Dai X, Sealock R, Faber JE. Genetic architecture underlying variation in extent and remodeling of the collateral circulation (Architektura genetyczna leżąca u podstaw zmienności zasięgu i przemodelowania krążenia obocznego). *Circ Res.* 2010;107:558–568.
11. Limbourg A, Korff T, Napp LC, Schaper W, Drexler H, Limbourg FP. Evaluation of postnatal arteriogenesis and angiogenesis in a mouse model of hind-limb ischemia (Ocena postnatalnej arteriogenezy i angiogenezy w modelu niedokrwienia kończyn tylnych myszy). *Nat Protoc.* 2009;4:1737–1746.
12. Sealock R, Zhang H, Lucitti JL, Moore SM, Faber JE. Congenic fine-mapping identifies a major causal locus for variation in the native collateral circulation and ischemic injury in brain and lower extremity (Mapowanie kongeniczne identyfikujące główne miejsce przyczynowe zmienności w natywnym krążeniu obocznym i urazów niedokrwiennych mózgu i kończyn dolnych). *Circ Res.* 2014;114:660–671.
13. Mokin M, Rojas H, Levy EI. Randomized trials of endovascular therapy for stroke—impact on stroke care (Randomizowane badania terapii wewnątrznaczyniowej w przypadku udaru mózgu – wpływ na opiekę poudarową). *Nat Rev Neurol.* 2016;12:86–94.
14. Liu F, McCullough LD. Interactions between age, sex and hormones in experimental ischemic stroke (Interakcje między wiekiem, płcią i hormonami w doświadczalnym udarze niedokrwiennym). *Neurochem Int.* 2012;61:1255–1265.
15. Traylor M, Rutten-Jacobs LC, Thijs V, Holliday EG, Levi C, Bevan S, Malik R, Boncoraglio G, Sudlow C, Rothwell PM, Dichgans M, Markus HS. Genetic associations with white matter hyperintensities confer risk of lacunar stroke (Powiązania genetyczne z hiperintensywnością istoty białej wiążące się z ryzykiem udaru lakunarnego). *Stroke.* 2016;47:1174–1179.
16. Bodnar RJ, Rodgers ME, Chen WC, Wells A. Pericyte regulation of vascular remodeling through the CXC receptor 3 (Regulacja perycytowa przebudowy naczyń poprzez receptor CXC 3). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33:2818–2829.
17. Lam CK, Yoo T, Hiner B, Liu Z, Grutzendler J. Embolus extravasation is an alternative mechanism for cerebral microvascular recanalization (Wynaczynienie zatoru jako alternatywny mechanizm rekanalizacji naczyń mózgowych). *Nature.* 2010;465:478–482.
18. Grutzendler J, Murikinati S, Hiner B, Ji L, Lam CK, Yoo T, Gupta S, Hafler BP, Adelman RA, Yuan P, Rodriguez G. Angiophagy prevents early embolus washout but recanalizes microvessels through embolus extravasation (Angiofagia zapobiega wczesnemu wypłukaniu zatoru, ale rekanalizuje mikronaczynia poprzez jego wynaczynienie). *Sci Transl Med.* 2014;6:226ra31.
19. del Zoppo G, Hawkins B. Throwing out the thromboemboli (Wyrzucanie zakrzepów w przypadku zakrzepicy). *N Engl J Med.* 2010;363:1282–1284.
20. Miller VM. Sex-based differences in vascular function (Różnice w funkcji naczyń ze względu na płeć. Zdrowie kobiet). *Womens Health (Lond Engl).* 2010;6:737–752.
21. Miller VM, Duckles SP. Vascular actions of estrogens: functional implications (Działanie naczyniowe estrogenów: implikacje funkcjonalne). *Pharmacol Rev.* 2008;60:210–241.
22. Gottesman RF, Schneider AL, Zhou Y, Chen X, Green E, Gupta N, Knopman DS, Mintz A, Rahmim A, Sharrett AR, Wagenknecht LE, Wong DF, Mosley TH Jr. The ARIC-PET amyloid imaging study: brain amyloid differences by age, race, sex, and APOE (Badanie obrazowania amyloidu ARIC-PET: różnice w mózgu według wieku, rasy, płci i APOE). *Neurology.* 2016;87:473–480.
23. Buchholz EM, Strait KM, Dreyer RP, Lindau ST, D'Onofrio G, Geda M, Spatz ES, Beltrame JF, Lichtman JH, Lorenze NP, Bueno H, Krumholz HM. Sex differences in young patients with acute myocardial infarction: a VIRGO study analysis. (Różnice płciowe u młodych pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego: analiza badania VIRGO). *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2016;pii:2048872616661847.
24. Hecking M, Bieber BA, Ethier J, Kautzky-Willer A, Sunder-Plassmann G, Säemann MD, Ramirez SP, Gillespie BW, Pisoni RL, Robinson BM, Port FK. Sex-specific differences in hemodialysis prevalence and practices and the male-to-female mortality rate: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS) (Typowe dla płci różnice w rozpowszechnieniu i praktykach hemodializy oraz wskaźnik śmiertelności między kobietami a mężczyznami: badanie Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS)). *PLoS Med.* 2014;11:e1001750. doi: 10.1371/journal.pmed.1001750.
25. Miller VM, Mulvagh SL. Sex steroids and endothelial function: translating basic science to clinical practice (Steroidy płciowe a funkcja śródbłonna: przełożenie podstaw nauki na praktykę kliniczną). *Trends Pharmacol Sci.* 2007;28:263–270.
26. Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia (Patobiologia demencji naczyniowej). *Neuron.* 2013;80:844–866.
27. Faraco G, Iadecola C. Hypertension: a harbinger of stroke and dementia (Nadciśnienie: zwiastun udaru i demencji). *Hypertension.* 2013;62:810–817.
28. Knecht S, Wersching H, Lohmann H, Bruchmann M, Dünning T, Dziewas R, Berger K, Ringelstein EB. High-normal blood pressure is associated with poor cognitive performance (Wysokie normalne ciśnienie krwi związane ze słabą wydajnością poznawczą). *Hypertension.* 2008;51:663–668.
29. Iadecola C, Davisson RL. Hypertension and cerebrovascular dysfunction (Nadciśnienie i dysfunkcja naczyń mózgowych). *Cell Metab.* 2008;7:476–484.
30. Cipolla MJ. Cerebrovascular function in pregnancy and eclampsia (Funkcja naczyń mózgowych w ciąży i rzucawce). *Hypertension.* 2007;50:14–24.
31. Poston L. Endothelial dysfunction in preeclampsia (Dysfunkcja śródbłonna w stanie przedrzucawkowym). *Pharmacol Res.* 2006;58 (Suppl):69–74.
32. Hahn C, Schwartz MA. Mechanotransduction in vascular physiology and atherogenesis (Mechanotransdukcja w fizjologii naczyń i miażdżycy). *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10:53–62.
33. van Horssen P, van Lier MG, van den Wijngaard JP, VanBavel E, Hoefler IE, Spaan JA, Siebes M. Influence of segmented vessel size due to limited imaging resolution on coronary hyperemic flow prediction from arterial crown volume (Wpływ rozmiaru segmentowanego naczynia wynikający z ograniczonej rozdzielczości obrazowania na przewidywanie przepływu przekrwienia wieńcowego na podstawie objętości korony tętniczej). *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016;310:H839–H846.
34. Zhang H, Faber JE. De-novo collateral formation following acute myocardial infarction: dependence on CCR2<sup>+</sup> bone marrow cells (Tworzenie oboczne de-novo po ostrym zawałem mięśnia sercowego: zależność od komórek szpiku kostnego CCR2<sup>+</sup>). *J Mol Cell Cardiol.* 2015;87:4–16.
35. Geevarghese A, Herman IM. Pericyte-endothelial crosstalk: implications and opportunities for advanced cellular therapies (Wzajemne oddziaływanie perycytowo-śródbłonkowe: implikacje i możliwości zaawansowanych terapii komórkowych). *Transl Res.* 2014;2014 (163):296–306.

36. Couser WG, Johnson RJ. The etiology of glomerulonephritis: roles of infection and autoimmunity (Etiologia kłębuszkowego zapalenia nerek: rola infekcji i autoimmunizacji). *Kidney Int.* 2014;86:905–914.
37. Fairhurst AM, Wandstrat AE, Wakeland EK. Systemic lupus erythematosus: multiple immunological phenotypes in a complex genetic disease (Toczeń rumieniowaty układowy: wielokrotne immunologiczne fenotypy w złożonej chorobie genetycznej). *Adv Immunol.* 2006;92:1–69.
38. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) (Randomizowana kontrolowana próba witaminy E u pacjentów z chorobą wieńcową: Badanie Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS)). *Lancet.* 1996;347:781–786.
39. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators (Suplementacja witaminy E a zdarzenia sercowo-naczyniowe u pacjentów wysokiego ryzyka). *N Engl J Med.* 2000;342:154–160.
40. Vivekananthan DP, Penn MS, Sapp SK, Hsu A, Topol EJ. Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials (Stosowanie witamin przeciwutleniających w zapobieganiu chorobom układu krążenia: metaanaliza badań z randomizacją). *Lancet.* 2003;361:2017–2023.
41. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms (Reaktywne formy tlenu w układzie naczyniowym: mechanizmy molekularne i komórkowe). *Hypertension.* 2003;42:1075–1081.
42. Erickson JR, He BJ, Grumbach IM, Anderson ME. CaMKII in the cardiovascular system: sensing redox states (CaMKII w układzie sercowo-naczyniowym: wykrywanie stanów redoks). *Physiol Rev.* 2011;91:889–915.
43. López JA, Zheng Y. Synthetic microvessels (Mikronaczynia syntetyczne). *J Thromb Haemost.* 2013;11(Suppl 1):67–74.
44. Neuwelt EA, Bauer B, Fahlke C, Fricker G, Iadecola C, Janigro D, Leybaert L, Molnar Z, O'Donnell ME, Povlishock JT, Saunders NR, Sharp F, Stanimirovic D, Watts RJ, Drewes LR. Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology (Zaangażowanie neuro nauki w postęp badań translacyjnych w biologii bariery mózgowej). *Nat Rev Neurosci.* 2011;12:169–182.
45. Ubogu EE. The molecular and biophysical characterization of the human blood-nerve barrier: current concepts (Molekularna i biofizyczna charakterystyka bariery krew-nerv u człowieka: aktualne koncepcje). *J Vasc Res.* 2013;50:289–303.
46. Osada T, Gu YH, Kanazawa M, Tsubota Y, Hawkins BT, Spatz M, Milner R, del Zoppo GJ. Interendothelial claudin-5 expression depends on cerebral endothelial cell-matrix adhesion by  $\beta(1)$ -integrins. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011;31:1972–1985.
47. Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood-brain barrier: ageing and microvascular disease systematic review and meta-analysis (Bariera krew-mózg: starzenie się i choroby mikronaczyniowe, przegląd systematyczny i metaanaliza). *Neurobiol Aging.* 2009;30:337–352.
48. Ubogu EE. Inflammatory neuropathies: pathology, molecular markers and targets for specific therapeutic intervention (Neuropatie zapalne: patologia, markery molekularne i cele specyficznej interwencji terapeutycznej). *Acta Neuropathol.* 2015;130:445–468.
49. Iliff JJ, Lee H, Yu M, Feng T, Logan J, Nedergaard M, Benveniste H. Brain-wide pathway for waste clearance captured by contrast-enhanced MRI (Szlak mózgowy do usuwania odpadów uchwycony w czasie MRI ze wzmocnionym kontrastem). *J Clin Invest.* 2013;123:1299–1309.
50. Long AN, Dagogo-Jack S. Comorbidities of diabetes and hypertension: mechanisms and approach to target organ protection (Współistniejące choroby cukrzycy i nadciśnienia: mechanizmy i podejście do ochrony narządów docelowych). *J Clin Hypertens.* 2011;13:244–251.
51. Park JB, Schiffrin EL. Small artery remodeling is the most prevalent (earliest?) form of target organ damage in mild essential hypertension (Przebudowa małych tętnic jest najczęstszą (najwcześniejszą?) formą uszkodzenia narządu docelowego w łagodnym nadciśnieniu pierwotnym). *J Hypertens.* 2001;19:921–930.
52. Endemann DH, Pu Q, De Ciuceci C, Savoia C, Virdis A, Neves MF, Touyz RM, Schiffrin EL. Persistent remodeling of resistance arteries in type 2 diabetic patients on antihypertensive treatment (Trwała przebudowa tętnic oporowych u pacjentów z cukrzycą typu 2 leczonych przeciw nadciśnieniu). *Hypertension.* 2004;43:399–404.
53. Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: mechanisms and treatment (Przebudowa naczyń w nadciśnieniu: mechanizmy i leczenie). *Hypertension.* 2012;59:367–374.
54. Navar LG, Inscho EW, Majid SA, Imig JD, Harrison-Bernard LM, Mitchell KD. Paracrine regulation of the renal microcirculation (Parakryna regulacja mikrokrążenia nerkowego). *Physiol Rev.* 1996;76:425–536.
55. Kinlay S, Fang JC, Hikita H, Ho I, Delagrang DM, Frei B, Suh JH, Gerhard M, Creager MA, Selwyn AP, Ganz P. Plasma alpha-tocopherol and coronary endothelium-dependent vasodilator function (Rozszerzanie naczyń wieńcowych zależne od alfa-tokoferolu i śródbłonna wieńcowego). *Circulation.* 1999;100:219–221.
56. Rosenberg GA, Björke M, Wallin A. Multimodal markers of inflammation in the subcortical ischemic vascular disease type of vascular cognitive impairment (Multimodalne markery stanu zapalnego w podkorowej niedokrwiennej chorobie naczyniowej przy zaburzeniach naczyniowych i percepcji). *Stroke.* 2014;45:1531–1538.
57. Lucitti JL, Sealock R, Zhang H, Buckley B, Faber JE. Identification of the causal gene in the Dce1 locus, determinant of collateral extent-1, that is responsible for variation in collateral extent in the mouse. *Stroke.* 2016;47:3396–3405.
58. van der Hoeven NW, Hollander MR, Yildirim C, Jansen MF, Teunissen PF, Horrevoets AJ, van der Pouw Kraan TC, van Royen N. The emerging role of galectins in cardiovascular disease (Rosnąca rola galektyn w chorobach układu krążenia). *Vascul Pharmacol.* 2016;81:31–41.
59. Chesler EJ. Out of the bottleneck: the diversity outcross and collaborative cross mouse populations in behavioral genetics research (Wyjście poza wąskie gardło: krzyżowanie różnorodnie i wspólne populacji myszy w badaniach genetyki behawioralnej). *Mamm Genome.* 2014;25:3–11.
60. Jiwa NS, Garrard P, Hainsworth AH. Experimental models of vascular dementia and vascular cognitive impairment: a systematic review (Eksperymentalne modele demencji naczyniowej i naczyniowe zaburzenia funkcji poznawczych: przegląd systematyczny). *J Neurochem.* 2010;115:814–828.
61. Federico A, Di Donato I, Bianchi S, Di Palma C, Taglia I, Dotti MT. Hereditary cerebral small vessel diseases: a review (Choroby dziedziczne małych naczyń mózgowych: przegląd). *J Neurol Sci.* 2012;322:25–30.
62. Ergul A, Abdelsaid M, Fouda AY, Fagan SC. Cerebral neovascularization in diabetes: implications for stroke recovery and beyond (Neowaskularyzacja mózgu w cukrzycy: implikacje dla powrotu do zdrowia po udarze i nie tylko). *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34:553–563.
63. De Silva TM, Ketsawatsonkron P, Pelham C, Sigmund CD, Faraci FM. Genetic interference with peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in smooth muscle enhances myogenic tone in the cerebrovasculature via a Rho kinase-dependent mechanism. *Hypertension.* 2015;65:345–351.
64. Hood L, Tian Q. Systems approaches to biology and disease enable translational systems medicine (Podejścia systemowe do biologii i chorób otwierające drogę do translacyjnej medycyny systemowej). *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2012;10:181–185.
65. Wong AD, Searson PC. Live-cell imaging of invasion and intravasation in an artificial microvessel platform (Obrazowanie żywych komórek w inwazji i intrawazacji na platformie sztucznych mikronaczyń). *Cancer Res.* 2014;74:4937–4945.
66. Dror RO, Dirks RM, Grossman JP, Xu H, Shaw DE. Biomolecular simulation: a computational microscope for molecular biology (Symulacja biomolekularna: mikroskop obliczeniowy w biologii molekularnej). *Annu Rev Biophys.* 2012;41:429–452.
67. Humphrey JD, Taylor CA. Intracranial and abdominal aortic aneurysms: similarities, differences, and need for a new class of computational models (Tętniaki aorty śródczaszkowej i brzusznej: podobieństwa, różnice i potrzeba nowej klasy modeli obliczeniowych). *Annu Rev Biomed Eng.* 2008;10:221–246.
68. Niklason LE, Yeh AT, Calle EA, Bai Y, Valentin A, Humphrey JD. Enabling tools for engineering collagenous tissues integrating bioreactors, intravital imaging, and biomechanical modeling (Tworzenie narzędzi do inżynierii tkanek kolagenowych integrujących bioreaktory, obrazowanie przyżyciowe i modelowanie biomechaniczne). *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:3335–3339.
69. Grutzendler J, Murikinati S, Hiner B, Ji L, Lam CK, Yoo T, Gupta S, Hafner BP, Adelman RA, Yuan P, Rodriguez G. Angiophagy prevents early embolus washout but recanalizes microvessels through embolus extravasation (Angiofagia zapobiega wczesnemu wypłukaniu zatoru, ale rekanalizuje mikronaczynia poprzez wynaczynienie zatoru). *Sci Transl Med.* 2014;6:226–231.
70. Harb R, Whiteus C, Freitas C, Grutzendler J. In vivo imaging of cerebral microvascular plasticity from birth to death (Obrazowanie in vivo plastyczności naczyń włosowatych mózgu od narodzin do śmierci). *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013;33:146–156.
71. Guo S, Zhou Y, Xing C, Lok J, Som AT, Ning M, Ji X, Lo EH. The vasculome of the mouse brain (Naczyniowość mózgu myszy). *PLoS ONE.* 2012;7:e52665.

72. Montine TJ, Koroshetz WJ, Babcock D, Dickson DW, Galpern WR, Glymour MM, Greenberg SM, Hutton ML, Knopman DS, Kuzmichev AN, Manly JJ, Marder KS, Miller BL, Phelps CH, Seeley WW, Sieber BA, Silverberg NB, Sutherland M, Torborg CL, Waddy SP, Zlokovic BV, Corriveau RA; ADRD 2013 Conference Organizing Committee. Recommendations of the Alzheimer's disease-related dementias conference (Komitet Organizacyjny Konferencji ADRD 2013. Rekomendacje konferencji na temat demencji związanych z chorobą Alzheimera). *Neurology*. 2014;83:851–860.
73. Snyder HM, Corriveau RA, Craft S, Faber JE, Greenberg SM, Knopman D, Lamb BT, Montine TJ, Nedergaard M, Schaffer CB, Schneider JA, Wellington C, Wilcock DM, Zipfel GJ, Zlokovic B, Bain LJ, Bosetti F, Galis ZS, Koroshetz W, Carrillo MC. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia including Alzheimer's disease (Wkład naczyń w upośledzenie funkcji poznawczych i demencję, w tym chorobę Alzheimera). *Alzheimers Dement*. 2015;11:710–717.
74. Corriveau RA, Bosetti F, Emr M, Gladman JT, Koenig JJ, Moy CS, Pahigiannis K, Waddy SP, Koroshetz W. The science of vascular contributions to cognitive impairment and dementia (VCID): a framework for advancing research priorities in the cerebrovascular biology of cognitive decline (Nauka o wpływie naczyń na upośledzenie funkcji poznawczych i demencję (VCID): ramy dla priorytetów badawczych w biologii naczyń mózgowych upośledzenia funkcji poznawczych). *Cell Mol Neurobiol*. 2016;36:281–288.

---

**Słowa kluczowe:** śródbłonek • nadciśnienie • obrazowanie  
• niedokrwienie • mikrokrążenie • przebudowa /  
modelowanie