



**TURUN  
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen  
tiedekunta

# **Alkio- ja sikiövaiheen verisuonten ja veri-aivoesteen kehitys ihmisellä**

Kreetta Viitala

Biologia  
LuK-tutkielma  
Laajuus: 6 op

12.5.2024

Turku

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

## LuK-tutkielma

Biologian laitos

Kreeta Viitala: Alkio- ja sikiövaiheen verisuonten ja veri-aivoesteen kehitys ihmisellä

Fysiologia ja genetiikka

Toukokuu 2024

---

Alkio- ja sikiövaiheen verisuonten kehitys on toiminnallinen prosessi, joka on välttämätön kehittyvän yksilön kasvulle ja kypsymiselle. Se luo perustan kudosten ja elinten toiminnalle sekä oikeanlaiselle veren läpivirtaukselle niiden läpi. Tähän kokonaisvaltaiseen prosessiin kuuluu verisuonten muodostumista, kypsymistä ja haarautumista koko ontogeenisen kehityksen ajan erilaisten molekulaaristen signaalien avulla. Verisuonten muovautuminen johtaa toiminnallisten verisuoniverkostojen muodostumiseen, jotka tukevat organogeneesiä ja kudosten homeostasiaa alkion ja sikiön kehitysvaiheiden aikana.

Varhaisen alkionkehityksen aikana angiogeneesi ja vaskulogeneesi muodostavat alkeellisen verisuoniverkoston, joka toimii välttämättömänä rakenteena ravintoaineiden ja kaasujen vaihdon kannalta kehittyvässä yksilössä. Kehityksen aikana tapahtuu verisuonten uudelleenmuotoutumista ja kypsymistä, joiden ohjaamana verisuonisto muovautuu vastaamaan kasvavan yksilön muuttuvia metabolisia vaatimuksia. Tämän lisäksi erikoistuneet, tiettyä elintä tai aluetta verisuonittavat suonet, kuten veri-aivoesteen ja istukan verisuoniston muodostuminen varmistavat elinten asianmukaisen kehityksen sekä äidin ja kehittyvän yksilön välisen aineiden vaihdon. Alkio- ja sikiövaiheessa tapahtuvat verisuonten kehityksen häiriöt voivat johtaa synnynnäisiin verisuonissa tapahtuviin poikkeavuuksiin, kasvun hidastumiseen tai muihin kehityshäiriöihin.

Nykyään tiedetään suhteellisen hyvin syntymää edeltävän verisuonten kehityksen taustalla olevista molekulaarisista mekanismeista ja veren virtauksen mahdollistamiseen liittyvistä säätelymekanismeista. Alkion ja sikiön verisuonten kehityksen fysiologian ymmärtäminen on ratkaisevan tärkeää, jotta voidaan ennaltaehkäistä erilaisia syntymää edeltävien verisuonisairauksien syntymekanismeja.

---

**Avainsanat:** verisuonet, veri-aivoeste, kehitys, alkio, sikiö, angiogeneesi, vaskulogeneesi

## SISÄLLYS

1	Johdanto .....	1
2	Alkion verisuonten kehitys .....	3
2.1	Varhainen verisuonten kehitys ja hematopoieesi .....	3
2.2	Vaskulogeneesi .....	7
2.3	Angiogeneesi.....	10
2.4	Verisuonten kasvu ja uudelleenmuokkaus .....	12
3	Sikiövaiheen verisuonten muovautuminen .....	14
3.1	Alkiovaiheesta kohti sikiövaihetta .....	14
3.2	Sikiön verenkierron kypsyminen .....	14
4	Verisuonten kehitykseen vaikuttavat tekijät .....	15
5	Veri-aivoesteen kehitys.....	16
5.1	Kehitysvaiheet.....	16
5.2	Kehityksen taustalla olevat molekyylitoimijat.....	18
5.3	Kehityksen taustalla oleva signalointi.....	21
5.4	Rakenne ja toiminta .....	22
6	Yhteenveto .....	23
7	Lähdeluettelo.....	25

# 1 JOHDANTO

Kohdussa tapahtuvaa varhaista yksilönkehitystä kutsutaan ontogeniaksi. Ontogenian aikana yksilönkehityksessä tapahtuu erilaisia prosesseja, joiden tuloksena kehittyvälle yksilölle muodostuu kudokset, elimet ja elinjärjestelmät. Kehitysvaiheita on pääasiassa kolme: itämis-, alkio- ja sikiövaihe. Itämisvaiheen aikana tsygootti eli hedelmöittynyt munasolu alkaa jakautua ja kiinnittyy lopuksi kohdun seinämään. Alkiovaihe alkaa, kun kiinnittyminen on valmis. Alkion ja siitä kehittyvän sikiön verenkierto muodostaa väliaikaisen järjestelmän ihmisen kehityksen aikana, eikä se toistu samanlaisena missään myöhemmässä elämänvaiheessa. Ontogenian aikainen verenkiertojärjestelmä eroaa siis toiminnallisesti merkittävästi lasten ja aikuisten verenkierrosta tukeakseen kehittyvän yksilön ainutlaatuisia fysiologisia tarpeita (Finnemore & Groves, 2015).

Verisuonten varhainen kehittyminen alkaa alkiovaiheessa, joka kestää 10. raskausviikkoon asti. Tämän jälkeen alkioista puhutaan sikiönä aina syntymään asti. Ihmisellä raskaus kestää keskimäärin 40 viikkoa laskettuna synnyttävän henkilön viimeisten kuukautisten ensimmäisestä päivästä. Täten syntymätön vauva viettää varsinaisesti kohdussa noin 38 viikkoa. Muilla nisäkkäillä yksilönkehityksen vaiheet ovat samat, mutta niiden kesto vaihtelee lajeittain laajasti. Hiiri esimerkiksi kehittyy noin 21 päivän aikana hedelmöityksestä poikaseksi. Hiirimalleja ja muita malliorganismeja käytetään paljon ontogeenisessä tutkimuksessa, sillä niiden elinkierto ja kehitys on ihmistä nopeampaa. Malliorganismeja käytetään nopean elinkierron lisäksi myös eettisistä syistä.

Kehittyvä verisuonijärjestelmä on vastuussa hapen sekä ravinteiden nopeasta toimittamisesta alati muovautuviin kudoksiin ja elimiin. Wolpert (2015) mukaan ravintoaineiden ja hapen saanti eri puolelle alkioita ja sikiötä on välttämätöntä jo varhaisista vaiheista lähtien, koska verenkiertoelimet muodostavat ensimmäisen toimivan elinjärjestelmän. Sydäntä lukuun ottamatta tämä järjestelmä muodostuu aluksi vain yhdestä solutyypistä, endoteelisoluista (Wolpert, 2015, s. 502). Verenkiertoelimistön kehitys saa alkunsa kolmen alkiokerroksen keskimmäisestä kerroksesta, mesodermistä, sekä alkiossa että alkion ulkopuolella. Alkiokerrosten muodostuminen toimii perustana elinten muodostumiselle ja verisuonten kehittymistä tapahtuu näin samaan aikaan monessa paikassa. Kehityksen alussa verisuonten aiheet näkyvät mesodermissä tiheinä solusaarekkeina, verisaarekkeina (DeSesso, 2017).

Verisaarekkeet sisältävät soluja, jotka erilaistuvat endoteelisoluiksi sekä verisoluiksi muodostaen putkimaisen rakenteen. Muodostuu alkeellinen hiussuoniverkosto, joka monimutkaistuu lisäämällä uusia haaroja kehittyviin hiussuoniin. Näin syntyy toisiinsa kytkeytyneiden suonten laajentunut rakenne, verisuoniverkosto. Verisuoniston kehitys jaetaan vaskulogeneesiin ja angiogeneesiin. Vaskulogeneesin aikana verisuonet muodostuvat ja kehittyvät alkeelliseksi verisuonijärjestelmäksi, joka haarautuu koko kehoon angiogeneesissa. (Wolpert, 2015, s. 502)

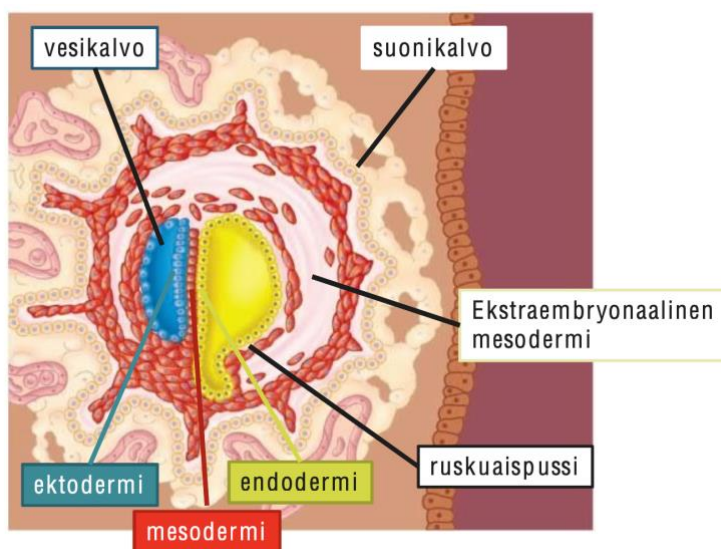
Angiogeneesi on yhteydessä veri-aivoesteen kehitykseen mahdollistamalla verisuonten haarautumisen ja kehityksen keskushermoston alueelle toimien näin oleellisena tekijänä sen kehityksessä. Veri-aivoesteen ja sen kuljettajajärjestelmien kypsyminen suojaa kehittyvän yksilön keskushermostoa erilaisilta haitta-ainealtistuksilta. Veri-aivoesteen muovautuminen toiminnalliseksi tapahtuu yksilönkehityksen aikana ennen syntymää (Gürsoy-özdemir & Tas, 2017).

Tässä tutkielmassa tulen käsittelemään alkio- ja sikiövaiheiden aikana tapahtuvaa verisuonten- ja veri-aivoesteen kehitystä, sillä verisuonten kehityksen kannalta olennaiset tapahtumat alkavat alkiovaiheessa. Tarkastelen kehitystä ihmislajin ontogenian kannalta käyttäen osin tukena malliorganismeilla saatuja tutkimustuloksia.

## 2 ALKION VERISUONTEN KEHITYS

### 2.1 Varhainen verisuonten kehitys ja hematopoieesi

Alkio kehittyy kohdussa blastokystistä, joka kiinnittyy kohdun seinämään. Kohdun seinämässä alkiokerrokset: ektodermi, mesodermi ja endodermi muodostavat kaksionteloisen alkion (kuva 1). Onteloista toinen on vesikalvo ja toinen ruskuaispussi, mutta molempia rajaa mesodermi. Ruskuaispussi muodostuu alkeellisesta endodermista ja vesikalvo vastaavanlaisesta ektodermista, joka muodostuu blastokystivaiheesta jäljelle jääneen sisäsolumassan keskelle. Ekstraembryonaalinen mesodermi alkion ulkopuolella muodostaa kehittyvässä istukassa alkion puolen verisuonet. Alkion ulkopuolella tarkoitetaan tässä kohtaa ruskuaispussia ja kehittyvää istukan alkua sekä niihin muodostuvaa verisuonistoa, jonka avulla alkio tulee olemaan yhteydessä äidin elimistöön. Intraembryonaalisesta mesodermista eli alkion sisäisestä mesodermista kehittyy lateraali mesodermi, joka kehittymisensä jälkeen jaetaan kahteen osaan: päänpuoleiseksi ja takapäänpuoleiseksi. Molemmat rakenteet ovat verenkiertojärjestelmän kehityksen kannalta oleelliset, sillä päänpuoleisesta lateraalista mesodermista syntyy sydänmesodermi (kuva 2) ja takapäänpuoleisesta verenkierron mesodermi eli verisolut sekä verisuonet.



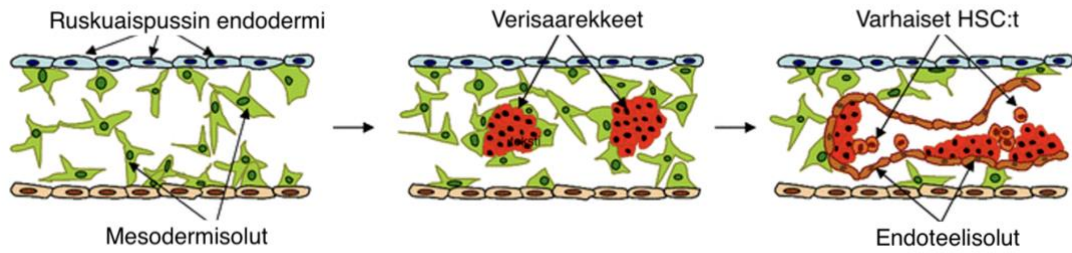
**Kuva 1.** Alkiokerrokset ontogenian alussa. Alkiokerrokset koostuvat kolmesta kerroksesta: ektodermista, mesodermista sekä endodermista. Kerrokset mahdollistavat vesikalvon ja ruskuaispussin muodostumisen ja rajaavat alkion ekstraembryonaalisesta mesodermista eli alkion ulkopuolisesta mesodermista. Suonikalvo on sikiökalvoista uloin alkion ympärillä oleva kalvo, joka kehittyy ruskuaispussin pinnalla olevasta uloimmasta poimusta. Kuva muokattu lähteestä Reece & Campbell 2017.

Wartiovaara ym. (1976) mukaan verisuonten kehitys alkaa ruskuaispussin, suonikalvon mesodermin ja sikiökannan alueelta, jonka jälkeen se leviää myös muualle alkioon (kuva 1 ja 2). Kehitys ruskuaispussiin ja kehittyvään istukkaan on tärkeää, koska ne liittävät ruskuaispussin, istukan, napanuoran ja alkion sisäisen verenkierron hiljalleen yhdeksi kokonaisuudeksi (Wartiovaara ym., 1976, s. 187). Istukka syntyy kahdesta sikiökalvosta, kun pala rakkokalvoa kasvaa osaksi suonikalvoa ja samaan aikaan ekstraembryonaalisesta mesodermista kehittynyt sikiökanta kehittyy napanuoraksi (Cindrova-Davies & Sferruzzi-Perri, 2022; Herrick & Bordoni, 2023).

Ensimmäiset hematopoieettiset eli verta muodostavat solut ja muut verisuonijärjestelmään kuuluvat solut kehittyvät ekstraembryonaalisesta mesodermista, josta ne järjestäytyvät verisaarekkeiksi (kuva 2). Verisuonten aiheina toimivat tiheät verisaarekkeet syntyvät kolmannen elinviikon aikana ruskuaispussin ympärille, mesodermiin. Verisaarekkeiden lähellä oleva ruskuaispussin endodermi erittää aineita, jotka saavat ruskuaispussin mesodermin solut erilaistumaan verisaarekkeissa (kuva 3). (Gerecht-Nir & Itskovitz-Eldor, 2004)



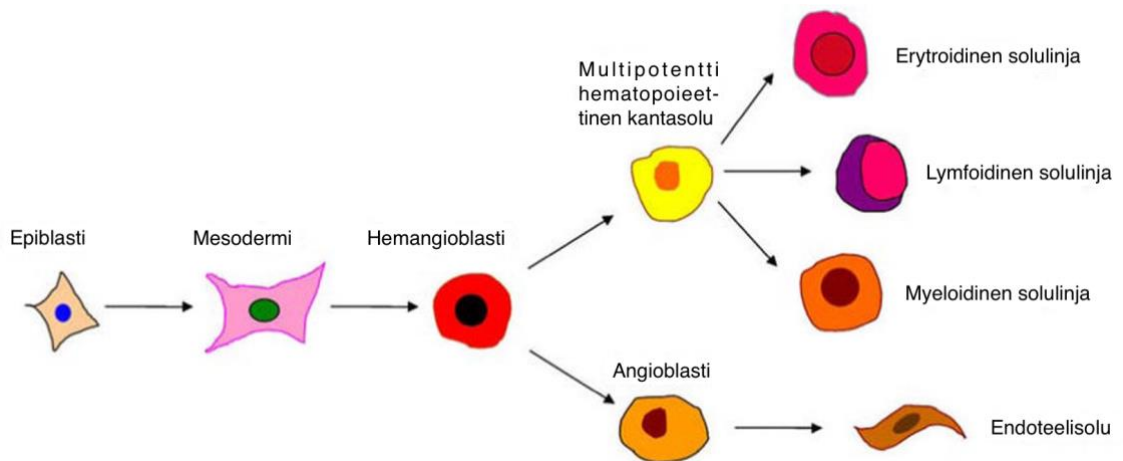
**Kuva 2.** Alkion kaaviokuva pitkittäisleikattuna. Varhaista hematopoieettista muodostusta tapahtuu ensin ekstraembryonaalisesta mesodermista ruskuaispussin seinämässä (Carlson, 2023, ss. 117–135). Kuva muokattu lähteestä Gilbert, 2014.



**Kuva 3.** Verisaarekkeiden muodostuminen ruskuaispussin mesodermisoluista. Verisaarekkeet muodostuvat klustereiksi yhdistyneistä mesodermisoluista ekstraembryonaalisessa mesodermisä ja toimivat varhaisten hematopoieettisten kantasolujen eli HSC:n syntymispaikkana. Verisaarekkeet ovat endodermista koostuvan ruskuaispussin ulkopuolella, mutta kehittyvät sen rinnalle. Verisaarekkeiden muodostuminen johtaa sekä varhaiseen hematopoieesiin että ekstraembryonaaliseen vaskulogeneesiin. Kuva muokattu lähteestä Psaltis ym., 2011.

Täyteen pakkautuneet verisaarekkeet koostuvat hemangioblasteista (engl. hemangioblast) kehittyneistä esiastesoluista. Hemangioblastit ovat multipotentteja esiastesoluja, jotka voivat erilaistua joko endoteelin esiasteiksi, angioblasteiksi (engl. angioblast) tai hematopoieettisiksi kantasoluiksi (kuva 4) (engl. hematopoietic stem cell, HSC). Sekä angioblastit että HSC:t voivat toimia verisuonten endoteelin esiastesoluina, jotka eivät ole vielä muodostaneet luumenia ja jotka myöhemmin muodostavat alkeellisia verisuonia. HSC:t voivat erilaistua joko angioblastien tapaan endoteelisoluiksi tai sitten muiksi verisoluiksi, kun taas angioblastit erilaistuvat ainoastaan endoteelisoluiksi. Verisaarekkeet muodostuvat lopulta angiokysteiksi (engl. angiocyst) eli rakkulamaisiksi rakenteiksi, jotka toimivat hiussuonten aiheina ja täyttyvät verisolujen aiheista. Samaan aikaan endoteelisolut litistyvät niiden ympärille muodostaen putkimaisen rakenteen. Angiokystit sulautuvat toisiinsa muodostaen myöhemmin yhdistyviä verkostoja, jotka taas vuorostaan kasvavat ja tunkeutuvat alkion kudoksiin muodostaakseen valtimo-, laskimo- ja imusuonikanavia. Verkostot muodostuvat kolmella eri tavalla: angiokystien jatkuva sulautuminen eli vaskulogeneesi, uusien verisuonten versominen olemassa olevista verisuonista eli angiogeneesi tai uusien mesodermisolujen assimilaatio (engl. assimilation) eli eräänlainen mukautuminen jo olemassa oleviin verisuonten seinämiin. (Gerecht-Nir & Itskovitz-Eldor, 2004)





**Kuva 4.** Mesodermin erilaistuminen multipotentteiksi hematopoieettisiksi kantasoluiksi ja angioblasteiksi sekä siitä jatkuva erilaistuminen eteenpäin verisoluiksi ja endoteeliksi. Kuva muokattu lähteestä Psaltis ym., 2011.

Varsinaisten verisolujen syntymistä kutsutaan hematopoiesiksi. Tapahtuma alkaa rinnakkain endoteelin erilaistumisen kanssa ontogonian varhaisessa vaiheessa pian alkion kiinnittymisen jälkeen (Vink ym., 2022). Hematopoiesia tapahtuu ensin hetkellisesti ruskuaispussin verisaarekkeista ja kehittyvistä verisuonista (Vink ym., 2022). Hematopoiesin alkukohta ei näin ollen ole itse alkion sisällä, mutta ruskuaispussista se siirtyy aortan, gonadien ja esimunuaisen alueelle (engl. aorto-gonado-mesonephric region) (Sequeira Lopez ym., 2003). Carlson (2023) mukaan alkion verenkierrassa olevat punasolut ovat suurelta osin peräisin ruskuaispussin hematopoiesista kuudenteen viikkoon asti, vaikka intraembryonaalinen hematopoiesi alkaakin jo 28 päivän kuluttua hedelmöityksestä. Kuuden viikon jälkeen rakenteet alkavat kehittyä enemmän ja myös intraembryonaalinen hematopoiesi alkaa kasvaa (Carlson, 2023, ss. 420–465). Useat intraembryonaaliset alueet pystyvät lopulta muodostamaan verta ennen organogeneesiä ja sen aikana (Sequeira Lopez ym., 2003). Maksan kehittyessä hematopoiesi jatkuu ohimenevästi siellä ja se onkin hetkellisesti suurin verisolujen tuottaja, kunnes myöhemmin kehitykseen osallistuu aktiivisesti myös esimerkiksi kateenkorva, perna, imusolmukkeet sekä luuydin (Charbord ym., 1996; Valli ym., 2002). Hematopoiesi jatkuu maksassa väliaikaisesti, kunnes luuydin on muodostunut ja verisolujen muodostus siirtyy ja jää lopulta sinne (Charbord ym., 1996).

Varhainen hematopoiesi alkaa ruskuaispussissa sillä kehittyvä alkio tarvitsee verisoluja kasvaakseen ja selviytyäkseen jo ennen maksan kehittymistä (Gerecht-Nir & Itskovitz-Eldor, 2004). Siirtyminen varhaisesta hematopoiesista kypsempään tapahtuu samaan

aikaan, kun hematopoieesin tapahtumapääpaikka siirtyy ruskuaispussista maksaan (engl. fetal liver) eli noin kuudennen viikon aikana (Carlson, 2023, ss. 117–135).

## 2.2 Vaskulogeneesi

Kolmannen viikon lopussa alkion yhteydessä oleva ulkopuolinen rakenne ruskuaispussi mukaan lukien on kokonaan verisuonitettu (engl. vascularized) ja systeemi varmistaa jo tässä vaiheessa maksimaalisen yhteyspinnan (engl. contact area) äidin verenkierron kanssa vaskulogeneesin ja angiogeneesin avulla (Gerecht-Nir & Itskovitz-Eldor, 2004).

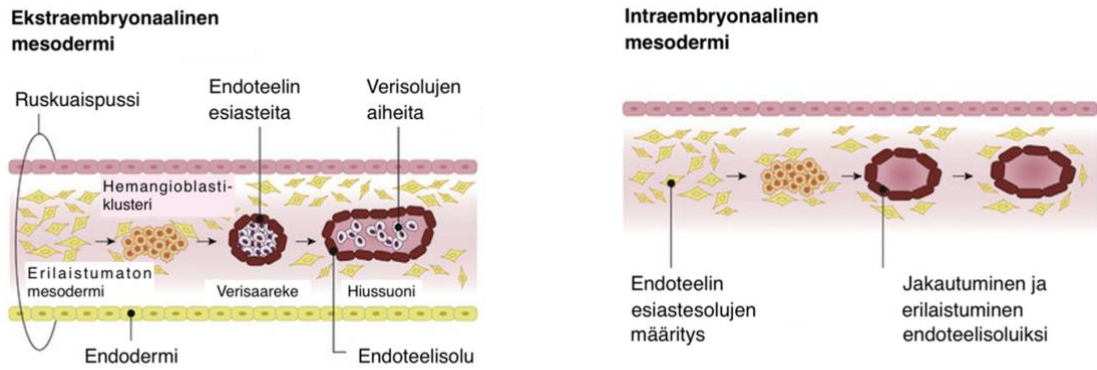
Verisuonten muodostuminen vaatii yhteen kasvavien vuorovaikutusten säätelyä endoteelisolujen ja solunulkoisen matriksin välillä sekä endoteelisolujen itsensä välillä. Verisuonijärjestelmän tärkeimmät solutyypit ovat angioblasteista erilaistuneet endoteelisolut, jotka ovat verisuonten muodostumisen ja näin myös vaskulogeneesin alkamisen ja koko verenkiertojärjestelmän perusta. Tätä alkeellisen verisuoniverkoston muodostumista angiokystien jatkuvan sulautumisen avulla kutsutaan vaskulogeneesiksi ja se on ensimmäinen vaihe verisuonten kehityksessä, jonka tuloksena saadaan yksinkertaisia verisuonia. Vaskulogeneesiin kuuluu kolme vaihetta: mesodermisolujen erilaistuminen hemangioblasteiksi, angioblastien ja/tai HSC:ien erilaistuminen endoteelisoluiksi sekä uusien endoteelisolujen *de novo*-järjestäytyminen alkeelliseksi verisuoniverkostoksi. (Gerecht-Nir & Itskovitz-Eldor, 2004)

Kolte ym. (2016) mukaan vaskulogeneesi on olennainen vaihe ontogenian aikana, mutta sitä, kuten angiogeneesia, tavataan myös aikuisen yksilönkehityksen aikana. Tällaista tapahtuu normaalista poikkeavissa tilanteissa, kuten sairaudellisista syistä tai esimerkiksi vamman parantuessa (Kolte ym., 2016, ss. 49–65). Vaskulogeneesi tapahtuu samanaikaisesti yhteistyössä hematopoieesin kanssa (Goldie ym., 2008). Molemmat toimivat toisiaan vahvistavina tekijöinä, joiden avulla vaskulogeneesissä syntyvien putkimaisiksi rakenteiksi vaeltavien epiteelisoluryppäiden keskelle syntyy erilaistuneita verisoluja (DeSesso, 2017).

Varhaisen ontogenian aikana solut siirtyvät edestakaisin eri solufenotyyppien välillä. Verisuonten kehitys alkaa alkion mesodermin angioblastisoluista. Vaeltaakseen vaskulogeneesissa, angioblastit käyvät läpi mesenkyymiepiteelisiirtymän. Siirtymä on olennainen prosessi alkionkehityksessä, sillä se kokoaa mesenkyymin kaltaisia soluja yhtenäisiksi rakenteiksi, kuten tässä tapauksessa angioblastit endoteelisoluiksi ja siitä angiokystiksi. Angiokystit liittyvät toisiinsa ja samalla rakkuloiden sisällä verisolujen

aiheet keräävät ympärilleen verinestettä (kuva 5). Verinesteen avulla saarekkeet löystyvät ja erilaistuneet endoteelisolut vaeltavat ketjuissa kehittyvän alkion eri osiin. Vaelluksen aikana soluketjut muodostavat alkion alkeellisen hiussuoniston. Tämä hiussuonisto muodostuu samalla myös sekä ruskuaispussin sisälle että sikiönpuoleiseen istukkaan eli ekstraembryonaaliseen mesodermiin ja erilaistuu paikallisesti tarvittaessa. (DeSesso, 2017)

Intraembryonaalisen mesodermin endoteelisolujen muodostuminen toimii samalla tavalla, kuin ekstraembryonaalisessa mesodermissä, mutta alkaa sydänperäisestä mesodermissä (kuva 2) (Borasch ym., 2020). Näin myös intraembryonaalisessa mesodermikerroksessa mesodermisolut erilaistuvat ja organisoituvat verisuonten muodostumiseksi, mutta vain alkion sisällä eri kudoksissa ja ilman verisolujen aiheiden muodostumista (kuva 5) (DeSesso, 2017). Carlson (2023) mukaan muodostuvat verisuonet liittyvät lopulta kehittyvien elinten ja kudosten verisuonistoon osaksi yhtä isoa verenkiertojärjestelmää, joka toimittaa happea ja ravinteita kehittyville kudoksille ja elimille. Ekstraembryonaalisesta mesodermista kehittyvät verisuonet mahdollistavat sen sijaan ravinteiden, kaasujen ja kuona-aineiden kuljetuksen alkion ja äidin verenkierron välillä tukien samalla myös alkion ulkopuolisten kalvojen kasvua ja kehitystä (Carlson, 2023, ss. 117–135). Vaskulogeneesi alkaa molemmissa mesodermeissa varhaisen alkionkehityksen aikana, mutta siinä missä ekstraembryonaalinen tapahtuu pääasiassa ruskuaispussin sekä rakko- ja suonikalvon muodostumisen aikana ja alkaa ensimmäisenä, intraembryonaalinen vaskulogeneesi jatkuu koko organogeneesin ajan (Goldie ym., 2008).



**Kuva 5.** Varhainen vaskulogeneesi ekstraembryonaalisessa sekä intraembryonaalisessa mesodermisissä. Ekstraembryonaalisessa mesodermisissä verisaarekkeet kertyvät koko ruskuaispussin seinämän alueelle. Intraembryonaalisessa mesodermisissä verisuonet kehittyvät erikseen eri kudoksissa ilman verisolujen muodostusta. Kuva muokattu lähteestä DeSesso, 2017.

Angioblastien erilaistuminen endoteelisoluiksi edellyttää VEGF-kasvutekijää ja -reseptoreita sen stimuloimassa endoteelisolujen lisääntymistä mitogeenisesti. VEGF:ää erittävät pitkittäiset rakenteet, kuten hermostoputken alkujaokkeet ja sen ilmentymistä ohjaa selkäjänteessä tapahtuva Shh-signaaliointi (engl. Sonic hedgehog, Shh). Tarvittava määrä kasvutekijää on turvattu koko ajan kehittyvässä alkiossa, sillä VEGF-geenin ilmentyminen käynnistyy hapen määrän vähentyessä. Näin happea kuluttavat aktiiviset osat edistävät automaattisesti omaa verisuonittumistaan. VEGF stimuloi endoteelisolujen vaeltamaan ja lisääntymään. (Wolpert, 2015, ss. 502–503)

Ohutseinäiset suonten aiheet peittyvät kehittymisen jälkeen endoteelia tukevilla perisytyillä, jotka ovat sidekudossoluja sekä sileälihassoluja ja niitä kutsutaan yleisnimellä muraalisolut (engl. mural cell). Ennen kehittymistä verisuoniksi angioblastit määrättyvät joko valtimo- (engl. arterial) tai laskimomuotoon (engl. venous), mutta määrättyminen voi kuitenkin muuttua vielä myöhemmin. Tämä angioblastien jakautuminen on tärkeää sillä kehityksensä aikana verisuonet navigoivat kohti niiden omia reittejä sekä tarvittavia alueita ja päätyvät näin ympäri alkioita. Määrättyneet angioblastit navigoivat muista soluista tai solunulkoisesta matriksista lähtevien houkuttelevien tai niitä pois luotaan työntävien signaalien avulla. Näihin signaaleihin joko vastataan tai ei vastata riippuen siitä millaiseksi angioblasti on määrätty. Tällaisia ekstrasellulaarisen tilan signaaleja muodostavat netriini- ja semaporiiniperheiden (engl. netrin and semaphorin families) proteiinit, jotka osallistuvat myös hermosolujen ohjaamiseen. Valtimo- sekä laskimorakenteiden aiheet määrättyvät

veren virtauksen suunnan mukaan sekä rakenteellisilla että funktionaalisilla eroilla. (Wolpert, 2015, ss. 502–503)

Endoteelisoluista syntyy erilaisia rakenteita riippuen siitä mihin kohtaan alkioita ne syntyvät tai vaeltavat. Lateraalisen mesodermin angioblasteista syntyy esimerkiksi ensisijaisia verisuonia, kuten selkäaortta ja pääsuonet (Wolpert, 2015, s. 502). Vaskulogeneesi on verisuonten muodostuksessa perusprosessi ja vaatii kokonaisuuteensa mukaan angiogeneesin, jotta verisuonten aiheet kehittyvät eteenpäin koko kehoon haarautuvaksi verisuonistoksi (DeSesso, 2017).

### *2.3 Angiogeneesi*

Verenkierron ensimmäiset endoteelisoluista kehittyvät putkimaiset verisuonten aiheet kasvavat ja haarautuvat muodostamalla laajoja hiussuonten verkostoja. Angiogeneesissa kasvavilla hiussuonilla viitataan uusiin verisuoniin, joilla ei ole täysin kehittyntä keskikalvoa (lat. tunica media) (Kolte ym., 2016, ss. 49–65). Haarautumisen yhteydessä rakenteet kehittyvät eteenpäin suoniksi ja valtimoiksi. Valmiiden rakenteiden kokonaisuus tapahtuu anastomoosin (engl. anastomosis) avulla, jolloin kaksi aiemmin erillään olevaa haaraa yhdistyy ja liittyy toisiinsa (DeSesso, 2017).

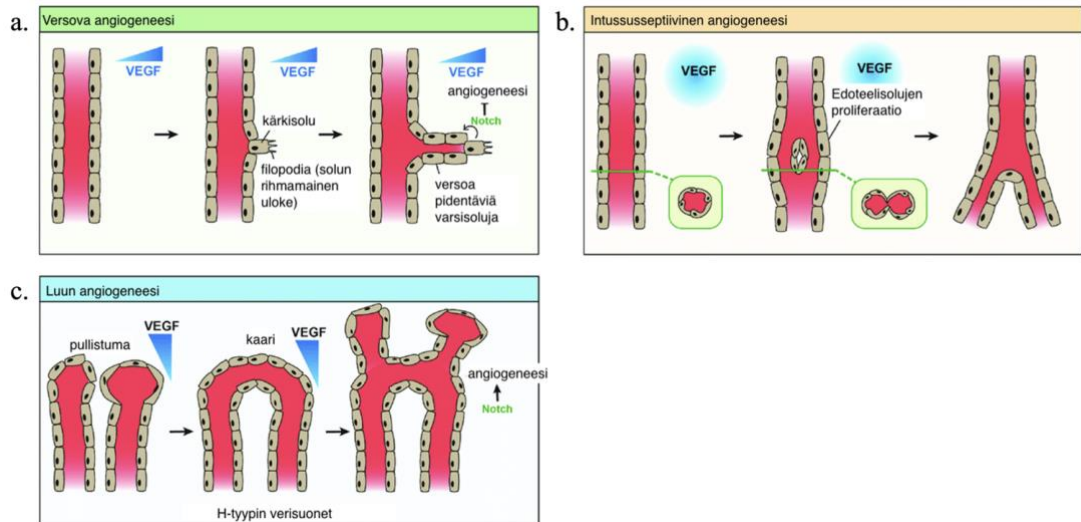
Verisuonet sulautuvat näin toisiinsa ja muodostavat monimutkaisia yhteen liittyviä verisuoniverkostoja. Laajoista hiussuoniverkostoista eli kapillaareista muodostuu pikkuvaltimoita ja -laskimoita. Arteriolit toimivat pikkuvaltimoiden tavoin veren virtauksen säätelijöinä hiussuoniin, kun taas venulit toimivat pikkulaskimoina, joihin veri liikkuu hiussuonista. Näistä osa kehittyi valtimoiksi ja laskimoiksi, mutta osa jää pienemmiksi ja keskikokoisiksi verisuoniksi. (Wolpert, 2015, s. 502)

Vaskulogeneesin aikana mesodermista muodostuu primäärinen suonipunos (engl. vascular plexus), joka on verisuonten muodostama verkkomainen rakenne. Suonipunos toimii alustana uusien endoteelisolujen syntymiselle ja paikkana, jossa muodostuu uusia suonirakenteita uutena tai irtautumalla alkuperäisistä suonista. Angiogeneesia on pääasiassa kahdenlaista: versovaa (engl. sprouting) sekä intussusseptiivistä (engl. intussusception) angiogeneesia. Versovassa eli pidentyvässä angiogeneesissa verisuonet pidentyvät jo olemassa olevista hiussuonista suonten kärjessä olevien solujen avulla. Solut ulkonevat filopodimaisten, rihmamaisten ulokkeiden avulla, jotka ohjaavat ja laajentavat rakennetta (kuva 6a). Intussusseptiivisessä eli jakautuvassa angiogeneesissa verisuonet jakautuvat jo olemassa olevista kahdeksi (kuva 6b). Kumpaakin tapahtuu

samanaikaisesti yksilön verisuonittumisen aikana, mutta versovaa muotoa esiintyy erityisesti ruskuaispussissa ja alkiossa. Jakautuvaa havaitaan taas erityisesti keuhkojen ja sydämen kehityksen aikana. Alkiossa esiintyvää versomista esiintyy useimmiten myöhemmän organogeneesin aikana erityisesti aivoissa. (Risau, 1997; Hendriks & Ramasamy, 2020)

Angiogeneesia aktivoivat tekijät saavat aikaan yhden tai useamman endoteelisoluissa tapahtuvan toiminnon. VEGF esimerkiksi toimii endoteelisolujen spesifisenä kasvu- ja kemotaktisena tekijänä. VEGF:n isomuotojen eli saman geenin tai geeniperheen jäsenten tuottamien ja erilaisten proteiinien erittyminen alkion aivoissa saattaa ohjata esimerkiksi hermokapillaarien versoamista. VEGF:ää tuotetaan hermostoputken ympärillä sijaitsevassa (enlg. periventricular) kerroksessa. Uusien hiussuonten versotessa, niiden kärjessä olevat pitkät endoteelisolun jatkeet suuntautuvat kohti tämän kerroksen VEGF:ää tuottavia soluja. (Risau, 1997)

Angiogeneesiä tapahtuu myös luussa kolmannella tavalla, jossa H-tyypin verisuonten endoteelisolut lisääntyvät muodostaen uusia pullistuman kaltaisia rakenteita. Nämä H-tyypin verisuonet kuuluvat kapillaarien alatyyppiin, joita esiintyy luiden metafyysisellä ja luun sisäkalvon alueella. Ulokkeen omaiset pullistumat sulautuvat yhteen anastomoosin avulla ja muodostavat kaarirakenteen, joka vuorostaan lähtee haarautumaan lisää (kuva 6c). Luussa tapahtuvaa verisuonten laajenemista ja kypsymistä aktivoi Notch-viestintämolekyylä. Se ohjaa solujen erilaistumista ja sillä on tärkeä rooli erilaisissa angiogeneesin muodoissa (kuva 6). (Hendriks & Ramasamy, 2020)



**Kuva 6.** Angiogeneesin kolme muotoa. 6 a. Versova angiogeneesi pidentyy kärkisolujen avulla kohti VEGF-gradienttia, joka saa varren solut lisääntymään ja pidentymään muodostaakseen haaroittuvan rakenteen. Tämän jälkeen Notch-signaali estää uuden haaran kärkisolujen muodostumisen. 6 b. Intussusseptiivinen angiogeneesi jakautuu haaraksi endoteelisolujen proliferaatiossa myös vasteena VEGF:n pitoisuudelle. 6 c. Luun angiogeneesissa pullistumarakenne muodostuu VEGF-gradientin suuntaisesti, jonka jälkeen Notch-signalointi edistää angiogeneesiä. Kuva muokattu lähteestä Hendriks & Ramasamy, 2020.

Se, millaista angiogeneesiä missäkin päin alkioita ja sikiötä tapahtuu, määräytyy riippuen siitä, kuinka paljon verisuonia elimessä tai kudoksessa on jo valmiiksi olemassa. Esimerkiksi jakautuvaa angiogeneesiä tapahtuu keuhkoissa, sillä keuhkoissa on jo luonnostaan endoteelin esiasteita, jotka alun perin verisuonittuvat vaskulogeneesin avulla. Sen sijaan versovaa angiogeneesiä tapahtuu alkion aivojen alkuna toimivassa solukertymässä (engl. brain anlage), jossa ei ole vielä valmiina angioblasteja. Jakautuvaa angiogeneesiä voi tapahtua myös endoteelisolujen lisääntyessä verisuonen sisällä. Tällöin syntyy leveä lumen, joka voidaan jakaa eri tavoin. (Risau, 1997)

## 2.4 Verisuonten kasvu ja uudelleenmuokkaus

Verisuonten ja verenkierron kehittymiseen vaikuttaa niin fysiologiset, evolutiiviset kuin fysikaalisetkin tekijät. Alkiossa veri kiertää aluksi hyvin eri tavalla kuin myöhemmin, aortankaarien ja ruskuaispussin kautta johtuen evolutiivisesta taustasta aortankaarien matkiessa kiduskaarimaista rakennetta. Verisuonen rakenteella on myös fysikaalisesti väliä, sillä verenpaine on suoraan yhteydessä suonen halkaisijaan ja siten veren virtaukseen. Tällöin esimerkiksi suuressa putkimaisessa rakenteessa veri virtaa kaikista parhaiten ja siksi valtimorakenteet kehittyvätkin suurimmiksi. Kehittyvän järjestelmän on

myös toimittava koko ajan ja tämä taas on fysiologisesti elintärkeää. (Carlson, 2023, ss. 420–465)

Verenpaineen avulla saadaan säädeltyä verisuonten kehittymistä spesifisesti ja seinämän koko vaihteleekin suonen koon ja tyyppin mukaan (Palis & Yoder, 2001). Suurimmissa valtimoissa ja laskimoissa sekä muissa verisuonissa rakenne on tällöin monimutkaisempi, kuin hiussuonissa. Eichmann ym. (2005) mukaan Wheater (1979) kirjoitti niissä olevan muraalisoluina endoteelin ympärillä sekä paksu sileiden lihassolujen stabiloiva keskikalvon rakenne että lisäksi uloimpana sidekudoksen, kollageenin ja kimmosyiden kerros. Sisin rakenne koostuu endoteelisolujen muodostamasta tilasta, jossa veri kiertää. Eichmann ym. (2005) mukaan rakenteellisen erilaisuuden avulla suonet hiussuonia lukuun ottamatta ovat vakaampia, mutta reagoivat silti dynaamisesti kehittyvän yksilön muuttuviin metabolisiin vaatimuksiin. Tämä reagointi tapahtuu siten, että verenkiertoa mukautetaan tarvittavalla tavalla sekä hetkellisesti että pitkäaikaisesti. Eichmann ym. (2005) mukaan muraalisolut säätelevät myös verisuonen halkaisijaa ja verenkierron hetkellisiä ja nopeita muutoksia supistumiskykynsä avulla supistumalla tai rentoutumalla vasteena kudoksesta saapuviin signaaleihin. Sen sijaan pitkäaikaiset muutokset edellyttävät suurempia muutoksia, kuten tiettyä aluetta verisuonittavien suonten uutta kokoamista, purkamista tai uudelleenmuokkausta (Eichmann ym., 2005).

Palis & Yoder (2001) mukaan veren alkaessa kiertää, angiogeneesi jatkuu mahdollistaen myöhemmin kehittyvien laskimoiden, valtimoiden ja kehityksessään keskeneräisten verisuonten muodostumisen sekä yhteydet niiden välillä. Näin uudelleenmuokkausta tapahtuu myös alkeellisen sydämen supistumisen alettua ja sen työntäessä nestettä kehityksessään keskeneräisen verisuoniston läpi. Vaskulogeneesin ja angiogeneesin jälkeen alkion verisuonia muokataan uudelleen niin, että rakenteet sopivat spesifisesti oman kudoksensa metabolisiin tarpeisiin ja mahdollisiin rajoituksiin (Palis & Yoder, 2001). Verisuonten uudelleenmuovautuminen voi myös helpottaa suonten regressiota siten, että tilapäiset ja tarpeettomat verisuonet saadaan poistettua rakenteellisen muovautumisen aikana (Eichmann ym., 2005). Jatkuvan sopeutumiskyvyn mahdollistamiseksi monet näistä prosesseista jatkavat toimintaansa koko ontogenian ajan ja sen jälkeen läpi syntyneen yksilön elämänkaaren ylläpitäen elinjärjestelmien dynaamisuutta (Eichmann ym., 2005). Uudelleenmuovautuneen verisuonen jälkeen vakauden ja kudoksen homeostasian ylläpidon tärkeys suonessa kasvaa (Udan ym., 2013).



## 3 SIKIÖVAIHEEN VERISUONTEN MUOVAUTUMINEN

### 3.1 Alkiövaiheesta kohti sikiövaihetta

Alkeellinen sydän lyö ensimmäisen kerran noin 22–23 päivän kuluttua hedelmöityksestä ja sen vaatima suljettu sekä toimiva alkeellinen verenkierto kehittyy samaan aikaan riittävän valmiiksi (Carlson, 2023, ss. 420–465). Verisuonten kehityksen jatkuessa napanuora kiinnittää alkion istukkaan, muodostaen kaksi napavaltimoa sekä yhden napalaskimon pitäen näin yllä alkion verenkierron tarkoitusta (Carlson, 2023, ss. 117–135).

Alkiolle kehittyy varhaisessa vaiheessa rakenteita, joita kutsutaan aortankaariksi. Aortankaaria on kokonaisuudessaan kuusi kappaletta, mutta ne eivät ole läsnä samaan aikaan kehityksen aikana. Tämä johtuu siitä, että yhden kaaren regressoitua, toinen taas muodostuu ja niin edelleen. Suunnilleen viikkojen neljä ja viisi aikana nämä kaaret kuitenkin häviävät ja osasta kaarista kehittyy verisuoniston eri rakenteita, kuten kaulavaltimo sekä keuhkovaltimo. Täysin kehittyneissä systeemissä on myös aortankaari, mutta se kehittyy neljännessä ja viidennestä alkioaikaisesta kaaresta. Suunnilleen 8 viikon jälkeen verenkierto alkaa muistuttamaan jo hyvin paljon täysikasvuisen järjestelmää. Tässä vaiheessa keuhkovaltimoista on kehittynyt yhteys aorttaan, mutta myöhemmin myös tämä yhteys häviää. Yhteyden katoaminen on tärkeä osa kehitystä, koska näin saadaan erillinen systeeminen verenkierto sekä keuhkoverenkierto. Systeeminen verenkierto täydentyy erikoistuneilla rakenteilla myöhemmin raskauden aikana. (Carlson, 2023, ss. 420–465)

### 3.2 Sikiön verenkierron kypsyminen

Sikiövaiheen alkaessa suuri osa tärkeimmistä verisuonista ja verisuonirakenteista on jo muodostunut, sillä ruskuaispussin regressio alkaa 10 viikon jälkeen (Palis & Yoder, 2001). Carlson (2023) mukaan verenkierron vähentyessä kohti ruskuaispussia, valtimoiksi tarkoitetuille verisuonille kehittyykin laskimon kaltaisia ominaisuuksia ja vastaavasti korkealle verenpaineelle altistuvat kehittyvät laskimot muuttuvat valtimoiksi. Näin fysiologisilla ja paikallisilla tekijöillä muokataan verisuonten erilaistumista. Carlson (2023) mukaan sikiövaiheen verenkiertoon sisältyy napa- ja istukkaverisuonten järjestelmä, jossa kaksi napavaltimoa huolehtii sikiön veren kierrätyksestä istukkaan.

Nämä napavaltimot haarautuvat suonikalvon läpi kauttaaltaan ja niiden pienemmät haarat ulottuvat istukkavilluksiin (engl. chorionic villi), jossa ne levittäytyvät vielä ohuemmiksi hiussuoniverkostoiksi villusten päätehaaroihin (engl. terminal branch) (Carlson, 2023, ss. 117–135). Päätehaaroissa tapahtuu aineiden vaihto äidin veren kanssa, josta verisuonet taas yhdistyvät ensin peräkkäin suuremmiksi laskimohaaroiksi, jotka kulkevat suonikalvon läpi suureen yksittäiseen napalaskimoon ja sieltä sikiöön takaisin (Carlson, 2023, ss. 117–135).

Carlson (2023) mukaan sikiön kehityksen aikana tapahtuu vielä merkittävää kasvua, kypsymistä ja verisuonten uudelleenmuotoutumista, jotta ontogenian tuloksena on täysin toimiva verenkiertojärjestelmä. Alkiovaihe luo näin perustan verisuonistolle, jota sikiövaiheessa muokataan. Angiogeneesi jatkaa edelleen haaroittumistaan ja laajentumistaan sekä verisuonisto erikoistuu ja spesifisoituu kasvavien tarpeiden mukaan lisäämällä valtimo-, laskimo- ja imusuonirakenteita (Carlson, 2023, ss. 420–465). Eichmann ym. (2005) mukaan verisuonten seinämät jatkavat kypsymistä sekä siihen tarvittavien muraalisolujen rekrytointia. Samaan aikaan verisuonten halkaisija, seinämän paksuus ja haarautumiskuviot tarkentuvat, jotta veren virtaus ja jakautuminen koko kehittyvän sikiön alueella olisi optimaalista (Eichmann ym., 2005).

Kehittynyt verisuonisto voidaan lopulta jakaa kolmeen pääosaan, jossa valtimojärjestelmä kuljettaa verta pois päin sydäimestä ja suuremmat valtimot, kuten selkäaortta tuo verta takaisin sydämeen. Myös imukudosjärjestelmä osallistuu verenkiertoon kuljettamalla kudosten ja elinten välissä olevaa nestettä takaisin verenkiertoon.

#### 4 VERISUONTEN KEHITYKSEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

Hematopoieesin sekä endoteelin molempien solulinjojen erilaistumista ja näin erilaistunutta toimintaa säätelevät yhteisiä piirteitä omaavat säätelytekijät: VEGF ja FGF. VEGF on molempien solutyypin tärkeä säätelijä, ja sillä on muiden signaalireittien kanssa tärkeä rooli endoteeli- ja verisolujen erilaistumisessa (Goldie ym., 2008). Kehittyvän istukan vähähappisessa ympäristössä VEGF toimii hallitsevana kasvutekijänä ja edistää istukan angiogeneesia (Carlson, 2023, ss. 117–135). FGF sen sijaan indusoi lateraalia mesodermia ja on näin ratkaisevassa asemassa hemangioblastien muodostumisen alkamisessa hematopoieesissa (Risau, 1997).

Vaskulogeneesiin sekä angiogeneesiin osallistuu yhteinen kasvutekijä VEGF, mutta molempiin osallistuu myös muita eri molekyylimekanismeja. Angiogeneesissä välttämätön toimija on myös endoteelireseptorin tyrosiinikinaasi Tie-2 tai Tek. Molemmat reseptorit pystyvät ohjaamaan sekä versovaa että jakautuvaa angiogeneesia. Tie-2 suhteen poistogeenisillä hiirillä havaittiin hiussuonten versomisen estyminen aivoihin. Tämä johti poistogeenisten hiirien kuolemaan 10 päivän kohdalla. Samassa tutkimuksessa havaittiin myös verisuonten kasvun puutetta erinäisillä alueilla, kuten esimerkiksi hermoa ympäröivässä hermopunoksessa (engl. perineural plexus). Siellä normaalisti pienet lumenit olivatkin leveitä. Tie-1:n huomattiin näin ollen olevan yhteydessä VEGF:iin muuttamalla sen aktiivisuutta ja indusoimalla endoteelisoluja kaventamaan luumeneja versomista tai jakautumista varten. (Risau, 1997)

Hiirillä tehdyssä tutkimusta on huomattu kohdennettujen mutaatioiden osoittavan joitain sellaisia mekanismeja, jotka ovat vastuussa sekä versovasta angiogeneesistä sekä jakautuvasta angiogeneesistä. VEGF:n uskotaan indusoivan suurempien verisuonten muodostumista lisäämällä hiussuonten fuusioitumista. Näin ajatellaan, sillä vaskulogeneesistä muodostuneessa suonipunoksessa on tyypillisesti pulleita endoteelisoluja, jotka muodostavat samalla tavalla laajoja luumeneita ilman vastaavasti paksua verisuoniseinämää. Tiedetään myös, että alkioilta, joilla on vajaa VEGF voi puuttua jopa selkäaortta. (Risau, 1997)

Vaskulogeneesin ja angiogeneesin signaalireitteihin kuuluvat verisuonten endoteelin kasvutekijät, angiopoietiinit (enlg. angiopietins) ja FGF sekä niiden reseptorit (Borasch ym., 2020). Luun angiogeneesia ja näin luun verisuonittumista aktivoi hypoksiaa indusoiva tekijä (engl. hypoxia-inducible factor, HIF) (Hendriks & Ramasamy, 2020).

## 5 VERI-AIVOESTEEN KEHITYS

### 5.1 Kehitysvaiheet

Ympäri kehittyvää yksilöä tapahtuva angiogeneesi muodostaa uusia verisuonia myös keskushermoston alueella. Rotalla angiogeneesi alkaa aivokuoressa noin 12 vrk jälkeen hedelmöityksestä, kun verisuonipunoksesta (engl. vascular plexus) tunkeutuu endoteelisoluja hermokudokseen (Daneman ym., 2010). Veri-aivoeste kehittyy hermostoputken ympärillä olevasta perineuraalisesta verisuonipunoksesta monivaiheisessa prosessissa, joka etenee integroidusti erilaisten soluvuorovaikutusten

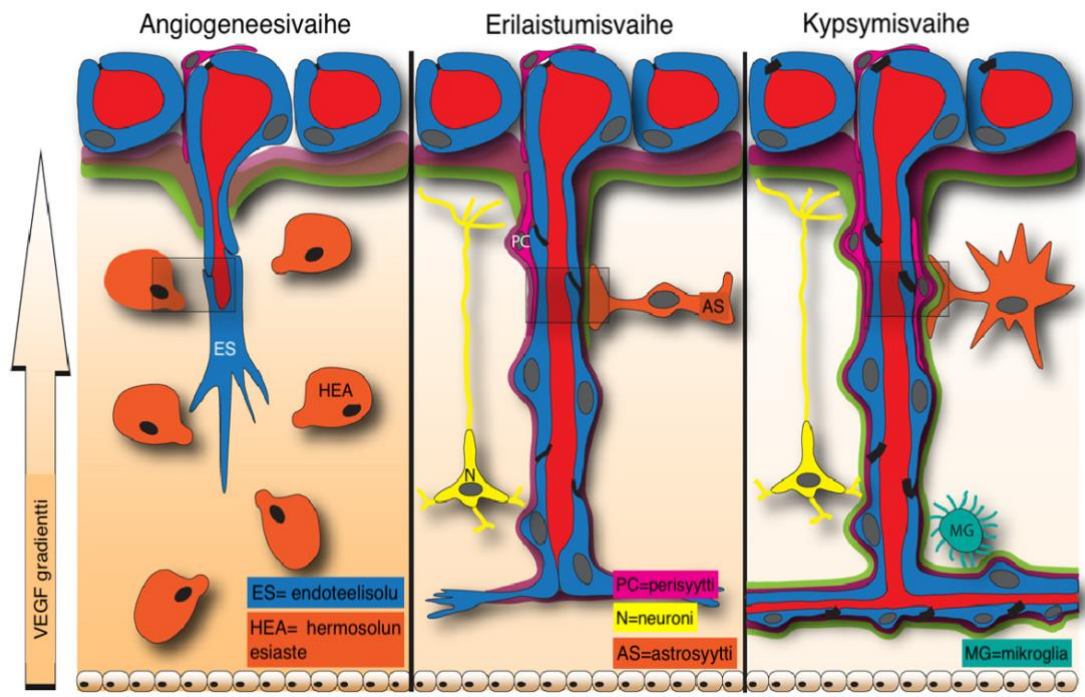
kehittyessä tiiviisti keskushermoston ohella (Saili ym., 2017). Veri-aivoeste pystyy muodostumaan angiogeneesin tuodessa verisuonten haaroja kohti kehittyvää keskushermostoa.

Kehossa on erilaisia fysiologisia esteitä yksilönkehityksen aikana, joista tärkeimmät ovat veri-istukkaeste (engl. blood-placental barrier) sekä veri-aivoeste (Taggi ym., 2022). Veri-istukkaeste ei ole varsinainen todellinen este vaan toimii lipidimäisenä kalvona mahdollistaen aineiden kaksisuuntaisen siirtymisen äidin verenkierron kanssa (Gupta & Gupta, 2017). Veri-aivoeste sen sijaan toimii elintärkeänä aivoja suojaavana rakenteena ja on keskeinen tekijä keskushermoston tehokkaan toiminnan kannalta. Veri-istukkaeste sekä veri-aivoeste toimivat molemmat mahdollisilta myrkyllisiltä aineilta ja niiden pitkäaikaisilta patologisilta seurauksilta suojaavina rakenteina ontogian aikana (Goasdoué ym., 2017). Kuten aivot muutenkin, myös kehittyvät aivot ovat erityisen herkkiä niin äidin kuin alkio- ja sikiövaiheen ympäristön muutoksille (Goasdoué ym., 2017). Tästä syystä koko yksilön elinkaaren ajan läsnä oleva veri-aivoesteen kehittyminen alkaa jo varhaisessa vaiheessa noin 12 päivän kuluttua hedelmöityksestä (Delaney & Campbell, 2017). Gürsoy-özdemir & Tas (2017) mukaan veri-aivoesteen muovautuminen alkaa alkiovaiheessa ja jatkuu aina syntymän jälkeiseen aikaan asti. Veri-aivoesteen on osoitettu olevan toiminnassa viikon 8 aikana (Goasdoué ym., 2017).

Uusien verisuonten versominen kohti kehittyvää aivorakennetta tapahtuu verisaarekkeiden lisääntyessä ja vaeltaessa (engl. migrate) (Vasudevan & Bhide, 2008). Osa verisaarekkeista vaeltaa alkion pään alueelle tuottamaan päänpuoleisia suoniamia, kuten aivojen verisuoniamia, ja kehittymään samanaikaisesti hermosolujen verkostojen kanssa (Vasudevan & Bhide, 2008). Vaeltamisen suuntaan vaikuttavat erilaiset signaalointi- ja molekyylienetelmät.

Veri-aivoesteen kehitys ja erilaistuminen jaetaan kolmeen päävaiheeseen: angiogeneesivaiheeseen, erilaistumisvaiheeseen sekä kypsymisvaiheeseen (kuva 7). Angiogeneesivaiheen aikana verisuonet tunkeutuvat versomalla alkion neuroektodermin läpi. Neuroektodermi on uloimman alkiokerroksen osa, josta hermosto kehittyy. Tunkeutuminen mahdollistuu ja tapahtuu kohti VEGF-A:n pitoisuusgradienttia, joka on VEGF:n isomuoto. VEGF:n esiintyminen alkion aivoissa ohjaa versovaa angiogeneesiamia siten, että haarautuvan suonien kärjessä olevat pitkät endoteelisolun jatkeet suuntautuvat kohti VEGF:ää tuottavia solujia. VEGF-A:ta tuottavat kammiokerroksessa (engl. ventricular layer) sijaitsevat neuroektodermisolut. Angiogeneesivaiheen päätyttyä

huomataan VEGF:n pitoisuuden vähentyminen hiljalleen. Eri-laistumisvaiheessa rakenteeseen kehittyä astroosyytin aiheita, jotka kasvavat kypsymisvaiheeseen asti. Kypsymisen keskivaiheilla rakenteeseen alkaa muodostua tiiviitä liitoksia (engl. tight junction), joiden rakenne ja merkitys kasvavat kehittyessään. Kypsymisvaihe jatkuu hetkellisesti vielä syntymän jälkeen, jolloin rakenne rikastuu entisestään. (Liebner ym., 2011)



**Kuva 7.** Veriaivoesteen kehitysvaiheet: angiogeneesivaihe, erilaistumisvaihe ja kypsymisvaihe. Kuvassa oleva nuoli kuvaa VEGF gradienttia, jonka pitoisuus kasvaa kuvassa alaspäin mentäessä, jolloin versovan endoteelisolun (lyh. ES) jatkeet suuntaavat kohti sitä hermosolujen esiasteiden (lyh. HEA) lomitse. Eri-laistumisvaiheessa jo versovaan suonirakenteeseen alkaa kehittyä astroosyytirakenteita (lyh. AS), perisyyttejä (lyh. PC) sekä neuroneja (lyh. N). Kypsymisvaiheessa rakenne rikastuu astroosyytien kasvaessa ja mikroglia-solujen (lyh. MG) kehittyessä. Kuva muokattu lähteestä Liebner ym., 2011.

## 5.2 Kehityksen taustalla olevat molekyyli-toimijat

Veri-aivoesteen kehittymiseen johtaa useampi erilainen mekanismi, mutta pääteki-jänä sen muodostumisessa on aivojen endoteelisolut sekä niiden erilaistuminen. Esteen ylläpitäminen edellyttää kuitenkin läheistä yhteyttä myös perisyyttien, astroosyytien ja mahdollisesti neuronien kanssa. Kehittymisen aikaisia sekä valmiin veri-aivoesteen kaikkia molekyylimekanismeja edellä mainittujen rakenteiden välillä ei vielä tiedetä, mutta tiedossa olevat molekyyli-toimijat muodostavat monimutkaisen kokonaisuuden (kuva 8). Solut, jotka ovat päävastuussa veri-aivoesteen muodostamisesta sekä

muodostumiseen tarvittavien erilaisten reseptoreiden ja kuljettajamolekyylien tarjoamisesta, ovat ohuiden verisuonten seinämien endoteelisolut. (Liebner ym., 2011)

Veri-aivoesteen muodostumiseen tarvittavia molekyylitoimijoita ovat: endoteelireseptori tyrosiinikinaasi 2 (engl. tyrosine kinase 2, Tie-2), angiopoietiini kasvutekijä 1 ja 2 (engl. angiopoietin 1 and 2, Ang-1, Ang-2) glukoosinkuljettajaproteiini 1 (engl. glucose transporter 1, Glut-1), ABC-kuljettajaproteiinit (engl. ABC transporters), tiiviit liitokset, Meca-32-vasta-aine (engl. mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1 antibody: clone 32, Meca-32), VEGF, N-kadheriini (engl. N-cadherin) sekä leukemiaa estävä tekijä (engl. leukemia inhibitory factor, LIF) (Liebner ym., 2011). LIF on interleukiinien sukulaisproteiini ja sytokiini (Järvinen ym., 2022).

Liebner ym. (2011) mukaan verisuonten versomiseen kohti aivoja osallistuu varhaisessa alkionkehityksessä endoteelisoluspesifinen reseptori Tie-2 ja sen ligandina toimivat Ang-1 ja 2 (kuva 8). Ang-Tie-systeemi toimii rekrytoimalla verisuonta ympäröiviä soluja sekä osallistumalla verisuonten uudelleenmuovautumiseen (Augustin ym., 2009). Liebner ym. (2011) mukaan itse Ang-1 toimii yhtenä verisuonten muodostumisen kasvutekijänä ja ilmenee perisytyteistä sekä myöhemmin myös astrosyyteistä. Verenkierron tuoma happipitoisuuden kohoaminen sekä monivaiheinen prosessi endoteelisolujen ja astrosyyttien tuottamien aineiden välillä säätelee Ang-1 määrää veri-aivoesteen kehityksen eri vaiheiden mukaan (Liebner ym., 2011).

Liebner ym. (2011) mukaan aivojen endoteelisolujen erilaistumiseen ennen veri-aivoesteen muodostusta liittyy useampien molekyylilien ilmentymistä, jotka säätelevät yhdessä ravinteiden, ionien ja kuona-aineiden kuljettamista endoteeliesteen läpi. Liebner ym. (2011) mukaan aivojen endoteelisoluissa esiintyy Glut-1:stä, joka vastaa glukoosin tehokkaasta kuljettamisesta endoteelisolujen läpi verenkierrosta kehittyviin aivorakenteisiin. Glut-1 ilmentyminen osoittaa endoteelisolujen erilaistumisen veri-aivoesteen endoteelisoluiksi ja viestii näin veri-aivoesteeseen tarvittavien ominaisuuksien hankkimisesta (Liebner ym., 2011). Glut-1 toimii veri-aivoesteen ja muun pään alueen rakenteiden kehityksen aikana tärkeänä energian lähteenä ja sen säätely lisääntyy merkittävästi erilaistuvassa veri-aivoesteen endoteelissa (Liebner ym., 2011). Hiirellä erilaistuvassa veri-aivoesteen endoteelissa Glut-1 määrän lisääntymistä nähtiin etenkin endoteelisolujen ontelon ulkoisella (engl. abluminal) plasmakalvolla, jossa määrä oli noin kolme kertaa suurempi kuin ontelonsisäisellä (engl. luminal) plasmakalvolla (Dobrogowska & Vorbodt, 1999).

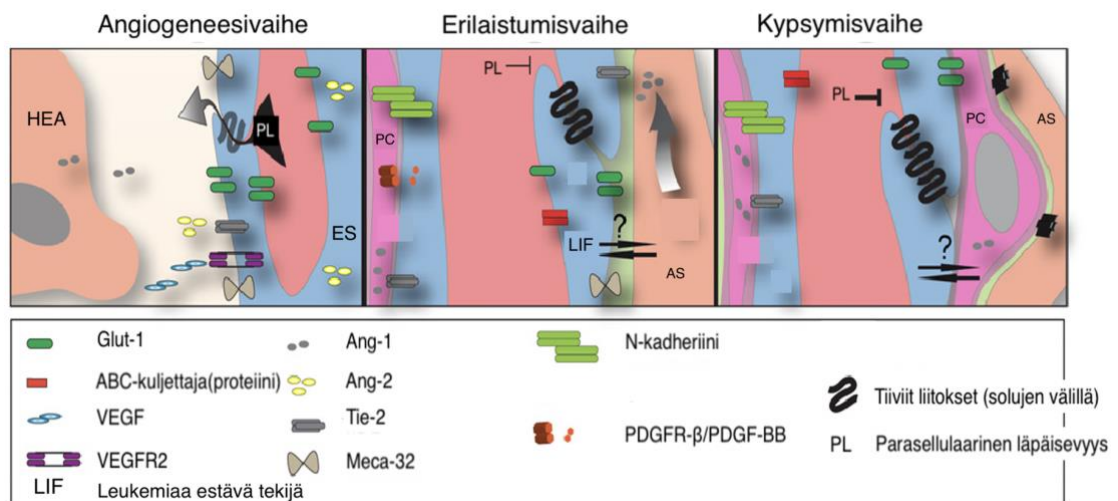
Veri-aivoesteen endoteelisolut muodostavat kypsyessään tiiviitä liitoksia aivoissa tapahtuvan angiogeneesin, verisuonten erilaistumisen ja kypsymisen aikana. Tiiviit liitokset erottavat endoteelit myös muiden kudosten endoteelisoluista luomalla fyysisen esteen vierekkäisten endoteelisolujen välille aivokapillaareissa ja sulkemalla tiiviisti niiden välisen tilan. Tämä estää aineiden hallitsemattoman kulkeutumisen verenkierron ja aivokudosten välillä. Ne reagoivat aivojen mikroympäristöön monimutkaisella tavalla. Tiiviit liitokset rajoittavat ja hallitsevat pääasiallisesti epiteeli- ja endoteelisolujen välistä parasellulaarista virtausta (engl. paracellular flux). Tiiviit liitokset kehittyvät jo varhaisessa vaiheessa, mutta Ang-1 lisääntyminen kehityksen edetessä johtaa niiden vahvistumiseen, ja ne näkyvätkin rakenteena pidempinä sekä paksumpina kuvan 8. kypsymisvaiheessa. Tässä kohtaa solujen väliset tiiviit liitokset kehittyvät monimutkaisimmiksi ja ahtaammiksi, jolloin pienempienkin polaaristen molekyylien läpikäisy muuttuu vaikeammaksi. (Liebner ym., 2011)

Erilaistumisvaiheessa aivojen endoteelisolujen fenotyyppi muuttuu, jonka seurauksena solut vähentävät Meca-32-antigeenin ilmentymistä. Meca-32 on glykoproteiini ja se ilmenee alkionkehityksen aikana aivojen verisuonistossa voimakkaasti päivään 16 asti ja häviää sen jälkeen. Väheneminen on tärkeää tässä kohtaa sillä voimakas jatkuva ilmentyminen voi vaikuttaa veri-aivoesteen ominaisuuksiin negatiivisesti sekä korkeaan parasellulaariseen läpäisevyyteen (engl. paracellular permeability). Meca-32:sta voidaan käyttää eräänlaisena merkkiaineena kertomaan aivojen verisuonistossa tapahtuvasta endoteelien erilaistumisesta. Se ilmenee endoteelisolussa sen alkaessa erilaistumaan ja kehittämään itselleen veri-aivoesteeseen tarvittavia ominaisuuksia. Samaan aikaan Glut-1 määrä endoteelin ontelon ulkoisella pinnalla lisääntyy sekä ABC-kuljettajaproteiineja ekspressoidaan *de novo*. (Liebner ym., 2011)

ABC-kuljettajaproteiinit säätelevät erilaisten molekyylien kulkeutumista veri-aivoesteen endoteelisolujen läpi (Miller, 2015). Kulkeutuminen tapahtuu ATP:n hydrolyysistä saatavan energian avulla ja substraattien siirtäminen tapahtuu aktiivisesti solukalvojen läpi mukaan lukien aivojen endoteelisolujen muodostaman ontelon ulkoisen ja sisäisen kalvon läpi (Ebinger & Uhr, 2006; Miller, 2015).

Endoteelisolujen fenotyyppiset muutokset tapahtuvat niiden ollessa läheisessä yhteydessä perisytyttien sekä astrogliaisolujen kanssa. Koska perisytytit ovat oleellisessa osassa esteen kehittymistä, niiden kehittyminen veri-aivoesteen verisuonten yhteyteen varmistetaan useilla mekanismeilla. Perisytytit ilmentävät angiogeenista endoteelin muodostusta, joka

vapauttaa leukemiaa estäviä tekijöitä, mikä taas tukee astroosyyttien erilaistumista niille yhteisistä neuroektodermien esiasteista. Endoteelin ja perisytyttien välinen suora kontakti aivojen alueella tapahtuvan angiogeneesin aikana mahdollistuu N-kadheriinin avulla. N-kadheriini on vyöliitosten (engl. adheres junction) reseptori. Sen mahdollistama suora kontakti on ratkaisevassa asemassa endoteelin oikeanlaisen kasvun ja vakauden/stability kannalta. Vyöliitokset ovat mekaanista kestävyyttä tuovia liitoksia solujen välillä, joiden liitosproteiinina toimii kadheriini. Tällainen liitos sijaitsee usein tiiviin liitoksen alapuolella. (Liebner ym., 2011)



**Kuva 8.** Veriaivoesteen kehitysvaiheiden olennaiset tekijät. Angiogeneesivaiheessa Glut-1 on tasaisesti jakautunut versovassa suonirakenteessa. Tässä kohtaa vielä kehittyvän tiiviin liitoksen heikkous aiheuttaa aineiden helppoa kulkeutumista versovan endoteelin jatkeessa. Endoteeli suuntaa kohti VEGF:ää hermosolun esiasteen läpi. VEGF sitoutuu endoteelireseptoriinsa VEGFR2. Meca-32 ilmentää endoteelin spesifisyyden kehityksen alkua sekä parasellulaarista läpäisevyyttä. Ang-1 sitoutuminen Tie-2 reseptoriin rekrytoi ympärille verisuonta ympäröiviä soluja ja ABC-kuljettajaproteiini vastaa endoteelisolun läpi kulkeutuvasta liikenteestä. N-kadheriini edistää perisytyttien sekä endoteelin välistä suoraa kontaktia aivojen angiogeneesin aikana. Endoteelisolut tuottavat leukemiaa estävää tekijää, joka indusoi astroosyyttien kypsymistä. Näin astroosyyttien ja siten Ang-1 määrää kasvaa erilaistumisvaiheessa. Kysymysmerkki kuvaa rakenteiden välillä olevaa molekyyli mekanismien liikkumiseen liittyvää epätietoisuutta. Kuva muokattu lähteestä Liebner ym., 2011.

### 5.3 Kehityksen taustalla oleva signaointi

Veri-aivoesteen kehittyminen vaatii myös monenlaista signaointia muodostuakseen ehjäksi kokonaisuudeksi. Esimerkiksi Wnt/ $\beta$ -kateniinin signaalireitti on välttämätön sille, että veri-aivoeste kehittyä ja muodostuu vaaditulla tavalla sekä sen ylläpitämiseksi. Välttämättömyys johtuu siitä, että geneettinen häiriö tällä signaalireitillä johtaa tutkimusten mukaan veri-aivoesteen ominaisuuksien katoamiseen. Geneettinen häiriön luoma juurisyy johtuu angiogeneesissä tapahtuvista verisuonten muodostumisongelmista



sekä epämuodostumista, jotka kehittyvät aivojen alueelle signaalireitin keskushermostospesifisyyden takia.  $\beta$ -kateniini on oleellinen osa Wnt-signaalointia ja on huomattu, että juuri sen poistaminen endoteelisoluista johtaa suuriin angiogeneesivirheisiin. (Daneman ym., 2009)

Daneman ym. (2009) tutkivat myös Wnt7-geenissä tapahtuvaa mutaatiota. He selvittivät, että nimenomaan Wnt7-geenissä tapahtuvat mutaatiot johtavat myös keskushermostospesifisiin epämuodostumiin verisuonissa. Heidän mukaansa tämä keskushermostospesifisyys kertoo siitä, että keskushermoston angiogeneesiä säätelevät vaihtuvat molekyylimekanismit. He huomasivat myös, että Wnt-signaloinnin estäminen useassa eri signaalipolun vaiheessa tuotti samanlaisen fenotyypin. Tästä pääteltiin, että nimenomaan keskushermostolle tyypilliset viat angiogeneesissa johtuisivat Wnt/ $\beta$ -kateniinisiglaoinnin estämisestä. Tällä poissuljettiin mahdollisuus siihen, etteivät viat johtuisi näiden molekyylien muista toiminnoista. (Daneman ym., 2009)

Molekyylimekanismeja, jotka säätelevät keskushermoston angiogeneesiä ja veri-aivoesteen muodostumista ei tunneta kovin hyvin. Kokeiden avulla on kuitenkin saatu molekulaarista näyttöä siitä, että veri-aivoesteen muodostuminen sekä angiogeneesi ovat todellakin osittain yhteydessä. Daneman ym. (2009) tutkimukset suoritettiin in vivo kolmella eri menetelmällä, joista jokainen osoitti, että Wnt/ $\beta$ -kateniinisignaalia tarvitaan erityisesti keskushermoston verisuonten muodostumiseen. (Daneman ym., 2009)

#### *5.4 Rakenne ja toiminta*

Veri-aivoeste toimii keskushermostossa fyysisenä porttimaisena rakenteena, joka säätelee erilaisten aineiden pääsyä verenkierrosta aivosoluihin. Tällaisia aineita ovat esimerkiksi erilaiset lääkkeet, kemikaalit, ravintoaineet, aineenvaihduntatuotteet ja hormonit (Saili ym., 2017). Myös alkio- ja sikiövaiheessa veri-aivoeste toimii valikoivana esteenä sille mikä osa kehittyvässä verenkierrosta olevasta aineista pääsee aivosoluihin. Daneman ym. (2010) mukaan vaikka veriaivoeste on toiminnallinen jo alkion varhaisvaiheessa se ei kuitenkaan ole vielä rakenteena täydellinen sillä siitä puuttuu esimerkiksi astrozyttien sekä myelinisoitujen neuronien kypsiä solutyyppejä (engl. mature cell types). Kypsät solutyypit ovat valmiita esimerkiksi vasta syntymän jälkeen ja laajentavat prosesseja verenkierron ja aivosolujen välillä luoden veri-aivoesteestä valmiin kokonaisuuden (Daneman ym., 2010).

Astrozyytit erilaistuvat radiaalisista gliasoluista ja tämä erilaistuminen toimii yhtenä perustana veri-aivoesteen muodostumiselle, sillä astrozyytit säilyttävät läheisen yhteyden hiussuonien kanssa (Carlson, 2023, ss. 218–256). Astrozyyteillä on merkittävä rooli veri-aivoesteen kypsymisessä ja ylläpidossa. Gullotta ym. 2023 mukaan mikrogliaat ovat keskushermoston immuunisoluja ja osallistuvat veri-aivoesteen säätelyyn valvomalla keskushermoston mikroympäristöä mukaan lukien verisuonia ja veri-aivoestettä ja reagoimalla veri-aivoesteen eheyteen ja erilaisiin ärsykkeisiin. Normaaleissa oloissa mikrogliaat ovat vuorovaikutuksessa endoteelisolujen, astrozyyttien ja perisyyttien kanssa muodostaen neurovaskulaarisen yksikön, joka auttaa säätämään veri-aivoesteen läpäisevyyttä ja toimintaa (Gullotta ym., 2023).

## 6 YHTEENVETO

Verisuonten muodostusta tapahtuu intraembryonaalisesti sekä ekstraembryonaalisesti, joista ulkoinen alkaa ensin ja jatkuu sisäisenä. Sekä intraembryonaalista, että ekstraembryonaalista verisuonten kehitystä tarvitaan, jotta kehittyvä alkio ja siitä kasvava sikiö kasvaa ja kehittyy erilaisten metabolisten tarpeiden ja rakenteiden kasvaessa. Verisuonten erilaistumista tapahtuu eri paikoissa alkio- ja sikiövaiheen varrella ja niillä on eri tehtäviä kunkin kehitysvaiheen tukemisessa. Valmiiden verisuonten muodostuminen edellyttää mesodermisolujen erilaistumisen epiteeliksi mesenkyymiepiteelisiirtymän avulla. Verisuonten muodostus ja levittäytyminen tapahtuu vaskulogeneesin ja angiogeneesin avulla, jonka jälkeen suonet kasvavat erilaistuvat ja osaltaan muovautuvat uudestaan. Verisolut kehittyvät endoteelistä muodostuvien verisuonten sisälle hematopoieesin avulla.

Verisuonten muodostus nivoutuu yhteen veri-aivoesteen muodostuksen kanssa esteen syntyessä versovan angiogeneesin tuloksena erilaisten molekyyli- ja säätelymekanismien avulla. Rakenteiden fysiologinen muovautuminen ilman häiriötekijöitä varmistaa kehittyvän terveen yksilön kasvun jatkumisen sekä lopuksi syntymisen.

Ontogian aikaisen verenkierron fysiologian ymmärtäminen on erittäin tärkeää esimerkiksi keskoslapsilla, jotka aloittavat kohdunulkoisen elämän ennen verenkierron kypsymistä kokonaan. Verenkiertoa on myös tärkeä ymmärtää, jotta pystytään tulkitsemaan ontogian aikaista sekä äidin ja alkion-sikiövaiheen välillä tapahtuvaa veren virtausta. (Finnemore & Groves, 2015)



## 7 LÄHDELUETTELO

- Augustin, H. G., Young Koh, G., Thurston, G., & Alitalo, K. (2009). Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin-Tie system. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *10*(3), 165–177. <https://doi.org/10.1038/nrm2639>
- Borasch, K., Richardson, K., & Plendl, J. (2020). Cardiogenesis with a focus on vasculogenesis and angiogenesis. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, *49*(5), 643–655. <https://doi.org/10.1111/AHE.12549>
- Bruce M. Carlson. (2014). Chapter 7 - Placenta and Extraembryonic Membranes. Teoksessa *Human Embryology and Developmental Biology* (Fifth Edition, ss. 117–135). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2794-0.00007-3>
- Carlson, B. M. (2023). *Human embryology and developmental biology* (Seventh edition.). Elsevier.
- Charbord, P., Taviani, M., Humeau, L., & Péault, B. (1996). Early Ontogeny of the Human Marrow From Long Bones: An Immunohistochemical Study of Hematopoiesis and Its Microenvironment. *Blood*, *87*(10), 4109–4119. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V87.10.4109.BLOODJOURNAL87104109>
- Cindrova-Davies, T., & Sferruzzi-Perri, A. N. (2022). Human placental development and function. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *131*, 66–77. <https://doi.org/10.1016/J.SEMCDB.2022.03.039>
- Daneman, R., Agalliu, D., Zhou, L., Kuhnert, F., Kuo, C. J., & Barres, B. A. (2009). Wnt/ $\beta$ -catenin signaling is required for CNS, but not non-CNS, angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(2), 641–646. [https://doi.org/10.1073/PNAS.0805165106/SUPPL\\_FILE/0805165106SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.0805165106/SUPPL_FILE/0805165106SI.PDF)
- Daneman, R., Zhou, L., Kebede, A. A., & Barres, B. A. (2010). Pericytes are required for blood–brain barrier integrity during embryogenesis. *Nature*, *468*(7323), 562. <https://doi.org/10.1038/NATURE09513>
- Delaney, C., & Campbell, M. (2017). The blood brain barrier: Insights from development and ageing. *Tissue Barriers*, *5*(4). <https://doi.org/10.1080/21688370.2017.1373897>
- DeSesso, J. M. (2017). Vascular ontogeny within selected thoracoabdominal organs and the limbs. *Reproductive Toxicology*, *70*, 3–20. <https://doi.org/10.1016/J.REPROTOX.2016.10.007>
- Dobrogowska, D. H., & Vorbrod, A. W. (1999). Quantitative Immunocytochemical Study of Blood-Brain Barrier Glucose Transporter (GLUT-1) in Four Regions of Mouse Brain. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *47*(8), 1021–1029. <http://www.jhc.org>
- Ebinger, M., & Uhr, M. (2006). ABC drug transporter at the blood-brain barrier: Effects on drug metabolism and drug response. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, *256*(5), 294–298. <https://doi.org/10.1007/S00406-006-0664-4/METRICS>
- Eichmann, A., Yuan, L., Moyon, D., Lenoble, F., Pardanaud, L., & Bréant, C. (2005). Vascular development: from precursor cells to branched arterial and venous networks. *The International Journal of Developmental Biology*, *49*(2–3), 259–267. <https://doi.org/10.1387/IJDB.041941AE>
- Finnemore, A., & Groves, A. (2015). Physiology of the fetal and transitional circulation. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, *20*(4), 210–216. <https://doi.org/10.1016/J.SINY.2015.04.003>

- Gerecht-Nir, S., & Itskovitz-Eldor, J. (2004). Vascular Progenitor Cells in the Human Model. *Handbook of Stem Cells, 1*, 323–328. <https://doi.org/10.1016/B978-012436643-5/50039-0>
- Gilbert, S. F. (2014). *Developmental biology* (Tenth edition.) [Book]. Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- Goasdoué, K., Miller, S. M., Colditz, P. B., & Björkman, S. T. (2017). Review: The blood-brain barrier; protecting the developing fetal brain. *Placenta, 54*, 111–116. <https://doi.org/10.1016/J.PLACENTA.2016.12.005>
- Goldie, L. C., Nix, M. K., & Hirschi, K. K. (2008). Embryonic vasculogenesis and hematopoietic specification. *Organogenesis, 4*(4), 257. <https://doi.org/10.4161/ORG.4.4.7416>
- Gullotta, G. S., Costantino, G., Sortino, M. A., & Spampinato, S. F. (2023). Microglia and the Blood–Brain Barrier: An External Player in Acute and Chronic Neuroinflammatory Conditions. *International Journal of Molecular Sciences 2023, Vol. 24, Page 9144, 24*(11), 9144. <https://doi.org/10.3390/IJMS24119144>
- Gupta, R. K., & Gupta, R. C. (2017). Placental Toxicity. *Reproductive and Developmental Toxicology*, 1301–1325. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804239-7.00068-8>
- Gürsoy-özdemir, Y., & Tas, Y. C. (2017). Anatomy and Physiology of the Blood–Brain Barrier. *Nanotechnology Methods for Neurological Diseases and Brain Tumors: Drug Delivery across the Blood-Brain Barrier*, 3–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803796-6.00001-0>
- Hendriks, M., & Ramasamy, S. K. (2020). Blood Vessels and Vascular Niches in Bone Development and Physiological Remodeling. *Frontiers in Cell and Developmental Biology, 8*, 602278. <https://doi.org/10.3389/FCCELL.2020.602278/BIBTEX>
- Herrick, E. J., & Bordoni, B. (2023). Embryology, Placenta. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551634/>
- Järvinen, T., Pöllänen, N., Pirinen, E., & Hulmi, J. (2022). Kakeksian mekanismit ja hoito. *Duodecim, 138*, 669–676.
- Kolte, D., McClung, J. A., & Aronow, W. S. (2016). Vasculogenesis and Angiogenesis. *Translational Research in Coronary Artery Disease: Pathophysiology to Treatment*, 49–65. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802385-3.00006-1>
- Liebner, S., Czupalla, C. J., & Wolburg, H. (2011). Current concepts of blood-brain barrier development. *International Journal of Developmental Biology, 55*(4–5), 467–476. <https://doi.org/10.1387/ijdb.103224sl>
- Miller, D. S. (2015). Regulation of ABC Transporters at the Blood-Brain Barrier. *Clinical pharmacology and therapeutics, 97*(4), 395. <https://doi.org/10.1002/CPT.64>
- Palis, J., & Yoder, M. C. (2001). Yolk-sac hematopoiesis: The first blood cells of mouse and man. *Experimental Hematology, 29*(8), 927–936. [https://doi.org/10.1016/S0301-472X\(01\)00669-5](https://doi.org/10.1016/S0301-472X(01)00669-5)
- Psaltis, P. J., Harbuzariu, A., Delacroix, S., Holroyd, E. W., & Simari, R. D. (2011). Resident vascular progenitor cells-diverse origins, phenotype, and function. *Journal of Cardiovascular Translational Research, 4*(2), 161–176. <https://doi.org/10.1007/S12265-010-9248-9/FIGURES/4>
- Risau, W. (1997). Mechanisms of angiogenesis. *Nature 1997 386:6626, 386*(6626), 671–674. <https://doi.org/10.1038/386671A0>
- Saili, K. S., Zurlinden, T. J., Schwab, A. J., Silvin, A., Baker, N. C., Hunter, E. S., Ginhoux, F., & Knudsen, T. B. (2017). Blood-Brain Barrier Development: Systems Modeling and Predictive Toxicology. *Birth defects research, 109*(20), 1680. <https://doi.org/10.1002/BDR2.1180>

- Sequeira Lopez, M. L. S., Chernavvsky, D. R., Nomasa, T., Wall, L., Yanagisawa, M., & Gomez, R. A. (2003). The embryo makes red blood cell progenitors in every tissue simultaneously with blood vessel morphogenesis. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 284(4 53-4). <https://doi.org/10.1152/AJPREGU.00543.2002/ASSET/IMAGES/LARGE/H60431643108.JPG>
- Taggi, V., Romo, M. R., Piquette-miller, M., Zu Schwabedissen, H. E. M., & Neuhoff, S. (2022). Transporter Regulation in Critical Protective Barriers: Focus on Brain and Placenta. *Pharmaceutics*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14071376>
- Udan, R. S., Culver, J. C., & Dickinson, M. E. (2013). Understanding vascular development. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 2(3), 327–346. <https://doi.org/10.1002/WDEV.91>
- Valli, V. E., Mcgrath, J. P., & Chu, I. (2002). *Hematopoietic System*.
- Vasudevan, A., & Bhide, P. G. (2008). Angiogenesis in the embryonic CNS: A new twist on an old tale. *Cell Adhesion & Migration*, 2(3), 167. <https://doi.org/10.4161/CAM.2.3.6485>
- Vink, C. S., Mariani, S. A., & Dzierzak, E. (2022). Embryonic Origins of the Hematopoietic System: Hierarchies and Heterogeneity. *HemaSphere*, 6(6), E737. <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000737>
- Wartiovaara, Jorma., Karkinen-Jääskeläinen, M., Wartiovaara, J., Saxén, L., & Nurmi, Arto. (1976). *Lääketieteellinen kehitysbiologia* (Jorma. Wartiovaara, M. Karkinen-Jääskeläinen, J. Wartiovaara, L. Saxén, & Arto. Nurmi, Toim.). Duodecim.
- Wheater, P. R. (1979). *Functional histology : a text and colour atlas* (H. George. Burkitt & V. G. Daniels, Toim.) [Book]. Churchill Livingstone.
- Wolpert, L. (Lewis). (2015). *Principles of development* (C. Tickle & A. Martinez Arias, Toim.; Fifth edition.). Oxford University Press.