

## CADASIL – obraz zmian morfologicznych i ich patomechanizm

### CADASIL – morphological changes and their pathomechanism

<sup>1</sup> Katedra i Klinika Neurologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> Zakład Neuropatologii Doświadczalnej i Klinicznej, IMDiK PAN, Warszawa

Adres do korespondencji: Dorota Dziewulska, Katedra i Klinika Neurologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1 A, 02-097 Warszawa,

tel.: 22 599 28 58, faks: 22 599 18 57, e-mail: dorota.dziewulska@wum.edu.pl

Praca finansowana ze środków własnych

#### Streszczenie

CADASIL (*cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*) jest uogólnioną chorobą naczyń związaną z obecnością mutacji w umiejscowionym na chromosomie 19. genie *NOTCH 3*. Proces patologiczny w CADASIL-u uszkadza wybiórczo małe naczynia krwionośne: głównie tętniczki i małego kalibru tętnice, ale również naczynia włosowate oraz, chociaż w stosunkowo niewielkim stopniu, małe naczynia żyłne. Charakterystycznymi cechami morfologicznymi choroby są zwyrodnienie i ubytek komórek w ścianie naczyń krwionośnych – miocytów gładkich w naczyniach tętniczych i pericytów w naczyniach włosowatych – oraz gromadzenie się w ścianie naczyń zewnątrzkomórkowej domeny receptora Notch 3 i widocznych w mikroskopie elektronowym złożeń gęstego osmofilnego materiału (GOM). Zmiany patologiczne są najbardziej nasilone w naczyniach mózgu i prowadzą do rozległego uszkodzenia istoty białej oraz nawracających udarów niedokrwiennych o charakterze zatokowym i mikrokrwawień. Pomimo intensywnych badań stosunkowo niewiele wiadomo na temat patomechanizmu łączącego mutacje *NOTCH 3* ze zmianami morfologicznymi obecnymi w CADASIL-u. Prezentowany poniżej artykuł, będący podsumowaniem aktualnych danych z piśmiennictwa i własnych badań, stanowi próbę odpowiedzi na pytania dotyczące: 1) patomechanizmu obserwowanych w CADASIL-u zmian morfologicznych, a zwłaszcza patomechanizmu ubytku komórek mięśniówki gładkiej naczyń i roli zjawiska *anoikis* w tym procesie, 2) przyczyn tak selektywnego charakteru procesu patologicznego oraz 3) przyczyn występowania objawów tej genetycznie uwarunkowanej choroby dopiero w wieku dojrzałym.

**Słowa kluczowe:** CADASIL, choroba małych naczyń mózgu, GOM, leukoencefalopatia, Notch 3

#### Summary

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) is a systemic vessel disease related to mutations in the *NOTCH 3* gene located on chromosome 19. Pathological process in CADASIL selectively damages to small blood vessels: mainly arterioles and small arteries, but also capillary vessels and, in relatively lesser extend, venules. Characteristic morphological features are degeneration and loss of cells in vessel wall: vascular smooth muscle cells in arteries and pericytes in capillaries, as well as intramural accumulation of extracellular domain of Notch 3 receptor and granular osmiophilic material (GOM), the latter visible only at the level of electron microscopy. Histopathological changes are the most pronounced in cerebral vessels that lead to diffuse white matter damage, recurrent lacunar ischaemic strokes and microbleeds. In spite of intensive investigations the mechanism connecting *NOTCH 3* mutations with morphological changes in CADASIL is poorly understood. The paper, summarizing current data from the literature and our own investigations, is an attempt to answer for the questions concerning: 1) the pathomechanism of the observed in CADASIL histopathological changes, especially loss of vascular smooth muscle cells and contribution of *anoikis* phenomenon in that process, 2) the cause of so selective character of pathological process in CADASIL, and 3) the reason for that clinical symptoms of the genetically determined disease appear so late.

**Key words:** CADASIL, cerebral small vessel disease, GOM, leukoencephalopathy, Notch 3

## WSTĘP

**C**ADASIL (*cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*) jest odkrytą w 1993 roku<sup>(1,2)</sup> waskulopatią związaną z obecnością mutacji w genie *NOTCH 3*. Ponieważ w pierwszych opisanych przypadkach choroby badanie histopatologiczne wykazało obecność patologicznych zmian głównie w naczyniach tętniczych mózgu, chorobie nadano nazwę mózgowej autosomalnej dominującej arteriopatii z zawałami podkorowymi i zwyrodnieniem istoty białej. Liczne późniejsze badania wykazały jednak, że wbrew swojej nazwie CADASIL nie jest mózgową arteriopatią, lecz uogólnioną angiopatią, w której zmiany są jedynie najbardziej nasilone w naczyniach tętniczych mózgu. Proponowano nawet zmianę nazwy choroby na CADVASIL (*cerebral autosomal dominant vasculopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*) lub, zachowując dotychczasowy akronim, na *cerebral autosomal dominant angiopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*<sup>(3)</sup>, lecz nowa nazwa nie przyjęła się w piśmiennictwie.

Pomimo intensywnych badań stosunkowo niewiele wiadomo na temat patomechanizmu łączącego mutację *NOTCH 3* ze zmianami morfologicznymi obecnymi w CADASIL-u. Zmiany te są jednak bardzo charakterystyczne, a niektóre z nich występują tylko w przebiegu tej choroby. Te patognomoniczne dla CADASIL-u zmiany stanowią kryterium umożliwiające rozpoznanie schorzenia i mogą być wykrywane zarówno przyżyciowo w materiale pochodzącym z biopsji mózgu, skóry lub mięśni szkieletowych, jak i w materiale autopsyjnym.

## OBRAZ ZMIAN HISTOPATOLOGICZNYCH W CADASIL-u

W CADASIL-u zmiany patologiczne występują przede wszystkim w tętnicach średniego i małego kalibru (o średnicy 2-40  $\mu\text{m}$ ), ale również w naczyniach włosowatych oraz – w znacznie mniejszym stopniu – w małych naczyniach żylnych. Proces patologiczny uszkadza pierwotnie te komórki ściany naczyń, które wykazują ekspresję receptora Notch 3, tj. komórki mięśniówki gładkiej naczyń (KMGN) błony środkowej tętnic oraz pericyty naczyń włosowatych.

Charakterystyczną cechą morfologiczną choroby jest zwyrodnienie KMGN (rys. 1 A, B). KMGN stają się obkurczone, a w ich cytoplazmie obecne są liczne wakuole, struktury pęcherzykowe i skupiska patologicznych mitochondriów. Zmiany te powodują, że ich obraz w mikroskopie elektronowym określany jest jako „wyjedzony przez mole” (*moth-eaten*) (rys. 1 B).

Zwyrodnieniu KMGN towarzyszy obecność ziarnistych, zasadochłonnych w barwieniu hematoksyliną i eozyną złożeń w błonie mięśniowej tętnic (rys. 2 A, B). Ten rodzaj zwyrodnienia został po raz pierwszy opisany przez Gutiérreza-Molinę i wsp.<sup>(4)</sup> i nazwany SAGRADE – *small arterial granular degeneration*. Badania immunohistochemiczne wykazały, że widoczne w błonie mięśniowej ziarnistości zawierają m.in. fibronektynę, lamininę, aktynę, desminę i różne typy kolagenu, co wskazuje, że mogą być pozostałościami błony podstawnej lub zwyrodniałych KMGN.

Drugą charakterystyczną dla CADASIL-u zmianą morfologiczną jest ubytek KMGN (rys. 1 C; 2 A, B). Mechanizm odpowiedzialny za to zjawisko jest nieznany. Na podstawie licznych prac z dziedziny angiologii wiadomo, że w organizmie dorosłego człowieka KMGN mogą ulegać apoptozie. Proces ten obserwowano m.in. w tętniakach, miażdżycy, nadciśnieniu tętniczym i po uszkodzeniu ściany naczyń. Apoptozę komórek błony mięśniowej stwierdzono również podczas procesów naprawczych po mechanicznym uszkodzeniu naczynia<sup>(5)</sup>. Brak reakcji zapalnej, jaka towarzyszy zwykle martwicy, oraz wybiórczość procesu sugerują, że w CADASIL-u uszkodzone komórki błony mięśniowej mogą być eliminowane na drodze zaprogramowanej śmierci. Istnieje hipoteza, że obumieranie miocytów może zachodzić na drodze specyficznego rodzaju apoptozy zwanego *anoikis*<sup>(6)</sup>. *Anoikis* (gr. ‘bezdolność’) jest rodzajem apoptozy zachodzącej w komórce, która utraciła kontakt z macierzą zewnątrzkomórkową lub jest z nią związana w sposób nieprawidłowy<sup>(7)</sup>. Zjawisko *anoikis* może występować zarówno fizjologicznie, np. w keratynocytach ludzkiej skóry, jak i w patologii (np. komórki nowotworowe, które straciły wrażliwość na *anoikis*, mogą rozwijać się w innym środowisku, powodując powstawanie przerzutów). Hipoteza o możliwości obumierania KMGN w CADASIL-u na drodze *anoikis* została wysnuta na podstawie badań doświadczalnych na mysim modelu choroby, w których wykazano, że we wczesnym etapie schorzenia dochodzi do utraty kontaktu KMGN z sąsiednimi elementami strukturalnymi ściany naczyń, co poprzedza pojawianie się innych zmian histopatologicznych<sup>(6)</sup>. W mikroskopie świetlnym w naczyniach tętniczych pacjentów chorych na CADASIL widoczne są pojedyncze okrągłe KMGN z centralnie położonym również okrągłym jądrem (rys. 2 A). Prawidłowe KMGN mają wydłużony kształt, a stają się okrągłe, gdy przestają na nie wpływać siły zewnętrzne związane z oddziaływaniem sąsiednich komórek lub macierzy. Obserwowane zmiany morfologiczne wskazują zatem, że zwyrodnienie i śmierć KMGN mogłyby być wtórne do utraty sygnałów prożyciowych pochodzących z macierzy zewnątrzkomórkowej.

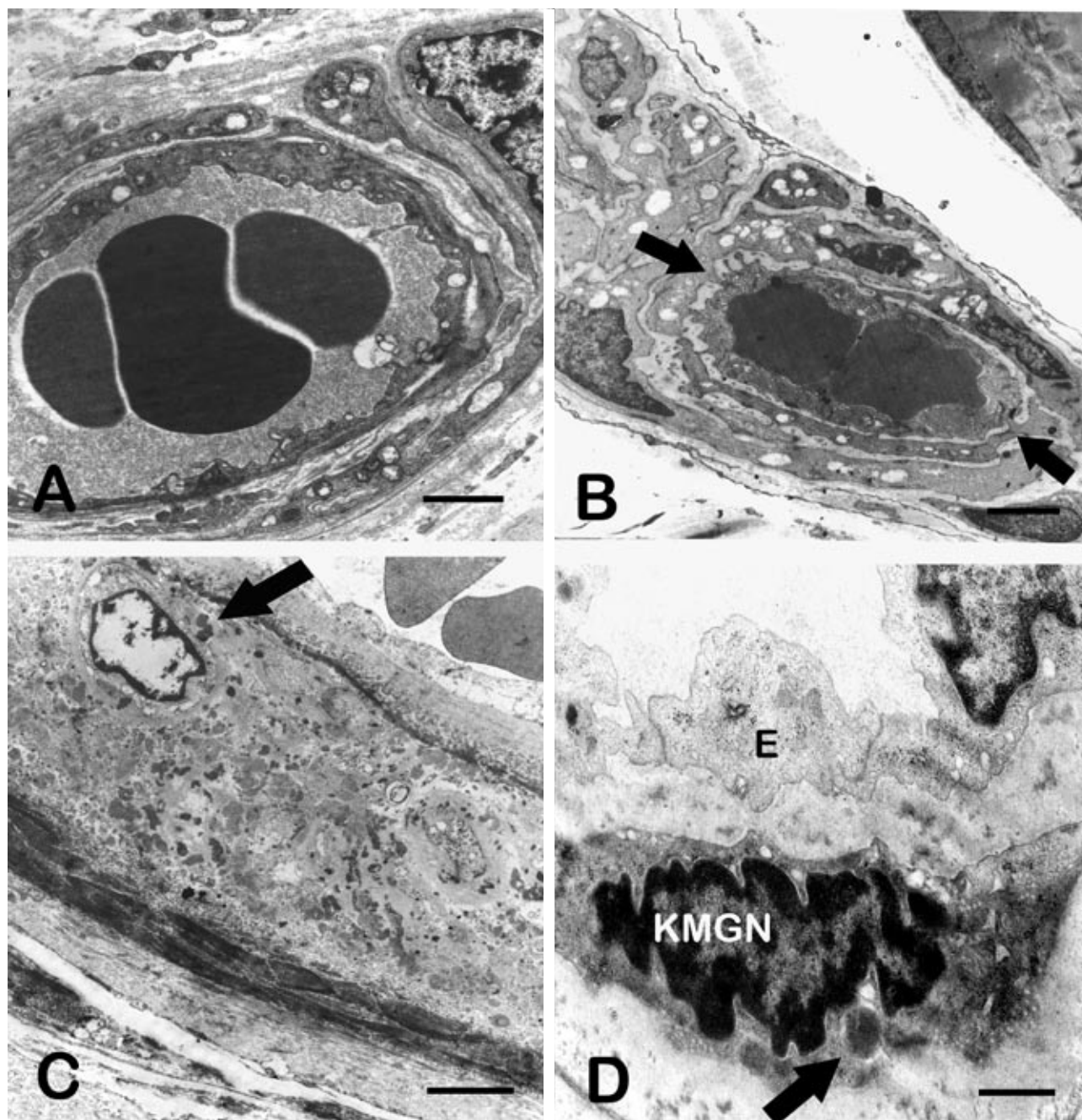
W uszkodzonych tętnicach w miejscu obumarłych komórek mięśniówki gładkiej rozwija się tkanka łączna, co doprowadza do zwłóknienia (rys. 2 D) i zgrubienia ściany naczynia, a w konsekwencji do zwężenia jego światła. W naczyniach tętniczych często widoczne jest również szkliwienie (rys. 2 C) i rozwarstwienie ściany (rys. 6 D), a niekiedy martwica kwasochłonna błony mięśniowej. Zmiany te są najbardziej nasilone w naczyniach tętniczych istoty białej i opon.

Konsekwencją opisanych powyżej zmian w ścianie naczyń jest ich stwardnienie i poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowej (stan sitowaty)<sup>(8)</sup> (rys. 2 C, F) oraz powstawanie drobnych ognisk niedokrwienia (rys. 2 E). Charakterystyczne dla CADASIL-u jest występowanie licznych małych ognisk zawałowych (udary zatokowe, lakunarne) widocznych w istocie białej mózgu, zwłaszcza w płacie czołowym i skroniowym; duże udary płątowe nie są cechą znamioną choroby. Niekiedy spotyka się ogniska mikrokrwawień, zwykle o lokalizacji okołonaczyniowej (rys. 2 G), lub cechy przebytych mikrokrwawień w postaci okołonaczyniowych skupisk makrofagów obladowanych hemosyderyną lub

hematoidyną (rys. 2 H). Występowanie tych zmian wiąże się ze zwiększoną przepuszczalnością zmienionych patologicznie naczyń.

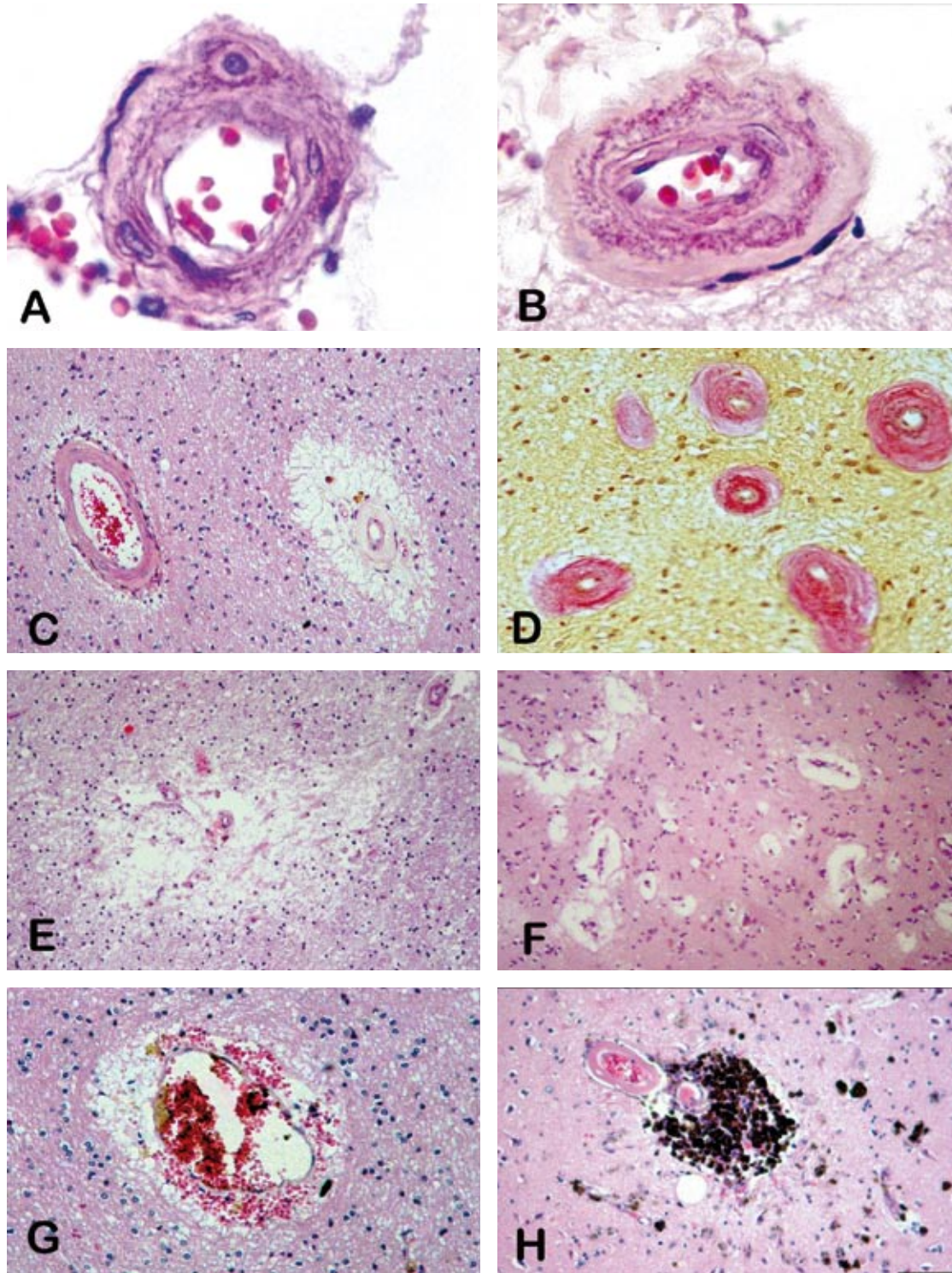
Zmiany zwyrodnieniowe podobne do obserwowanych w KMGN występują również w pericytach<sup>9)</sup>. W naczyniach włosowatych stwierdza się obkurczenie i ubytek pericytów, a w cytoplazmie

pojedynczych zachowanych komórek widoczne są liczne struktury wakuolarnie i patologiczne mitochondria. W warunkach fizjologicznych poprzez nieciągłą błonę podstawną pericyty bezpośrednio kontaktują się z komórkami śródbłonka za pomocą połączeń komunikacyjnych (szczelinowych) (*gap junction*), połączeń zwierających (*adherens junction*) oraz specyficznych



Rys. 1. Zmiany patologiczne w błonie mięśniowej tętnic widoczne w mikroskopie elektronowym. **A** – liczne wodniczki i patologiczne mitochondria (strzałka) w KMGN; bar – 1  $\mu$ m. **B** – obraz określany jako „wyjędzony przez mole”, charakteryzujący się obecnością licznych wodniczek i pęcherzyków w cytoplazmie KMGN. Strzałkami zaznaczone są złącza mioendotelialne wyraźnie widoczne na skutek obkurczenia się miocytów; bar – 1  $\mu$ m. **C** – w ścianie małej tętnicy mózgu widoczne dwa zachowane mioocyty gładkie „zatopione” w obfitej macierzy zewnątrzkomórkowej zawierającej liczne osmofilne ziarnistości. Przy błonie komórkowej KMGN po stronie lewej widoczny jest złóg GOM (strzałka); bar – 2  $\mu$ m. **D** – w tętniczce mięśnia szkieletowego przy błonie komórkowej KMGN widoczny jest złóg GOM (strzałka). Zwraca uwagę nieprawidłowy kształt jądra miocyta i pogrubienie błony podstawnej. **E** – komórka śródbłonka; bar – 500 nm

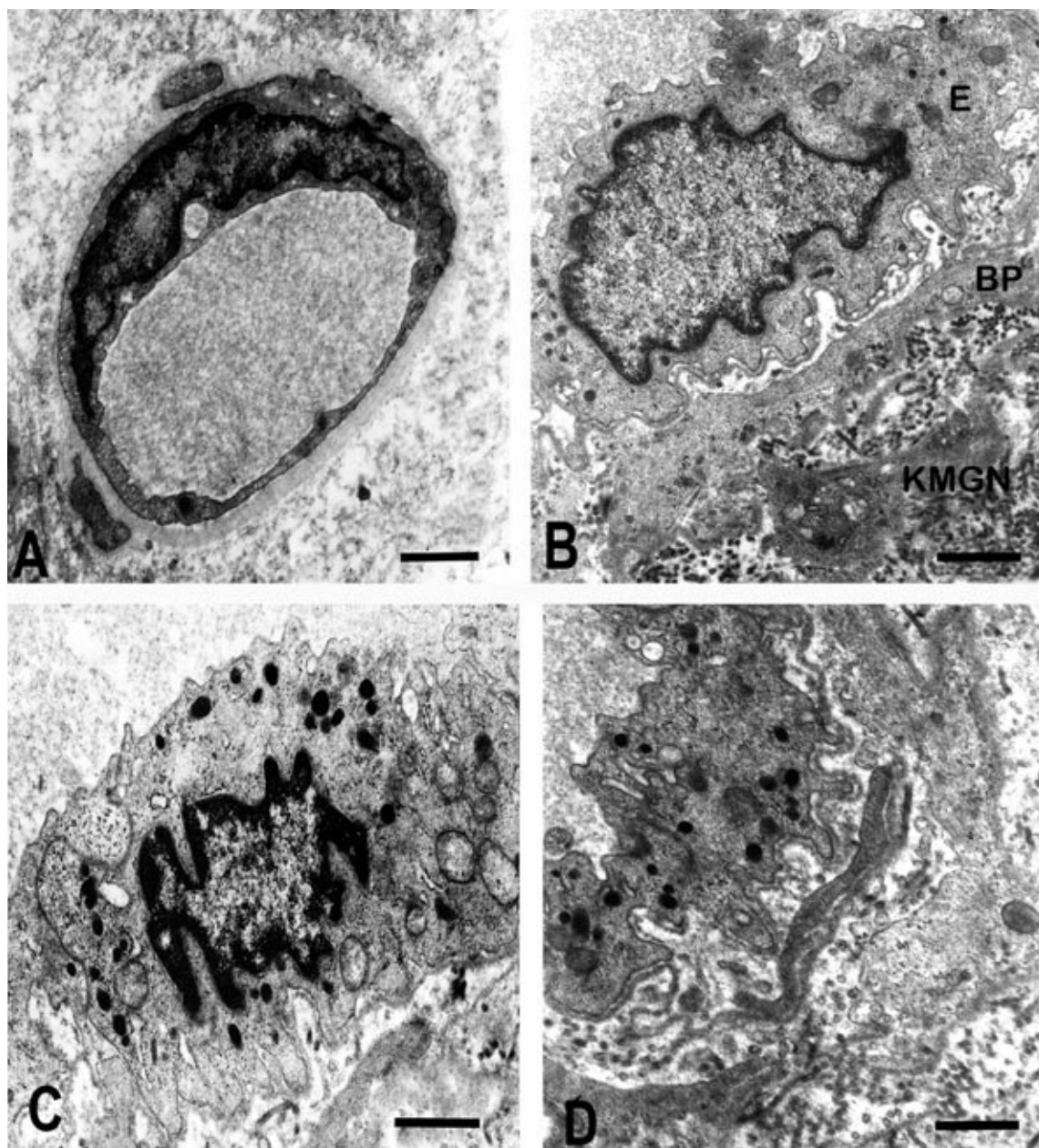




Rys. 2. Zmiany morfologiczne w CADASIL-u widoczne w mikroskopie świetlnym. **A** – ubytek KMGN w błonie środkowej małej tętniczki oponowej. Zachowany miocyt w górnej części naczynia wykazuje nieprawidłowy okrągły kształt i gromadzenie się przy błonie komórkowej zasadochłonnych ziarnistości. Ziarnistości te widoczne są również w innych częściach błony środkowej; HE. **B** – nasilony ubytek KMGN w tętniczce oponowej. W błonie mięśniowej zamiast miocytów widoczne liczne zasadochłonne ziarnistości; HE. **C** – w tętniczce po stronie lewej widoczne zwyrodnienie szkliste ściany. Naczynie po stronie prawej wykazuje pogrubienie ściany i okolonacyniowe rozrzedzenie parenchymy, w której widoczne są wypełnione hematoidyną żółto-brązowe makrofagi; HE. **D** – zwłóknienie ściany naczyń istoty białej, barwienie wg metody van Giesona. **E** – małe ognisko martwicy niedokrwiennej (udar zatokowy) w istocie białej mózgu z widocznymi w środku tętniczkami; HE. **F** – poszerzenie przestrzeni wokół naczyń istoty białej (stan sitowaty); HE. **G** – okolonacyniowe krwinkotoki; HE. **H** – „stare” ognisko mikrokrwawienia – wokół naczynia i w sąsiadującej istocie białej widoczne liczne makrofagi zawierające hematoidynę; HE

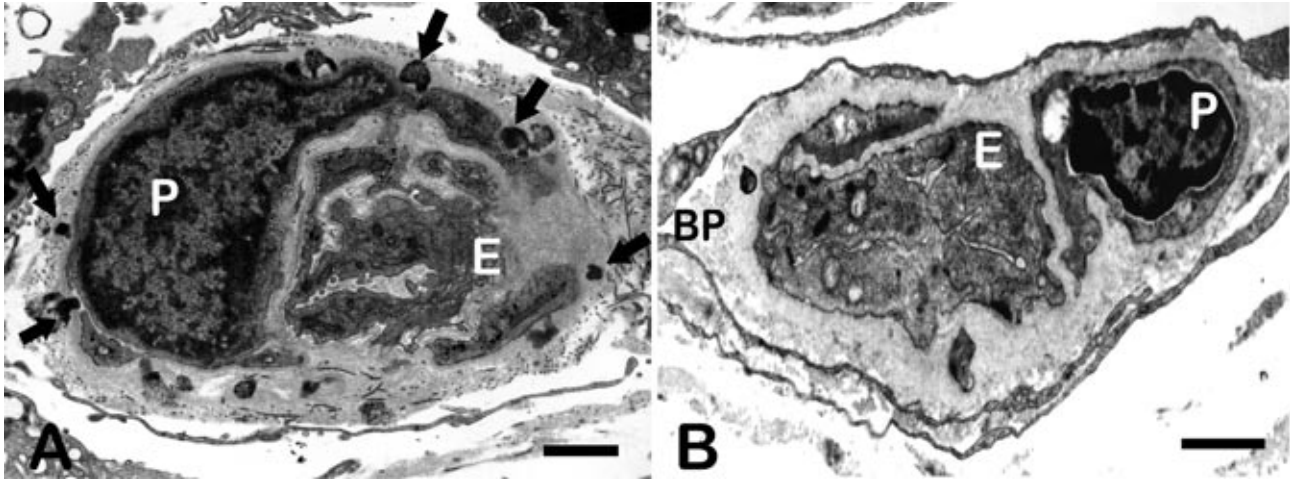
złączy typu obejmującego, w których wypustka jednej komórki wpuklona jest we wgłębienie w drugiej komórce (złącze wtyczkowe) (*peg-and-socket junction*). W CADASIL-u zmiany zwyrodnieniowe stwierdzono również w obrębie tych połączeń. W przebiegu choroby zmianom zwyrodnieniowym ulegają nie tylko KMGN i pericyty, lecz także komórki śródbłonka.

Komórki te mają często zniekształcone jądra, a ich cytoplazma zawiera liczne osmofilne złoże (rys. 3 B, C). Ze względu na zwyrodnienie komórek śródbłonka, ich obrzęk oraz obecność licznych wypustek na powierzchni luminalnej komórek światło mikronaczyń jest często znacznie zwężone (rys. 4 A, B). Zmiany patologiczne w komórkach *endothelium* stwierdza się na ogół



Rys. 3. Etapy wyrodnienia komórek śródbłonka w CADASIL-u. **A** – prawidłowe naczynie włosowate – widoczne gładkie zarysy ściany naczynia i pojedyncza komórka śródbłonka z wydłużonym owalnym jądrem; bar – 1  $\mu\text{m}$ . **B** – wstępne stadium zwyrodnienia komórki śródbłonka – komórka i jądro są obkurczone, a w cytoplazmie widoczne są drobne osmofilne zagęszczenia. Zwraca uwagę poszerzenie przestrzeni między komórką a błoną podstawną; E – komórka śródbłonka, BP – błona podstawna, KMGN – komórka mięśniówki gładkiej naczyni, bar – 500 nm. **C** – dalsze stadium zmian zwyrodnieniowych w komórce śródbłonka – widoczne nasilone obkurczenie i pofałdowanie komórki i jej jądra, zwiększenie ilości i wielkości cytoplazmatycznych osmofilnych ziarnistości i brak przylegania komórki do błony podstawnej; bar – 500 nm. **D** – późne stadium zmian zwyrodnieniowych w komórce śródbłonka – widoczne liczne duże osmofilne zagęszczenia w cytoplazmie i bardzo nasilone obkurczanie komórki z wytworzeniem się pseudowypustek na jej abluminalnej powierzchni. Zwraca uwagę całkowity brak kontaktu między śródbłonkiem a błoną podstawną oraz brak ciągłości błony podstawnej; bar – 500 nm



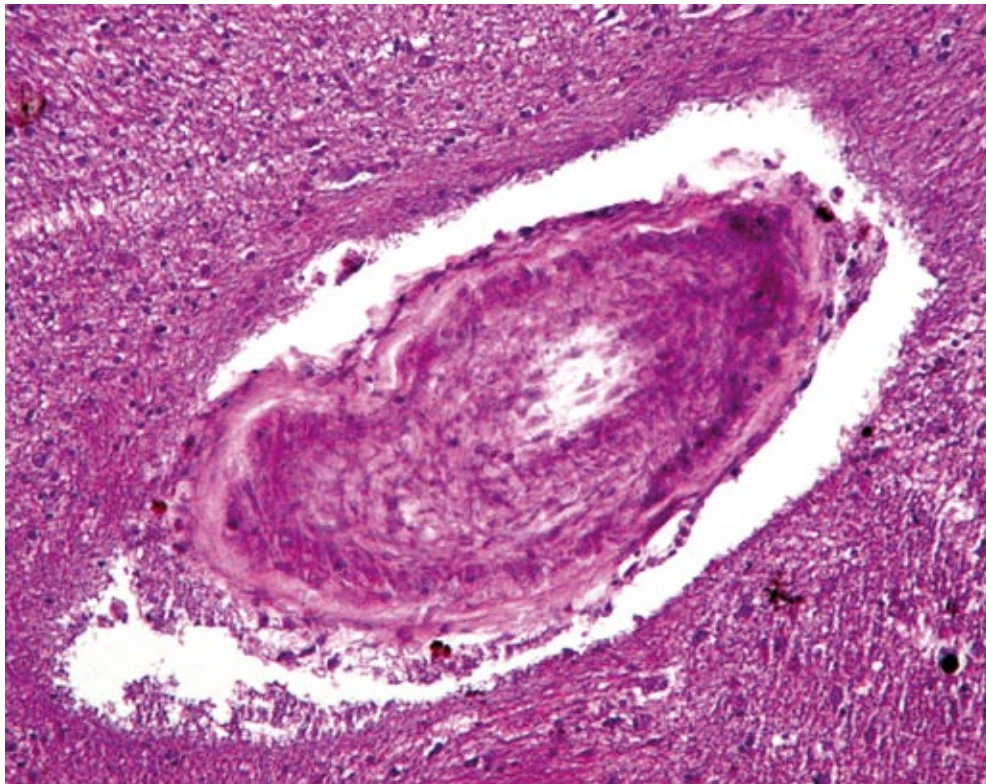


Rys. 4. Zmiany zwyrodnieniowe w naczyniach włosowatych w CADASIL-u. **A** – naczynie włosowate o pogrubiałej błonie podstawnej z licznymi złożami GOM (strzałki) oraz nieregularnego kształtu, wąskim i jakby „zapadniętym” światłem. Komórki śródbłonka wykazują liczne wypustki wpuklające się do światła naczynia; P – pericyt, E – komórka śródbłonka; bar – 1  $\mu$ m. **B** – naczynie włosowate o pogrubiałej błonie podstawnej (BP) i świetle zamkniętym przez obrzęknięte komórki śródbłonka; P – pericyt, E – komórka śródbłonka; bar – 1  $\mu$ m

w naczyniach, w których obecne są zaawansowane zmiany zwyrodnieniowe KMGN lub pericytów, co sugeruje, że są one wtórne do uszkodzenia tych komórek.

Uszkodzenie komórek śródbłonka może prowadzić do powstawania w mikronaczyniach zakrzepów (rys. 5) i być jedną z przyczyn udarów zatokowych. Potwierdzają to wyniki badań biochemicznych, w których u pacjentów chorych na CADASIL

ze „świeżymi” udarami niedokrwinnymi stwierdzono obecność w osoczu krwi produktów rozkładu fibryny<sup>(10)</sup>, co może być przejawem wzmoczonej aktywności prozakrzepowej. Wzrost tej aktywności może być też związany z pojawianiem się na powierzchni uszkodzonych i ulegających apoptozie komórek śródbłonka fosfatydyloseryny, która powoduje aktywację trombiny i uruchamia kaskadę reakcji krzepnięcia<sup>(11)</sup>. Uszkodzone



232 Rys. 5. Zakrzep w świetle mikronaczynia istoty białej mózgu; HE



i ulegające apoptozie komórki śródbłonka mogą też wydelać do krążenia obecne na swojej błonie komórkowej mikrocząsteczki o właściwościach prozakrzepowych<sup>(12)</sup>, co również sprzyja powstawaniu zakrzepów.

W mikronaczyniach regulacja przepuszczalności ściany naczyń zachodzi między innymi na skutek skurczu pericytów i rozciągnięcia połączeń ścisłych między komórkami śródbłonka<sup>(13-15)</sup>. Uszkodzenie pericytów, komórek śródbłonka oraz złączy międzykomórkowych może prowadzić do zaburzenia funkcjonowania bariery krew-mózg. Przejawem takiej dysfunkcji prowadzącej do wzmożonej przepuszczalności mikronaczyń w CADASIL-u są ogniska mikrokrwawień, okołonaczyniowe nacieki zapalne oraz widoczny w mikroskopie świetlnym i fluorescencyjnym „wyciek” osocza z naczyń i ogniskowe rozrzedzenie przyległej parenchymy (rys. 6).

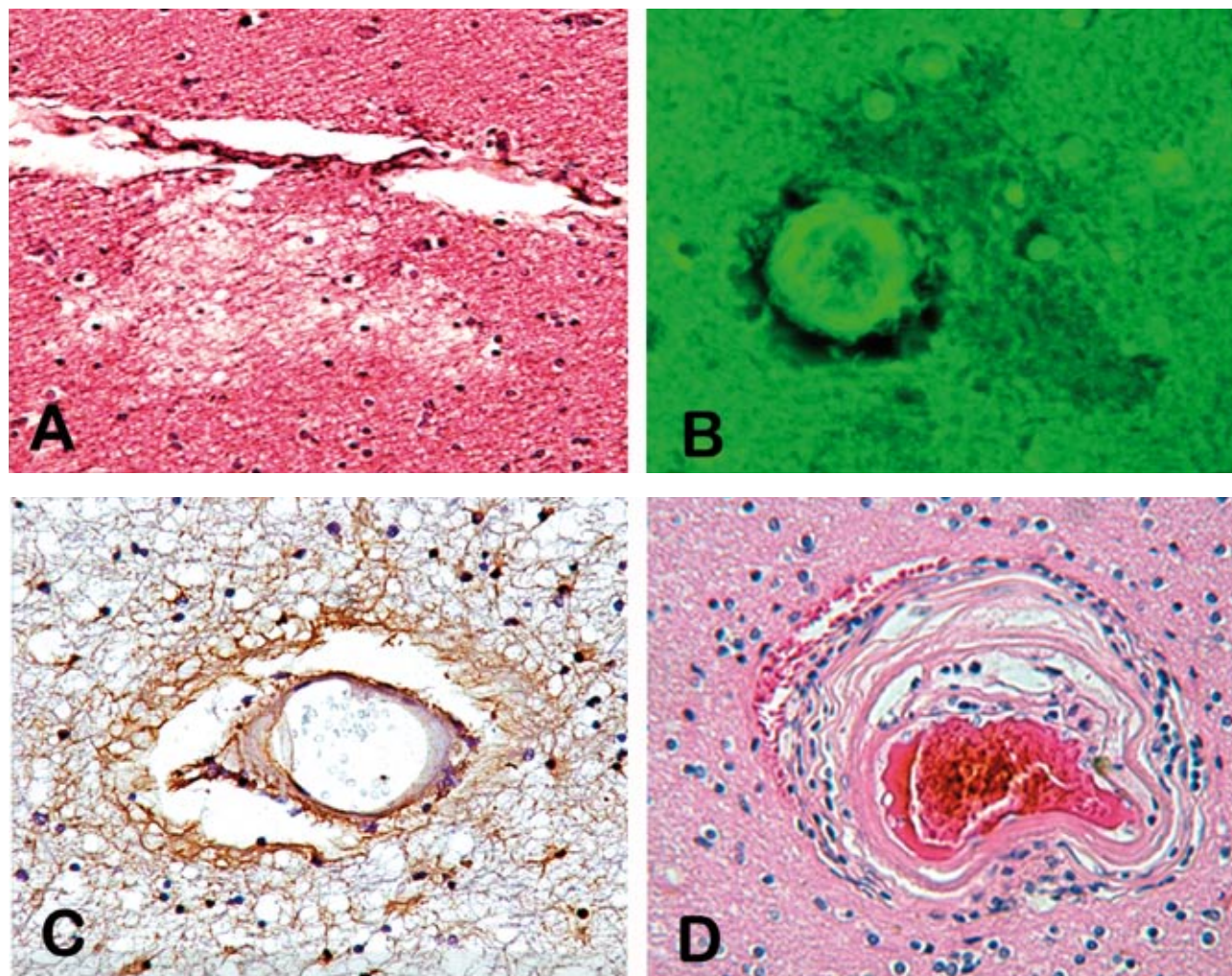
Kolejną cechą charakterystyczną CADASIL-u jest widoczne w mikroskopie świetlnym gromadzenie się w ścianie naczyń tętnicznych i włosowatych złogów zewnątrzkomórkowej domeny receptora Notch 3 (N3-ECD)<sup>(16)</sup>, a w mikroskopie elektronowym

złogów gęstego elektronowo, osmofilnego materiału (*granular osmiophilic material, GOM*) (rys. 1 C, D; 4 A; 7 A, B).

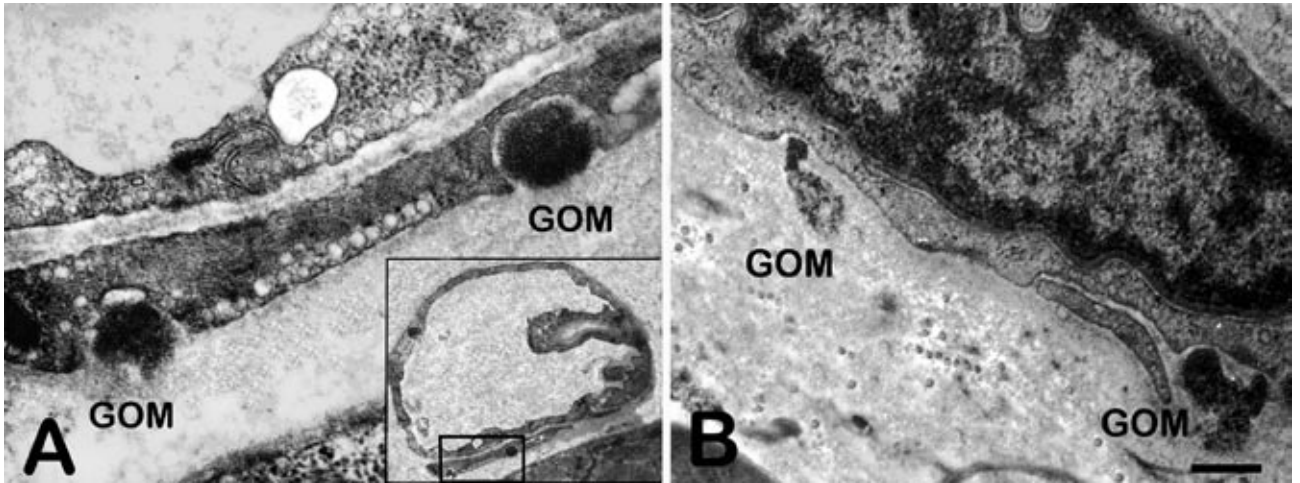
Złogi GOM widoczne są w błonie podstawnej oraz przy błonie komórkowej zachowanych KMGN i pericytów lub w jej wpuhleniach. Nie znamy pochodzenia i dokładnego składu złogów GOM; wiadomo, że zawierają one między innymi N3-ECD<sup>(17)</sup>. Typowe złogi GOM są okrągłe lub owalne i mają jednolitą gęstość (rys. 7 A). Jednak często wykazują one nieregularny kształt i różną gęstość tworzących je złogów, tj. są bardziej gęste przy błonie komórkowej i jakby rozrzedzone w obszarach bardziej od niej oddalonych (rys. 7 B), co sprawia wrażenie, jakby złogi GOM ulegały rozpadowi<sup>(18)</sup>. Istnieją dane, że widoczne w mikroskopie świetlnym zasadochłonne złogi w błonie mięśniowej tętnic mogą odpowiadać złogom GOM<sup>(19)</sup>.

Złogi GOM wykryto tylko w CADASIL-u i są one uważane za zmianę morfologiczną patognomiczną dla choroby.

Opisane powyżej zmiany morfologiczne w CADASIL-u są poprzedzone występowaniem zaburzeń funkcjonalnych: wzrostem napięcia miogennego i zaburzeniami autoregulacji



Rys. 6. Wzrost przepuszczalności naczyń w CADASIL-u. A i B – miejscowe rozrzedzenie parenchymy przy mikronaczyniach istoty białej; A – HE, B – skrawek niebarwiony w mikroskopie fluorescencyjnym. C – immunoekspresja fibronektyny wokół małej tętniczki istoty białej; anty-fibronektyna. D – naczynie istoty białej o rozwarstwionej ścianie z widocznymi wokół licznymi limfocytami i erytrocytami; HE



Rys. 7. Różnorodna morfologia złogów GOM. A – powiększony fragment naczynia włosowatego widocznego na wstawce z typowymi okrągłymi złogami GOM umiejscowionymi we wpukleniach błony komórkowej pericyta. B – złogi GOM przy błonie komórkowej miocyta (KMGN) wykazują nietypowy kształt i różnorodną gęstość osmofilnego ziarnistego materiału; bar – 1 μm

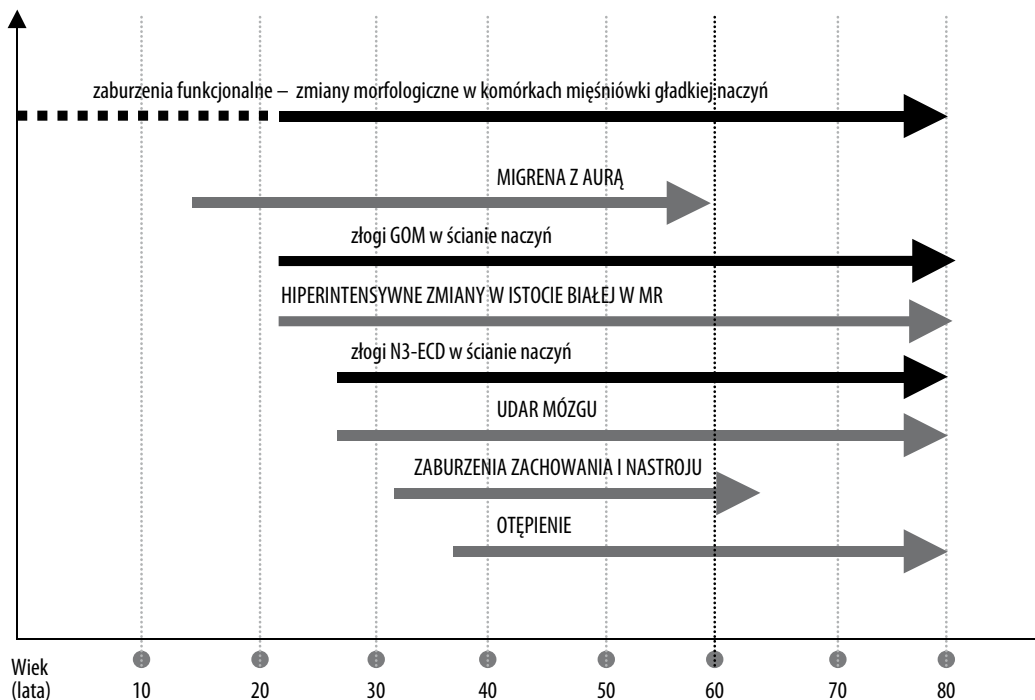
w mikronaczyniach. Związek czasowy między występowaniem zaburzeń funkcjonalnych, zmian histopatologicznych a objawami klinicznymi choroby przedstawia rys. 8.

### CADASIL – NOWA CHOROBA, NOWE PROBLEMY

Obecność charakterystycznych dla CADASIL-u zmian morfologicznych nasuwa wiele pytań dotyczących ich patomechanizmu i związku z występowaniem charakterystycznych dla choroby objawów klinicznych:

1. Dlaczego proces patologiczny w CADASIL-u ograniczony jest tylko do naczyń tętniczych małego kalibru, mimo że KMGN obecne są również w dużych tętnicach?
2. Dlaczego w CADASIL-u dominują objawy uszkodzenia OUN i istoty białej, mimo że choroba jest uogólnioną arteriopatią?
3. Dlaczego objawy kliniczne genetycznie uwarunkowanej choroby występują dopiero w wieku dojrzałym?

W oparciu o obecny stan wiedzy dotyczący CADASILu, roli systemu sygnałowego Notch 3 oraz biologii KMGN i pericytów można spróbować odpowiedzieć na te pytania następująco:



234 Rys. 8. Zależność czasowa między występowaniem zmian morfologicznych a objawami klinicznymi CADASIL-u



Ad 1. Proces patologiczny w CADASIL-u uszkadza wybiórczo tylko średnie i małe naczynia tętnicze, ponieważ różnią się one pod względem anatomicznym i funkcjonalnym od dużych tętnic. Badania wykazały, że ekspresja Notch 3 jest znacznie mniejsza w tętnicach elastycznych niż w małych tętnicach typu mięśniowego<sup>(20)</sup>. Ponadto w dużych tętnicach typu elastycznego i małych tętnicach oporowych stwierdzono dominację odmiennego fenotypu KMGN, co powoduje różne właściwości tych naczyń<sup>(21)</sup>. W dużych tętnicach przeważają miocyty o fenotypie proliferacyjnym, w małych zaś KMGN o fenotypie kurczliwym. Miocyty o fenotypie kurczliwym uważa się za komórki bardziej dojrzałe. W ich cytoplazmie obecne są liczne włókna zbudowane z aktyny i miozyny i komórki te – w przeciwieństwie do miocytów o fenotypie proliferacyjnym – charakteryzują się brakiem zdolności do migracji oraz bardzo ograniczoną zdolnością do proliferacji i syntezy składników macierzy pozakomórkowej. Różne fenotypowo miocyty wykazują też odmienną wrażliwość na czynniki proapoptotyczne i na sygnały przekazywane przez system Notch 3<sup>(22)</sup>.

Ponadto tylko w tętnicach średniego i małego kalibru błona podstawna jest nieciągła, co umożliwia bezpośredni kontakt między komórkami śródbłonna a KMGN za pośrednictwem złączy mioendotelialnych. Ze względu na istnienie tego typu połączeń międzykomórkowych zwyrodnienie KMGN może wpływać ujemnie na komórki śródbłonna i uszkadzać tylko tego rodzaju naczynia, w których błona podstawna jest nieciągła.

Ad 2. Przyczyna nasilonego uszkodzenia istoty białej mózgu i dominacji w obrazie klinicznym objawów uszkodzenia OUN może być związana z anatomiczną i fizjologiczną odmiennością naczyń mózgu. Naczynia te różnią się od naczyń innych narządów odmiennym pochodzeniem ontogenetycznym miocytów i specyficznymi właściwościami barierowymi (bariera krew-mózg). Naczynia włosowate mózgu charakteryzują się też największą liczbą pericytów w porównaniu z naczyniami innych narządów<sup>(14,23)</sup>. W kapilarach mózgu pericyty są zwykle umiejscowione nad złączami między komórkami śródbłonna i jak parasol chronią je przed uszkodzeniem. Być może tak duża liczba pericytów jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania bariery krew-mózg i dlatego też ubytek tych komórek w przebiegu CADASIL-u manifestuje się przede wszystkim objawami uszkodzenia mózgu.

Mózg jest też narządem wysoko wyspecjalizowanym, więc nawet niewielkie jego uszkodzenie znajduje odzwierciedlenie w pojawieniu się bardzo specyficznych objawów klinicznych. W innych narządach lokalizacja uszkodzenia nie ma takiego znaczenia i aby doszło do rozwoju objawów klinicznych – głównie o charakterze biochemicznym – uszkodzenie musi obejmować znaczną część narządu. Zaburzenia takie z pewnością istnieją, ale są niezrozpoznawane albo stosunkowo niewielkie, czego przejawem są stosunkowo nieliczne doniesienia o pozamózgowych objawach choroby<sup>(24-27)</sup>.

Ponadto Notch 3 jest głównym regulatorem napięcia mięśniowego w oporowych tętnicach mózgu, ale nie w tętnicach innych narządów<sup>(20)</sup>. Potwierdzają to wyniki badań doświadczalnych, w których u myszy pozbawionych genu *NOTCH 3* stwierdzono odmienną aktywność skurczową miocytów w aorcie

i w naczyniach mózgu<sup>(28)</sup>. Wywołane przez zmiany przepływu krwi rozszerzenie naczyń jest też fizjologicznie większe w naczyniach mózgu niż w innych narządach<sup>(29)</sup>, co wiąże się z większym ryzykiem wystąpienia „zespołu podkradania” krwi z jednego obszaru do drugiego. Przejawem takiego właśnie zespołu podkradania może być wykryty w badaniach MR, PET i SPECT u młodych pacjentów chorych na CADASIL wzrost przepływu w korze mózgu i jego zmniejszenie w istocie białej<sup>(30-32)</sup>. Zmniejszony przepływ w istocie białej może być też przyczyną bardziej nasilonego jej uszkodzenia w przebiegu CADASIL-u, chociaż jest kwestią sporną, czy zaburzenia te są pierwotne czy wtórne. Ponieważ istota biała jest unaczyniona przez długie tętnice przesywające i pozbawiona krążenia obocznego, nie tylko jest ona bardziej wrażliwa na przewlekłe niedotlenienie i niedokrwienie, lecz także niedrożność unaczyniających ją tętnic końcowych prowadzi do powstania zawału, podczas gdy w innych strukturach mózgu czy narządach krążenie oboczne wystarcza, aby zapobiec powstaniu martwicy. Wszystkie te wymienione powyżej cechy unaczynienia istoty białej mózgu mogą sprzyjać bardziej nasilonemu jej uszkodzeniu w przebiegu CADASIL-u.

Ad 3. Pojawianie się objawów klinicznych CADASIL-u dopiero w wieku dojrzałym może wiązać się ze starzeniem się organizmu i rozwojem dodatkowych zmian patologicznych w naczyniach nakładających się na zmiany wywołane obecnością choroby. Wiadomo, że wraz z wiekiem grubieje błona podstawna mikronaczyń<sup>(33)</sup>, a tętniczki przesywające istoty białej stają się kręte i sztywne<sup>(34)</sup>, co zmniejsza ukrwienie tkanek i tak już upośledzone na skutek obecnych w CADASIL-u zaburzeń reaktywności mięśniówki tętnic. Ponadto wraz z wiekiem w naczyniach istoty białej – ale nie w naczyniach kory mózgu – dochodzi do zmniejszenia się liczby pericytów<sup>(35)</sup>. Ubytek pericytów spowodowany procesem inwolucji nakłada się na ich zwyrodnienie i ubytek związany z CADASIL-em, co nasila uszkodzenie ściany naczyń. Wraz z wiekiem obserwowano także zwiększoną skłonność miocytów tętnic do zmiany fenotypu z kurczliwego na syntetyczny<sup>(36)</sup>, co prowadzi do przebudowy ściany tętnic oporowych i jej włóknienia i szkliwienia. Przebudowa ta – podobnie jak np. w nadciśnieniu tętniczym – jest jednak procesem długotrwałym i dlatego do pełnych przejawów klinicznych choroby dochodzi dopiero po latach jej trwania. Wydaje się zatem, że na pojawianie się objawów klinicznych CADASIL-u mają wpływ dodatkowe zmiany związane ze starzeniem się układu naczyniowego oraz bliżej jeszcze nieznanymi czynnikami środowiskowe<sup>(37)</sup>.

#### PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Tournier-Lasserre E., Joutel A., Melki J. i wsp.: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy maps to chromosome 19q12. *Nature Genetics* 1993; 3: 256-259.
2. Baudrimont M., Dubas F., Joutel A. i wsp.: Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic stroke. A clinicopathological study. *Stroke* 1993; 24: 122-125.

3. Rafalowska J., Fidziańska A., Dziewulska D. i wsp.: CADASIL or CADVaSIL? *Neuropathology* 2004; 24: 16-20.
4. Gutiérrez-Molina M., Caminero Rodríguez A., Martínez García C. i wsp.: Small arterial granular degeneration in familial Binswanger's syndrome. *Acta Neuropathol.* 1994; 87: 98-105.
5. Isner J., Kearney M., Bortman S., Passeri J.: Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation* 1995; 91: 2703-2711.
6. Ruchoux M.M., Domenga V., Brulin P. i wsp.: Transgenic mice expressing mutant Notch3 develop vascular alterations characteristic of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Am. J. Pathol.* 2003; 162: 329-342.
7. Michel J.B.: Anoikis in the cardiovascular system. Known and unknown extracellular mediators. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 2146-2154.
8. Cumurciuc R., Guichard J.P., Reizine D. i wsp.: Dilatation of Vircho-Robin spaces in CADASIL. *Eur. J. Neurol.* 2006; 13: 187-190.
9. Lewandowska E., Leszczyńska A., Wierzba-Bobrowicz T. i wsp.: Ultrastructural picture of blood vessels in muscle and skin biopsy in CADASIL. *Folia Neuropathol.* 2006; 44: 265-273.
10. Kalimo H.: CADASIL – a hereditary subcortical microangiopathy. 8<sup>th</sup> Congress of European Neuropathology, Amsterdam 2005.
11. Bombeli T., Karsan A., Tait J.F., Harlan J.M.: Apoptotic vascular endothelial cells become procoagulant. *Blood* 1997; 89: 2429-2442.
12. Mallat Z., Hugel B., Ohan J. i wsp.: Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: a role for apoptosis in plaque thrombogenicity. *Circulation* 1999; 99: 348-353.
13. Shepro D., Morel N.M.: Pericyte physiology. *FASEB J.* 1993; 7: 1031-1038.
14. Armulik A., Abramsson A., Betsholtz C.: Endothelial/pericyte interactions. *Circ. Res.* 2005; 97: 512-523.
15. von Tell D., Armulik A., Bethsholtz C.: Pericytes and vascular stability. *Exp. Cell Res.* 2006; 312: 623-629.
16. Joutel A., Andreux F., Gaulis S. i wsp.: The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients. *J. Clin. Invest.* 2000; 105: 597-606.
17. Ishiko A., Shimizu A., Nagata E. i wsp.: Notch3 ectodomain is a major component of granular osmiophilic material (GOM) in CADASIL. *Acta Neuropathol.* 2006; 112: 333-339.
18. Lewandowska E., Dziewulska D., Parys M., Pasennik E.: Ultrastructure of granular osmiophilic material deposits (GOM) in arterioles of CADASIL patients. *Folia Neuropathol.* 2011; 49: 174-180.
19. Ueda A., Hirano T., Takahashi K. i wsp.: Detection of granular osmiophilic material of CADASIL by light microscopy in frozen sections. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2009; 35: 618-622.
20. Belin de Chantemèle E., Retailleau K., Pinaud F. i wsp.: Notch3 is a major regulator of vascular tone in cerebral and tail resistance arteries. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008; 28: 2216-2224.
21. Shanahan C.M., Weissberg P.L.L.: Smooth muscle cell heterogeneity: patterns of gene expression in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18: 333-338.
22. Campos A.H., Wang W., Pollman M.J., Gibbons G.H.: Determinants of Notch-3 receptor expression and signaling in vascular smooth muscle cells: implications in cell-cycle regulation. *Circ. Res.* 2002; 91: 999-1006.
23. Sims D.E.: The pericyte – a review. *Tissue Cell* 1986; 18: 153-174.
24. Rufa A., Malandrini A., Dotti M.T. i wsp.: Typical pathological changes of CADASIL in the optic nerve. *Neurol. Sci.* 2005; 26: 271-274.
25. Parisi V., Pierelli F., Coppola G. i wsp.: Reduction of optic nerve fiber layer thickness in CADASIL. *Eur. J. Neurol.* 2007; 14: 627-631.
26. Kusaba T., Hatta T., Kimura T. i wsp.: Renal involvement in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). *Clin. Nephrol.* 2007; 67: 182-187.
27. Guerrot D., François A., Boffa J.J. i wsp.: Nephroangi sclerosis in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: is *NOTCH3* mutation the common culprit? *Am. J. Kidney Dis.* 2008; 52: 340-345.
28. Arboleda-Velasquez J.F., Zhou Z., Shin H.K. i wsp.: Linking Notch signaling to ischemic stroke. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2008; 105: 4856-4861.
29. Heistad D.D.: What's new in the cerebral microcirculation? *Microcirculation* 2001; 8: 365-375.
30. Chabriat H., Bousser M.G., Pappata S.: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: a positron emission tomography study in two affected family members. *Stroke* 1995; 26: 1729-1730.
31. Mellies J.K., Baumer T., Muller J.A. i wsp.: SPECT study of a German CADASIL family: a phenotype with migraine and progressive dementia only. *Neurology* 1998; 50: 1715-1721.
32. Tuominen S., Miao Q., Kurki T. i wsp.: Positron emission tomography examination of cerebral blood flow and glucose metabolism in young CADASIL patients. *Stroke* 2004; 35: 1063-1067.
33. Baker R.N., Cancilla P.A., Pollock P.S., Fromes S.P.: The movement of exogenous protein in experimental cerebral edema. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1971; 80: 668-679.
34. Pantoni L.: Pathophysiology of age-related cerebral white matter changes. *Cerebrovasc. Dis.* 2002; 13 (supl. 2): 7-10.
35. Stewart P.A., Magliocco M., Hayakawa K. i wsp.: A quantitative analysis of blood-brain barrier ultrastructure in the aging human. *Microvasc. Res.* 1987; 33: 270-282.
36. Lundberg M.S., Crow M.T.: Age-related changes in the signaling and function of vascular smooth muscle cells. *Exp. Gerontol.* 1999; 34: 549-557.
37. Pantoni L., Pescini F., Nannucci S. i wsp.: Comparison of clinical, familial, and MRI features of CADASIL and *NOTCH3*-negative patients. *Neurology* 2010; 74: 57-63.