

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ВОЛОШАНСЬКА ОЛЬГА ОЛЕКСІЇВНА

УДК : 616.16-031.63:616.831-005.4-005.8-036.11]-092.18-091.8-074/-078

ДИСЕРТАЦІЯ

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА
ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОСУДИН ПЕРИФОКАЛЬНИХ ДІЛЯНОК
ІШЕМІЧНОГО ІНФАРКТУ МОЗКУ В ДИНАМІЦІ ГОСТРОГО
ПЕРІОДУ**

222 Медицина
22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ О.О. Волошанська

Науковий керівник – **Тертишний Сергій Ігорович**, доктор медичних наук,
професор

Запоріжжя – 2021

АНОТАЦІЯ

Волошанська О.О. «Імуногістохімічна та ультраструктурна характеристика мікросудин перифокальних ділянок ішемічного інфаркту мозку в динаміці гострого періоду» – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 Охорона здоров'я). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2022.

Судинні захворювання головного мозку залишаються на сьогоднішній день однією з актуальних проблем клінічної неврології і медицини в цілому. Сучасні медичні заходи в гострому періоді ішемічного інсульту направлені насамперед на відновлення кровопостачання, а відновлення кровотоку в зоні ішемічної «напівтіні» в гострому періоді інфаркту мозку в значній мірі попереджує розширення зони інфаркту.

Дисертаційна робота присвячена встановленню основних патоморфологічних проявів ремоделювання судин перифокальних ділянок інфаркту мозку в гострому періоді, на підставі імуногістохімічного, морфометричного і електронномікроскопічного вивчення їх змін в секційному і експериментальному матеріалі.

Для досягнення поставленої мети використані наступні методи дослідження: світлова мікроскопія, електронна трансмісійна мікроскопія, морфометрія, імуногістохімічне визначення рівнів експресії маркерів VEGF-A, VEGFR-2, CD 34, CD 105, MMP-9, статистичні методи.

В роботі проаналізовано 174 спостереження померлих хворих з інфарктами мозку. В залежності від тривалості хвороби виділені терміни спостереження: 1 доба, 3, 7, 14, 21, 30 діб і більше.

Об'єктом дослідження слугували перифокальні ділянки ішемічного півкульового інфаркту мозку, а також зони поза межами ішемічних уражень.

Експеримент з моделювання церебрального інфаркту проведено на 35 білих щурах лінії Вістар, масою 200-220 гр. обох статей. П'ять інтактних білих щурів склали групу контрольних тварин. Експериментальний матеріал досліджено методом електронної мікроскопії.

Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання характеризувалися певною закономірністю: через 1-3 доби в зоні інфаркту і частково в зоні ішемічної «півтіні» дрібні капіляри, діаметром 5-10 мкм піддавалися дезінтеграції. В судинах діаметром 50 мкм і більше, прогресували деструктивні зміни, що провокувало розвиток прозапальних змін. В ендотелії і гладком'язових клітинах артерій домінували дистрофічні зміни з явищами плазморагії і лейкоцитарної інфільтрації стінки судин, відмічалися зони деендотелізації. Щільність розташування ядер ендотеліоцитів в судинах в зоні інфаркту в 1 добу в порівнянні з перифокальними ділянками інфаркту була знижена на 12,4 %. Розвиток в гострому періоді ІМ стазу крові, виражений набряк з подальшим лізисом навколосудинної паренхіми без активації клітинної реакції свідчило про важкі розлади мікроциркуляції і відсутність ефективних компенсаторних механізмів забезпечення кровообігу в перифокальних ділянках ІМ.

З 1 доби відзначалося компенсаторне посилення кровообігу за рахунок збільшення діаметра капілярів, посилення колатерального кровообігу, збільшення довжини капілярної мережі, площа експресії VEGF-A збільшувалася в 17,61 рази в порівнянні з контрольними спостереженнями. З 1 доби реєструється виражена експресія ММП-9, яка в 16,27 разів перевищувала показники контрольних спостережень. На 3 добу щільність судин збільшувалася на 16,66 %, площа експресії VEGF-A збільшувалася в 1,61 рази в порівнянні з 1 добою, визначалися максимальні показники площі експресії ММП-9.

Мікроциркуляторні зміни в перифокальних ділянках мозкового інфаркту розвивалися в двох напрямках. По-перше, якщо зміни обмежувалися розвитком стазу крові, вираженими набряклими змінами з подальшим лізисом,

набряком паренхіми без активації клітинної реакції, то такі зміни свідчили про більш важкі розлади мікроциркуляції і відсутність ефективних компенсаторних механізмів, які забезпечували б посилення кровообігу в перифокальних ділянках ішемічного ядра. Такі морфологічні зміни мали несприятливий прогноз щодо поліпшення неврологічної симптоматики у хворих. У випадках з активацією клітинної реакції, яка проявлялася наявністю крайового стояння лейкоцитів з подальшим розвитком діapedезу в периваскулярний простір, обсяги інфаркту були менше. В таких випадках серед лейкоцитів переважали моноцити і лімфоцити. Переважання нейтрофілів відмічалось у померлих через 1 добу від початку інфаркту. Наявність саме нейтрофілів в судинах і навколосудинному просторі сприяло прогресуванню подальших гемо- і коагуляційних порушень.

На 7 - 14 добу посилювався ангиогенез і васкулогенез за рахунок брунькування судин, появи ендотеліальних проліфератів, що підтверджувалося посиленою експресією в цих ділянках CD34 і CD105. Експресія CD105 відзначалася і на перицитах, що свідчило про їх активну участь в ангиогенезі. Визначалася виражена рівномірна мембранна експресія CD105 по периферії ішемічного вогнища. Посилення брунькування капілярів призводило до значної щільності капілярного русла на окремих ділянках. Мікросудини набували більш розгалужений вигляд, по периметру некротичного вогнища визначалися ділянки хаотичного їх розташування.

У померлих на 7 добу щільність судин за даними рівня експресії CD 34 становила 26 (20,0; 28,0) в УСПЗ, що статистично більше на 23,8 % ($p < 0,05$) в порівнянні з контрольними значеннями. На 7 добу відмічалися максимальні показники площі експресії VEGF-A - 7,77 (6,59; 8,19) %, що на 24,83 % вище в порівнянні з добою. Площа експресії MMP-9 дещо знижувалася (площа - 9,71 (8,73; 10,77)), але залишалася високою в ділянках лейкоцитарної інфільтрації і по ходу судин. Значна експресія MMP-9 визначалася в ділянках перекалібрування артерій. Відповідно до змін VEGF-A змінювалася інтенсивність експресії VEGFR2. До 7 доби площа експресії збільшувалася,

однак в порівнянні з VEGF, інтенсивність і площа експресії була значно меншою, враховуючи локалізацію VEGFR2 виключно в ендотеліальних клітинах.

На 14 добу продовжувалося новостворення дрібних судин на кордоні з ділянкою інфаркту. Щільність судин в порівнянні з іпсилатеральною і контрлатеральною півкулею зростала відповідно на 48,4 % і 54,56 %. З 14 доби знижувалися площі експресії CD34 і VEGF-A.

На 21 добу захворювання діаметр капілярів в іпсилатеральній півкулі становив 6,45 (6,15; 6,87) мкм, в контрлатеральній – 6,31 (6,03; 6,72) мкм. Інтенсивність і площа експресії CD34, VEGF-A і ММП-9 значно знижувалися і становили відповідно 1,06 (0,85; 1,26) %, 3,76 (3; 4,32) і 4,36 (3,55; 5,95) %. На 30 добу хвороби діаметр капілярів в півкулі на стороні ураження становив 5,94 (5,49; 6,25) мкм.

На 30 добу інтенсивність і площа експресії CD34, VEGF-A і ММП-9 значно знижувалися. Площа експресії CD34 становила 0,53 (0,41; 0,64) %. VEGF – 0,25 (0,18; 1,35) %, ММП-9 – 3,67 (3,02; 5,66) %. Більш значна експресія VEGF визначалася в ділянках гліомезодермальної організації, які характеризувалися хаотично розташованими гліальними елементами і волокнами, наявністю гематогенних макрофагів, лімфоцитів, склерозованих мікросудин, представлених тонкими тяжами.

Таким чином на 30 добу зниження експресії маркерів неоангіогенезу, та ММП-9, що приймає участь в ремоделінгу структур позаклітинного матриксу відповідає потребі в кровозабезпеченні ділянок організації мозкового інфаркту.

Аналіз світлооптичних препаратів довів неоднозначність змін з боку мікроциркуляторного русла в кожному конкретному випадку. Частина випадків характеризувалася значною щільністю новостворених судин за рахунок ангіо- і васкулогенезу, але відновлення ефективного кровообігу в таких судинах не спостерігалось внаслідок перекалібрування проксимально розташованих крупних артеріол, враховуючи, що ці процеси йшли паралельно

в часі. Дрібні судини не заповнювались форменими елементами крові, в навколишній паренхімі формувались ділянки невідновлювального кровообігу. Надалі частина судин спадалася, а з часом залишалися тільки склерозовані судинні тяжі, що слід розцінювати як адаптивну реакцію судинного русла на зниження потреби в кровозабезпеченні ділянок організації мозкового інсульту.

Ультраструктурні зміни в судинах і навколосудинному просторі в перифокальних ділянках інфаркту мозку в перші 3 доби характеризувалися периваскулярним набряком, деструктивними змінами ендотелію капілярів і перицитів. Ушкодження базальних мембран капілярів перифокальної зони інфаркту частіше не мало поширеного характеру і проявлялося її потовщенням і зниженням її електронної щільності. При значному руйнуванні базальної мембрани, відзначалася геморагічна інфільтрація і виражений набряк периваскулярного простору. Стан міжклітинних контактів залишався відносно стабільним навіть при значному пошкодженні цитоплазматичних ультраструктур, але наростання дистрофічно-деструктивних змін ендотелію з наявністю процесів коагуляції в цитоплазмі і ядрі призводило до порушення клітинних контактів. Прогресування периваскулярного набряку, значні ультраструктурні зміни в тілах і відростках периваскулярних астроцитах, ендотелії і перицитах виявлялися критичними в плані зворотного розвитку і відновлення структури капілярів.

Відновлення структури капілярів в перифокальних ділянках ішемічного ушкодження реєструвалося досить наочно на 7 добу експерименту. Відновлювалися міжклітинні контакти і цитоплазматичні структури ендотелію.

Через 14 діб процеси відновлення в ендотелії мікросудин набували більш поширеного характеру з гіпертрофією внутрішньоклітинних мембранних структур. Разом з цим посилювалися процеси фагоцитозу зруйнованих структур, що проявлялось значною кількістю фаголізосом у відростках макрофагів, контактуючих з судинами і цитоплазмою перицитів. На 14 добу і

більш пізні терміни в перифокальних ділянках незворотних ішемічних змін навколо судин виявлявся репаративний гліоз.

Наукова новизна отриманих результатів. Отримані нові дані щодо еволюції структурних ушкоджень мікроциркуляторного русла в гострому періоді ішемічного інфаркту мозку (до 30 діб). Уточнені дані щодо морфологічних особливостей функціонуючої капілярної мережі в перифокальних ділянках інфаркту мозку, експресії CD 34, CD 105, експресії васкулоендотеліального фактору росту (VEGF-A) і його рецепторів VEGFR-2 в різні терміни гострого періоду ІМ. Уточнена роль матриксної металопротеїнази (MMP-9) в процесах росту і ремоделювання судинної мережі в динаміці гострого періоду ішемічного ІМ. В експерименті на щурах отримані нові дані щодо ультраструктурних змін в ендотелії судин, перицитах і навколосудинному просторі перифокальних ділянок ішемічного ядра в різні терміни гострого періоду ІМ. На підставі комплексної морфофункціональної оцінки мікроциркуляторного русла, встановлені морфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ІМ в динаміці гострого періоду.

Практичне значення отриманих результатів. Для оцінки ефективності стану мікроциркуляції в перифокальних ділянках ІМ, необхідно враховувати, що ранньою реакцією, направленою на збільшення кровообігу в перифокальних ділянках ІМ, є посилення колатерального кровообігу, який можна оцінити в гістологічних препаратах за зниженням індексу Керногана, збільшенням щільності судин, зростанням довжини капілярної мережі. Встановлено, що виражений набряк паренхіми без активації клітинної реакції, розвиток стазу крові, наявність еритроцитарних і лейкоцитарних агрегатів, внутрішньосудинний гемоліз, формування фібринових тромбів в судинах є передумовою важких розладів мікроциркуляції і свідчить про відсутність ефективних компенсаторних механізмів забезпечення посиленого кровообігу в перифокальних ділянках ішемічного ядра.

Обґрунтовано доцільність оцінки активації ангіо- і васкулогенезу за зростанням площі експресії маркерів неоангіогенезу, MMP9, появою ендотеліальних проліфератів і брукнування судин. Результати проведеного дослідження можуть використовуватися в патологоанатомічній практиці для аналізу танатогенезу при ішемічних інфарктах мозку.

Результати дослідження впроваджено в практику та використовуються в роботі відділів патологоанатомічного та судово-медичного бюро КУ «Запорізьке обласне бюро СМЕ» ЗОР, КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня», КЗ «Дніпропетровське обласне патологоанатомічне бюро».

Матеріали роботи впроваджені у педагогічний процес та наукову роботу кафедр патологічної анатомії і судової медицини Дніпровського державного медичного університету МОЗ України, кафедри патологічної і топографічної анатомії Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедри патологічної анатомії Медичного інституту Сумського державного університету МОН України. Впровадження підтверджуються відповідними актами.

Публікації результатів дослідження. Результати дисертаційного дослідження опубліковані у 6 наукових працях, з них 3 статті (2 - у наукових фахових видання України, 1 в журналі, що включений до наукометричної бази Web of Science), 1 стаття у моноавторстві; 3 тези у матеріалах конгресів та конференцій.

Ключові слова: інфаркт мозку, судинне ремоделювання, ангіогенез, васкулогенез, імуногістохімія, ультраструктура.

SUMMARY

Voloshanska O.O. Immunohistochemical and ultrastructural characteristics of microvessels of perifocal areas of ischemic cerebral infarction in the dynamics of the acute phase. - qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy by the field of study 222 "Medicine" (22 Healthcare). - Zaporizhzhia State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

Zaporizhzhya State Medical University of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Zaporizhzhya, 2022.

Vascular diseases of the brain remain today one of the most actual problems of clinical neurology and medicine in general. Modern medical measures in the acute phase of ischemic stroke are aimed primarily at restoring blood supply, and the restoration of blood flow in the area of ischemic "penumbra" in the acute phase of cerebral infarction largely prevents the expansion of the infarct area.

The dissertation is devoted to the establishment of the main pathomorphological manifestations of vascular remodeling of perifocal areas of cerebral infarction in the dynamics of the recovery phase on the basis of immunohistochemical, morphometric and electron microscopic study of their changes in sectional and experimental material.

To achieve this goal the following research methods were used: light microscopy, electron transmission microscopy, morphometry, immunohistochemical determination of expression levels of markers VEGF-A, VEGFR-2, CD 34, CD 105, MMP-9, statistical methods.

The study analyzes 174 observations of deceased patients with cerebral infarction. Depending on the duration of the disease there are observation periods: 1 day, 3,7,14,21, 30 days or more.

The object of the study were perifocal areas of ischemic hemispheric infarction of the brain, as well as areas outside the ischemic lesions.

An experiment to model a cerebral infarction was performed on 35 white Wistar rats weighing 200-220 g. both sexes. Five intact white rats formed a group of control animals. The experimental material was studied by electron microscopy.

It is established that pathomorphological manifestations of vascular remodeling are characterized by a certain pattern. After 1-3 days in the area of infarction and partially in the area of ischemic "penumbra" small capillaries with a diameter of 5-10 μm are subject to disintegration. In vessels with a diameter of 50 μm and more, destructive changes take part, which provokes the development of pro-inflammatory changes. In endothelium and smooth muscle cells of arteries the expressed dystrophic changes dominate, the phenomena of plasmorrhagia and leukocyte infiltration of a vessel wall are noted. The endothelial lining of the vessels is partially disrupted, in some areas there are areas of deendothelialization. The density of endothelial cell nuclei in the vessels in the area of infarction on the first day in comparison with the perifocal areas of infarction was reduced by 12.4%.

The development of blood stasis, severe edema with subsequent lysis of the perivascular parenchyma without activation of the cellular response indicated more severe microcirculation disorders and the lack of effective compensatory mechanisms to ensure blood circulation in the perifocal areas of ischemic stroke.

From the 1st day there was a compensatory increase in blood circulation due to increased capillary diameter, increased collateral circulation, increased length of the capillary network, the area of expression of VEGF-A increased 17.61 times compared with control observations. From the 1st day, a pronounced expression of MMP-9 was registered, which was 16.27 times higher than that of control observations. On the 3rd day, the vascular density increased by 16.66%, the area of expression of VEGF-A increased by 1.61 times compared with day 1, determined the maximum expression area of MMP-9.

Microcirculatory changes in the perifocal areas of cerebral infarction develop in two directions. First, if the changes were limited to the development of blood stasis, pronounced edematous changes with subsequent lysis, edema of the parenchyma without activation of the cellular response, such changes indicate more

severe microcirculation disorders and lack of effective compensatory mechanisms to enhance blood circulation in the perifocal areas of ischemic nuclei. Such morphological changes had an unfavorable prognosis for the improvement of neurological symptoms in patients. In cases with activation of the cellular response, which was manifested by the presence of marginal leukocytes with the subsequent development of diapedesis in the perivascular space, the volume of infarction was less. In such cases, monocytes and lymphocytes predominated among leukocytes. The predominance of neutrophils was observed in the dead 1 day after the onset of myocardial infarction. The presence of neutrophils in blood vessels and vascular space contributed to the progression of further hemo- and coagulation disorders.

On days 7-14, increased angiogenesis and vasculogenesis due to vascular budding, the appearance of endothelial proliferates in the form of an increase in the density of activated endothelial cells, as evidenced by increased expression in these areas of CD34 and CD105. CD105 expression was also observed on pericytes, indicating their active participation in angiogenesis. The expressed uniform membrane expression of CD105 on periphery of the ischemic center was defined. Increased budding of capillaries led to a significant density of the capillary bed in some areas. Microvessels acquired a more branched appearance, along the perimeter of the necrotic focus areas of their chaotic location were everywhere.

In those who died on the 7th day, the median vascular density according to the expression level of CD 34 was 26 (20; 28) in USPZ. Compared with the control values, there was a statistically significant increase in this indicator by 23.8% ($p < 0.05$). On the 7th day, the maximum expression area of VEGF-A was observed - 7.77 (6.59; 8.19)%, which is 24.83% higher compared to the 3rd day. The expression area of MMP-9 decreased slightly (median area - 9.71 (8.73; 10.77)), but remained high in areas of leukocyte infiltration and along the vessels. Significant expression of MMP-9 was determined in the areas of arterial recalibration. According to the changes in VEGF-A, the intensity of VEGFR2 expression changed. By day 7, the area of expression increased, however, compared with VEGF, the intensity and area

of expression was significantly lower, given the localization of VEGFR2 exclusively in endothelial cells.

On the 14th day, the new creation of small vessels on the border with the site of the ischemic attack continued. The density of blood vessels in comparison with the ipsilateral and contralateral hemispheres increased by 48.4% and 54.56%, respectively. From 14 days the areas of expression of CD34 and VEGF-A decrease.

On the 21st day of the disease, the diameter of the capillaries in the ipsilateral hemisphere was 6.45 (6.15; 6.87) μm , in the contralateral - 6.31 (6.03; 6.72) μm . The intensity and median areas of expression of CD34, VEGF-A and MMP-9 were significantly reduced and amounted to 1.06 (0.85; 1.26)%, 3.76 (3; 4.32) and 4.36, respectively. (3.55; 5.95)%. On the 30th day of the disease, the diameter of the capillaries in the hemisphere on the affected side was 5.94 (5.49; 6.25) μm .

At day 30 and later, the intensity and area of expression of CD34, VEGF-A and MMP-9 were significantly reduced. The median area of CD34 expression was 0.53 (0.41; 0.64)%. VEGF - 0.25 (0.18; 1.35)%, MMP-9 - 3.67 (3.02; 5.66)%. More significant expression of VEGF was determined in areas of gliomesodermal formation, which were characterized by chaotically located glial elements and fibers, the presence of hematogenous macrophages, lymphocytes, sclerosed microvessels, represented by thin strands.

Thus, on the 30th day, the reduction of the expression of markers of neoangiogenesis and MMP-9, which is involved in the remodeling of extracellular matrix structures, meets the need for blood supply to the sites of cerebral infarction.

The analysis of light-optical drugs proved the ambiguity of changes in the microcirculatory tract in each case. Some cases were characterized by a significant density of newly formed vessels due to angio- and vasculogenesis, but the restoration of efficient blood circulation in such vessels was not observed due to recalibration of proximal large arterioles, given that these processes were parallel in time. Small vessels were not filled with uniform elements of blood, in the surrounding parenchyma areas of non-restorative blood circulation were formed. Later, part of the vessels collapsed, and over time there were only sclerosed vascular cords, which

should be regarded as an adaptive response of the vascular bed to reduce the need for blood supply to areas of stroke at the stage of cyst formation.

Ultrastructural changes in the vessels and perivascular space in the perifocal areas of cerebral infarction in the first 3 days were characterized by perivascular edema, destructive changes in the endothelium of capillaries and pericytes. Damage to the basement membranes of the capillaries of the perifocal infarct zone was often not common and was manifested by its thickening and reduction of its electron density. With significant destruction of the basement membrane, there was hemorrhagic infiltration and severe edema of the perivascular space. The state of intercellular contacts remained relatively stable even with significant damage to cytoplasmic ultrastructures, but the increase in dystrophic and destructive changes in the endothelium led to a violation of cell contacts. Progression of perivascular edema in the perifocal areas of infarction, significant ultrastructural changes in the bodies and processes of perivascular astrocytes, endothelium and pericytes were critical in terms of reverse development and restoration of capillary structure.

Restoration of the structure of capillaries in the perifocal areas of ischemic injury occurred quite early and was registered quite clearly on the 7th day of the experiment. Restoration of the structure of intercellular contacts and cytoplasmic structures of the endothelium was noted.

After 14 days, the processes of recovery in the endothelium of microvessels became more common with hypertrophy of intracellular membrane structures. At the same time, the processes of phagocytosis of destroyed structures intensified, which was manifested by the presence of a significant number of phagolysosomes in the processes of macrophages in contact with blood vessels and the cytoplasm of pericytes. On the 14th day and later in the perifocal areas of irreversible ischemic changes around the vessels was reparative gliosis.

Scientific novelty of the obtained results. New data on the evolution of structural damage to the microcirculatory tract at different times of ischemic stroke have been obtained. The data on the features of the functioning capillary network in the perifocal areas of infarction, the expression of CD 34, CD 105, the expression of

vasculoendothelial growth factor (VEGF-A) and its receptors VEGFR-2 at different times of ischemic stroke. The role of matrix metalloproteinase (MMP-9) in the processes of growth and remodeling of the vascular network in the dynamics of ischemic stroke has been clarified. During the experiment on rats, new data were obtained on ultrastructural destructive and reparative changes in the vessels of the microcirculatory tract at different times of cerebral infarction. On the basis of a complex morphofunctional assessment of the microcirculatory tract, the features of vascular remodeling in the perifocal areas of ischemic stroke in the dynamics of the acute phase are established.

The practical significance of the results obtained. To assess the effectiveness of microcirculation in the perifocal areas of ischemic stroke, we must admit that an early response to increase blood circulation in the perifocal areas of ischemic stroke is increased collateral circulation, which can be assessed in histological specimens by decreasing Kernogan index, increasing vascular density. It was found that severe parenchymal edema without activation of cellular response, development of blood stasis, the presence of erythrocyte and leukocyte aggregates, intravascular hemolysis, the formation of fibrin clots in blood vessels is a prerequisite for severe microcirculation disorders and indicates a lack of effective compensatory mechanisms.

The expediency of assessing the activation of angio- and vasculogenesis by increasing the area of expression of markers of neoangiogenesis, MMP9, the appearance of endothelial proliferates and vascular budding is substantiated. The results of this study will help to directly determine the timing of activation of angiogenesis, which should be used in pathological practice for the analysis of thanatogenesis in ischemic stroke.

The results of the study are implemented in practice and are being used in a nonprofit organization "Dnipro Regional Pathological Bureau", a nonprofit organization "Kyiv Regional Clinical Hospital", a nonprofit organization "Zaporizhzhya Regional Bureau of forensic analysis" ZOR, The materials of the study are introduced into the pedagogical process and scientific work of the

departments of pathological anatomy and forensic medicine of the Dnipro State Medical University, the department of pathological and topographic anatomy of the National University of Health of Ukraine named after P.L. Shupyk, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine of Zaporizhia State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Pathological Anatomy of the Medical Institute of Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine. Implementations are confirmed by relevant acts.

Publication of research results. The results of the dissertation research have been published in 6 scientific works, including 3 articles (2 - in scientific professional journals of Ukraine, 1 – in the scientific journal indexed in the Web of Science database), 1 article in mono-authorship; 3 abstracts in the materials of congresses and conferences.

Key words: cerebral infarction, vascular remodeling, angiogenesis, vasculogenesis, immunohistochemistry, ultrastructure.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах. *Патологія*. 2020. № 2(49). С. 234-240. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212808> (*Дисертант виконала набір матеріалу, патогістологічне дослідження*).
2. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Ультраструктурні зміни в мікросудинах і периваскулярному просторі при інфаркті головного мозку в експерименті. *Морфологія*. 2020. Т.14, №4. С. 16-28. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.4.16-28> (*Дисертант виконала набір матеріалу, патогістологічне дослідження*).
3. Волошанська О.О. Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку. *Буковинський медичний вісник*. 2021. Т.25, №2 (98). С. 22-28. DOI: 10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.4 (*Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів*).
4. Волошанська О.О. Морфологічні зміни судинного русла в ранні терміни ішемічного інсульту. *Медична наука у практику охорони здоров'я : всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених (м. Полтава, 27 лист. 2020р.)*. Полтава, 2020р. С.33-34. (*Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів*).
5. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Патоморфологічні зміни мікроциркуляторного русла в перифокальній області інфаркту мозку. *Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря : міжнар. наук.-практ. конф. (м. Вінниця, 10-11 квіт. 2019р.)*. Вінниця, 2019. С. 34-36. (*Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів*).
6. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Патоморфологія мікроциркуляторних розладів в гострому періоді ішемічного інсульту. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації : збірник тез доп. наук.-практ. конф. з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 2019р.)*. Запоріжжя, 2019. С.4-5. (*Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів*).

ЗМІСТ

| | |
|--|-----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ | 19 |
| ВСТУП | 20 |
| РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ РЕМОДЕЛЮВАННЯ СУДИН ПЕРИФОКАЛЬНИХ ДІЛЯНОК ІШЕМІЧНОГО ІНФАРКТУ МОЗКУ | 26 |
| 1.1 Патогенетичні механізми розвитку ішемічного інсульту | 27 |
| 1.2 Морфологічні зміни церебральних судин в перифокальних зонах ішемічного інфаркту головного мозку | 30 |
| 1.3 Ангіогенез при ішемії | 35 |
| 1.3.1 Фактори зростання судин і їх роль при ішемії мозку | 40 |
| 1.3.2 Матриксні металопротеїнази і їх роль в патогенезі ішемічного інсульту і в процесах ангіогенезу | 45 |
| 1.4 Ультраструктурні зміни судин при ішемічному інсульті | 49 |
| РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ | 51 |
| 2.1 Матеріал дослідження | 51 |
| 2.2 Методи дослідження | 56 |
| РОЗДІЛ 3 ДИНАМІКА ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В РІЗНІ ТЕРМІНИ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ | 63 |
| 3.1 Морфологічна характеристика мікроциркуляторного русла в перифокальних ділянках мозкового інфаркту | 63 |
| 3.2 Морфологічна характеристика стану колатерального кровообігу при інфаркті мозку | 81 |
| 3.3 Морфологічні прояви посилення ангіогенезу і перебудови судинного русла в перифокальних ділянках ішемічного інфаркту | 90 |
| РОЗДІЛ 4 ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРИФОКАЛЬНИХ ДІЛЯНОК ІШЕМІЧНОГО ІНФАРКТУ МОЗКУ | 102 |
| 4.1 Імуногістохімічна характеристика процесів | |

| | |
|---|-----|
| неоваскуляризації перифокальних ділянок мозкового інфаркту за даними експресії маркерів CD 34 і CD 105 | 102 |
| 4.2 Імуногістохімічна характеристика процесів неоваскуляризації перифокальних ділянок мозкового інфаркту за даними експресії маркерів VEGF-A і VEGFR -1 | 127 |
| 4.3 Експресія MMP-9 в перифокальних ділянках інфаркту мозку | 139 |
| РОЗДІЛ 5 Ультроструктурні зміни в судинах мікроциркуляторного русла при експериментальному інфаркті мозку | 150 |
| РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ | 189 |
| ВИСНОВКИ | 209 |
| ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ | 212 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | 213 |
| ДОДАТОК А АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ | 244 |
| ДОДАТОК Б СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ | 251 |
| ДОДАТОК В ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ | 253 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ІГХ – імуногістохімія

ІКн – індекс Керногана

ІКр – індекс кровопостачання

ІМ – інфаркт мозку

УСПЗ – умовно стандартизоване поле зору

CD34 – Антиген гемопоетичних клітин попередників, експресується в нормі на
ранніх гемопоетичних клітинах попередниках і клітинах ендотелію капілярів;

CD105 – ендоглін

MMP-9 – матриксна металопротеїназа 9

VEGF-A – судинно-ендотеліальний фактор росту А

VEGFR-2 – рецептор судинно-ендотеліального фактору росту 2-го типу

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Судинні захворювання головного мозку залишаються на сьогоднішній день однією з актуальних проблем клінічної неврології і медицини в цілому. Це зумовлено перш за все їх поширеністю, а також високими показниками смертності [1-3].

Сучасні медичні заходи в гострому періоді ішемічного інсульту направлені насамперед на відновлення кровопостачання в ділянках ішемії, для збереження нейронів і запобігання їх загибелі. Однак розвиток ішемічного інфаркту часто супроводжується незворотними змінами мікроциркуляторного русла в перифокальних ділянках інфаркту мозку. Приблизно через 30 хвилин спостерігається набухання ендотелію, через 1 годину - підвищена проникність мембран; через 6 годин з'являються ознаки некрозу окремих ендотеліальних клітин. Такі зміни не сприяють відновленню кровопостачання в перифокальних зонах інфаркту мозку. У той же час після розвитку інсульту, поряд з незворотними тканинними змінами, досить швидко розвиваються процеси, які направлені на відновлення порушеного кровообігу. У періінфарктній області у відповідь на зниження кровопостачання і морфо-функціональні порушення гематоенцефалічного бар'єру активуються процеси неоваскуляризації [4]. Активація проангіогенних генів і секреція чинників зростання сприяє як ангіогенезу, так і виживанню нейронів і гліальних клітин в періінфарктних областях мозку [5]. У роботах низки дослідників показано, що неоваскуляризація є сприятливою ознакою, що дозволяє спрогнозувати поліпшення процесів відновлення в тканинах мозку і репарацію нейронів в зоні ішемічної напівтіні [6].

Незважаючи на значну кількість досліджень останнього десятиліття, які присвячені вивченню процесів судинного ремоделювання при ішемічному інфаркті мозку, гістологічні і ультраструктурні дослідження з даної проблематики представлені в одиничних морфологічних дослідженнях [7, 8].

Таким чином, незважаючи на значні успіхи у вивченні процесів судинного ремоделювання при цереброваскулярній патології, динаміка цього процесу в постінсультній репарації мозку до кінця не вивчена. Не з'ясовано взаємозв'язок між окремими факторами ангиогенезу, до кінця не вивчені ультраструктурні зміни мікроциркуляторного русла в гострому періоді ІМ, що дозволило б дати комплексну морфо-функціональну оцінку закономірностей ремоделювання мікроциркуляторного русла перифокальних ділянок ІМ в динаміці гострого періоду.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконана відповідно до плану ініціативної науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету: «Морфогенез деструктивно-репаративних процесів головного мозку при захворюваннях судинного та токсико-метаболічного генезу» № держреєстрації 0118U004253. Автор є співвиконавцем роботи. У рамках теми дисертації автором проведено набір відповідного аутопсійного матеріалу з його всебічним патоморфологічним дослідженням, проведено експериментальне дослідження, зроблено аналіз і відповідні висновки.

Мета дослідження – встановити основні патоморфологічні прояви ремоделювання судин перифокальних ділянок інфаркту мозку в динаміці гострого періоду на підставі імуногістохімічного, морфометричного і електронномікроскопічного вивчення їх змін в секційному і експериментальному матеріалі.

Задачі:

1. За даними світлооптичного дослідження дослідити в різні терміни ішемічного інсульту динаміку мікроциркуляторних і гемокоагуляційних розладів в перифокальних ділянках ішемічного ІМ.

2. Дослідити кількісні показники судинного русла, як прояв судинного ремоделювання, в перифокальних ділянках мозкового інфаркту у померлих в різні терміни ішемічного ІМ.

3. Оцінити експресію маркерів ангиогенезу: васкулоендотеліального фактору росту (VEGF-A) і його рецепторів VEGFR-2, а також CD 34, CD105 в різні терміни ішемічного інсульту.

4. Дослідити експресію матричної металопротеїнази (MMP-9) в перифокальних ділянках ІМ в різні терміни ішемічного інсульту.

5. На експериментальній моделі в різні терміни інфаркту мозку, вивчити деструктивні і компенсаторно-відновлювальні ультраструктурні зміни в судинах мікроциркуляторного русла.

6. На підставі комплексної морфофункціональної оцінки судинного русла визначити морфологічні критерії посилення ангиогенезу і морфологічні прояви судинного ремоделювання в динаміці гострого періоду ішемічного інфаркту мозку.

Об'єкт дослідження: ішемічний інфаркт мозку.

Предмет дослідження: ремоделювання судинного русла перифокальних ділянок ішемічного інфаркту мозку в гострому періоді.

Методи дослідження: Патогістологічний аналіз зрізів, забарвлених гематоксиліном і еозином, за допомогою ШИК-реакції; імуногістохімічне визначення рівнів експресії маркерів VEGF-A, VEGFR-2, CD 34, CD 105, MMP-9. Морфометричний аналіз імуногістохімічних параметрів в програмі обробки цифрових зображень ВідеоТест-Морфологія 5.2. Трансмісійна електронна мікроскопія. Статистична обробка, порівняльний та кореляційний аналіз даних, отриманих за результатами патогістологічних, імуногістохімічних і ультраструктурних досліджень.

Наукова новизна отриманих результатів. Отримані нові дані щодо еволюції структурних ушкоджень мікроциркуляторного русла в гострому періоді ішемічного інфаркту мозку (до 30 діб). Уточнені дані щодо морфологічних особливостей функціонуючої капілярної мережі в перифокальних ділянках інфаркту мозку, експресії CD 34, CD 105, експресії васкулоендотеліального фактору росту (VEGF-A) і його рецепторів VEGFR-2 в різні терміни гострого періоду ІМ. Уточнена роль матричної

металопротеїнази (ММР-9) в процесах росту і ремоделювання судинної мережі в динаміці гострого періоду ішемічного ІМ. В експерименті на щурах отримані нові дані щодо ультраструктурних змін в ендотелії судин, перицитах і навколосудинному просторі перифокальних ділянок ішемічного ядра в різні терміни гострого періоду ІМ. На підставі комплексної морфофункціональної оцінки мікроциркуляторного русла, встановлені морфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ІМ в динаміці гострого періоду.

Практичне значення отриманих результатів. Для оцінки ефективності стану мікроциркуляції в перифокальних ділянках ІМ, необхідно враховувати, що ранньою реакцією, направленою на збільшення кровообігу в перифокальних ділянках ІМ, є посилення колатерального кровообігу, який можна оцінити в гістологічних препаратах за зниженням індексу Керногана, збільшенням щільності судин, зростанням довжини капілярної мережі. Встановлено, що виражений набряк паренхіми без активації клітинної реакції, розвиток стазу крові, наявність еритроцитарних і лейкоцитарних агрегатів, внутрішньосудинний гемоліз, формування фібринових тромбів в судинах є передумовою важких розладів мікроциркуляції і свідчить про відсутність ефективних компенсаторних механізмів забезпечення посиленого кровообігу в перифокальних ділянках ішемічного ядра

Обґрунтовано доцільність оцінки активації ангіо- і васкулогенезу за зростанням площі експресії маркерів неоангіогенезу, ММР9, появою ендотеліальних проліфератів і брукнування судин. Результати проведеного дослідження можуть використовуватися в патологоанатомічній практиці для аналізу танатогенезу при ішемічних інфарктах мозку.

Результати дослідження впроваджено в практику та використовуються в роботі відділів патологоанатомічного та судово-медичного бюро КУ «Запорізьке обласне бюро СМЕ» ЗОР, КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня», КЗ «Дніпропетровське обласне патологоанатомічне бюро».

Матеріали роботи впроваджені у педагогічний процес та наукову роботу кафедр патологічної анатомії і судової медицини Дніпровського державного медичного університету МОЗ України, кафедри патологічної і топографічної анатомії Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедри патологічної анатомії Медичного інституту Сумського державного університету МОН України. Впровадження підтверджуються відповідними актами.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною науковою роботою здобувача та представляє власне патоморфологічне дослідження. Автором особисто проведені інформативно-патентний пошук, аналіз сучасної наукової літератури за тематикою дисертаційної роботи, розроблено дизайн дослідження. Спільно з науковим керівником сформульовані мета та завдання дослідження. Автором самостійно проведено аналіз гістологічних, імуногістохімічних препаратів, та електронограм, проведено морфометричне дослідження і статистичну обробку отриманих кількісних даних. Дисертантом самостійно сформульовані висновки та практичні рекомендації, підготовлені до друку наукові праці, написані всі розділи дисертації, анотація, висновки та практичні рекомендації. Дисертантка забезпечила впровадження наукових розробок у практичну діяльність лікувальних закладів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи доповідалися та обговорювалися на Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря», 2019 р. - 10-11 квітня, м. Вінниця; науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації», м. Запоріжжя, 2019 р.; Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука у практику охорони здоров'я», 27 листопада 2020 р., м. Полтава.

Апробація дисертаційної роботи проходила на спільному засіданні кафедр патологічної анатомії і судової медицини, патологічної фізіології з

курсом нормальної фізіології, анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету МОЗ України 06.12.2021 р.

Публікації. Результати дисертаційного дослідження опубліковані у 6 наукових працях, з них 3 статті (2 - у наукових фахових видання України, 1 в журналі, що включений до наукометричної бази Web of Science), 1 стаття у моноавторстві; 3 тези у матеріалах конгресів та конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 253 сторінках машинопису і складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 127 рисунками та 12 таблицями. Список літератури містить 250 джерел (33 кирилицею та 217 латиницею).

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ РЕМОДЕЛЮВАННЯ СУДИН ПЕРИФОКАЛЬНИХ ДІЛЯНОК ІШЕМІЧНОГО ІНФАРКТУ МОЗКУ

Ішемічний інсульт представляє найбільш важливу проблему теоретичної і практичної медицини, так як є однією з основних причин смерті та інвалідності в усьому світі [9]. У структурі гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК) ішемічний інсульт становить 80- 87 % випадків.

За оцінками різних авторів, це захворювання постійно є 2 - 3 за значимістю причиною смертності у світі, і щорічно забирає близько шести мільйонів життів [10, 11]. У світі поширеність інсульту складає 62 мільйони і, як очікується, досягне 77 мільйонів у 2030 році [12]. Статистичні дослідження, показали, що частота виникнення інсультів в США становить у середньому 1 інсульт кожні 40 секунд [13]. Смерть, викликана інсультом реєструється кожні 4 хвилини і в 2007 році її частка в загальній смертності становила 41,6 %. Однак справжні цифри захворюваності інсультами можна уявити тільки орієнтовно, так як більшість досліджень стосовно поширеності інсульту є регіональними дослідженнями і, як правило, орієнтовані на людей похилого віку [14]. Тим часом є тенденція збільшення захворюваності та серед молодих людей [15, 16], що не враховується при проведенні деяких регіонарних епідеміологічних досліджень.

У всіх вікових групах поширеність інсульту в промислово розвинених країнах становить від 1,5 % до 2,6 % [17]. При цьому в країнах Європи показники захворюваності інсультами складають: у Франції - 58-92 випадків на 100 000 населення, в Німеччині - 85/100 000, Італії - 82-113 / 100 000, Данії - 80-106 / 100 000, Норвегії - 154/100 000, Фінляндії - 141-367 / 100 000, Швеції - 83-312 / 100 000, Португалії - 118-261 / 100 000, Японії - 260-375 / 100 000. При цьому багато авторів схильні до думки, що ці цифри будуть зростати в зв'язку зі старінням населення.

В Україні, а також в Росії захворюваність інсультами вище, ніж в країнах Європи і Північної Америки. Незважаючи на те, що статистичні дані по захворюваності гострим інсультом в Росії досить неоднорідні, все ж вказуються середні показники захворюваності на рівні 348 випадків на 100000 населення [18]. При цьому і середній вік хворих першим ішемічним інсультом становить $65,9 \pm 0,97$ років, що в середньому на 10 років нижче, ніж у країнах Західної Європи та Північної Америки [19].

В Україні кожен рік реєструється близько 110 тис. мозкових інсультів, що становить близько 260 випадків на 100000 населення, з яких 40 тис. закінчуються летально [20, 21]. Інсульт в Україні є основною причиною стійкої втрати працездатності — близько 53 % [22, 23]. Також треба зазначити, що захворюваність на інсульт призводить до значних економічних втрат практично в усіх країнах світу. За підрахунками, орієнтовні витрати на лікування інсульту в США в 2010 році становили 73,7 млрд. доларів, а в 2050 році ця цифра може зрости до 1,52 трильйона доларів (у цінах 2005 року) [13].

1.1 Патогенетичні механізми розвитку ішемічного інсульту

В розвитку ішемічного інфаркту можуть бути задіяні різні механізми, які визначають особливості перебігу захворювання, специфіку патогістологічних змін в головному мозку, тактику лікування та інші зміни на рівні цілісного організму, які можуть впливати на результат захворювання. Патогенетичні механізми розвитку ІМ можуть безпосередньо впливати на процеси судинного ремоделювання перифокальних ділянок мозку. Також часто зустрічаються випадки, коли у одного хворого поєднується декілька механізмів ішемічного ураження, що також відображається на процесах судинного ремоделювання.

Традиційно основними патогенетичними механізмами розвитку ІМ вважаються наступні:

А. Стенозуючий атеросклероз екстракраніальних артерій (сонних і хребетних), а також внутрішньомозкових судин [24, 25], з яким пов'язано близько половини випадків ІМ. Оклюзія магістральної екстра- або інтракраніальної артерії тромбом в області атеросклеротичної бляшки (частіше це відбувається внаслідок деструкції бляшки при її розриві, крововиливах в бляшку і ін. причин) призводить до раптового зменшення кровотоку по стенозованій судині. ІМ може розвиватися внаслідок артеріо-артеріальної емболії з атеросклеротичної бляшки області дуги аорти або сонних артерій.

Б. Кардіогенна емболія може бути причиною ІМ в 14-38 %. Джерелом тромбів є порожнини лівого відділу серця. У хворих з хронічною ішемічною хворобою серця, інфаркті міокарду, хронічних аневризмах серця, кардіоміопатіях [26], патології клапанного апарату, ендокардитах [27, 28], наявності штучних клапанів серця, пухлинах серця [29] в порожнинах серця, нерідко виникають пристінкові тромби, які частіше при порушенні серцевого ритму легко відриваються і стають причиною емболії інтракраніальних судин. Також кардіогенна емболія може бути спричинена повітряною емболією, або емболією фібринними згустками, кристалами кальцію, частинками жиру.

Висока частота розвитку тромбоемболічних інфарктів спостерігається при фібриляції передсердя [30, 31]. При інфекційному ендокардиті мітрального клапана виникає емболічний ІМ або множинні дрібні вогнища церебральних інфарктів [32]. Септична емболія мозку при бактерійному ендокардиті веде до появи дрібних септичних інфарктів і мікроабсцесів мозку. В патогенезі емболій мозкових судин разом з чинником обтурації тієї або іншої судини емболом виникають поширені порушення судинної іннервації з розвитком спазму судин і подальшим вазопарезом.

В. Гемодинамічні інфаркти (зустрічаються в 15-20 %) виникають при зниженні системної гемодинаміки, яка може виникати при порушенні скоротливої функції міокарду, порушеннях ритму серця, зниженні об'єму циркулюючої крові, при значних гемодинамічних зрушеннях

компенсаторного характеру – «синдромі обкрадання». Гемодинамічні інфаркти зустрічаються при деформації артерій (звитість, петлеутворення), аномаліях судин мозку (роз'єднаний Вілізієв круг, гіпоплазія артерій). Локалізуються гемодинамічні інсульти частіше в зонах суміжного кровопостачання.

Г. Лакунарні інфаркти мозку розвиваються при стенозах і оклюзії дрібних (40-80 мкм в діаметрі) перфоруєчих артерій мозку, частіше внаслідок гіпертрофії гладких м'язів при артеріальній гіпертензії [33]. Ще в 1968 році М. Фішер показав, що на території лакунарних інфарктів спостерігається досить виражена судинна патологія з вогнищевими розширеннями перфоруєчих артерій, геморагічною екстравазацією через їх стінки, наявністю фібриноїдного матеріалу в стінках судин і пучків сполучної тканини. Фішер назвав ці процеси сегментарною артеріальною дезорганізацією, фібриноїдною дегенерацією і ліпогіалінозом. Вказані зміни призводять до розвитку лакунарних інфарктів (діаметр до 1 – 1,5 см) в басейні ураженої артерії. Причиною лакунарного інфаркту може бути також атероматозна бляшка крупної артерії, яка закриває гирло однієї з пенетруючих артерій. Найбільш часта локалізація лакунарних інфарктів – підкіркові ядра, прилегла біла речовина семиовального центру, внутрішня капсула, основа моста мозку [34]. Двосторонні лакунарні інфаркти в лентикулярних ядрах сприяють формуванню *status lacunaris*.

Д. Порушення мікроциркуляції внаслідок гемореологічних розладів (збільшення агрегації тромбоцитів і еритроцитів, а також в'язкість крові, коагулопатії) можуть призводити до розвитку інсультів мозку [35] по типу гемореологічної мікрооклюзії (до 8 %). Гемореологічні розлади можуть ускладнюватися інсультом і за відсутності атеросклерозу і (або) гіпертонічної хвороби.

1.2 Морфологічні зміни церебральних судин в перифокальних зонах ішемічного інфаркту головного мозку

Порушення кровообігу в ділянці мозку призводить до характерних структурних змін, що мають певні стадії розвитку. Порушення кровообігу на початкових стадіях призводить до важкої церебральної ішемії. В цей час клітинні і тканинні зміни характеризуються потенційною зворотністю і стійкий морфологічний дефект може не розвинути. В перші години важкої ішемії в структурних елементах головного мозку відбуваються молекулярні порушення метаболізму. В основі цих порушень лежить енергетичний дефіцит.

В енергетичному плані нейрони повністю залежать від достатнього надходження в клітини з кровотоку глюкози і кисню. При нестачі останнього в цитоплазмі нейронів виникає локальна активація гліколізу - анаеробного розщеплення в циклі трикарбонових кислот, за рахунок якого з однієї молекули глюкози утворюється дві молекули АТФ разом з молочною кислотою. Тобто, шляхом гліколізу енергії утворюється менше (в 18 разів), ніж при аеробному окисненні такої ж кількості глюкози, яке відбувається в мітохондріях в циклі трикарбонових кислот (Кребса). В таких умовах виникає різке зниження вмісту глюкози в епіцентрі ішемічного вогнища і збільшення на периферії від нього.

Гостра ішемія викликає надлишкову продукцію нейронами глутамату та інших збуджуючих ексайтотоксинів і надлишкове вивільнення їх з аксональних терміналей. В результаті зниження зворотного внутрішньоклітинного захоплення нейромедіаторних амінокислот виникає глутаматна ексайтотоксичність [36].

В здоровій тканині мозку нейрони і клітини нейроглії поглинають зайвий глутамат з міжклітинної простору, але клітини в стані ішемії не мають для цього енергії (тканинної АТФ). В результаті зв'язування глутамату з інотропним рецептором N-метил-D-аспартату, метаболотропним і АМРА-

рецепторами відкриваються кальцієві канали, виникає масивне надходження всередину нейронів іонів Ca^{2+} , яке обумовлює Ca^{2+} -індуковану ексайтотоксичність [37]. Нервові клітини втрачають калій, накопичують іони натрію, що супроводжується збільшенням в них води, виникає набухання клітин - цитотоксичний набряк тканини мозку, порушуються механізми синаптичної передачі, які на ішемічній стадії мають оборотний характер. В результаті збільшення концентрації позитивних іонів всередині клітини змінюються електричні властивості нейронів.

Зменшення мозкової перфузії нижче нижнього ішемічного порогу призводить до зниження продукції високоенергетичних фосфатів (АТФ) і порушення функції іонних насосів енергозалежних клітинних мембран (потенціалзалежні Ca^{2+} -канали, натрій-калієвий насос), що викликає додаткове значне надходження всередину клітин іонів кальцію, натрію, хлору з внутрішньоклітинних депо і позаклітинного простору. Зменшення різниці потенціалів між внутрішньоклітинним і позаклітинним середовищем призводить до масивної аноксихної деполяризації мембран, яку вважають основним критерієм незворотного пошкодження клітин. Цю ступінь ішемізації тканини мозку вважають порогом втрати клітинного іонного гомеостазу. Порушується функція мітохондрій, в яких здійснюються процеси окислення і фосфорилування з утворенням високоенергетичних фосфатів. Зниження їх продукції стимулює утворення вільних радикалів, а висока токсичність останніх обумовлює розвиток цитотоксичності.

Надмірне накопичення в клітинах іонів кальцію і різке посилення окисного процесу викликає синтез оксиду азоту (NO), а порушення балансу між продукцією реактивних форм кисню (вільних радикалів) і здатністю системи антиоксидантного захисту їх елімінувати призводить до розвитку оксидантного стресу нейронів, що є універсальним механізмом ураження тканини мозку. Взаємодія надлишкового кальцію з оксидом азоту та ензимною системою викликає активацію внутрішньоклітинних ферментів (фосфоліпази, протеїнази), гідроліз фосфоліпідів клітинних мембран до вільних жирних

кислот арахідонової кислоти, цикл якої каталізується ферментом циклогеназа-2 (ЦОГ-2). Каскад цих перетворень викликає надлишкову продукцію високореактивного супероксид радикала (O_2), пероксинітрита, продуктів метаболізму (простагландини, тромбоксан- A_2 , простациклін, лейкотрієни, ліпопероксиди, прозапальні цитокіни), що призводить до ослаблення захисних систем і розщеплення внутрішньоклітинних структур (ДНК, білків, фосфоліпідів), руйнування цитоскелета, а отже і до необоротного ураження нейронів.

Ішемія призводить до активації мікроглії, астроцитів [38, 39]. Підсилюється секреція нейротоксичних медіаторів запалення (прозапальних цитокінів), виникає вторинна реакція локального запалення, яка опосередкована також експресією генів, що кодують фактори місцевого запалення. Запальний каскад збільшує проникність ГЕБ, міграцію активованих лейкоцитів із судинного русла в зону вогнища ішемії, що підсилює реакцію місцевого запалення. Оксидантний стрес клітин і запальний каскад досягають максимуму через 12-36 год. Активуються «гени загибелі клітин», відповідальні за розвиток апоптозу клітин ішемічної півтіні. Зона інфаркту при цьому розширюється за рахунок ділянки ішемічної півтіні.

Первинна зона інфаркту реєструється через 3-6 год. Протягом перших 90 хвилин від початку розвитку ішемічного інфаркту відбувається формування 50 % його остаточного об'єму, а в продовж 360 хвилин відбувається формування 80 % об'єму інфаркту. Цей проміжок часу (перші 3–6 годин) отримав назву "терапевтичного вікна", протягом якого лікувальні заходи можуть бути найбільш ефективними за рахунок зменшення периферичної зони інфарктного ядра – ішемічної напівтіні. «Доформування» вогнища триває протягом 24-48 год, а можливо, і пізніше в залежності від ступеня зменшення обсягу мозкового кровотоку. Після 24-48 год розміри інфаркту практично не змінюються.

На світлооптичному рівні рання стадія формування інфаркту характеризується певними гістологічними ознаками. Виявляється бліде

забарвлення ішемічних вогнищ, що добре виражено на препаратах Ніссля (тінкторіальна недостатність). З'являються ішемічні нейрони з пилоподібним розпадом глибок базофільної речовини, реєструється збільшення об'єму клітини, збліднення ядерної мембрани і помутніння нуклеоплазми, розпад базофільної речовини цитоплазми (ознака зникнення РНК і протеїнів цитоплазми). Надалі слідує зморщення і фрагментація ядра, тотальна гомогенізація перикаріона, що набуває блідого забарвлення [40, 41]. Характерними змінами також можуть слугувати гомогенізуюча зміна нейронів (без руйнування ядра), гостре набухання, гідропічні зміни, судинні стази і мікротромбоз дрібних судин, одиничні крапельні периваскулярні діapedезні крововиливи [42]. Проте, якщо вони численні і мають форму кільцеподібних, це скоріше свідчить про тривалий і важкий агональний період. Завжди реєструється перицелюлярний і периваскулярний набряк; рідше, але більш доказово – плазморагія з інтенсивним рожевим забарвленням плазми за межами судин. В перші години ішемічного інсульту в зоні ураження з'являються нейтрофіли [43]. Дослідженнями доведено, що нейтрофіли з'являються з зони ішемії досить рано – впродовж 30 хвилин, до декількох годин, з максимальним зростанням їх кількості до 3 діб. Надалі поступово, впродовж 15 діб їх кількість зміншується [44].

Астроцити і олігодендроцити в ранні терміни ішемічного інсульту зазнають гідропічних змін. З боку мікроглії виявляється їх активація і перерозподіл – зближення їх з тілами нейронів і закутування своїми відростками, в яких можна виявити ознаки фагоцитарної активності. Ці зміни виявляються за допомогою імпрегнаційних методик.

В стадії некрозу розвиваються важчі (незворотні) ураження тканини з поширеним каріолізмом і цитолізмом нейронів. Визначається спустошення набряклої цитоплазми, обумовлене лізісом всіх органел (цитолізіс), а також спустошення ядра (каріолізіс) внаслідок лізісу хроматина і ДНК. Некероване підвищення проникності плазмалеми для води призводить до посилення осмотичного набухання цитозолу і каріоплазми і до ще більш вираженого

збільшення об'єму ядра і цитоплазми. Поряд з цим на фоні вираженої порозності тканини виявляються «клітини-тіні», які представляють безструктурну «клітинну тінь» з блідими, розпливчастими контурами плазматичної і ядерної мембрани. Виявляється зернистий розпад астроцитів, цитоліз олігодендроцитів, еміграція гематогенних мононуклеарів, некроз дрібних судин з розвитком вторинних крововиливів, або без них.

Для стадії розрідження і резорбції характерні: різко виражена порозність тканини, скупчення зернистих куль, велика кількість коротковідросткових макрофагів.

По периферії вогнищ, що знаходяться у стадії некрозу або розрідження і резорбції, завжди виявляються зони тканинних змін, характерних для переднекротичної стадії. Прижиттєво вони візуалізуються як «зони ішемічної півтіні». У морфологічному плані вони завжди неоднорідні, ішемічні зміни в різних частинах мозаїчно гетерохронні, зокрема з наявністю дрібних фокусів явно незворотних змін. Нерідко ділянки ішемії перемежуюються з ділянками реактивної гіперемії.

Також треба зазначити, що при розвитку інфаркту мозку поряд з некротичною загибеллю клітин, в осередку ішемії відбувається активація апоптозу. Механізми апоптозу включаються пізніше швидких реакцій некротичних каскадів і починають виявлятися через 12 годин, досягаючи максимуму на 2-3-ю добу інсульту, беручи участь в «доформуванні» вогнища ішемії.

В стадії організації переважають проліферативні зміни з боку нейроглії і судин мікроциркуляторного русла, які розвиваються навколо кісти, що формується. Тривалість процесів організації залежить від об'єму інфаркту. У вогнищах неповного некрозу наголошується збереження і здібність до проліферації гліальних клітин. Проліферація астроцитів призводить до заповнення ділянок, в яких були нейрони, при цьому повторюючи контури шарів кори або інших утворень – ізоморфний гліоз. При обмежених вогнищах

ішемії, на місці випавших нейронів визначається безладна проліферація глії з формуванням гліального рубця – анізоморфний гліоз.

1.3 Ангіогенез при ішемії

Терапевтичні стратегії при ішемічному пошкодженні головного мозку спрямовані на реваскуляризацію, нейропротекцію і нейрорегенерацію. При цьому відновлення адекватного кровотоку є найбільш важливою умовою для виживання клітин мозку і відновлення функціональних зв'язків між ними.

Ініціюючим фактором активації ангіогенезу, ймовірно, є процеси, що відбуваються в ішемізованій тканині, так як зазначено, що новоутворення мікросудин з існуючих мікросудин, посилюється в області, яка піддається інфаркту, в порівнянні з контралатеральними, незміненими ділянками мозку [45]. Активація ангіогенезу відбувається в результаті взаємодії різних регуляторних факторів. При цьому ангіогенна відповідь головного мозку при ішемічному інсульті починається досить швидко. Протягом декількох хвилин після виникнення ішемічного інсульту відбувається активація ангіогенних генів. Через 12 годин починається розповсюдження ендотеліальних клітин, яке в експерименті триває протягом декількох тижнів [46]. За даними Анацької Л.Н. ангіогенез запускається в перші 12-24 години після інфаркту мозку і триває близько 4 тижнів [47].

Досліджувати патоморфологічні закономірності ремоделювання судинного русла в динаміці ішемічного інсульту є досить складним завданням, оскільки в кожному конкретному випадку на процеси формування мікросудин впливає безліч факторів. Відбуваються досить складні взаємодії між окремими стимуляторами ангіогенезу і їх інгібіторами, а також між факторами, що сприяють ремоделюванню екстрацелюлярного матриксу, що полегшує ріст судин. Важливе значення мають системні гемодинамічні зміни, які виникають у хворих з порушеннями мозкового кровообігу.

Стимуляторами ангіогенезу можуть бути різноманітні впливи, такі як гіпоксія, накопичення метаболітів, набряк тканин, деякі неорганічні речовини, вазоактивні речовини, активатор плазміногену, цитокіни, гепарин, фібрин і деякі продукти його розщеплення, субстанції, які продукуються нейтрофільними гранулоцитами, макрофагами, лімфоцитами та іншими клітинами, некротизуючі впливи, запальні зміни тканин [48]. Мітогенний ефект на ендотеліальні клітини мають гранули стовбурових клітин. Гістамін також має мітогенний ефект, який реалізується через H1 рецептори. На процес ангіогенезу можуть впливати різні речовини: аспірин, аденозин, деривати ксантина, АДФ, празозину, молочної кислоти і ін. Матрикс також органічно включає в себе проангіогенні чинники.

Також треба відзначити, що при ішемії активується не тільки ангіогенез. В експериментальних дослідженнях показано, що після накладення лігатури на коронарну артерію в гістологічних препаратах з вогнищ інфаркту міокарда відбувається включення ендотеліальних клітин попередників в осередки неоваскуляризації на кордоні інфаркту. Таким чином ішемія викликає не тільки розростання вже існуючих судин (ангіогенез), але і формування нових судин – васкулогенез [49]. Важливе значення в реваскуляризації ішемізованих тканин відводиться гемопоетичним прогеніторним стовбуровим клітинам [50]. Було показано, що оптимальна клітинна популяція для трансплантації повинна містити субпопуляцію CD34+ прогеніторів, які експресують рецептор 2-го типу до вазоендотеліального фактору росту VEGF-A (KDR+). Важлива роль CD34+ клітин в процесах ангіогенезу підкреслюється в роботах багатьох авторів [51, 52].

Дослідження, яке провів А. Тагучи з співавт. [53], показало негативну кореляцію між кількістю циркулюючих CD34+ клітин і числом інфарктів головного мозку. В експериментах на щурах авторами показано, що системне введення CD34+ -клітин, отриманих з пуповинної крові людини, індукує неоваскуляризацію в ішемічній зоні і забезпечує сприятливе середовище для регенерації нейронів [54]. Крім того, при дослідженні різних патологічних

станів було показано, що CD34⁺-клітини людини виділяють багаточисленні ангиогенні фактори, включаючи VEGF, HGF (фактор росту гепатоцитів) і IGF-1 (інсуліноподібний фактор росту), фактор росту фібробластів [55-57]. Доведено, що після локального введення CD34⁺ клітин безпосередньо в зону інфаркту після оклюзії середньої мозкової артерії у щурів, CD34⁺ клітини сприяли неоваскуляризації і збільшенню кортикального кровотоку в зоні інфаркту, відзначалося поліпшення моторних і поведінкових реакцій у тварин. В дослідженнях останніх років показано, що CD34⁺ клітини мають значну міграційну здатність і можливість до диференціювання в інші типи клітин включаючи гепатоцити, фібробласти і навіть нейрони [58].

У вивченні ангиогенезу важливим є питання проліферації ендотеліальних клітин. У нормі виділяють кілька механізмів, які контролюють проліферацію ендотеліальних клітин, а саме: 1) підтримання клітин в спокійному стані, що визначається взаємодією клітина-клітина і клітина-субстрат і призводить до відтворення інформації про те, що немає необхідності ділитися (якщо взаємодії клітина-клітина і клітина-субстрат не змінені, то ЕК не відповідають на мітогенні стимули, якої б сили вони не були); 2) при руйнуванні стабільних структур виникає стимуляція міграції і реплікації або під дією факторів, здатних модулювати експресію клітинами різних «критичних» молекул на своїй поверхні, або через модуляцію позаклітинного матриксу; 3) вплив ростових факторів, які діють на рецептори клітинної поверхні [59].

Звільнятися мітогени можуть також під впливом механічних пошкоджень, проте вони частіше діють непрямим шляхом через руйнування компонентів і інфільтрацію тканин клітинами сполучної тканини. Стимулятори ангиогенезу, як правило, постійно присутні в інтерстиції, але вони або не звільняються, або рецептори на ендотелії заблоковані. Незважаючи на достатній вміст факторів зростання в нормальних тканинах, проліферація ендотеліальних клітин досить низька. Ангіогенез же запускається впливами, які здатні викликати звільнення мітогенів з позаклітинного матриксу.

Виділяють також механічні фактори, які стимулюють ангіогенез. До таких факторів відносять внутрішньосудинний тиск, напруга і натяг судинної стінки, підвищений потік крові, збільшена в'язкість і гематокрит. Механічні дії можуть відігравати вирішальну роль і в подальшому диференціюванні судинних мереж і дозріванні судинних стінок [48].

Важливим фактором, який стимулює зростання судин, є механічні дії, які пов'язані зі змінами гемодинаміки. Так взаємодія механічних факторів (потік крові) із судинною стінкою призводить до того, що там, де судини мають максимальну кривизну, відбувається пошкодження ендотеліальних клітин. Вони гинуть і звільняють активатор фібриногену, який перетворюється в плазмін-протеазу, що викликає протеоліз ламініну і фібронектину і призводить до руйнування базальних мембран. Пошкоджені ендотеліальні клітини можуть потім мігрувати із стінки судини назовні. Формування псевдоподій і розпластування клітин призводить до того, що мікротрубочки і мікрофіламенти в цитоплазмі руйнуються. Це служить сигналом для підготовки до мітотичного поділу, подальшому зростанню ендотеліальних клітин і формування судинних бруньок. Збільшений капілярний кровотік і підвищений внутрішньосудинний тиск також може робити ендотеліальні клітини більш чутливими до мітогенних факторів [48].

Активне вивчення процесів ангіогенезу почалося після відкриття вазоактивних молекул і судинних факторів росту, які адаптують рухливість судинної стінки до рівня локальної гемоциркуляції і метаболічної потреби нейронів [60]. Основні ефекти факторів росту судин в постішемичному періоді пов'язані з їх участю в компенсаторному ангіогенезі і становленні колатеральної судинної мережі [61].

Новоутворення судин, як складова частина процесу регенерації при різних патологічних впливах в більшості своїй протікає стереотипно. Даний процес визначається перш за все дією ангіогенних факторів, а також внутрішньокапілярним тиском крові і швидкістю локального кровотоку. У відповідності з даними Купріянова зі співавт. [48] просвіт судин з'являється

внаслідок каналізації при аутолізі центральної частини судинної бруньки. Діаметр сформованої судини буде залежати від тривалості дії чинників зростання і ангіопоетину [62].

Зростання судин при ішемічному пошкодженні починається з непошкодженої зони по градієнту ангіогенної стимуляції. Надалі судини зливаються і анастомозують між собою під впливом ангіогенних факторів. У формуванні судин велика роль відводиться перицитам [63, 64]. Так маркер ангіогенних перицитів NG2 експресується уздовж всіх капілярів і капілярних паростків. При ангіогенезі різко посилюється експресія NG2 уздовж венул, що підтверджує роль перицитів в капілярному проростанні, тому NG2 пов'язують з регуляцією капілярного проростання [65]. Також перицитами синтезуються фактори росту, металопротеїнази, цитокіни, що стимулює формування судинної мережі [66, 67]. Залежно від віддалення первинної мікросудини від серця і сили дії на неї кров'яного тиску, в зростаючих судинах з'являється м'язовий шар і еластичні волокна, що визначає подальшу диференціацію судини.

Процес міграції і проліферації ендотеліальних клітин і формування капілярних бруньок триває близько 48 годин. Надалі протягом 8-10 діб новоутворені мікросудини набувають просвіт і з'являється кровотік. Ендотелій судин стабілізується і диференціюється відповідно до функціональних потреб органу або тканини, з'являються додаткові оболонки судин. Анастомози між судинами з'являються на 11-12 добу, при цьому формується мережа мікроциркуляторного русла.

Таким чином ремоделювання судинного русла після ішемії включає три фази: ініціювання ангіогенезу; формування судинних бруньок, міграція і стабілізація ендотеліальних клітин; стабілізація судинного комплексу [68, 69]. Судинне ремоделювання є адаптивним структурним процесом, який виникає у відповідь на довгострокові зміни в умовах порушеної гемодинаміки. Процес модулюється чинниками зростання, які локально генеруються, вазоактивними речовинами і гемодинамічними стимулами і здійснюється шляхом зміни

клітинних процесів, включаючи ріст клітин, загибель клітин, міграцію клітин і продукцію або деградацію позаклітинного матриксу (ECM) [70]. Весь процес ремоделювання судинної сітки займає 20-25 діб.

Посилення ангиогенезу в постінсультному періоді забезпечує високу щільність мікросудинної мережі в зоні пенумбри, що збільшує перфузію, стимулює нейрогенез і покращує функціональний результат при ІМ. При цьому також відбувається більш швидка елімінація некротичних мас [71]. Слід зазначити, що ремоделювання мікроциркуляторного русла в зонах ішемії повторює послідовність розвитку судин в онтогенезі.

1.3.1 Фактори зростання судин і їх роль при ішемії мозку

Регуляція ангиогенезу, у відповідь на ішемічний стимул, поряд з ендотеліальними клітинами і перицитами, забезпечується стимуляторами і інгібіторами зростання судин. При ішемії в тканинах збільшується синтез сполук, які стимулюють ангиогенез. Такими сполуками є: судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), фактор росту фібробластів (FGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF) і інші фактори. Механізми впливу кожної з цих сполук на процеси ангиогенезу і реорганізації мікросудинного русла при ішемії мозку досить складні. Деякі з факторів мають пряму дію на проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин, активність же інших, щодо активації ангиогенезу, проявляється при впливі на них активуючих сполук (наприклад, оксиду азоту). Також є складними взаємини між окремими факторами. Найбільш важливим ангиогенним фактором є VEGF-A [72, 73]. VEGF-A відіграє важливу роль в проліферації ендотеліальних клітин, експресії тканинних факторів і металопротеїназ, бере участь у формуванні просвіту судин, регулює судинну проникність [74], може надавати нейропротекторну дію після ішемічного ушкодження [75, 76]. VEGF здійснює пряму трофічну і захисну дію на нейрони [77] і може діяти незалежно від кровообігу [78].

Васкулоендотеліальний фактор росту існує в 4-х ізоформах, які відрізняються різною кількістю амінокислотних залишків. Білки з найменшим числом амінокислотних залишків секретуються клітинами в навколишній периваскулярний матрикс, з великим числом - залишаються пов'язаними з мембраною клітини. VEGFA зв'язується з двома рецепторами тирозинкіназ, рецептором VEGF 1 (VEGFR1) і рецептором VEGF 2 (VEGFR2), який експресується в основному в ендотеліальних клітинах. VEGFR1 поряд з ендотеліальними клітинами експресується в гемопоетичних стовбурових клітинах, моноцитах і макрофагах, в яких він регулює хемотаксис [79]. VEGFR1 пов'язує VEGFA з афінністю приблизно в 10 разів вище, ніж у VEGFR2. При гіпоксії ендотеліальні клітини посилюють синтез VEGF, який зв'язується з рецепторами, підсилює проліферацію і міграцію ендотеліальних клітин. Таким чином, гіпоксична стимуляція VEGF забезпечує компенсаторний механізм, який спрямований на підвищення оксигенації тканини, за допомогою індукції росту судин [80]. Навпаки, нормоксія знижує продукцію VEGF і веде до регресії деяких новостворених мікросудин. Таким чином, васкуляризація точно відповідає метаболічним потребам тканин. Що стосується термінів початку продукції VEGF, то відзначають, що минула фокальна ішемія призводить до досить раннього підвищення синтезу VEGF, максимальне значення якого виражено через 13 годин після початку рециркуляції. Надалі відбувається його нормалізація до кінця 1 доби. Стійка фокальна ішемія веде до підвищення рівня VEGF в нейронах, астроцитах, ендотеліальних клітинах, що максимально виражено через 18 годин після розвитку інсульту. При цьому максимальні значення судинного ендотеліального фактора зберігаються протягом 2 тижнів.

Незважаючи на посилення ангіогенезу під впливом VEGF, що розцінюється як позитивний момент в постінсультній репарації мозку, деякі його ефекти можуть мати несприятливий вплив на перебіг захворювання. Так в експериментальних дослідженнях було показано, що внутрішньоплуночкове введення рекомбінантного людського VEGF в перші

48 год індукованої ішемії мозку поряд зі стимуляцією ангиогенезу і зменшенням розмірів вогнища інфаркту мозку одночасно збільшувало проникність ГЕБ, що в свою чергу призводило до набряку мозку і посилювало запальні процеси [47]. Тому в ряді досліджень відзначають, що позитивний ангиогенний ефект VEGF реалізується тільки в певні часові періоди ішемічного інсульту. Так введення VEGF протягом від 1 до 24 годин після розвитку інсульту, підвищують швидкість і тяжкість геморагічної трансформації [81]. Однак, коли VEGF вводять від 3 до 21 діб після інсульту, відбувається посилення ангиогенезу з поліпшеним неврологічним відновленням, зниженою проникністю гематоенцефалічного бар'єру, поліпшенням мозкового кровотоку [82].

Як зазначалося вище, активність деяких факторів ангиогенезу проявляється при впливі на них активуючих речовин. Так експресія VEGF гладком'язовими клітинами збільшується при введенні в організм препаратів донорів оксиду азоту. При ішемії оксид азоту (NO) стимулює міграцію клітин ендотелію, проте при цьому пригнічує міграцію і проліферацію судинних гладком'язових клітин.

Наступним фактором, що впливає на ангиогенез є фактор зростання фіброblastів (Fibroblast Growth Factor, FGF). Найбільш вивченими є дві форми факторів росту фіброblastів, які синтезуються в ендотеліоцитах і клітинах сполучної тканини: aFGF (acidic, кислий) і bFGF (basic, основний). Найбільш вираженим ангиогенним ефектом володіє bFGF. Рецептори до FGF описані в плазмолемі клітин мозку, серця і судин, кишечника і легень. Встановлено, що фактор росту фіброblastів посилює синтез ДНК і проліферацію гладких і ендотеліальних клітин, стимулює процеси зростання і ремоделювання судинної мережі, а також є хемоатрактантом для мігруючих ендотеліоцитів.

Фактори росту фіброblastів і їх рецептори, які широко представлені в ЦНС, функціонують як нейротрофіни, що впливають на розвиток і регенерацію нейронів і синапсів [83]. В ембріональному періоді bFGF активує проліферацію клітин-попередників головного і спинного мозку, регулює

кількісний склад нейронів і астроцитів. У щурів з генетичною аномалією гена, що кодує синтез FGF, відзначається значне зниження числа коркових нейронів і астроцитів, порушується розвиток нейрогематичного бар'єру. У дорослої людини експресія bFGF відзначається в мотонейронах, клітинах Пуркін'є і нейронах нової кори. Однак найбільша імунореактивність виявляється в капілярах мозку.

Тромбоцитарний фактор росту (PDGF) синтезується в тромбоцитах, цитоплазмі ендотеліоцитів, фібробластів, макрофагів, нейронів, астроцитів, міоцитів судин. Різні представники сімейства тромбоцитарного фактора росту стимулюють зростання і міграцію перицитів, гладких м'язів судин, беруть участь в дозріванні та стабілізації мікросудинного русла, регулюють тканинний кровотік. В експериментах *in vitro* встановлено, що PDGF-BB стимулює синтез VEGF в ендотеліоцитах. Однак в дослідях *in vivo* тільки поєднане введення двох ангіогенних факторів - PDGF-BB і FGF-2 посилює зростання судинної мережі.

Вивчення в гістологічних препаратах вираженості ангіогенезу при різних патологічних процесах незмінно ставить питання про кількісну оцінку щільності мікросудин. Для цього використовують фарбування тканин пан-ендотеліальними антитілами до антигенів, таким як CD34, CD31 і фактору фон Віллебранда [84, 85]. Однак слід зазначити, що такі пан-ендотеліальні маркери також експресуються в нормальних тканинах. Тому в даний час для ідентифікації активованих ендотеліальних клітин найбільш часто використовується імуногістохімічний маркер CD105 або ендоглін [86]. Повідомляється, що CD105 сильно експресується в ендотеліальних клітинах тканин, що беруть участь в ангіогенезі.

Ендоглін (CD105) є білком-рецептором суперсімейства TGF-бета, які беруть участь у зв'язуванні лігандів і передачі сигналів, що регулюють процеси ангіогенезу, незалежні від VEGF. Ендоглін активно експресується на ендотеліальних клітинах судин. Основна функція TGF- β опосередкована рецепторами тирозину / тирозинкінази на поверхні клітини, включаючи

рецептор типу TGF- β II, рецептор типу TGF- β I і CD105. Відомо, що TGF- β бере участь в ангиогенезі, стимулюючи або пригнічуючи активацію ендотеліальних клітин через баланс сигналів активін-подібної кінази (ALK) 5 і ALK1. Імуногістохімічні дослідження з різними гістологічними типами пухлин людини показали, що CD105 сильно експресується в ендотеліальних клітинах пухлинних кровоносних судин [87], але або не виявляється, або слабо присутній в кровоносних судинах більшості нормальних тканин. Щільність мікросудин, оцінена моноклональними антитілами до CD105, більш сильно корелює з кількістю фактора росту ендотелію судин, ніж щільність мікросудин, оцінена моноклональними антитілами до CD31 або CD34. Відповідно, найбільш часто імуногістохімічним маркером, що використовується для ідентифікації активованих ендотеліальних клітин при різних патологічних станах є CD105 [88, 89].

Аналізуючи дані літератури за значенням окремих факторів ангиогенезу слід зазначити, що дія деяких з них не обмежується тільки участю у формуванні або ремоделюванні судинного русла.

Використовуючи CD105-дефіцитні і інтактні клітини, була виявлена важлива функція CD105, яка полягає в тому, що він діє як антиапоптотичний білок в ендотелії судин при гіпоксичному стресі. Такий ефект спостерігався під час відсутності TGF β 1 і TGF β 3, що свідчить про те, що CD105 функціонує за межами його ролі в якості рецептора TGF β 1 і TGF β 3. При цьому додавання TGF β 1 для контролю над клітинами при гіпоксії призводило до незначного збільшення відсотка апоптотичних клітин, тоді як апоптотична дія TGF β 1 значно збільшувалася в CD105-депресованих клітинах, що свідчить про захисну дію CD105 щодо ендотеліальних клітин від апоптотичної дії TGF β 1. У середовищі *in vivo*, де співіснують як гіпоксія, так і TGF β 1, значна експресія CD105 може діяти як антиапоптотичний фактор, щоб захистити ендотеліальні клітини від гіпоксії і проти апоптозу, індукованого TGF β 1. При дослідженні ішемічної хвороби серця також вказують на антиапоптотичну дію ендогліна щодо ендотеліальних клітин [90].

Незважаючи на велику кількість наукових публікацій, присвячених питанням ангиогенезу, багато результатів досліджень є суперечливими, дія ангиогенних факторів в різні періоди мозкового інсульту можуть проявлятися неоднозначно, а імуногістохімічні дослідження по реорганізації мікроциркуляторного русла в перифокальних ділянках ІМ в різні терміни захворювання представлені в незначній кількості досліджень.

1.3.2 Матриксні металопротеїнази і їх роль в патогенезі ішемічного інсульту і в процесах ангиогенезу

Як зазначалося вище, в перші години ішемічного інсульту в зоні ураження з'являються нейтрофіли, що відіграє важливу роль і має певне значення в патогенезі ішемічного інсульту. Доведено, що інфільтруючі нейтрофіли є основним джерелом підвищеної активності металопротеїназ в ішемізованому мозку. Матриксні металопротеїнази (ММР) являють собою або протеази, які секретуються, або мембранно-зв'язані, які здатні деградувати білки позаклітинного матриксу та внутрішньоклітинні білки [91, 92]. ММР в фізіологічних і патологічних умовах деградують позаклітинний матрикс і готують стадію для факторів росту і спрямовуючих молекул. ММР здатні регулювати багато біологічних процесів в організмі, а також розщеплювати багато сигнальних молекул, такі як фактор росту ендотелію судин (VEGF). Показано, що тривале пригнічення ММР зменшує міграцію нейробластних клітин з субвентрикулярної зони, зменшує пластичність нейронів і число новостворених судин, що призводить до збільшення пошкодження тканин в періінфарктній корі. З великого сімейства металопротеїназ (ММР) матриксна металопротеїнази-9 (ММР9), також відома як желатиназа В, є предметом зростаючого інтересу, в зв'язку з її важливою роллю в фізіологічних і патологічних процесах. Субстрати для ММР-9 включають денатурований колаген І типу (желатин), нативні колагени типів IV, V, VII, X і XI, фібриноген, вітронектин, ІІ-1 і ентактін, який з'єднує ламінін і колаген IV типу. ММР-9

продукується в прихованій формі в клітинах і після вивільнення в позаклітинний простір активується шляхом відщеплення пропептида [93]. Експресія MMP жорстко регулюється на рівні транскрипції і посттранскрипції, а також контролюється на рівні білка через їх активатори та інгібітори. MMP-9 приймає участь в процесах запалення, загоєння ран, міграції клітин, ремоделювання тканини і репарації, мобілізації матрикс-пов'язаних факторів росту і процесингу цитокінів. Показано, що MMP-9 стає все більш важливим в процесах функціонування центральної нервової системи, включаючи його роль в навчанні і пам'яті [94, 95]. При нормальних умовах експресія MMP низька і індукується тільки при необхідності ремоделювання позаклітинного матриксу.

Посилена експресія і активність MMP, особливо MMP-9, спостерігається також в численних патологічних умовах [96]. Не зупиняючись на ролі MMP при різноманітних захворюваннях, відразу ж розглянемо його значення при ішемічному інсульті.

Дані численних досліджень свідчать про важливу роль MMP і зокрема MMP-9 при ішемічному інсульті та в умовах реперфузійного пошкодження головного мозку [97-99]. Як в експериментальних, так і в клінічних дослідженнях показано істотне збільшення експресії MMP-9 при ішемічному інсульті [100-103]. Високі концентрації MMP-9 в плазмі крові в гострій фазі церебрального інфаркту вважається незалежним предиктором геморагічної трансформації у всіх підтипів інсульту.

MMP-9 при ішемії може впливати на проникність гематоенцефалічного бар'єру [104]. У нормі гематоенцефалічний бар'єр обмежує рух іонів, розчинених речовин і води, завдяки щільним з'єднанням ендотеліальних клітин (TJs). Важливими молекулами при формуванні цих щільних з'єднань є TJ-білки, оклюдин і клаудіни [105]. В експериментах показано, що після фокальної ішемії збільшення MMP-9 і MMP-2 призводить до фрагментації TJ-білків, оклюдіна і клаудина-5 [106]. Дослідження підтвердили, що оклюдин є прямим субстратом MMP-9/2 [107]. Крім того зазначено, що розмір

церебрального інфаркту зменшується у щурів з нестачею MMP-9 або після лікування інгібіторами MMP. Раннє інгібування MMP-9 (протягом 1 доби) зменшує розміри інфаркту; проте коли лікування інгібіторами MMP проводилося через 3 доби від розвитку інфаркту позитивного ефекту не спостерігалось.

Стосовно термінів експресії і активації в мозку MMP-9 після ішемічного інсульту є суперечливі дані. Так при експериментальній оклюзії середньої мозкової артерії показано, що MMP-9 активується від 4 годин до 4 днів [108]. В інших дослідженнях зазначалося що рівні MMP-9 підвищуються протягом 2-6 годин і залишаються стабільними впродовж перших 48 год [109]. У дослідженні Demig R. з співавт. [110] повідомляється, що рівні MMP-9 в плазмі значно збільшилися протягом гострого періоду ішемічного інсульту і корелювали з тяжкістю захворювання і об'ємом інфаркту.

Також залишається спірним клітинне джерело MMP-9. Поряд з інфільтративними нейтрофілами, які є основним джерелом підвищеної активності металопротеїназ, показано, що ендотелій, глія і нейрони також проявляють імунореактивність MMP-9 після ішемії. Однак, оскільки MMP-9 функціонує як протеаза, кількість якої збільшується після клітинної секреції, розташування MMP-імунореактивності не обов'язково відображає клітини, що вивільняють MMP-9 [111]. В експериментальній моделі з оклюзією середньої мозкової артерії, протягом 24 годин велика частина активності MMP-9 була локалізована спільно з ендотеліальними клітинами мозкових судин. Через 7-14 днів сигнал MMP-9 зміщувався на периферію кортикального інфаркту і в основному був пов'язаний з нейронами і астроцитами [112]. Цей перерозподіл, ймовірно, відображає багатофазні ролі MMP-9 при ішемічному інфаркті мозку.

Вивчаючи питання судинного ремоделювання у відновлювальному періоді ішемічного інсульту, безпосередній інтерес викликає місце MMP в ангіогенезі. Вказівка на важливу роль MMP-9 в ангіогенезі зустрічається в незначній кількості досліджень [113]. MMP можуть сприяти ангіогенезу

шляхом впливу на міграцію ендотеліальних клітин через навколишні тканини, порушуючи бар'єри позаклітинного матриксу або сприяти звільненню секвеструвати ангіогенні фактори, таких як VEGF [112]. Незважаючи на негативну дію ранньої активації MMP-9 після початку інсульту, у вигляді порушення проникності гематоенцефалічного бар'єру, що може сприяти прогресуванню набряку мозку, у відстроченій фазі церебральної ішемії вказують на позитивну роль активації MMP-9 в процесах нейросудинної регенерації [113]. Відзначено, що гальмування MMP-9 на 7-14 день після інсульту зменшує кількість нейронів і нових судин і корелює з порушенням функціонального відновлення. Доведено, що уповільнене інгібування MMP інгібіторами широкого спектру дії є шкідливим на стадії ішемічної регенерації через 7 днів після церебральної ішемії, в зв'язку з ослабленням нейросудинної регенерації в ішемічній півтіні. Поряд з цим, показано, що постійна надлишкова експресія MMP може призвести до неефективного ангіогенезу і відновленню тканин після інсульту [114].

З огляду на незначну кількість досліджень щодо ролі MMP-9 в процесах ангіогенезу дане питання вимагає подальшого вивчення, а терапевтичні впливи, мабуть, повинні припускати вибіркоче інгібування MMP-9 в різні терміни ішемічного інсульту, враховуючи різноспрямовані ефекти MMP-9 в гострому і віддаленому періодах інфаркту мозку [115]. Для новоутворення кровоносних судин, нормального формування базальних мембран і диференціювання ендотелію, також важливим є баланс між MMP і їх інгібіторами. Такий баланс повинен відновлюватися під час дозрівання новоутворених кровоносних судин, щоб сприяти збірці базальних мембран, проліферації і диференціювання ендотеліальних клітин.

Інгібітори матриксних металопротеїназ - протеїни, які регулюють баланс колагену екстрацелюлярного матриксу шляхом новоутворення високоафінних незворотніх комплексів з металопротеїназами і тим самим блокують їх ефект. Тканинний інгібітор матриксних металопротеїназ-1 (TIMP-1) відіграє важливу роль в патогенезі серцево-судинних захворювань [116, 117]. Вивчаючи роль

інгібітора матричної металопротеїнази (ТІМП-1) у хворих з ішемічним інсультом [118] були виявлені більш високі концентрації ТІМП-1 у сироватці померлих хворих [119], в інфарктній тканині головного мозку в порівнянні зі здоровими церебральними областями, більш висока експресія ТІМП-1 в моноцитах пацієнтів з ішемічним інсультом і більш високі рівні ТІМП-1 у пацієнтів, які перенесли інсульт, ніж у здорових людей [120]. Також був виявлений зв'язок між рівнями сироваткового ТІМП-1 і смертністю у пацієнтів з важкою травмою головного мозку [121].

1.4 Ультраструктурні зміни судин при ішемічному інсульті

Складність структурно-функціональної організації головного мозку передбачає необхідність, поряд з використанням рутинних методів світлової мікроскопії і більш інформативного імуногістохімічного методу, використання методів ультраструктурного аналізу (електронну мікроскопію). Такий підхід дозволяє врахувати взаємовідношення судин мікроциркуляції з оточуючими структурами, що може дати більш повну картину процесів репарації і оцінити її ефективність при використанні в подальшому методів нейропротекції в лікуванні ішемічних інсультів. Дослідження ультраструктури судин головного мозку при ішемічному інсульті за останні десятиліття практично не зустрічаються. Основні роботи з цього питання відносяться до 70-80-х років минулого століття.

За даними літератури при важкій гіпоксії мозку може зустрічатися як звуження, так і патологічне розширення капілярів. Поряд з цим в мікросудинах розвиваються реактивні і деструктивні процеси. Зміни в ендотелії більшою мірою залежать від виразності набряку мозку. При значному вазогенному набряку в ендотеліальних клітинах відмічають вакуолізацію, іноді з повним просвітленням цитоплазми, руйнування більшості органел. В ядрі спостерігається нерівномірна конденсація хроматина у ядерної мембрани, центральна частина з малою електронною щільністю і малою кількістю РНП-

часточок [122]. Базальна мембрана розволокнена, вакуолізована, має нерівномірну величину і вогнищеві зміни. У просвіті капілярів зустрічаються стаз і склеювання еритроцитів, які згодом піддаються гемолізу, при цьому стираються межі між окремими клітинами. Підвищення проникності деяких капілярів призводить до периваскулярних крововиливів. Менш значні дистрофічні і деструктивні зміни спостерігаються в перицитах. Однак в їх цитоплазмі можуть значно збільшуватися кількість лізосом і ліпофусцинових включень, а також утворюватися залишкові тільця і мієліноподібні структури. Відзначається набухання периваскулярної нейроглії. У різко розширених відростках астроцитів, що оточують мікросудини також відзначається набряк [123]. В електронно-прозорій цитоплазмі таких клітин розташовуються вакуолізовані цитоплазматичні органели з частковим або тотальним руйнуванням [122]. Посилення васкуляризації і компенсаторні зміни супроводжуються збільшенням кількості гранулярної ендоплазматичної мережі, нормалізацією структури мітохондрій, відновленням структури ядра.

Таким чином, незважаючи на значні успіхи у вивченні процесів ангиогенезу і судинного ремоделювання при різних патологічних станах, динаміка цього процесу в постінсультній репарації мозку до кінця не вивчена. Не з'ясовано взаємозв'язок між окремими факторами ангиогенезу, до кінця не з'ясована роль матриксної металопротеїнази (ММР-9) і її інгібітора (TIMP 1) в процесах новоутворення судинної мережі, потребують уточнення ультраструктурні зміни мікроциркуляторного русла в процесах постішемичної репарації мозку в периферичних ділянках мозкового інсульту. Вирішення цих питань дозволить дати комплексну морфо-функціональну оцінку закономірностей ремоделювання мікроциркуляторного русла в динаміці ішемічного інсульту. Також вивчення процесів ангиогенезу і ремоделювання судин після ішемічного інфаркту мозку має важливе значення для розробки нових стратегій лікування і поліпшення функціонального результату після ішемічних інсультів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріал дослідження

Робота виконана на кафедрі патологічної анатомії і судової медицини, клінічною базою якої є Запорізьке обласне патологоанатомічне бюро та навчально-науковий медичний центр «Університетська клініка» Запорізького державного медичного університету. Проведено ретроспективний аналіз 174 патологоанатомічних спостережень з урахуванням віку хворих і тривалості інсульту. Дані представлені в табл. 2.1.

Таблиця 2.1 - Кількість проаналізованих секційних спостережень

| Вік | Тривалість хвороби | | | | | | |
|-------------------|--------------------|----------|----------|--------|------------|-----------------|--------|
| | 1 доба | до 3 діб | До 7 діб | 14 діб | до 21 доба | 30 діб і більше | Всього |
| До 44 років | - | 1 | - | - | - | - | 1 |
| 45-59 років | 3 | 2 | 6 | | 1 | 8 | 20 |
| 60-74 років | 5 | 19 | 11 | 19 | 10 | 5 | 69 |
| 75 років і більше | 4 | 12 | 33 | 26 | 7 | 2 | 84 |
| Разом | 12 | 34 | 50 | 45 | 18 | 15 | 174 |

Групи хворих були виділені відповідно до вікової класифікації Всесвітньої організації охорони здоров'я. Відповідно до статі кількість жінок і чоловіків з ІМ склало відповідно 57,15 і 42,85 % випадків. Віковий діапазон померлих був від 39 років до 91 року. Середній вік чоловіків і жінок складав відповідно $71,52 \pm 10,12$ і $74,76 \pm 9,1$ років.

Об'єм півкульового інфаркту коливався від 6 до 630 см³ (в середньому складав 174,15 см³). Проведений аналіз не виявив значущої залежності тривалості хвороби від обсягу інфаркту. Так при тривалості хвороби 1 доба,

середній обсяг інфаркту, за даними медичної документації склав 123 см^3 , при тривалості хвороби 3, 7, 14, 21, 30 діб відповідний обсяг інфаркту складав – 168,4; 191,69; 181,18; 152,25 і $81,5 \text{ см}^3$. У 86 % випадках інфарктах мозку був залучений каротидний басейн, у інших спостереженнях (14 %) визначалися ознаки одночасної поразки зон кровопостачання каротидного і вертебрально-базиллярного судинних басейнів.

Для патоморфологічного дослідження використовувався матеріал 130 випадків померлих хворих, який безпосередньо було взято під час патологоанатомічного розтину (58,46 %), а також архівний матеріал (41,53 %) – парафінові блоки тканин головного мозку померлих на ІМ. Тромбоемболічні інфаркти, інфаркти стовбура головного мозку були виключені із дослідження.

Проаналізовані секційні спостереження були розподілені на 6 груп відповідно до термінів захворювання і сумарно включали 130 спостережень. Перша група з терміном захворювання 1 доба включала 10 випадків, 2 група (3 доби) – 30, 3 група (7 діб) – 30, 4 група (14 діб) – 30, 5 група (21 доба) – 15 випадків і 6 група (30 діб) включала 15 випадків. Середній вік чоловіків з повторними інфарктами складав $68,53 \pm 11,96$, жінок – $71,78 \pm 6,93$ років.

У 91 % випадках ІМ в екстра- і інтракраніальних артеріях виявлялися атеросклеротичні зміни різного ступеня виразності. При оцінці ступеня стенотичного ураження судин використовували наступні критерії: помірний стеноз – стеноз до 30-50 %; виражений - 50-69 %; критичний - 70-99 %; оклюзія – 100 %.

Ретроспективний аналіз історій хвороб і протоколів патологоанатомічних досліджень показав, що ІМ розвивався на фоні системної поразки судин. Провідними фоновими захворюваннями, які сприяли розвитку ІМ в наших спостереженнях були атеросклероз (42,89 %), гіпертонічна хвороба (18,7 %) і їх поєднання (28,5 %). Часто у померлих з мозковими інсультами відзначалася тяжка соматична, переважно серцева патологія, яка патогенетично була пов'язана, або значно ускладнювала перебіг основного захворювання (рис. 2.1).

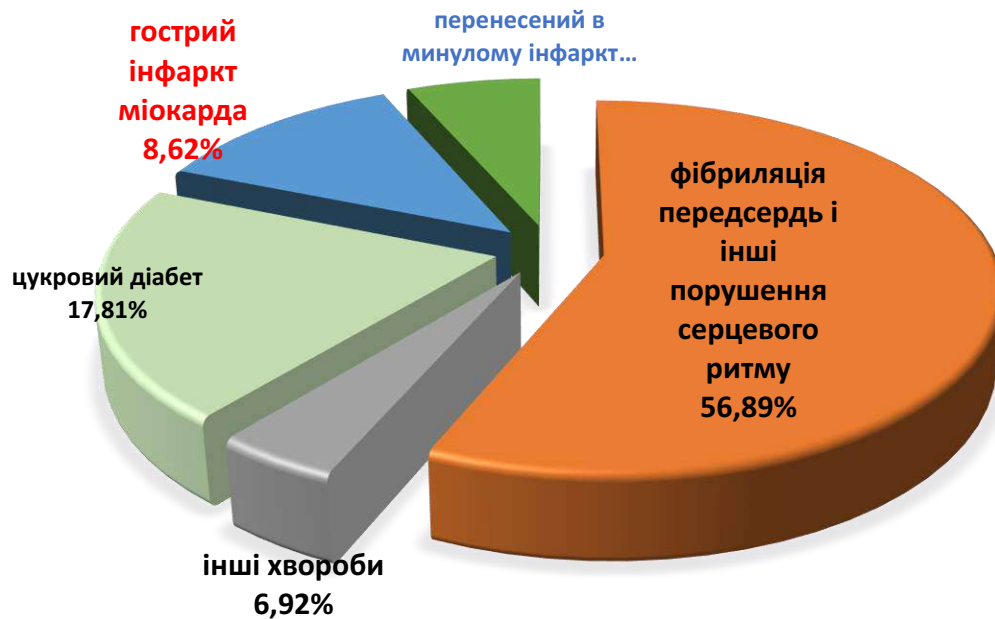


Рисунок 2.1 – Супутня патологія хворих на ішемічний інфаркт мозку.

Гострий інфаркт міокарда виникав у хворих в клініці в різні терміни захворювання. В групі померлих з повторними ІМ частіше відзначалась тяжка серцева патологія. В 99 (56,89 %) спостереженнях у померлих відзначалися порушення ритму серця, серед яких значно переважала – фібриляція передсердь, в 8 випадках (4,59 %) в анамнезі відзначався перенесений інфаркт міокарда, у 15 хворих (8,62 %) в клініці виник гострий інфаркт міокарда. Також у померлих в 9 випадках (5,17 %) діагностована тромбоемболія легеневої артерії.

У 9% померлих на розтині з подальшим гістологічним дослідженням не виявлені значимі атеросклеротичні ураження судин. В цих спостереженнях у померлих в анамнезі реєструвалися захворювання серця з підвищеним ризиком кардіоемболії – фібриляції передсердя, мітральний стеноз, перенесений інфаркт міокарду, ревматизм. Фоновим захворюванням у хворих з інфарктами мозку в 17,81 % випадків був цукровий діабет, але випадки з тривало існуючим цукровим діабетом були виключені із дослідження, враховуючи значні передіснуючі зміни судинного русла.

Аналіз віддалених термінів хвороби свідчив, що причина смерті хворих не була безпосередньо пов'язана з ускладненнями інфаркту мозку. Серед причин смерті визначалася двостороння пневмонія, тромбоемболія легеневої артерії, прогресування серцевої недостатності з порушенням ритму серця.

Терміни тривалості хвороби виділені з урахуванням основних патологоанатомічних змін, які характеризують еволюцію мозкового інфаркту. В першу добу відзначались найбільш виражені морфологічні зміни, які розвивалися від переднекротичних (до 3-6 годин) до некротичних змін (до 24 годин). До 3 діб формувалася гостра стадія інфаркту, яка макроскопічно проявлялася вогнищами коліквацийного некрозу з характерними ознаками набряку речовини мозку, появою міграції клітин крові (нейтрофілів, моноцитів і ін.) через стінку судин [124, 125] відсутністю демаркаційної лінії, що визначалася візуально. До 7 діб активується клітинно-макрофагальна реакція і процеси ангиогенезу. З 7 до 14 доби мікроскопічно ідентифікувалися і послідовно наростали процеси організації.

До 21 доби процеси організації інфаркту прогресивно зростають, але тривалість їх залежить від об'єму інфаркту та інших чинників (стану системної гемодинаміки, та інш.) і тривають вони в середньому до 1-1,5 місяця, а організація обширних інфарктів займає більш тривалий час.

Об'єктом дослідження слугували перифокальні ділянки ішемічного півкульового інфаркту мозку, а також зони поза межами ішемічних уражень, зазвичай у протилежній півкулі.

Як умовний контроль для обчислених морфометричних показників і вираженості експресії імуногістохімічних маркерів використовувалися ділянки мозку померлих ($n = 18$), аналогічного віку (середній вік $68,7 \pm 15,2$ років), які не страждали на цереброваскулярну патологію. Причинами смерті в цих випадках була гостра коронарна недостатність, ішемічна стадія гострого інфаркту міокарда. Атеросклеротичне ураження екстра- і інтракраніальних судин в цих випадках не перевищувало 30 %.

Аутопсійний матеріал забирали в середньому через 6-12 годин після констатації смерті. Забиралося не менше 5 ділянок з перифокальної зони, розмірами 10×5×5 мм. З відібраних блоків всіх груп виготовляли ступінчасті зрізи товщиною 5 мкм.

Експериментальний матеріал

Експериментальний інфаркт мозку відтворювався на 30 білих щурах лінії Вістар (по 5 тварин на кожний термін), масою 200-220 гр. обох статей, що були розподілені на 6 груп (по 5 тварин в кожній групі) і які у відповідності до термінів секційних спостережень, були виведені з експерименту через 1 добу, 3, 7, 14, 21, 30 діб від початку експериментального інфаркту. П'ять інтактних білих щурів склали групу контрольних тварин.

Попередньо тваринам проводився розріз м'яких тканин на шиї, виділялась права сонна артерія і інсуліновим шприцом інтраартеріально проводилась ін'єкція суспензії сульфату барію в стерильному фізіологічному розчині в пропорції 1:3 в кількості 0,1 -0,3 мл. Зазначену методику використовували низка авторів при вивченні ішемічного інсульту в експерименті [126]. Всі маніпуляції на тваринах проводились під внутрішньоочеревинним наркозом тіопенталом натрію з розрахунку 20 мг на 1 кг маси тварини.

Виведення тварин з експерименту проводилося шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом (5 мг /1мл фіз.розчину). Дослідженню підлягала внутрішня періінфарктна область, яка визначалася як область в межах приблизно 100-500 мкм від кордону інфаркту.

Експериментальні дослідження виконували у відповідності з національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), з дотриманням положень «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей», а також Указу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. «Про

заходи по подальшому удосконаленню організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин» і Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 № 3447-IV, редакція від 09.12.2015, підстава 766-19). Відповідно до протоколу № 8 від 4.11.2021 р. комісії з питань біоетики Запорізького державного медичного університету МОЗ України порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

2.2 Методи дослідження

А. Методи світлової мікроскопії

Для оглядової світлової мікроскопії мозок фіксували 10 % розчином нейтрального формаліну протягом 24-48 годин, зневоднювали і заливали в парафін. На прецизійному ротаційному мікротомі HM 3600 (фірми «MICROM Laborgerdte GmbH», Німеччина) виготовляли серійні зрізи товщиною 3-4 мкм, які поміщали на адгезивні предметні скельця «SUPER FROST PLUS» (фірми «Menzel Glaser», Німеччина). Серійні зрізи фарбували гематоксилином і еозіном. Основні етапи виготовлення гістологічних препаратів викладені у відповідному керівництві [127]. Для морфологічної документації гемокоагуляційних розладів був використаний метод виявлення фібрину за Малорі [128].

Обсяг матеріалу, який брався для гістологічного і імуногістохімічного дослідження, не перевищував стандартний обсяг матеріалу, необхідного для рутинного патологоанатомічного дослідження з метою постановки діагнозу.

Б. Імуногістохімічні дослідження

Імуногістохімічне дослідження виконано в лабораторії Університетської клініки ЗДМУ на серійних парафінових зрізах аутопсійного матеріалу головного мозку померлих хворих. Для проведення ІГХ дослідження було відібрано 42 випадки померлих з ІМ, які були розподілені відповідно до

терміну хвороби наступним чином: 1 доба – 6 випадків, 3 доби – 7, 7 діб – 6, 14 діб – 7, 21 доба – 7, 30 діб і більше включно з дослідженням стінки кісти у – 9 випадків. Для ІГХ дослідження перифокальні ділянки мозкового інфаркту, ділянки мозку іпсилатеральної півкулі поза межами інфарктної зони, а також ділянки мозку контрлатеральної півкулі фіксували в нейтральному забуференому 10 % формаліні і після дегідротації заливали в парафін. Серійні зрізи завтовшки 4 мкм розміщали на адгезивні предметні скельця «SUPER FROST PLUS» («Menzel Glaser» – Німеччина). Після температурного демаскування антигенів шляхом нагрівання на водяній бані в Трис-ЕДТА буфері (рН=9,0) та пригнічення активності ендогенної пероксидази 3 % розчином перекису водню, виконувались ІГХ дослідження з використанням відповідних моноклональних первинних антитіл та систем візуалізації EnVision+ («DAKO» – Данія) або Ultravision LP Detection System («Thermo Fisher Scientific Inc.» – США) з діамінобензидином. Дослідження проводили згідно стандартизованих протоколів. Зрізи дозобарвлювали гематоксилином Майєра і заключали в канадський бальзам. Оцінку результатів ІГХ-реакції проводили в мікроскопі Axio Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) з камерою Jenoptik Progres gryphax® сериї SUBRA (Німеччина). Основні етапи обробки тканин для проведення імуногістохімічних досліджень викладені у відповідному керівництві [129].

Виразність ангіогенезу в різні терміни хвороби визначали за допомогою оцінки рівня експресії судинно-ендотеліального фактору росту – моноклональними антитілами Мо а-Hu Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Clone VG1 («DAKO» – Данія) та рівня експресії рецептора 2-го типу до VEGF в ендотелії мікросудин – Мо а-Hu Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 (VEGFR), Clone FLT-1 (Diagnostic BioSystems). Ендотелій мікросудин визначався з використанням моноклональних антитіл Мо а-Hu CD34, Clone QVEnd/10 («Thermo Fisher Scientific Inc.» – США).

Ангіогенез також оцінювався за допомогою моноклональних антитіл Mo a-Hu CD105 Endoglin, Clone: SN6h¹ («DAKO», Данія), експресія якого посилюється в активованих ангіогенних ендотеліальних клітинах.

Визначення процесів деградації екстрацелюлярного матриксу, проводили з використанням поліклональних антитіл матриксної металопротеази-9 Rb a-Hu MMP-9 (92kDa Collagenase IV) («Thermo Fisher Scientific Inc.», США), яка є протеолітичним ензимом, здатним до деградації компонентів сполучної тканини та базальних мембран.

Для виключення помилково-позитивного чи помилково-негативного результатів ІГХ дослідження виконувалися контрольні. В якості позитивного контролю паралельно забарвлювалися зрізи головного мозку померлих з відсутністю цереброваскулярної патології, але використовувані антигени були присутні в тканині в достатній мірі і мали відповідне розподілення. Для негативного контролю при виконанні ІГХ дослідження виключали інкубацію з первинним антитілом. Внутрішнім контролем являлося диференційоване фарбування тканини, при якому експресія маркера виявлялася на певних структурних елементах (наприклад, експресія на ендотелії судин) при її відсутності на інших елементах.

Щільність мікросудин визначалася на зрізах позитивно забарвлених пан-ендотеліальним маркером CD34. Визначалася кількість позитивно забарвлених ділянок, які відповідали зрізам судин в полі зору при збільшенні мікроскопу $\times 200$. Підраховувалося кількість судин в 10 полях зору в перифокальних ділянках мозкового інфаркту і поза його межами в кожному досліджуваному секційному випадку. Середнє арифметичне значення кількості мікросудин в кожній групі спостережень, вважали показником щільності мікросудин.

Рівень експресії VEGF-A, VEGFR-2 і MMP9 оцінювали у відсотках площі до площі поля зору при збільшенні $\times 400$. Таким чином площа експресії представляла собою відсоткове співвідношення числа пікселів цифрового зображення зон експресії до загальної кількості пікселів у зображенні.

При кількісній оцінці експерсії маркеру в кожному випадку аналіз проводили в 10 полях зору за допомогою програми Відеотест - Морфологія 5.2.0.158 (ВідеоТест, Росія). Обробка імуногістохімічних препаратів в програмі Відеотест проводилася в певній послідовності. На першому етапі проводилося виділення масок - ділянок зображення, які вимірювалися і які виділялися за кольором порівняно з іншими клітинними або тканинними елементами. В імуногістохімічних препаратах такі ділянки відповідали ділянкам експерсії відповідних маркерів (рис. 2.2). Виділені таким чином маски вимірювалися відповідно до обраних параметрів і калібрування. В подальшому за результатами проведених вимірювань проводилася статистична обробка, яка відображалася у вигляді таблиці (рис. 2.3).

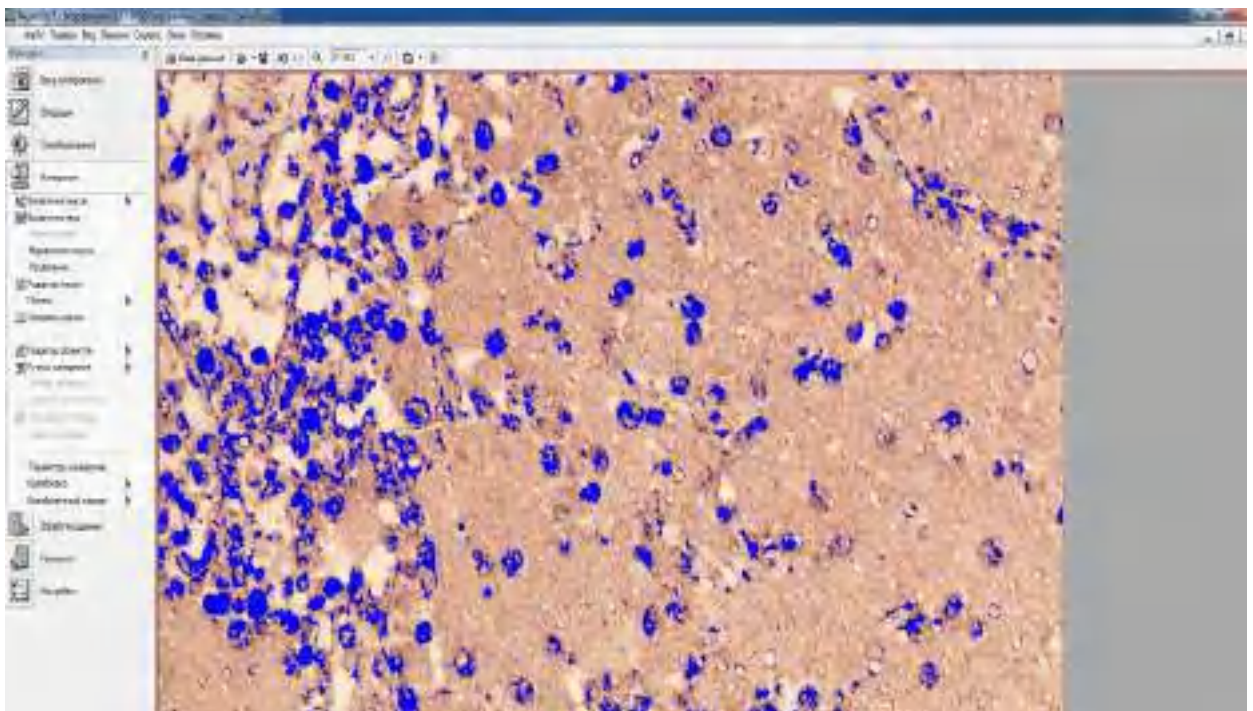


Рисунок 2.2 – Виділення за кольором ділянок експерсії ММП-9. Значна щільність експерсії виявляється в перифокальній області ІМ. (Приклад визначення площі експерсії імуногістохімічних маркерів в програмі «Відеотест - Морфологія 5.2.0.158»).

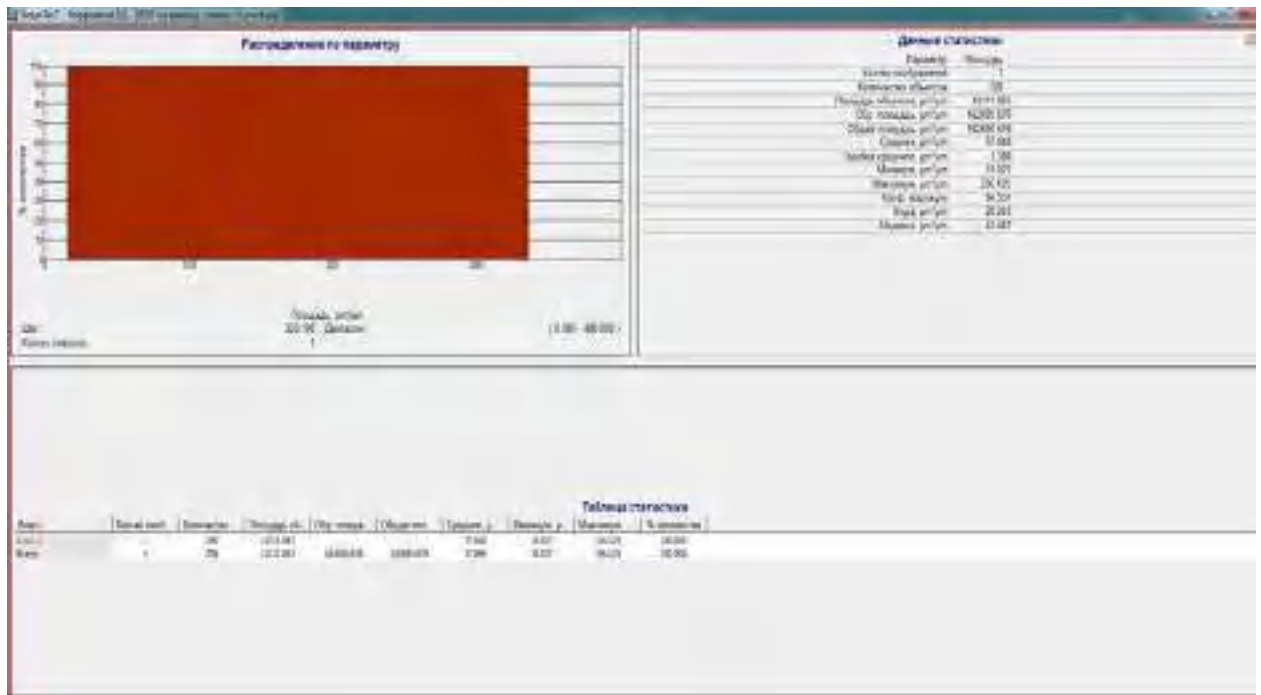


Рисунок 2.3 – Результати проведених вимірювань в програмі «Відеотест - Морфологія 5.2.0.158». (Приклад).

Також оцінювалася інтенсивність експресії CD105 і CD 34. Оцінка проводилася напівкількісно по інтенсивності забарвлення у вигляді слабкого, помірного або вираженого. Інтенсивність експресії часто не відповідала площі експресії і залежала від щільності поверхневих рецепторів на клітинах.

В. Морфометричні дослідження

Для оцінки морфо-функціонального стану судин визначались наступні морфометричні показники: площа поперечного перетину судин, площа ядер ендотеліальних клітин для оцінки їх функціонального стану, щільність їх розташування на стандартизовану одиницю протяжності судини. Стан колатерального кровотоку також характеризували довжиною капілярної мережі. Останній показник обчислювався як сума довжини профілів кровоносних судин в стандартизованому полі зору (поле зору світлового мікроскопу при збільшенні $\times 400$).

Характер судинної реакції в плані пропускної здатності судинного русла визначався шляхом обчислення індексу Керногана (ІКн), який представляв

собою відношення товщини середньої оболонки артеріол стінки до діаметру судини. Для документації посилення кровообігу визначався індекс кровопостачання (ІКр), який обчислювався на зрізах забарвлених пан-ендотеліальним маркером CD34. Він представляв собою співвідношення площі поперечного перетину мікросудин до площі стандартизованого поля зору мікроскопа при збільшенні $\times 400$. В кожному випадку проаналізовано судинні зміни в 10 полях зору.

Дослідження проводилось з використанням мікроскопу Axio Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) з камерою Jenoptik Progres gryphax® сериї SUBRA (Німеччина). В кожному випадку аналіз судинних змін проводився в 5 полях зору за допомогою програми Відеотест - Морфологія 5.2.0.158 (ООО ВідеоТест, Росія).

Г. Електронна мікроскопія

Обробка матеріалу для проведення електронномікроскопічного дослідження перифокальних областей ішемічного інфаркту в експерименті проводилася за загально прийнятим методикам. Час узяття матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження складав до 5 хвилин. Шматочки тканини мозку із відповідних ділянок подрібнювались в краплі 2,5 % глютаральдегіду на 0,1М фосфатному буфері при рН 7,4 шматочки мозку фіксувались в аналогічному розчині 2 години при $t = +4^{\circ}\text{C}$. Після відмивання фіксатора у фосфатному буфері матеріал обробляли в продовж 2 годин в 1 % розчині OsO_4 , який виготовляли на фосфатному буфері. В подальшому кусочки тканини промивалися в спиртах висхідної концентрації і контрастувалися 2 години в 2 % розчині уранилацетату на 70° спирті. Далі матеріал зневоднювали і заливали в епон. Етапи обробки матеріалу для проведення електронно-мікроскопічного дослідження детально викладені у відповідному керівництві [130, 131].

На ультрамікротомі PowerTome S/N3000604 одержували напівтонкі (1-2 мкм) і ультратонкі (60 нм) зрізи. Напівтонкі зрізи забарвлювались

метиленовим синім. Ультратонкі зрізи контрастували спиртним розчином уранилацетату (10 мін при 56⁰ С) і цитратом свинцю по методу E.Reynolds [132] протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Ультратонкі зрізи вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100 при прискорюючій напрузі 75 кВ.

Д. Методи статистичного аналізу

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакета Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J). Графічна обробка матеріалів була виконана за допомогою пакету прикладних програм Excel.

Статистичний аналіз морфометричних параметрів проводили з обчисленням медіани (Me), нижнього і верхнього кватилей (Q1; Q3). Оцінку відмінностей між двома незалежними вибірками проводили за допомогою U-критерію Манна-Уїтні. Порівняння кількісних даних в 3 групах і більше проводили з використанням одностороннього дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса. Статистично значущими вважалися відмінності між порівнюваними значеннями на рівні 95 % ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3

ДИНАМІКА ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В РІЗНІ ТЕРМІНИ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

3.1 Морфологічна характеристика мікроциркуляторного русла в перифокальних ділянках мозкового інфаркту

Аналіз гістологічних препаратів показав, що перифокальна зона мозкового інфаркту в більшості спостережень мала досить характерну морфологічну структуру - ділянки малозміненої мозкової паренхіми зі збереженими клітинними елементами переходили в ділянки зі значною кількістю пікноморфних нейронів, розташованих в набряклій паренхімі. Відзначалася досить чітка межа цих зон. Значний набряк свідчив про накопичення вільної рідини і недостатність її реабсорбції гліальними клітинами і капілярами. Зона значного набряку межувала з ділянкою некрозу. Межа між цими зонами була більш розмитою. Зона інфарктного ядра була представлена відносно диференційованою ділянкою колікваційного некрозу. Зі збільшенням тривалості захворювання, активацією клітинної макрофагальної реакції і реорганізацією капілярної мережі, в тому числі пов'язаною з новоутворенням мікросудин, межа перифокальної зони і зони інфаркту ставала більш чіткішою.

На межі з інфарктом в перші три доби в наших спостереженнях відзначалася неоднозначна реакція судинного русла. Більшою мірою вона залежала від обсягу інфаркту, стану системної гемодинаміки, яка у померлих хворих за даними аналізу історії хвороб знаходилась в достатньо великому діапазоні - від стабільної до декомпенсованої. Однак загальна спрямованість морфо-функціонального стану мікроциркуляторного русла характеризувалась значними циркуляторними і гемокоагуляційними розладами.

Частина капілярів були з недиференційованим просвітом за рахунок набрякових змін і внаслідок цього значної компресії стінок судин (рис 3.1А). Ядра ендотеліальних клітин в таких судинах були пікнотичними, гіперхромними, однак значна частина ядер значно збільшувалась за рахунок вакуолізації.

Стан судин в перифокальних зонах і на незначному віддаленні від некротичних вогнищ (до 1-2 см) характеризувалася як незворотними, так і зворотними змінами ендотелію. Зворотні зміни існували паралельно з прогресуючими дистрофічно-деструктивними змінами з боку базальної мембрани які проявлялися осередками з її локального потовщення, а на окремих ділянках значного витончення. В навколосудинному просторі реєструвався набряк. В ділянках незначних, або помірних набрякових змін в значній частині капілярів просвіт був розширеним, такі капіляри не містили формених елементів крові (рис. 3.1 Б). Такі зміни пояснювалися значним зниженням тиску в найбільш дистальних гілках церебральних судин на фоні ешелонованого стенозу внутрішньоцеребральних артерій. Внаслідок таких змін, дрібні артеріоли і капіляри не заповнювались кров'ю. Такі судини характеризувалися нерівномірною товщиною базальних мембран.

В безпосередній близькості від інфаркту, незважаючи на некротичні зміни мозкової паренхіми і прогресуючий набряк, значна кількість судин все ж таки зберігала свою будову. Такі судини розташовувалися поміж ділянок клітинного детриту і були в стані спадіння або паретичного розширення з наявністю поодиноких формених елементів, або зі стазом крові. Щільне прилягання клітинних елементів до внутрішньої стінки судин свідчило про значне порушення циркуляції крові. Частіше еритроцити, які заповнювали судини досить швидко піддавались гемолізу і ставали основою для подальшого формування тромбів (рис.3.2 А). В перифокальній зоні інфарктів в 12 % спостережень виявлялись дрібні крововиливи.

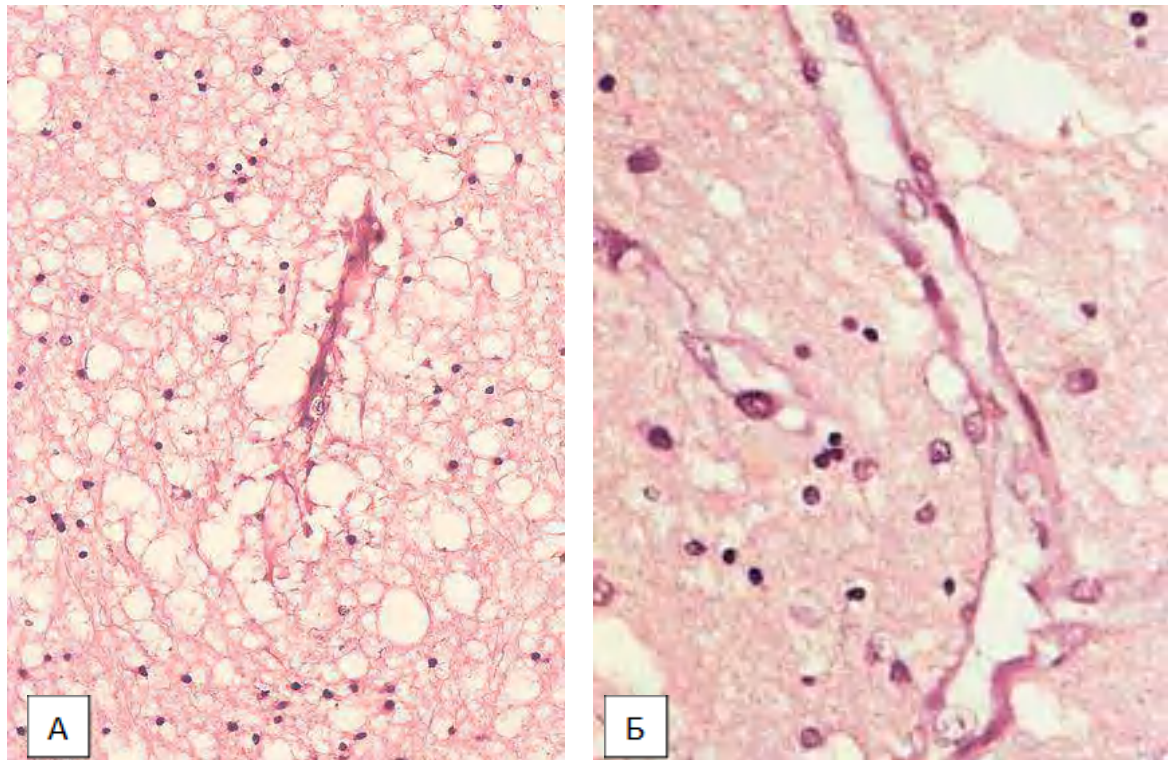


Рисунок 3.1 – А. Капіляр зі здавленням просвіту за рахунок перифокального набряку. Б. Порожній капіляр. Інфаркт мозку, термін хвороби 1 доба.

Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. А - $\times 200$, Б - $\times 400$.

Описані зміни виявлялись вже в першу добу хвороби, але на 3 добу захворювання були вже досить розповсюдженими і виявлялись на віддаленні від первинного некротичного вогнища. Артеріоли діаметром 50-70 мкм були більш стійкі до руйнування і в ранні терміни захворювання зберігали відносно нормальну структуру (3.2 Б). Частина артеріол характеризувалася нерівномірним потовщенням базальних мембран, збільшенням ядер ендотеліальних клітин і перицитів, деяким розпушенням адвентиціального шару. Більшість таких судин містила незмінені еритроцити (рис.3.2 Б). Морфологічні зміни ендотеліальних клітин в таких судинах були менш вираженими в порівнянні з судинами дрібнішого діаметра.

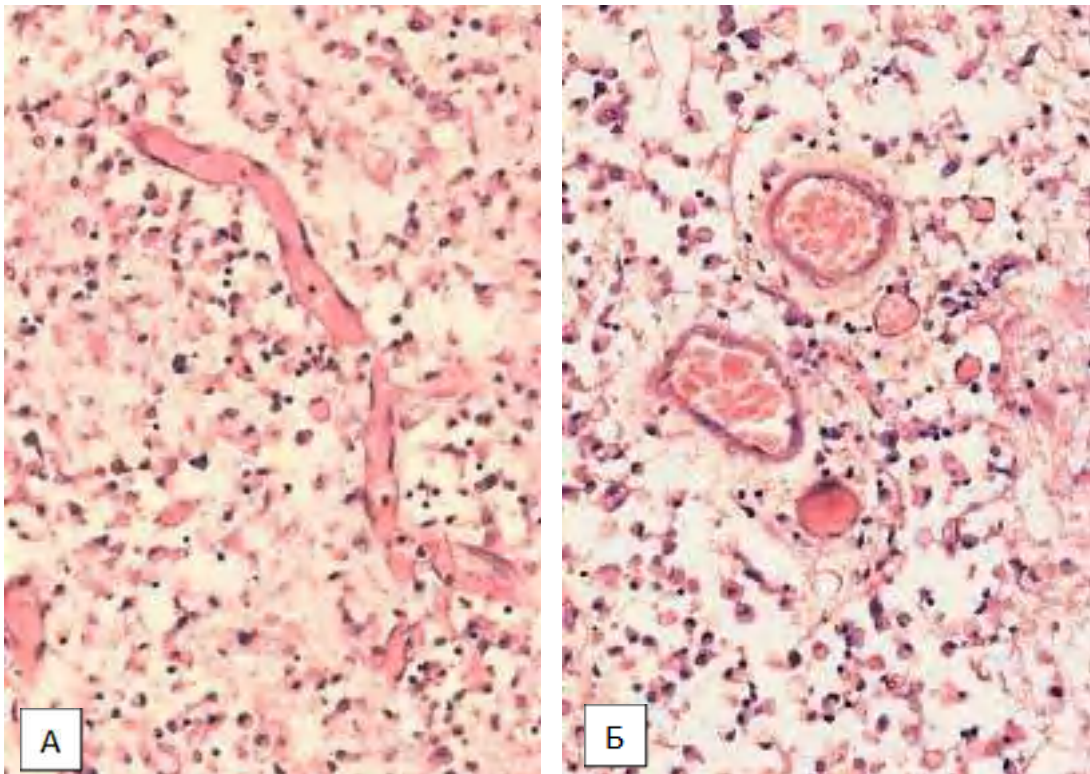


Рисунок 3.2 – А. Судини зі збереженою структурою поміж ділянок клітинного детриту на кордоні з інфарктом з гемолізованими еритроцитами в просвіті. Б. Артеріоли в зоні інфаркта. Термін хвороби 3 доби. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 200$.

Ендотеліальна вистілка судин, які локалізувалися безпосередньо в зоні некроза в 1 добу захворювання частково була порушена, ядра ендотелію були сплюснені, на деяких ділянках відмічались зони деендотелізації. Щільність розташування ядер ендотеліоцитів в судинах в зоні інфаркту в першу добу в порівнянні з перифокальними ділянками інфаркту була знижена на 12,4 %. Дрібні капіляри, діаметром 5-10 мкм, в зоні інфаркту і частково в перифокальних ділянках інфаркту вже через 1 добу піддавалися дезінтеграції. В судинах більшого діаметру, до 50 мкм і більше, деструктивні зміни прогресували впродовж 1-3 доби в залежності від стану кровотоку в перифокальних ділянках інфаркту. Такі судини спочатку характеризувалися нечіткими контурами базальної мембрани, визначалося її витончення і подекуди повна її деструкція на обмежених ділянках, що провокувало розвиток прозапальних змін (рис.3.3 А). Згодом просвіт судини вже не

простежувався, в ендотеліальних клітинах прогресував каріоцитолізис з утворенням по ходу ендотеліальної вистилки судини дрібного ядерного пилу (рис. 3.3 Б). Такі судини були заповнені плазмою або гемолізованими еритроцитами. Безпосередньо на межі з інфарктом навколо таких судин не визначалося будь якої активації клітинної реакції. В оточуючій паренхімі реєструвалися значні некротичні зміни, але без значного набряку (рис. 3.4).

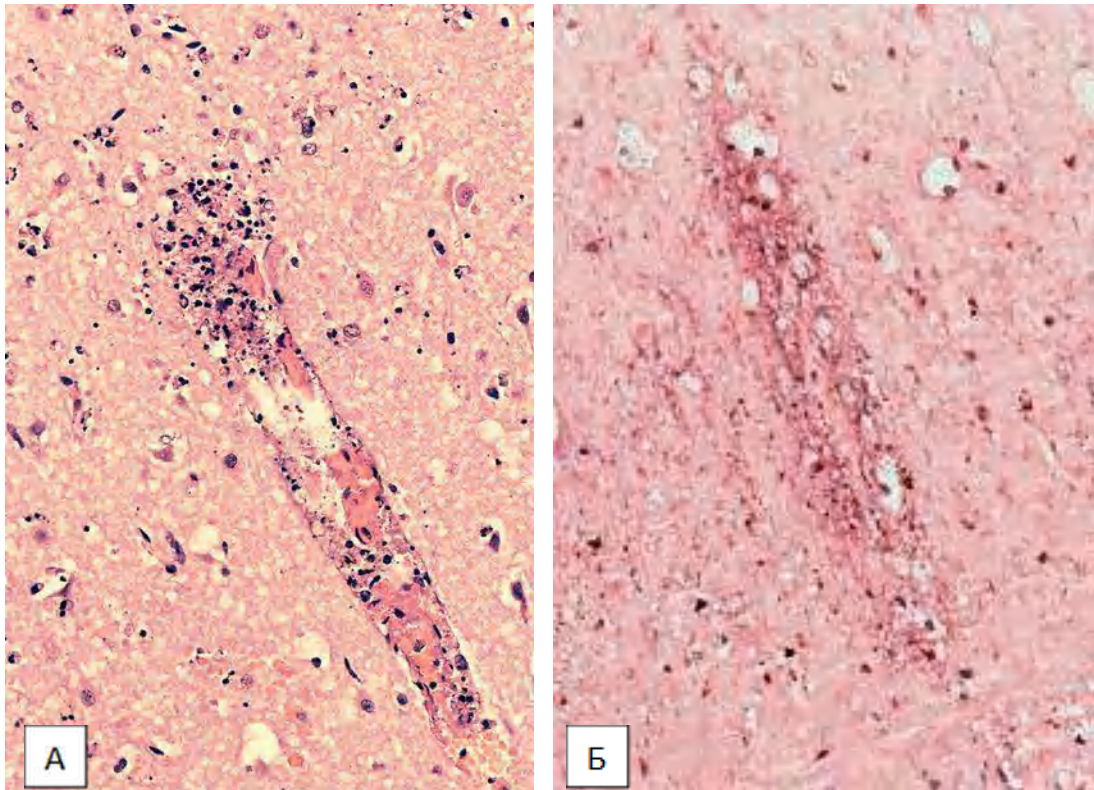


Рисунок 3.3 – Дезінтеграція дрібних артеріол: А - в зоні інфаркту, Б – зміни артерій в перифокальній зоні інфаркту мозку. Термін хвороби А – до 3 діб, Б – 3-4 доби. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 200$.

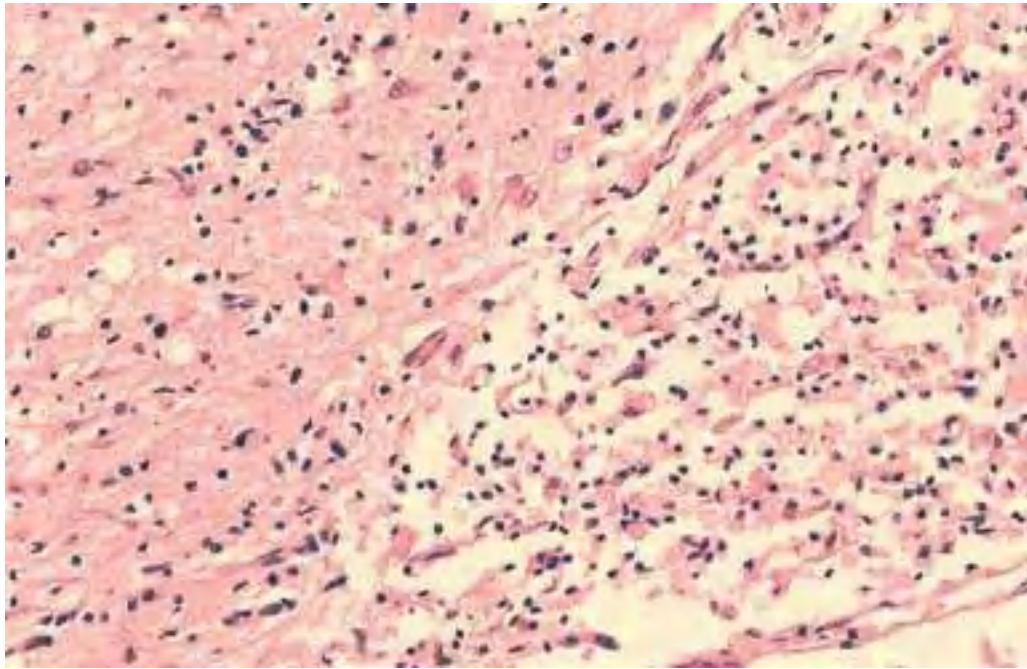


Рисунок 3.4 – Некротичні зміни на кордоні з інфарктом без значного набряку.
Термін хвороби 3 доби. Зб. А - $\times 200$.

По мірі віддалення від вогнища некрозу явища набряку наростали, що спостерігалось в 41,37 % випадків у померлих з терміном хвороби 3 доби. Вказані зміни визначалися наявністю активної мікроциркуляції в частині судин перифокальних ділянок (рис. 3.5). В цих зонах паренхіма мозку набувала криброзного вигляду, в дрібних судинах спостерігалася зупинка кровотоку, але в артеріолах циркуляція крові була збережена. В середній оболонці великих артерій перифокальних зон нерідко можна було спостерігати некротичні зміни, стінка судин мала гомогенний вигляд, зазначалося чергування ділянок розширення і спадіння судин. В ендотелії і гладком'язових клітинах артерій домінували виражені дистрофічні зміни, відзначалися явища плазморрагії і інфільтрації стінки судин лейкоцитами (рис. 3.6 А). Стінка окремих артерій була з вираженою звивистістю (рис. 3.6 Б). Такі артерії розташовувалися в набряклому нейропілі, їх базальні мембрани характеризувалися чергуванням ділянок нерівномірного стоншування або потовщення. Поряд з цим, в перифокальній зоні інфаркту ушкодження більшості судин проходило з активною клітинною реакцією із залученням мікрогліоцитів, гематогенних макрофагів, а також значної кількості

лімфоцитів (рис. 3.7). Зазначені клітинні елементи часто створювали клітинні муфти навколо судин, в яких відмічалось нерівномірне потовщення базальних мембран та виражені деструктивні зміни ендотелію. Просвіт судин, оточених клітинними інфільтратами, частіше містив гемолізовані еритроцити.

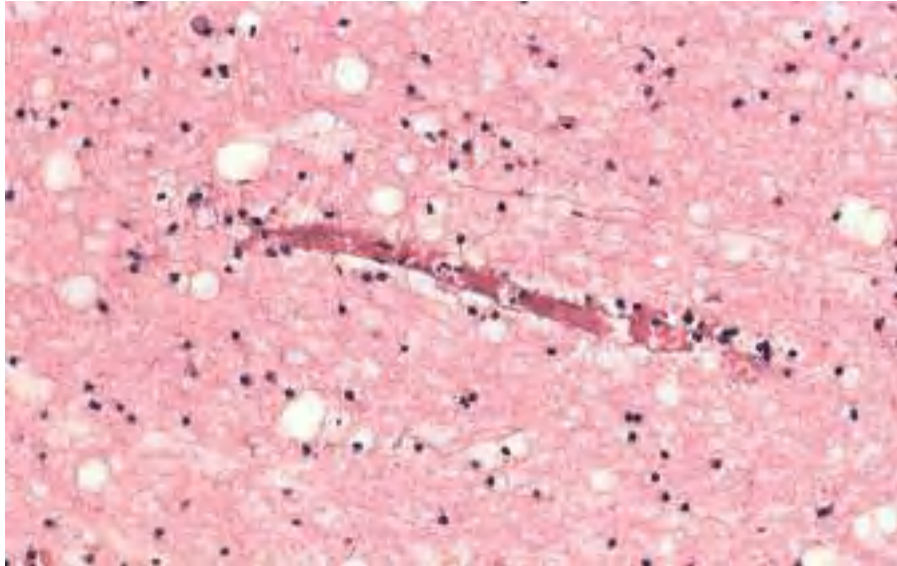


Рисунок 3.5 – набряк в перифокальних відділах інфаркту мозку зі збереженою циркуляцією крові. Термін хвороби 3 доби. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 200$.

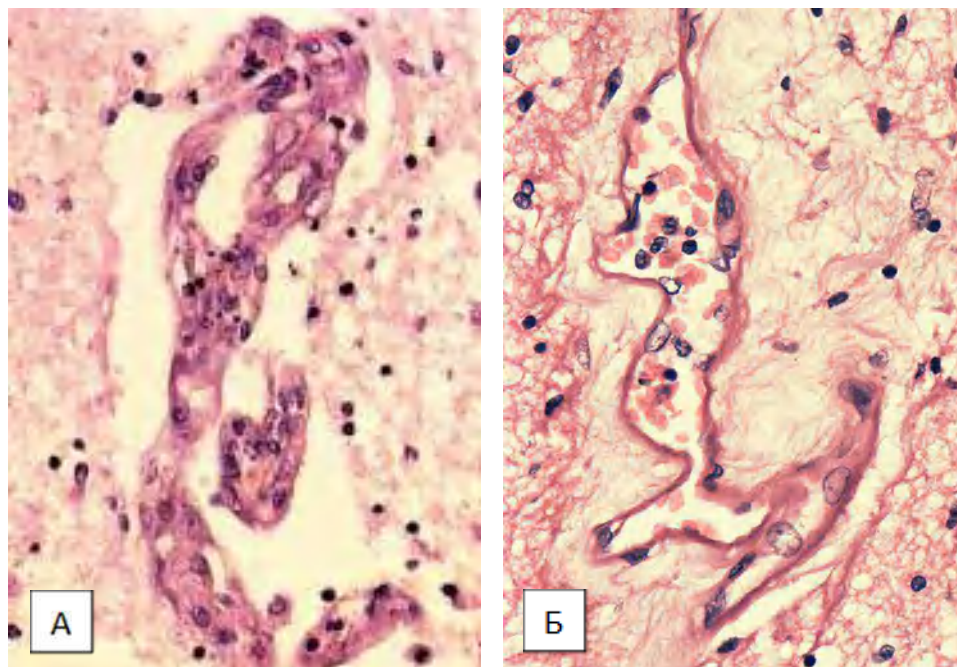


Рисунок 3.6 – А. плазморагія і інфільтрація стінки судин лейкоцитами. Б. виражена звивистість стінки артеріоли в перифокальній зоні інфаркту. Термін хвороби 3 доби. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 400$

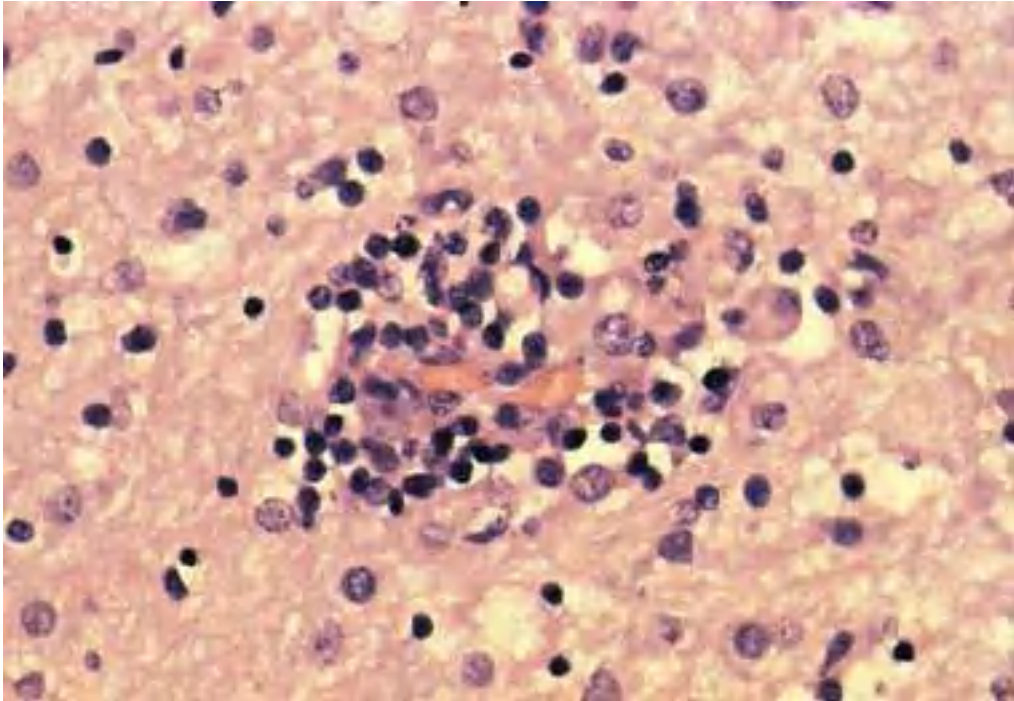


Рисунок 3.7 – Дезінтеграція дрібних артеріол з перифокальною клітинною реакцією Термін хвороби 3 доби. Забарвлення гематоксиліном і еозином.

Зб. ×400.

Значні зміни спостерігалися у венозній ланці кровообігу. Наявність набряку мозку провокувало порушення відтоку крові, що в свою чергу призводило до прогресування набряку з частим розвитком дислокації мозку із подальшим фатальним наслідком для хворого. Направленість венозних змін була більш однорідною і розповсюдженою і реєструвалася як на боці інфаркту, так і в протилежній півкулі. Як дрібні, так і вени великого діаметру, на відміну від артеріальної ланки кровообігу, характеризувалися значним розширенням, незважаючи на значний набряк навколишньої паренхіми (рис. 3.8). Вени були заповнені еритроцитами, або плазмою крові, стінка вен була значно стонченою.

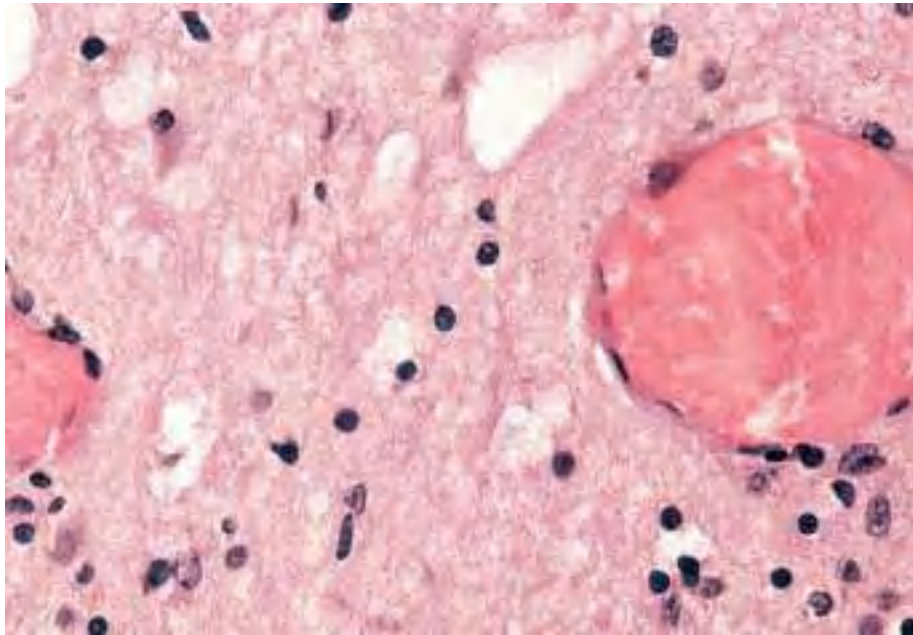


Рисунок 3.8 – Різке розширення вен на віддаленні від інфаркту мозку; термін хвороби 3 доби. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 400$.

Площа поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин на 3 добу хвороби безпосередньо на межі з вогнищем некротичних змін була збільшена в 1,77 рази в порівнянні з контрольними спостереженнями. Аналіз гістологічних препаратів дійсно свідчив, що в більшості спостережень ранніх термінів хвороби відзначався набряк і збільшення ядер ендотеліальних клітин, подекуди з повним закриттям просвіту дрібних артеріол і зупинкою в них кровотоку. Кількісні показники площі поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин через 3 доби наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 - площа поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин через 3 доби після ішемічного інфаркту

| Морфометричний показник | Контрольні спостереження | | Зона некрозу | Перифокальна ділянка | Контрлатеральна півкуля |
|--|--------------------------|-----------------|-----------------|----------------------|-------------------------|
| | Me | | | | |
| Площа поперечного перетину (мкм ²) | Me | 27,47 | 47,34* | 48,34* | 25,43 |
| | Q1; Q3 | 23,26; 29,86 | 42,06; 50,52 | 39,6; 56,64 | 23,44; 25,83 |

Примітка. * – Статистично достовірні відмінності відповідно до контрольних спостережень ($p < 0,05$).

Значні структурні зміни судин і розповсюджені циркуляторні розлади поєднувались з гемокоагуляційними порушеннями, які також в перші 3 доби реєструвалися на значній відстані від зони інфаркту. Частково судини були заповнені плазмою крові без формених елементів, що було характерною ознакою тяжкості гемоциркуляторних розладів (рис. 3.9).

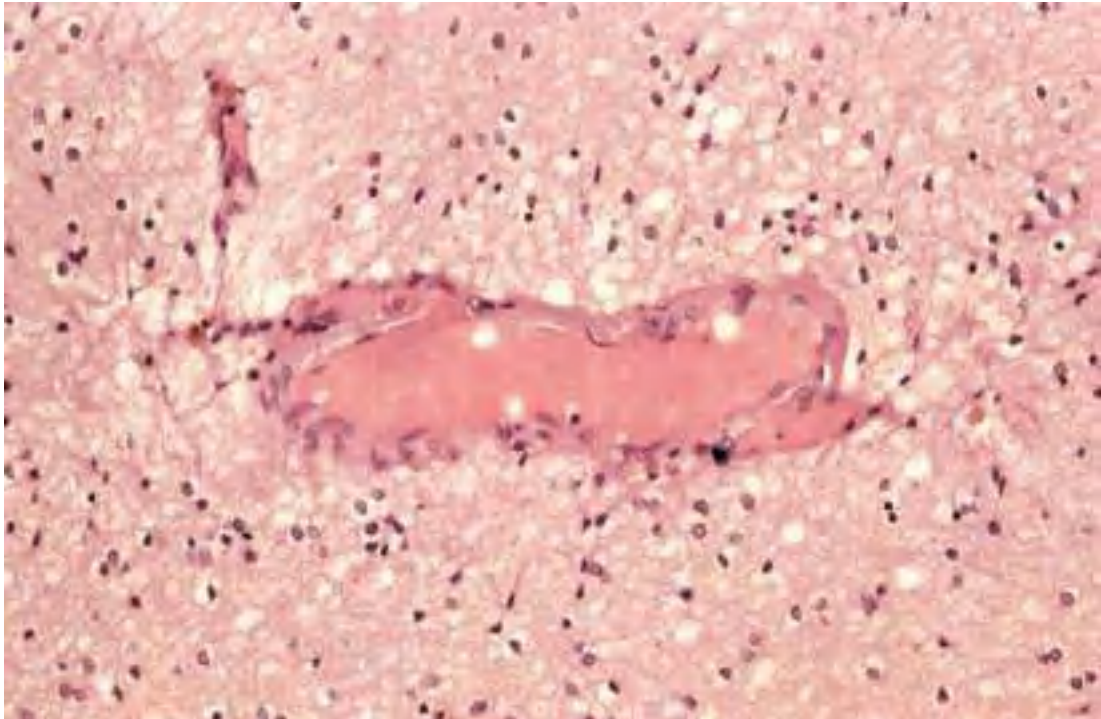


Рисунок 3.9 – Заповнення судин плазмою. Інфаркт мозку, термін хвороби 3 доби. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 200$.

В судинах реєструвався стаз крові, що згодом створював умови для утворення агрегатів. В дрібних судинах еритроцити розташовувалися у вигляді ланцюжків з деформованими контурами (рис. 3.10 А). В судинах діаметром до 50 мкм, в перифокальних зонах гострого інфаркту вже з першої доби виявлялися еритроцитарні агрегати (рис. 3.10 Б), що склалися з непошкоджених еритроцитів, тісно прилеглих один до одного з чіткими клітинними контурами.

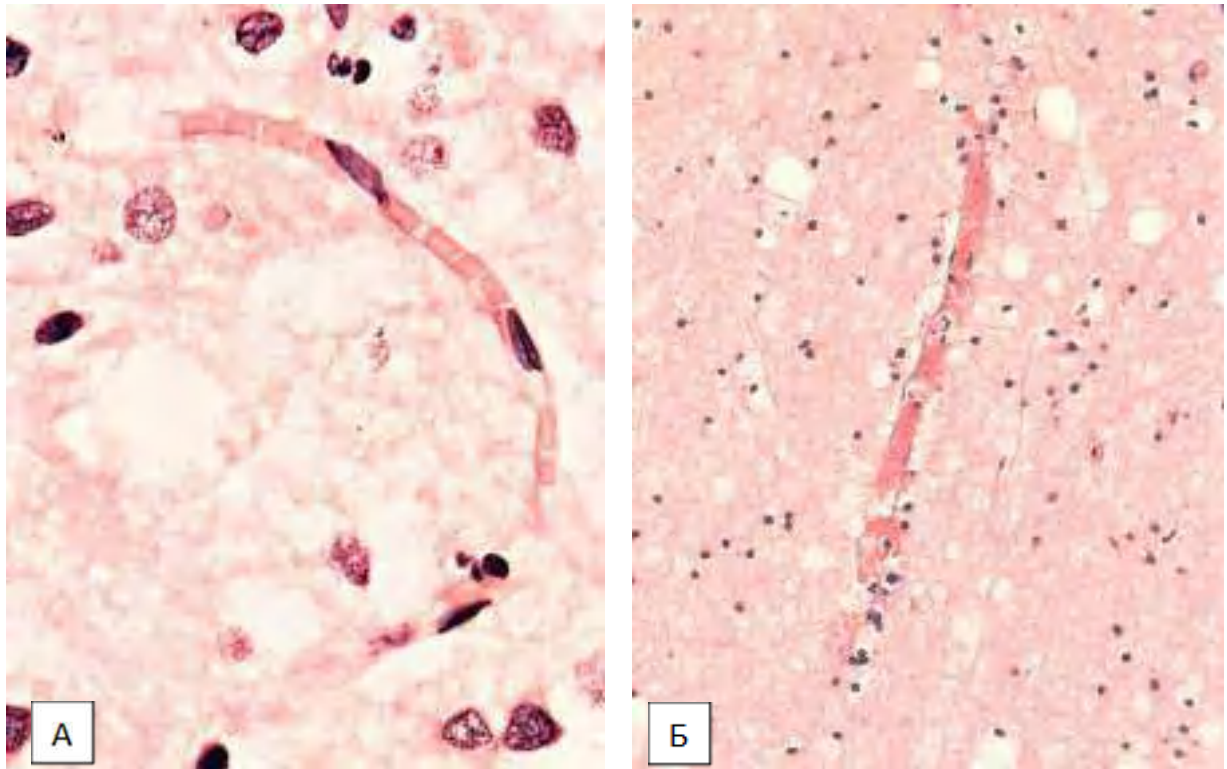


Рис. 3.10 – Перифокальна зона інфаркту мозку, термін хвороби до 3-х діб: А. Ланцюжки еритроцитів в капілярі, набряк ендотеліальних клітин. Б. Еритроцитарні агрегати в дрібній артеріолі. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. А - $\times 600$, Б - $\times 200$.

Згодом в багатьох дрібних судинах виявлялися гемолізовані еритроцити з розмитими клітинними границями. Частина мікросудин разом з еритроцитами і плазмою містила велику кількість лейкоцитів, які формували лейкоцитарні агрегати (рис. 3.11). Серед лейкоцитів переважали моно- і лімфоцити. Лейкоцитарні агрегати зустрічалися в судинах різного діаметру і на різній відстані від вогнища некрозу. Такі зміни реєструвалися у 20,68 % померлих на 3 добу захворювання. В інших спостереженнях на межі з інфарктом навколо таких судин визначався значний набряк з великою кількістю астроцитів Ніссля (рис. 3.11 А). На віддаленні від некротичного вогнища, як в іпсілатеральній, так і в контрлатеральній півкулі також часто виявлялися судини з лейкоцитарними агрегатами. Однак навколо таких судин

домінувала незмінена паренхіма без ознак деструктивних змін клітинних елементів і набряку (рис. 3.11 Б).

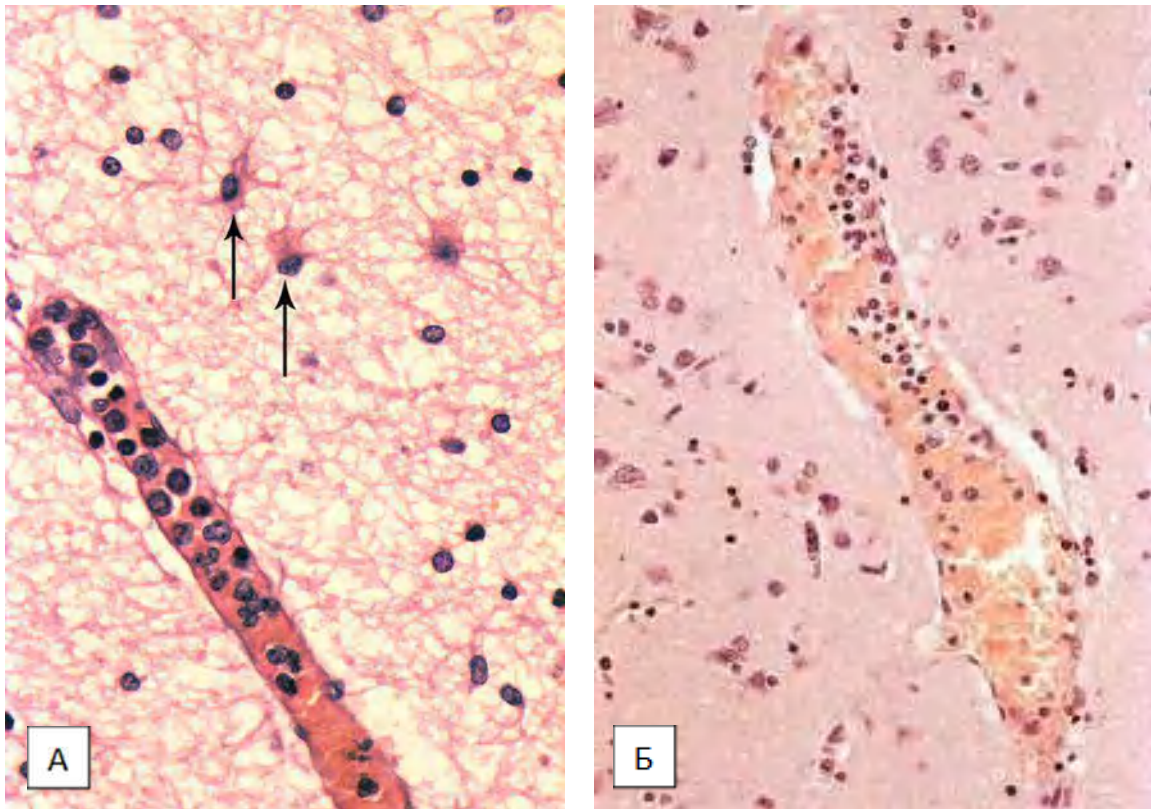


Рисунок 3.11 – А. Лейкостаз в судині на кордоні з інфарктом, в навколишній паренхімі розташовані астроцити Ніссля (показано стрілками). Б. Формування лейкостазу в крупній артеріолі на віддаленні від вогнища інфаркта. Термін захворювання 3 доби. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. А - $\times 600$, Б - $\times 200$.

Ближче до зони некрозу навколо судин, а також безпосередньо в паренхімі іпсілатеральної півкулі виявлялася значна кількість сегментоядерних лейкоцитів, які розташовувалися дифузно або невеликими скупченнями (рис. 3.12).

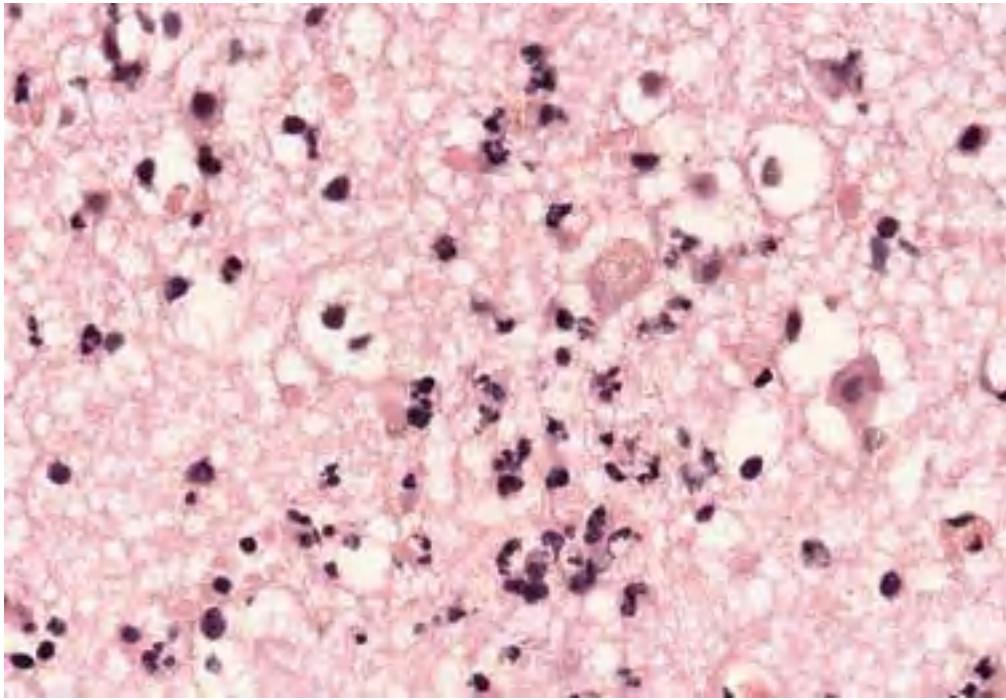


Рисунок 3.12 – Скупчення сегментоядерних лейкоцитів на кордоні з інфарктом. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 400$.

Такі інфільтрати оточували дрібні судини і деструктивно змінені нейрони. В капілярах і дрібних артеріолах часто простежувалися явища лейкодіapedезу (рис. 3.13 А, Б).

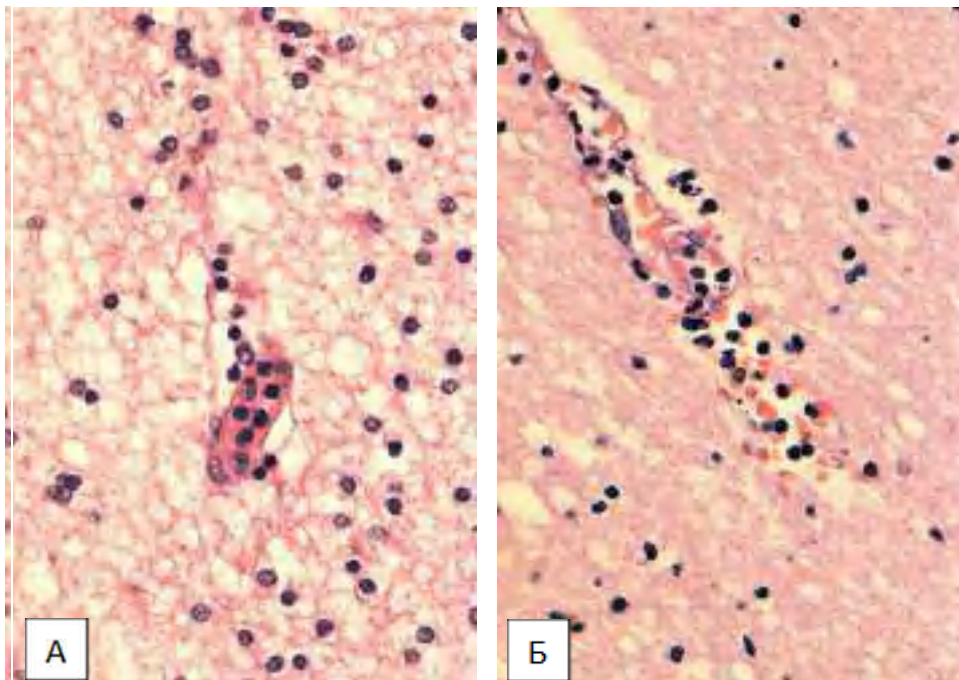


Рисунок 3.13 – А, Б - Лейкодіapedез в перифокальній зоні інфаркту. Термін захворювання 3 доби. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. А $\times 400$, Б - $\times 200$.

Ближче до зони інфаркту такі зміни були звичайним явищем, однак безпосередньо на межі з некрозом лейкодіapedез зустрічався вкрай рідко. Рідше зустрічалися тромбоцитарні агрегати і істинні фібринові тромби. Останні добре виявлялися при забарвленні гематоксиліном і еозином, переважно були пристінкові (рис. 3.14 А) і вкрай рідко повністю могли закривати просвіт судини. Також в судинах можна було виявити фібринові глобули - кулясті утворення, що давали позитивну реакцію при фарбуванні на фібрин. Останні розташовувалися в просвітах дрібних артерій, діаметром до 30 мкм, а також венул і вен (рис. 3.14 Б). Виникненню глобулярних тромбів, як правило, передувало еритроцитарний складж.

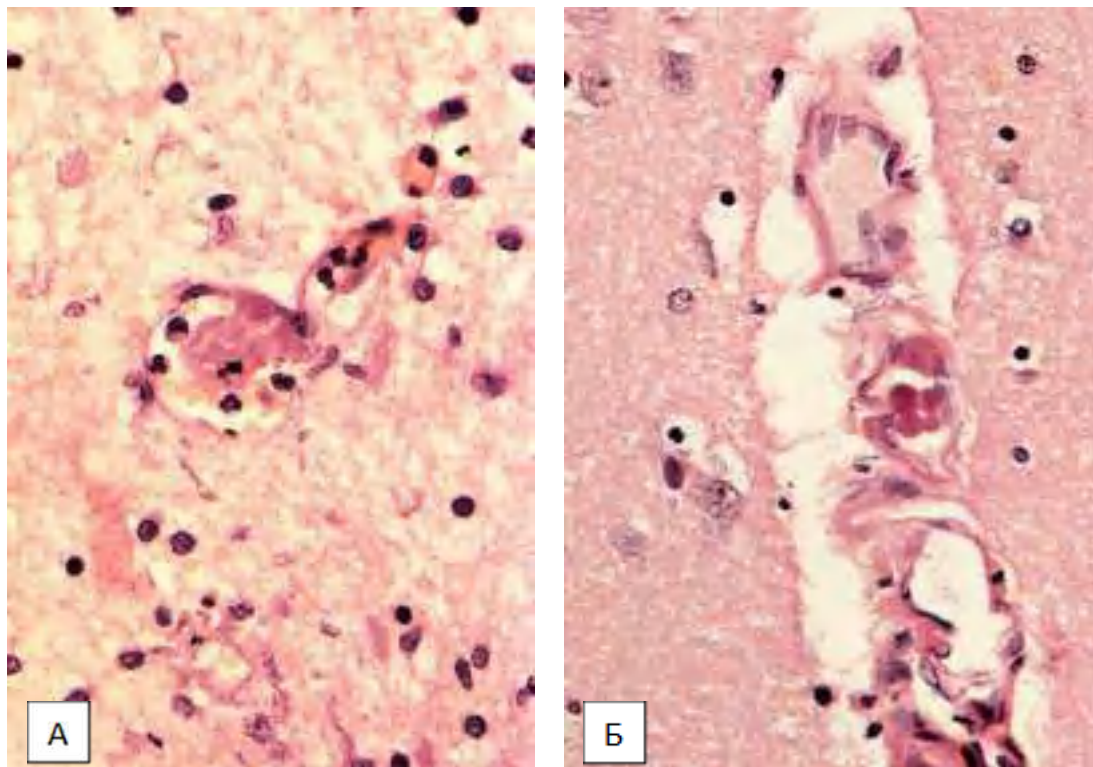


Рис. 3.14 – А – Пристінковий фібриновий тромб в просвіті судини, Б -
Наявність в судинах перифокальної зони інфаркту фібринових глобул.
Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 600$.

Характер гемоциркуляторних розладів дозволяв провести аналіз танатогенеза і ефективність процесів відновлення кровообігу як за рахунок посилення колатерального кровообігу, так і за рахунок активації ангиогенезу, в розвитку якого лейкоцитарна інфільтрація відігравала важливу роль.

Проведений аналіз показав, що мікроциркуляторні зміни в перифокальних ділянках мозкового інфаркту розвиваються в двох напрямках. По-перше, якщо зміни обмежувалися розвитком стазу крові, вираженими набряклими змінами з подальшим лізисом, набряком паренхіми без активації клітинної реакції, то вони свідчили про більш важкі розлади мікроциркуляції і відсутність ефективних компенсаторних механізмів, які забезпечували б посилення кровообігу в перифокальних ділянках ішемічного ядра. Клінічно в таких спостереженнях відзначалися значно більші обсяги інфаркту, супутні гемодинамічні порушення, пов'язані з серцевою патологією і наявність виражених проявів ішемічно-дисциркуляторної енцефалопатії. Аналіз таких спостережень дозволив припустити, що такі морфологічні зміни мали несприятливий прогноз щодо поліпшення неврологічної симптоматики і закінчувалися, як правило, фатально в ранні терміни захворювання, через 1-3 доби. У випадках з активацією клітинної реакції, яка проявлялася наявністю крайового стояння лейкоцитів з подальшим розвитком діapedезу в периваскулярний простір, обсяги інфаркту були менші, він локалізувався, як правило, в субкортикальних відділах тільки однієї частки півкулі мозку. Однак, треба зазначити, що в таких випадках серед лейкоцитів переважали моноцити і лімфоцити. Переважання нейтрофілів відмічалось нами у померлих через 1 добу від початку інфаркту. Ймовірно такі випадки мали несприятливі наслідки. Наявність саме нейтрофілів в судинах і навколосудинному просторі сприяло прогресуванню подальших гемо- і коагуляційних порушень.

В 8 випадках (27,58 %) з наявністю лейкодіapedезу, з тривалістю хвороби 3 доби спостерігалися початкові стадії тромбоутворення (рис. 3.15). Такі зміни реєструвалися і в подальших термінах захворювання і сприяли більш тяжкому перебігу захворювання із розширенням обсягу некротичного вогнища, наростанням неврологічного дефіциту, що простежувалося нами при аналізі історій хвороб та аналізі гістологічних препаратів з оцінкою давності окремих ішемічно-некротичних вогнищ у півкулях головного мозку.

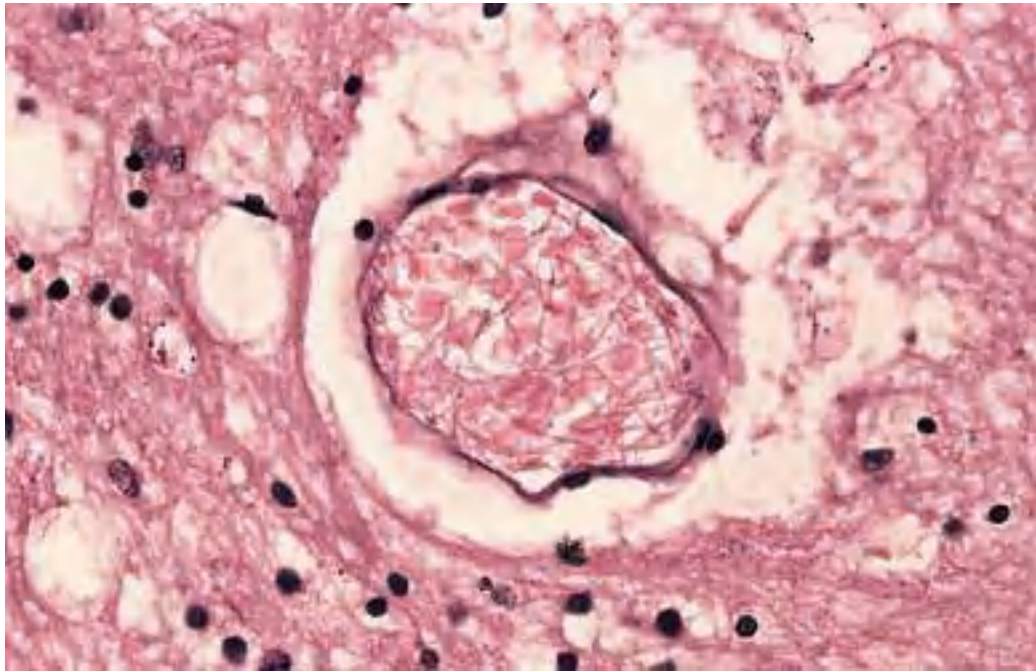


Рисунок 3.15 – Початкові стадії тромбоемболії в судині (діаметр судини 58,5 мкм) перифокальної зони інфаркту. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 600$.

При цьому нитки фібрину щільно обволікали формені елементи крові, які перебували в просвіті судини з подальшим ущільненням фібринового згортка. Такі зміни реєструвалися як в артеріальній, так і венозній ланці кровообігу. Наявність таких змін в поєднанні з діapedезними крововиливами в 5 випадках (17,24%) визначали розвиток локального синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання з поширенням мікротромбоемболії на судини іпсилатеральної півкулі, які розташовані на значній відстані від первинного некротичного ядра. Такі зміни в значній мірі знижували виразність процесів ангіо- і васкулогенезу в перифокальних ділянках мозкового інфаркту. Морфометричні показники на 3 добу хвороби свідчили про незмінну кількість судин на одиницю площі в перифокальній зоні інфаркту. В цих зонах кількість судин на одиницю площі статистично не відрізнялася від кількості судин в іпсилатеральній і контрлатеральних півкулях, але кровопостачання було суттєво зниженим, оскільки значна частина судин мікроциркуляторного русла була заблокована клітинними агрегатами. Поряд з цим в перифокальних зонах інфаркту відзначалось несуттєве збільшення довжини профілів капілярів в порівнянні з контр- і іпсилатеральною півкулями. Якщо в контрольних

спостереженнях довжина профілів капілярів становила 25,71 (19,93; 34,34) мкм в УСПЗ, то на 3 добу ці значення збільшувались в 1,11 рази в контрлатеральній і в 1,3 рази в іпсилатеральній півкулі на незначному віддаленні (до 4-5 мм) від вогнища інфаркту, і становили відповідно 28,67 (17,8;37,04) і 33,65 (27,13; 40,53) мкм. Більш значне збільшення довжини профілів капілярів на стороні інфаркту достовірно вказувало на посилення колатерального кровотоку. На 7 добу довжина капілярної мережі становила 29,26 (23,8; 43,9) мкм в УСПЗ. Поряд з цим суттєво збільшувалась кількість повнокровних судин в підлеглих кіркових відділах в проекції найбільш виражених некротичних змін. Аналізуючи стан мікроциркуляції на 3 – 7 добу і в подальші терміни, треба відмітити, що в ранні терміни захворювання, незважаючи на збільшення довжини профілів судин, середні значення діаметра капілярів в полі зору в перифокальних ділянках інфаркту було зниженим на 6,79 %. Таке зниження було обумовлено периваскулярним набряком, який стримував значне розширення діаметру капілярного русла і набуханням ядер ендотелію з частковим перекриттям просвіту судин.

На 7 і 14 добу показники довжини капілярної мережі в іпсилатеральній півкулі незначно збільшувались в порівнянні з попереднім терміном і становили відповідно 30,94 (25,45;34,93) і 31,35 (23,05; 36,84) мкм, але вони поступово наростали в іпсилатеральній півкулі, але не в перифокальних ділянках некрозу на стадії формування кісти. Максимальні показники довжини капілярної мережі відзначені нами на 45 добу. У ці терміни показники довжини капілярної мережі становили 47,76 (33,07; 57,77) мкм, що на 59,76 % більше в порівнянні з контрольними показниками. І якщо в ранні терміни захворювання збільшення цього показника було обумовлено посиленням колатерального кровотоку, про що свідчило значне збільшення середнього діаметру капілярів, то в більш пізні терміни (починаючи з 7 доби) – за рахунок посиленого ангіо- і васкулогенезу. При цьому діаметр капілярів практично не відрізнявся від контрольних значень, а частина судин

мікроциркуляторного русла була представлена судинними тяжами з невиразним просвітом.

Аналіз гістологічних препаратів довів, що в ранні терміни захворювання (3 доби) повнокрів'я капілярів реєструвалося на тлі значних набрякових змін навколишньої паренхіми. В нейронах, які розташовувалися поряд з такими капілярами, прогресували дистрофічно-деструктивні зміни з вакуолізацією і еозинофілією цитоплазми, пікнозом ядра, або каріолізісом, появою клітин-тіней (рис.3.16 А). На 7 добу відзначалася значна редукція набрякових змін, менш виражені зміни в нейронах і гліальних клітинах, які були розташовані поряд з мікросудинами. При цьому залишалось повнокрів'я капілярів (рис. 3.16 Б), але треба зазначити, що в спостереженнях з більш тривалим терміном життя реєструвався менший обсяг інфаркту і більш сприятливий перебіг хвороби з частковою редукцією неврологічного дефіциту (згідно ретроспективного аналізу історій хвороб). Тому в таких спостереженнях периваскулярний і перицелюлярний набряк носив помірний характер на незначному віддаленні від первинного вогнища некрозу.

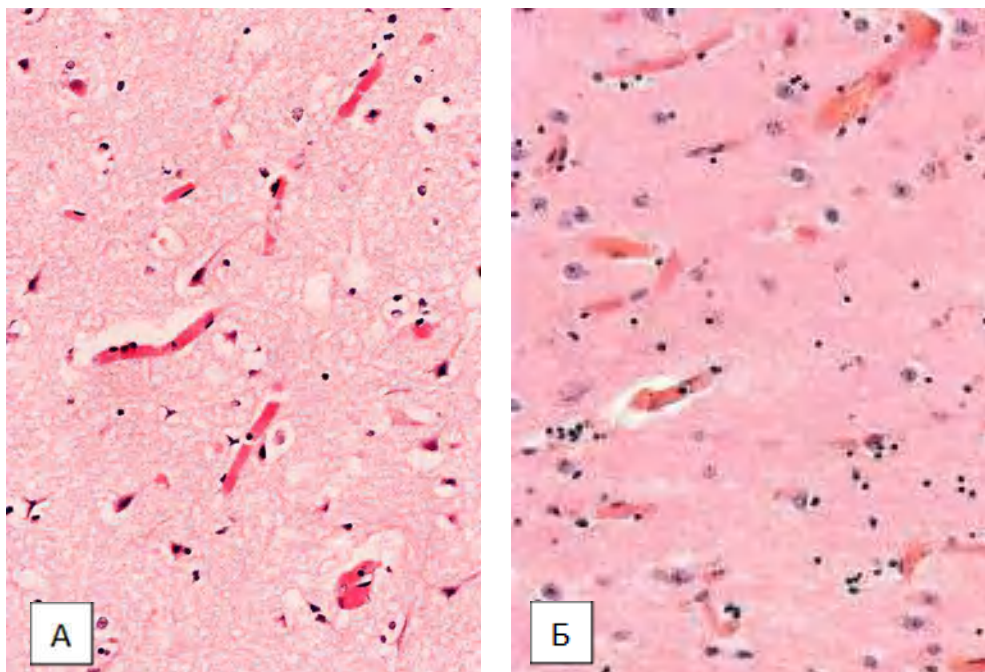


Рисунок 3.16 – А. Розширення і повнокрів'я судин на тлі виражених набрякових змін. Зб. $\times 200$. Б. Розширена капілярна мережа в перифокальній зоні інфаркту. Термін захворювання: А- до 3 діб, Б – 7 діб. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. $\times 200$.

3.2 Морфологічна характеристика стану колатерального кровообігу при інфаркті мозку

Враховуючи, що джерелом колатерального кровообігу є піальні судини, які забезпечують альтернативний шлях ретроградної реперфузії на територію мозку, яка кровопостачається із артерій, які зазнали оклюзії, то були прослідковані зміни цих артерій (піальних).

В гострій стадії інсульту (до 3 діб) на фоні набряку м'якої мозкової оболонки відмічалось суттєве розширення, повнокрів'я і значне розгалуження піальних судин, включаючи артерії і вени м'якої мозкової оболонки.

Значно розширювались радіальні артерії при їх входженні вглиб звивин і борозен мозку (рис. 3.17 А). В прилеглій паренхімі мозку також значно розширювались капіляри і дрібні артеріоли, нерідко формуючи розповсюджену, анастомозуючу між собою мережу (рис. 3.17 Б).

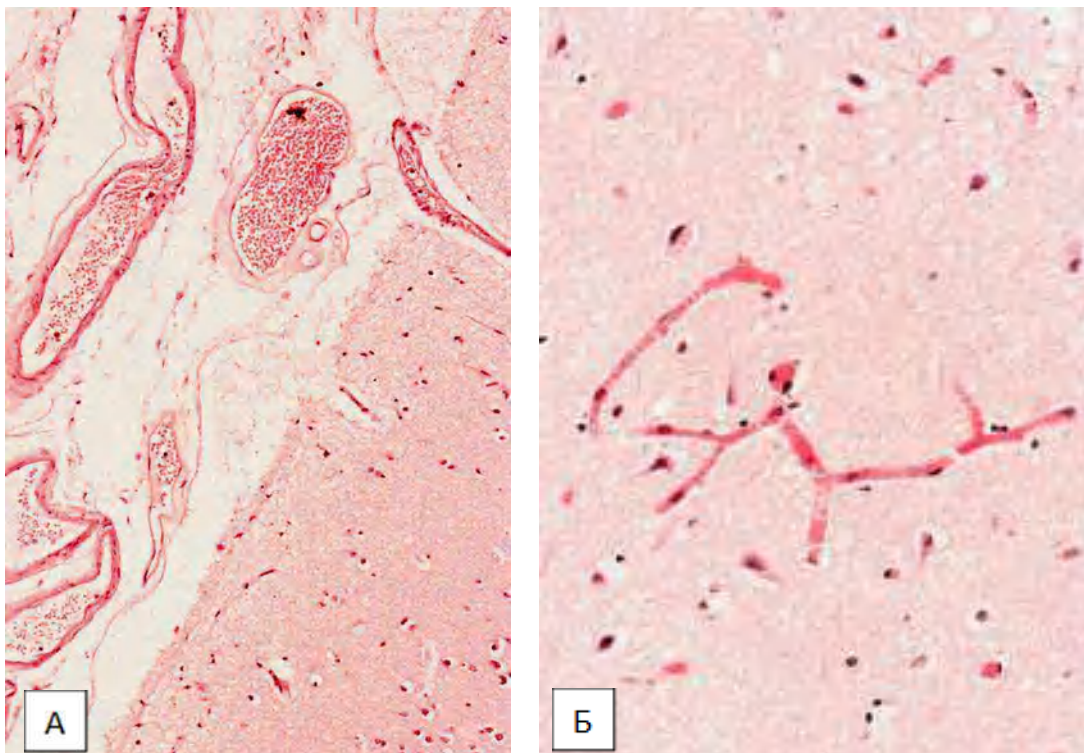


Рисунок 3.17 – А. Розширення, повнокрів'я піальних судин. Зб. $\times 100$. Б. Розширена капілярна мережа в корі мозку в проєкції ішемічного інфаркту.

Термін захворювання до 3 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином.

Зб. $\times 200$.

Дослідження вазомоторної активності судин за допомогою індексу Керногана (ІК) показало, що на 3 добу спостерігалась ділятація як піальних судин, так і радіальних артерій. Ймовірно ділятація розвивалась вже з першої доби мозкового інсульту. Обчислені кількісні дані ІК для судин різного діаметру показали значне розширення артеріол діаметром 50-70 мкм. На 14 добу ІК в артеріолах діаметром 50-70 мкм і 20-50 мкм показники ІК перевищують контрольні показники, але це пов'язано зі склеротичними змінами при яких потовщувалася стінка артеріол. Кількісні показники ІК надані в табл. 3.2.

Таблиці 3.2 - Кількісні показники ІК в піальних і радіальних артеріолах різного діаметру на 3 і 14 добу мозкового інсульту

| Діаметр артеріол | Термін спостереження | Товщина стінки (мкм) | Індекс Керногана | Індекс Керногана, контрольні показники* |
|------------------|----------------------|----------------------|------------------|---|
| 70-100 мкм | 3 доби | 9,52 (8,27; 10,06) | 0,09 | 0,12 |
| | 14 доба | 10,33 (9,63;10,99) | 0,12 | |
| 50-70 мкм | 3 доби | 8,87 (8,31;9,45) | 0,16 | 0,2 |
| | 14 доба | 12,95 (12,64; 4,13) | 0,21 | |
| 20-50 мкм | 3 доби | 6,1 (5,46;6,79) | 0,13 | 0,15 |
| | 14 доба | 7,9 (6,88; 9,21) | 0,18 | |

Примітка: *- Контрольні показники для артеріол відповідного діаметру.

На тлі повнокрів'я нерідко спостерігалися тромбози судин м'якої мозкової оболонки (рис. 3.18 А). Такі зміни відмічались у 17,24 % померлих на 3 добу хвороби. При наявності тромбозу набряку м'якої мозкової оболонки був помірним (рис. 3.18 А), що підтверджує наявність порушеного кровообігу, який є неодмінною умовою розвитку набряку.

Прогресування тромбозу призводило до появи вторинних ішемічних фокусів в кіркових відділах, на значному віддаленні від первинного вогнища. Такі зони характеризувалися вираженими ішемічними змінами нейронів і глії, а також значною лейкоцитарною інфільтрацією (рис. 3.18 Б).

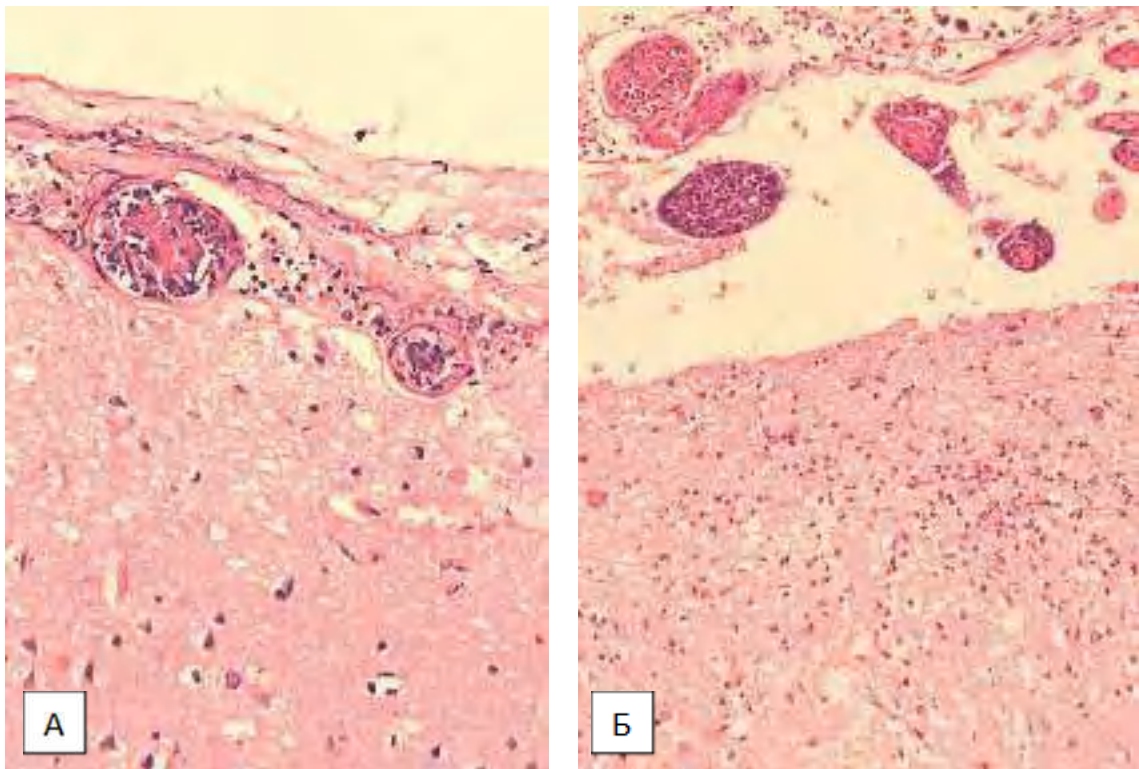


Рисунок 3.18 – А. Тромбози судин м'якої мозкової оболонки. Зб. $\times 200$. Б. Тромбози судин м'якої мозкової оболонки, ішемічні зміни і виражена лейкоцитарна інфільтрація в прилеглих кіркових відділах. Термін захворювання 3 доби. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. $\times 100$.

Також показова динаміка зміни середніх показників діаметра капілярів в полі зору в різних відділах мозку. Кількісні дослідження показали, що діаметр капілярів в півкулі на стороні ураження на 3, 7 і 14 добу захворювання становив відповідно 8,33 (7,69; 8,76), 7,65 (7,36; 8,14), 7,48 (7,29, 7,93) мкм. Середній діаметр капілярів в контрлатеральній півкулі в ці терміни становив відповідно 7,52 (7,07;7,71), 7,36 (7,21;7,44) і 7,24 (7,05;7,43) мкм. При цьому порівняння даного параметра в іпсі- і контрлатеральній півкулі в різні терміни захворювання з контрольними значеннями показало, що у всіх порівнюваних групах відзначається статистично достовірне ($p < 0,05$) збільшення даного показника, крім його значень в контрлатеральній півкулі на 3 добу захворювання. Також треба зазначити, що незважаючи на те що сумарно середній діаметр капілярів зменшувався зі збільшенням терміну захворювання

він залишався значно вищим ніж в контрольних спостереженнях, відповідно на 43,37, 31,66 і 28,74 %. В контрлатеральній півкулі в ці терміни діаметр капілярів був збільшеним в порівнянні з контрольними спостереженнями відповідно на 29,60, 26,67 і 24,61 %.

На 7 добу захворювання набряк м'яких мозкових оболонок поступово зменшувався, але значна проникність судин в гострому періоді інфаркту з виходом за межі судин рідкої частини крові і формених елементів призводило до поступових явищ організації з формуванням колагенізації підпаутинного простору. Між капілярами набував значного розвитку PAS-позитивний волокнистий компонент сполучної тканини, значно збільшувалася товщина підпаутинного простору (рис. 3.19). Навколо крупних артеріол відзначалася поступова колагенізація адвентиціального шару, що добре виявлялося в наших спостереженнях на 14 добу хвороби.

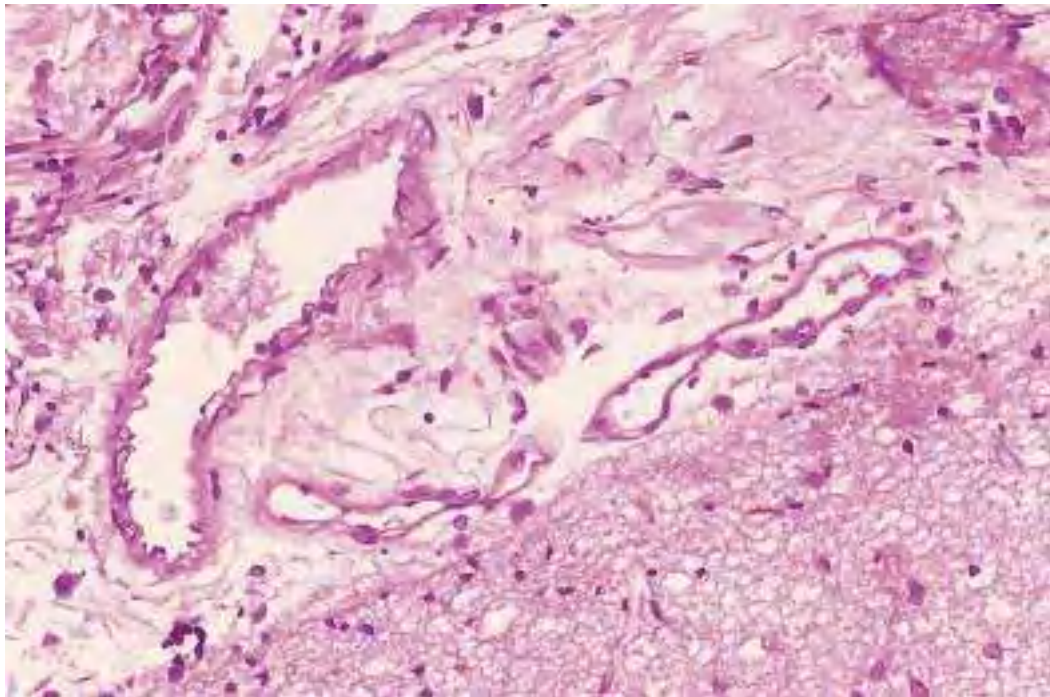


Рисунок 3.19 – Збільшення волокнистого компоненту сполучної тканини в оболонках мозку. PAS-реакція. Зб. $\times 200$.

На 14 добу захворювання і в більш пізні терміни підпаутинний простір значно ущільнювався, набував нерівномірної товщини на різних ділянках, в ньому розташовувались частково розширені, частково склерозовані судини,

дрібні вогнища гемосидерозу. В прилеглій мозковій паренхімі щільність судин була значно знижена (рис. 3.20). В 5 спостереженнях з терміном хвороби 14 діб, а також в подальші терміни зустрічались дрібні вогнища звапніння (рис. 3.21).

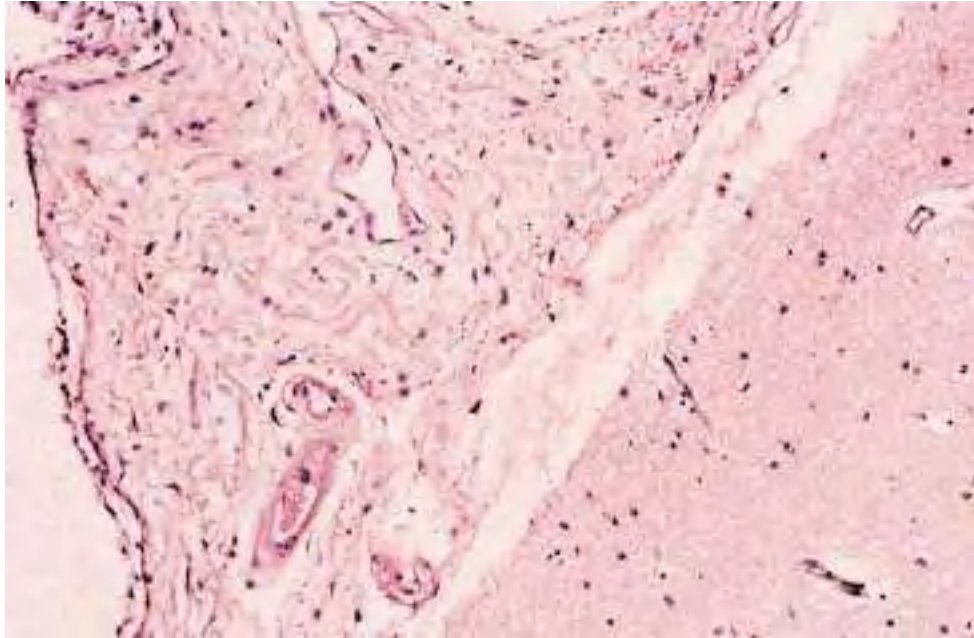


Рисунок 3.20 – Збільшення обсягу і колагенізація підпавутинного простору і адвентиціального шару артеріол. Термін захворювання до 14 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. \times 100.

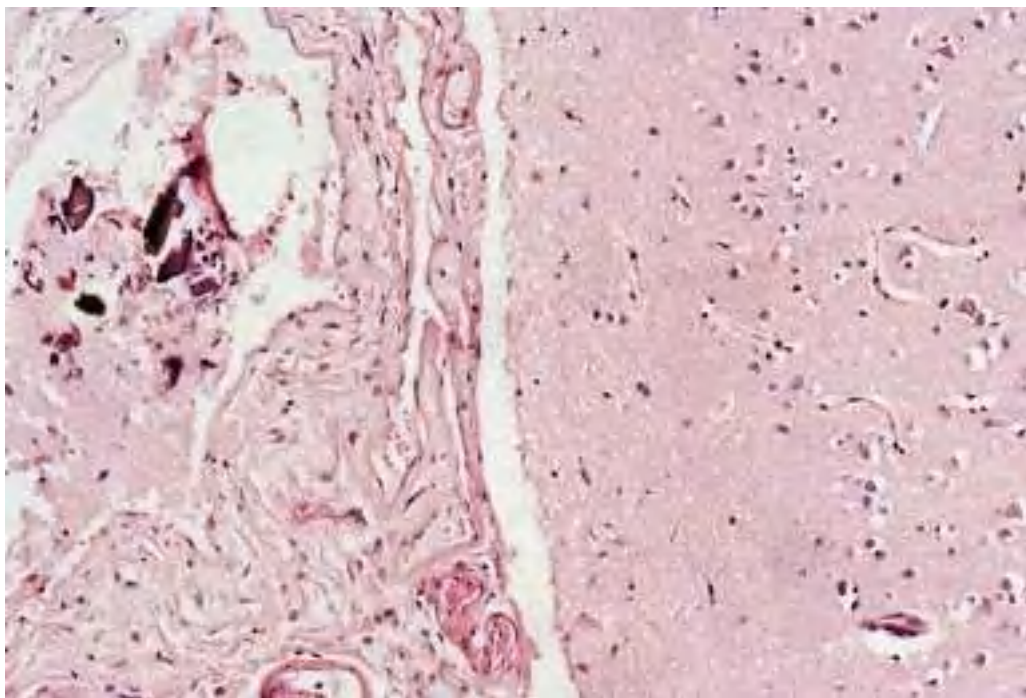


Рис. 3.21 – Склероз підпавутинного простору з вогнищами звапніння. Термін захворювання 21 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. \times 100.

Значні склеротичні зміни суттєво знижували колатеральне кровопостачання з піальних судин в підлеглі кіркові відділи мозку, де виявлялись різні за поширеністю ділянки з порушенням цитоархітекτονіки внаслідок загибелі нейронів і проліферативних змін гліального компоненту. Склеротичні зміни підпаутинного простору також, ймовірно, порушували ліквородинаміку, що посилювало патологічні зміни в прилеглій мозковій паренхімі.

З 7 до 14 доби захворювання навколо дрібних артеріол також реєструвалася гістіоцитарна реакція. Вона виявлялася навколо судин переважно в іпсилатеральній півкулі, а також розповсюджувалася по ходу судин з боку мозкових оболонок на прилеглу паренхіму мозку. Поруч з такими судинами виявлялася велика кількість дистрофічно змінених нейронів, частково з незворотними змінами, а також незначні скупчення гліальних і ймовірно клітин гематогенного походження.

Площа ядер ендотеліальних клітин на 7, 14 добу становила відповідно 28,02 (22,93;34,16), 28,28 (25,18;31,76), що вище в порівнянні з контрольними значеннями на 2 % і 2,94 %. На 21 і 30 добу площа ядер ендотеліальних клітин становила відповідно 25,73(23,46;32,29) мкм² і 26,53(23,92;29,22) що менше в порівнянні з контрольними значеннями на 6,33 % і 3,42 %. На 7 добу відмінності рівня площі поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин в порівнянні з контрольними показниками були статистично незначущі ($p > 0,05$). Таким чином тільки на 3 добу відзначалися статистично достовірні відмінності ($p < 0,05$) значень площі ядер ендотеліальних клітин відповідно до контрольних спостережень. В більш пізні терміни хвороби даний показник практично не відрізнявся від контрольних спостережень навіть в участках посиленого ангіогенезу.

У померлих на 7 добу від початку захворювання в перифокальній області інфаркту мозку відмічалися ділянки розширеної мережи судин внаслідок зриву ауторегуляції, однак більшість судин проявляли нормальну ауторегуляторну відповідь. В безпосередній близькості до зони інфаркту

визначалося збільшення в полі зору на 12,8 % щільності судин. В судинах на 5,5 % збільшувалась щільність розташування ендотеліальних клітин, що свідчило про посилення ангиогенезу в ці терміни захворювання. Поряд з цим відмічався ріст нових судин шляхом брункування. З існуючих судин часто під прямим кутом відходили більш дрібні відростки (рис. 3.22).

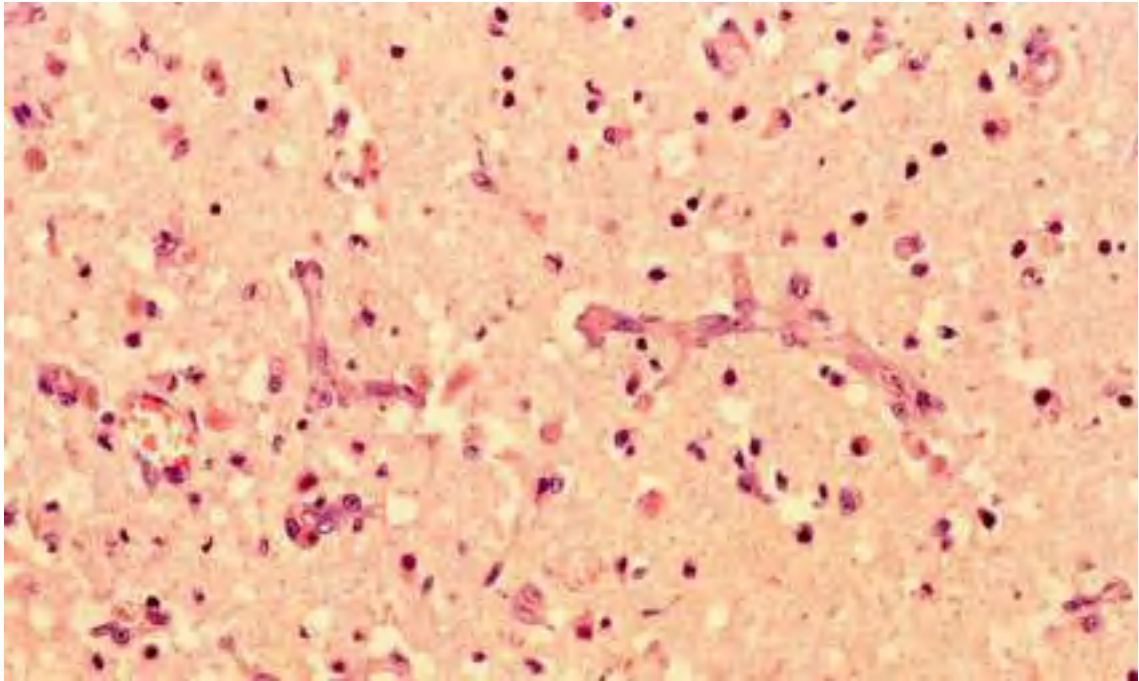


Рисунок 3.22 – Брункування судин в перифокальних ділянках мозкового інфаркту. Термін захворювання 7 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином.
Зб. \times 200.

Посилення брункування капілярів призводило до значної щільності капілярного русла на окремих ділянках (рис. 3.23). Такі зміни домінували в ділянках з посиленим колатеральним кровообігом, були нерівномірно розподілені по периметру ішемічного вогнища і були максимально вираженими з 7 до 14 доби.

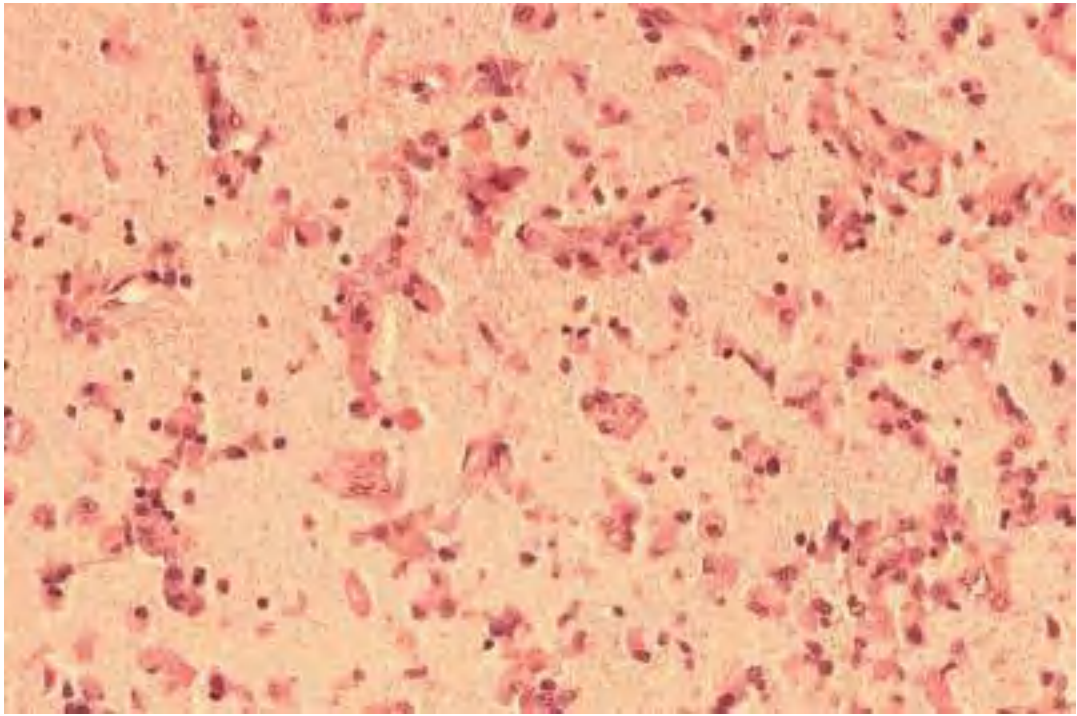


Рисунок 3.23 – Посилений ангиогенез за рахунок брукнування судин в ділянках посиленого колатерального кровотоку. Термін захворювання 7 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 200$.

На 14 добу виразність гістіоцитарної реакції навколо судин зменшувалась, однак виявлялась значна кількість дрібних артеріол з облітерацією просвіту, які нагадували сполучнотканинні тяжі зі значною щільністю навколо них клітинних елементів як гілального, так і гематогенного походження (рис. 3.24 А). Склеротичні зміни з облітерацією визначались і в судинах більш крупного діаметру (рис. 3.24 Б).

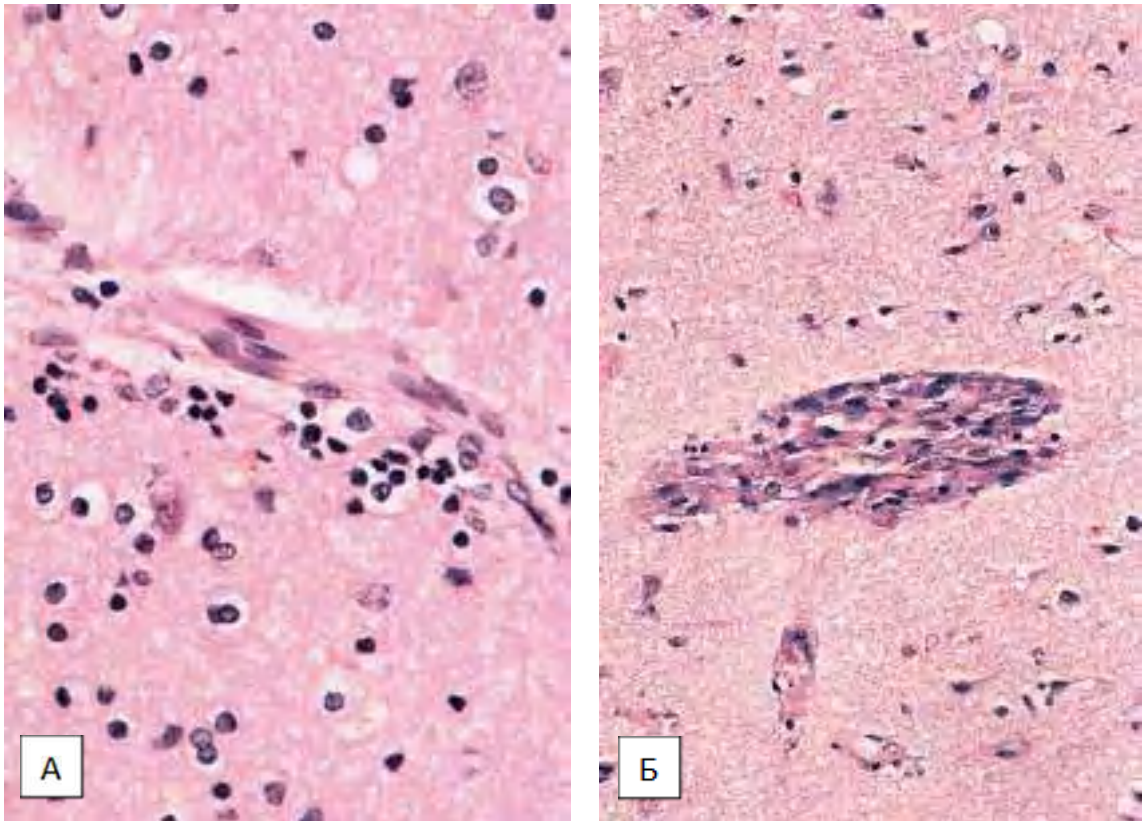


Рисунок 3.24 – Облітерація просвіту судин (А – дрібної артеріоли, Б – крупної артеріоли) на 14 добу захворювання. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. А - $\times 400$, Б - $\times 200$.

Навколо функціонуючих судин зростала кількість гематогенних макрофагів/моноцитів, а також резидентних макрофагів, роль яких виконували мікрогліюцити і ймовірно астроцити (рис.3.25). В таких судинах були значно збільшені ядра ендотеліальних клітин. Частина гематогенних макрофагів набувала морфологію зернистих куль вже на 3-7 добу захворювання. Також гематогенні макрофаги супроводжували розширені колатеральні судини і новостворені судини (рис. 3.25).

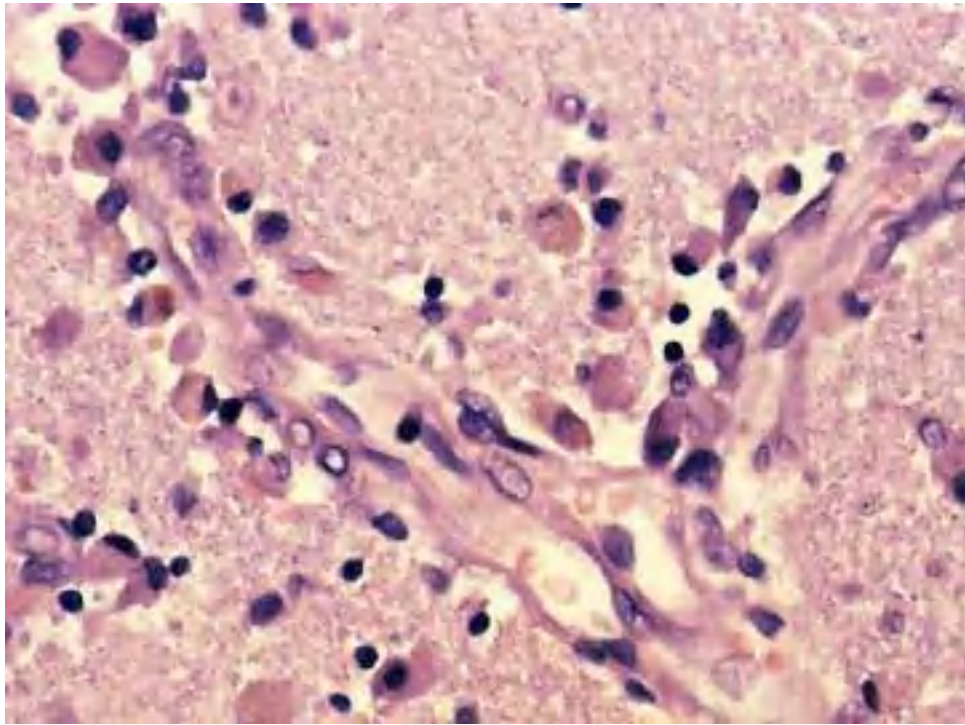


Рисунок 3.25 – Скупчення зернистих куль навколо функціонуючої артеріоли.

Термін захворювання 14 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином.

Зб. × 400.

3.3 Морфологічні прояви посилення ангиогенезу і перебудови судинного русла в перифокальних участках ішемічного інфаркту

З 7 доби виявлялися процеси активації васкулогенезу. В перифокальних зонах інфаркту виявлялись скупчення малодиференційованих клітин, які розташовувались в більш щільному міжклітинному матриксі. На відміну від ендотеліальних клітин нормально функціонуючих судин вони мали збільшені світлі ядра з дифузною сіткою хроматину (рис.3.26 А).

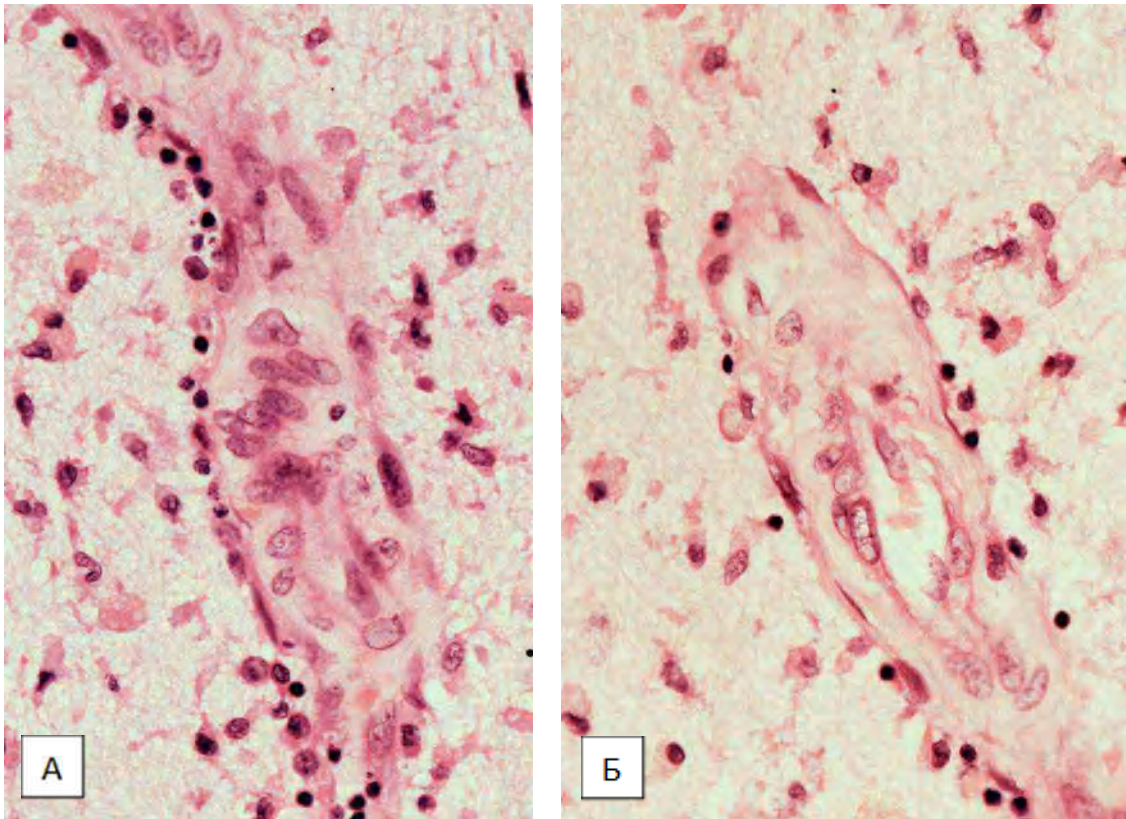


Рисунок 3.26 – А, Б – Послідовні стадії васкулогенезу (опис в тексті). Термін захворювання А - 9 діб, Б – 14 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином.
Зб. × 400.

Міжклітинний матрикс зі щільним розташуванням таких клітин зазвичай був оточений більш дрібними, округлими або злегка витягнутими клітинами. З часом формувалася порожнина судин, ендотеліальні і адвентиціальні клітини набували більш витягнутої форми і характеризувалися значною щільністю розташування (рис. 3.26 Б). Такі зміни спостерігались безпосередньо на кордоні (рис. 3.27) і на незначній відстані від інфаркту (від 1 до 3 мм) про що свідчили дистрофічні зміни навколишніх клітинних елементів і наявність вираженої макрофагальної реакції.

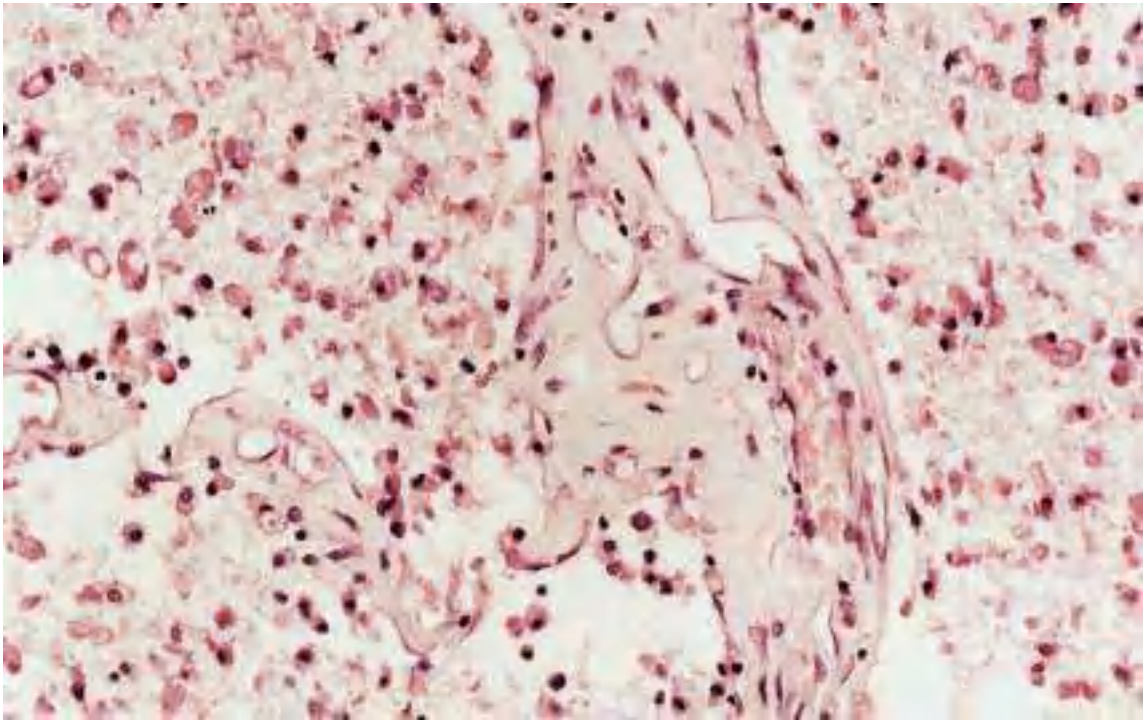


Рисунок 3.27 – Формування судин на кордоні з інфарктом. Термін захворювання 9 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. \times 200.

В крупних артеріолах посилювались процеси ангиогенезу у вигляді формування нових артеріальних судин (рис. 3.28), джерелом яких ймовірно були ендотеліальні клітини. Спочатку такі судини мали тісний контакт зі стінкою крупної артеріоли (рис. 3.28). З часом їх кількість зростала, міжсудинний простір заповнювався більш щільним матриксом. На 14-21 добу в новостворених судинах відзначався активний кровообіг (рис. 3.29 А, Б), стінка новостворених судин набувала схожість з материнською артерією. В адвентиції останньої на 21 добу і в подальших термінах домінували склеротичні зміни з більш, або менш вираженою клітинною реакцією (рис.3.30).

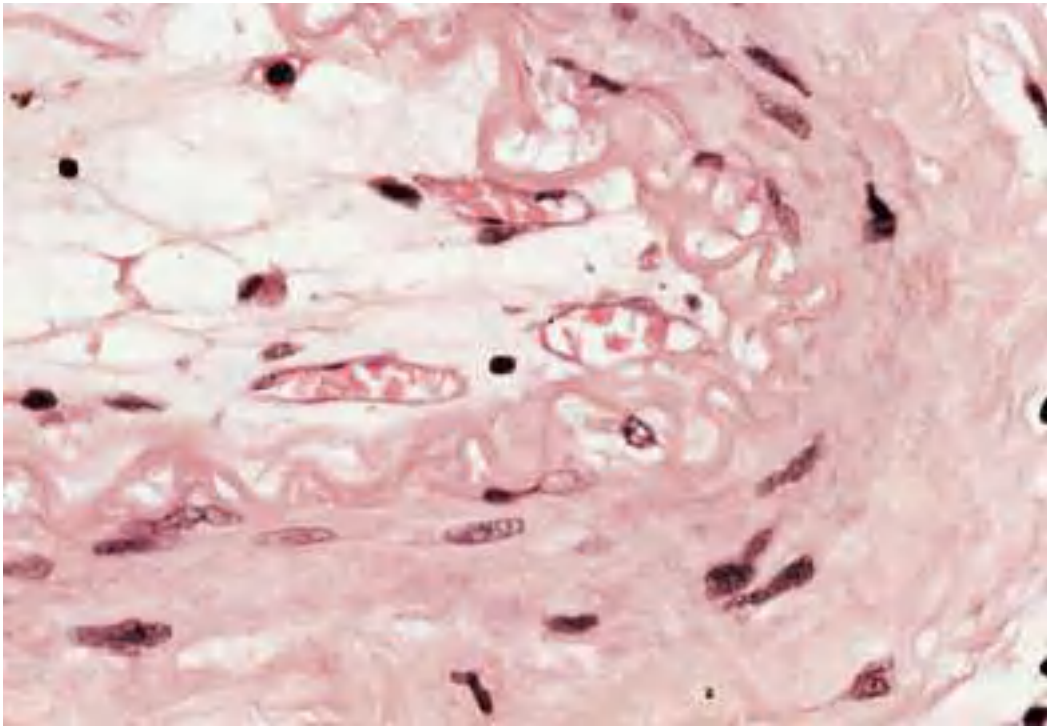


Рисунок 3.28 – Облітерація просвіту судин (А – дрібної артеріоли, Б – крупної артеріоли) на 14 добу. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 600$.

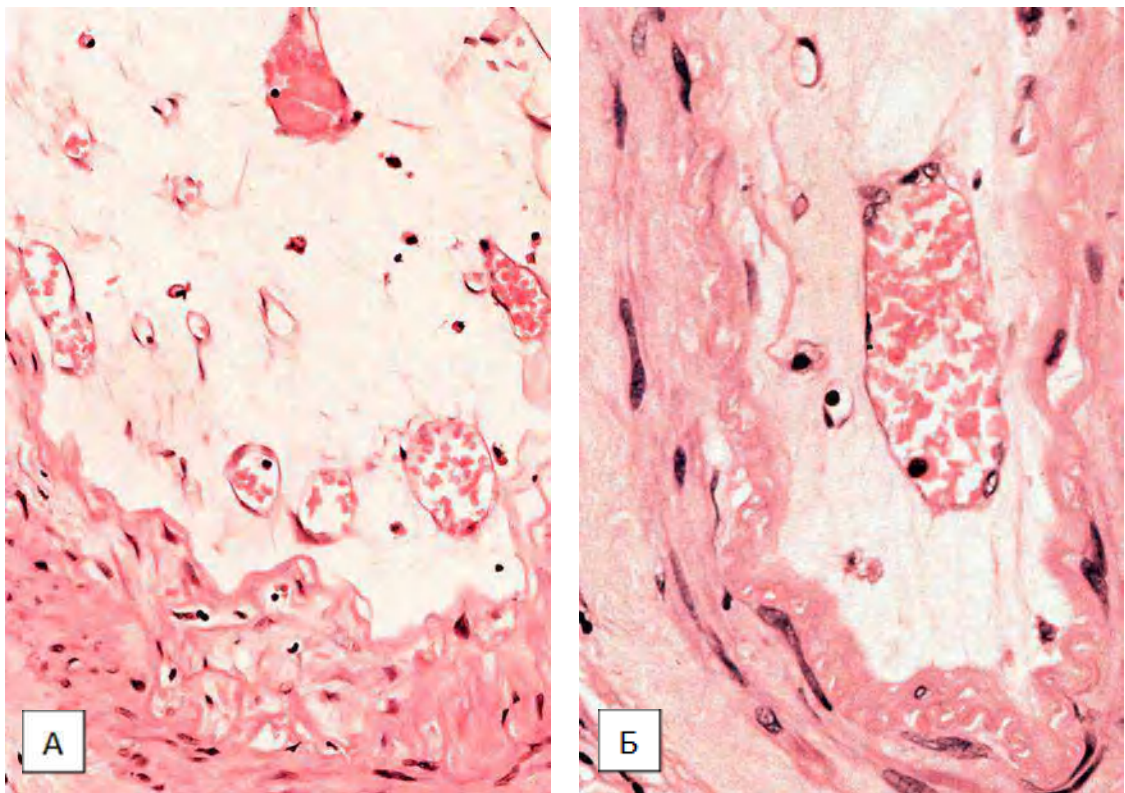


Рис. 3.29 – А, Б - Формування нових артеріальних судин на 14 добу. Збарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 400$.

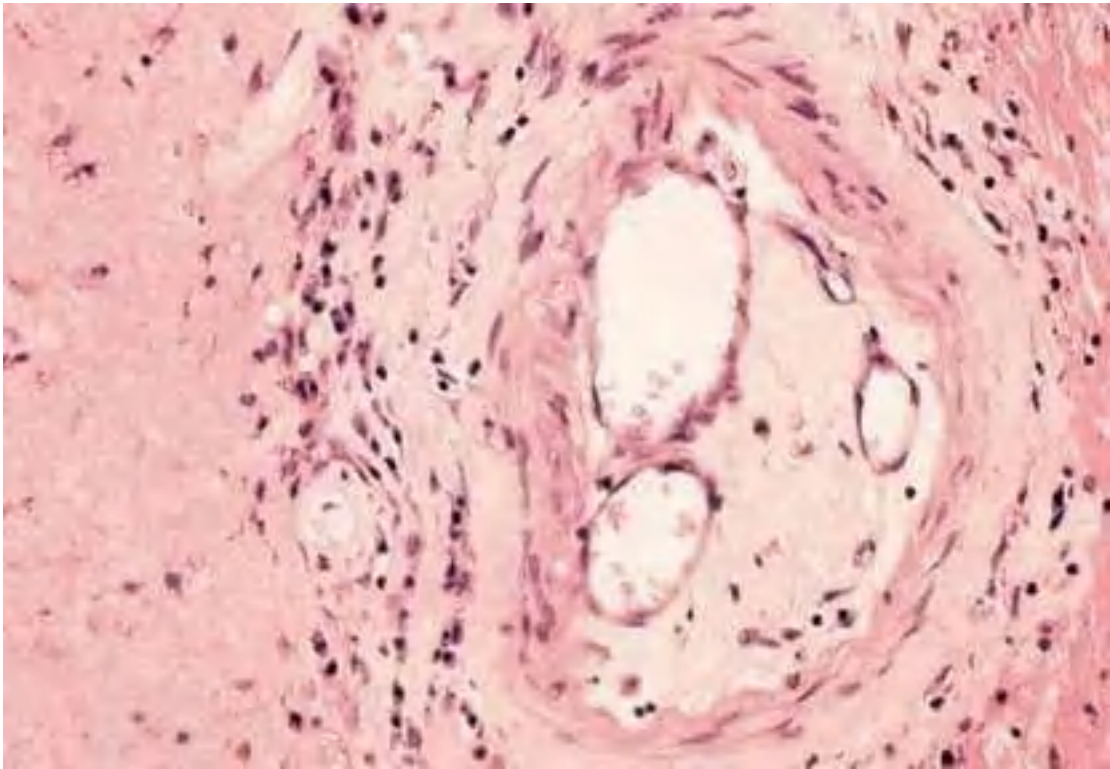


Рисунок 3.30 – Склеротичні зміни в адвентиції судини на 21 добу.
Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 200$.

На 14 добу продовжувалося новостворення дрібних судин на кордоні з участком інфаркту (рис. 3.31). Щільність судин в порівнянні з іпсілатеральною і контрлатеральною півкулею зростала відповідно на 48,4 % і 54,56 %. В участках вираженої проліферації реєструвались дрібні крововиливи, значна проліферація гліальних клітин.

Діаметр капілярів на 21 добу захворювання в іпсілатеральній півкулі становив 6,45 (6,15; 6,87) мкм, в контрлатеральній – 6,31 (6,03; 6,72) мкм. На 30 і 45 добу хвороби діаметр капілярів в півкулі на стороні ураження становив 5,94 (5,49; 6,25) мкм і 5,84 (5,41; 6,1) мкм. Оцінка між двома вибірками відмінностей показників діаметра капілярів в контрольних спостереженнях і на 14 добу хвороби, показали статистично значущі відмінності як у іпсілатеральному, так і в контрлатеральному півкулі.

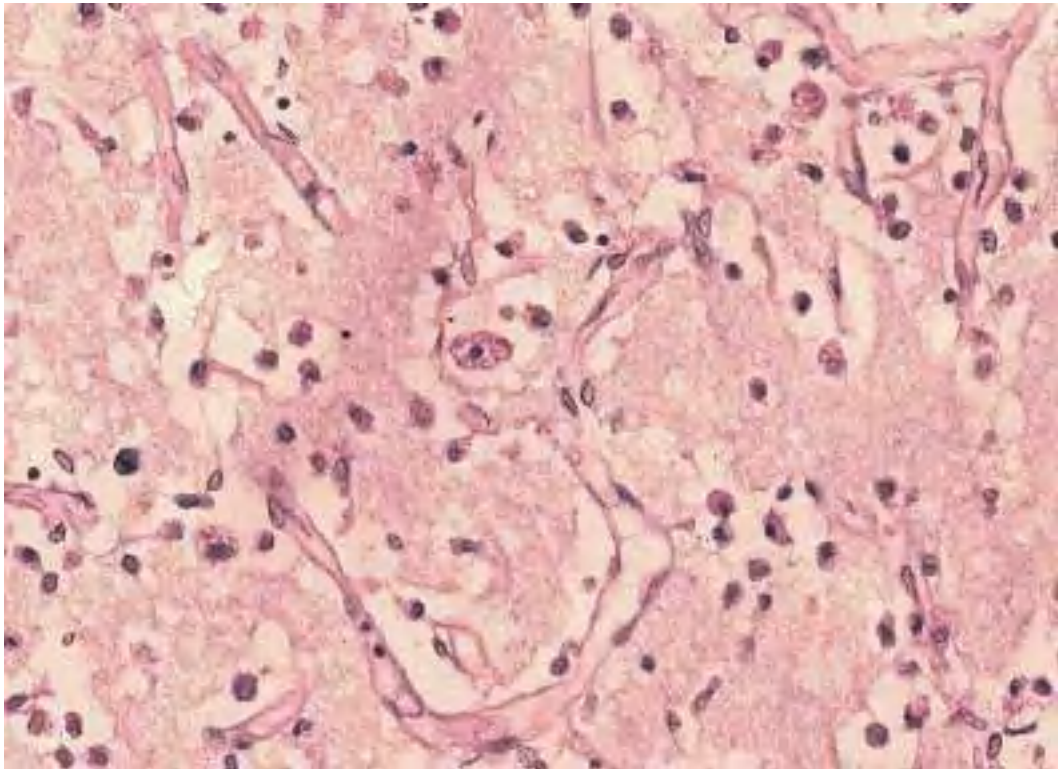


Рисунок 3.31 – Значна щільність новостворених судин в перифокальних участках інфаркта на 14 добу захворювання. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. \times 400.

На 30 добу і в більш пізні терміни, отримані значення U знаходились поза зоною значущості. Таким чином у віддалені періоди значення середнього діаметру капілярів практично не відрізнялись від контрольних показників. Але аналіз світлооптичних препаратів довів неоднозначність змін з боку мікроциркуляторного русла в кожному конкретному випадку, що залежало від обсягу інфаркту, предіснуючих судинних змін на тлі яких розвинулося гостре порушення кровообігу. Частина випадків характеризувалася значною щільністю, ймовірно новостворених судин за рахунок ангіо- і васкулогенезу (рис. 3.3.6), але відновлення ефективного кровообігу в таких судинах не спостерігалось внаслідок перекалібрування проксимально розташованих крупних артеріол, враховуючи, що ці процеси йдуть паралельно в часі. Дрібні судини не заповнювались форменними елементами крові, в навколишній паренхімі формувались ділянки невідновлювального кровообігу. Надалі

частина судин спадалася, по ходу судин виявлялася значна щільність клітинних елементів (рис. 3.32).

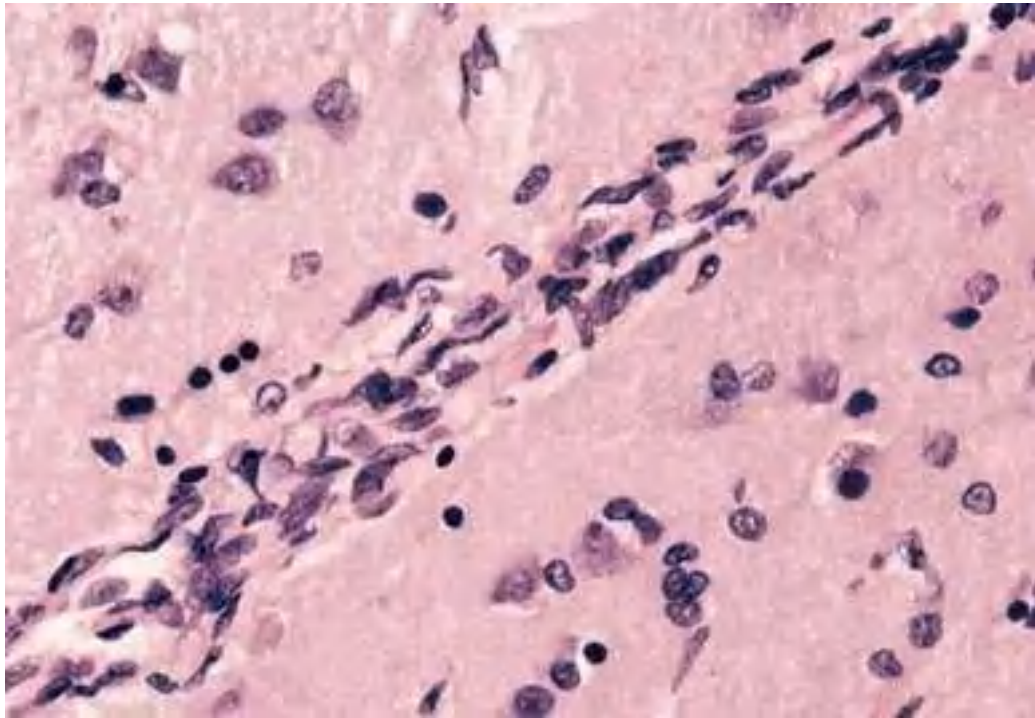


Рисунок 3.32 – Значна гістіоцитарна реакція навколо артеріоли. Термін захворювання 14 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. \times 400.

З часом залишалися тільки склерозовані судинні тяжі (рис. 3.33), що можна було спостерігати на 21 і 30 добу. В спостереженнях 30 діб, і в спостереженнях у померлих які раніше перенесли ІМ в стінці кісти проглядалися звивисті контури судинної мережі (рис. 3.34), але частіше в досліджених стінках післяінфарктних кіст практично не виявлялися функціонуючі судини, при цьому значно наростала щільність гліальних клітин (рис. 3.35).

Кількісні показники судинного русла представлено представлено на діаграмах (рис. 3.36 і 3.37). Критерій Краскела-Уоліса для діаметру капілярів продемонстрував наявність з статистично значущих відмінностей ($p < 0,001$). В таблиці 3.3 наведено результат попарного порівняння діаметру капілярів з контролем і в різні терміни ІМ (p - значення).

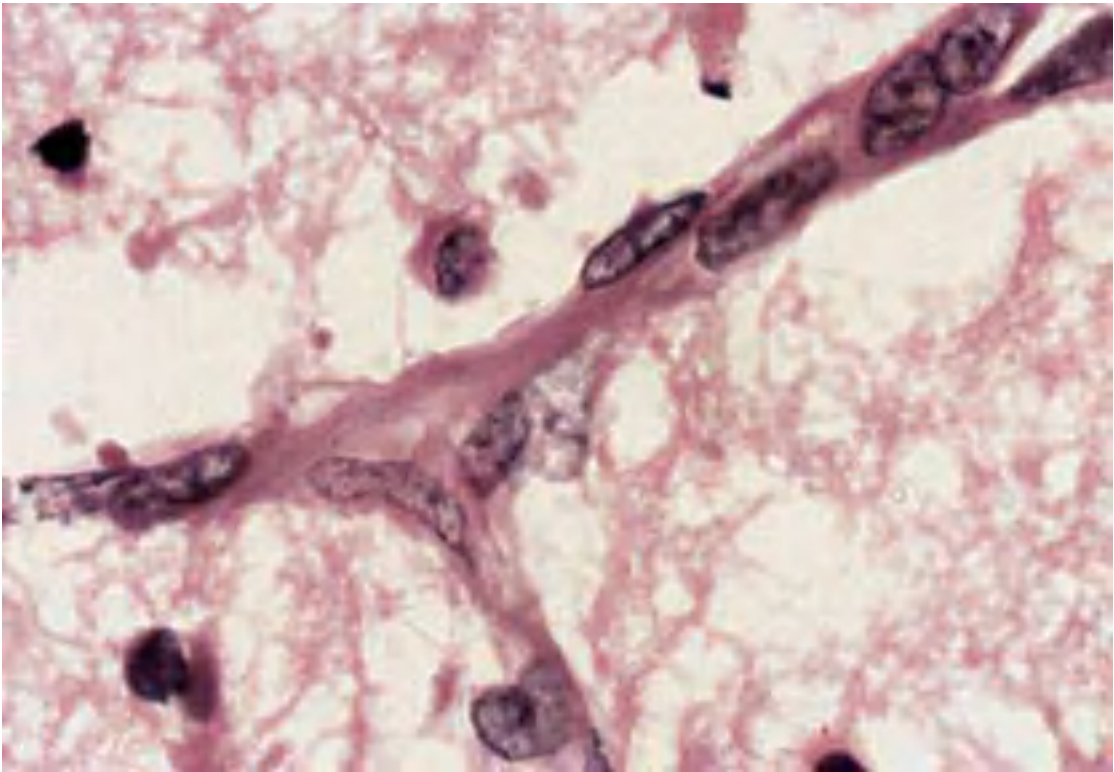


Рисунок 3.33 – Склерозована судина, 21 доба. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 1000$.

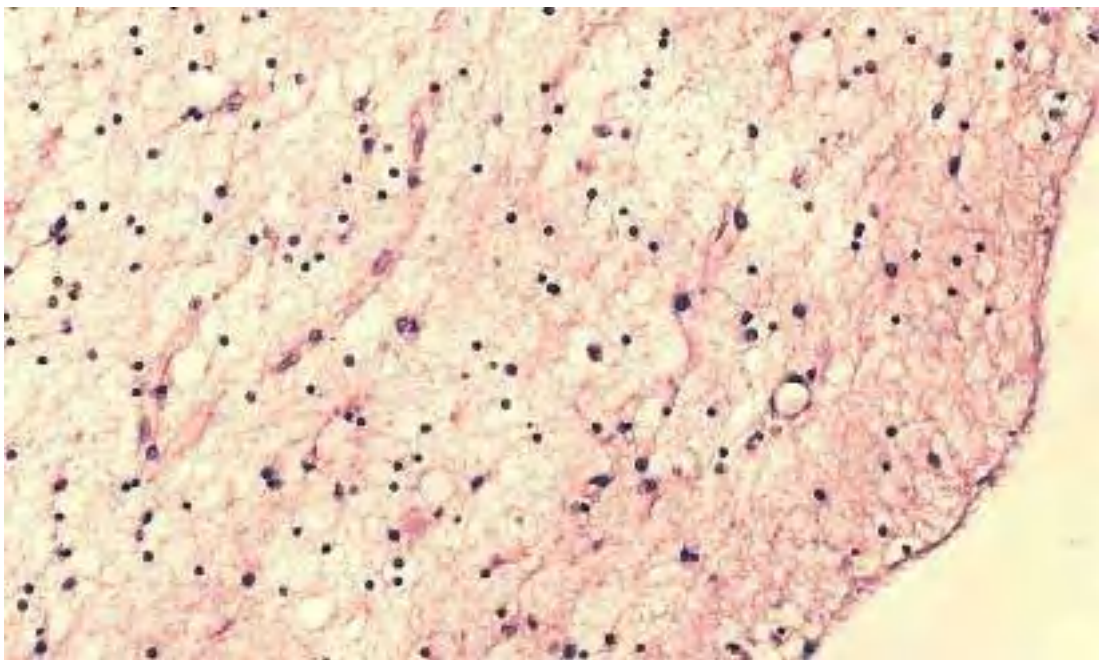


Рисунок 3.34 – Редукція мікроциркуляторного русла в стінці кістки на 30 добу захворювання. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 200$.

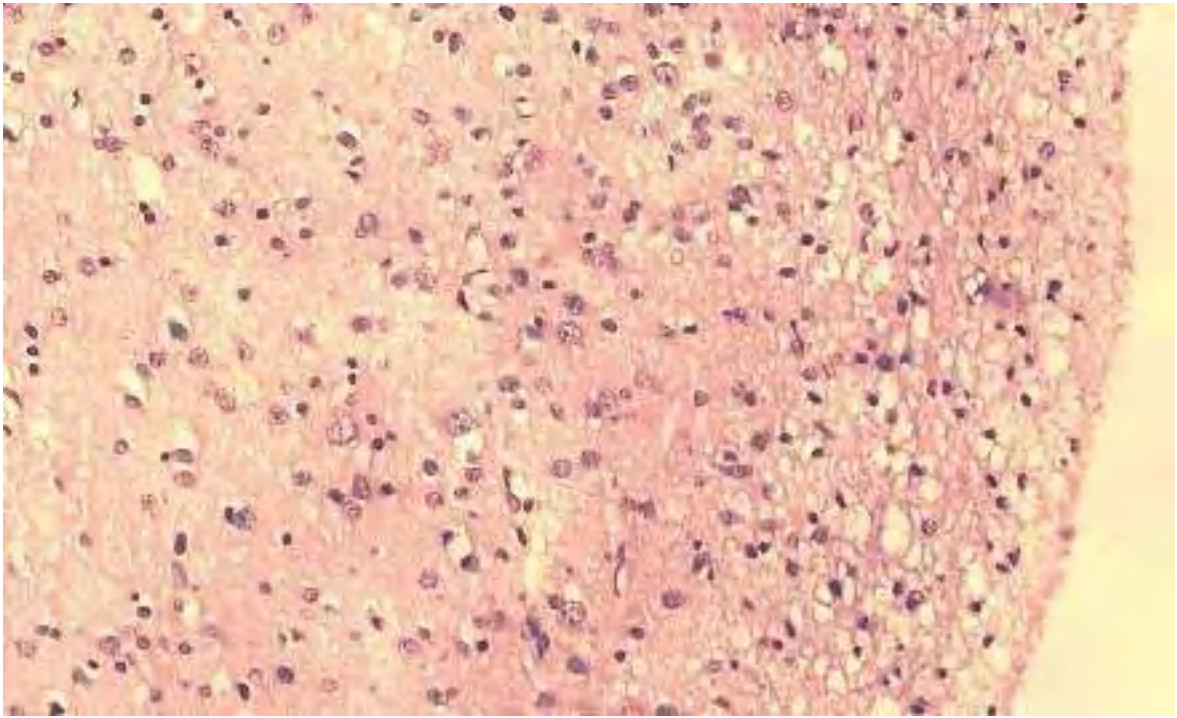


Рисунок 3.35 – Стінка кісти з відсутністю функціонуючих судин і значною щільністю гліальних клітин. Забарвлення гематоксиліном і еозином 3б. $\times 200$.

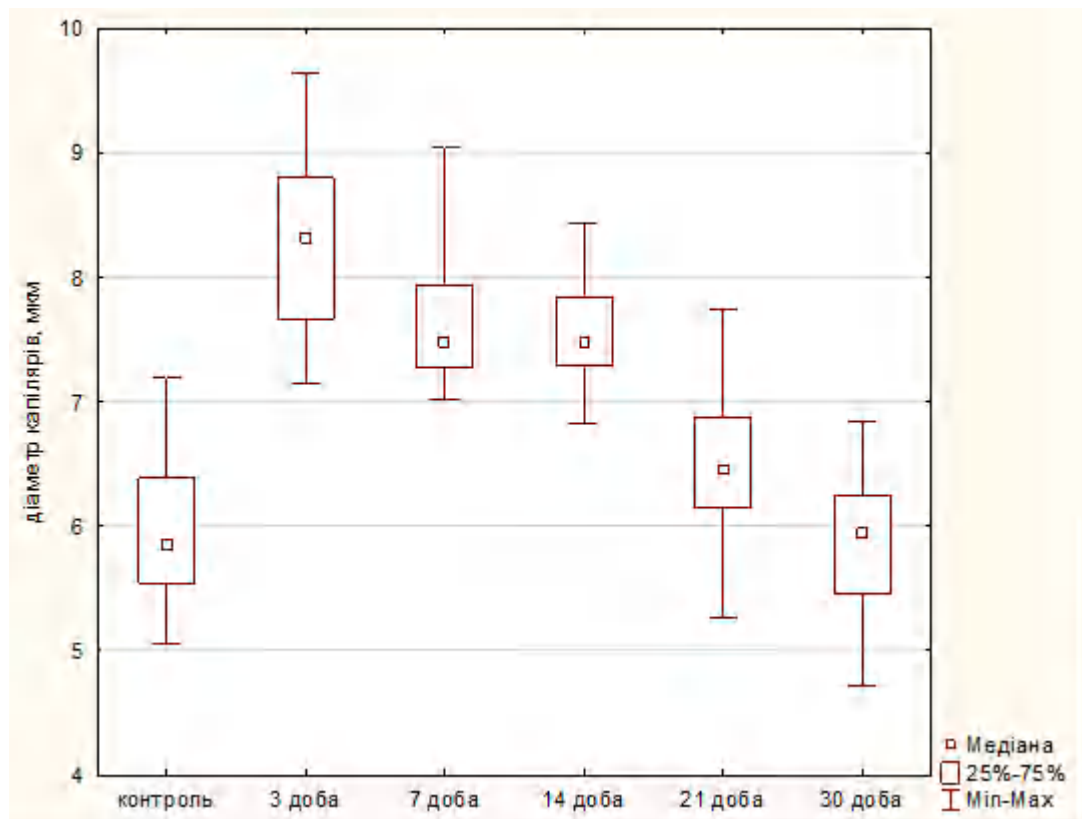


Рисунок 3.36 – Кількісні показники діаметру капілярів (в мкм) в іпсилатеральній півкулі в різні терміни розвитку півкульового інфаркту мозку.

Табл. 3.3 – Розраховані р-значення попарних порівнянь значень критерію Краскела-Уоліса для діаметру капілярів

| | контроль | 3 доба | 7 доба | 14 доба | 21 доба | 30 доба |
|----------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| контроль | | <0,001* | <0,001 | <0,001* | 0,031* | 0,999 |
| 3 доба | <0,001* | | 0,028* | 0,010* | <0,001* | <0,001* |
| 7 доба | <0,001* | 0,028* | | 0,999 | <0,001* | <0,001* |
| 14 доба | <0,001* | 0,010* | 0,999 | | <0,001* | <0,001* |
| 21 доба | 0,031* | <0,001* | <0,001* | <0,001* | | 0,012* |
| 30 доба | 0,999 | <0,001* | <0,001* | <0,001* | 0,012 | |

Примітка. * - р-значення <0,05 відповідають статистично значущій різниці.

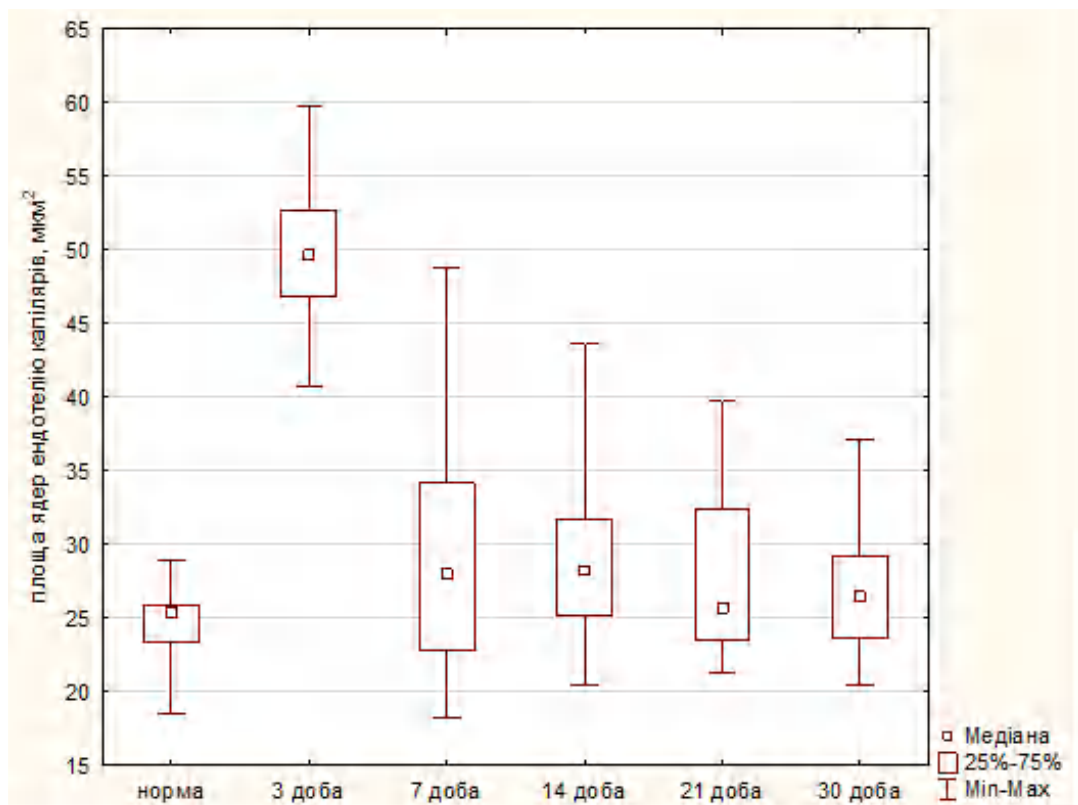


Рисунок 3.37 – Кількісні показники площі ядер ендотелію капілярів (в мкм²) в іпсилатеральній півкулі в різні терміни розвитку півкульового інфаркту мозку.

В таблиці 3.4 наведено результат попарного порівняння площі ядер ендотелію капілярів з контролем і в різні терміни ІМ, (р- значення).

Табл. 3.4 - Розраховані р-значення попарних порівнянь значень критерію Краскела-Уоліса для площі ядер ендотелію капілярів

| | норма | 3 доба | 7 доба | 14 доба | 21 доба | 30 доба |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| норма | | <0,001* | 0,182 | 0,033 | 0,723 | 0,999 |
| 3 доба | <0,001* | | <0,001* | <0,00*1 | <0,00*1 | <0,001* |
| 7 доба | 0,182 | <0,001* | | 0,999 | 0,999 | 0,999 |
| 14 доба | 0,033 | <0,001* | 0,999 | | 0,999 | 0,999 |
| 21 доба | 0,723 | <0,001* | 0,999 | 0,999 | | 0,999 |
| 30 доба | 0,999 | <0,001* | 0,999 | 0,999 | 0,999 | |

Примітка: * - р-значення <0,05 відповідають статистично значущій різниці.

Як продемонстровано на діаграмі на рис. 3.36 середній діаметр капілярів максимально виражений на 3 добу, що відповідає посиленню в цей термін колатерального кровообігу. Також високі показники відмічаються на 7 і 14 добу, але в подальшому діаметр капілярів знижується, частково за рахунок спадіння і склерозування. Площа ядер ендотелію (рис. 3.37) значно зростає в перші 3 доби за рахунок набряку і вакуолізації ядер (більш переконливіше буде показано в розділі 5 по дослідженню ультраструктурних змін). Починаючи з 7 доби і в більш пізні терміни площа поперечного перетину ядер ендотеліоцитів практично не відрізняється від контрольних спостережень, а також від ідентичних показників в контрлатеральній півкулі.

Резюме. Результати проведеного дослідження показали, що патоморфологічні перетворення судинного русла характеризуються певною закономірністю, яка в ранні терміни захворювання виражається в компенсаторному посиленні кровообігу за рахунок збільшення діаметра

капілярів, посилення колатерального кровообігу, збільшення довжини капілярної мережі. Поряд з цим значний обсяг ішемічного ураження і перифокального набряку сприяє розладу мікроциркуляції за рахунок незворотніх деструктивних змін судин мікроциркуляторного русла. Останній факт безпосередньо визначає тривалість збереження перифокальної зони ішемічного ядра, а також терміни активації і вираженість процесів ангиогенезу.

В процесі організації зони інфаркту, вже на 7 - 14 добу визначається посилення ангиогенезу і васкулогенезу за рахунок брукнування судин, появи ендотеліальних проліфератів. Однак в відновлювальному періоді поступово відбувається редукція сумарної площі просвіту артеріол за рахунок їх перекалібрування і, як наслідок, зниження кровотоку в дистальних гілках артеріального русла, судини якого спадаються і з плином часу склерозуються, що слід розцінювати як адаптивну реакцію судинного русла на зниження потреби в кровозабезпеченні ділянок організації мозкового інсульту на стадії формування постінфарктної кісти. Виявлені морфологічні зміни судинного русла є об'єктивними морфологічними критеріями судинного ремоделювання в процесі організації мозкового інфаркту.

Результати розділу висвітлено у опублікованих працях [133-138].

РОЗДІЛ 4

ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРИФОКАЛЬНИХ ДІЛЯНОК ШЕМІЧНОГО ІНФАРКТУ МОЗКУ

4.1 Імуногістохімічна характеристика процесів неоваскуляризації перифокальних участків мозкового інфаркта за даними експресії маркерів CD 34 і CD 105

Враховуючи, що CD34+ клітини є загально відомим маркером ендотеліальних клітин-попередників, а також зрілих ендотеліальних клітин, було досліджено процеси васкуляризації в перифокальній зоні мозкового інфаркту на основі вираженості експресії пан-ендотеліального маркеру CD34+.

Проведені дослідження показали, що в контрольних спостереженнях щільність судин в корі і білій речовині головного мозку за даними експресії CD34+ була дещо вищою в порівнянні з показниками щільності судин, що обчислені в препаратах забарвлених гематоксиліном і еозином. В корі щільність судин становила 21 (19;24,25), в білій речовині – 11 (9;16,25) в УСПЗ, при збільшенні $\times 200$ (рис. 4.1, 4.2). В кіркових відділах переважали дрібні артеріоли і капіляри, в білій речовині поряд з артеріолами і капілярами зустрічались ділянки зі значною кількістю венул. Також визначалися певні особливості розподілу капілярів в корі і білій речовині. Поряд з відносно рівномірним дифузним розташуванням капілярів в кіркових відділах, більшість з них знаходилися все ж таки в безпосередній близькості від нейронів і гліальних клітин. В білій речовині капіляри розташовувались більш рівномірно, щільність їх як в безклітинних зонах, так і в участках з малою щільністю гліальних клітин була практично однаковою. Індекс кровопостачання визначений за експресією ендотеліального маркеру CD34+ в корі мозку становив 1,36 (1,22;1,63) %, в білій речовині 1,17 (1,095; 1,25) %.

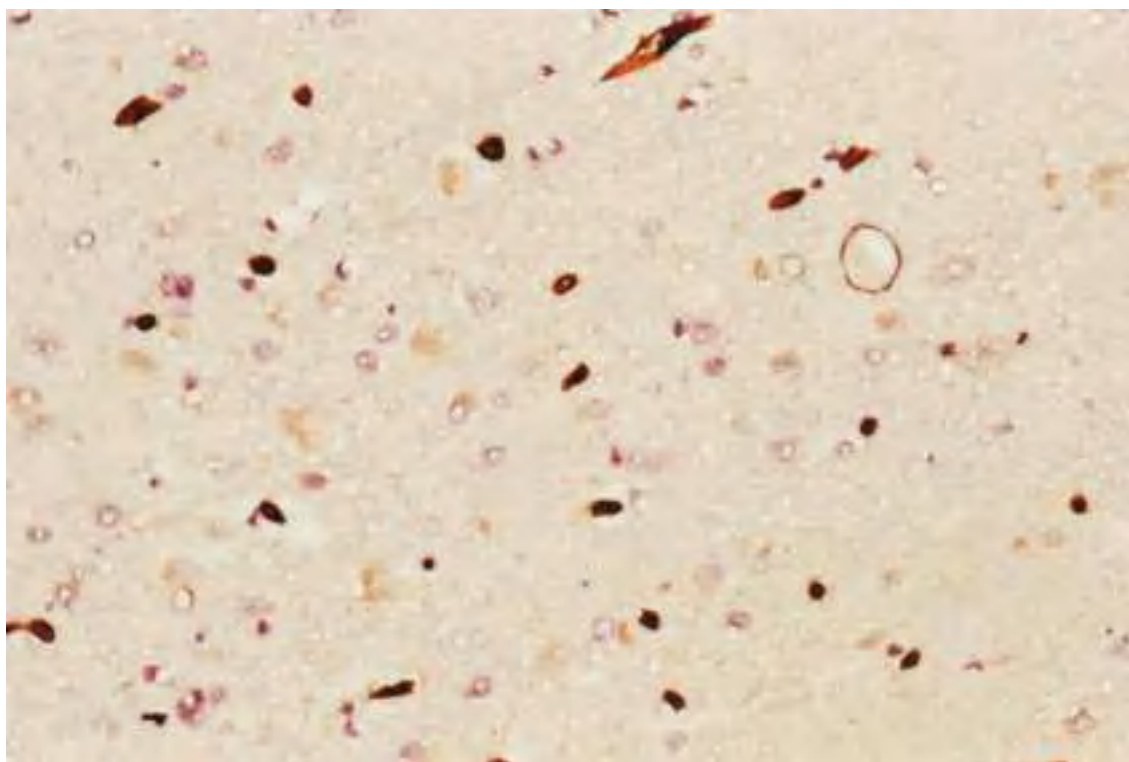


Рисунок 4.1 – Щільність розташування CD34⁺ судин в корі мозку в контрольних спостереженнях. Мо а-Ну CD34, *Clone QVEnd/10.36*. ×200.

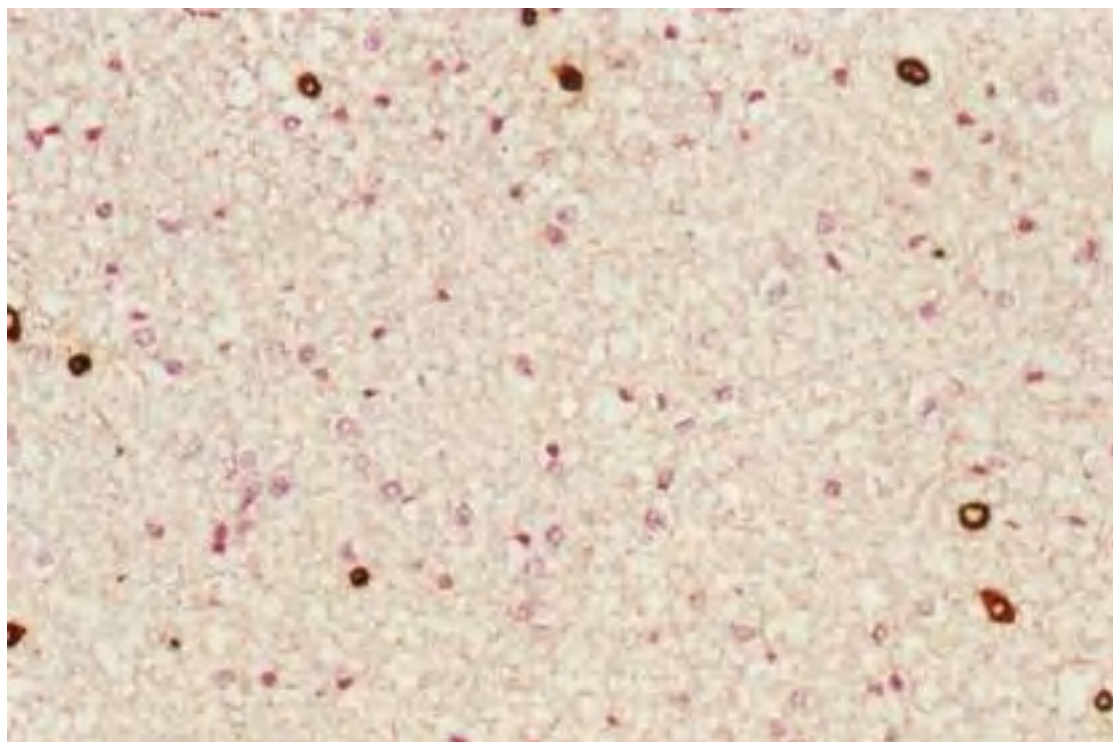


Рисунок 4.2 – Щільність розташування CD34⁺судин в білій речовині мозку в контрольних спостереженнях. Мо а-Ну CD34, *Clone QVEnd/10.36*. ×200.

У хворих на 1 добу захворювання посилення колатерального кровотоку супроводжувалося значною експресією CD34 в оболонках мозку (рис. 4.3) і підлеглих кіркових відділах (рис. 4.4), де визначалося значне розгалуження капілярної мережі, а також її нерівномірне розподілення в різних полях зору.

Нерівномірна експресія маркера відзначалася по всьому периметру ішемічного ураження. Ділянки з інтенсивною експресією характеризувалися наявністю значної кількості дрібних судин з практично не помітним просвітом. Часто зустрічалися судини звивистої форми, зустрічалися групи з декількох близько розташованих мікросудин різного діаметру. Частина капілярів також була в стані спадіння з практично не визначеним просвітом. Такі судини виявлялися на ПГХ препаратах, але на препаратах забарвлених гематоксиліном і еозином практично не диференціювалися, тому кількісні показники щільності судин в аналогічних термінах спостереження при різних методах дослідження дещо відрізнялися. Частина судин мала потовщену гіалінізовану стінку, що свідчило про наявність вже існуючої ангіопатії, на тлі якої розвинулось гостре порушення мозкового кровообігу. Поряд з цим визначалися ділянки з помірною і вкрай незначною експресією. Виражені деструктивні зміни ендотелію, як правило, були обумовлені значним обсягом первинного ішемічного ураження, виразністю набрякових змін і лейкоцитарною інфільтрацією перифокальних участків інфаркту.

Безпосередньо на кордоні з інфарктом значне руйнування судин призводило як до блілого забарвлення мозкової речовини, так і до значного зниження інтенсивності експресії CD34, яке визначалося в поодиноких дрібних судинах (рис. 4.5). Наявність поодиноких судин з незначною експресією маркера свідчило про виражені деструктивні зміни ендотелію судин перифокальної зони інфаркту на першу добу захворювання. В таких судинах реєструвалася деендотелізація, виявлялася переривчаста експресія маркера по периметру судини. Щільність судин в перифокальних участках на 1 добу становила 16,5 (12,75; 22), що було на 16,97 % нижче в порівнянні з контрольними спостереженнями ($p \leq 0.01$).

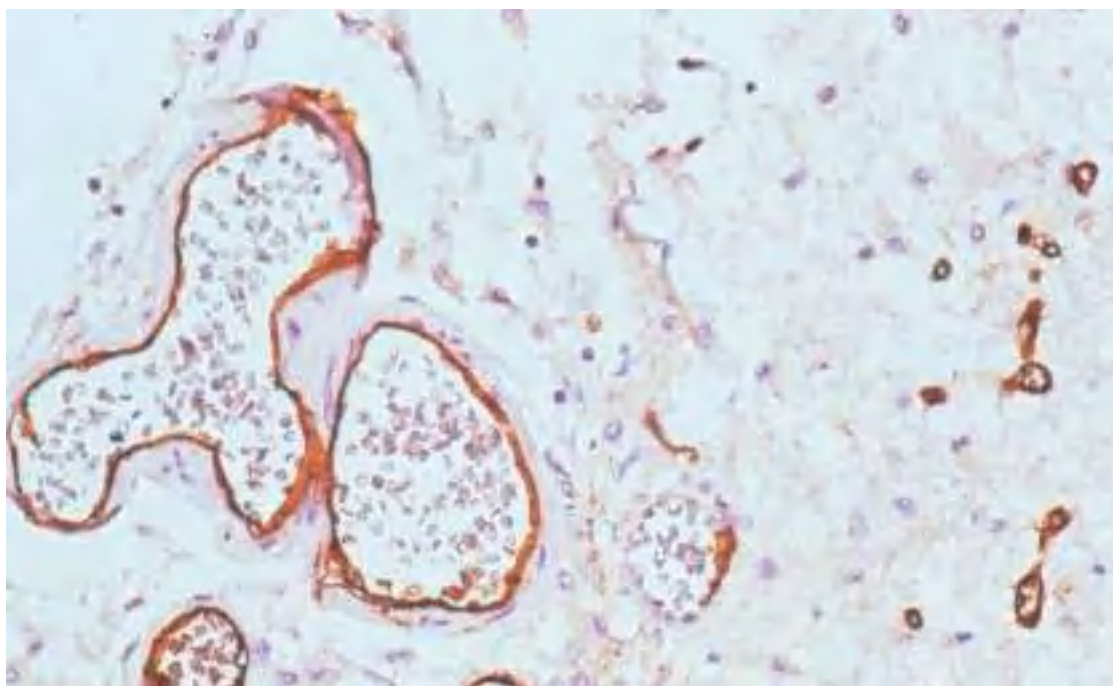


Рисунок 4.3 – Інтенсивна експресія CD34 в судинах оболонок мозку.
Мо а-Нu CD34, *Clone QBEnd/10* . 3б. ×200.

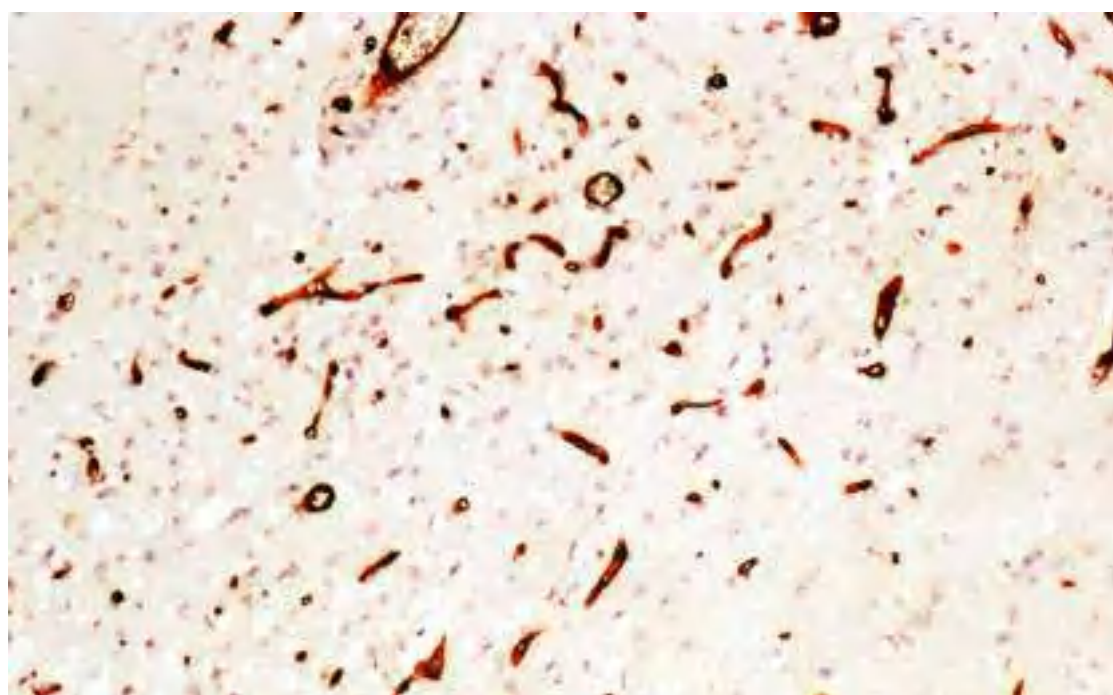


Рисунок 4.4 – Інтенсивна експресія CD34 в колатеральних судинах кори мозку. Термін спостереження 1 доба. Мо а-Нu CD34, *Clone QBEnd/10*. 3б. ×200.

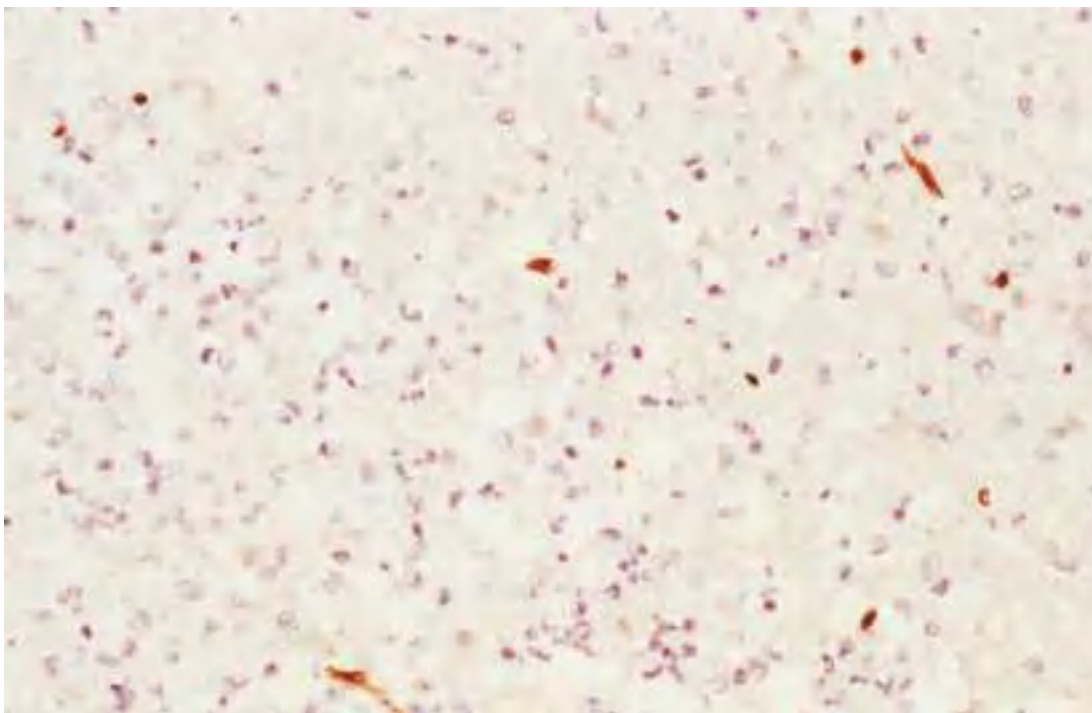


Рисунок 4.5 – Слабка експресія CD34 в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту. Термін спостереження 1 доба.

Мо a-Hu CD34, *Clone QBEnd/10*. Зб. $\times 200$.

На 3 добу відзначалося посилення експресії CD34 в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту (рис. 4.6 А). Площа позитивного CD34 забарвлення становила 1,74 (1,53;1,85) %, щільність судин - 24,5 (20;26,25) в УСПЗ. В порівнянні з контрольними показниками щільність судин була збільшена на 16,66 % (рис 4.7), однак різниця не набула статистичної значущості. Також треба зазначити, що безпосередньо на кордоні з мозковим інфарктом щільність судин і ступінь експресії CD34 були значно знижені (рис. 4.6 Б). Такі ділянки характеризувалися блідим забарвленням клітинних елементів, наявністю різної ступені виразності лейкоцитарної інфільтрації (рис. 4.6 Б).

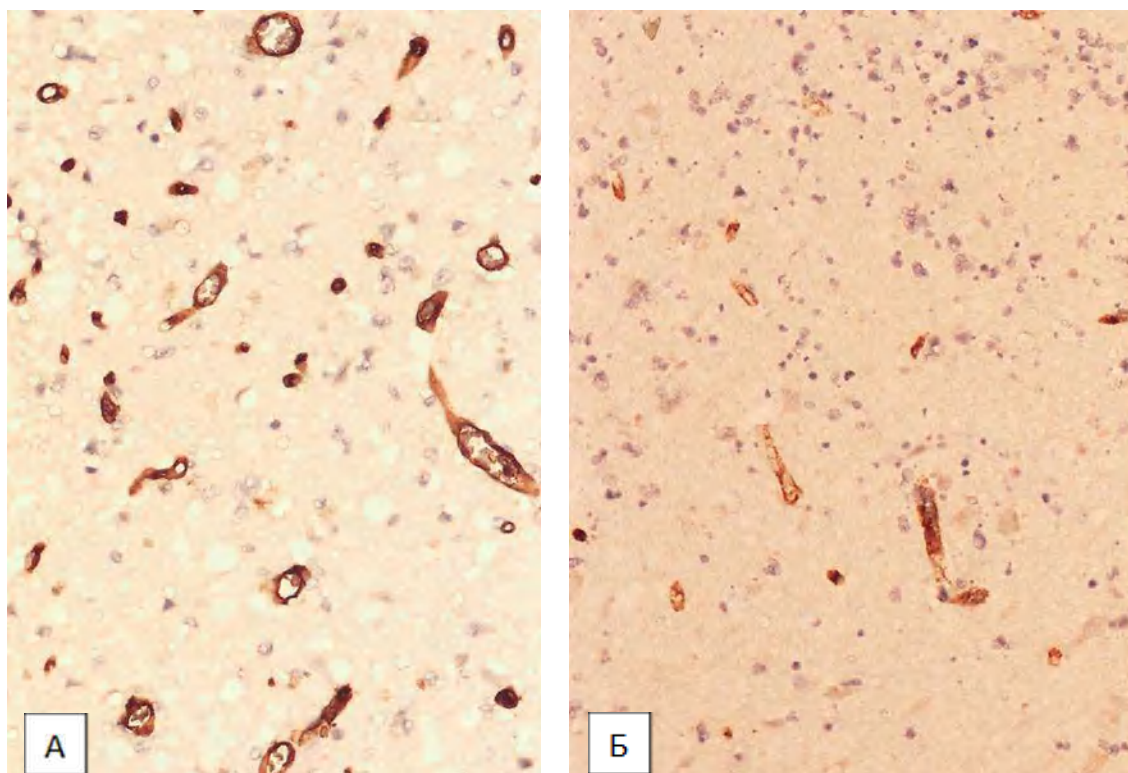


Рисунок 4.6 – Експресія CD34 в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту А; Б - безпосередньо на кордоні з інфарктом. Термін спостереження 3 доби. Мо а-Ну CD34, *Clone QVEnd/10*. Зб.: А - $\times 400$. Б - $\times 200$.

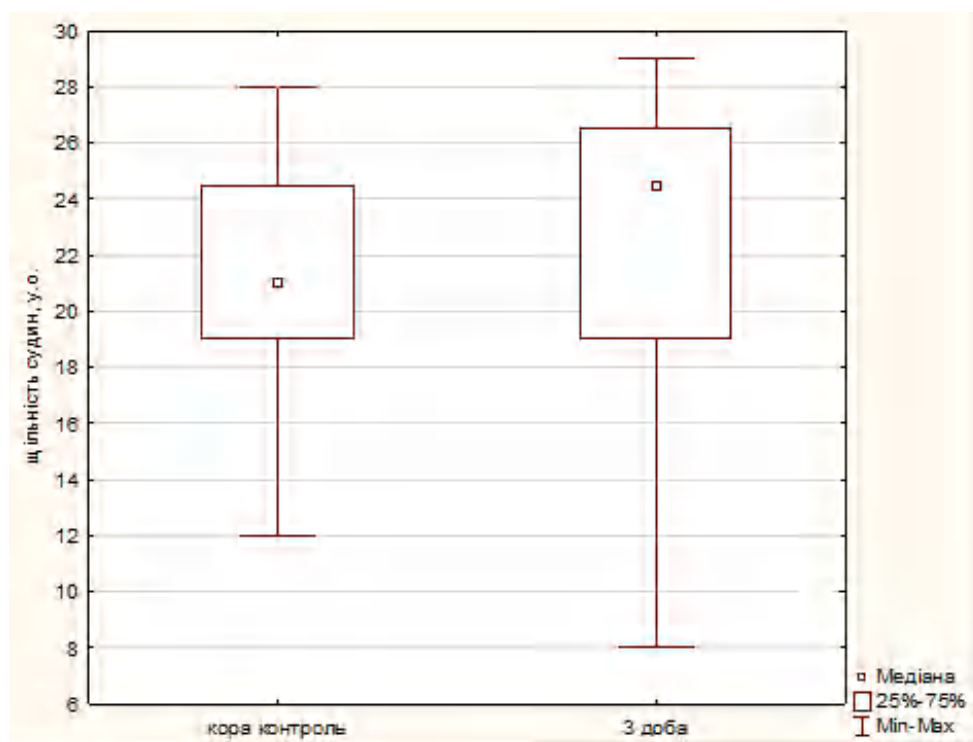


Рисунок 4.7 – Щільність CD34⁺ судин в перифокальній зоні мозкового інфаркту на 3 добу в порівнянні з контрольними показниками.

Мо а-Ну CD34, *Clone QVEnd/10*. Зб. $\times 200$.

У померлих на 7 добу показник щільності судин за даними рівня експресії CD 34 становив 26 (19;28) в УСПЗ. В порівнянні з контрольними значеннями відзначалося статистично достовірне збільшення цього показника на 23,8 % ($p < 0,05$) (рис. 4.8), в порівнянні з 3 добою - збільшення на 6,12 %, але показники були статистично не достовірними ($p > 0,05$). Показники щільності судин в контлатеральній півкулі практично не відрізнялось від контрольних спостережень і становили 19 (16;22,8).

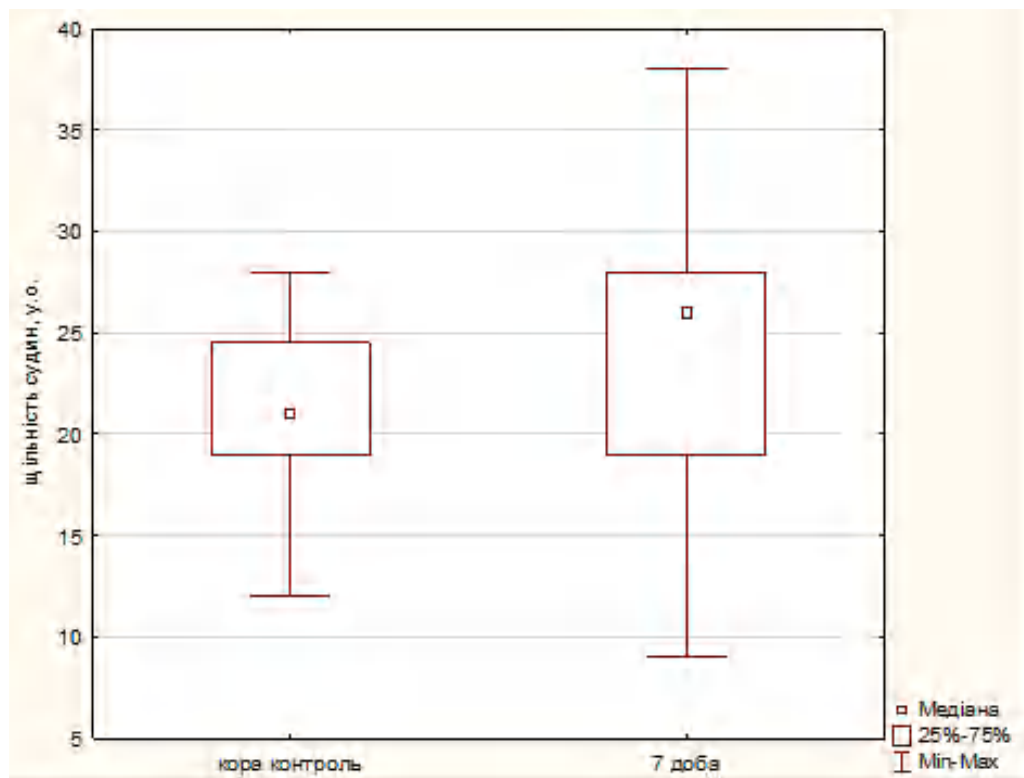


Рисунок 4.8 – Щільність судин в перифокальній зоні мозкового інфаркту на 7 добу в порівнянні з контрольними показниками.

Площа позитивного CD34 забарвлення становила 3,37 (3,05;3,75) %, що в 1,93 рази більше в порівнянні з попереднім терміном.

На 7 добу відбувалося посилення процесів ангиогенезу. Мікросудини набували більш розгалужений вигляд, по периметру некротичного вогнища повсюдно визначалися ділянки хаотичного їх розташування (рис. 4.9). На окремих ділянках визначалося значне розширення венозної ланки кровообігу.

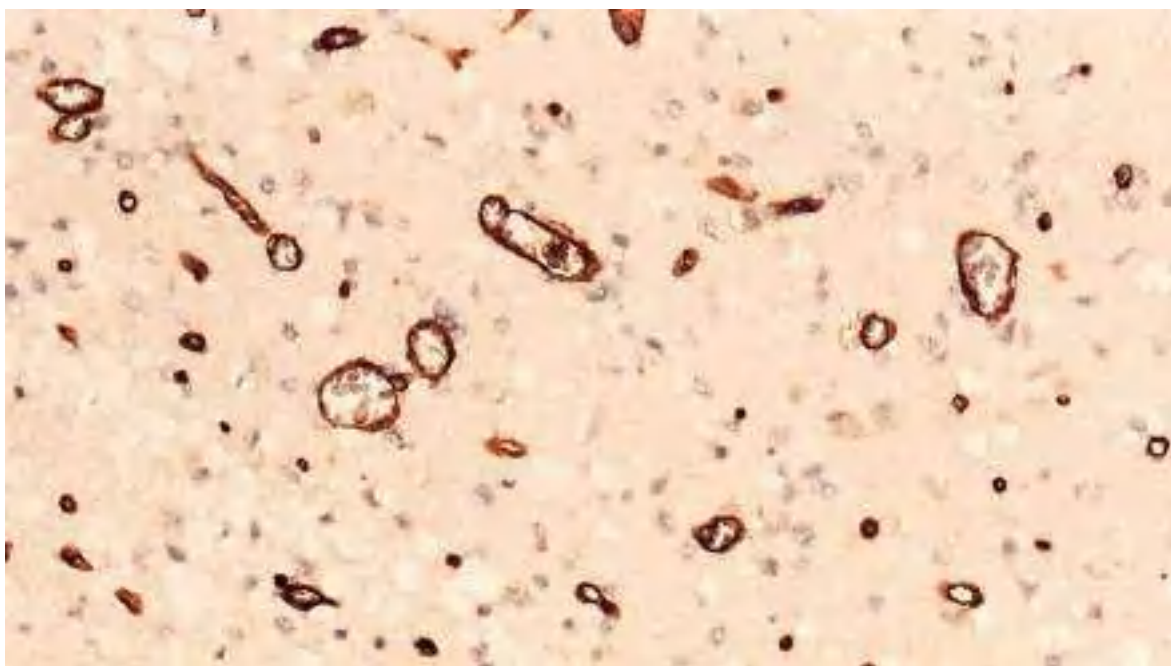


Рисунок 4.9 – Експресія CD34 в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту на 7 добу захворювання. Мо а-Ну CD34, *Clone QVEnd/10*. Зб. $\times 200$.

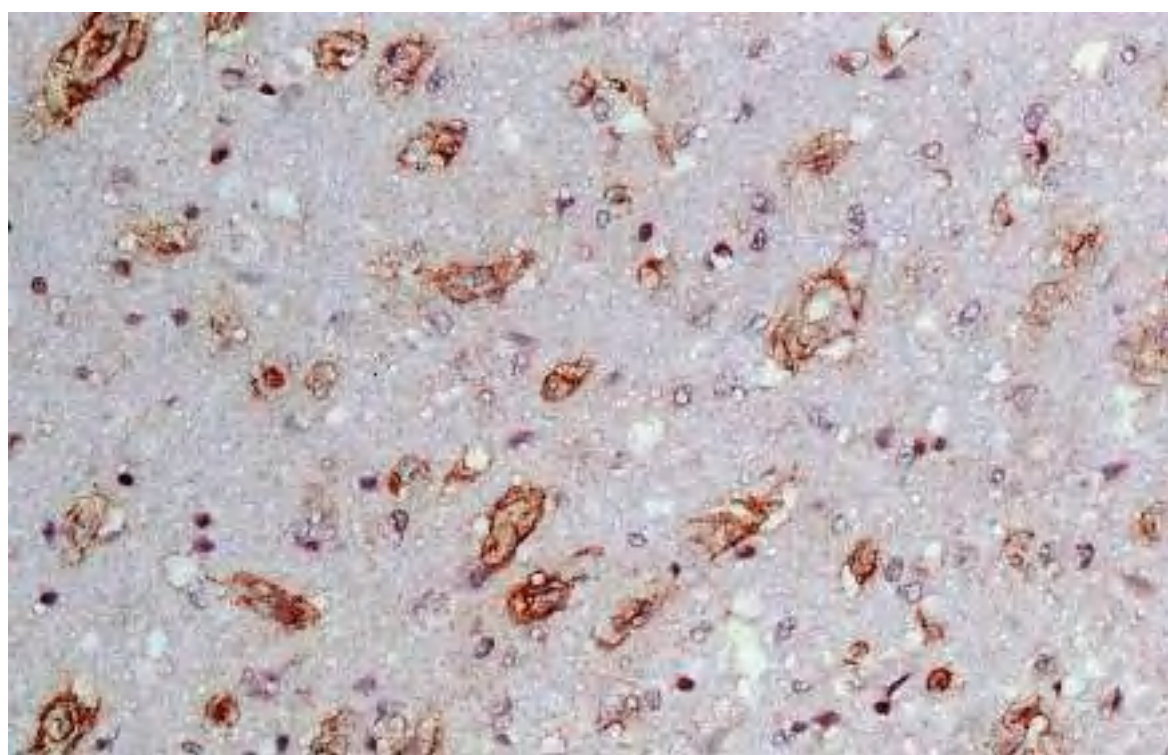


Рисунок 4.10 – Експресія CD105 в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту на 7 добу захворювання. Мо а-Ну CD105 Endoglin, *Clone: SN6h¹*. Зб. $\times 200$.

Аналогічні дані простежені нами при проведенні ІГХ дослідження з використанням CD105. Даний маркер використовувався для ідентифікації активованих ендотеліальних клітин і тому значна його експресія визначалася в ендотеліальних клітинах, що брали участь в ангіогенезі (див. рис. 4.10). В цей термін визначалася виражена рівномірна мембранна експресія маркеру по периферії ішемічного вогнища. По мірі віддалення від інфарктного ядра інтенсивність експресії знижувалася до помірної і слабкої і характеризувалася нерівномірністю.

Активация ангіогенезу проявлялася формуванням ендотеліальних проліфератів і брункуванням мікросудин. Значна кількість ендотеліальних проліфератів реєструвалася в перифокальних участках мозкового інфаркту і на незначному віддаленні від нього. Вони містили до 5-7 клітин, які були розташовані навколо дрібних судин. В окремих спостереженнях визначалися значні навколосудинні проліферати (рис. 4.11). По мірі віддалення від ішемічного вогнища кількість таких проліфератів знижувалася. Брункування судин визначалося у вигляді виростів, які були спрямовані перпендикулярно від длінника судини і часто виявлялися в венах і капілярах. Брункування судин добре виявлялося в ІГХ препаратах з CD105 (рис. 4.12).

Також треба зазначити що виражена експресія CD105 відзначалася і на перицитах (рис. 4.13), що свідчило про їх активну участь в ангіогенезі враховуючи спільність їх мембрани з ендотелієм. При значному збільшенні виявлялася практично рівномірна і гомогенна мембранна експресія як на ендотелії, так і на перицитах. На більшості мікропрепаратів інтенсивність експресії CD105 на ендотелії була помірно вираженою, тоді як на перицитах визначалася виражена експресія.

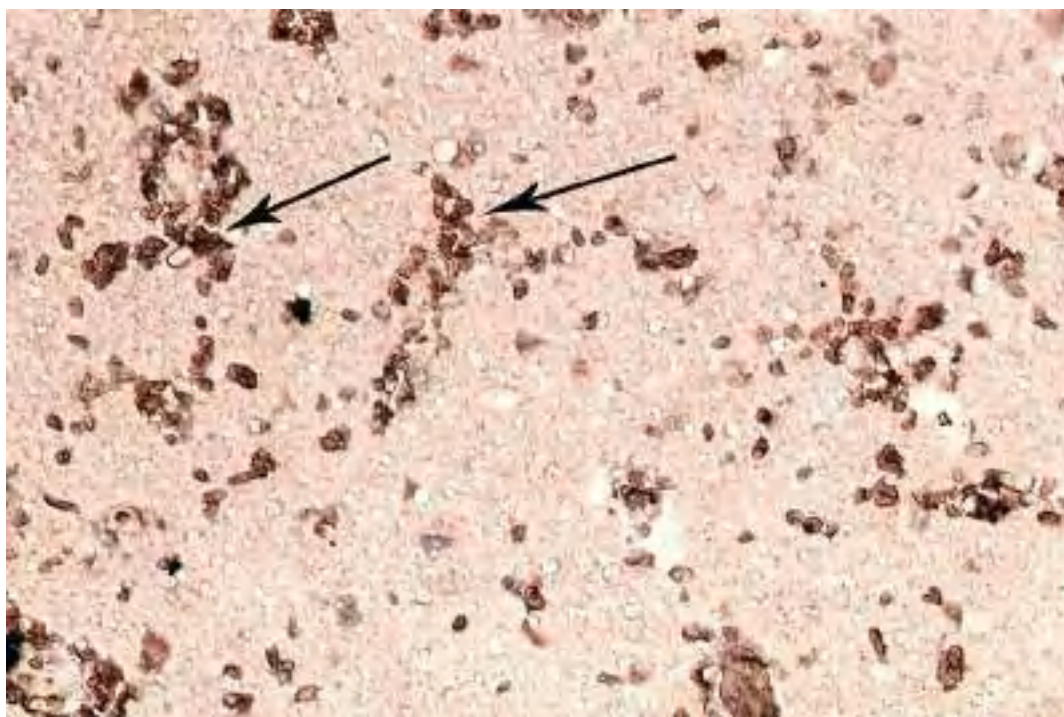


Рисунок 4.11 – Ендотеліальні навколосудинні проліферати в ділянках посиленого ангіогенезу на 7 добу захворювання. Мо а-Нu CD34, *Clone QVEnd/10*. 3б.×200.

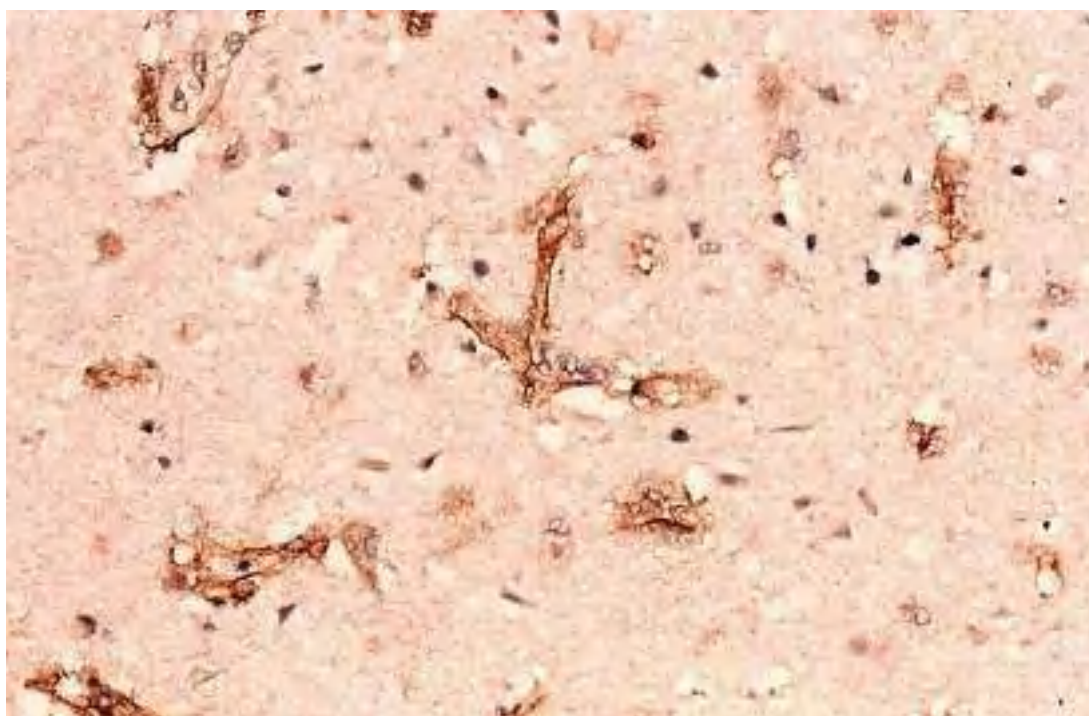


Рисунок 4.12 – Брункування судин в участках посиленого ангіогенезу в перифокальних ділянках мозкового інфаркту на 7 добу захворювання. Мо а-Нu CD105 Endoglin, *Clone: SN6h1*. 3б. ×200.

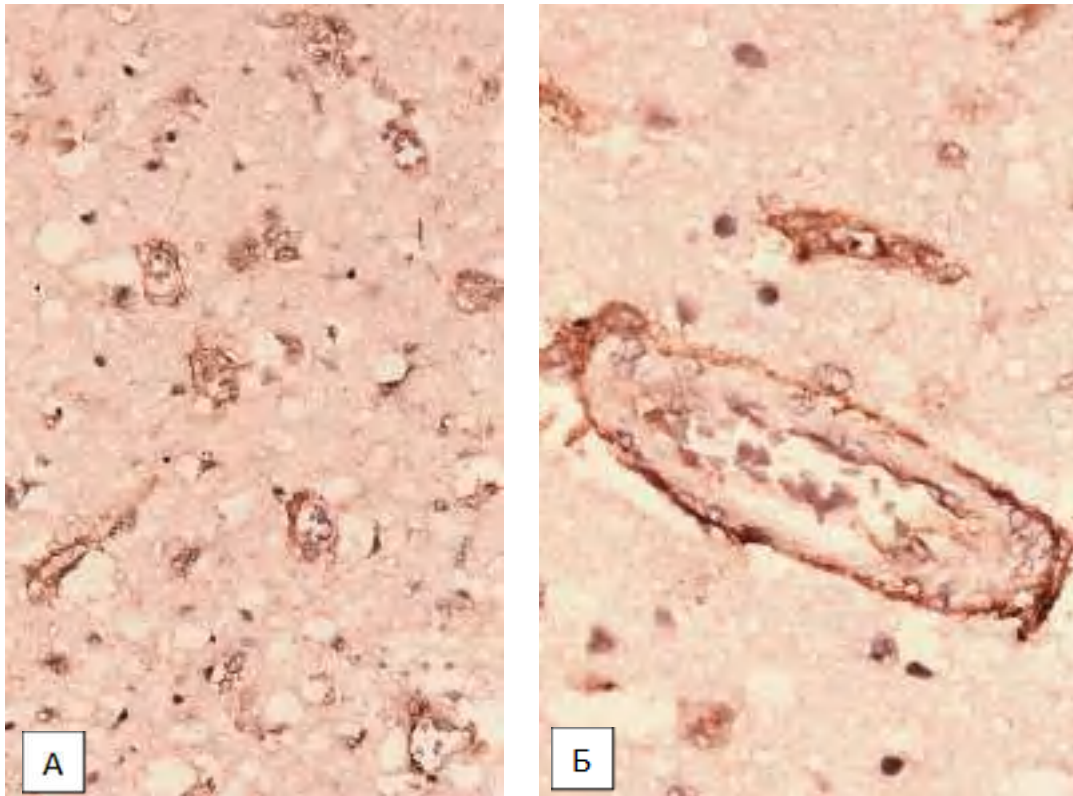


Рисунок 4.13 – А, Б - виражена експресія CD105 на перицитах судин в перифокальних ділянках мозкового інфаркту. Термін спостереження 7 діб.

Мо a-Hu CD105 Endoglin, Clone: SN6h1. Зб. $\times 400$.

Поряд зі значною експресією CD34 в ендотелії судин, з 7 доби відмічається експресія маркера тільки в окремих клітинах, які вільно розташовуються в паренхімі серед нейронів і гліальних клітин (рис. 4.14). Кількість таких клітин збільшувалась на 7 і 14 добу захворювання. Порівняльний аналіз показав, що кількість CD34+ клітин, не пов'язаних з судинами через 3, 7 і 14 діб в полі зору становила відповідно 2,5 (1,00;4,25), 10 (7,0;14,0), 19 (15,75;22,25). В усіх порівнюваних парах груп отримане значення U-критерія знаходилося в зоні значущості ($p \leq 0.01$). Таким чином порівняно з 3 добою на 7 і 14 добу кількість CD34+ клітин, які відіграють важливу роль в процесах ангиогенезу, збільшувалась відповідно в 3,32 і 6,17 рази. На окремих ділянках в перифокальних участках мозкового інфаркту зустрічались осередки збільшеної щільності CD34+ клітин, які також не були структурно пов'язані з судинами, що розцінювалося нами як морфологічні прояви різних стадій васкулогенезу (рис. 4.15).

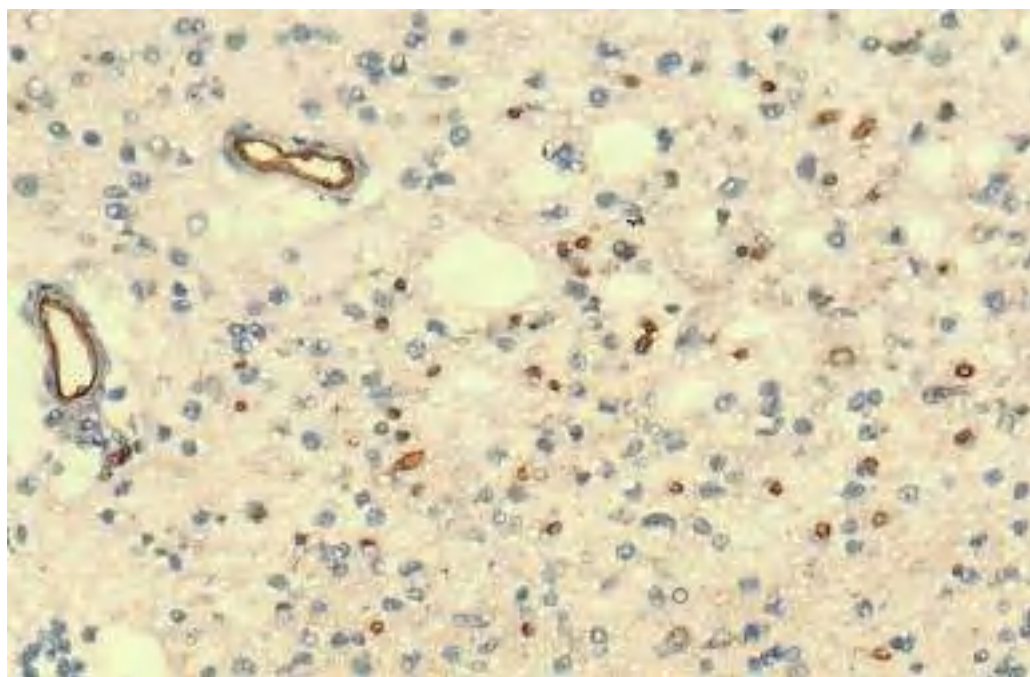


Рисунок 4.14 – Збільшення CD34+ клітин в перифокальних ділянках мозкового інфаркту. Термін спостереження 14 діб. Мо а-Ну CD34, *Clone QBEnd/10. 3б.* ×200.

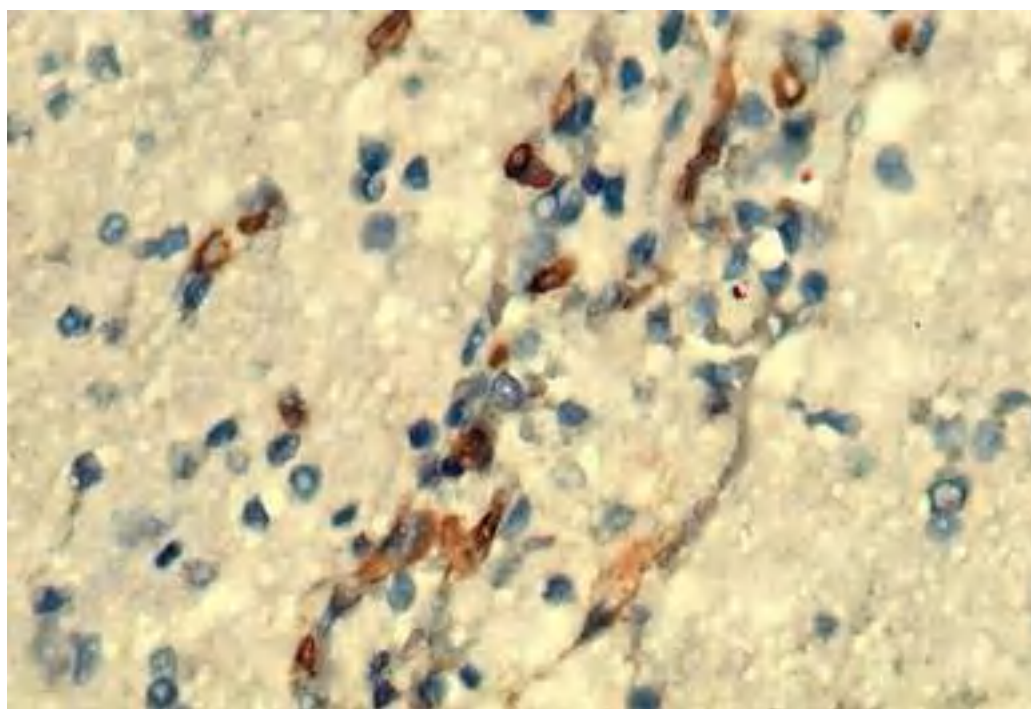


Рисунок 4.15 – Початкові стадії васкулогенезу в осередках збільшеної щільності CD34+ клітин в перифокальних ділянках мозкового інфаркту. Термін спостереження 7 діб. Мо а-Ну CD34, *Clone QBEnd/10. 3б.* ×400.

При ідентифікації активованих ендотеліальних клітин в таких ділянках виявлялася виражена мембранна експресія маркера CD105 (рис. 4.16). На 7 добу такі зміни ідентифікувалися як зони збільшеної клітинної щільності, які склалися з клітин попередників судин, активованих ендотеліальних клітин, ймовірно клітин гліального ряду. На 14 добу такі ділянки набували характерного вигляду в плані формування судини (рис. 4.17). Між тим треба зазначити, що такі зміни спостерігалися нами тільки в окремих випадках у померлих на 7 і 14 добу захворювання. В подальших термінах такі зміни нами не виявлялися, що ймовірно свідчило про досить обмежену участь васкулогенезу в процесах реорганізації судинної мережі в післяінфарктному періоді. Посилення експресії CD34 за інтенсивністю до значної відбувалося також в новостворених судинах, які містилися в крупних артеріях з редукованим кровообігом (рис. 4.18), що було вже показано на світлооптичних препаратах забарвлених гематоксиліном і еозином (див. рис. 3.29).

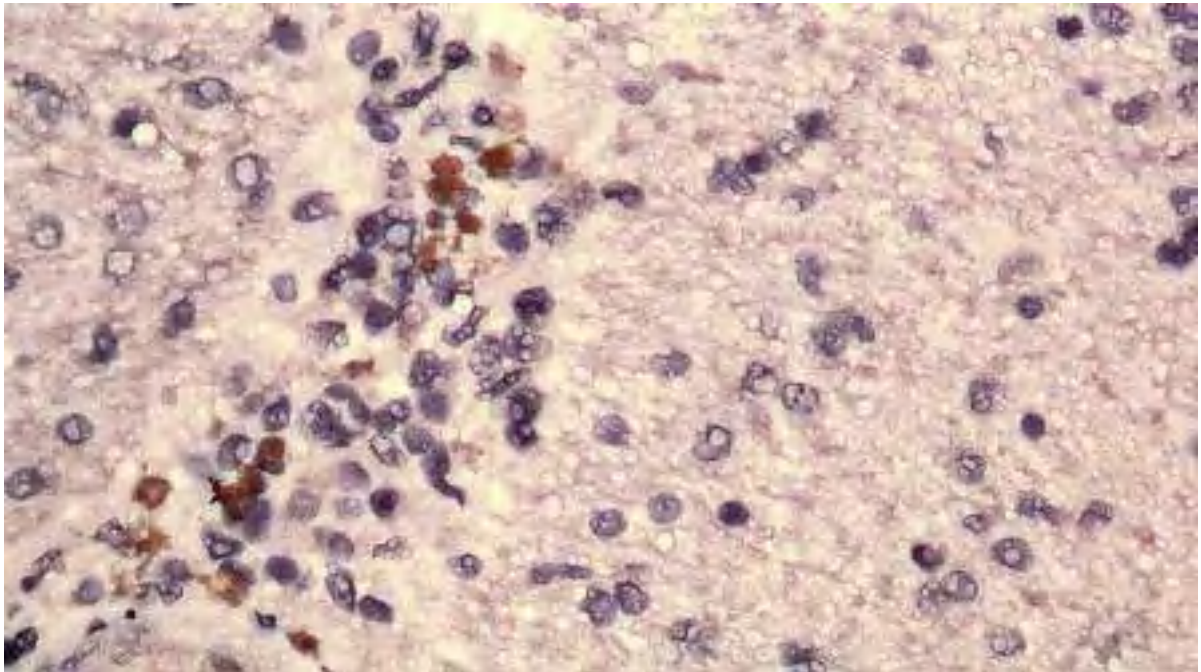


Рисунок 4.16 – Мембранна експресія CD105 в перифокальній зоні мозкового інфаркту. Термін спостереження 7 діб.
Mo a-Hu CD105 Endoglin, *Clone: SN6h1*. Зб. $\times 400$.

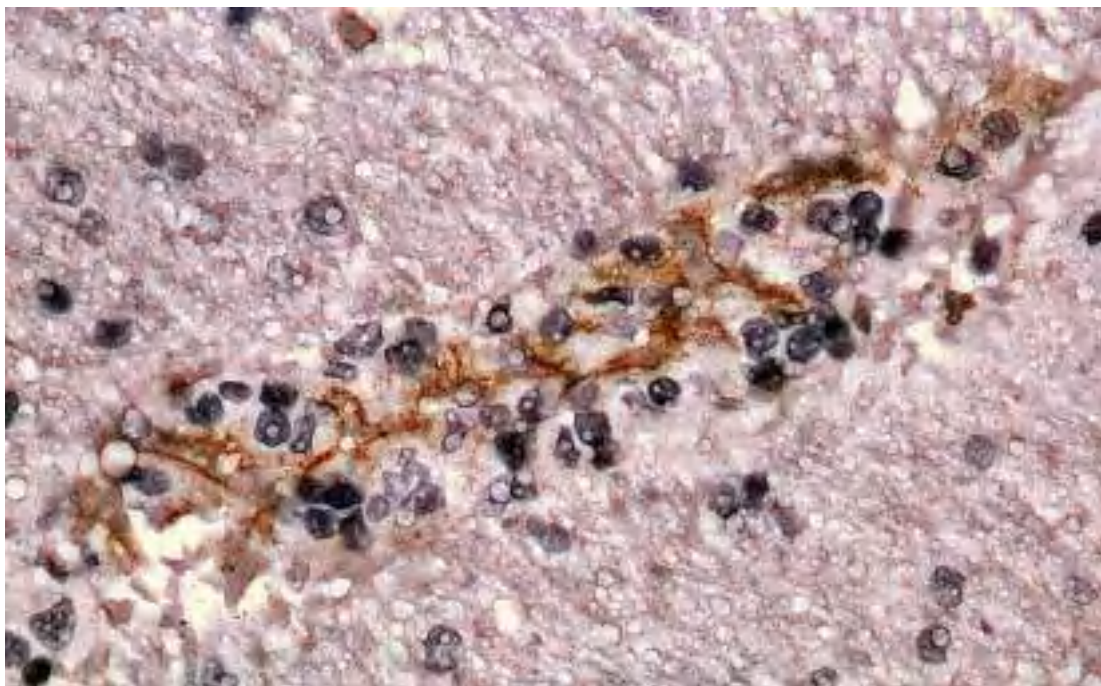


Рисунок 4.17 – Мембранна експресія CD105 в ділянці формування судини. Перифокальна зона мозкового інфаркту. Термін спостереження 14 діб. Мо а-Нu CD105 Endoglin, *Clone: SN6h1*. Зб. $\times 400$.

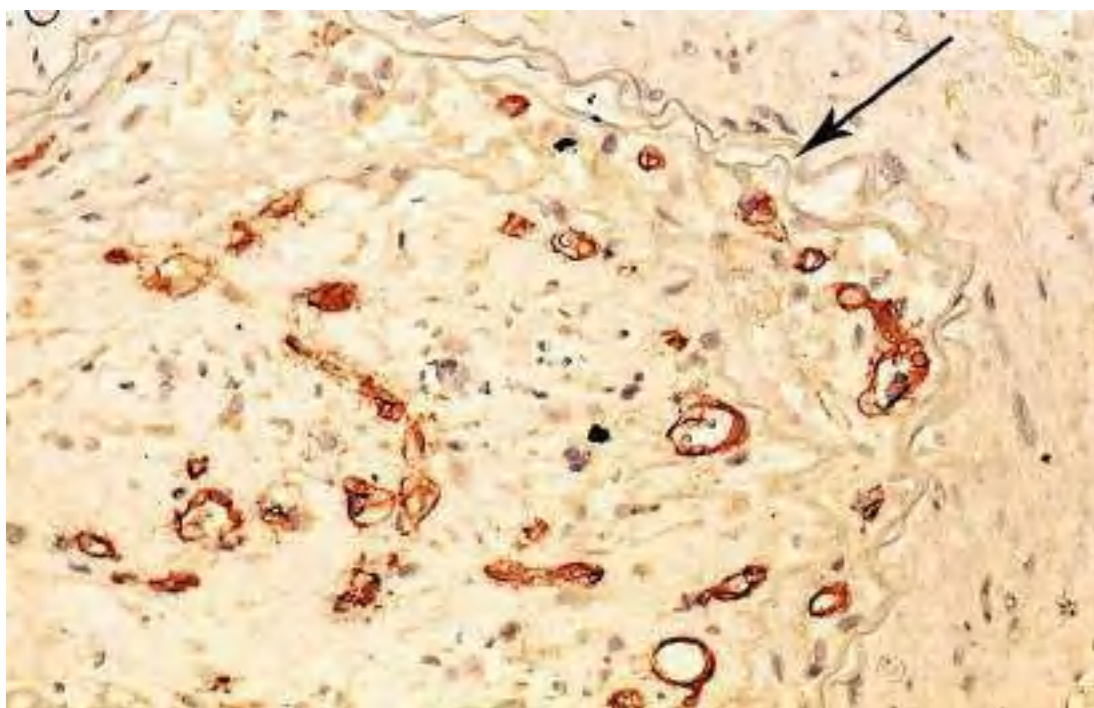


Рисунок 4.18 – Посилення експресії CD34 в новостворених судинах в просвіті артерії (стінка артерії зазначена стрілкою). Термін спостереження 14 діб. Мо а-Нu CD34, *Clone QBEnd/10*. Зб. $\times 200$.

Такі зміни виявлялися на 14 добу спостереження і особливістю таких змін була практична відсутність експресії CD34 в ендотелії крупної артеріоли, що ймовірно було обумовлено апоптозом ендотелію артерій при відсутності в них достатнього кровотоку. В подальшому такі зміни призводили до розповсюджених ділянок перекалібрування крупних судин. Нами такі зміни реєструвалися в перифокальних участках інфаркту на 14 добу і в подальших термінах, але аналогічні зміни можна було спостерігати на значній відстані від некротичного вогнища, а також в контрлатеральній півкулі, як прояв ішемічно-дисциркуляторної енцефалопатії. На 14 добу зменшувалася інтенсивність експресії CD34 в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту (рис. 4.19) до помірно вираженої. Площа позитивного CD34 забарвлення становила 1,65 (1,14;1,95) %, що в 2,04 рази менше в порівнянні з 7 добою. Щільність судин становила 25 (21;27,25) в УСПЗ. В порівнянні з контрольними показниками щільність судин була збільшена на 16 % ($p < 0,05$) (рис 4.20), в порівнянні з попереднім терміном, щільність судин практично не змінювалася (зменшення на 3,84 %, $p > 0,05$), але міжквартільний розмах був значно меншим (рис. 4.21).

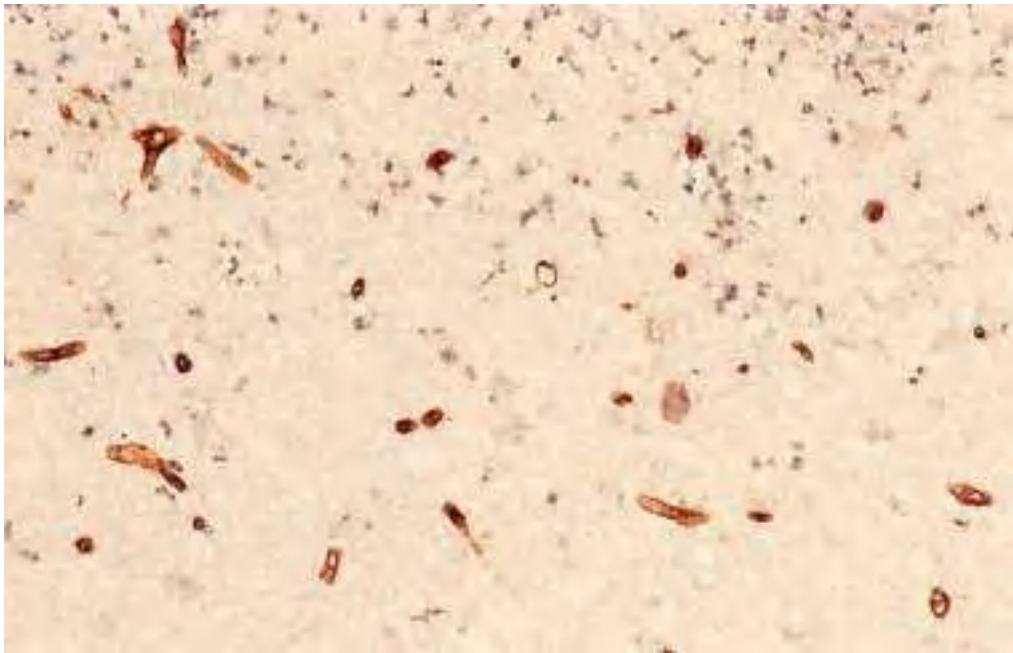


Рисунок 4.19 – Експресія CD34 на кордоні перифокальної зони мозкового інфаркту. Термін спостереження 14 діб. Мо а-Ну CD34, Clone QBEnd/10 3б. $\times 200$.

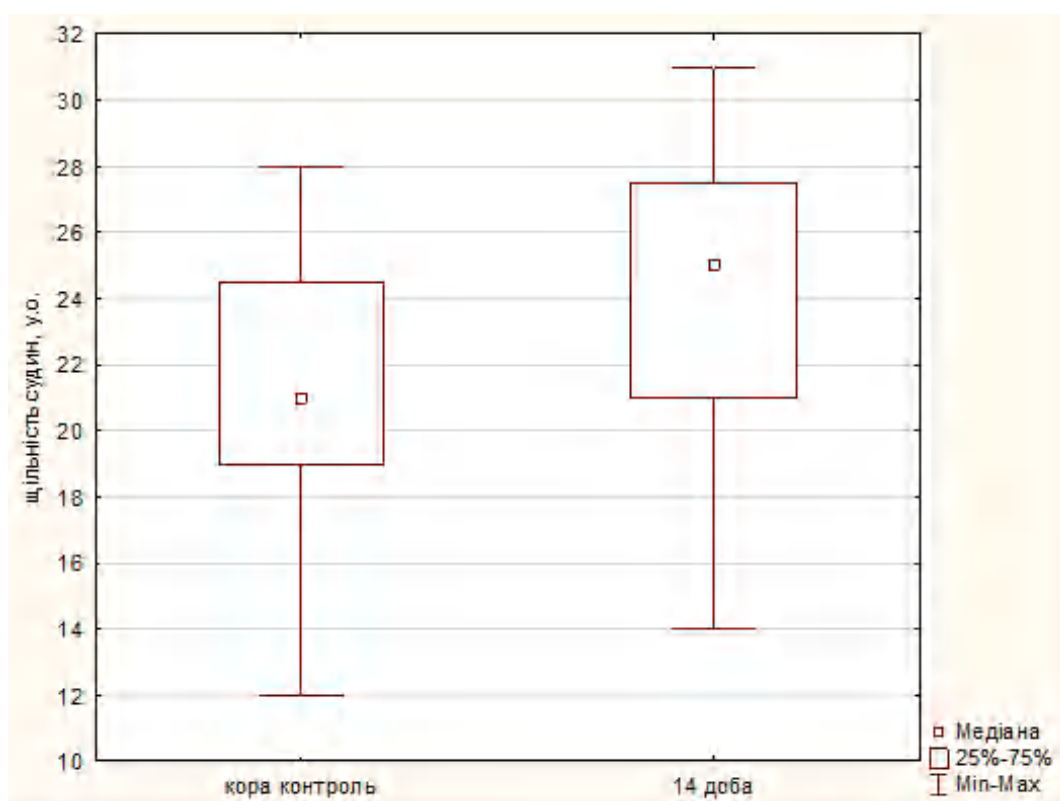


Рисунок 4.20 – Щільність судин на 14 добу в порівнянні з контрольними спостереженнями.

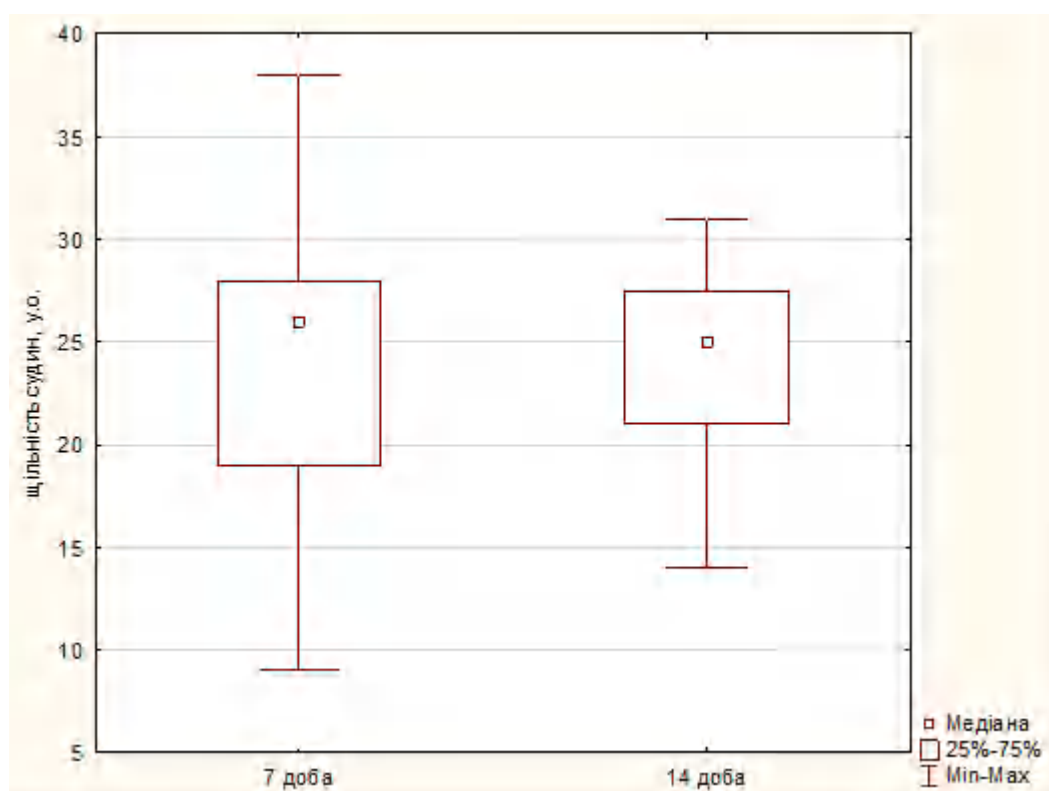


Рисунок 4.21 – Щільність судин на 7 і 14 добу захворювання.

На 14 добу захворювання значна редукція набрякових змін і гострих мікроциркуляторних розладів сприяла формуванню відносно чітких кордонів перифокальної зони мозкового інфаркту. Ближче до ішемічного вогнища реєструвалася значна щільність клітин макрофагального ряду і гліальних клітин. В окремих спостереженнях в цей термін залишалися, але ймовірно рецидивували набрякові зміни і мікроциркуляторні розлади, що супроводжувалося збільшенням площі позитивного CD34 забарвлення на обмежених полях зору. В порівнянні з попереднім терміном знижувалася інтенсивність експресії CD105 до помірно вираженої та слабкої (рис. 4.22).

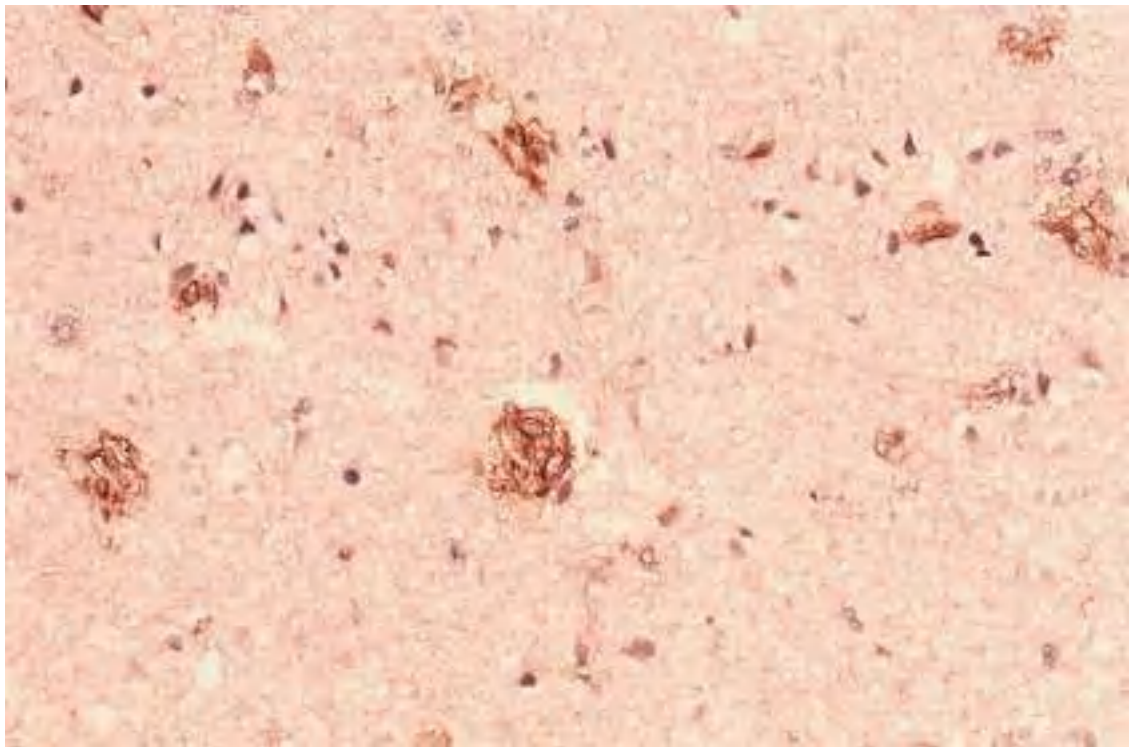


Рисунок 4.22 – Експресія в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту.

Термін спостереження 14 діб. Мо a-Hu CD105 Endoglin, *Clone: SN6h1*.

3б. $\times 200$.

Досліджуючи експресію CD34 в перифокальних ділянках мозкового інфаркту виявлено, що інтенсивна експресія відзначалась в зонах з посиленою проникністю судин. Посилена проникність відзначалася вже з першої доби захворювання, на 3 добу навколо вен реєструвалися значні клітинні інфільтрати з макрофагів, лімфоцитів та незначної кількості нейтрофілів (рис.4.23). Виразність експресії також позитивно корелювала зі щільністю периваскулярної інфільтрації.

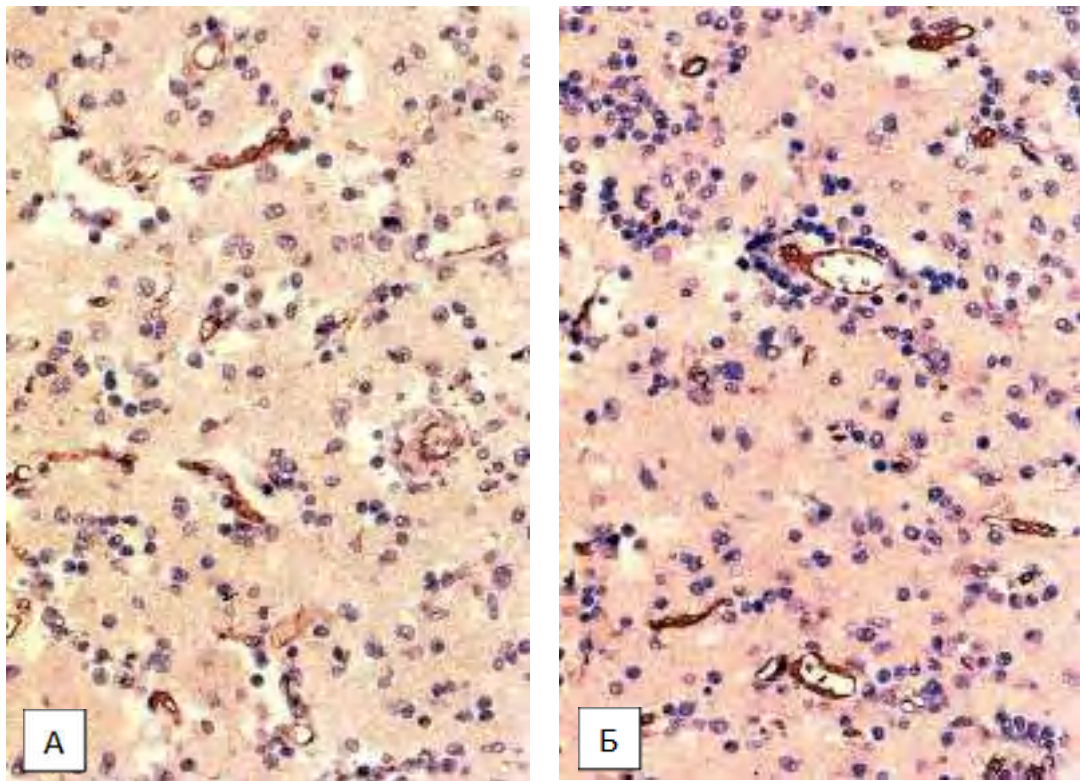


Рисунок 4.23 – Виражена експресія в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту. Термін спостереження А – 1 доба, Б - 3 доби.

Mo a-Hu CD34, Clone QBEnd/10. Зб. $\times 200$.

Аналіз випадків одного терміну захворювання (до 3 діб) показав, що прояв лейкоцитарної інфільтрації в перифокальних областях мозкового інфаркту варіювала в досить широкому діапазоні – практично від повної відсутності до формування значних периваскулярних інфільтратів. Інтерес до процесів лейкоцитарної інфільтрації обумовлений її значенням у процесах судинного ремоделювання. Проведений аналіз показав, що значні

периваскулярні інфільтрати реєструвались в наших спостереженнях при значних за обсягом інфарктах з несприятливим перебігом (тривалість хвороби від 3 до 7 діб), але в ділянках лейкоцитарної інфільтрації інтенсивність експресії CD 34 була незначно вищою ніж, у спостереженнях з її відсутністю або її незначними проявами. Виразність клітинної інфільтрації в різні терміни хвороби представлено на рис. 4.24 А, Б.

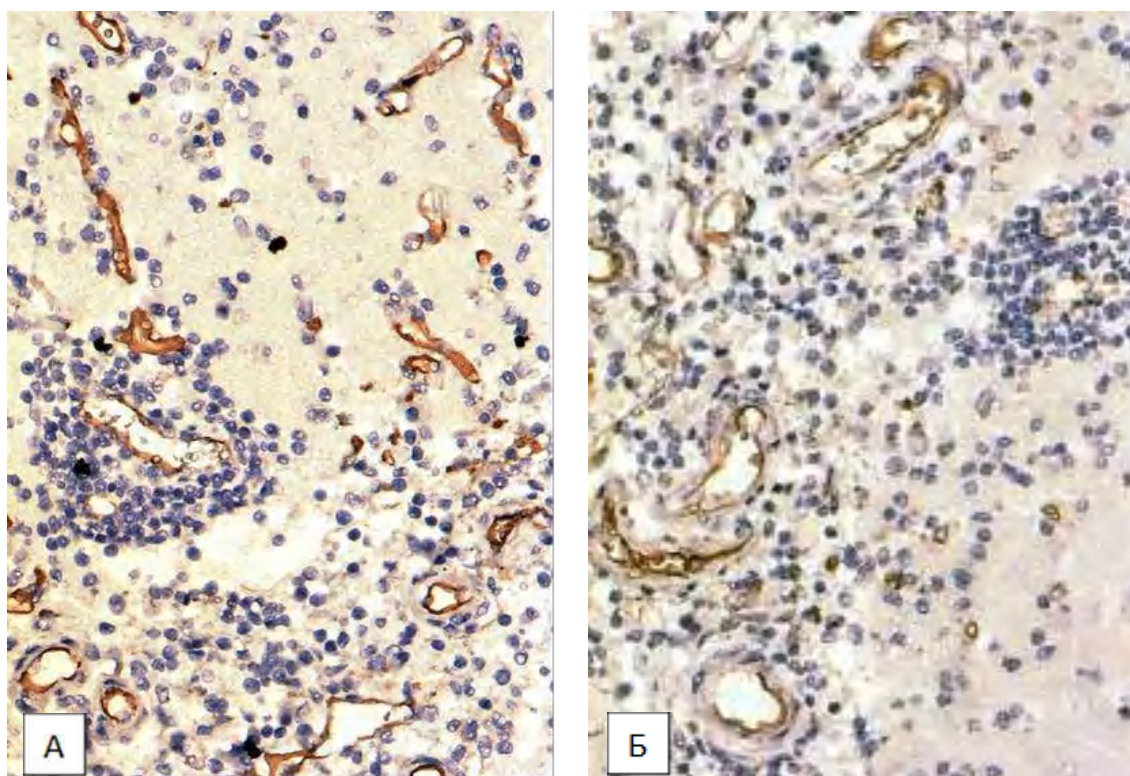


Рис. 4.24 – Виражена експресія в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту. Термін спостереження А- 7 діб, Б- 14 діб.

Мо а-Ну CD34, *Clone QBEnd/10*. Зб. $\times 200$.

Кількісні показники щільності судин і периваскулярного клітинного інфільтрату в умовно стандартизованому полі зору при збільшенні $\times 200$, а також відсоток випадків відповідного терміну хвороби з вираженою інфільтрацією представлено на рис. 4.25. Як впливає з наведених даних щільність клітинного інфільтрату наростала до 14 доби захворювання, що було пов'язано з циркуляторними розладами гострого періоду хвороби, однак відсоток випадків з вираженою інфільтрацією до 14 доби зменшувався. Також

незначно наростала щільність судин, однак в більшій мірі зростала площа поперечного перетину судин, що призводило до збільшення індексу кровопостачання перифокальних ділянок мозкового інфаркту.

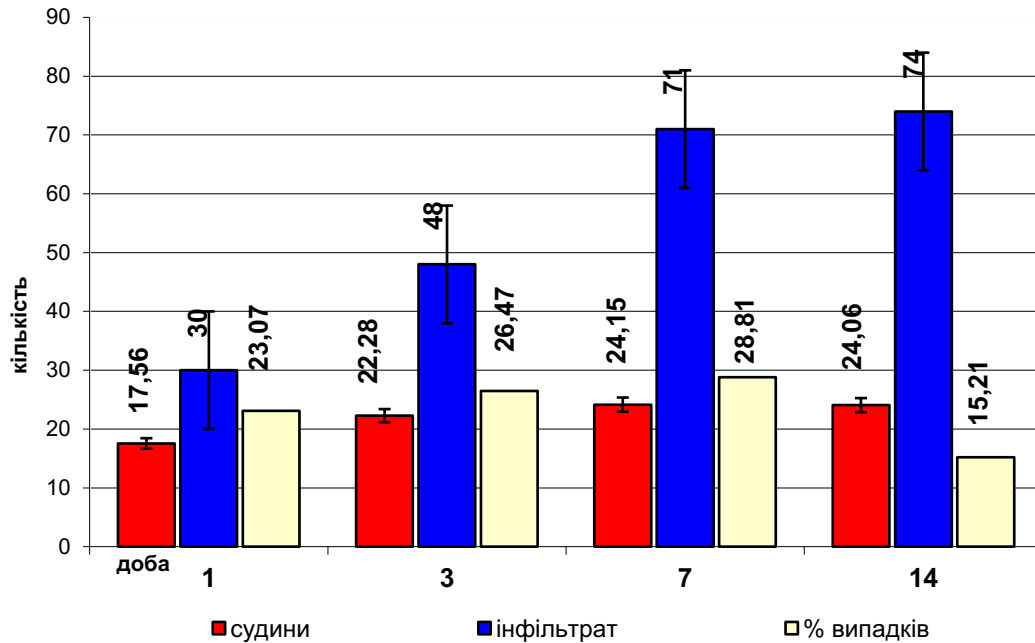


Рисунок 4.25 – Щільність судин і клітинного інфільтрату в УСПЗ і % випадків.

На 21 добу інтенсивність експресії CD34 в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту була знижена в порівнянні з 7 і 14 добою (рис.4.26). Переважала слабка інтенсивність експресії. Площа позитивного CD34 забарвлення становила 1,06 (0,85;1,26) %. Щільність судин становила 16 (13,75;21) в УСПЗ. В порівнянні з контрольними показниками щільність судин була зменшена на 23,8 %, в порівнянні з 7 і 14 добою – відповідно на 38,46 і 36 %. ($p < 0,05$). Відмічалися нерівномірні щільність судин, їх розгалуження і діаметр просвіту по периметру інфарктної зони. На вказані характеристики суттєвий вплив мали обсяг інфаркту, його локалізація, наявність передіснюючих змін судинного русла, виразність гліальної і макрофагальної реакції.

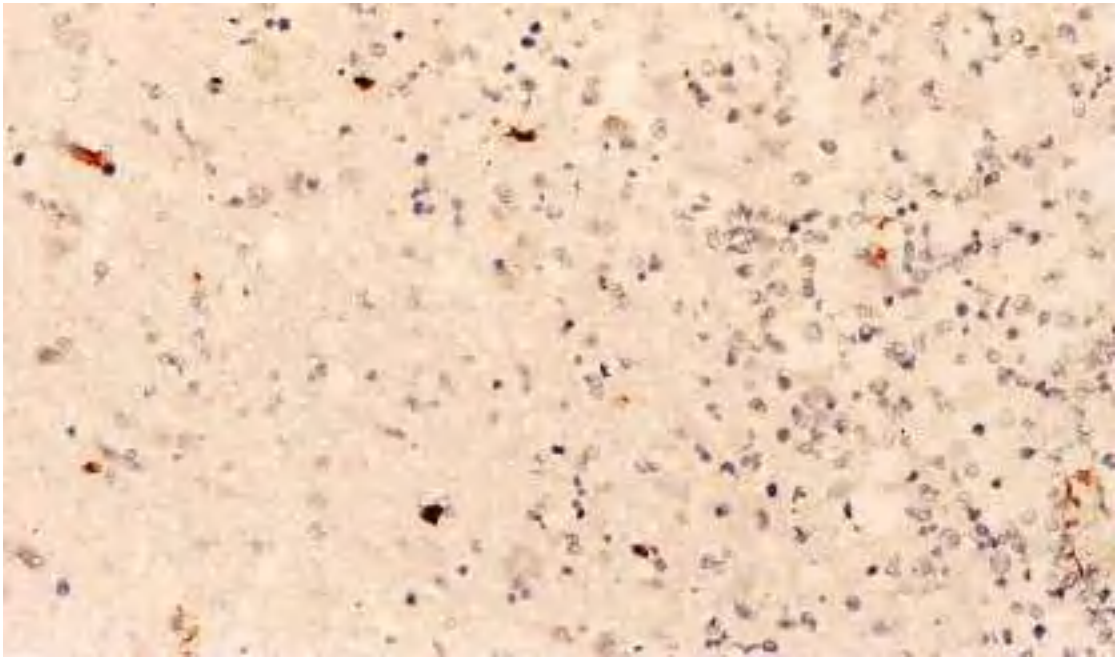


Рисунок 4.26 – Експресія в судинах перифокальної зони мозкового інфаркту. Термін спостереження 21 доба. Мо a-Нu CD34, *Clone QBEnd/10*. Зб. $\times 200$.

На 30 добу щільність судин становила 12,0 (6,75;13,75) в УСПЗ. Площа експресії становила 0,53 (0,41; 0,64) %. На стадії формування кісти в перифокальних ділянках мозкового інфаркту реєструвалися неоднорідні зміни (див. рис. 4.27).

В частині спостережень виявлялося зменшення щільності, як клітинних елементів так і судин, в інших – відмічалася посилена макрофагальна реакція зі збільшенням щільності судин (рис. 4.28). Остання відмічалася при незначних за обсягом інфарктах, а також у разі рецидивуючих розладів кровообігу в зонах суміжного кровопостачання. Такі ділянки кровопостачаються найдрібнішими гілками інтракраніальних магістральних артерій – середньо- і задньомозковими артеріями, а також передньою хоріоїдальною артерією. Ці зони були найбільш уразливими при порушеннях як церебральної, так і системної гемодинаміки.



Рисунок 4.27 – Експресія CD34 в перифокальних участках мозкового інфаркту. Термін спостереження 30 діб. Мо а-Ну CD34, *Clone QBEnd/10*.
36. ×100.

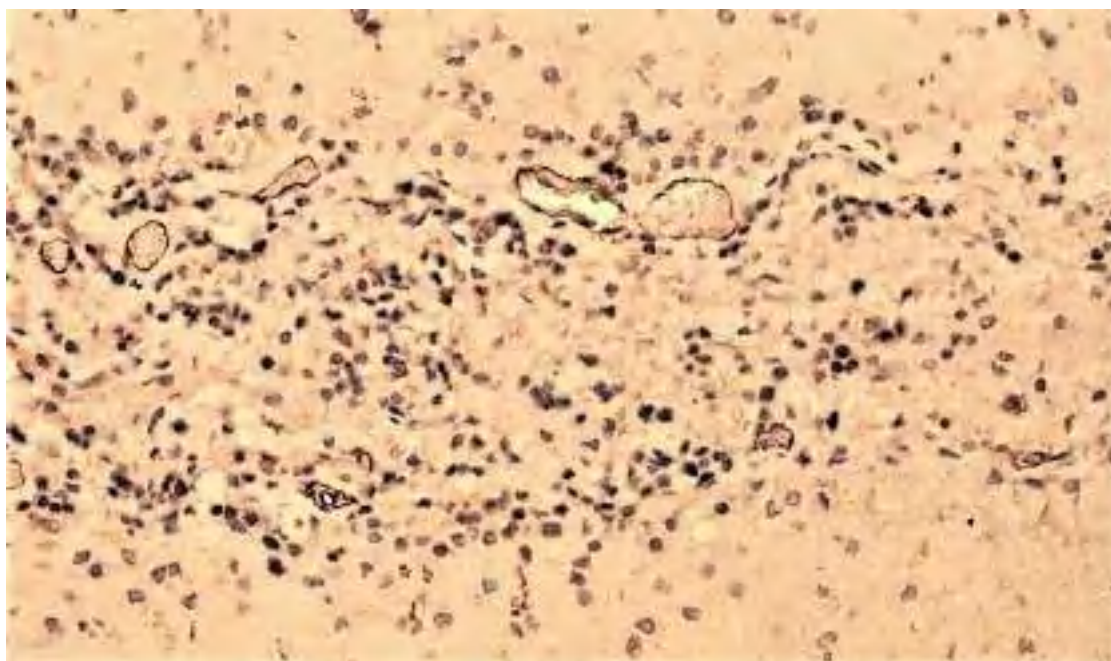


Рисунок 4.28 – Експресія CD34 в перифокальних участках мозкового інфаркту. Термін спостереження 30 діб. Мо а-Ну CD34, *Clone QBEnd/10*.
36. ×200.

Кількісні показники площі експресії CD34 у двох виборках представлено на діаграмі (рис. 4.29).

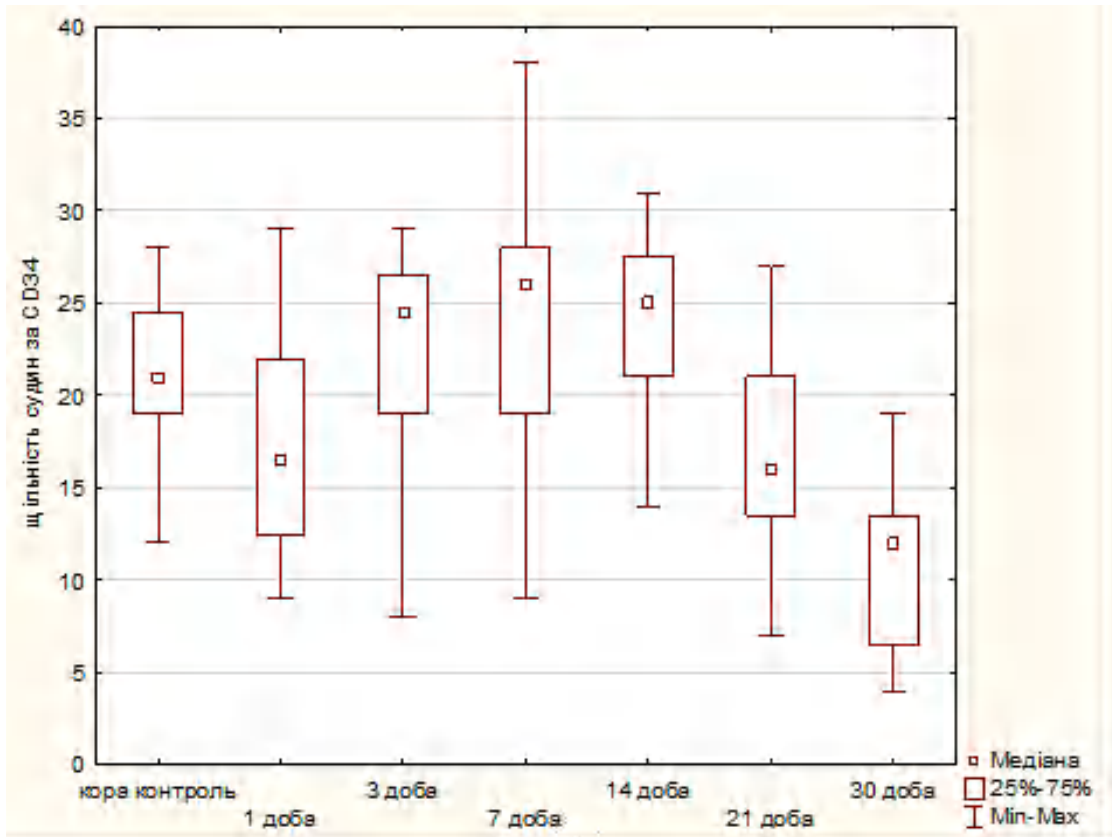


Рисунок 4.29 – Показники щільності судин за даними експресії CD34 в перифокальних участках мозкового інфаркту в різні терміни захворювання.

Критерій Краскела-Уоліса для показники площі експресії CD34 продемонстрував наявність статистично значущих відмінностей ($p < 0,001$). В таблиці 4.1 наведено результат попарного порівняння площі експресії CD34 з контролем і в різні терміни ІМ (p - значення).

Таблиця 4.1 – Розраховані р-значення попарних порівнянь значень критерію Краскела-Уоліса для площі експресії CD34

| | контроль | 1 доба | 3 доба | 7 доба | 14 доба | 21 доба | 30 доба |
|----------|----------|--------|--------|----------|---------|---------|---------|
| контроль | | 0,921 | 0,999 | 0,999 | 0,999 | 0,321 | <0,001 |
| 1 доба | 0,921 | | 0,073 | 0,002 | 0,002 | 0,999 | 0,007 |
| 3 доба | 0,999 | 0,073 | | 0,999 | 0,999 | 0,018 | <0,001 |
| 7 доба | 0,999 | 0,002 | 0,999 | | 0,999 | <0,001 | <0,001 |
| 14 доба | 0,999 | 0,002 | 0,999 | 0,999 | | <0,001 | <0,001 |
| 21 доба | 0,321 | 0,999 | 0,018 | 0,000326 | <0,001 | | 0,031 |
| 30 доба | <0,001 | 0,007 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,031 | |

Примітка. р-значення <0,05 відповідають статистично значущій різниці.

Відповідно до динаміки змін показника щільності судин змінювалася і динаміка індексу кровопостачання. Максимальні показники реєструвалися на 3 і 7 добу. В подальші терміни значення індексу кровопостачання поступово знижувалися і на стадії організації інфаркту становили не більше 20 % від контрольних значень.

Показники індексу кровопостачання в різні терміни ішемічного інфаркту представлені в таблиці 4.2 і на діаграмі (рис. 4.30).

Таблиця 4.2 - Індекс кровопостачання перифокальних участків ішемічного інфаркту

| ІК | Термін спостереження | | | | | | | |
|-----|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Контроль | 1 | 3 | 7 | 14 | 21 | 30 | Ст.к* |
| Me | 1,26 | 0,15 | 3,51 | 3,87 | 2,16 | 1,33 | 0,42 | 0,23 |
| Q1; | 1,2; | 0,11; | 3,05; | 3,57; | 2,34; | 1,18; | 0,33; | 0,19; |
| Q3 | 1,63 | 0,21 | 3,68 | 4,18 | 2,81 | 1,75 | 0,75 | 0,27 |

Примітка. ІК – індекс кровопостачання, Me – медіана, Q1 і Q2 – верхній і нижній квартилі, Ст.к – стінка кісти.

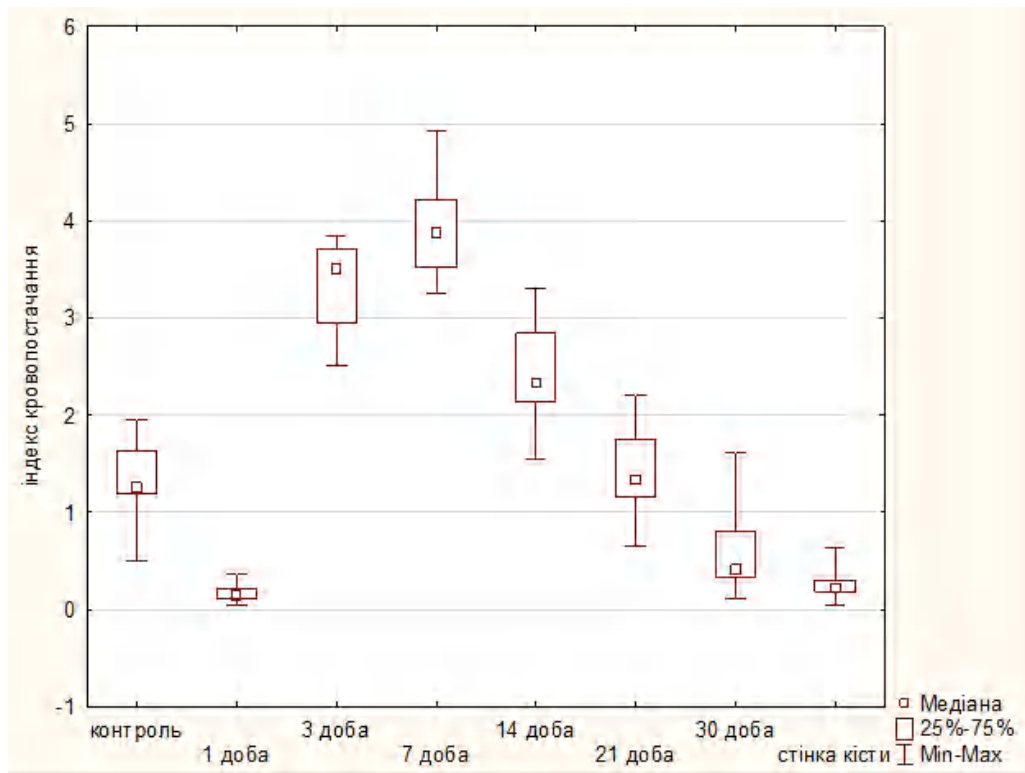


Рисунок 4.30 – Показники індексу кровопостачання в різні терміни ІМ.

В таблиці 4.3 наведено результат попарного порівняння значень індексу кровопостачання у двох виборках в різні терміни ІМ (р- значення).

Таблиця 4.3 - Статистична оцінка порівняння середніх значень індексу кровопостачання у двох виборках

| | контроль | 1 доба | 3 доба | 7 доба | 14 доба | 21 доба | 30 доба | Стінка кісти |
|--------------|----------|--------|--------|--------|----------|---------|---------|--------------|
| контроль | | 0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,999 | 0,999 | 0,999 | 0,026 |
| 1 доба | 0,001 | | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,999 | 0,999 |
| 3 доба | 0,009 | <0,001 | | 0,999 | 0,999 | 0,015 | <0,001 | <0,001 |
| 7 доба | <0,001 | <0,001 | 0,999 | | 0,409791 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| 14 доба | 0,999 | <0,001 | 0,999 | 0,410 | | 0,999 | 0,001 | <0,001 |
| 21 доба | 0,999 | <0,001 | 0,015 | <0,001 | 0,999 | | 0,828 | 0,015 |
| 30 доба | 0,999 | 0,999 | <0,001 | <0,001 | 0,001 | 0,828 | | 0,999 |
| Стінка кісти | 0,026 | 0,999 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,015 | 0,999 | |

Примітка. р-значення <0,05 відповідають статистично значущій різниці.

Дослідження кровозабезпечення ділянок перифокальної зони ішемічного інфаркту за показниками індексу кровопостачання (ІКр) показало, що максимальний показник ІКр реєструвався на 7 добу захворювання (див. рис. 4.30), що було обумовлено посиленням колатерального кровотоку і активацією ангиогенезу. В подальших термінах його показники поступово знижувалися. Так на 14 і 21 добу в порівнянні з максимальними показниками (7 доба) визначалось його зниження відповідно на 39,53 і 65,63 %. Але в порівнянні з контрольними показниками ІКр на 14 і 21 добу залишався збільшеним відповідно на 85,71 % і 5,55 %. На 30 добу і в кряях післяінфарктної кісти цей показник був суттєво знижений і становив відповідно 33,33 і 18,25 % від значень в контрольних спостереженнях.

Порівняння діаграм на рис 4.29 і 4.30 показує що щільність судин до 14 доби зростала в досить вузькому діапазоні значень, надалі відбувалося поступове зменшення кількості судин за рахунок склерозування дрібних артерій і капілярів в яких кровотік не відновлювався. Індекс кровопостачання стрімко зростав з перших діб захворювання до 7 доби, в подальшому також стрімко знижувався. На 7 добу відмічались максимальні значення обох показників, але по відношенню до контрольних показників щільність судин була вищою в 1,14 рази, а ІКр – в 2,86 разів.

4.2 Імуногістохімічна характеристика процесів неоваскуляризації перифокальних участків мозкового інфаркту за даними експресії VEGF-A і VEGFR -1

Динаміка посилення експресії CD34 і CD105 супроводжувалась аналогічною направленістю експресії VEGF-A, яка визначалась в ендотелії, нейронах та гліальних клітинах.

В контрольних спостереженнях і в контрлатеральній півкулі у хворих на мозкові інфаркти визначалась слабка нерівномірна експресія маркеру на клітинних елементах (рис. 4.31). Позитивна слабка експресія визначалася на

поодиноких нейронах і гліальних клітинах, площа експресії VEGF-A становила 0,26 (0,21;0,3) %.

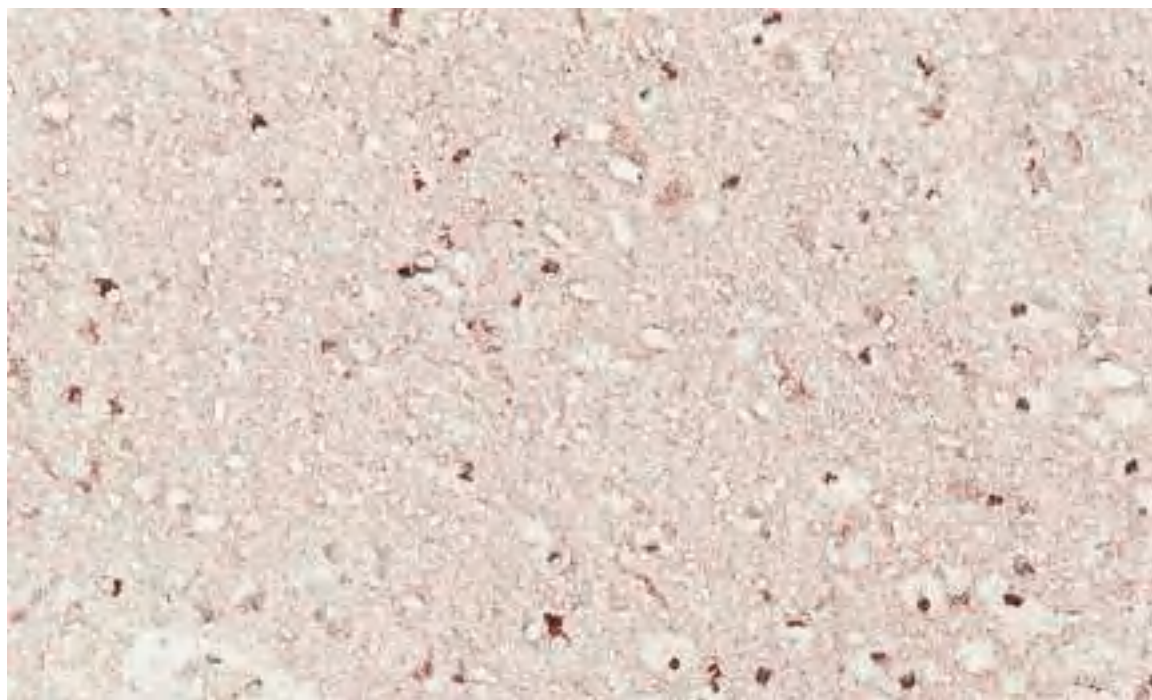


Рисунок 4.31 – Експресія VEGF-A в контрольних спостереженнях. Мо а-Ну VEGF-A, *Clone VG1*. 3б. $\times 200$.

Фактично з першого дня рівномірна мембранно-цитоплазматична експресія VEGF-A відмічалася як в області інфаркта, так і в периінфарктній області. До кінця першої доби відзначалося значне збільшення зв'язку білка VEGF-A з нейронами в перифокальній області, безпосередньо на кордоні з інфарктом (рис. 4.32). Площа експресії через 1 добу становила 4,58 (3,27; 4,80) %. На віддаленні від первинного вогнища, а також в контрлатеральній півкулі реєструвалося збільшення експресії маркеру, однак його інтенсивність була значно меншою (рис. 4.33).

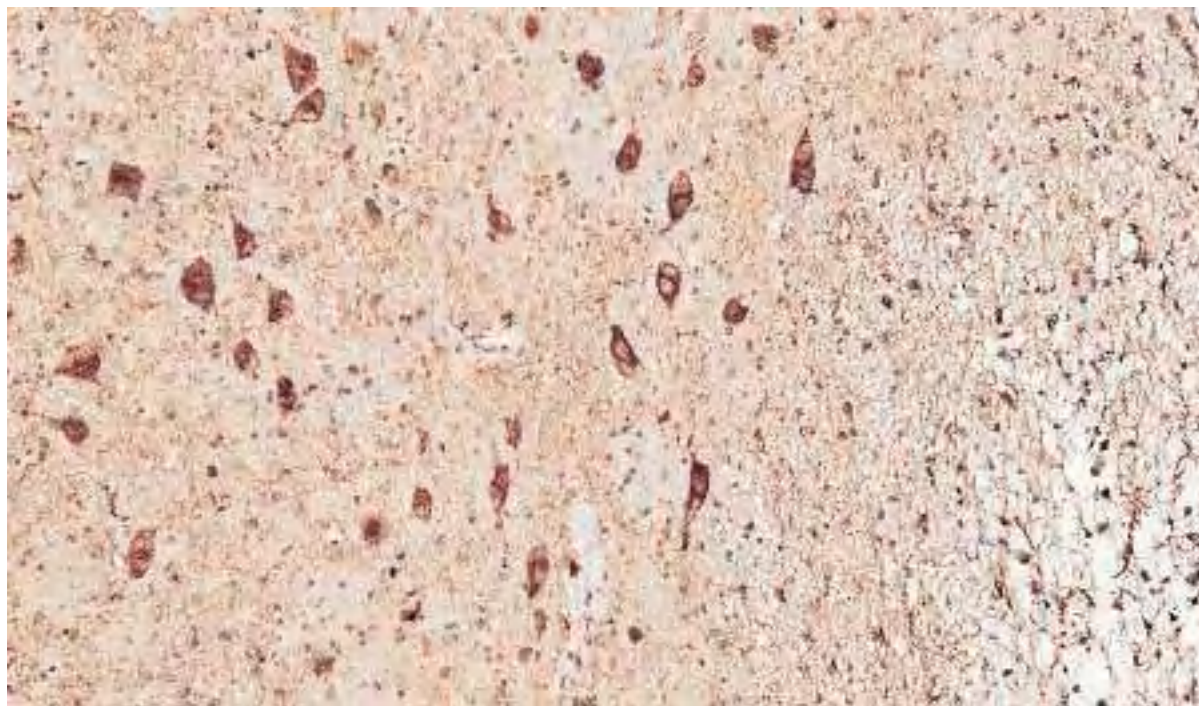


Рисунок 4.32 – Експресія VEGF-A в перинфарктній області через 1 добу від розвитку півкульового інфаркту мозка. Мо a-Hu VEGF, *Clone VG1*. 3б. ×200.

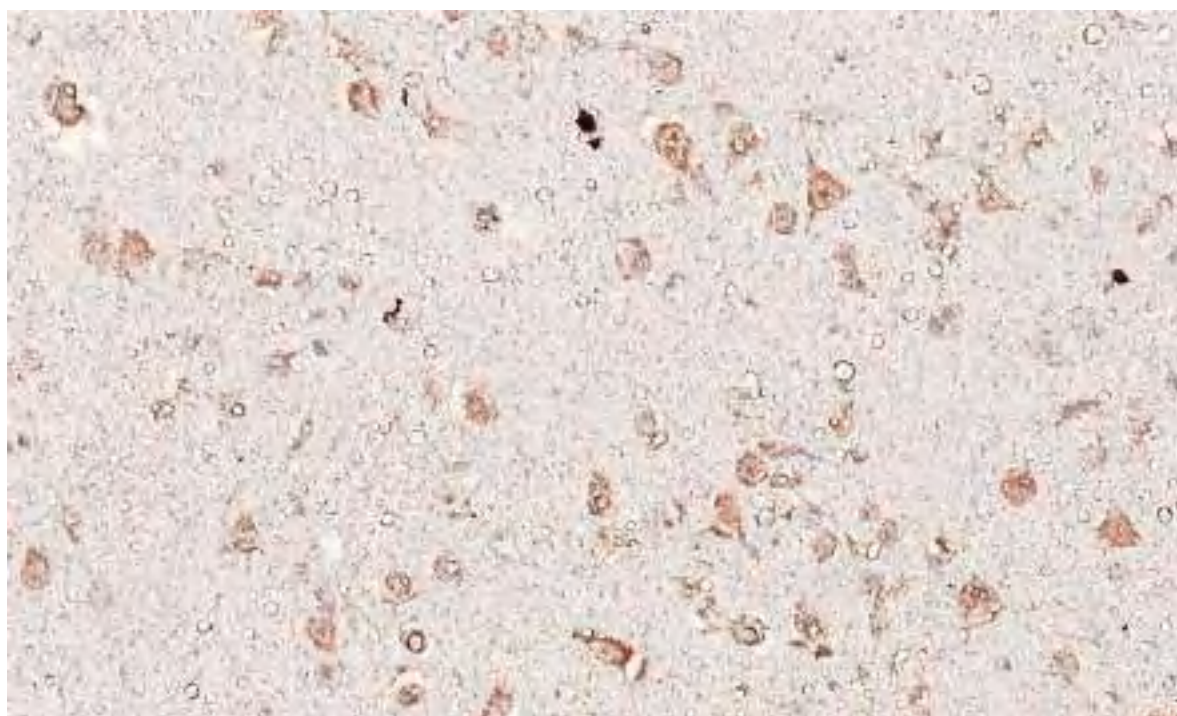


Рисунок 4.33 – Експресія VEGF-A в в контрлатеральній півкулі через 1 добу від розвитку півкульового інфаркту мозка. Мо a-Hu VEGF, *Clone VG1*. 3б. ×200.

На 3 добу від початку інфаркту, посилення набряку, мікроциркуляторних розладів сприяло збільшенню клітинної інфільтрації перинфарктних участків і відповідно до цих процесів значно посилювалася експресія VEGF. В зоні інфаркта визначалось фонове забарвлення і в динаміці захворювання воно фактично залишалось на одному рівні. В ішемічній півтні інтенсивність експресії поступово збільшувалася. Значна інтенсивність експресії визначалася в збережених клітинних елементах, які формували межу ішемічного вогнища, а також в ендотелії судин (див. рис. 4.34). Відносної площа експресії VEGF на 3 добу була на рівні 5,84 (5,73; 7,61) %, що в порівнянні з 1 добою було збільшено в 1,61 рази (рис. 4.35).

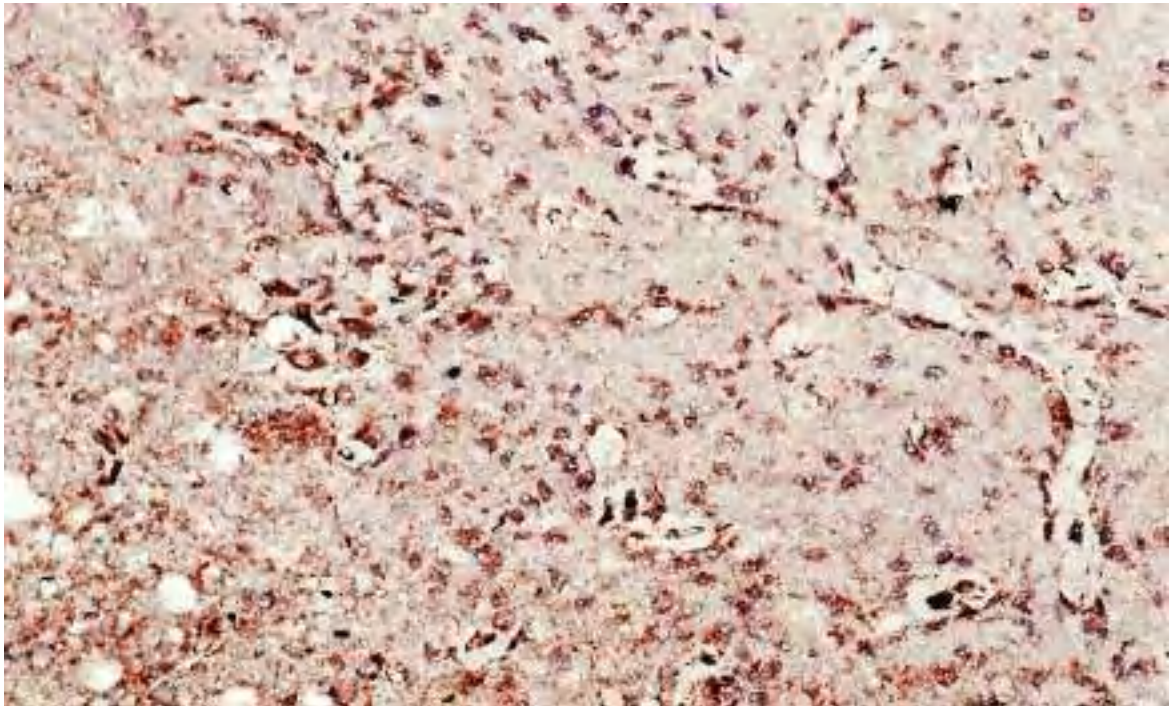


Рисунок 4.34 – Експресія VEGF-A в перинфарктній області через 1 добу від розвитку півкульового інфаркту мозка. Мо a-Hu VEGF, *Clone VG1*. 3б. $\times 200$.

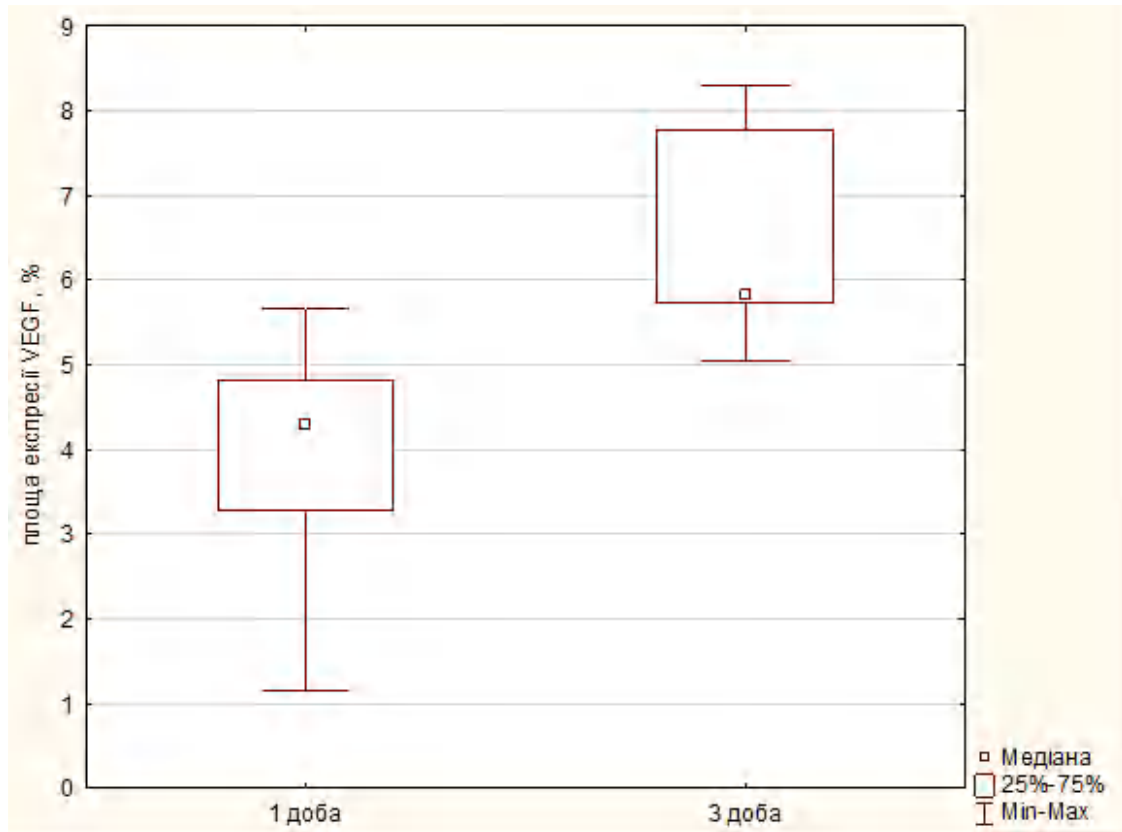


Рисунок 4.35 – Порівняння показників площі експресії VEGF-A в перифокальній зоні інфаркту мозку на 1 і 3 добу ($p \leq 0,05$).

Через 7 діб експресія VEGF-A значно посилювалась на кордоні з некротичним вогнищем, що відповідало значному формуванню в цих областях розповсюдженої судинної мережі і значній макрофагальній реакції. Площа експресії становила 7,77 (6,59; 8,19) %, що на 24,83 % вище в порівнянні 3 добою. Однак в цей термін по периметру ішемічного вогнища визначалася нерівномірна щільність клітинних елементів що накладало певний відбиток на інтенсивність експресії в різних полях зору (рис. 4.36).

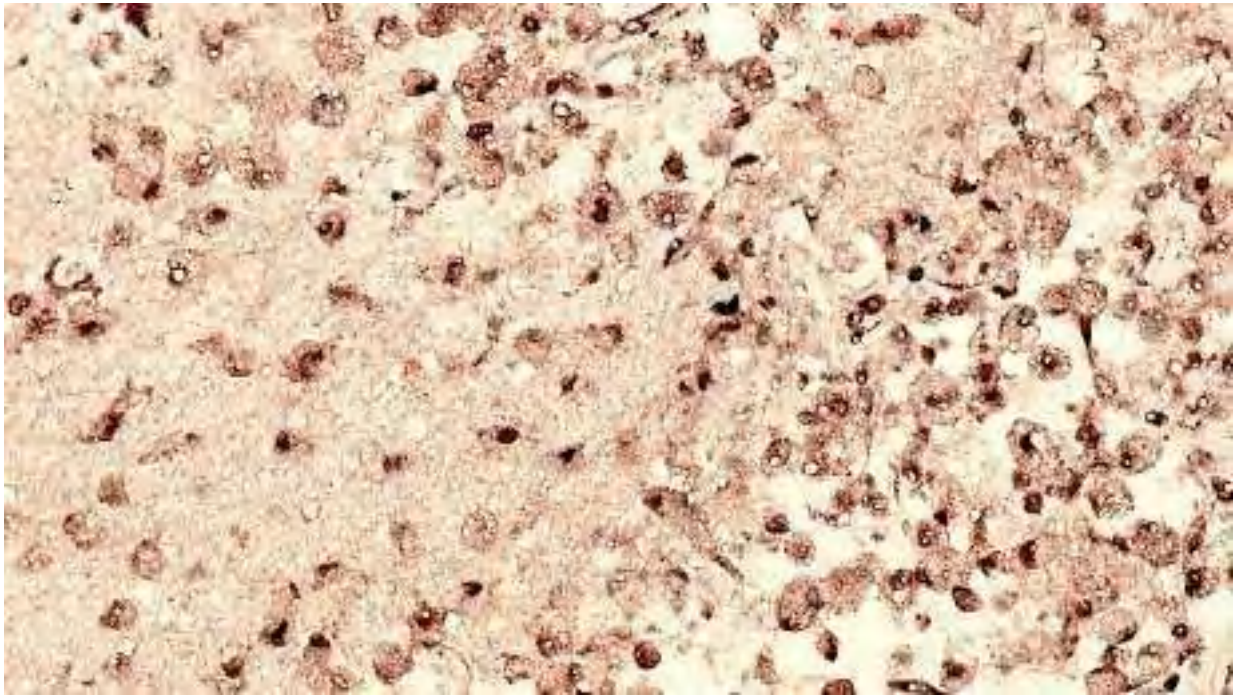


Рисунок 4.36 – Значна інтенсивність експресії VEGF-A в периінфарктній області в через 7 діб від розвитку півкульового інфаркту мозка. Мо a-Hu VEGF, *Clone VG1*. 3б. $\times 200$.

У ці терміни визначалася значна інтенсивність експресії VEGFR2. Значна площа експресії VEGFR2 позитивно корелює з експресією VEGF. Площа експресії рецепторів VEGFR2 також була нерівномірною по периметру інфаркта.

На 14 добу інтенсивність експресії VEGF дещо знижується до помірно вираженої, площа експресії VEGF становила 4,48 (3,64; 5,76) %. Але з попереднім терміном значно збільшується розмах даних (рис. 4.37). Більша щільність клітин з інтенсивною експресією VEGF знаходилася біля судин (рис. 4.38).

На 21 добу інтенсивність і площа експресії VEGF значно знижуються. Площа експресії VEGF становила 3,76 (3; 4,32) %. Смерть хворих які переживають гострий період мозкового інфаркту в ці терміни зазвичай була зумовлена серцевою недостатністю, внаслідок розвитку інфаркту міокарда, який зустрічався в 12 % спостережень, а також внаслідок легеневих ускладнень. Об'єм мозкового інфаркту в таких випадках був суттєво меншим в

порівнянні з померлими через 1, 3, 7 діб після розвитку гострого порушення мозкового кровообігу. В стадію резорбції клітинного детриту і формування кісти, що можна було спостерігати вже на 21 добу і в подальші терміни, експресія VEGF-A і VEGFR-2 набувала більш характерну топографію і визначалася безпосередньо в зоні організації інфаркту і формування кісти (рис. 4.39).

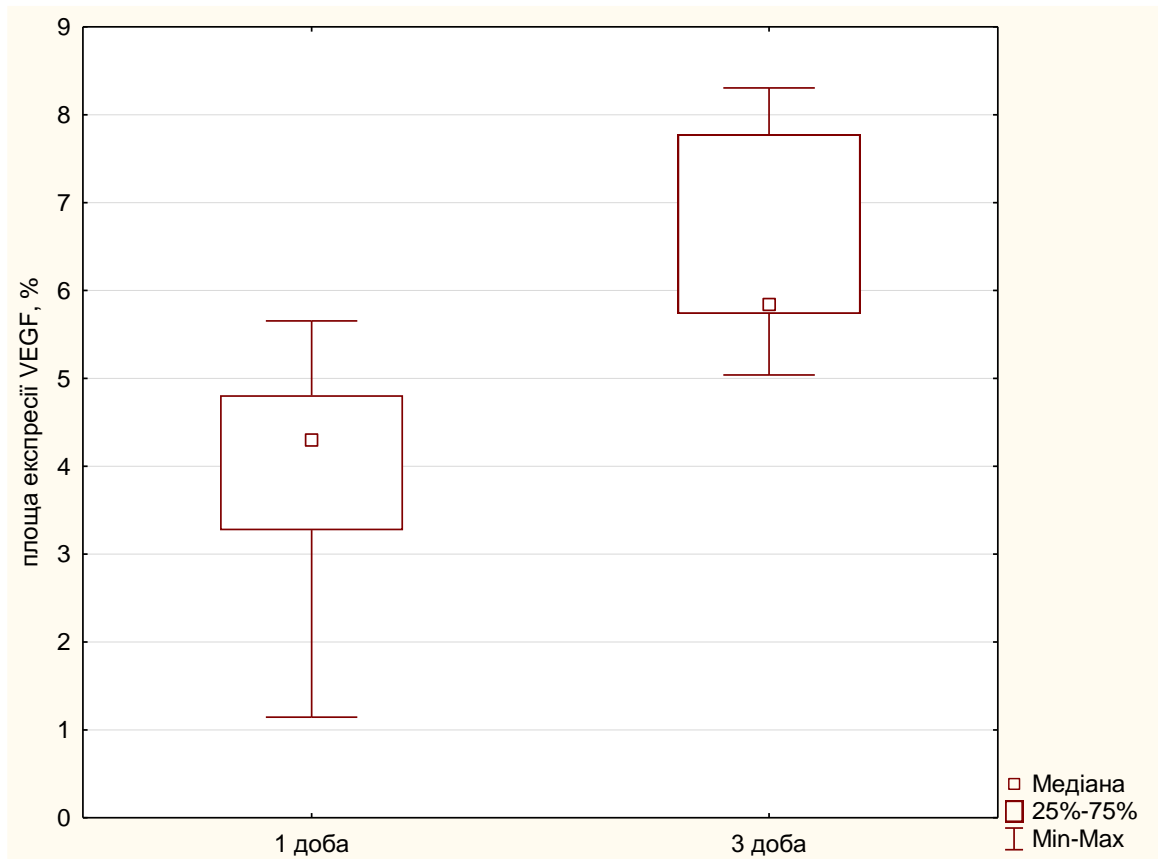


Рисунок 4.37 – Порівняння показників площі експресії VEGF-A в перифокальній зоні інфаркту мозку на 7 і 14 добу ($p \leq 0,05$).

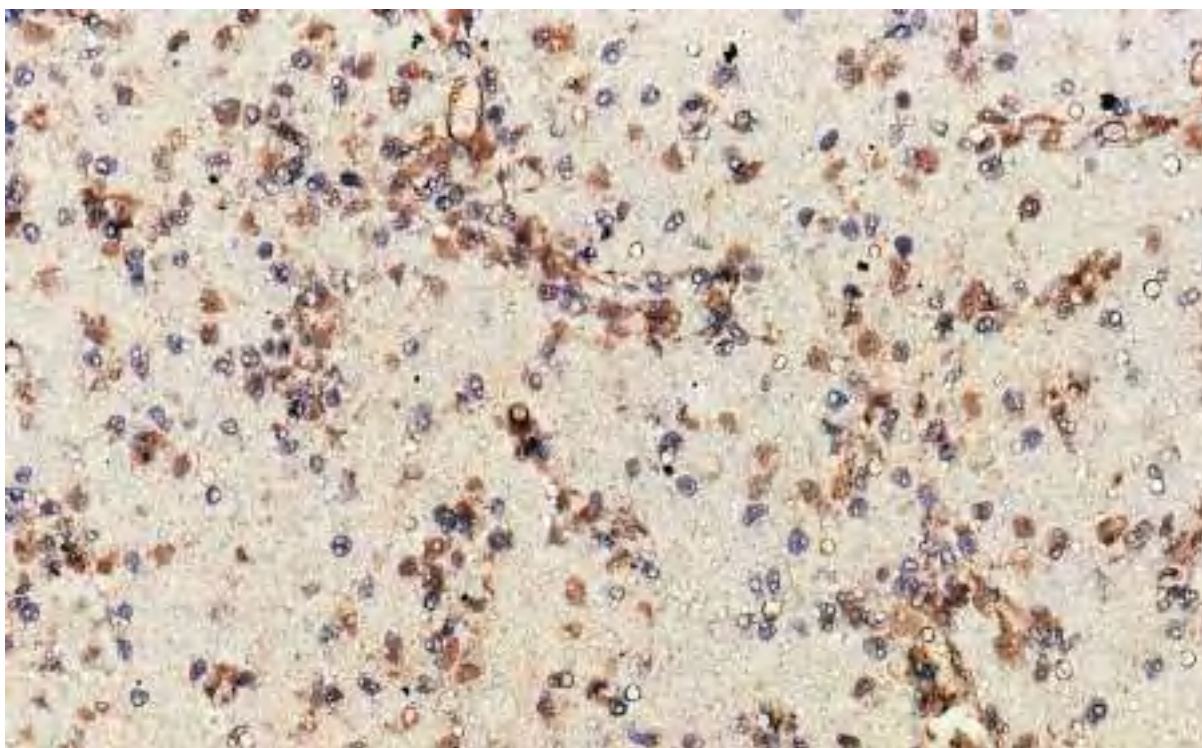


Рисунок 4.38 – Інтенсивна експресія VEGF-A біля судин. Термін спостереження 14діб. Мо а-Hu VEGF, *Clone VG1. 35.* ×200.

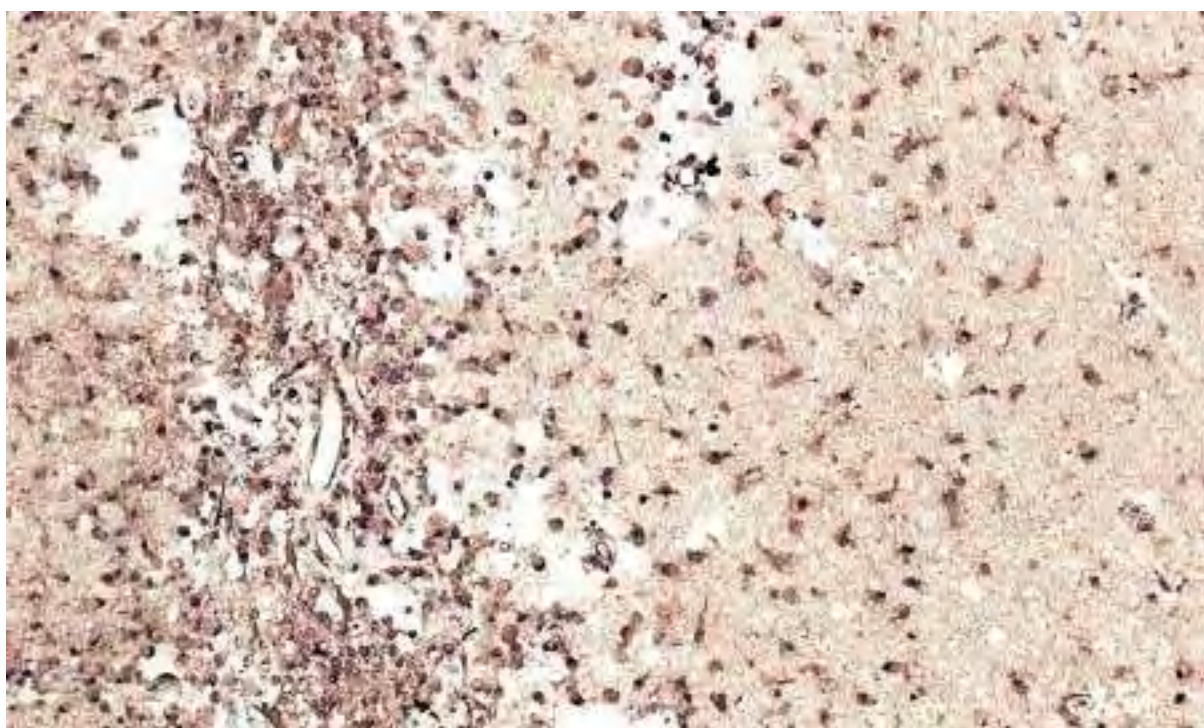


Рисунок 4.39 – Інтенсивна експресія VEGF-A в зоні організації інфаркту. Термін спостереження 21 доба. ІГХ VEGF . 35. ×200.

На 30 добу і в більш пізні терміни інтенсивність і площа експресії VEGF значно знижувалися. Площа експресії становила 0,25 (0,18; 1,35) %. Більш значна експресія визначалася в участках гліомезодермальної організації, які характеризувалися хаотично розташованими гліальними елементами і волокнами, наявністю гематогенних макрофагів, лімфоцитів, склерозованих мікросудин, представлених тонкими тяжами. В таких зонах визначалася значна кількість гіпертрофованих астроцитів з інтенсивною позитивною експресією VEGF-A (рис. 4.40). Також слід зазначити що в аутопсійних спостереженнях з термінами хвороби 30 діб і більше реєструвалися незначні за обсягами інфаркти, переважно субкортикальної локалізації.

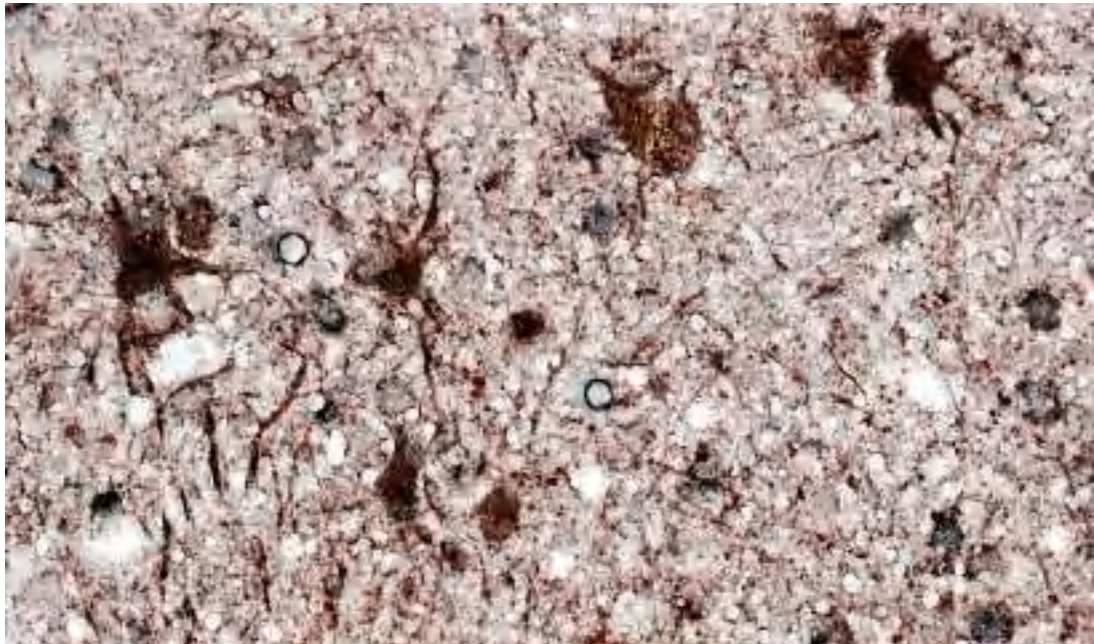


Рисунок 4.40 – Гіпертрофія астроцитів в складі гліомезодермального рубця з інтенсивною експресією VEGF-A в перифокальній зоні інфаркту. Термін спостереження 5 тижнів. Мо a-Hu VEGF, Clone VG1. Зб. $\times 400$.

Зміни які простежені нами в крях постінфарктної кісти мозку стосувалися випадків коли на розтині поряд зі знову сформованим інфарктом відзначалися ознаки раніше перенесеного інфаркту. У таких спостереженнях встановити давність інфаркту було складно. В мозку сформована кіста достатньо чітко відмежована від оточуючої паренхіми мозку, містить

каламутну, жовтувато-сіру рідину з фрагментами загиблих тканин, тканинного детриту сірого кольору. Судинна мережа перифокальної зони кісти яка формується досить розріджена, тяжі склерозованих судин перетинаються з гліальними волокнами. Інтенсивність експресії VEGF нерівномірно помірна або слабка (рис. 4.41).

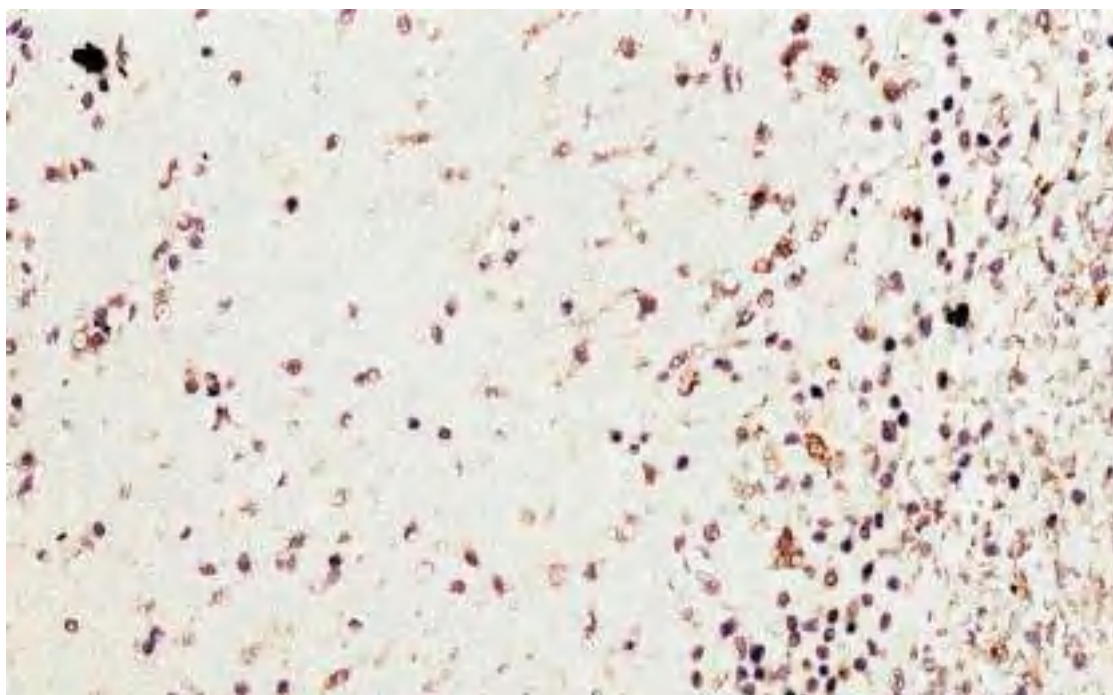


Рисунок 4.41 – Інтенсивність експресії VEGFR2 в краї кісти. Термін спостереження 5 тижнів. Мо a-Hu VEGFR2, Clone FLT-1. 3б. $\times 200$.

В більш пізні терміни в краях кісти відзначається слабка експресія, яка практично зливається з фоновим забарвленням (рис. 4.42), аналогічні зміни стосувалися експресії VEGFR2, яка визначалась в поодиноких клітинах перифокальної зони мозкового інфаркту. Площа експресії VEGF в краях кісти становила 0,25 (0,18;0,5) %.

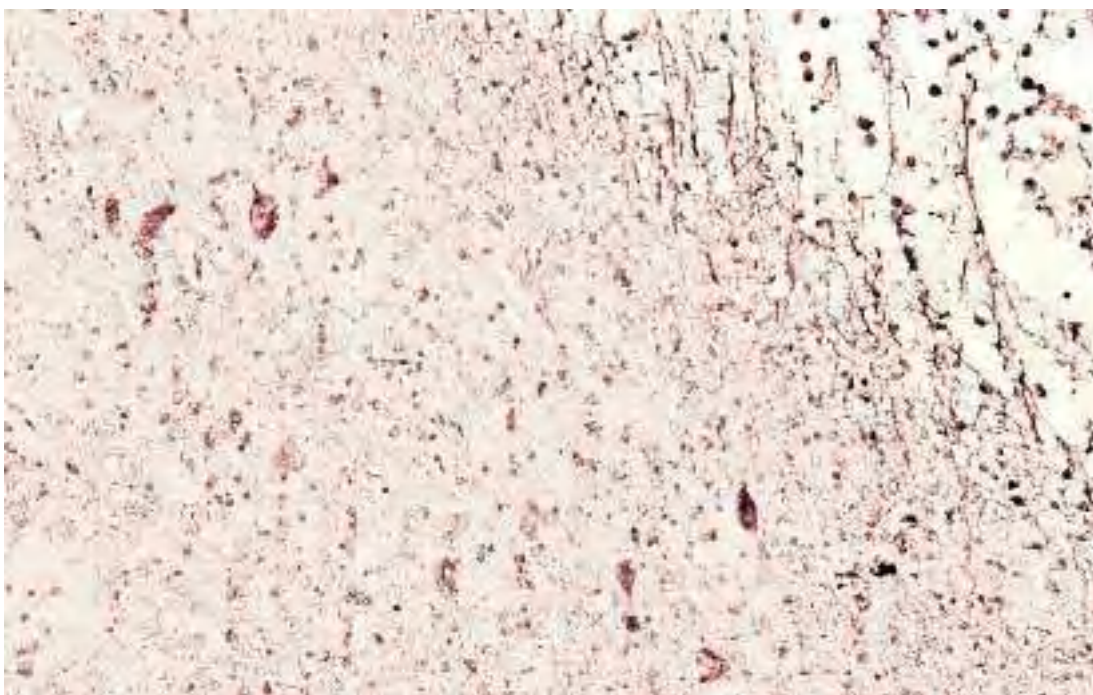


Рисунок 4.42 – Інтенсивність експресії VEGF в краї кісти. Термін спостереження 5 тижнів. Мо а-Ну VEGF, *Clone VG1*. 3б. $\times 200$.

Порівняння площі експресії VEGF в перифокальній зоні інфаркту мозку на 30 добу і в краях кісти представлено на (рис.4.43).

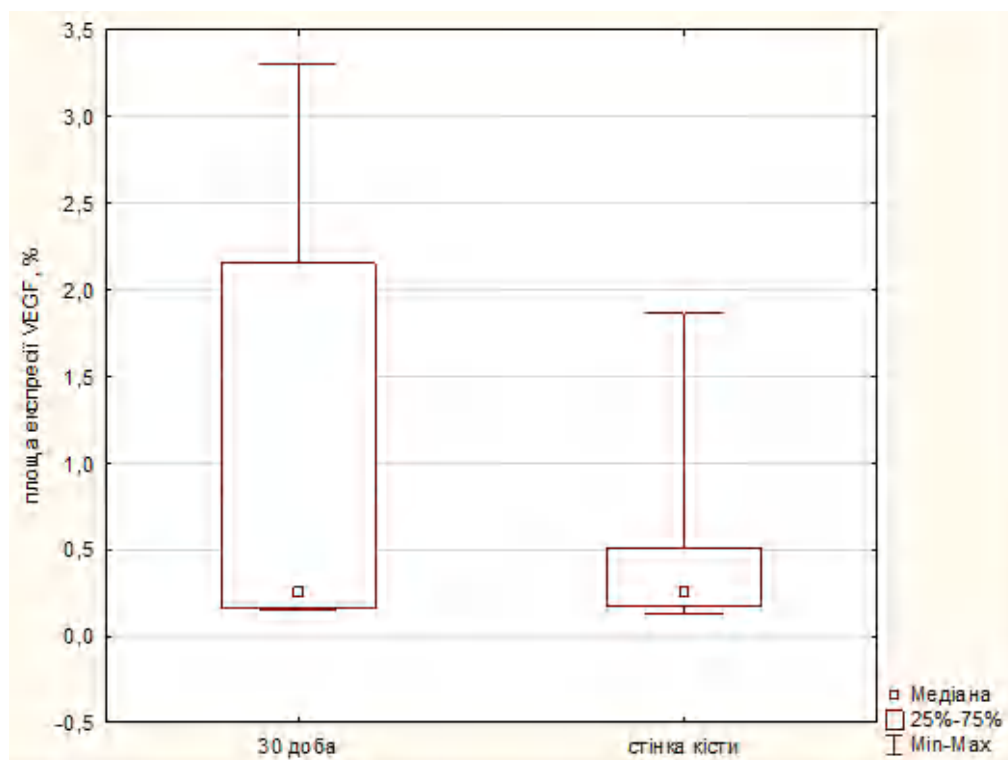


Рисунок 4.43 – Порівняння показників площі експресії VEGF в перифокальній зоні інфаркту мозку на 30 добу і в краях кісти ($p=0,16$).

Як видно із діаграми на 30 добу реєструється досить значний діапазон розмаху показників площі експресії, що залежало від щільності клітинного інфільтрату в перифокальних участках інфаркту в різних спостереженнях, але порівнювані дані були статистично не достовірними.

Сумарні дані показників площі експресії VEGF в різні терміни хвороби представлені на рис. 4.44.

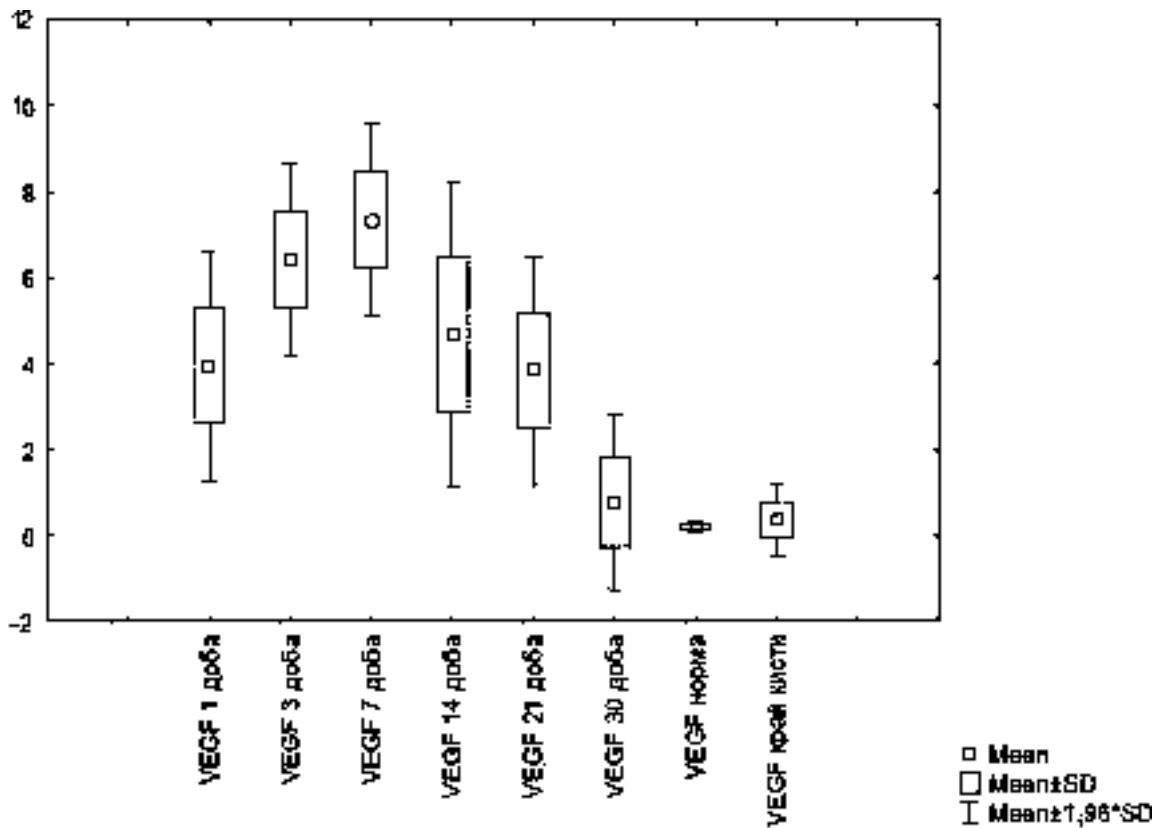


Рис. 4.44 – Порівняння показників площі експресії VEGF в перифокальній зоні інфаркту мозку в різні терміни мозкового інсульту.

Статистична оцінка порівняння рівня експресії VEGF у двох виборках представлена в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4 - порівняння рівня експресії VEGF у виборках

| | контроль | 1 доба | 3 доба | 7 доба | 14 доба | 21 доба | 30 доба | Стінка кісти |
|--------------|----------|--------|--------|----------|---------|---------|---------|--------------|
| контроль | | 0,154 | <0,001 | <0,001 | 0,008 | 0,125 | 0,999 | 0,999 |
| 1 доба | 0,154 | | 0,803 | 0,130965 | 0,999 | 0,999 | 0,142 | 0,061 |
| 3 доба | <0,001 | 0,803 | | 0,999 | 0,999 | 0,221 | <0,001 | <0,001 |
| 7 доба | <0,001 | 0,131 | 0,999 | | 0,364 | 0,021 | <0,001 | <0,001 |
| 14 доба | 0,008 | 0,999 | 0,999 | 0,364131 | | 0,999 | 0,004 | 0,001 |
| 21 доба | 0,125 | 0,999 | 0,221 | 0,021 | 0,999 | | 0,097 | 0,036 |
| 30 доба | 0,999 | 0,142 | <0,001 | <0,001 | 0,004 | 0,097 | | 0,999 |
| Стінка кісти | 0,026 | 0,999 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,015 | 0,999 | |

Примітка: р-значення <0,05 відповідають статистично значущій різниці.

4.3 Експресія MMP-9 в перифокальних участках інфекта мозку

В контрольних спостереженнях а також в контрлатеральній півкулі у хворих на інфаркт мозку відмічалася достатньо низька експресія MMP-9, яка визначалася в поодиноких клітинах (рис. 4.45).

Виражена експресія MMP-9 визначалася з першої доби у померлих з ішемічним інфарктом і в більшості випадків залежала від виразності мікроциркуляторних розладів, які сприяли підвищенню судинної проникності і розвитку нейрозапалення. Безпосередньо на кордоні з інфарктом значні набрякові зміни і руйнування окремих клітин не супроводжувалося значною експресією MMP-9 (рис. 4.46 А). Інтенсивна цитоплазматична експресія реєструвалася в умовах значних мікроциркуляторних порушень, в зонах збільшеної проникності судин, в клітинах які формували периваскулярні інфільтрати (рис. 4.46 Б). Площа експресії через 1 добу становила 10,58(9,52;11,02), що в 16,27 разів перевищувала показники контрольних спостережень.

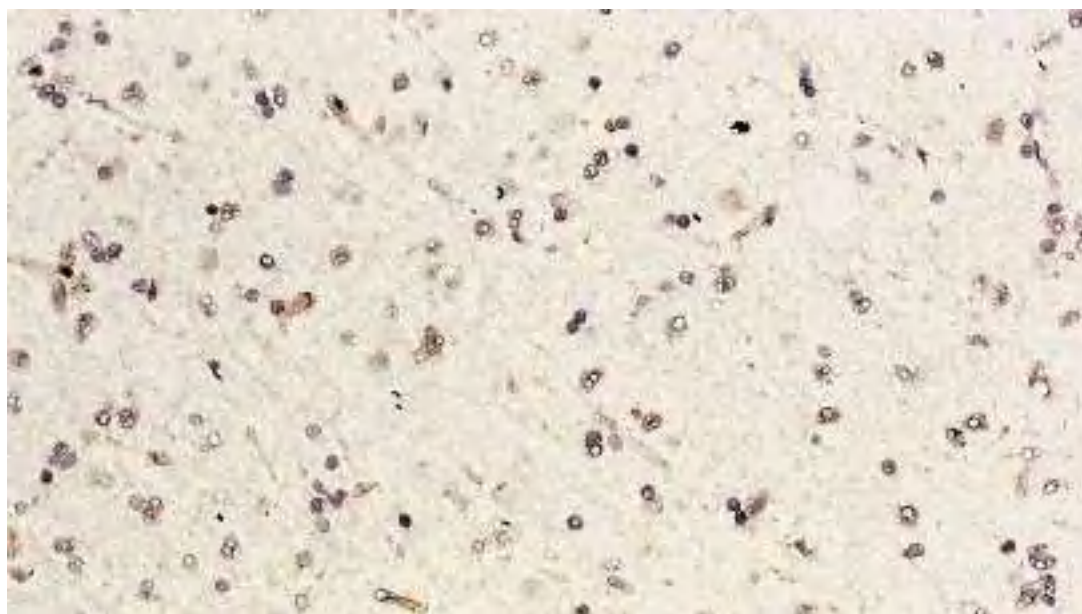


Рисунок 4.45 – Експресія ММП-9 в контлатеральній півкулі при інфаркті мозку. Термін спостереження 1 доба. Rb a-Hu MMP-9. Зб. $\times 200$.

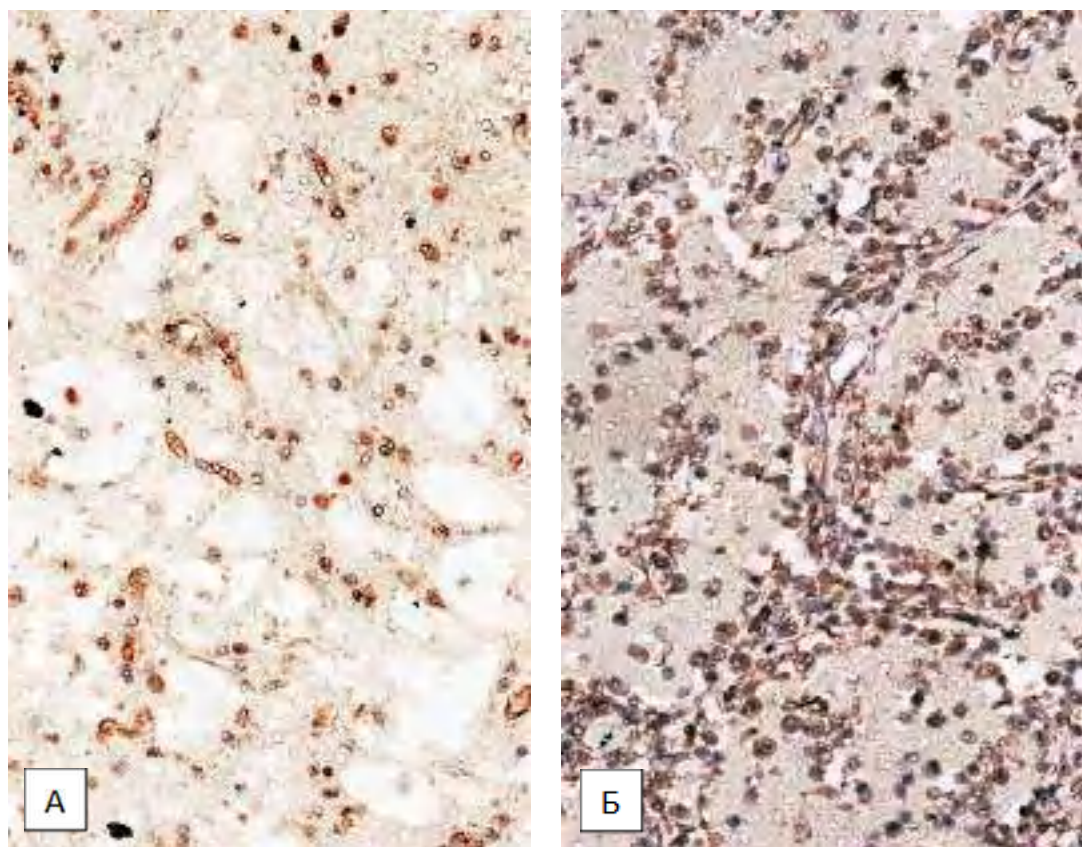


Рисунок 4.46 – А. Експресія ММП-9 на кордоні з некротичним вогнищем. Б. Експресія ММП-9 в перифокальній зоні інфаркта в умовах вираженої проникності судин. Термін спостереження 1 доба. Rb a-Hu MMP-9. Зб. $\times 200$.

На 3 добу хвороби більш інтенсивна експресія реєструвалася на кордоні інфарктного ядра з навколишньою тканиною (див.рис. 4.47). По мірі віддалення від вогнища некрозу інтенсивність експресії знижувалася до помірної. Площа іммунопозитивного матеріалу становила 11,06 (10,3; 12,21) % в УСПЗ, що в середньому на 4,33 % було вище в порівнянні з 1 добою.

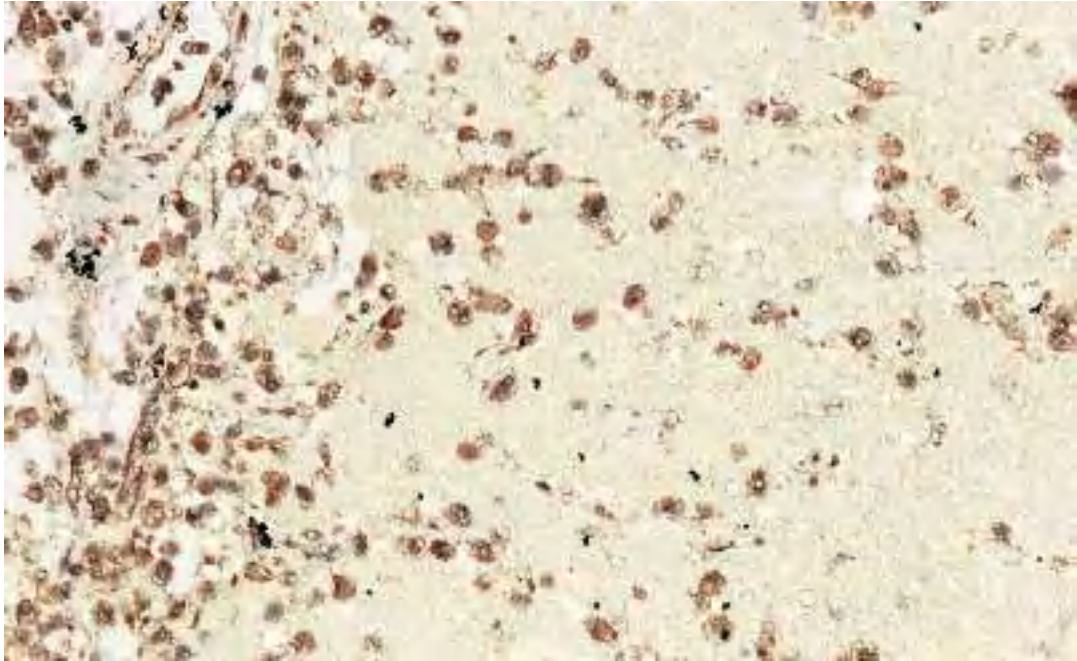


Рисунок 4.47 Експресія ММП-9 на кордоні з некротичним вогнищем. Термін спостереження 3 доба. Rb a-Hu MMP-9. Зб. $\times 200$.

На 7 добу інтенсивність експресії залишалася високою (рис. 4.48), площа експресії незначно знижувалася в порівнянні з попередніми термінами і становила 9,71 (8,73; 10,77) %. Безпосередньо на кордоні з інфарктом також як і в попередній термін, щільність позитивного імунного матеріалу була вищою в порівнянні зі щільністю його на віддаленні від вогнища некрозу. При цьому відзначалася підвищена щільність експресії в ділянках значної лейкоцитарної інфільтрації і по ходу судин (рис. 4.49), що вказує на певну роль ММП-9 в процесах ангіогенезу і ремоделювання судинної мережі.

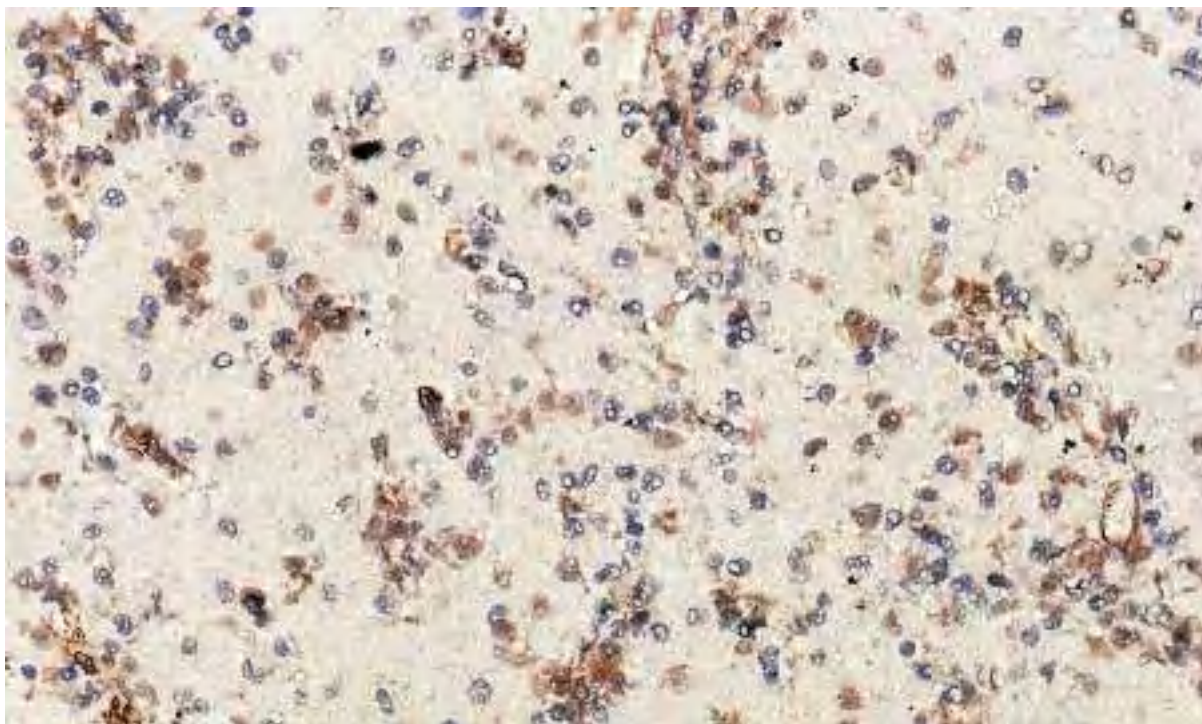


Рисунок 4.48 – Експресія ММП-9 в перифокальній зоні мозкового інсульту. Термін спостереження 7 доба. Rb а-Нu MMP-9. 3б. ×200.

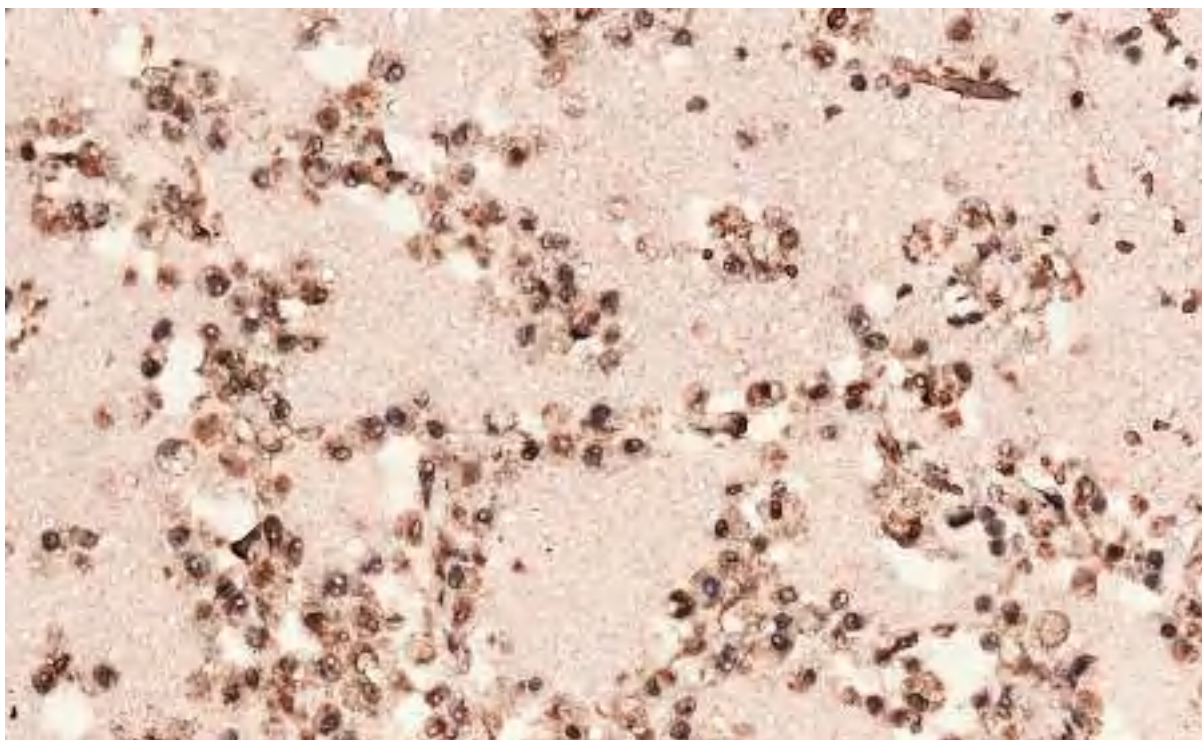


Рисунок 4.49 – Експресія ММП-9 в ділянках ангіогенезу. Термін спостереження 7 доба. Rb а-Нu MMP-9. 3б. ×200.

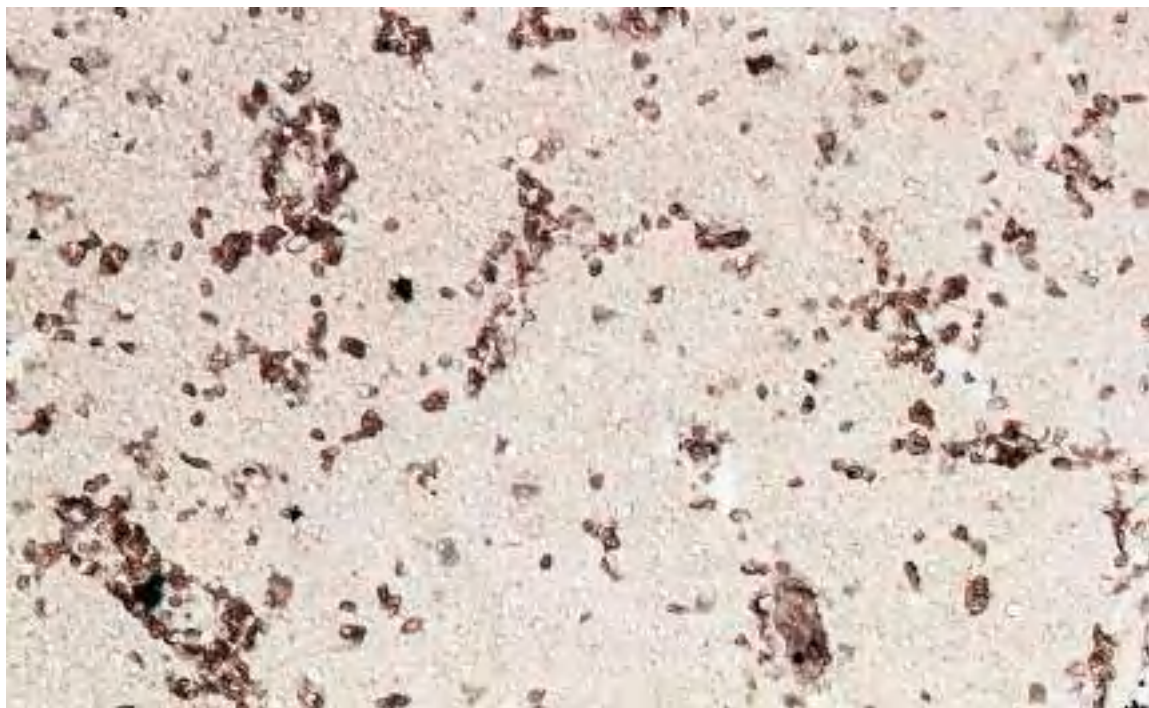


Рисунок 4.50 – Експресія ММП-9 на кордоні з некротичним вогнищем.
Термін спостереження 14 доба. Rb a-Hu MMP-9. Зб. $\times 200$.

З 14 доби на тлі помірної і вираженої інтенсивності експресії поступово знижується площа експресії, яка становила 5,58 (5; 6,93) %. Кількість нейтрофілів, макрофагів, лімфоцитів, які є продуцентами ММР в цей термін суттєво знижувалася (див.рис. 4.50), але фібробласти, клітини судинної стінки в ці терміни залишалися джерелом ММР, що найбільш яскраво проявлялося в участках перекалібрування судин (рис. 4.51).

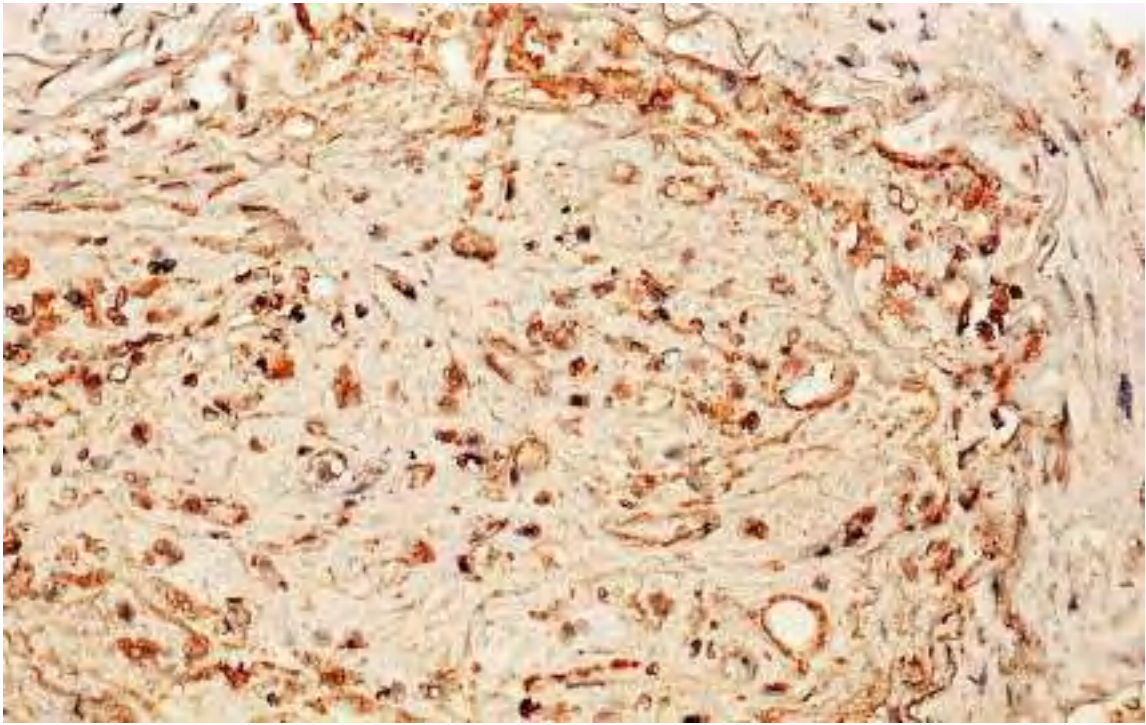


Рисунок 4.51 – Експресія ММП-9 в ділянці перекалібрування крупної артерії.
Термін спостереження 14 доба. Rb a-Hu MMP-9. Зб. $\times 200$.

На 21 добу інтенсивність експресії залишалася на рівні попередніх термінів, але площа імунопозитивного матеріалу продовжувала знижуватися і становила 4,36 (3,55;5,95) %. Також більш щільне розташування імунопозитивних клітин реєструвалося біля судин (рис. 4.52 А). В протилежній півкулі експресія була незначно посиленою (рис 4.52 Б). На 30 добу площа експресії становила 3,67 (3,02; 5,66) %, безпосередньо в краях кісти – 2,75 (2,61;3,82) %. В залежності від об'єму інфаркту і терміну існування кісти інтенсивність експресії могла коливатися в досить значних межах, але в досліджених нами випадках вона частіше зрівнювалася з фоновим забарвленням (рис. 4.53).

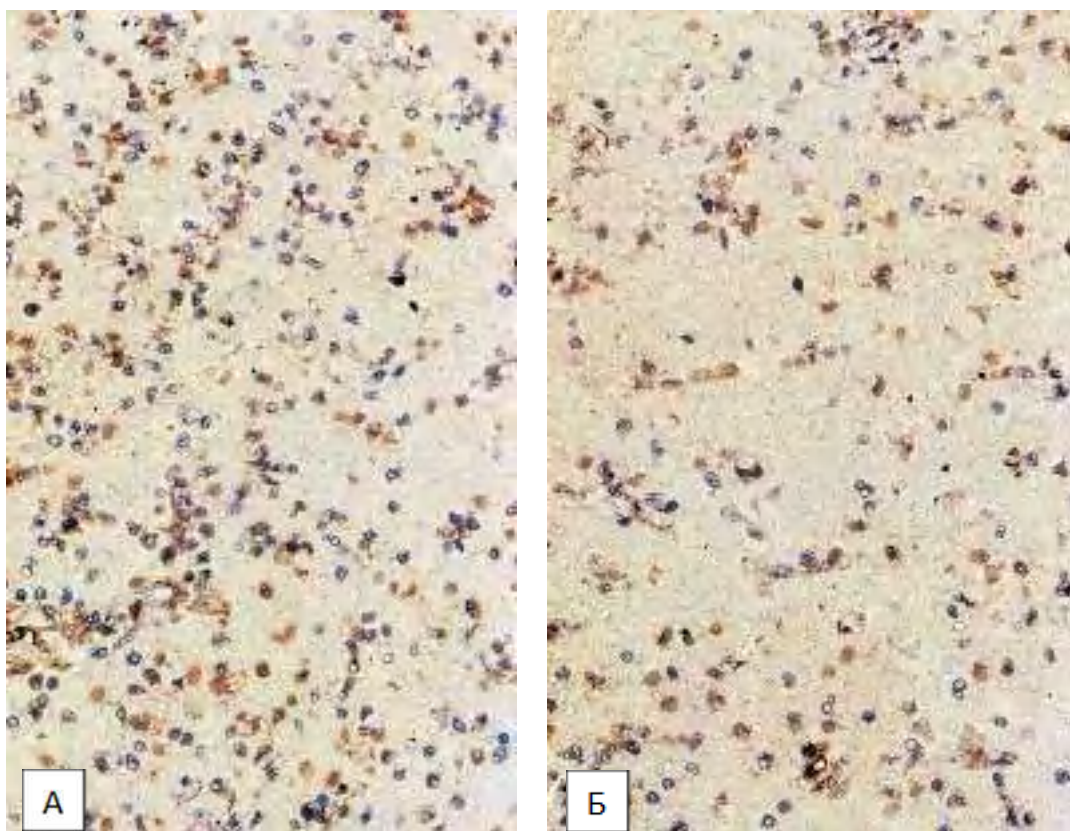


Рисунок 4.52 – А - експресія ММП-9 в перифокальних відділах мозкового інфаркту, Б - експресія ММП-9 в контлатеральній півкулі. Термін спостереження 21 доба. Rb a-Hu MMP-9. Зб. $\times 200$.

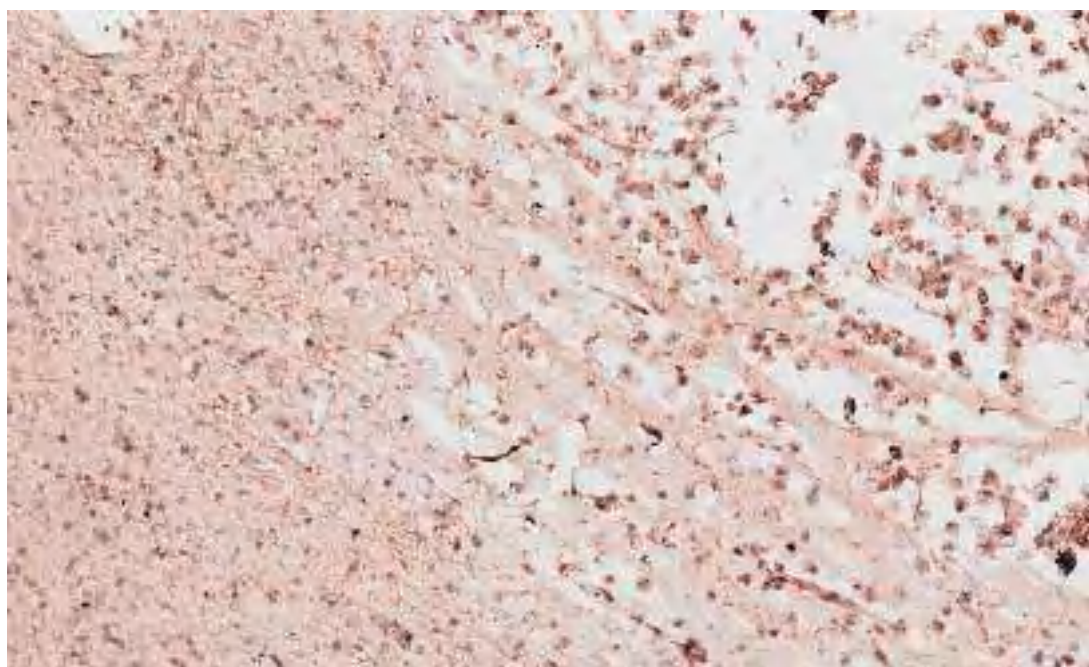


Рисунок 4.53 – Експресія ММП-9 на кордоні з післяінфарктною кісткою. Термін спостереження 5 тижнів. Rb a-Hu MMP-9. Зб. $\times 200$.

Розподіл площі імунопозитивного матеріалу ММП-9 в залежності від терміну хвороби представлено на рис. 4.54.

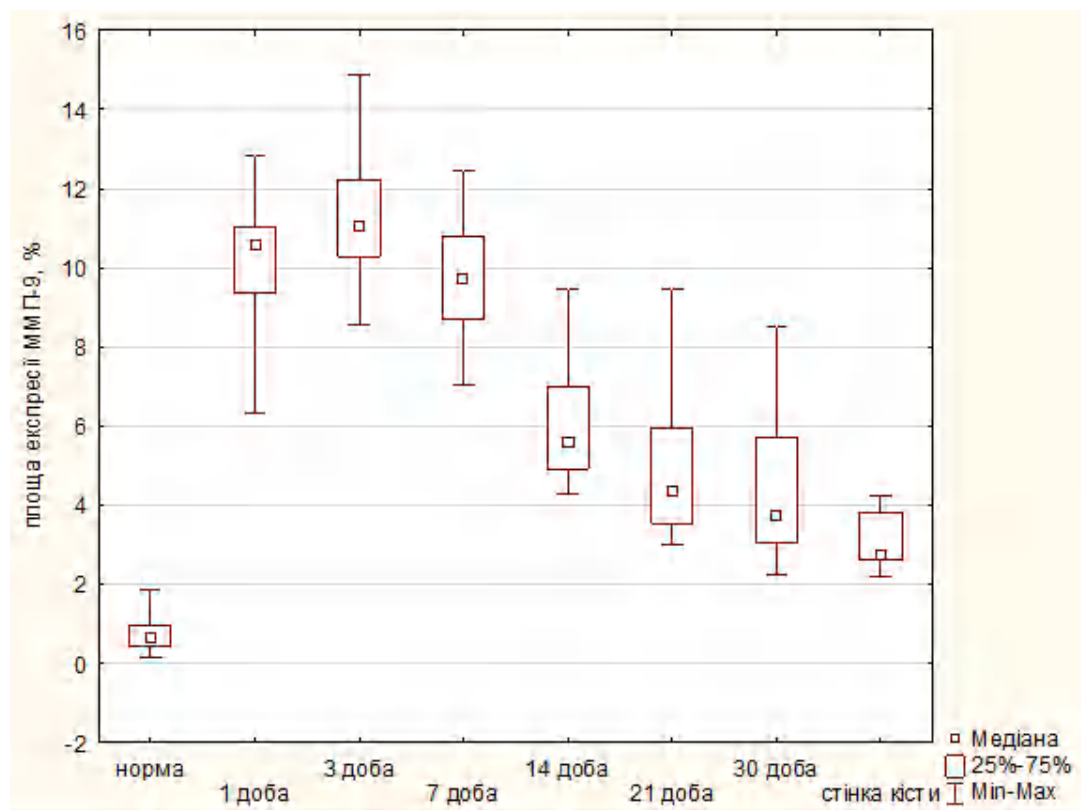


Рисунок 4.54 – Площа експресії ММП-9 в перифокальних ділянках мозкового інфаркту в різні терміни хвороби.

Статистична оцінка порівняння рівня експресії ММП-9 у двох виборках представлена в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5 - Порівняння рівня експресії ММП-9 у виборках

| | норма | 1 доба | 3 доба | 7 доба | 14 доба | 21 доба | 30 доба | Стінка кісти |
|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|----------|---------|--------------|
| норма | | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,001 | 0,666 |
| 1 доба | <0,001 | | 0,999 | 0,999 | 0,006 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| 3 доба | <0,001 | 0,999 | | 0,999 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| 7 доба | <0,001 | 0,999 | 0,999 | | 0,033 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| 14 доба | <0,001 | 0,006 | <0,001 | 0,033 | | 0,999 | 0,999 | 0,005 |
| 21 доба | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,999 | | 0,999 | 0,364 |
| 30 доба | 0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,999 | 1,000000 | | 0,999 |
| Стінка кісти | 0,666 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | 0,004 | 0,364 | 0,999 | |

Примітка: р-значення <0,05 відповідають статистично значущій різниці.

Як видно з представленої діаграми максимальна вираженість експресії визначається з першої доби хвороби і залишається високою до 7 доби. В ці терміни поширені мікроциркуляторні розлади гострого періоду призводять до підвищеної проникності судин і виходом в периваскулярний простір моноцитів, лейкоцитів, макрофагів, фібробластів, які є основним джерелом ММП-9. В подальшому рівень ММП-9 знижується, що частково пов'язано з більш сприятливим перебігом гострого періоду інфаркту (без значних мікроциркуляторних розладів) і меншим обсягом інфаркту.

Резюме. Проведені дослідження довели, що за рахунок масивного руйнування дрібних артеріол і капілярів в перифокальних зонах мозкового інфаркту в першу добу значно знижується площа експресії CD34 і показники індексу кровопостачання. Крім того випадки з тривалістю життя 1 доба, характеризувалися значними обсягами ішемічного ушкодження, що супроводжувалося значними набряковими змінами і руйнуванням судин мікроциркуляторного русла що не сприяло посиленню кровообігу в

перифокальних ділянках інфаркту мозку. У померлих на 3 добу хвороби реєструється значне підвищення індексу кровопостачання, цьому сприяло посилення колатерального кровообігу. Інтенсивна експресія CD34 відзначалася в зонах з посиленою проникністю судин. На 7 добу і в подальші терміни активуються процеси ангиогенезу і васкулогенезу, що проявлялося формуванням ендотеліальних проліфератів і брукнуванням мікросудин. Дані зміни підтверджувалися зростанням позитивної експресії маркера CD105, який ідентифікує активовані ендотеліальні клітини. По мірі віддалення від ішемічного вогнища кількість ендотеліальних проліфератів знижувалася.

На 7 і 14 добу збільшувалася кількість CD34+ клітин які вільно розташовувалися в паренхімі мозку і ймовірно відігравали важливу роль в процесах ангиогенезу, так як даний маркер є маркером клітин -попередників ендотеліальних клітин. Посилення експресії CD34 відбувалося також в новостворених судинах які містилися в крупних артеріях з редукованим кровообігом.

З 21 доби щільність судин в перифокальній зоні мозкового інфаркту знижувалася за рахунок склерозування частини мікросудин внаслідок недостатнього кровопостачання. Показники індексу кровопостачання знижувалися з 14 доби.

З першої доби захворювання підвищувалася експресія фактора росту ендотелію судин (VEGF), що свідчило про синтез цього сигнального білку клітинами мозку для стимулювання ангио- і васкулогенезу. В цілому динаміка експресії VEGF в різні терміни хвороби відповідала динаміці експресії CD34 – зростання площі експресії до 7 доби хвороби з подальшим поступовим зниженням експресії.

Також з першої доби захворювання реєструвалася виражена експресія ММП-9 – важливого фактора ремоделювання тканин в різних патологічних умовах. Інтенсивна цитоплазматична експресія реєструвалася в умовах виражених мікроциркуляторних порушень, які супроводжувалися значною проникністю судин. Площа експресії ММП-9 у померлих через 1 добу в 16,27

разів перевищувала показники контрольних спостережень. Максимальні показники площі експресії ММП-9 відзначалися на 3 добу з подальшим поступовим зниженням.

Таким чином дані ІГХ дослідження доводять що в перифокальних ділянках мозкових інфарктів в процесі організації з перших днів розгортаються процеси реорганізації судинного русла які направлені на відновлення кровопостачання ішемізованих тканин. У віддалені терміни хвороби зниження експресії маркерів неоангіогенезу, та ММП-9 що приймає участь в ремоделінгу структур позаклітинного матриксу відповідає потребі в кровозабезпеченні ділянок організації мозкового інфаркту.

РОЗДІЛ 5

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СУДИНАХ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІНФАРКТУ МОЗКУ

Складність структурно-функціональної організації головного мозку передбачає необхідність, поряд з використанням імуногістохімічного методу, використання методів ультраструктурного аналізу (електронну мікроскопію). Це дозволить врахувати взаємовідношення судин мікроциркуляції з оточуючими структурами, що може дати більш повну картину процесів репарації і оцінити її ефективність при використанні в подальшому методів нейропротекції в лікуванні ішемічних інсультів.

Ультраструктурне дослідження в експерименті стану мікроциркуляторного русла підтвердило основні тенденції процесів судинного ремоделювання в різні терміни хвороби, які були описані при вивченні світлооптичних препаратів. Однак була отримана більш повна характеристика стану як ендотелію, перицитів, так і навколосудинного нейропіля.

У контрольних спостереженнях в ендотеліальних клітинах відзначалися чіткі контури ядра, в якому проглядалися дві мембрани. У нуклеоплазмі найчастіше містилися ущільнені зони гетерохроматину, які були розташовані біля краю ядерної мембрани і дрібні скупчення дифузно розташованих інтерхроматинових гранул (рис. 5.1А). Цитоплазма клітин містила, як правило, незначну кількість цитоплазматичних мембранних структур. Мітохондрії ендотеліальних клітин характеризувалися щільним гомогенним матриксом. Міжклітинні контакти в нормі були досить протяжними і формувалися накладенням периферичних ділянок клітин друг на друга. Базальна мембрана судин мала чіткі контури, була однорідною на всьому протяжі капілярів. З боку паренхиматозної частини до базальної мембрани були тісно прилеглі елементи

нейропіля (рис. 5.1 А, Б). У просвіті капілярів в контрольних спостереженнях практично завжди містилися незмінені еритроцити, що було важливою ознакою ефективності кровотоку саме в судинах мікроциркуляції.

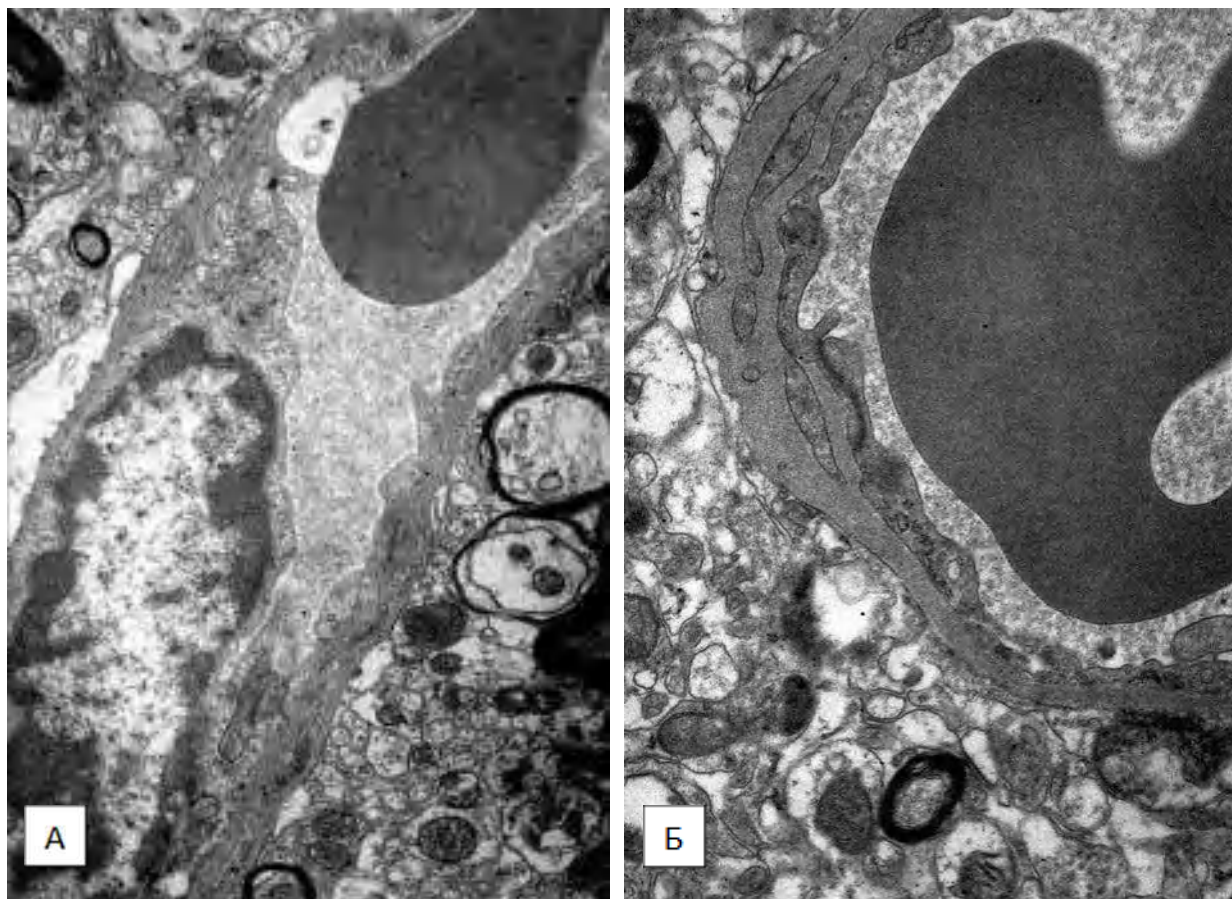


Рисунок. 5.1 – Капіляри мозку в контрольних спостереженнях. А. Ядро ендотеліальної клітини, в верхньому полюсі скопичення цитоплазматичних органел. Б. Базальна мембрана капіляра з вузькою полоскою цитоплазми ендотелія. В просвіті капілярів еритроцити. А - Зб. $\times 6000$, Б - Зб. $\times 9000$.

Перицити капілярів були вбудовані в базальну мембрану, яка оточувала ендотеліальні клітини. Перицити мали більш велике і округле ядро в порівнянні з ендотеліальними клітинами, ядро яких, як правило, мало подовжений вигляд (рис. 5.2) і вузьку смужку цитоплазми, яка містила мітохондрії, гранулярну ендоплазматичну сітку, рибосоми, апарат Гольджі.

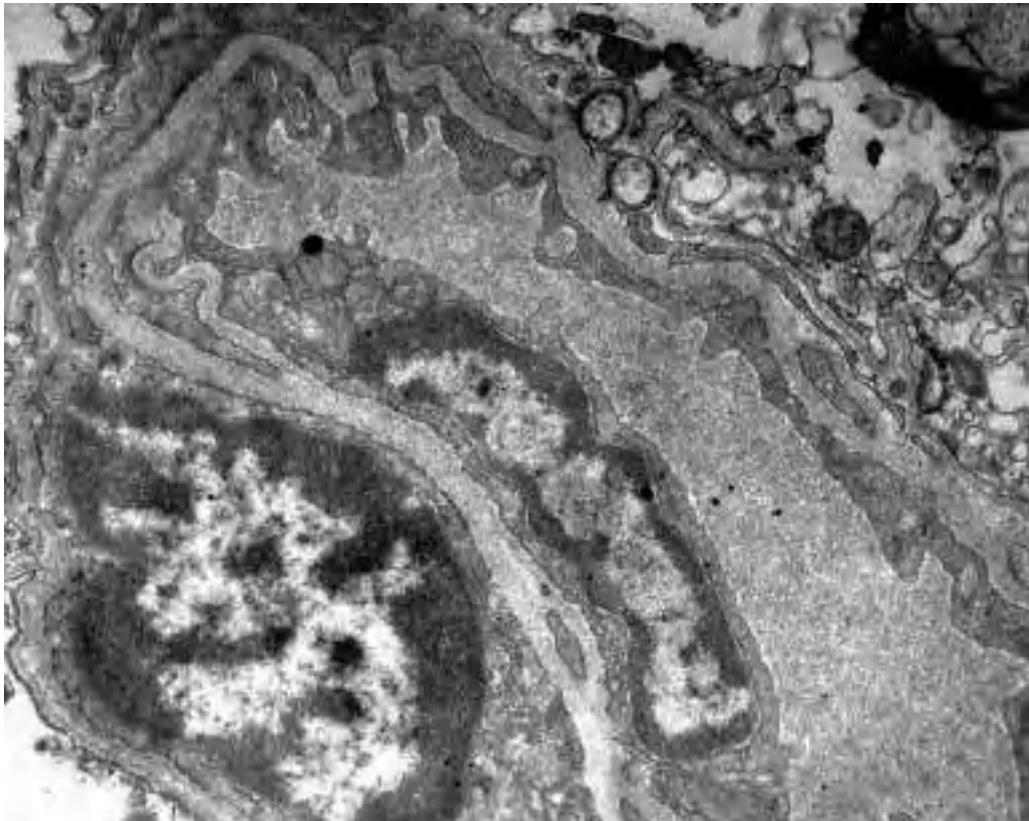


Рисунок 5.2 – Ультраструктура капіляра в контрольному спостереженні. Ядро ендотелія і ядро перицита (зліва внизу). Зб. $\times 6000$.

Нейропіль що розташовувався безпосередньо навколо капілярів був досить щільним, без набрякових змін, рівномірної електронної щільності. Структурні елементи нейропіля мали чіткі контури. В окремих спостереженнях зустрічалися розмиті контури мембранних структур, разволокнення дрібних мієлінових волокон. Нейрони, які знаходилися в безпосередній близькості до капілярів, характеризувалися дифузним розташуванням хроматину в ядрі, досить щільним розташуванням цитоплазматичних структур, поширеною мережею гранулярної ендоплазматичної мережі з великою кількістю рибосом, що свідчило про активні біосинтетичні процеси в клітинах (рис 5.3).

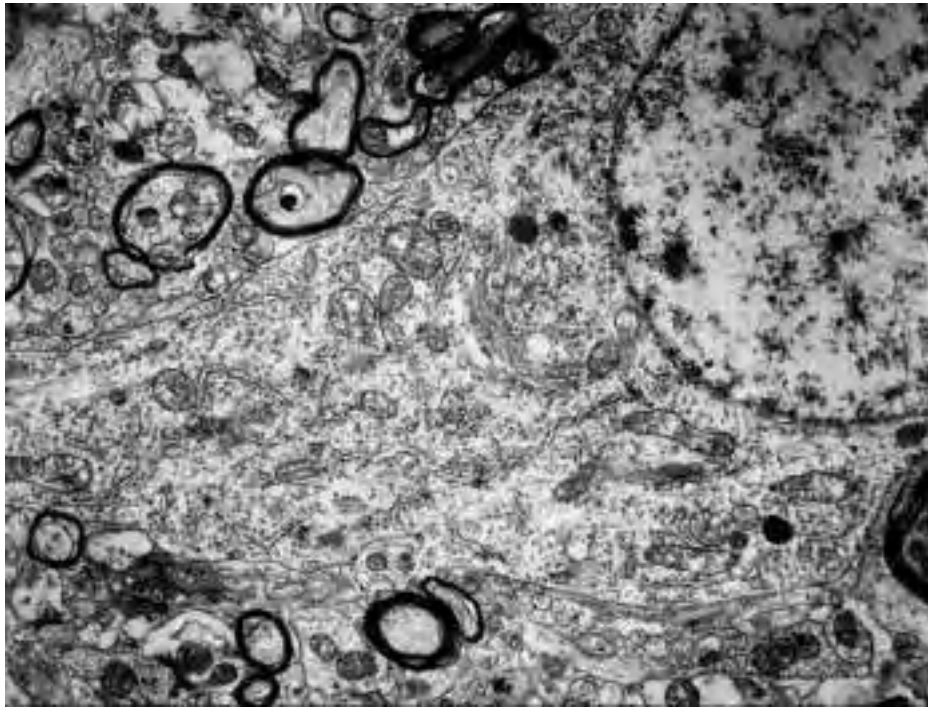


Рисунок 5.3 – Нейрон звичайної ультраструктури в контрольному спостереженні. Зб. $\times 4500$.

Розвиток експериментального інфаркту мозку з першої доби супроводжувався розвитком периваскулярного набряку, який реєструвався до 3 доби спостереження з подальшим його зниженням, однак в одиничних спостереженнях повторний розвиток набрякових змін реєструвався нами на 7 добу експерименту. Треба відзначити, що в умовах чистого експерименту патологічні зміни, що розвиваються в мозку, мали доволі такі чіткі часові межі їх початку і закінчення, тоді як в секційних спостереженнях у померлих хворих, нами зазначалося рецидування набрякових змін і на 7 і на 14 добу спостереження. Зазначені зміни були пов'язані з додатковими несприятливими факторами, які залежали від порушення системної гемодинаміки, розвитку легеневої патології, гемокоагуляційних порушень та інш. Проведені дослідження показали, що найбільш виражені зміни судинного русла спостерігаються в перші три доби після експериментальної ішемії. Реакція капілярів в перифокальній зоні ішемічного ушкодження виявлялася як їх розширенням, так і їх звуженням. Одночасно зі змінами просвіту капілярів в цитоплазмі і ядрі ендотелію і перицитів розвивалися реактивні і деструктивні процеси, які були виражені в різній ступені і, мабуть визначалися як

початковим функціональним станом клітинних елементів судин, так і системної реакцією судинного русла в цілому на ішемічне ушкодження.

В перші 3 доби поряд з судинами, які повністю зберігали свою структуру, безпосередньо на кордоні з ішемічним ураженням, частина мікросудин піддавалася структурним змінам різної тяжкості від незначних дистрофічних, до незворотних змін. В цей час в зоні інфаркту і в меншій мірі на кордоні з інфарктним ядром відзначалися поширені деструктивні зміни капілярів, які зачіпали ендотелій, перицити, а також базальні мембрани. Значне пошкодження останніх свідчило про необоротне пошкодження судин мікроциркуляторного русла. Однак ушкодження базальних мембран капілярів перифокальної зони інфаркту частіше не мало поширеного характеру. Початкові зміни характеризувалися потовщенням переважно з паренхиматозного боку базальної мембрани, та деяким зниженням її електронної щільності (рис. 5.4).

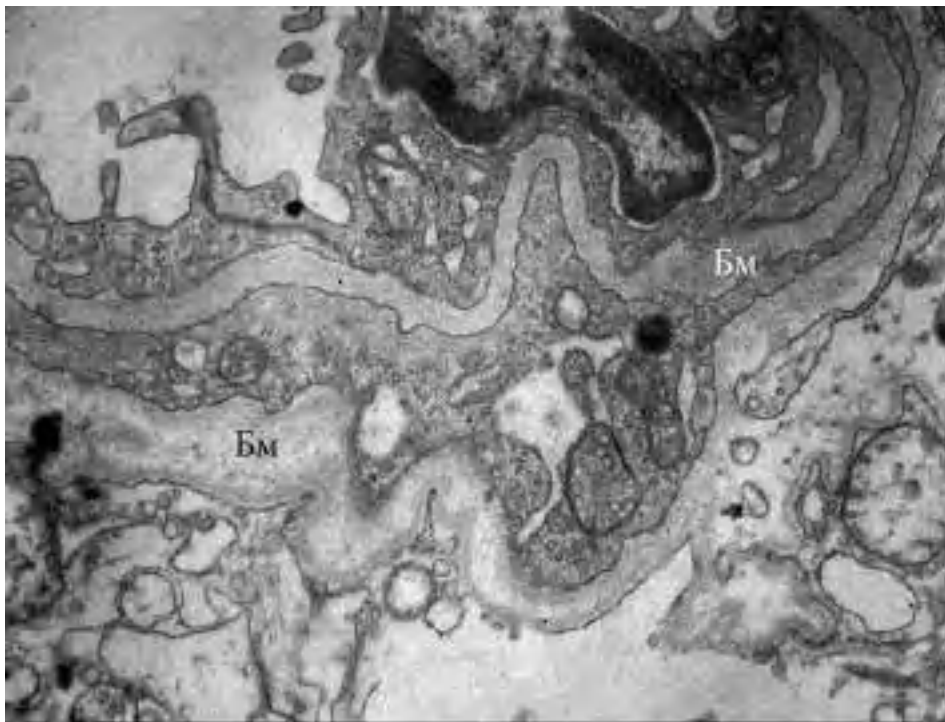


Рисунок 5.4 – Деструктивні зміни в ендотелії, до 3 діб. Руйнування базальної мембрани, лізіс цитоплазматичних мембранних структур ендотеліоцита. Зб. $\times 15000$.

При кількісному аналізі капілярів експериментальної і контрольної групи тварин виявлено, що товщина базальної мембрани значно потовщується

в перші 3 доби експеримента і становить 75,4 (70,2; 79,3) нм що на 34,91% більше в порівнянні зі значеннями 66,4 (64,6; 68,4) нм в контрольних спостереженнях. Оцінка відмінностей за допомогою U-критерію Манна-Уїтні показала, що відмінності рівня ознаки в порівнюваних групах статистично значущі ($p < 0,05$). При цьому у всіх судинах базальна мембрана все ж таки зберігала свої контури. На 7 і 14 добу товщина базальної мембрани судин в перифокальних зонах ішемічного ураження незначно відрізнялася від контрольних спостережень і становила відповідно 67,5 (66,3; 69,1) і 66,5 (65,4; 68,3) нм. Відмінності рівня ознаки в порівнюваних групах контроль -7 діб статистично значущі ($p < 0,05$), в групі контроль - 14 діб статистично не значущі ($p > 0,05$). Кількісні дослідження судин в різні терміни експериментального інфаркту показали наступні результати, представлені в табл. 5.1.

Таблиця 5.1 - Морфометричні параметри ендотеліальних клітин капілярів перифокальної зони ішемічного інфаркту в різні терміни спостереження

| Морфометричні параметри | Група контролю (n = 4) | | Термін спостереження (діб) | | |
|---|------------------------|------------|----------------------------|---------------|----------------|
| | | | 3 доби (n = 4) | 7 діб (n = 4) | 14 діб (n = 4) |
| Товщина базальної мембрани (нм) | Me | 66,4 | 75,4* | 67,5 | 66,5 |
| | Q1; Q3 | 64,6; 68,4 | 70,2; 79,3 | 66,3; 69,1 | 65,4; 68,3 |
| Площа ендотеліальних клітин (мкм ²) | Me | 26,9 | 29,1* | 26,8 | 27,2 |
| | Q1; Q3 | 25,3; 28,0 | 27,7; 29,7 | 25,4; 27,5 | 25,5; 28,3 |

Примітка. * – статистично достовірні відмінності від групи контролю ($p < 0,05$).

Порівняння показників товщини базальної мембрани представлено на рис. 5.5.

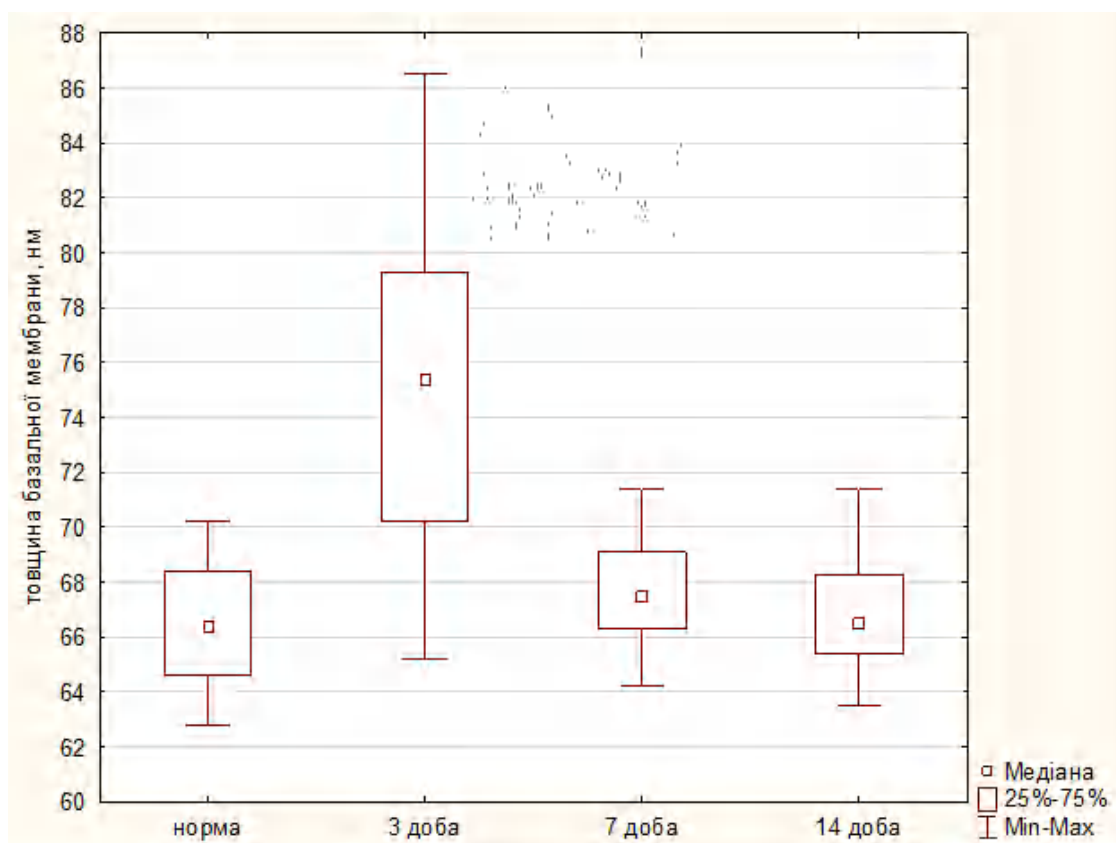


Рисунок 5.5 – Порівняння показників товщини базальної мембрани (в нм) в різні терміни спостереження.

Статистична оцінка порівняння середніх значень товщини базальної мембрани у двох виборках представлено в табл. 5.2.

Таблиця 5.2 - Середні значення товщини базальної мембрани у виборках

| | контроль | 3 доба | 7 доба | 14 доба |
|----------|----------|--------|--------|---------|
| контроль | | <0,001 | 0,437 | 0,999 |
| 3 доба | <0,001 | | <0,001 | <0,001 |
| 7 доба | 0,437 | <0,001 | | 0,999 |
| 14 доба | 0,999 | <0,001 | 0,999 | |

Примітка : р-значення <0,05 відповідають статистично значущій різниці.

Як видно з отриманих показників тільки в терміні 3 доби відмінності рівня ознаки в порівнюваних групах були статистично значущі. Через 7 і 14

діб а також в наступні досліджувані параметри мало відрізнялись від контрольних показників.

У експериментальних тварин з важким перебігом реєструвалися значні ділянки руйнування базальної мембрани по периметру судин. Початкові зміни обмежувалися незначними осередками дрібних ділянок лізису або розривів. У таких спостереженнях, як правило, відзначалися ділянки нерівномірної товщини базальних мембран по периметру судини, реєструвалася нерівномірна електронна щільність або дрібні неправильної форми електроннощільні включення в товщі базальних мембран. Надалі на окремих ділянках повністю стиралися межі ендотеліальної поверхні базальних мембран (рис.5.5).

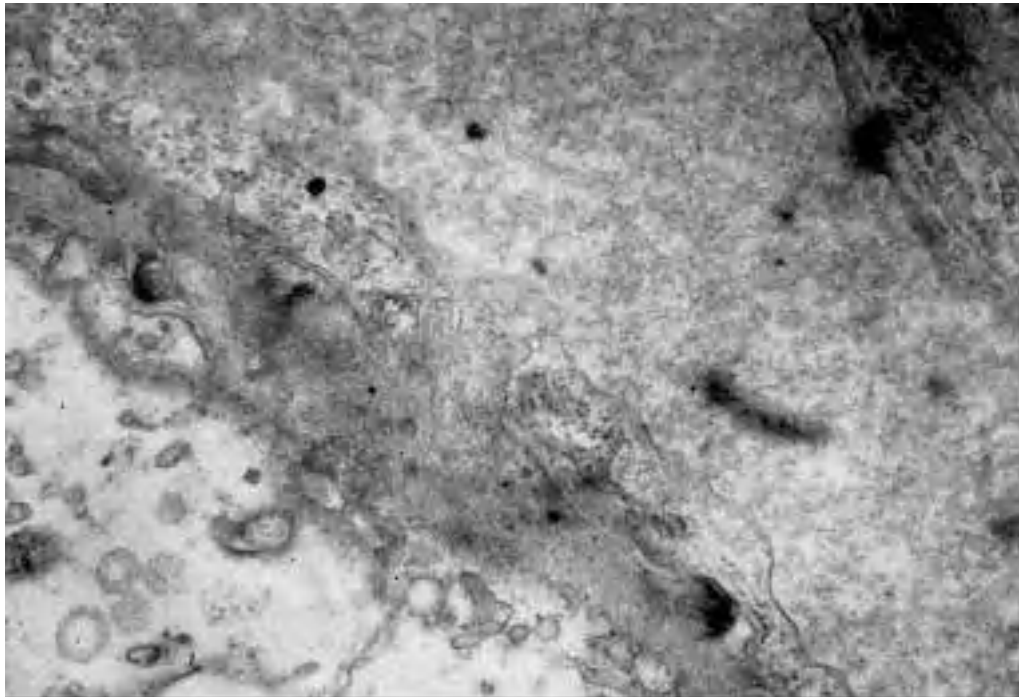


Рисунок 5.5 – Деструктивні зміни в ендотелії, до 3 діб, руйнування базальної мембрани, лізис цитоплазматичних мембранних структур ендотеліоцита.

Зб. $\times 15000$.

Пошкодження базальних мембран у всіх спостереженнях поєднувалося з наростанням периваскулярного набряку. В ендотеліальних клітинах, які контактували безпосередньо з ділянками руйнування базальної мембрани були максимально виражені деструктивні зміни з руйнуванням

цитоплазматичних структур і порушенням щільних контактів між окремими клітинами, які практично не диференціювалися або характеризувалися нерівномірною електронною щільністю.

З паренхиматозного боку ділянки ушкодження базальних мембран поєднувалися з ушкодженнями перицитів різного ступеня тяжкості. У цитоплазмі перицитів виявлялися ділянки вакуолізації у вигляді великих вакуолей, не пов'язаних з цитоплазматичними структурами, а також дрібних вакуолей, які формувалися внаслідок розширення каналців і цистерн ендоплазматичної мережі і комплексу Гольджі (рис.5.6).

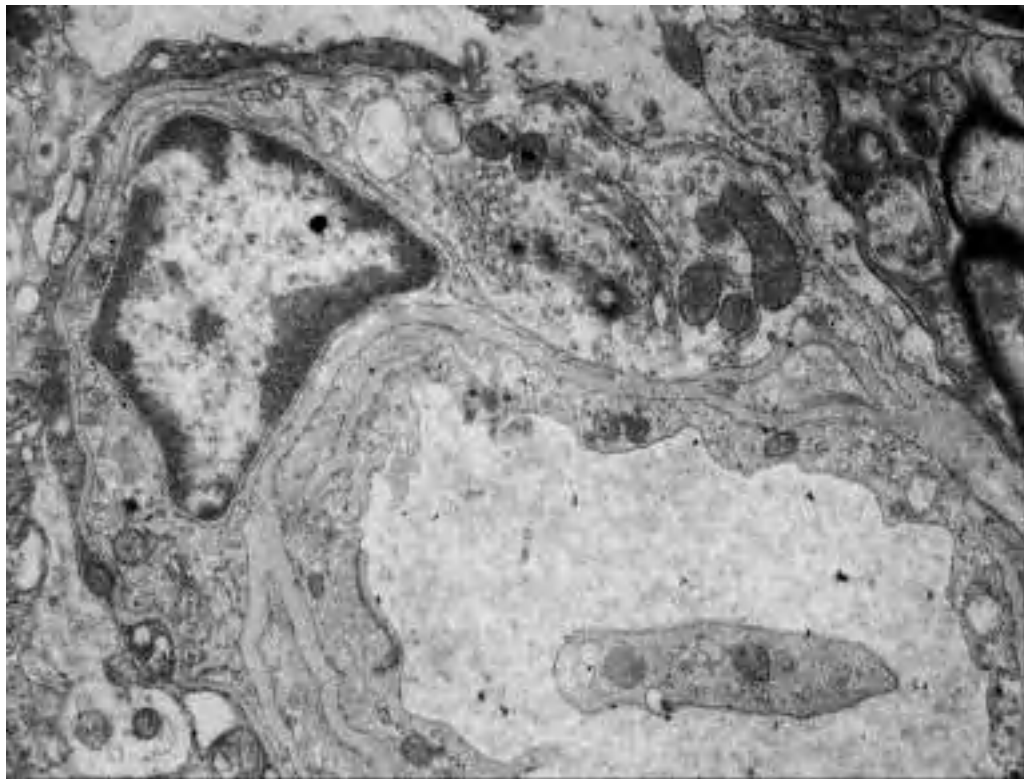


Рисунок 5.6 – Осередкове руйнування базальної мембрани з паренхиматозного боку. Деструктивні зміни в перициті, 3 доби. В просвіті судини тромбоцит. Зб. $\times 15000$.

У цитоплазмі перицитів також зазначалася поява дрібних електронно-щільних утворень і ущільнення мітохондріального матриксу. Останнє свідчило про гостре зниження енергетичних можливостей клітини. Поряд з цим можна відзначити, що в ядрах перицитів патологічні зміни були виражені значно менше ніж в ядрах ендотелію. При цьому через 3 доби в

периинфарктній зоні відзначено значне розширення цитоплазматичного сектора перицитів, що веде до збільшення площі покриття перицитами мікросудин. Незворотні зміни з боку перицитів супроводжувалися розвитком коагуляційного некрозу, значним зменшенням обсягу ядра, нечіткими контурами каріолемми, руйнуванням базальної мембрани (рис.5.7).

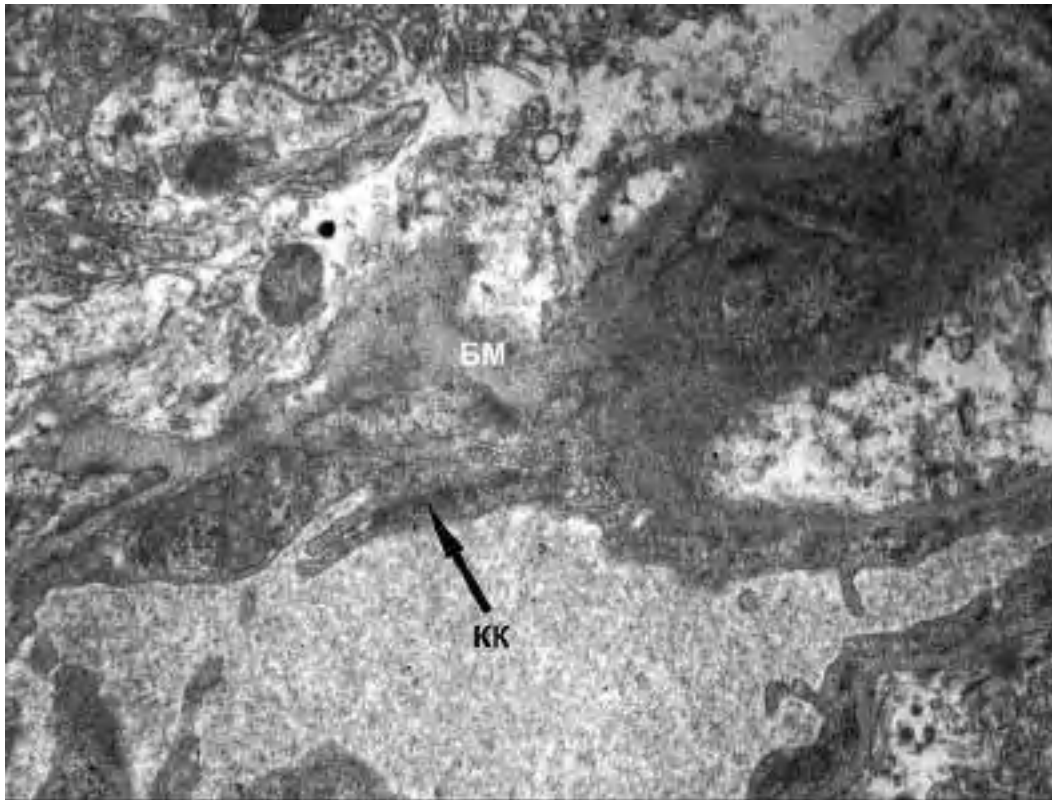


Рисунок 5.7 – Некротичні зміни перицита і руйнування базальної мембрани на обмежених ділянках. Умовні позначки: БМ – базальна мембрана, КК – клітинний контакт. Зб. $\times 9000$.

У випадках значного фокального руйнування базальної мембрани, що спостерігалось в поодиноких спостереженнях, відзначалася геморагічна інфільтрація і виражений набряк периваскулярного сектора. Однак треба зазначити, що прогресування периваскулярного набряку, наростання процесів вакуолізації і руйнування ультраструктур ендотеліоцитів частіше не корелювало з вираженістю пошкодження базальної мембрани мікросудин, які розташовувалися в перифокальних ділянках ішемічного ушкодження. Навіть

при значних деструктивних змінах ендотеліальних клітин, зміни базальних мембран можна було спостерігати тільки на обмежених ділянках у вигляді розмитості її контурів.

У периваскулярному просторі в перші 3 доби відмічалися набряклі зміни. Відростки клітин і мієлінові волокна були відокремлені один від одного значними зонами набряку, зустрічалися зруйновані структури нейропіля у вигляді безструктурного пластівчастоподібного матеріалу різної електронної щільності. На тлі виражених набрякових змін навколишньої паренхіми відзначалася значна деформація просвіту судин (рис.5.8).

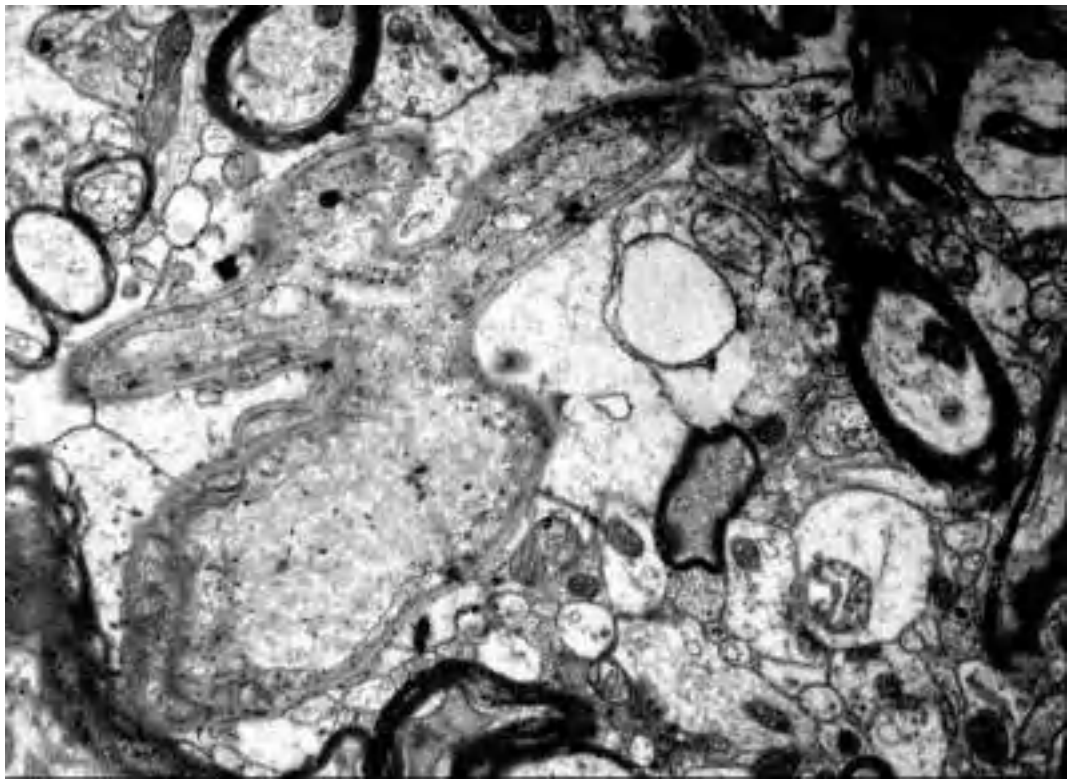


Рисунок 5.8 – Деформація просвіту артериоли на фоні прогресування набряку навколишнього нейропіля. Зб. $\times 6000$.

В ендотелії таких судин реєструвався пикноз ядер, які набували неправильну форму, зазначалося руйнування і вакуолізація внутрішньоцитоплазматичних структур (рис.5.9). Надалі відзначався лізіс ядра, яке представляло безструктурну масу підвищеної електронної щільності, просвіт судину набував щілиноподібну форму (рис.5.10).

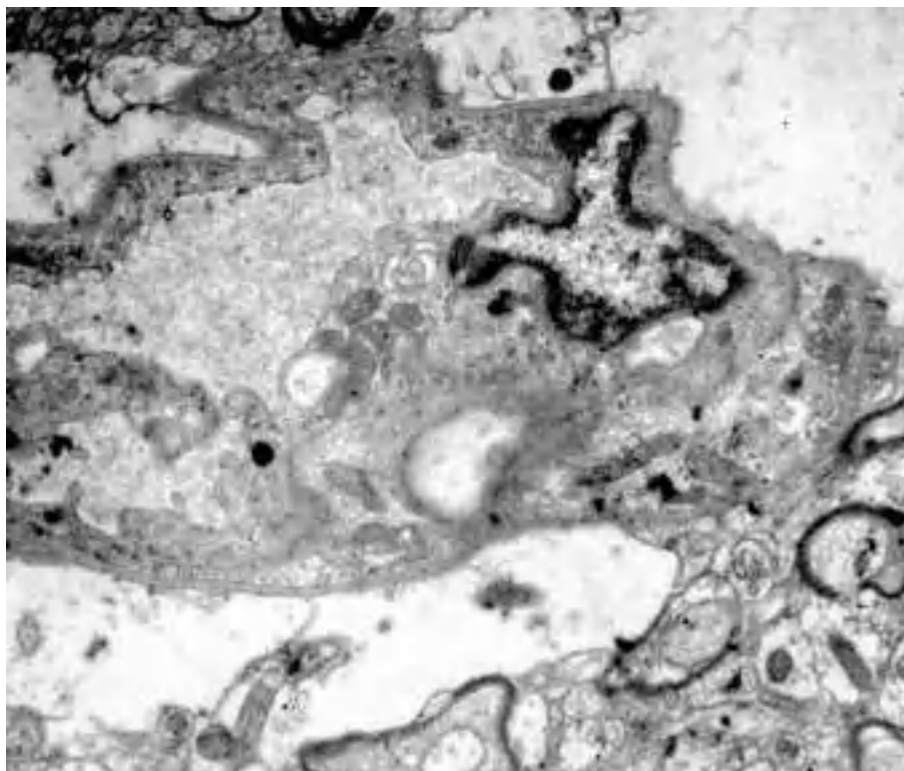


Рисунок 5.9 - Пікноз ядра ендотелія, руйнування внутрішньо-цитоплазматичних структур, периваскулярний набряк. Термін спостереження 3 доби. Зб. $\times 6000$.

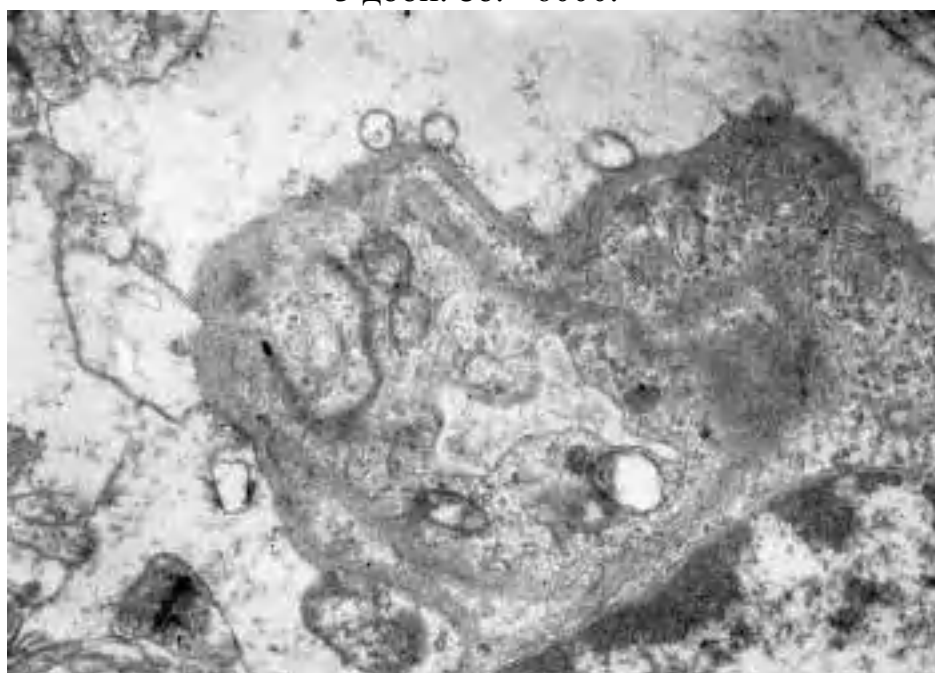


Рисунок 5.10 – Лізис ядра, руйнування базальної мембрани і внутрішньоклітинних структур ендотелія, периваскулярний набряк. Ділянка ядра перицита (справа знизу) звичайної гістоструктури. Зб. $\times 6000$.

Ядра перицитів при цьому могли тривалий період залишатися у малозміненому стані. Такі зміни на світлооптичних препаратах розцінювалися як спадіння судин. У судинах, які перебували в такому стані відзначалася значна вакуолізація цитоплазматичних структур (рис. 5.11). Дрібні вакуолі на окремих ділянках досить щільно прилягали один до одного. Такі ж ділянки вакуолізації зустрічалися в товщі базальної мембрани (рис. 5.11, 5.12). Люмінальна поверхня ендотелію згладжувалася, на окремих ділянках вона була переривчаста або роздута. У таких спостереженнях просвіт судини був заповнений пластівчастим матеріалом зруйнованих структур - мембранних і цитоплазматичних, які мали різну електронну щільність (рис. 5.11).

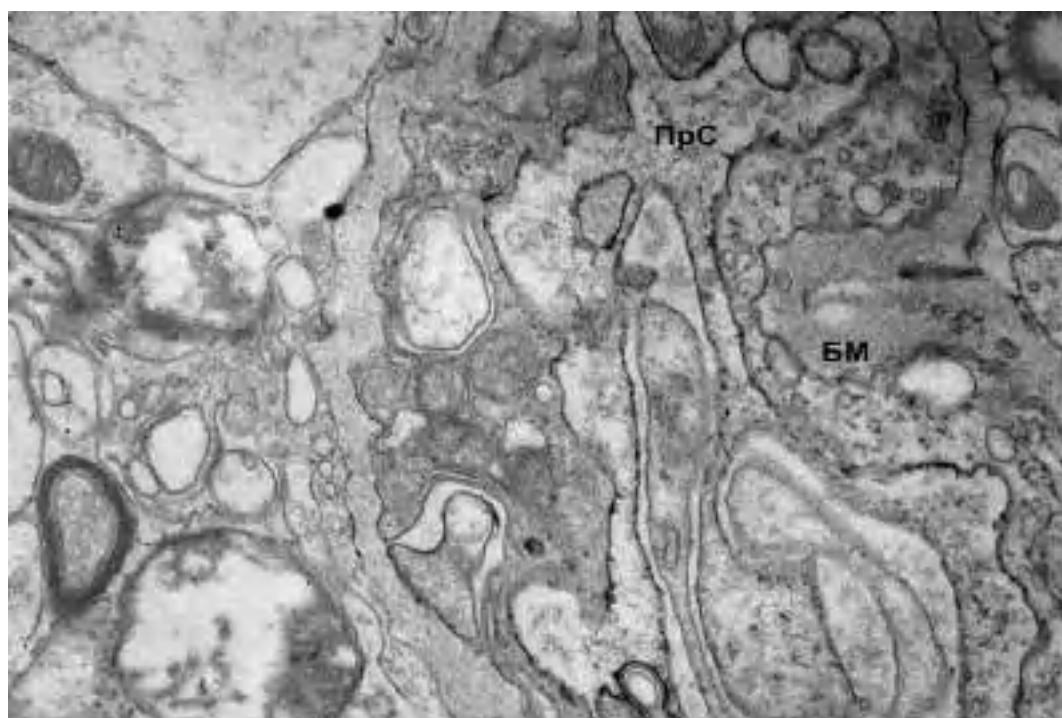


Рисунок 5.11 – Спадіння судини. Умовні позначки: ПрС – просвіт судини, БМ – базальна мембрана. Зб. $\times 15000$.

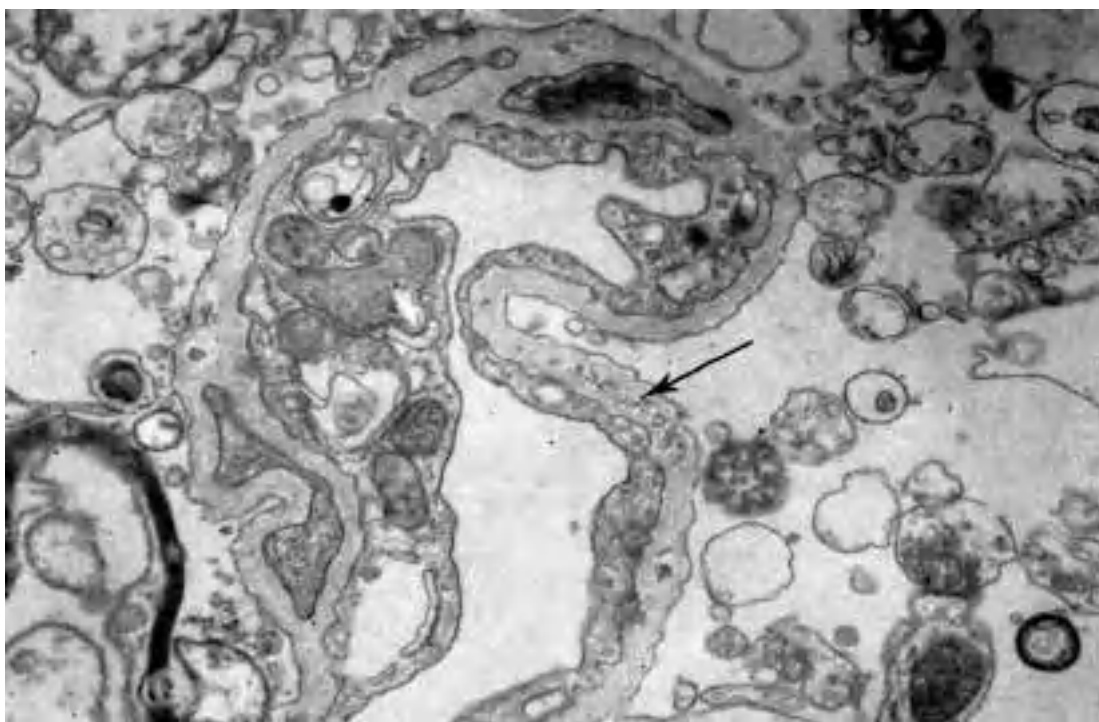


Рисунок 5.12 – Вакуолізація цитоплазми ендотеліоцита і мікроезичулярні зміни базальної мембрани (показано стрілкою). Термін спостереження 3 доби. Зб. $\times 9000$.

Ультраструктурно в таких судинах базальна мембрана мала нерівномірну товщину і електронну щільність, люмінальна поверхня ендотелію на окремих ділянках була повністю зруйнована (рис. 5.13). Судини в стані спадіння, як правило, були оточені розширеними відростками астроцитів і зонами істинного периваскулярного набряку. Такі судини довго могли розташовуватися в паренхімі мозку серед незмінених структур нейропіля не піддаючись дезінтеграції з боку макрофагів і реєструвалися нами через 7, 14 і 21 добу. Надалі вони піддавалися облітерації і склерозуванню.

Розвиток вакуолізації і поява в цитоплазмі ендотелію безлічі везикулярних структур було тісно пов'язане з формуванням впинань плазматичної мембрани, так званих кавеол, які представляли собою інвагінації в плазматичній мембрані, діаметром 50-80 нм (рис. 5.14).

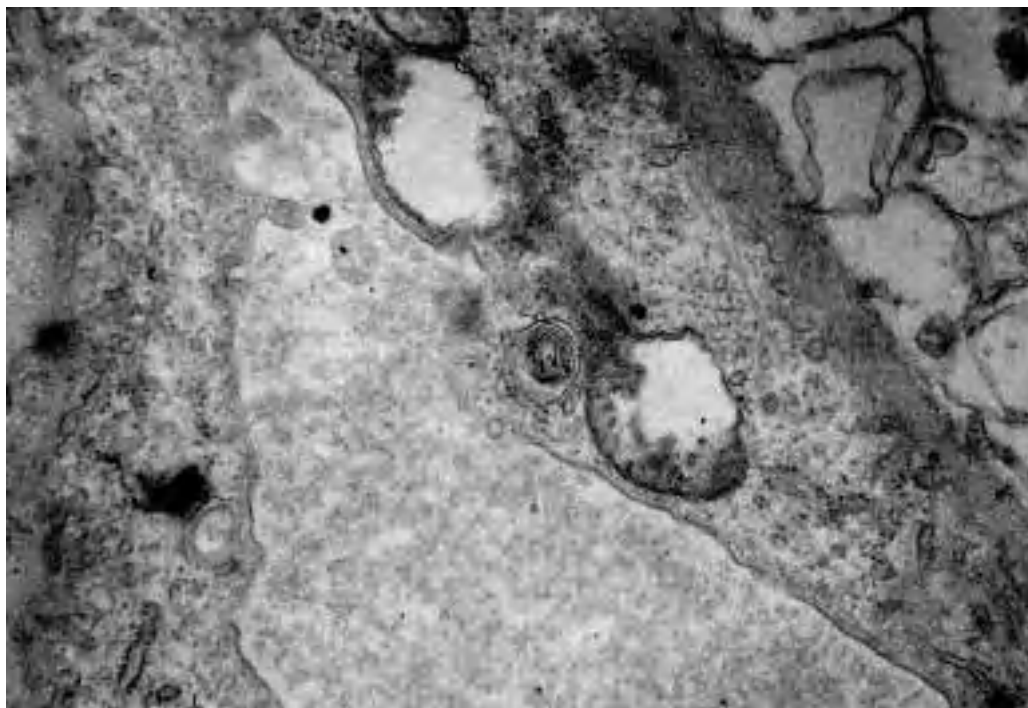


Рисунок 5.13 – Вакуолізація цитоплазми ендотеліоцита, руйнування базальної мембрани, вогнищеве руйнування люмінальної поверхні ендотеліоцита. Зб. $\times 15000$.



Рисунок 5.14 – Утворення інвагінацій на поверхні клітини з формуванням везикулярних структур. Зб. $\times 19000$.

Такі інвагінації розташовувалися на вільній частині цитоплазми, визначалася різна ступінь їх контакту з базальною мембраною. Такі зміни можна було спостерігати в різні терміни експериментального інфаркту, проте найбільш часто вони зустрічалися через 3 і 7 діб. Нерідко зустрічалися впинання базальної мембрани з наявністю в них мембранних вакуолярних структур (рис. 5.15).

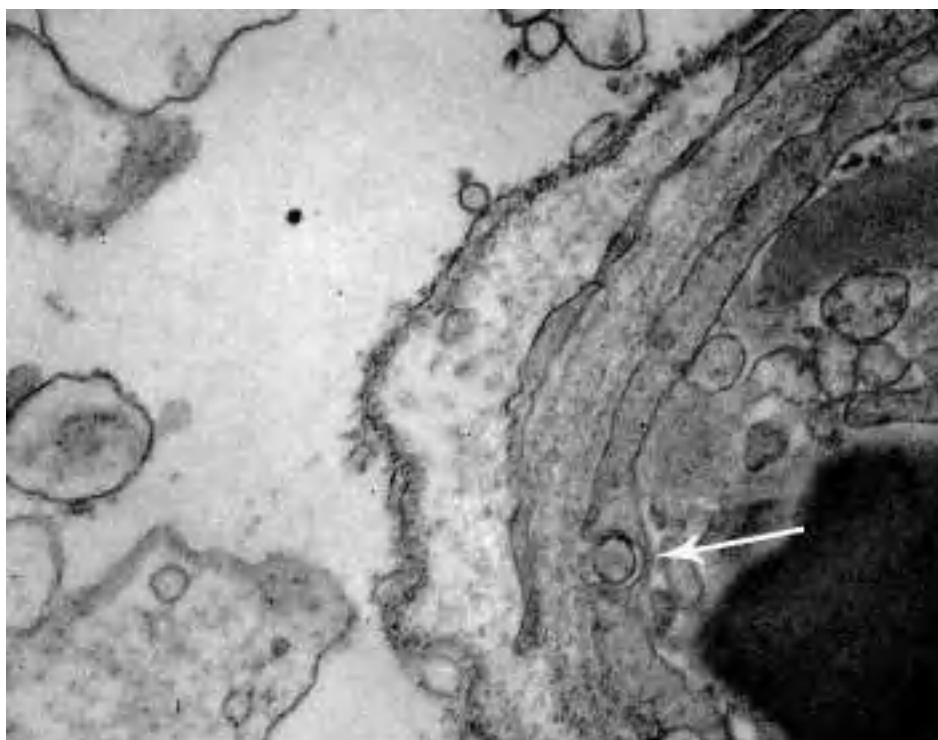


Рисунок 5.15 – Впинання базальної мембрани з наявністю мембранної структури Термін спостереження 3 доби. Зб. $\times 15000$.

Порушення кровообігу в мікросудинах, поряд з руйнуванням частини мікрокапілярів, було обумовлено також значним набуханням ядра в окремих судинах. У цитоплазмі таких клітин збільшувалася кількість вакуолей, більшість з яких були не пов'язані з цитоплазматичними структурами. Також зазначалося набухання мітохондрій. Такі зміни приводили до значного збільшення обсягу цитоплазматического сектору і як наслідок відзначалося значне звуження просвіту капілярів (рис. 5.16).

Ядра ендотелію при цьому значно збільшувалися в обсязі, набували часто неправильну форму, формувалися інвагінації каріолеми.

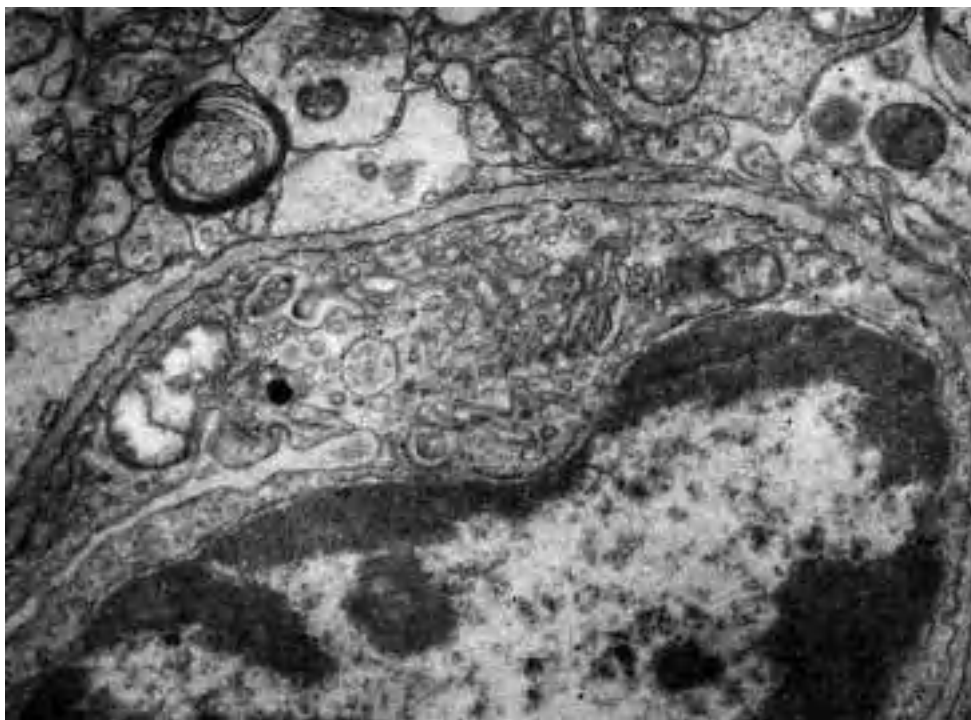


Рисунок 5.16 – Набрякання ядра ендотелія зі значним зменшенням просвіта судини. Термін спостереження 3 доби. Зб. $\times 6000$.

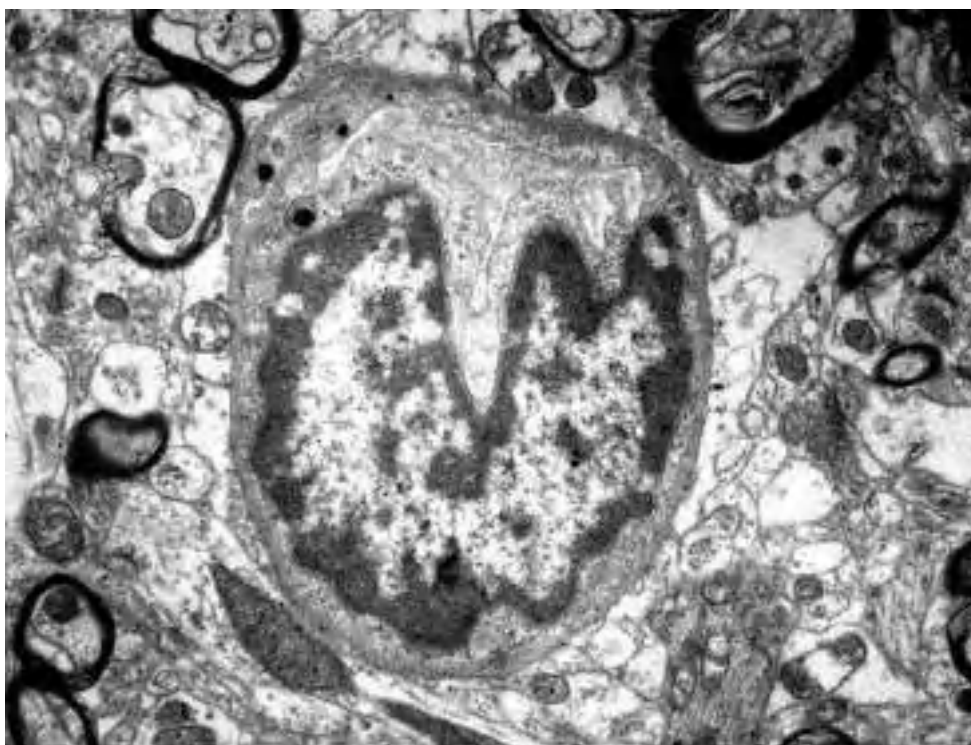


Рисунок 5.17 – Мікровакуолізація цитоплазми ендотелія. Набрякання ядра з його вакуолізацією і значним зменшенням просвіту судини. Термін спостереження 3 доби. Зб. $\times 9000$.

Ультраструктура ядер ендотелію була відносно збереженою, зберігалася також структурна цілісність капілярів. При цьому просвіт капілярів значно звужувався, в окремих спостереженнях практично не диференціювався (див. рис. 5.17).

Рідше відзначалася вакуолізація ядер, яка була представлена формуванням обмежених мембраною вакуолюю різної величини (рис 5.18). У таких спостереженнях при збереженій загальній структурі капіляра і ядра значні за обсягом вакуолі займали до 20-25 % площі ядра (рис.5.18). Такі ядра були менш електроннощільними, як за рахунок вакуолізації, так і внаслідок лізису інтерхроматинових гранул ядра. У цитоплазмі ендотелію також відзначалася мікровакуолізація, яка мабуть розвивалася внаслідок розпаду ліпопротеїдів цитоплазми, а також вакуольна трансформація внутрішньоцитоплазматичних структур. У таких клітинах було збільшена кількість мікропіноцитозних везикул, які були розташовані вздовж люмінальної поверхні клітини, визначалися складки цитоплазми, збільшувалася кількість виростів цитоплазми ендотеліоцитів. Такі мікросудини були оточені помірно розширеними відростками астроцитів.

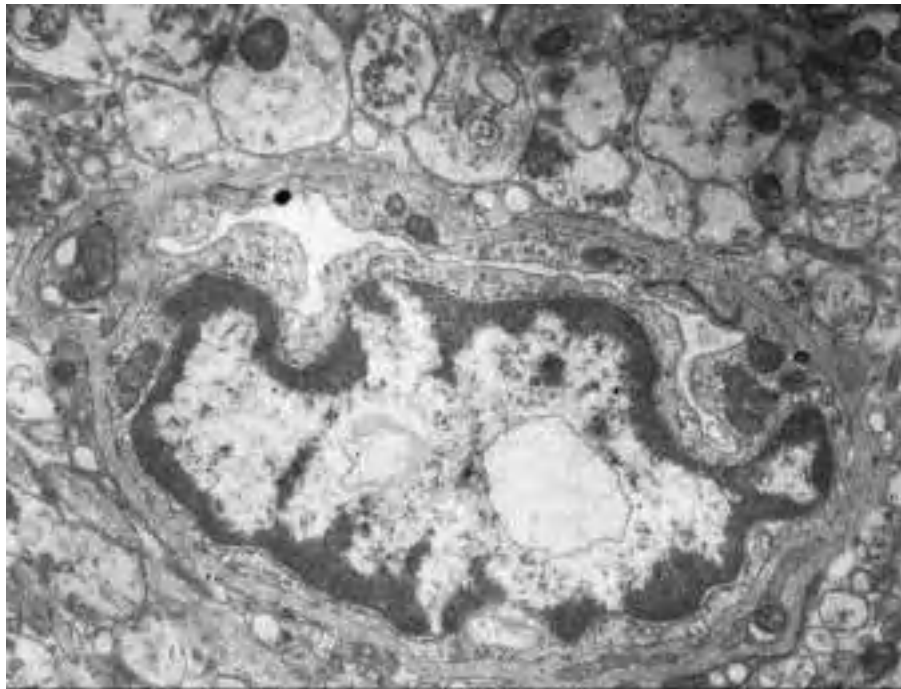


Рисунок 5.18 – набрякання ядра з його вакуолізацією і значним зменшенням просвіту судини. Термін спостереження 3 доби. Зб. $\times 7500$.

Вивчення ультраструктури ендотелію показало, що в межах однієї судини морфо-функціональний стан окремих ендотеліальних клітин міг істотно відрізнятись. При цьому контактуючі між собою ендотеліальні клітини могли мати різну електронну щільність, різну ступінь пошкодження цитоплазматичних структур. При значній електронній щільності практично не проглядалися структури цитоплазматичного сектора, підлегла базальна мембрана у таких клітин була однорідною, практично однакової товщини на всьому протязі контакту з електронно-щільними ендотеліоцитами. Менш електронно-щільні клітини, як правило, мали неоднорідну цитоплазму з наявністю різних за розміром, частіше дрібних вакуолеподібних структур, а також більш значних ділянок вакуолізації, які у вигляді аневризматичних утворень вистояли в просвіт судини (рис. 5.19).

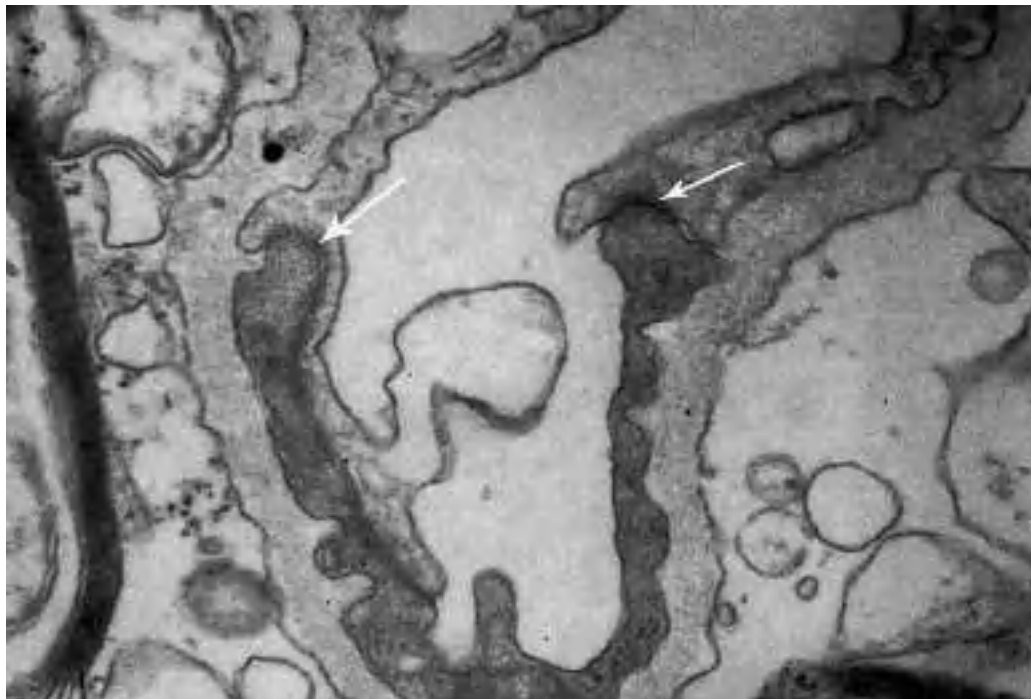


Рисунок 5.19 – Контакти між двома клітинами ендотелію з різним морфо-функціональним станом (вказано стрілкою). Зб. $\times 22000$.

Базальна мембрана, що контактує з менш електронно-щільними клітинами була нерівномірно потовщена, нерідко містила неправильної форми гомогенний електронно-щільний матеріал. В околиці таких судин відзначалися зони набряку, які містили вакуолізовані структури нейропіля.

Наростання дистрофічно-деструктивних змін внутрішньоклітинних структур ендотелію з трансформацією їх в незворотні зміни безумовно позначалися на стані клітинних контактів. Незважаючи на те, що більшість контактів між клітинами все ж зберігали свою структуру, на окремих ділянках такі контакти мали значну електронну щільність (рис. 5.20). Малозмінена ультраструктура контактів між клітинами свідчила про їх структурну стабільність в порівнянні з цитоплазматичними та ядерними структурами. Контакти на всьому протязі відрізнялися однорідною електронно-щільною зоною, однак протягом контакту не скрізь простежувалися контури окремих клітин, що в контрольних спостереженнях визначалося за характерною двоконтурною структурою.

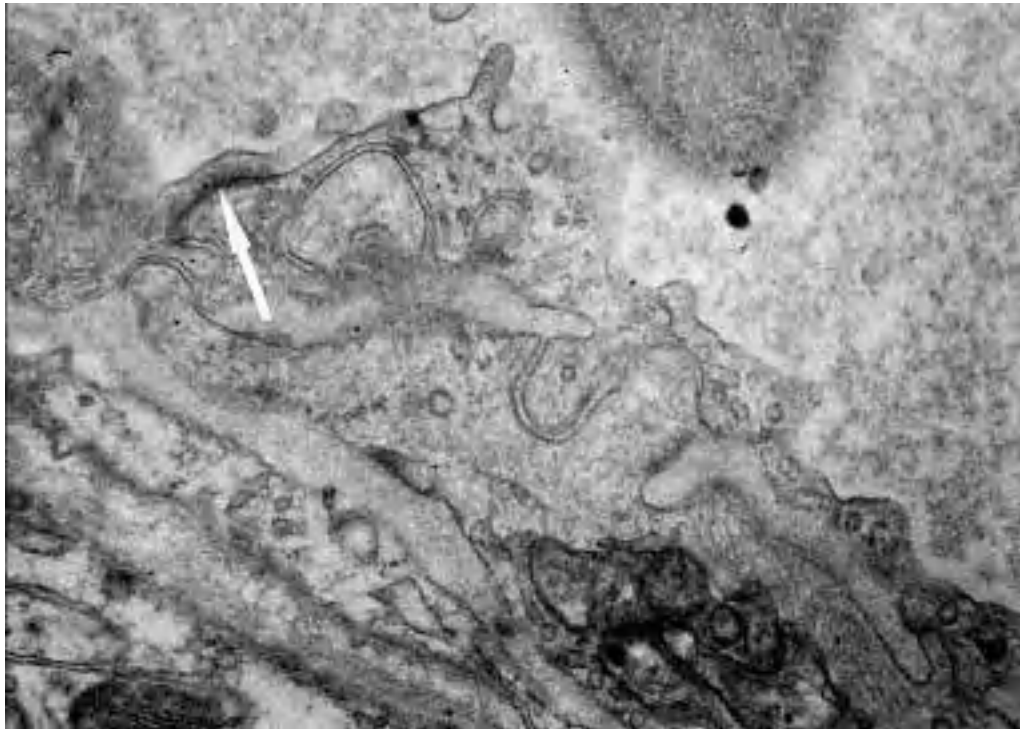


Рисунок 5.20 – Контакт між клітинами ендотелію (показано стрілкою).

36 × 15000.

Електроннощільні міжклітинні контакти між окремими ендотеліоцитами спостерігалися в клітинах з переважанням процесів коагуляції в цитоплазмі і ядрі (рис. 5.21). У таких клітинах ядра ендотелію зменшувалися в розмірах, збільшувалася ступінь конденсації хроматину, зазначалося перинуклеарне просвітлення цитоплазми, електронна щільність

базальної мембрани зменшувалася, на окремих ділянках порушувалася чіткість її контурів. Такі зміни переважали в ранні терміни хвороби - до 3-5 діб, але зазначені зміни можна було зустріти і у віддалених періодах церебральної ішемії - 12 діб і більше. Кровообіг в таких судинах, як правило, не відновлювався.

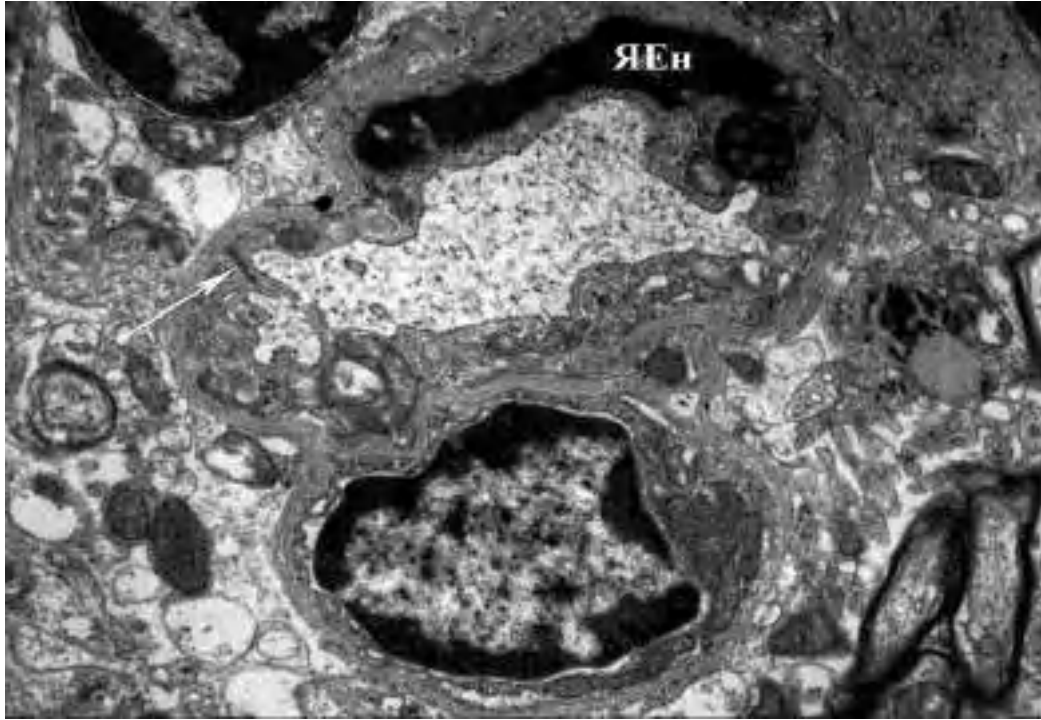


Рисунок 5.21 – Процеси коагуляції в ядрі і цитоплазмі ендотелія.
Електроннощільний міжклітинний контакт показано стрілкою. Позначки:
ЯЕн – ядро ендотелію. 36 × 9000.

В окремих мікросудинах відзначалося значне нерівномірне збільшення щілини між контактуючими поверхнями ендотеліоцитів (рис. 5.22). Роз'єднання міжклітинних з'єднань між окремими клітинами ймовірно було передумовою до значного підвищення проникності капілярів.

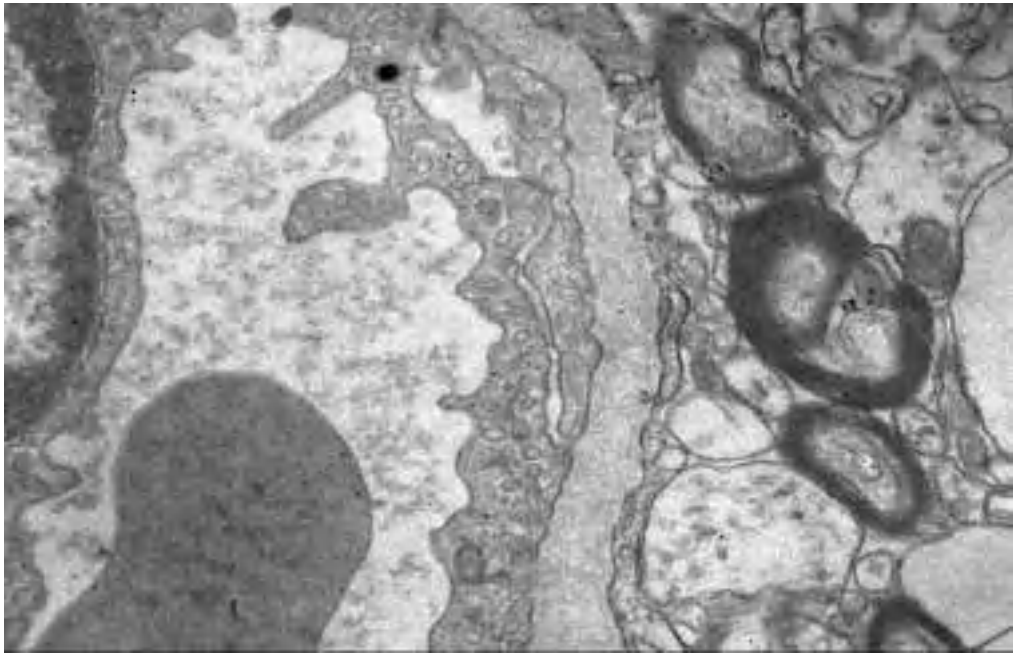


Рисунок 5.22 – Розширення міжендотеліальної щілини, мікровакуолізація цитоплазми ендотелію. 36×15000 .

Між окремими клітинами в зонах контактів нерідко формувалися великі зони роз'єднання в вигляді вакуолеподібних структур (рис. 5.22). У цитоплазмі таких клітин відзначалася значна мікровакуолізація, що свідчило про активні процеси транспорту рідини через ділянки з'єднання окремих ендотеліальних клітин і за допомогою трансендотеліального перенесення через систему мікровезикул. Також можна відзначити відсутність прямої залежності між виразністю периваскулярного набряку і ступенем пошкодження міжклітинних контактів. Аналіз електроннограм показав, що навіть при вираженому периваскулярному набряку міжклітинні контакти, також як і базальна мембрана зберігали свою ультраструктуру (рис. 5.23). Також нами відзначена деяка залежність між периваскулярним набряком і ультраструктурними змінами в цитоплазмі ендотелію. Так при більш вираженому набряку периваскулярного простору в цитоплазмі ендотелію відзначалася значна щільність мікровезикул, що можна спостерігати на рис. 5.24.

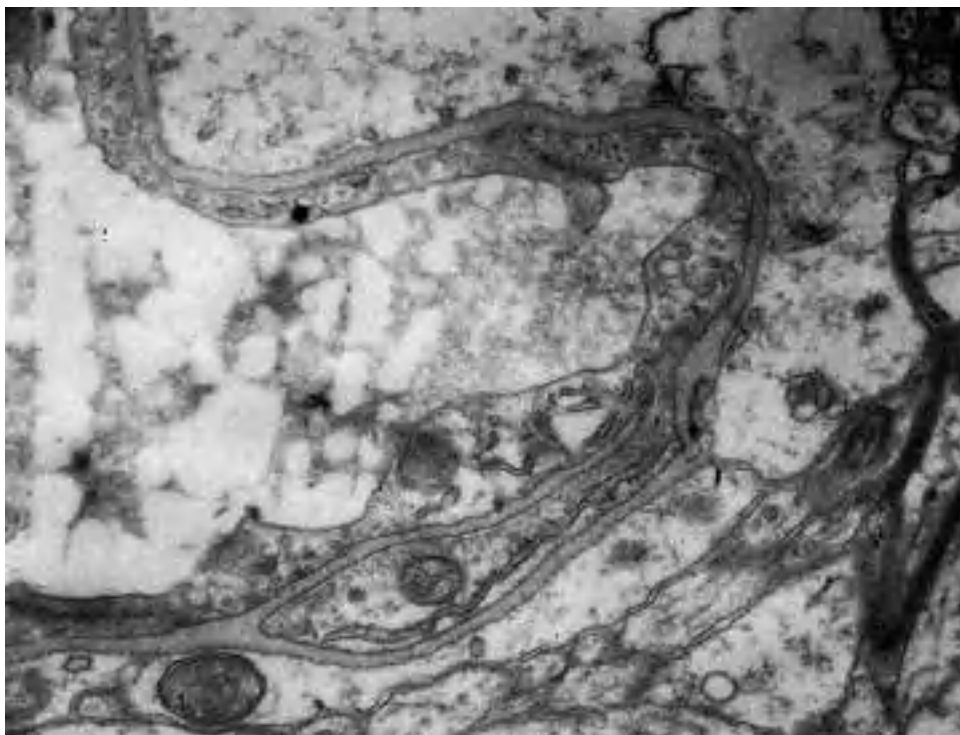


Рисунок 5.23 – Периваскулярний набряк, збереження контактів між ендотеліальними клітинами і структури базальної мембрани. $3б \times 15000$.

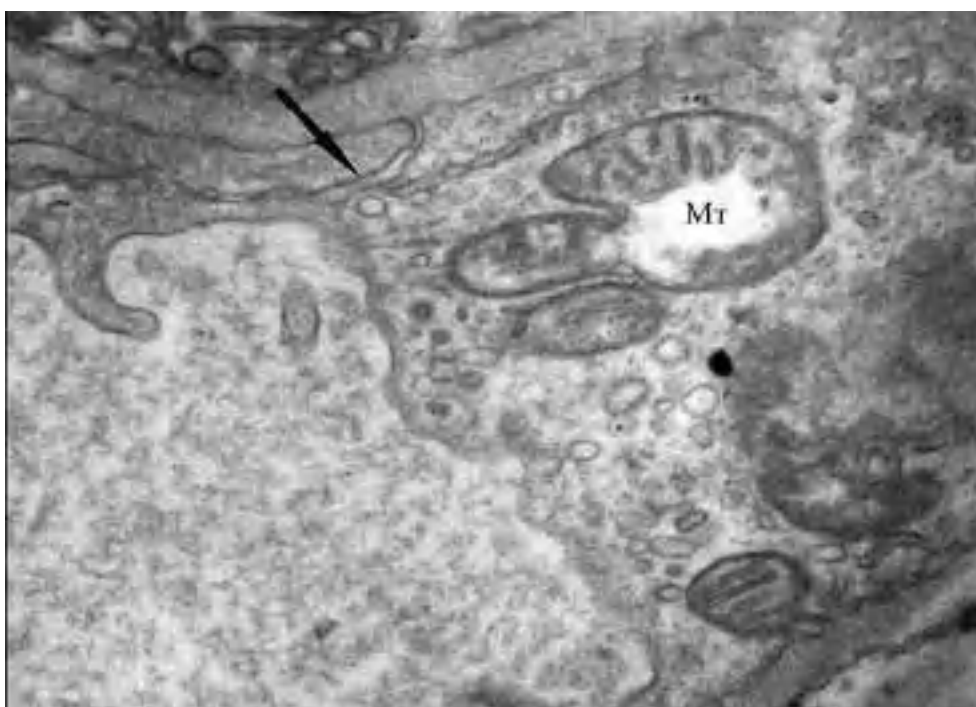


Рисунок 5.24 – Розширення контактів між ендотеліальними клітинами (показано стрілкою), виразні структурні зміни мітохондрій (Mt). $3б. \times 15000$.

Виражені набряклі зміни внутрішньоцитоплазматичного сектора ендотелію супроводжувалися значною мікровакуолізацією, набуханням

мітохондрій з просвітленням мітохондріального матриксу. Мітохондрії часто набували неправильну форму, Крісті мітохондрій в більшості ендотеліальних клітин були вкорочені, частково фрагментовані з вогнищевим руйнуванням, відзначалося порушення їх впорядкованої орієнтації (див. рис. 5.24).

У більшості мітохондрій не виявлялася двоконтурність крист і мембран, а в мітохондріальному матриксі з'являвся пластівчастий аморфний матеріал або гомогенні ділянки позбавлені крист. Виражені деструктивні зміни клітин супроводжувалися вираженою вакуолізацією мітохондрій з повним руйнуванням крист (рис. 5.25).

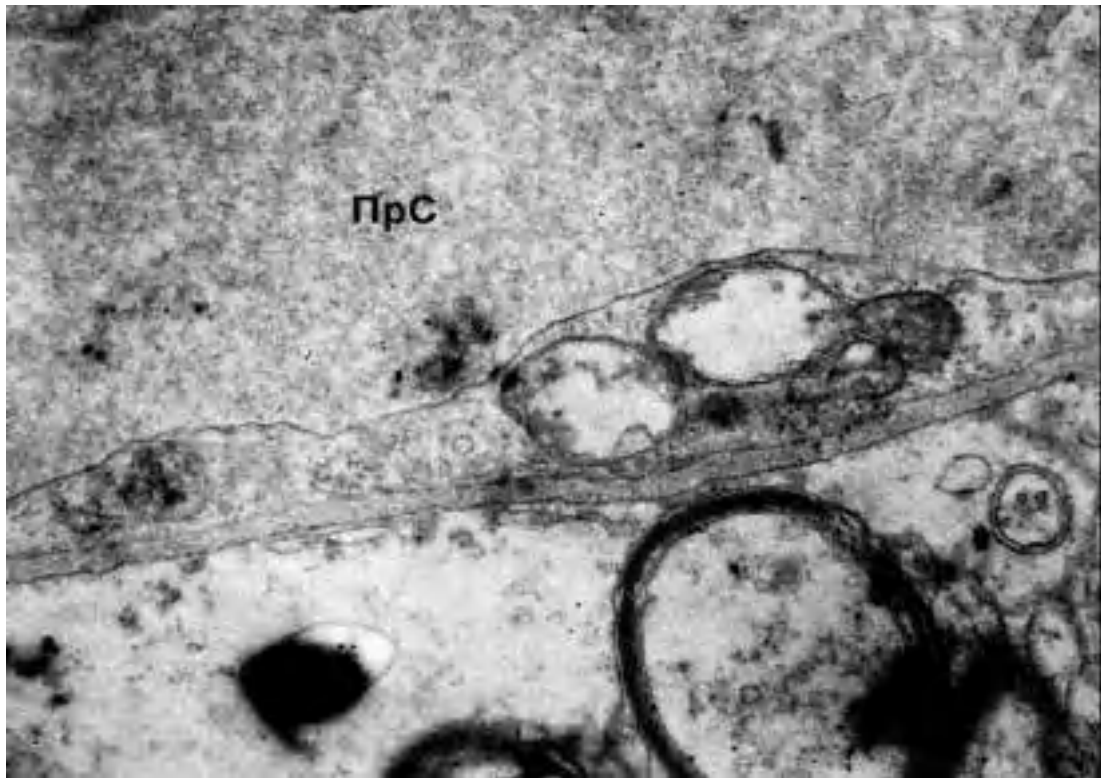


Рисунок 5.25 – Вакуолізація мітохондрій в ендотелії. Периваскулярний набряк. Умовн. позначки: Прс – просвіт судини. Зб. $\times 15000$.

У таких клітинах як правило розвивалися незворотні зміни з подальшою їх загибеллю шляхом некрозу або апоптозу. Ядро клітини ставало електронно щільним за рахунок конденсації хроматину, часто в клітинах зустрічалися кілька фрагментів ядер, каріолема втрачала двоконтурність, відзначалася вакуолізація і руйнування цитоплазматичних структур, базальна мембрана на

більшому протязі втрачала чіткість кордонів і піддавалася лізису (рис. 5.26). Однак треба зазначити, що в одній клітині ступінь пошкодження мітохондрій могло мати відчутні відмінності. Поряд з деструкцією одних мітохондрій, інші зберігали свою ультраструктуру навіть при наявності виражених змін з боку інших клітинних органел.

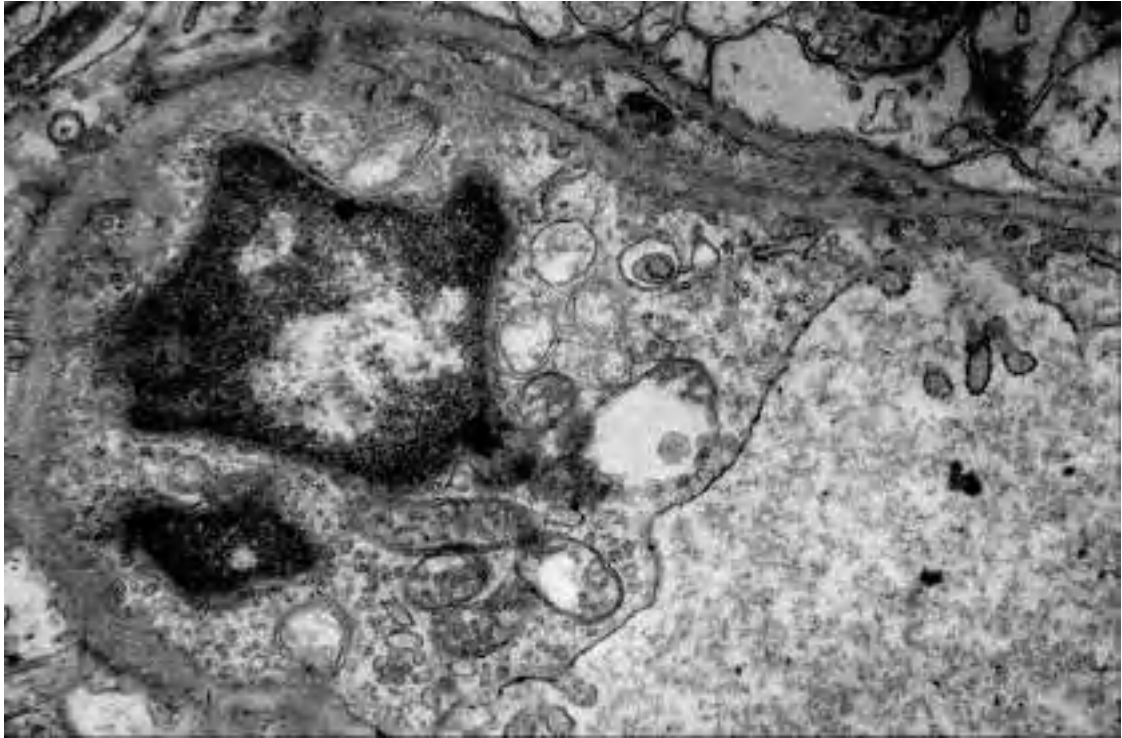


Рисунок 5.26 – Вакуолізація і руйнування мітохондрій в цитоплазмі ендотелія, вогнищеве руйнування базальної мембрани. Зб. $\times 9000$.

Аналогічні зміни мітохондрій можна було простежити в перицитах і відростках навколишнього нейропіля, який примикав до судин (рис. 5.27). У периваскулярних відростках астроцитів в ранні терміни відзначалася підвищена гідратація, яка наростала протягом 3-4 діб від початку ішемічного впливу. Така гіпергідратація була більш виражена навколо судин перифокальної зони інфаркту і знижувалася в міру віддалення від некротичного вогнища, а також у міру збільшення термінів спостереження. Розширені астроцитарні відростки навколо судин формували пористі структури (рис. 5.28) або великі муфти периваскулярного набряку, який часто ізолював мікросудини від навколишнього нейропіля (рис. 5.29).

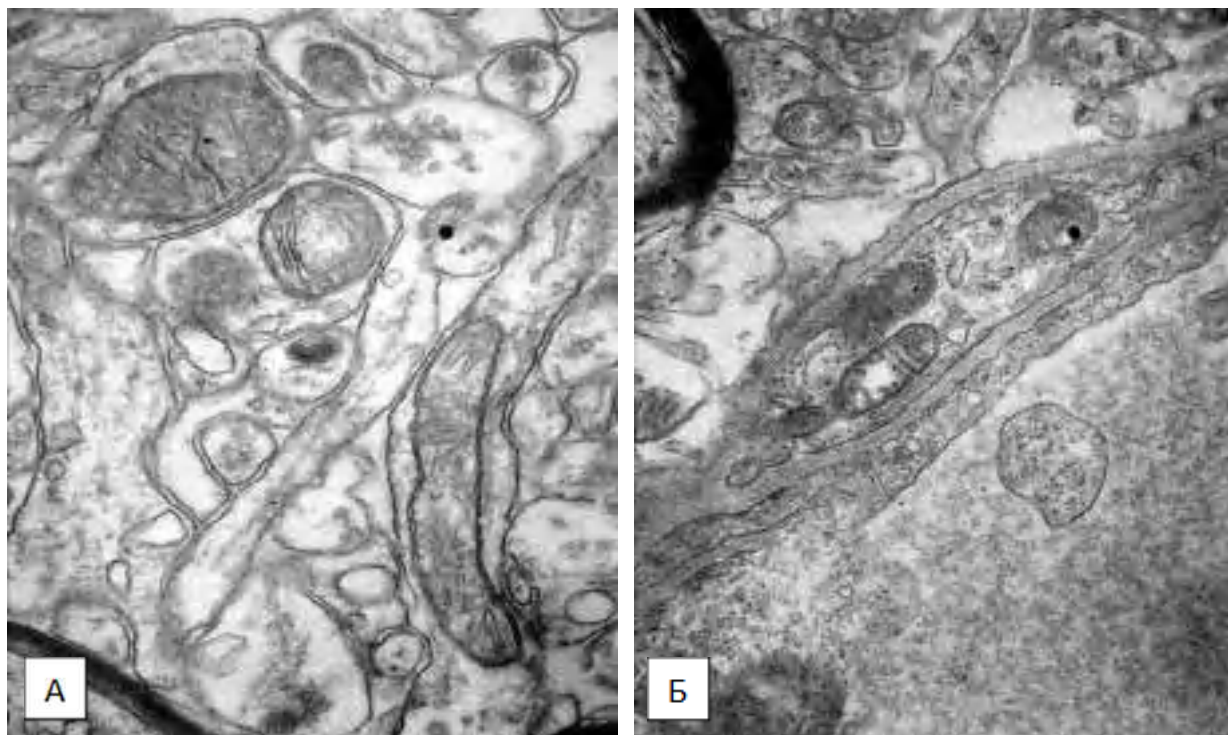


Рисунок 5.27 – Вакуолізація і руйнування крист мітохондрій: А – у відростках астроцитів, Б - в цитоплазмі перицита. Зб. $\times 9000$.

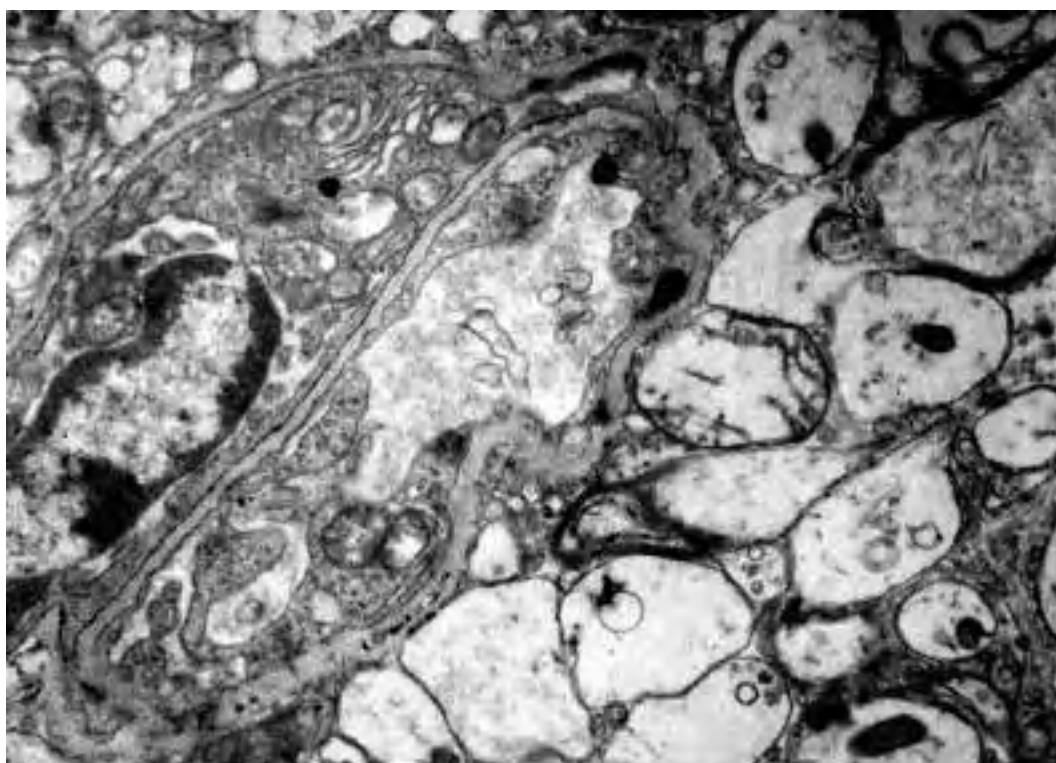


Рисунок 5.28 – Набухання астроцитарних відростків навколо капіляра. Дистрофічні зміни в ендотелії і перициті. Термін спостереження 3 доби. Зб. $\times 7500$.

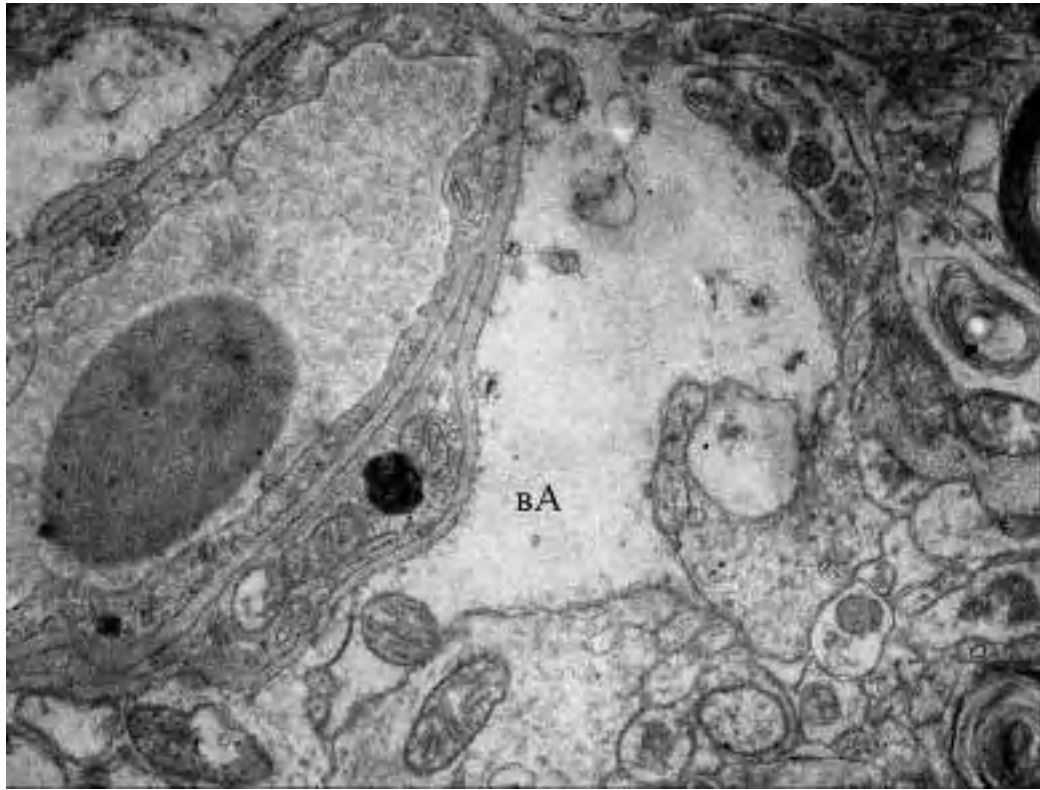


Рисунок 5.29 – Значне набухання відростка астроцита (ВА) навколо функціонуючого капіляра. Зб. $\times 7500$.

Такі відростки часто містили вакуолі або уривки мембран зруйнованих структур, набряклі мітохондрії. Однак слід зазначити, що вираженість змін периваскулярних астроцитарної відростків не завжди корелювала з виразністю змін в ендотелії і порушеннями мікроциркуляції в контактують з ними судинах. Так при відсутності вираженого периваскулярного набряку нами спостерігалися значні ультраструктурні зміни в ендотелії і навпаки при наявності значного розширення периваскулярних астроцитарних відростків в багатьох полях зору, значні зміни виявлялись і в тілах астроцитів, які безпосередньо контактували з микросудинами. Також значне розширення астроцитарних відростків асоціювалося з частковою компресією судин або з їх спадінням, що було відзначено вище.

Реактивні зміни в астроцитах перш за все проявлялись наявністю вакуолізації внутрішньоцитоплазматичних структур. Реєструвалась вакуолізація цистерн комплексу Гольджи, яка відображала його дисфункцію з

порушенням накопичення, транспортування і виведення речовин з клітини. Окремі вакуолі різної величини вільно розташовувалися в цитоплазмі. Це була найбільш рання реакція на гіпоксичне пошкодження.

У міру прогресування набряку в астроцитарних відростках піддавалися лізису мембранні структури, значно знижувалася їх електронна щільність, знижувалася щільність розподілу гранул глікогену. Відповідно і в капілярах прогресували дистрофічні зміни.

В нейронах перифокальних ділянок інфарктного ядра також визначалася вакуолізація внутрішньоцитоплазматичних структур, але в більшій мірі зберігалася структура ядра, зернистої ендоплазматичної мережі, зберігалась чіткість мембран, визначався помірний набряк мітохондрій (рис. 5.30).

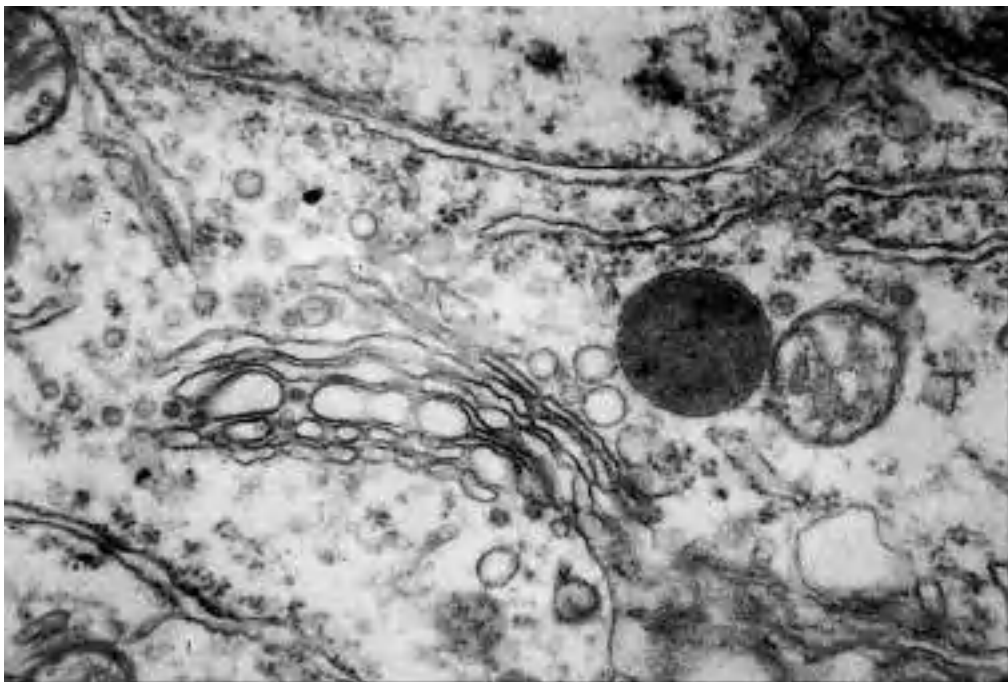


Рисунок 5.30 – Структура нейрона перифокальної ділянки некротичного вогнища. Вакуолізація цистерн комплексу Гольджі. Зб. $\times 22000$.

В подальшому наростання деструктивних змін призводило до значної редукції гранул цитоплазматичної РНК, фрагментарному лізису ядерної і мітохондріальної мембран, наявності інвагінації в каріолеммі (рис. 5.31).

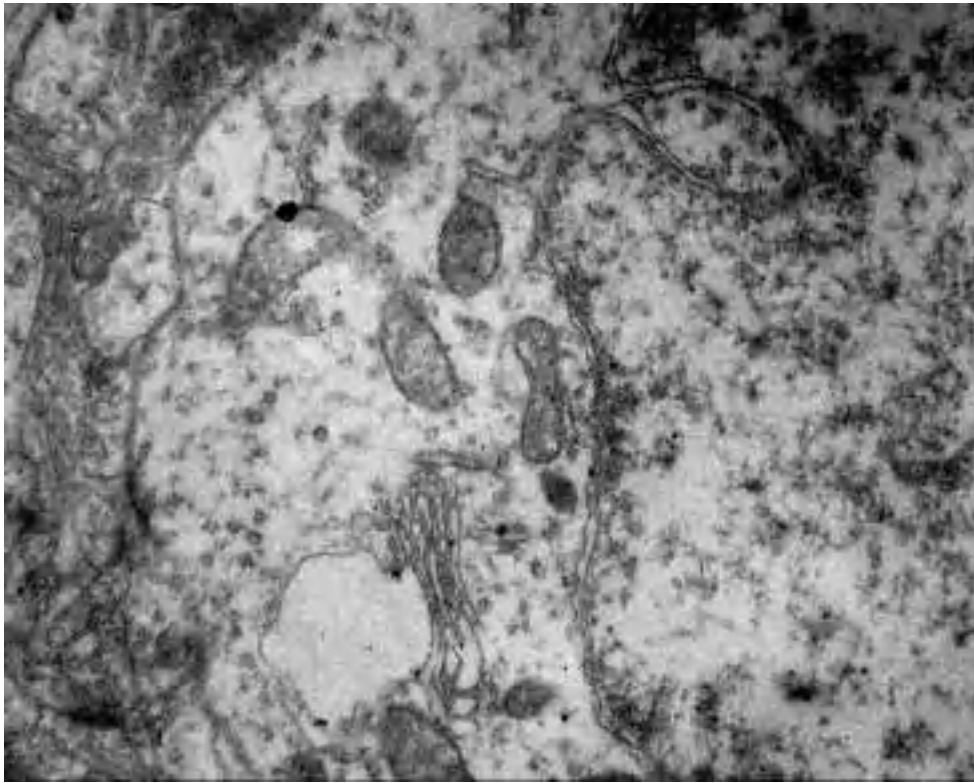


Рисунок 5.31 – Вакуолізація цистерн комплексу Гольджі. Руйнування мітохондрій, поява інвагінацій в каріолемі нейрона. Зб. $\times 22000$.

Прогресування периваскулярного набряку в перифокальних зонах інфаркту, значні ультраструктурні зміни в тілах і відростках периваскулярних астроцитах, ендотелії і перицитах виявлялися критичними в плані зворотного розвитку і відновлення структури капілярів. У таких капілярах відзначалися незворотні зміни з боку ендотелію і базальної мембрани (рис. 5.32). Остання нагадувала дрібногранулярний детрит, контури мембрани були стертимі, з ділянками лізису, клітинні контакти були зруйновані, або значно пошкоджені часто у вигляді значного набухання і вакуолізації контактуючих поверхонь (рис. 5.33). Також характерною рисою незворотніх змін в дрібних артеріолах і капілярах було відсутність перицитів. В периваскулярному просторі знаходилися зруйновані структури нейропіля. Значне руйнування мікросудин в зоні некрозу і перифокальних зонах прогресувало впродовж 3 діб від початку експерименту.

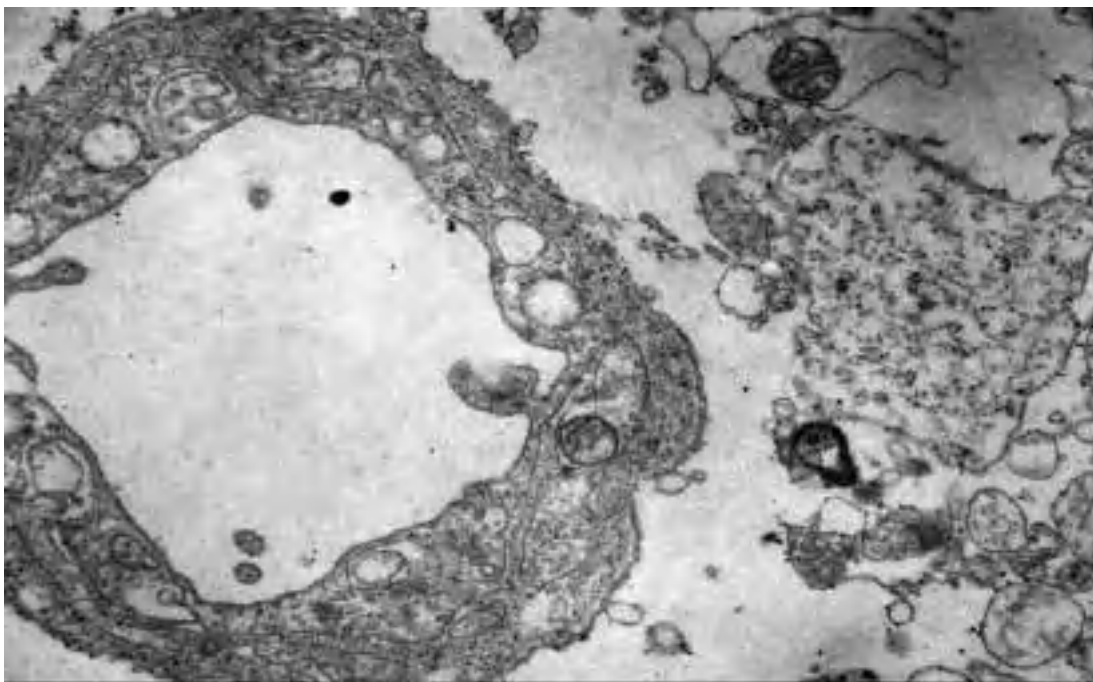


Рисунок 5.32 – Незворотні зміни в капілярі і периваскулярному просторі.
Зб. $\times 15000$.

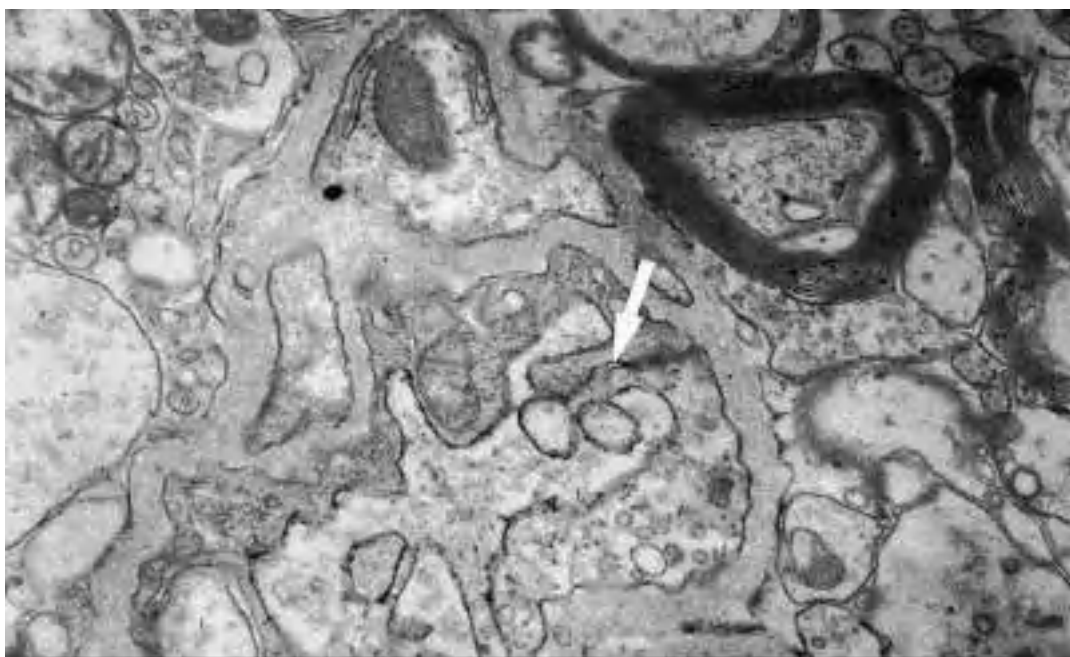


Рисунок 5.33 – Незворотні зміни в капілярі і периваскулярному просторі.
Вакуолізація контактуючої поверхні між ендотеліоцитами (показано
стрілкою). Зб. $\times 22000$.

В подальші терміни при аналізі електронограм незворотніх змін в мікросудинах не спостерігалось. Незважаючи на ушкодження внутрішньоклітинних ультраструктур і наявність периваскулярного набряку кровообіг в більшості мікросудин відновлювався.

Відновлення структури капілярів в перифокальних ділянках ішемічного ушкодження відбувалося досить рано і реєструвалося досить наочно на 7-14 добу експерименту. Зазначалося відновлення структури міжклітинних контактів. За рахунок відновлення складних контактів з формуванням звивистих щілин і інвагінацій зростала площа контактуючих поверхонь між ендотеліоцитами (рис. 5.34). У цитоплазмі визначаються чіткі контури зернистої ендоплазматичної мережі. Характерною ознакою структурного відновлення є поява великої кількості виростів люмінальної поверхні ендотелію (рис. 5.34), на відміну від згладженості цієї поверхні в судинах з важкими, часто незворотними змінами. У базальній мембрані незначні ділянки зниженої електронної щільності.

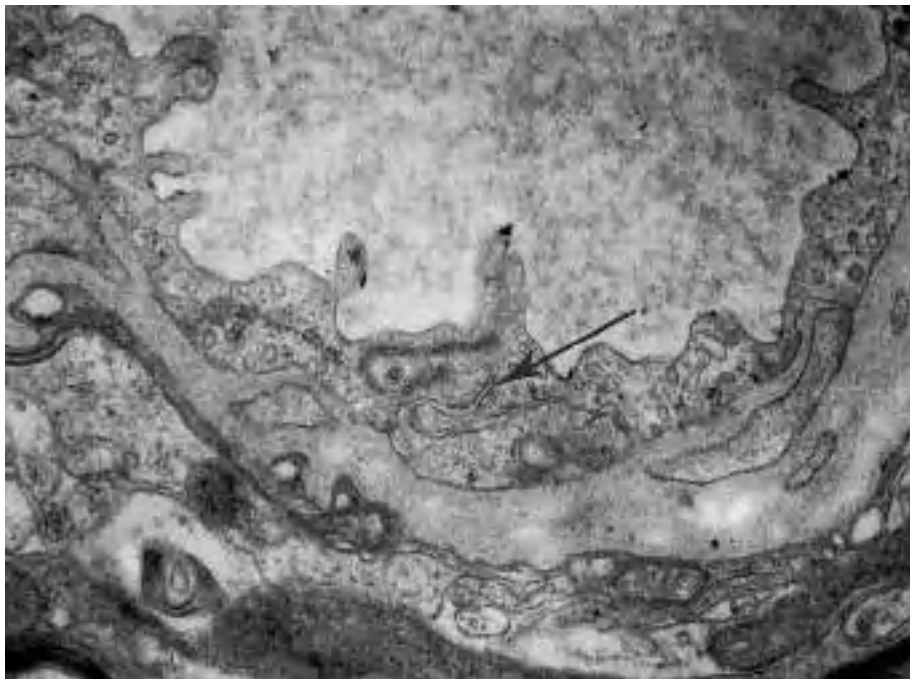


Рисунок 5.34 – Відновлення структури ендотелію. Наявність складного контакту (показано стрілкою). У цитоплазмі визначаються чіткі контури зернистої ендоплазматичної мережі. У базальній мембрані незначні ділянки зниженої електронної щільності. Зб. $\times 15000$.

Ультраструктурне відновлення стосувалося і астроцитів, які поряд з мікросудинами є складовими елементами гематоенцефалічного бар'єру. В ядрах астроцитів хроматиновий матеріал був дифузно розподілений, чітко простежувалася двошаровість ядерної мембрани. Посилення відновлювальних процесів відбувалося також в збережених нейронах. В їх цитоплазмі збільшувалася протяжність зернистої ендоплазматичної мережі, на її мембранах збільшувалася кількість рибосом, а в цитоплазмі гранул глікогену, збільшувалася кількість мітохондрій в цитоплазмі, нерідко з формуванням мегамітохондрій (рис 5.35, 5.36). Зазначені зміни значно збільшували електронну щільність цитоплазми.

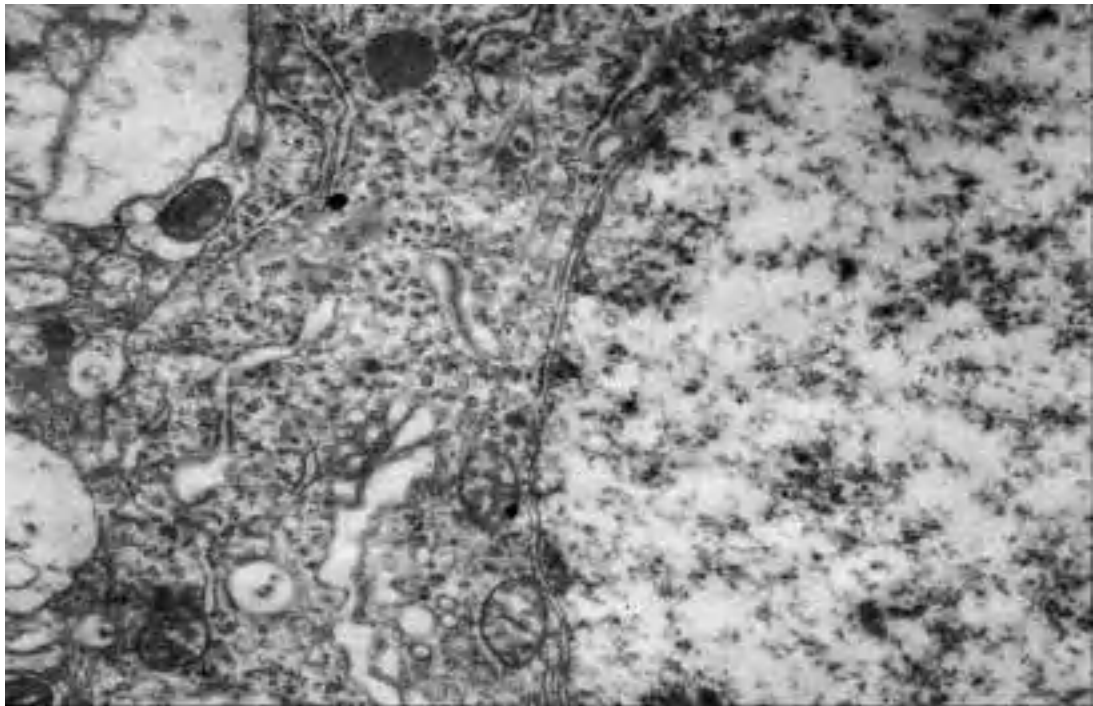


Рисунок 5.35 – Відновлювальні процеси в нейроні. Зб. $\times 9000$.

Як показник посилення репаративних процесів в перифокальних ділянках ішемічного ушкодження відбувалося новоутворення мітохондрій. У відростках астроцитів, дендритах з'являлася велика кількість електронно-щільних утворень в структурі яких проглядалася система мікротрубочок схожих з кристами мітохондрій (рис. 5.37).

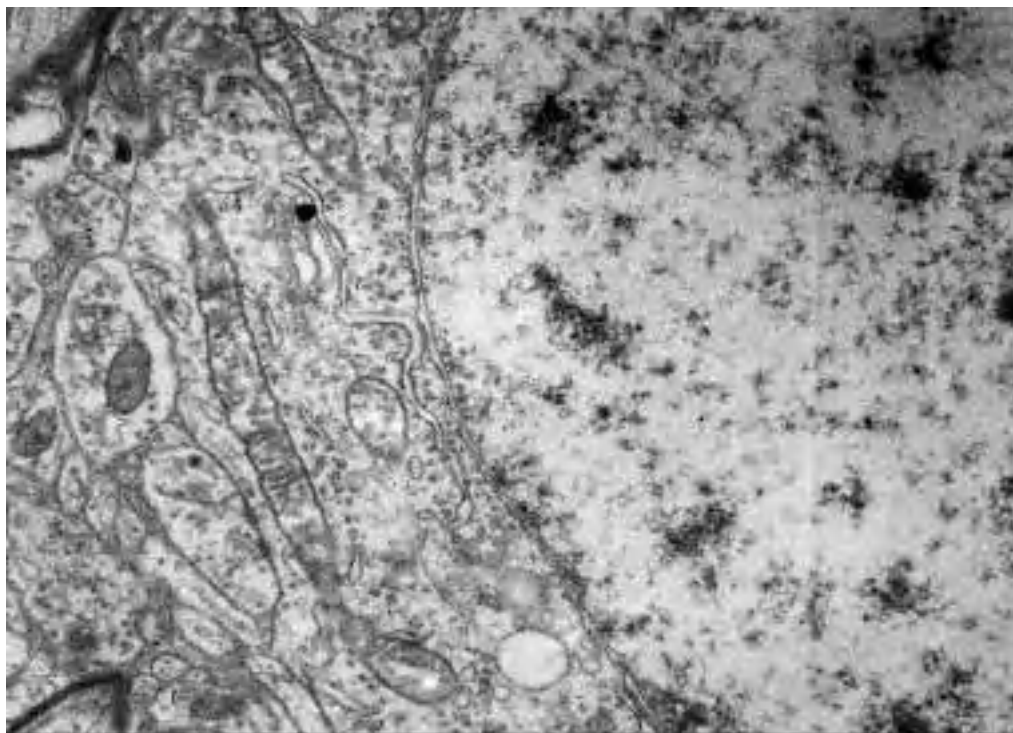


Рисунок 5.36 – Відновлення структури нейрона. Наявність мегамітохондрій в цитоплазмі. Зб. $\times 9000$.

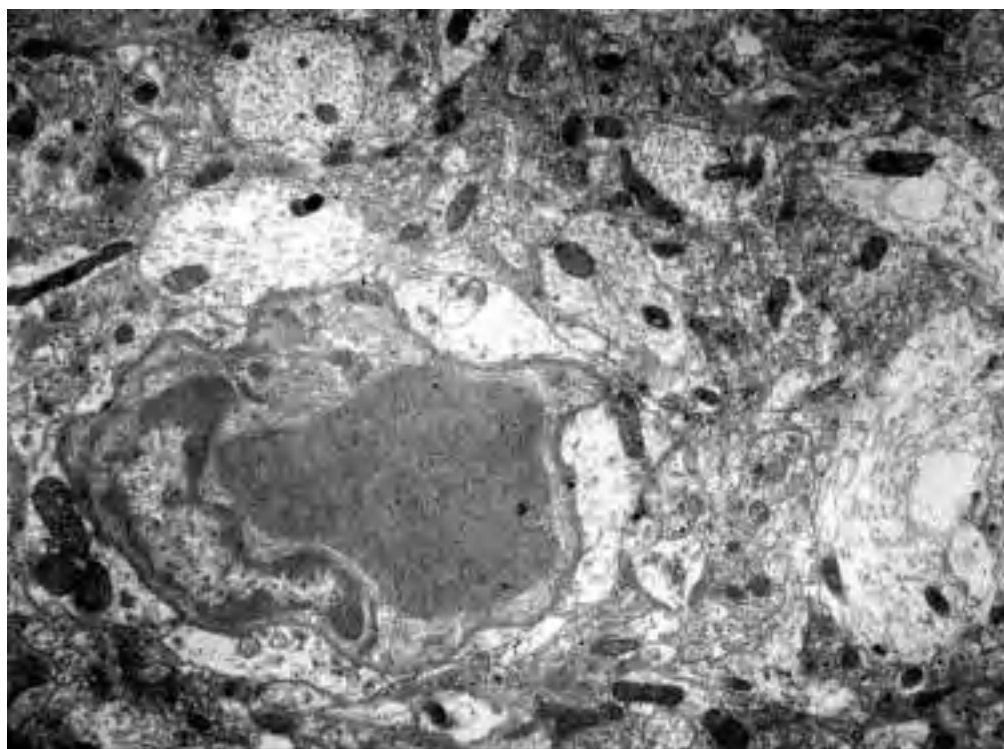


Рисунок 5.37 – Значна кількість дрібних мітохондрій в відростках навколосудинного нейропіля. Термін спостереження 14 доба. Зб. $\times 6000$.

У відростках астроцитів відновлення структури мітохондрій позначалося значним збільшенням їх розмірів, в щільному мітохондріальному матриксі зазначалося формування дрібних, хаотично розташованих крист (рис. 5.38), які з часом набували характерні розміри і впорядковане розташування (рис. 5.39). Паралельно з відновленням структури мітохондрій в відростках астроцитів відбувалася редукція набрякових змін.

У контрлатеральній півкулі також визначалися структурні зміни, які торкалися ендотелію і перицитів, і виражалися в незначній вакуолізації цитоплазматичних структур. При цьому контури базальної мембрани мікросудин, цитоплазматичних структур, контактів між клітинами залишалися чіткими у всіх досліджуваних термінах спостереження.

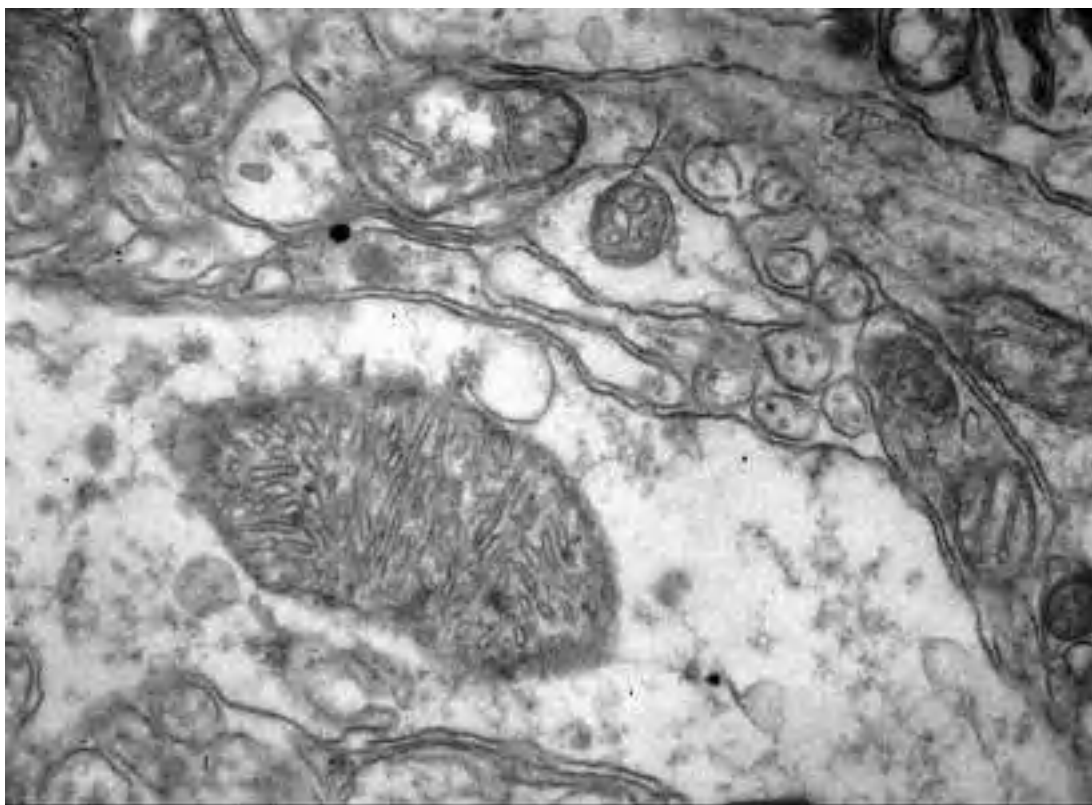


Рисунок 5.38 – Репаративні зміни мітохондрії в відростку астроцита. Восстановление структуры эндотелия. Термін спостереження 14 доба.

36. $\times 22000$.

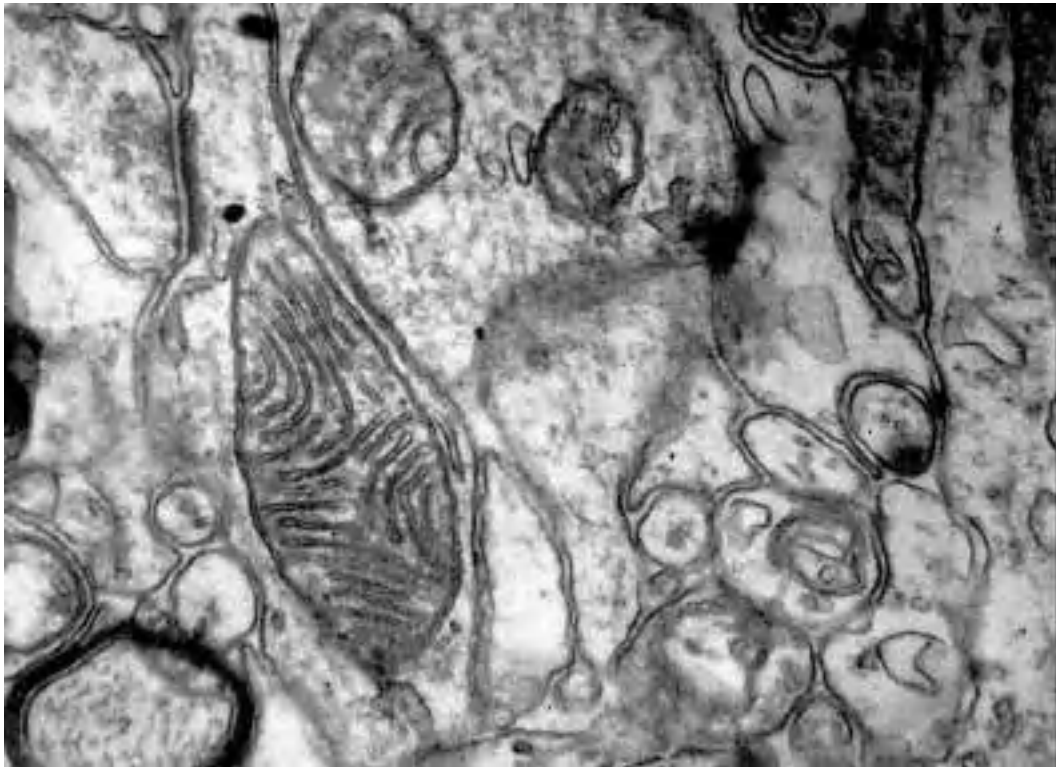


Рисунок 5.39 – Гіпертрофія і відновлення структури мітохондрій у відростках астроцитів. Термін спостереження 14 доба. Зб. $\times 22000$.

Характерними змінами через 14 діб, а також в подальші терміни експериментального інфаркту була наявність значної кількості фаголізосом в периваскулярному просторі. Ймовірно початок цих змін припадав на 7-10 добу, так як в периваскулярному просторі спостерігалися фаголізосоми, які перебували на різних стадіях свого розвитку, мали різну величину і електронну щільність (рис. 5.40).

Також фаголізосоми накопичувалися в цитоплазмі перицитів. Значна їх кількість визначалася при виражених деструктивних змінах і руйнуванні мембранних структур навколосудинного простору, значних набрякових змінах. В цитоплазмі перицитів спочатку виявлялися дрібні фаголізосоми (рис. 5.41), які з часом зливалися і формувалися великі фаголізосоми, які за обсягом займали до 2/3 площі цитоплазми (рис. 5.42). В периваскулярному просторі на 30 добу реєструвалася колагенізація адвентиціальних ділянок мікросудин. В цих зонах визначалась значна кількість фібрилярних структур, що свідчило про склеротичні процеси і наявність репаративного астрогліозу (рис. 5.43).

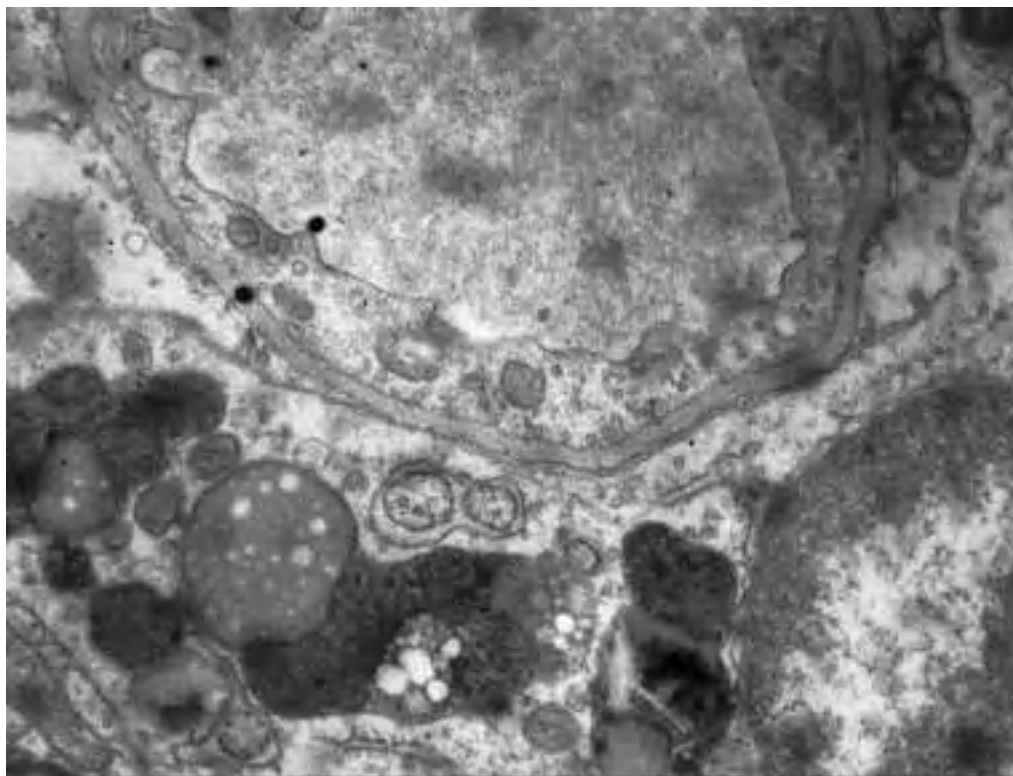


Рисунок 5.40 – Фаголізосоми в периваскулярно розташованих астроцитах.
Термін спостереження 14 діб. Зб. $\times 9000$.

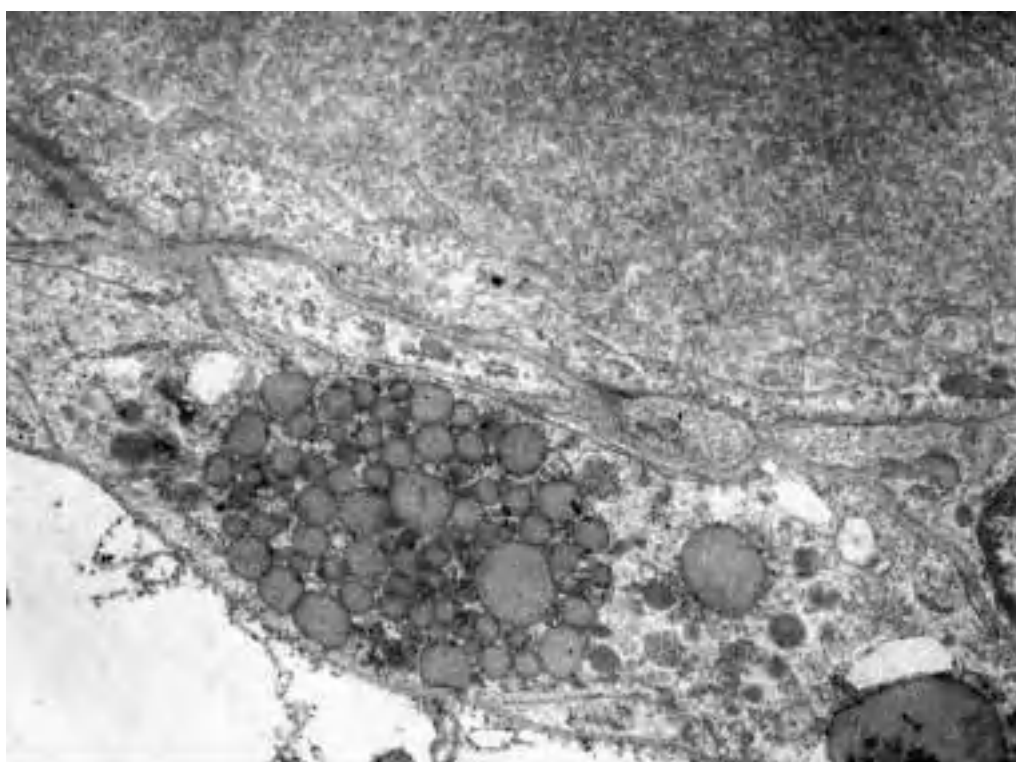


Рисунок 5.41 – Велика кількість дрібних фаголізосом в цитоплазмі перицита.
Термін спостереження 14 діб. Зб. $\times 6000$.

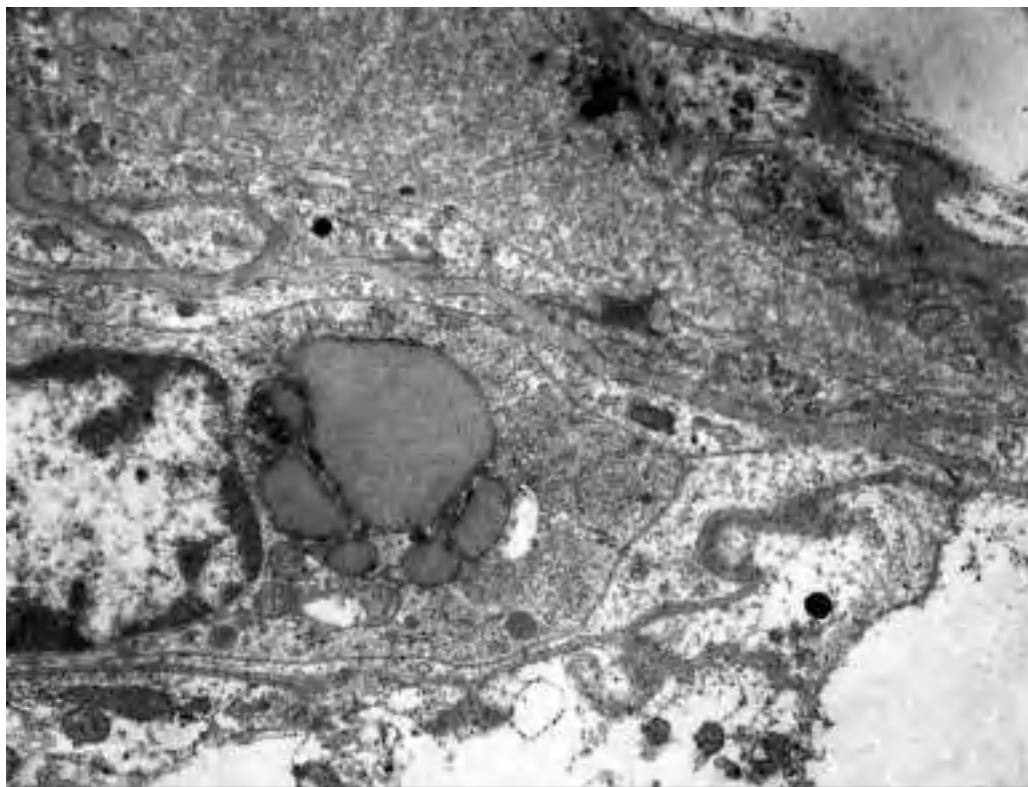


Рисунок 5.42 – Великі фаголізосоми в цитоплазмі перицита. Термін спостереження 14 діб. Зб. $\times 6000$.

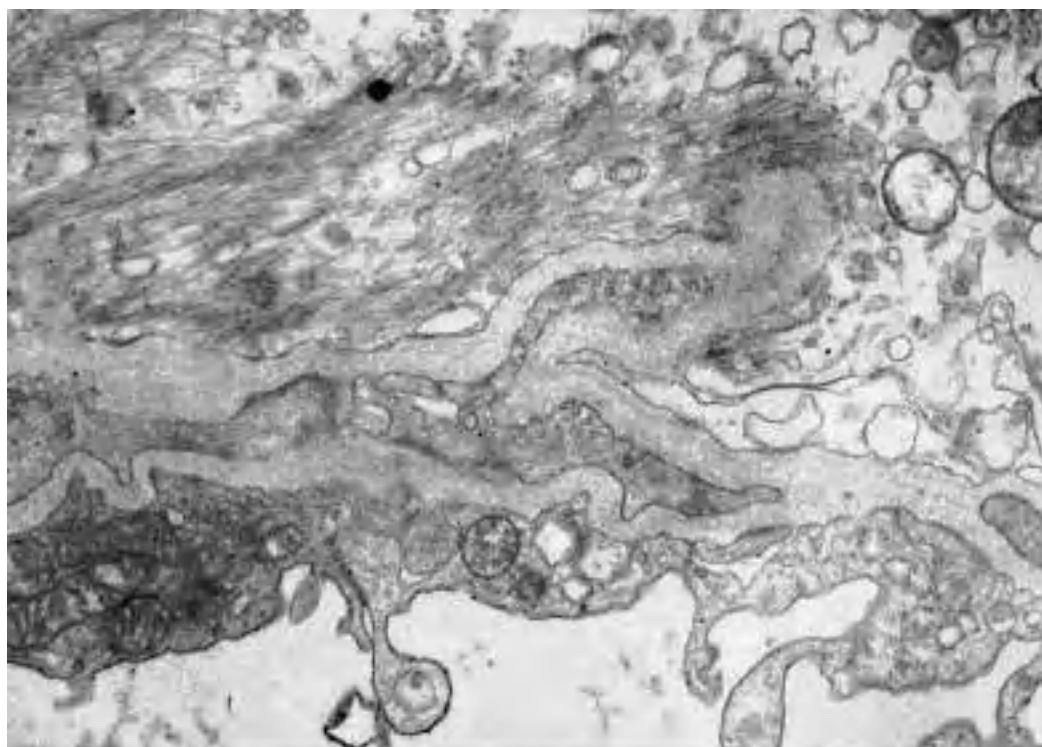


Рисунок 5.43 – Колагенізація адвентиціальних ділянок мікросудини з відновленою структурою. Термін спостереження 30 діб. Зб. $\times 6000$.

Резюме. Проведені експериментальні дослідження показали, що найбільш виразні ультраструктурні зміни в судинах і навколосудинному просторі в перифокальних ділянках інфаркту мозку розвиваються в перші 3 доби. Ці зміни характеризуються периваскулярним набряком, деструктивними змінами ендотелію капілярів і перицитів у вигляді вакуолізації цистерн ендоплазматичної мережі, комплексу Гольджі, ущільненням мітохондріального матриксу, а також ушкодженням базальних мембран. Ушкодження базальних мембран капілярів перифокальної зони інфаркту частіше не має поширений характер і характеризується її потовщенням і зниженням її електронної щільності. При значному руйнуванні базальної мембрани, відзначалася геморагічна інфільтрація і виражений набряк периваскулярного простору. Стан міжклітинних контактів залишається відносно стабільним навіть при значному пошкодженні цитоплазматичних ультраструктур, але наростання дистрофічно-деструктивних змін ендотелію призводить до порушення клітинних контактів. Такі зміни спостерігалися переважно в клітинах з наявністю процесів коагуляції в цитоплазмі і ядрі.

У периваскулярних відростках астроцитів в ранні терміни відзначалася підвищена гідратація, яка була більш виражена навколо судин перифокальної зони інфаркту і знижувалася в міру віддалення від некротичного вогнища, а також у міру збільшення термінів спостереження. Розширені астроцитарні відростки навколо судин формували пористі структури або великі муфти периваскулярного набряку. Прогресування периваскулярного набряку в перифокальних зонах інфаркту, значні ультраструктурні зміни в тілах і відростках периваскулярних астроцитах, ендотелії і перицитах виявлялися критичними в плані зворотного розвитку і відновлення структури капілярів. При незворотніх змінах судин мікроциркуляторного русла відмічалась деформація їх просвіту, руйнування і вакуолізація внутрішньоцитоплазматичних структур, пікноз ядер з подальшим їх лізисом.

Вираженість набряку у периваскулярних відростках астроцитів не завжди корелювала з виразністю змін в ендотелії і порушеннями мікроциркуляції в судинах, які з ними контактують.

Відновлення структури капілярів в перифокальних ділянках ішемічного ушкодження відбувалося досить рано і реєструвалося досить наочно на 7 добу експерименту. Зазначалося відновлення структури міжклітинних контактів і цитоплазматичних структур ендотелію. В цитоплазмі астроцитів збільшувалася протяжність зернистої ендоплазматичної мережі, на її мембранах збільшувалася кількість рибосом, а в цитоплазмі гранул глікогену збільшувалася кількість мітохондрій, нерідко з формуванням мегамітохондрій.

Через 14 діб в ендотелії виявлялась гіперплазія цитоплазматичних структур, збільшення об'єму мітохондрій, довжини цитоплазматичної мережі, відновлювалась ультраструктура міжклітинних контактів. Разом з цим посилюються процеси фагоцитозу зруйнованих структур, що проявляється наявністю значної кількості фаголізосом у відростках макрофагів, контактуючих із судинами і цитоплазмі перицитів. На 14-21 добу і більш пізні терміни в перифокальних ділянках незворотніх ішемічних змін навколо судин виявляється репаративний астрогліоз.

Результати розділу висвітлено у опублікованих працях [139].

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гострі порушення мозкового кровообігу, основу яких складає ішемічний інсульт є основною причиною смертності і важкої інвалідності в усьому світі. У даній роботі нами простежено морфологічні зміни судин, як деструктивні, так і компенсаторно-репаративні зміни, такі як артеріогенез, ангиогенез, васкулогенез, які лежать в основі ремоделювання судинного русла і відіграють важливу роль у відновлювальному періоді мозкового інсульту на що вказують багато дослідників [140, 141].

Вважається, що пост-ішемічний ангиогенез відіграє важливу роль у відновленні кровотоку в уражених областях головного мозку, а новоутворені судини в ішемічній прикордонній зоні можуть сприяти відновленню тканин за рахунок відновлення клітинного метаболізму в нейронах, що забезпечить їм необхідну нейротрофічну підтримку [142]. Розуміння механізмів, що лежать в основі ремоделювання судин після гострої ішемії головного мозку, є критичним кроком на шляху до розробки ефективних методів лікування ішемічного інсульту [143].

Проведені дослідження показали, що після розвитку інсульту, поряд з незворотними тканинними змінами, досить швидко розвиваються процеси, які спрямовані на відновлення порушеного кровообігу. При цьому на відновлення кровотоку впливають два ключові параметри: наявність колатералей і здатність судин до ремоделювання і продукування ангиогенних факторів. Вважається, що після інсульту відбувається спонтанне ремоделювання судин [144], за винятком випадків з порушенням тканинної перфузії, а також станів пов'язаних з віком і наявністю коморбідних станів [145]. Даний факт необхідно враховувати при аналізі виявлених нами змін, так як група померлих з ішемічними інфарктами, яка вивчається в роботі була досить неоднорідною як за віком, так за обсягом і топографією інфаркту, а також за наявністю

супутньої патології, що безумовно впливало на перебіг відновних процесів в перифокальних ділянках мозкового інфаркту.

Більшість даних, отриманих нами, за невеликим винятком, свідчать, що після розвитку інфаркту мозку структурно-функціональні передумови до судинного ремоделювання розвиваються з перших днів захворювання. Найбільш ранні зміни, які спрямовані на поліпшення кровопостачання перифокальних ділянок мозкового інсульту полягали в компенсаторному посиленні кровообігу за рахунок збільшення діаметра капілярів, посиленні колатерального кровообігу и збільшенні довжина капілярної мережі.

Дослідження діаметру капілярів в півкулі на стороні ураження показав що на 3 добу реєструється збільшення цього показнику в 1,4 рази. В контрлатеральній півкулі також визначалося збільшення діаметру капілярів. Зі збільшенням терміну хвороби діаметр капілярів поступово знижувався до контрольних значень, однак навіть у віддалені терміни він був збільшеним в порівнянні з контрольними спостереженнями, що може бути обумовлено терапією, яка проводилася хворим. З перших діб захворювання також визначалася ділятація піальних судин і радіальних артерій, що документовано нами при обчисленні індексу Керногана. Як діаметр капілярів, так і індекс Керногана широко використовується при дослідженнях структурно-функціональних особливостей мікросудин різних органів [146-148]. Ці показники, поряд зі щільністю функціонуючих капілярів мають найбільшу інформативність для визначення характеру судинної реакції, так як вони більшою мірою характеризують інтенсивність транскапілярного кровотоку і реактивність окремих ланок мікроциркуляторного русла, а також є найбільш лабільними характеристиками стану мікросудин в умовах порушеного кровотоку. Ми вважаємо що ділятація піальних судин і радіальних артерій виявлена нами в гострому періоді інфаркту мозка є первинною ланкою судинного ремоделювання необхідного для посилення колатерального кровотоку. В дослідженнях останнього часу саме колатеральному кровотоку приділяється велике значення. Вважається, що стан колатерального

кровообігу є предиктором зростання інфаркту і формування кінцевого обсягу інфаркту [149].

Нещодавні дослідження показали, що відсутність колатералей корелює з великим кінцевим об'ємом інфаркту і гіршим довгостроковим функціональним результатом у пацієнтів [150]. Розглядаючи шляхи колатерального кровообігу необхідно сказати про лептоменінгеальні шляхи внутрішньочерепних артерій - це первинні шляхи (коло Вілліса). Однак, коло Вілліса як важливий елемент колатерального кровообігу в мозку може підтримувати перфузію тільки при оклюзії артерії великого діаметру. Якщо порушується кровообіг в дистальних гілках основних внутрішньомозкових артерій коло Вілліса не може компенсувати зменшення кровотоку. У наших спостереженнях в більшості випадків відзначалося порушення кровообігу саме в дистальних гілках основних внутрішньомозкових артерій (емболічні інфаркти в даній роботі не розглядалися). Закупорка цих відділів інтракраніальних судин, ймовірно пов'язана з високою частотою фібриляції передсердь, що за клінічними даними в досліджуваних нами випадках реєструвалося в 57 %. Зазначена патологія є досить частим джерелом розвитку інсульту за даними багатьох авторів [151-153].

На важливу роль лептоменінгеальних анастомозів в регуляції реперфузії після закупорки інтрацеребральних артерій [154]. Експериментальними дослідженнями, що після оклюзії середньої мозкової артерії, відзначалося посилення лептоменінгеального колатерального кровотоку з розширенням колатералей протягом семи днів [155].

Крім того особливістю лептоменінгеальних колатералей є те, що в цих судинах кровотік здійснюється в обох напрямках, що дозволяє ретроградній перфузії суміжних територій підтримувати життєздатність клітинних елементів в ділянках «ішемічної півтіні». Ще одна важлива властивість колатеральних судин полягає в тому, що вони мають різні фенотипи ендотеліальних і гладком'язових клітин в порівнянні зі звичайними судинами [156]. Ще один важливий факт встановлено в дослідженні останніх років. Так

колатеральний кровообіг і прогноз ІМ при інфарктах з різним патогенезом також відрізняються [157].

Що стосується розширення судин перифокальної області мозкового інфаркту, артеріогенез передбачає вивільнення NO і, як наслідок, вазодилатацію [158, 159], яка позитивно повинна впливати на кровопостачання ішемізованих областей. Однак клініці часто не спостерігається поліпшення неврологічного статусу у хворих [160]. Як вважає ряд авторів, вазодилатація ефективна тільки в судинах, які не піддаються ішемії і розширення цих судин може призводити до гемодинамічного синдрому обкрадання [161]. Тому ефективна терапія повинна бути спрямована тільки на вазодилатацію колатеральних судин. Однак такий рівень специфічності впливу на судинну систему досягти поки не вдається [162]. Відтак, тільки вторинний колатеральний потік через лептоменінгіальні анастомози, як вказує ряд авторів може бути основним альтернативним шляхом підтримки кровотоку в ішемізованих областях [163] і стан лептоменінгеального колатерального кровотоку може бути незалежним предиктором наслідків інсульту.

Однак колатеральна перфузія впливає не тільки на реканалізацію артерій, реперфузію, але може призводити до геморагічної трансформації на що вказує ряд авторів [164]. У наших дослідження ми також спостерігали периваскулярні крововиливи навколо дрібних капілярів кори і в зоні ішемічної напівтіні, проте вони зустрічалися в обмеженій кількості спостережень і не мали значного поширення. Треба зазначити що колатеральний статус багато в чому залежить від здоров'я судинної мережі головного мозку [165]. У пацієнтів з ішемічним інсультом наявність супутньої патології, а також вік пацієнтів може суттєво знижувати ефективність колатерального кровотоку. Ступінь атеросклеротичного ураження і еластичність судин також корелюють з якістю колатеральних церебральних артерій [166, 167]. Дослідження останніх років показали, що вазоактивні властивості лептоменінгеальних артеріол відрізняються в умовах нормального і підвищеного артеріального

тиску, а також при старінні. Тому ці фактори можуть істотно знижувати активність вазодилататорних реакцій, що сприятиме більшому дефіциту перфузії і зменшенню обсягу ішемічної півтіні [168]. Також наявність гіперглікемії під час артеріальної оклюзії може несприятливо впливати на результат інсульту [169].

Поряд з дилатацією судин, розкриттям колатералей зі збільшенням кровотоку ішемізованих областей в перифокальних ділянках вогнища некрозу виникають і прогресують процеси які не сприяють відновленню кровотоку. В перші 3 доби хвороби нами відзначалися тромбози судин м'якої мозкової оболонки, стаз еритроцитів, лейкостаз, що веде до неефективності колатерального кровотоку і кровозабезпечення перифокальних ділянок мозкового інфаркту. При цьому порушення реології крові може бути прямо пов'язане зі ступенем неврологічного дефіциту. Так в роботах по вивченню реології крові у хворих з гострим ішемічним інсультом показано значні зрушення гемореологічних параметрів. Підвищується в'язкість крові, агрегаційна активність еритроцитів, знижується деформованість еритроцитів [170].

Поряд з колатеральним кровообігом в периінфарктній області активуються процеси неоваскуляризації [171], які також є важливим проявом судинного ремоделювання.

У роботах по вивченню ішемічного ураження головного мозку новоутворення судин виявлено в півтіні області інфаркту на експериментальних моделях інсульту, а також в мозку пацієнтів [172, 173]. При цьому автори вказують на позитивну кореляцію між виживанням пацієнта і щільністю мікросудин [173]. Для оцінки ангіогенезу, часто використовують вимірювання щільності мікросудин (кількість мікросудин на одиницю площі) на визначеній території, що було проведено і в нашій роботі.

Проведене нами дослідження виявило, що вже в ранні терміни спостерігалось збільшення щільності мікросудин. На 3 добу щільність судин в порівнянні з контрольними показники була збільшена на 16,66 %, на 7 добу -

на 23,8 %. Щільність мікросудин залишалася збільшеною і через 14 днів після церебральної ішемії на кордоні ішемічного ядра (збільшення на 19,04 %) і, як повідомляється деякими авторами, це може бути пов'язано зі збільшенням кількості макрофагів [174]. В подальші терміни нами відзначено зниження щільності судин за рахунок спадіння і подальшим їх склерозуванням.

Порівняння показників щільності судин і ІКр (рис. 4.25 і 4.26), доводить що незважаючи на односпрямовані зміни двох показників – зростання до 7 доби післяінсультного періоду, показник щільності судин є більш консервативною ланкою судинного ремоделювання по відношенню до індексу кровопостачання, який в більшій мірі залежить від посилення колатерального кровотоку.

Також відзначено збільшення довжини профілів капілярів. На 3 добу ці значення збільшувались в 1,11 рази в контрлатеральній і в 1,3 рази в іпсилатеральній півкулі на незначному віддаленні (до 4-5 мм) від вогнища інфаркта. На 7 добу довжина капілярної мережі була збільшена в 1,13 рази відповідно до контрольних значень. На 7 добу в судинах перифокальної зони збільшувалась щільність розташування ядер ендотеліальних клітин (на 5,5 %), що вказувало на проліферацію останніх. В літературних джерелах можна знайти вказівку на зовнішнє ремоделювання раніше існуючих взаємопов'язаних артеріол після артеріальної оклюзії яке відбувається за рахунок проліферації і ендотеліальних клітин і гладких м'язів судин [175].

Таким чином, отримані нами зміни по збільшенню щільності капілярів, індексу кровопостачання, індексу Керногана, довжини капілярної мережі опосередковано, а часто і прямо вказують на розвиток в ранні терміни мозкового інфаркту процесів судинного ремоделювання, які можна розглядати як адаптивну реакцію судинного русла по компенсації порушеного кровообігу, яка в більшій мірі розвивається в перифокальних участках мозкового інфаркту. В контрлатеральній півкулі також можна виявити збільшення деяких показників посиленого кровообігу.

Одним з факторів активації ангіо- і артеріогенеза також слід зазначити розвиток запальних змін. Однак нейрозапалення може призводити як до позитивних, так і до негативних процесів відновлювального періоду мозкового інсульту. Також значення має склад лейкоцитарних інфільтратів. У наших дослідженнях в терміни до 3-х діб ми досить часто визначали наявність лейкоцитарних агрегатів як в судинах мікроциркуляції, так і в великих артеріолах. Це супроводжувалося процесами лейкодіapedезу, формуванням лейкоцитарних периваскулярних муфт, лейкоцитарною інфільтрацією стінки артеріол (розділ 3, рис. 3.1.6А,; 3.1.11; 3.1.12). Виявлені зміни були характерні для великих інфарктів з несприятливим перебігом (тривалість хвороби 1-3 доби). Як показано в ряді досліджень наявність лейкостазу і нейтрофільної інфільтрації корелює з поганим неврологічним результатом [176], оскільки рекрутування і активація запальних клітин в постішемичній тканині можуть прискорювати розвиток і обсяг інфаркту головного мозку [177]. У більш ранніх дослідженнях на моделі експериментального інфаркту мозку поліморфноядерні лейкоцити були виявлені в капілярах і венулах мозку вже через 30 хвилин після артеріальної оклюзії. Максимальна кількість внутрішньосудинних нейтрофілів відзначалося через 12 годин, а в паренхімі мозку максимальне їх кількість визначалася за даними низки дослідників через 2-3 доби [178]. І саме окклюдія нейтрофілами судинного русла може відігравати важливу роль у наслідках ІМ. В роботі останніх років, низка авторів продемонстрували відсутність відновлення кортикального кровотоку незважаючи на успішну тромболітичну реканалізацію. Як було показано, завдяки використанню двухфотонної візуалізації *in vivo*, це відбувається через обструкцію мікросудин (близько 20-30 % капілярів в ядрі інфаркту і півтіні) нейтрофілами, прикріпленими до дистальних сегментів капілярів [179]. І навпаки виснаження нейтрофілів знижує руйнування гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) і підсилює неоваскуляризацію через 14 днів [180]. Показано, що тяжкість інсульту під час надходження до лікарні, а також з первинним несприятливим функціональним результатом асоціюється зі збільшенням

відношення кількості нейтрофілів до лімфоцитів [181]. Поряд з цим встановлено що нейтрофіли можуть виконувати ангиогенну функцію, вивільняючи проангиогенні чинники, такі як VEGF [182]. Нейтрофіли також є місцем зберігання матриксних металопротеїназ (ММП) при цьому нейтрофіли є єдиними клітинами в організмі, які можуть вивільняти ММП-9 без його ендogenousного інгібітору - тканинного інгібітору металопротеїнази і, отже, здатні доставляти високоактивну ММП-9 до ангиогенних ділянок [183, 184]. Все таки ряд авторів, вивчаючи процеси нейрозапалення після ішемічного інсульту вважає, що механізм нейросудинного відновлення, викликаний нейтрофилами, в значній мірі невідомий [185].

Поряд з цим за даними Arras M. с соавт. [186] зростаючі колатералі характеризуються саме наявністю інфільтруючих моноцитів / макрофагів в просвіті і в периваскулярному просторі. Після інфільтрації моноцитів і макрофагів в місця колатеральних судин відбувається структурний процес ремоделювання, який призводить до дозрівання і розширення колатеральних артерій [187]. Таким чином характер клітинного представництва в запальних інфільтратах має певний вплив на процеси ангио- і васкулогенезу. При аналізі щільності судин і клітинного інфільтрату (розділ 4) нами виявлено що в участках вираженої лейкоцитарної інфільтрації також збільшувалася експресія CD 34. Так щільність судин через 3 і 7 діб по відношенню до 1 доби збільшувалася відповідно в 1,26 і 1,37 разів. При цьому виразність лейкоцитарної інфільтрації збільшувалася відповідно в 1,6 і 2,36 рази, що опосередковано доводить на позитивний вплив лейкоцитарної інфільтрації на процеси ангиогенезу. З 7 доби нами відмічена гістіоцитарна реакція навколо дрібних артеріол; навколо функціонуючих судин зростала кількість гематогенних макрофагів, які також можуть виступати в якості регуляторів артеріогенезу [188]. Обговорюючи дані зміни, доцільно зіслатися на роботу Yu S.W. зі співавт. які показали, що ангиогенез, викликаний ішемією характеризується тимчасовою популяцією мікрососудів та фагоцитарних макрофагів і основна роль ангиогенезу полягає у видаленні некротичного

мозгового детриту [189]. Авторами було показано, що між 30 і 90 днями реперфузії гіперщільність судин, розташованих на кордоні з інфарктною кістою значно регресувала, з подальшим більш поступовим регресом між 90 і 165 днями. Тому отримані нами дані з редукції судинного русла на 30 добу і в більш пізні терміни можна також пояснити тимчасовим формуванням значної щільності судин в перифокальній зоні інфаркта на 7-14 добу.

Загалом дані літератури щодо впливу лейкоцитарної інфільтрації на характер відновних процесів після ішемічного інсульту суперечливі. З одного боку інфільтрація імунними клітинами може опосередковувати апоптоз нейронів і посилювати ішемічне пошкодження, але також може сприяти відновленню, диференціюванню і регенерації нейронів [190]. Тому дане питання передбачає свого подальшого вивчення.

Вивчаючи процес постінфарктного ангиогенезу, закономірно постає питання про терміни початку даного процесу. Дати однозначну відповідь на це питання досить складно. У нашому дослідженні даний процес приурочений орієнтовно до 7 доби. Низка авторів спостерігали ангиогенну активність через 3-4 доби після інсульту [168]. В більш пізніх дослідженнях відзначено, що ангиогенез спостерігається протягом 4-7 днів на кордоні ішемічного ядра і перифокальної області [191]. В експериментальних дослідженнях після ішемічного інсульту кількість судин значно збільшувалася через 3 дня, а кількість проліферуючих ендотеліальних клітин збільшувалася вже через 1 день. Проростання капілярів і зростання нових судин відзначається протягом, як мінімум, 3 тижнів в прикордонних областях ішемічного інсульту.

Різні терміни активації ангиогенезу можуть залежати від безлічі причин. Впливати на вираженість ангиогенезу може різна ступінь атеросклеротичної оклюзії судин, що спостерігалася у померлих хворих в нашому дослідженні. Так при вивченні формування нових судин Liang M. зі співавт. було виявлено, що при стенозі до 70 % не відзначається активація ангиогенезу, тоді як при важкому стенозі і повній оклюзії зазначалося посилення ангиогенезу

відповідно на 15,8 і 53,7 %, тобто повна ішемія сприяє більш активному ангиогенезу [192].

Аналізуючи процес новоутворення судин після розвитку ішемічного інфаркту, зважаючи, на його позитивну роль, все ж таки складно оцінити прогностичне значення посилення ангиогенезу і процесу реорганізації судинного русла в цілому, в плані поліпшення неврологічного статусу пацієнтів. По-перше в нашому дослідженні середній вік померлих хворих становив $71,52 \pm 10,12$ у чоловіків і $74,76 \pm 9,1$ років у жінок (максимальний вік пацієнта в наших дослідженнях був 91 рік) і як вказує низка авторів старіння може суттєво впливати на пост-ішемічний ангиогенез [193]. Також у всіх спостереженнях нами відзначалися морфологічні прояви ішемічної енцефалопатії, чому також сприяли наявність супутньої серцевої патології (перенесений інфаркт міокарда, різні форми порушення ритму серця), а також цукровий діабет і наявність гострих порушень мозкового кровообігу в анамнезі хворих. Наявність хронічної недостатності мозкового кровообігу у більшості хворих вже ініціювало процеси новоутворення судин в ділянках мозку зі значною редукцією кровотоку ще до розвитку інсульту, як прояв загальнобіологічної реакції на хронічну церебральну ішемію. На підтвердження цього висновку можна навести роботи низки дослідників, які в експерименті з хронічною помірною гіпоксією спостерігали суттєве збільшення васкуляризації (> 50 % збільшення щільності судин) у всіх областях мозку [194, 195]. Стимуляція ремоделювання судин відзначена також при хронічній гіпоксії в спинному мозку [196]. Значні зміни морфометричних показників судин, що лежать в основі судинного ремоделювання відзначено деякими авторами при дисциркуляторно-ішемічній і діабетичній енцефалопатіях [197, 198]. Хронічна гіпоксія поряд з ремоделюванням капілярів викликає також генерацію нових артеріол, тобто відзначається ремоделювання на всьому протязі судинного русла [199]. Тому при розвитку інфаркту мозку, виникаючі зміни судинного русла нашаровуються на вже

існуючі зміни, що призводить до більш або менш виражених морфологічних проявів процесів реорганізації в перифокальних ділянках інфаркту мозку.

Морфологічною особливістю процесу організації інфаркту в наших спостереженнях було новоутворення в просвіті артерій більш дрібних судин - перекалібровка судин. Як правило, такі зміни внутрішньомозкових артерій є хронічним процесом, які свідчать про адаптивні реакції судин у відповідь на скорочений кровотік, обумовлений вираженим стенозом і / або гіалінозом більш проксимально розташованої судинної магістралі. Такі зміни описують у хворих на цукровий діабет [200]. У наших дослідженнях новоутворення судин відбувалося у відповідь на активне виділення ангіогенних факторів неураженим ендотелієм, що підтверджувалося посиленням експресії CD34 і MMP-9 в дрібних новостворених судинах в просвіті крупних артерій.

Проведені імуногістохімічні дослідження підтвердили наявність активних процесів судинного ремоделювання в перифокальних участках мозкового інсульту в динаміці захворювання. Дослідження показали, що після руйнування дрібних судин в першу добу після розвитку інсульту, в перифокальних зонах мозкового інфаркту на 3 добу хвороби реєструється значна експресія CD34 і підвищення індексу кровопостачання, що свідчить про посилення колатерального кровотоку. На 7 і 14 добу активація ангіогенезу і васкулогенезу з формуванням ендотеліальних проліфератів і брукнування мікросудин документується максимальними показниками площі експресії CD34 і CD105 (маркер активованих ендотеліальних клітин).

Важливою особливістю змін на 7 і 14 добу є експресія CD34 в окремих клітинах які вільно розташовувалися в паренхімі мозку, або які формували осередки збільшеної щільності. Кількість таких клітин поступово збільшувалася вже з 3 доби. Враховуючи, що CD34+ клітини є загально відомим маркером не тільки зрілих, а й ендотеліальних клітин-попередників, то збільшення їх кількості свідчить про їх активну роль в процесах ангіогенезу. У літературі можна зустріти достатню кількість відомостей про роль ендотеліальних клітин-попередників в підтримці васкуляризації після

ішемічного інсульту [201,202]. Дослідженнями останніх років встановлено, що циркулюючі CD34-позитивні клітини необхідні для активації відновлення ендотелію [203], вони є також джерелом факторів зростання, ангиогенезу [204] і ймовірно, збільшують активність матриксної металопротеїнази [205]. З підвищеними рівнями циркулюючих ендотеліальних клітин-попередників зменшується зростання інфаркту, спостерігається поліпшення неврологічного статусу у пацієнтів після гострого ішемічного інсульту [206, 207]. Taguchi A. зі співавт., спостерігали збільшення рівня CD34 + клітин на 7 добу після розвитку інсульту. Таке збільшення реєструвалося до 14 доби з подальшим зниженням і поверненням показників до початкової рівня (доінсультного рівня) на 30 добу [208]. Аналогічні зміни виявлені і в наших дослідженнях.

Дослідження експресії васкулоендотеліального фактору росту (VEGF-A) і його рецепторів VEGFR-2 показали підвищення рівня експресії VEGF з першої доби захворювання. Експресія VEGF різної інтенсивності визначалася практично на всіх клітинних елементах мозку – нейронах, астроцитах, ендотелії, що підтверджується дослідженнями інших авторів [209].

VEGF з різних клітинних джерел зв'язується з його рецепторами на сусідніх судинних ендотеліальних клітинах, щоб безпосередньо ініціювати ангиогенну відповідь [142]. Динаміка експресії VEGF в наших дослідженнях фактично відповідала динаміці експресії CD34. В перифокальній області мозкового інфаркту через 1 добу значна експресія VEGF відзначена нами в нейронах в порівнянні з іншими клітинними елементами. Літературні дані також підтверджують значний зв'язок нейронів з VEGF. Так на підставі імуногістохімічного дослідження показано, що 37,1 % життєздатних нейронів в зоні інфаркту були пов'язані з білком VEGF, що більш ніж в чотири рази вище ніж у контрольних спостереженнях [210]. В дослідженнях Yang Z.J. зі співавт. білок VEGF значно збільшував асоціацію з нейронами в перифокальних областях інфаркту через 3 дні [211]. Отримані нами дані показали, що площа експресії VEGF досить швидко зростала до 7 доби хвороби з подальшим її зниженням. З 21 доби і в подальші терміни

інтенсивність і площа експресії VEGF значно знижувалася і визначалася в участках формування кісти. В цих же участках визначалася значна інтенсивність експресії в фіброзних астроцитах, що формували навколо кісти гліомезодермальний рубець. В віддалені терміни інфаркта в краї кісти інтенсивність експресії VEGF була вкрай низькою, практично співмірною з контрольними спостереженнями.

Будучи важливим регулятором ангиогенезу VEGF може надавати і негативний ефект на перебіг інсульту. У гостру фазу розвитку інсульту підвищена експресія VEGF може сприяти руйнуванню гематоенцефалічного бар'єру і підвищенню проникності, що незмінно призведе до набряку, порушенню гомеостазу, лейкоцитарної інфільтрації [212]. Саме в гостру фазу інсульту, через 1 і 3 доби, площа експресії VEGF в наших спостереженнях була значно високою, вона відповідно в 17,61 і 22,46 рази була вище в порівнянні з контрольними спостереженнями. В ці терміни відзначалися максимальні набряклі зміни, процеси ексудації і лейкоцитарної інфільтрації, що безумовно сприяло фатальному наслідку у пацієнтів, померлих через 1 і 3 доби від початку ішемічного інсульту.

Літературні дані стосовно рівня експресії VEGF незначно різняться між собою. Так за даними Marti H.J. зі співавт. значно підвищена експресія мРНК VEGF і білка реєструвалася в пенумбрі після експериментальної церебральної ішемії через три години після ішемічного інсульту і тривала 3-7 діб після інсульту [213]. Також виявляли двостороннє збільшення імунореактивності VEGF в нейронах і кровоносних судинах до 1 доби після експериментальної постійної і транзиторної ішемії мозку. До 3 доби імунореактивність була обмежена головним чином стороною поразки, де реакція була найбільш помітною в перифокальних зонах інфарктів [214]. В ці терміни також збільшувалася експресія VEGFR1 і VEGFR2.

В роботі Kim E. з співавт. показано що інсульт викликав ранню експресію мРНК VEGF-A через 6 годин і підвищення експресії мРНК VEGFR2 зберігалася через 6 ч і 3 дні після інсульту [215].

Дослідження рівня VEGF в сироватці крові у пацієнтів з ішемічним інсультом також реєструє значно підвищений його вміст [216, 217], а терміни максимальної експресії VEGF відзначаються через 7 днів після інсульту і залишаються значно збільшеними через 14 діб після інсульту [218]. Отримані нами дані в більшості збігаються з наведеними літературними даними.

Аналогічна спрямованість експресії відзначена нами і з боку VEGFR2. До 7 доби площа експресії збільшується, однак інтенсивність і площа значно менша у відповідні періоди хвороби, що пояснюється переважною експресією VEGFR2 в ендотеліальних клітинах і найбільш вона виражена все ж таки в перифокальних участках інфарктів.

Досліджуючи процеси ангиогенеза не можна не погодитися з думкою ряду дослідників які вважають, що VEGF-A є важливим, але не єдиним фактором активації ангиогенезу. В умовах нестачі VEGF-A або самі ендотеліальні клітини, або клітини мікрооточення здатні компенсувати його функціональне навантаження за рахунок продукції інших ростових факторів [219].

Процеси судинного ремоделювання тісно пов'язані з ремоделюванням позаклітинного матриксу. Передумови для останнього створюються в ранніх термінах ішемічного інфаркту в умовах підвищеної судинної проникності і лейкоцитарної інфільтрації перифокальних ділянок некротичних вогнищ. Лейкоцити, які мігрують в зону некрозу, стають джерелом матриксних металопротеїназ. Серед безлічі прозапальних цитокінів при інфаркті мозку значиму роль у розвитку пошкодження мозкової тканини займає матриксна металопротеїназа-9 (ММП-9). Проведені нами дослідження показали, що вже з першої доби визначалася виражена експресія ММП-9. В більшості випадків вона залежала від виразності дисциркуляторних порушень, судинної проникності та нейрозапалення.

Значна експресія ММП-9 визначалася нами в ділянках перекалібрування артерій. Порівняння площ експресії ММП-9 з експресією CD34 і VEGF в певні проміжки часу показало, що посилення експресії ММП-9 є найбільш ранньою

реакцією гостого періоду ішемічного інсульту. Ймовірна така реакція несприятливо позначається на наслідки інсульту. Аналіз літературних джерел з цього питання доводить що рівні MMP-9, які виміряні через 6 годин після надходження, передбачали зростання інфаркту і геморагічну трансформацію [220]. В дослідженнях Park K.P. зі співавт. також встановлено що експресія MMP-9 відбувається протягом першої доби від початку мозкового інсульту і відіграє істотну роль у формуванні ішемічного вогнища ушкодження [221], а також може спровокувати геморагічну трансформацію інфаркту. Так через 6 годин після оклюзії церебральної артерії деградація базальної мембрани спостерігалася через 10 хвилин після реперфузії, а втрата базальної мембрани була виявлена вже через 1-3 години після ішемії [222]. Проте подавлення MMP-9, хоча і потенційно корисно для зниження ризику геморагічної трансформації може також погіршити постінсультне ремоделювання судин і погіршити відновлення неврологічного стану. Дійсно, інгібування MMP-9 через 24-48 год після інсульту погіршує результат в моделях на тваринах [223].

Таким чином активація протеаз, також як і VEGF може відігравати двояку роль в наслідках інсульту: здійснювати негативний вплив на початкових стадіях, але з часом відігравати важливу роль в ангіогенезі і ремоделюванні судин, на що вказує низка авторів [224, 225].

Вивчення судинних змін в динаміці постішемічного періоду показало основну спрямованість процесів організації перифокальних ділянок ішемічного інфаркту. Однак значна частина досліджень останніх років з проблеми інсульту присвячена вивченню більш тонких механізмів і структурних змін мікросудин і навколосудинного оточення, що розкривають механізми реорганізації і адаптації нервово-судинного блоку [226-228]. В умовах чистого експерименту нами прослідковані ультраструктурні зміни судин і навколосудинного простору в різні терміни експериментального інфаркту.

Найбільш ранні ультраструктурні зміни супроводжувалися периваскулярним набряком, який біля окремих капілярів і дрібних артеріол

визначався до 3 діб спостереження. Біля зруйнованих судин набряк реєструвався і в більш пізні терміни (до 7 доби і більше). Реєструвався і набряк ендотелію який призводив до вакуолізації внутрішньоцитоплазматичних мембранних структур, набухання мітохондрій з руйнуванням крист і просвітлінням мітохондріального матриксу. Розвиток набряку ендотелію, як вказує ряд авторів, при експериментальній вогнищевій ішемії головного мозку спостерігається вже через 30 хвилин [229]. В процес набряку практично завжди залучалися і астроцити як важливий компонент гематоенцефалічного бар'єру. В цитоплазмі астроцитів виявлялися різної тяжкості ультраструктурні ушкодження. Вважається, що після гострого пошкодження головного мозку ендотеліальні клітини і астроцити піддаються програмі пре- і посттранскрипційних змін активності іонних каналів і переносників. Ці зміни можуть призвести до дезадаптивного переносу іонів та виникнення аномальних осмотичних сил, які, як правило, проявляються у вигляді набряку мозку [230]. Як свідчать дані літератури, в деяких випадках набухання астроцитів достатнє щоб повністю стиснути просвіт судини. При цьому набряк зазвичай покриває, принаймі, половину базальної пластинки і поширюється від 0,5 до 1 мкм в паренхіму [231]. Аналогічні зміни наблюдалися в наших спостереженнях.

В зоні інфаркту і в меншій мірі на кордоні з інфарктним ядром відзначалися деструктивні зміни капілярів з руйнуванням базальних мембран. Деструктивні зміни базальних мембран реєструвалися вже на 1 добу після розвитку інсульту. Літературні дані також свідчать про досить ранній розвиток пошкодження базальних мембран, який проявляється в терміни від 24 до 72 годин [222]. Ультраструктурні зміни базальних мембран проявлялися у вигляді ділянок нерівномірної товщини, електронної щільності, наявності електроннощільних включень, розмиття контурів мембрани на окремих ділянках. Подібні ультраструктурні зміни після ішемії описані в роботі Nahirney P.C зі співавт. [232]. При цьому автори вказують, що розширення базальної мембрани тісно пов'язане зі ступенем ішемії.

Механізми ушкодження базальних мембран достатньо складні і на даний час активно вивчаються [233]. Так з'ясовано, що після інсульту відзначається підвищена продукція запальних цитокінів, активних форм азоту і кисню, що може запускати секрецію MMP-9 і активацію про-MMP-9, які ймовірно здатні зв'язувати основні білки базальної мембрани, такі як фібронектин, колаген IV і ламінін і специфічно їх перетравлювати [224]. Збільшення в наших спостереженнях експресії MMP-9 вже з першої доби після розвитку інсульту може підтверджувати даний механізм ушкодження базальних мембран. В процесах порушень ГЕБ з розвитком набряку, окрім MMP-9 важливу роль також відіграє фактор росту ендотелію судин (VEGF) [234].

Поряд з деструктивними змінами внутрішньоклітинних структур відзначалися зміни з боку клітинних контактів. Вважається, що руйнування міжклітинних контактів призводить до прогресування набряку мозку, однак часто значні зміни в ендотеліальних клітинах і навколосудинного простору не супроводжувалися змінами міжклітинних контактів, які зберігали свою структуру. Літературні дані також свідчать, що щільні з'єднання між клітинами залишаються неушкодженими до 24 годин після інсульту, не дивлячись на те, що підвищення проникності судин з розвитком набряку відзначається протягом 6 годин. Підвищення судинної проникності автори пов'язують зі збільшенням ендотеліальних везикул, ідентифікованих як кавеоли [235]. Останні в своєму складі мають білки рецептор-незалежного ендоцитозу - кавеоліни. Вважається, що саме кавеоліни відіграють важливу роль в регуляції проникності гематоенцефалічного бар'єру [236]. У наших дослідженнях також спостерігалися випинання, інвагінації в плазматичній мембрані з формуванням везикул на просвітній і аблюмінальній поверхні ендотелію, діаметром до 50-80 нм - кавеоли. У таких спостереженнях в периваскулярному просторі відзначався виражений набряк, в цитоплазмі ендотелію зазначалася поява безлічі везикулярних структур, проте базальна мембрана судин на більшому протязі зберігала однорідність і чіткі контури. Дані літератури свідчать, що саме ендотеліальні везикули є кращими

просторовими і тимчасовими індикаторами руйнування гематоенцефалічного бар'єру після церебральної ішемії. Інсульт та генотип не впливали на структуру щільних контактів, візуалізовану за допомогою електронної мікроскопії [231].

На 14 добу структура ендотеліальних клітин і периваскулярних астроцитів відновлювалася. Зазначається гіперплазія внутрішньоцитоплазматичних структур, збільшення мітохондрій, відновлюється ультраструктура міжклітинних контактів. Реєструється наявність значної кількості фаголізосом в клітинах навколосудинного оточення і в цитоплазмі перицитів. Накопичення аутофагосом відзначають в ендотеліальних клітинах іпсилатеральній і контралатеральній півкулях після ішемії. Вважається, що аутофагія грає ключову роль в управлінні гомеостазом клітин за рахунок деградації цитозольних компонентів за допомогою аутофагосомно-лізосомного шляху [237]. Надмірна аутофагія може руйнувати важливі компоненти клітини і викликати загибель клітин [238], проте до цих пір невідомо, чи є посилення аутофагії частиною виживання або загибелі клітин в ішемічному середовищі. Значна кількість фаголізосом відзначалася нами і в клітинах навколосудинного оточення і в цитоплазмі перицитів. Фагоцитуючі клітини зміщувалися до функціонуючих капілярів. На фагоцитарну активність астроцитів і перицитів після інсульту вказують численні роботи останніх років [239, 240].

На 21 добу і більш пізні терміни в навколосудинному просторі визначалася значна кількість фібрилярних структур. Такі зміни свідчили про розвиток репаративного астрогліозу, який розвивався в перифокальних участках незворотніх ішемічних змін. Морфо-функціональна оцінка таких змін в наукових джерелах досить суперечлива. Частина авторів вважає, що гліальний рубець який утворюється в зонах ішемічного ураження може сприяти посиленню запалення і створювати токсичне мікрооточення, яке гальмує міграцію аксонів і перешкоджає довгостроковому відновленню рухової функції. Інша точка зору розглядає реактивний астрогліоз в якості

позитивного процесу, який може запобігати розширенню ішемічного ядра і здійснювати позитивний вплив на неврологічне відновлення після інсульту [241, 242]. В дослідженнях К. Науакawa зі співавт. доведено, що наявні реактивні астроцити в зоні ішемічної півтіні можуть суттєво поліпшити ремоделювання судин нервової системи і сприяти функціональному відновленню після інсульту [243].

Таким чином проведене дослідження виявило певну динаміку процесів судинного ремоделювання в перифокальних участках мозкового інфаркту. Вивчаючи судинні зміни, які супроводжують перебіг ішемічного інфаркту мозку можна відзначити, що розвиток інфаркту безумовно в будь-якому випадку призведе до ремоделюванню судинної мережі в периінфарктній області, але як показує ряд авторів, при цьому залишається не ясно, чи впливає ремоделювання судинної мережі на одужання [244].

Процеси судинного ремоделювання, навіть при оцінки морфологічних змін в однорідній групі померлих, можуть відрізнятися значним різноманіттям. Вони залежать від безлічі причин: обсягу і темпів формування інфаркту, ступеня стенозу магістральних екстра- та інтракраніальних артерій, стану колатерального кровотоку і загальної гемодинаміки, реологічних властивостей крові, та інших факторів. Тільки сукупність безлічі чинників визначають локалізацію, величину і характер ішемічного ушкодження, розміри ішемічної півтіні, а також процеси реорганізації судинного русла в динаміці відновлювального періоду. Проведене дослідження показало, що реакції мікросудин та оточуючих їх структур в кожен період часу є ні одночасними, ні однорідними, що цілком узгоджується дослідженнями останніх років. Так при експериментальному вивченні судинної пластичності при інсульті встановлено, що утворення капілярів найбільш поширене в регіонах, де функціонуюча судинна мережа погано компенсує зниження кровотоку. Навпаки, області, в яких кровотік може підтримуватися і відновлюватися залишковими судинами, ймовірно, мають невелику судинну пластичність. Таким чином, автори роблять висновок що поширеність

судинної пластичності і її внесок в одужання будуть залежати від тяжкості перинфарктного дефіциту кровотоку і розміру ішемічної півтини [244].

Фактори які беруть участь в ангіогенезі також в певний часовий проміжок можуть надавати позитивний вплив або давати негативні ефекти. Так активація ММП-9 в ранньому періоді інсульту може посилити геморагічну трансформацію, в пізньому періоді - підсилює процеси ангіогенезу. Взаємодія VEGF з VEGFR-2 індукує ангіогенне проростання, але поряд з цим VEGF опосередковує підвищену проникність судин і руйнування гематоенцефалічного бар'єру за допомогою збільшення внутрішньоклітинного кальцію [245], а також надмірні рівні VEGF на ранній стадії після інсульту можуть сприяти розвитку нейродегенерації. [246]. Також низка авторів вважає, що ангіогенез який включає в себе проліферацію ендотеліальних клітин і утворення нових судин, потенційно може збільшити загальний опір судинного русла ураженої артерії [247], і, таким чином, може мати обмежене значення для швидкого функціонального заміщення закупорених артерій. Тому субстрат артеріогенеза, яким є колатеральний кровообіг грає вирішальну роль у визначенні результату і тяжкості ішемічного ушкодження. З цієї точки зору розуміння анатомії і регуляції колатералей має важливе значення для розробки ефективних втручань при інсульті [4].

Проведене дослідження показало що процеси ремоделювання судинної системи в перифокальних участках мозкового інфаркту досить складні, залежать від безлічі факторів, які іноді складно врахувати, а морфологічні зміни в певний період часу складно інтерпретувати в плані прогнозу по відновленню неврологічних функцій. Треба відзначити, що на даний час постінсультне ремоделювання нервово-судинної одиниці представляє собою область нейропатології яка стрімко розвивається [248-250] і розуміння механізмів і структурних перебудов, що лежать в основі процесу ремоделювання, незалежно від того, чи є воно унікальним чи загальним, є першим кроком до розвитку ефективної терапії реваскуляризації при порушеннях мозкового кровообігу.

ВИСНОВКИ

Ішемічний інфаркт головного мозку є однією з провідних причин смерті та інвалідності в усьому світі, тому особливий дослідницький інтерес направлений на вивчення стану кровозабезпечення в уражених областях головного мозку, а новоутворені судини в перифокальних ділянках ішемічного інфаркту мозку можуть сприяти функціональному відновленню тканин.

У дисертаційній роботі подано теоретичне узагальнення та вирішення актуальної задачі патологічної анатомії щодо процесів судинного ремоделювання перифокальних ділянок ішемічного інфаркту мозку, та надані об'єктивні критерії посилення васкуляризації в різні терміни ішемічного інфаркту мозку.

1. В перифокальних ділянках ІМ через 1-3 доби розгортаються значні циркуляторні і гемокоагуляційні розлади. Дрібні капіляри, діаметром 5-10 мкм, в зоні інфаркту і частково в перифокальних ділянках піддаються дезінтеграції. В судинах діаметром 50 мкм і більше, прогресують деструктивні зміни з частковим або повним руйнуванням базальної мембрани, в ендотелії прогресує каріоцитолізис.

Гемокоагуляційні розлади призводять до утворення еритроцитарних і лейкоцитарних агрегатів, рідше істинних фібринових тромбів. Розвиток стазу крові, виражений набряк з подальшим лізисом навколосудинної паренхіми без активації клітинної реакції свідчать про важкі розлади мікроциркуляції і відсутність ефективних компенсаторних механізмів забезпечення кровообігу в перифокальних ділянках ІМ.

2. На 1, 3 і 7 добу щільність судин в перифокальних ділянках ІМ в УСПЗ зростала відповідно на 16,97, 16,66 і 23,8 %; діаметр капілярів зростав відповідно на 42,39, 30,76 і 27,86 % в порівнянні з контрольними показниками. На 3 і 7 добу в 1,3 і 1,13 рази зростала довжина профілів капілярів відносно контрольних спостережень і знижувався індекс Керногана в піальних і

радіальних артеріолах, максимально в артеріолах діаметром 70-100 мкм (в 1,33 рази), що свідчило про збільшення колатерального кровотоку.

Площа ядер ендотеліальних клітин на 3, 7, 14 добу зростала в порівнянні з контрольними значеннями на 75,94 %, 2,00 % і 2,94 %.

3. Масивне руйнування дрібних артеріол і капілярів в перифокальних ділянках ІМ в першу добу призводило до зниження площі експресії CD34 і показників індексу кровопостачання. На 3 добу реєструється значне підвищення індексу кровопостачання, інтенсивна експресія CD34 відзначається в зонах з посиленою проникністю судин. З 7 доби активація ангіо- і васкулогенезу призводить до формування ендотеліальних проліфератів і брукнування мікросудин, що підтверджується зростанням експресії CD105, збільшується кількість CD34+ клітин які не зв'язані з судинами.

4. З 1 до 7 доби захворювання підвищується експресія фактора росту ендотелію судин (VEGF). На 7 добу визначається максимальна площа експресії VEGFR2. З 14 доби інтенсивність і площа експресії VEGF поступово знижувалася. Більш значна експресія визначалася в участках гліомезодермальної організації з хаотично розташованими гліальними елементами і волокнами, наявністю гематогенних макрофагів, лімфоцитів, склерозованих мікросудин. Кількісні показники свідчили про поступову редукцію щільності судин і сумарної площі просвіту артеріол за рахунок їх склерозу і перекалібрування.

5. З 1 доби реєструвалася виражена експресія ММП-9 яка в 16,27 разів перевищувала показники контрольних спостережень. Максимальні показники площі експресії ММП-9 відзначалися на 3 добу. З 7 доби площа експресії ММП-9 знижувалася, залишась високою в ділянках лейкоцитарної інфільтрації і по ходу судин.

6. Ультраструктурні зміни в перифокальних зонах ІМ впродовж 3 діб характеризувалися периваскулярним набряком, деструктивними змінами ендотелію капілярів і перицитів. Незворотні зміни мікросудин призводили до

пiкнозу ядер з подальшим їх лiзисом. Змiни клiтинних контактiв доминували в клiтинах з переважанням процесiв коагуляцiї в цитоплазми i ядрi. На 14-21 добу в ендотелiї виявлялася гiперплазiя цитоплазматичних структур, збiльшення об'єму мiтохондрiй, довжини цитоплазматичної мережi, вiдновлювалася ультраструктура мiжклiтинних контактiв. В клiтинах навколосудинного оточення i в цитоплазми перицитiв збiльшувалася кiлькiсть фаголізосом. З 21 доби в перифокальних дялянках незворотнiх iшемiчних змiн навколо судин виявлявся репаративний гліоз.

7. Морфологiчні прояви судинного ремоделювання в гострому перiодi IM в першi 3 доби характеризуються компенсаторним посиленням колатерального кровообiгу в перифокальних дялянках, збiльшенням дiаметра капiлярiв i довжини капiлярної мережi. На 3 добу реєструється максимальна площа експресiї MMP-9. З 7 по 14 добу визначається максимальне посилення ангіо- i васкулогенезу зi зростанням iнтенсивностi i площi експресiї VEGF, CD34, CD105, появою ендотелiальних проліфератiв i брункування судин. З 21 доби i в подальшi термiни вiдбувається редукація сумарної площi просвiту артерiол через їх перекалібрування, зниження щiльностi судин, дiаметру капiлярiв i площi ядер ендотеліоцитiв, що слiд розцiнювати як адаптивну реакцiю судинного русла на зниження потреби в кровозабезпеченнi дялянок органiзацiї IM на стадiї формування постiнфарктної кiсти.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При дослідженні гістологічних препаратів і аналізі танатогенезу померлих на ішемічний інфаркт мозку, в ранні терміни (1-3 доби) слід враховувати наявність ефективних компенсаторних механізмів забезпечення дієвого кровообігу в перифокальних ділянках мозкових інфарктів, що передбачає оцінку стану мікроциркуляції і наявність гемокоагуляційних порушень. Така оцінка може визначати тривалість збереження ішемічної напівтіні, а також терміни активації і вираженість процесів ангиогенезу.

2. При аналізі гістологічних змін в головному мозку померлих на ІМ, об'єктивними критеріями ефективного кровообігу слід вважати посилення колатерального кровообігу на стороні ураженої півкулі за рахунок розширення лептоменінгіальних і радіальних артерій зі зниженням показників в них індексу Керногана, збільшення щільності судин, довжини капілярної мережі і діаметра капілярів при умові наявності в них активного кровообігу.

3. Гістологічними критеріями відсутності ефективних компенсаторних механізмів забезпечення посиленого кровообігу в перифокальних ділянках ішемічного ядра слід вважати виражений набряк паренхіми без активації клітинної реакції, розвиток стазу крові, наявність еритроцитарних і лейкоцитарних агрегатів, внутрішньосудинний гемоліз, формування фібринових тромбів в мікросудинах.

4. При оцінці активації ангио- і васкулогенезу в гістологічних препаратах треба враховувати наявність в судинах мікроциркуляції ефективного кровотоку, посилену експресію маркерів неоангіогенезу і ММП-9, а також наявність брукнування судин і появу ендотеліальних проліфератів з інтенсивною експресією в цих ділянках CD34 і CD105 маркерів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Kuriakose D., Xiao Z. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2020. Vol. 21(20). P. 7609. doi:10.3390/ijms21207609.
2. Global, regional, and national burden of stroke, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 / C. O. Johnson et al. *The Lancet Neurology.* 2019. Vol. 18, no. 5. P. 439–458. URL: [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(19\)30034-1](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(19)30034-1)
3. Metabolome Changes in Cerebral Ischemia. T. H. Shin et al. *Cells.* 2020. Vol. 9, no. 7. P. 1630. URL: <https://doi.org/10.3390/cells9071630>
4. Vascular remodeling after ischemic stroke: mechanisms and therapeutic potentials. J. Liu, Y. Wang, Y. Akamatsu et al. *Prog Neurobiol.* 2014. Vol. 115. P.138-156. doi:10.1016/j.pneurobio. 2013.11.004
5. Talwar T., Srivastava M.V. Role of vascular endothelial growth factor and other growth factors in post-stroke recovery. *Ann Indian Acad Neurol.* 2014. Vol. 17(1):1-6. doi:10.4103/0972-2327.128519
6. Yang Y., Torbey M. T. Angiogenesis and Blood-Brain Barrier Permeability in Vascular Remodeling after Stroke. *Curr Neuropharmacol.* 2020. Vol.18(12). P.1250-1265. doi:10.2174/1570159X18666200720173316
7. Okyere B, Creasey M, Lebovitz Y, Theus MH. Temporal remodeling of pial collaterals and functional deficits in a murine model of ischemic stroke. *J Neurosci Methods.* 2018. Vol. 293. P.86-96. doi:10.1016/j.jneumeth.2017.09.010
8. Surugiu R., Glavan D., Popescu M., Margaritescu O., Eugen R., Popa-Wagner A. Vasculature Remodeling in a Rat Model of Cerebral Ischemia. The Fate of the BrdU-Labeled Cells Prior to Stroke. *Front Neurol.* 2018. Vol. 9. P.1014. doi:10.3389/fneur.2018.01014

9. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015. Vol.385(9963):117-171. doi:10.1016/S0140-6736(14)61682-2.

10. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics--2016 Update: A Report From the American Heart Association. Writing Group Members, D. Mozaffarian, E. J. Benjamin et al. *Circulation*. 2016. Vol. 133(4). P.447-454. doi:10.1161/CIR.0000000000000366

11. Vidale S., Consoli A., Arnaboldi M., Consoli D. Postischemic Inflammation in Acute Stroke. *J Clin Neurol*. 2017. Vol. 13(1). P.1-9. doi:10.3988/jcn.2017.13.1.1

12. Mukherjee D, Patil CG. Epidemiology and the global burden of stroke. *World Neurosurg*. 2011. Vol. 76(6 Suppl):S85-S90. doi:10.1016/j.wneu.2011.07.023

13. Heart Disease and Stroke Statistics–2017 Update: A Report From the American Heart Association. E. J. Benjamin et al. *Circulation*. 2017. Vol. 135. no. 10. URL: <https://doi.org/10.1161/cir.0000000000000485>

14. Mukherjee D., Patil C. G. Epidemiology and the global burden of stroke. *World Neurosurg*. 2011. Vol. 76(6 Suppl):S85-S90. doi:10.1016/j.wneu.2011.07.023

15. Stroke in young adults: Current trends, opportunities for prevention and pathways forward. T. Yahya, M. H. Jilani, S. U. Khan et al. *Am J Prev Cardiol*. 2020. Vol.3. P.100085. doi:10.1016/j.ajpc.2020.100085

16. George M. G., Tong X., Bowman B. A. Prevalence of Cardiovascular Risk Factors and Strokes in Younger Adults. *JAMA Neurol*. 2017. Vol. 74(6). P.695-703. doi:10.1001/jamaneurol.2017.0020

17. The Incidence, Prevalence, and Mortality of Stroke in France, Germany, Italy, Spain, the UK, and the US: A Literature Review. Y. Zhang et al. *Stroke Research and Treatment*. 2012. Vol. 2012. P. 1–11. URL: <https://doi.org/10.1155/2012/436125>

18. Ковалева Е.В. Использование молекулярно-генетических технологий в оценке риска возникновения ишемического инсульта и комплексних инструментальних подходов в диагностике и лечении у пациентов западно-сибирского региона. Дис.. докт.наук. 2019. Новосибирск. 165 с.

19. Воронцов М.М. Подтипы ишемического инсульта: острый период, факторы риска, течение, инвалидность и вторичная профилактика - Автореф. дис... канд.мед.наук. 2010. Москва. 2010. 103с.

20. Зозуля І. С. Зозуля А. І. Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні. *Укр. мед. часопис*. 2011. № 5(85). С. 38–41.

21. Гандзюк В. А. Динаміка захворюваності та поширеності хвороб систем кровообігу серед населення України на сучасному етапі: національний та регіональний аспекти. *Вісн. соц. гігієни та організації охорони здоров'я України*. 2014. № 2(60). С. 74–78.

22. Кириченко А. Г. Динаміка первинної інвалідності працездатного населення України. *Клін. та експерим. патол.* 2012. Т. XI, № 2(40). С. 52–54.

23. Котвіцька А. А., Лобова І. О. Дослідження соціально–епідеміологічних показників населення України внаслідок хвороб систем кровообігу на державному та регіональному рівнях. *Вісн. фармації*. 2012. № 4. С. 62–65.

24. Collaterals dramatically alter stroke risk in intracranial atherosclerosis. *Ann Neurol*. D. S. Liebeskind, G. A. Cotsonis, J. L. Saver et al. 2011. Vol. 69(6). P.963-974. doi:10.1002/ana.22354.

25. Osbun J. W., Kim L. J. Internal carotid artery stenting for intracranial atherosclerosis. *Methodist Debaquey Cardiovasc J.* 2014. Vol. 10(4). P.245-250. doi:10.14797/mdcj-10-4-245
26. Haruki S., Minami Y., Hagiwara N. Stroke and Embolic Events in Hypertrophic Cardiomyopathy: Risk Stratification in Patients Without Atrial Fibrillation. *Stroke.* 2016. Vol. 47(4). P.936-942. doi:10.1161/STROKEAHA.115.012130
27. Grecu N., Tiu C., Terecoasa E., Bajenaru O. Endocarditis and stroke. *Maedica (Bucur).* 2014. Vol. 9(4). P.375-381.
28. Yang M., Diaz M. Reply to the Discussion by H. Jiang and B. Fu of “Prediction of energy absorption capacity of un-cracked and cracked concrete elements through three-point bending tests”¹ Appears in the Canadian Journal of Civil Engineering, 39(10): 1161–1162 [doi: 10.1139/l2012-089]. *Canadian Journal of Civil Engineering.* 2012. Vol. 39, no. 10. P. 1163–1164. URL: <https://doi.org/10.1139/l2012-095>
29. Roeltgen D., Kidwell C. S. Neurologic complications of cardiac tumors. *Handb Clin Neurol.* 2014. Vol. 119. P.209-222. doi:10.1016/B978-0-7020-4086-3.00015-1
30. Strandberg M., Mustonen P., Taina M., Korpela J., Vanninen S., Hedman M. Etiology, diagnostics and treatment of cardiogenic stroke. *Duodecim.* 2016. Vol. 132(18). P.1625-1633.
31. Juvenile Stroke. F. Schöberl, P. A. Ringleb, R. Wakili et al. *Dtsch Arztebl Int.* 2017. Vol. 7. 114(31-32). P.527-534. doi: 10.3238/arztebl.2017.0527.
32. Acute ischemic stroke and infections. C. C. Ionita, A. H. Siddiqui, E. I. Levy et al. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2011. Vol. 20(1). P.1-9. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2009.09.011

33. Infarct Size May Distinguish the Pathogenesis of Lacunar Infarction of the Middle Cerebral Artery Territory. L. Yang et al. *Medical Science Monitor*. 2016. Vol. 22. P. 211–218. URL: <https://doi.org/10.12659/msm.896898>
34. Caplan L. R. Lacunar infarction and small vessel disease: pathology and pathophysiology. *J Stroke*. 2015. Vol. 17(1). P.2-6. doi:10.5853/jos.2015.17.1.2
35. Li R. Y., Cao Z. G., Li Y., Wang R.T. Increased whole blood viscosity is associated with silent cerebral infarction. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2015. Vol. 59(4). P.301-307. doi:10.3233/CH-131760
36. Quillinan N., Herson P. S., Traystman R. J. Neuropathophysiology of Brain Injury. *Anesthesiol Clin*. 2016. Vol. 34(3). P.453-464. doi:10.1016/j.anclin.2016.04.011
37. Lai T. W., Zhang S., Wang Y. T. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection. *Prog Neurobiol*. 2014. Vol. 115. P.157-188. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.11.006
38. Research progress of the relationship between microglia and cerebral ischemia. W. J. Tai, X. Ye, X. Q. Bao et al. *Yao Xue Xue Bao*. 2012. Vol. 47(3). P.346-353
39. Choudhury G. R., Ding S. Reactive astrocytes and therapeutic potential in focal ischemic stroke. *Neurobiol Dis*. 2016. Vol. 85. P.234-244. doi:10.1016/j.nbd.2015.05.003
40. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association [published correction appears in *Stroke*. 2019 Aug;50(8):e239]. R. L. Sacco, S. E. Kasner, J. P. Broderick et al. *Stroke*. 2013. Vol. 44(7). P.2064-2089. doi:10.1161/STR.0b013e318296aeca

41. Mena H., Cadavid D., Rushing E. J. Human cerebral infarct: a proposed histopathologic classification based on 137 cases. *Acta Neuropathol.* 2004. Vol. 108(6). P.524-530. doi:10.1007/s00401-004-0918-z
42. Ибрагимова Е.Л. Патоморфологическая характеристика ишемических инсультов в вертебробазилярном и каротидном бассейне *Медицина неотложных состояний.* 2012. № 1(40). С.106-107
43. Neutrophils Obstructing Brain Capillaries Are a Major Cause of No-Reflow in Ischemic Stroke. El Amki M., C. Glück, N. Binder et al. *Cell Rep.* 2020. Vol. 13;33(2). P.108260. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108260.
44. Pluta R., Januszewski S., Czuczwar S.J. Neuroinflammation in Post-Ischemic Neurodegeneration of the Brain: Friend, Foe, or Both?. *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22(9). P.4405. doi:10.3390/ijms22094405
45. Vascular endothelial growth factor promotes pericyte coverage of brain capillaries, improves cerebral blood flow during subsequent focal cerebral ischemia, and preserves the metabolic penumbra. A. Zechariah, A. ElAli, T.R. Doepfner, et al. *Stroke.* 2013. Vol.44(6). P.1690-1697. doi:10.1161/STROKEAHA.111.000240
46. Temporal profile of angiogenesis and expression of related genes in the brain after ischemia. T. Hayashi, N. Noshita, T. Sugawara et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2003. Vol. 23(2). P.166-180. doi:10.1097/01.WCB.0000041283.53351.CB
47. Анацкая Л.Н., Гончарова Н.В. Эндогенный неоваскулогенез в постинсультной репарации мозга. *Международный неврологический журнал.* 2013. №6(60). С.11-19
48. Inflammation-Mediated Angiogenesis in Ischemic Stroke. H. Zhu, Y. Zhang, Y. Zhong et al. *Front Cell Neurosci.* 2021. Vol. 15. P.652647. doi:10.3389/fncel.2021.652647

49. Neovascularization and tissue regeneration by endothelial progenitor cells in ischemic stroke. J. Li, Y. Ma, X. H. Miao et al. *Neurol Sci.* 2021. Vol. 42(9). P. 3585-3593. doi: 10.1007/s10072-021-05428-3.

50. Transplantation of low dose CD34+KDR+ cells promotes vascular and muscular regeneration in ischemic limbs. P. Madeddu, C. Emanuelli, E. Pelosi et al. *FASEB J.* 2004. Vol. 18(14). P.1737-1739. doi:10.1096/fj.04-2192fje

51. CD34 hybrid cells promote endothelial colony-forming cell bioactivity and therapeutic potential for ischemic diseases. J. H. Lee, S. H. Lee, S. Y. Yoo et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013. Vol. 33(7). P.1622-1634. doi:10.1161/ATVBAHA.112.301052;

52. Bachelier K., Bergholz C., Friedrich E.B. Differentiation potential and functional properties of a CD34-CD133+ subpopulation of endothelial progenitor cells. *Mol Med Rep.* 2020. Vol. 21(1). P. 501-507. doi: 10.3892/mmr.2019.10831.

53. Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. A. Taguchi, T. Matsuyama, H. Moriwaki et al. *Circulation.* 2004. Vol. 109(24). P.2972-2975. doi:10.1161/01.CIR.0000133311.25587.DE

54. Taguchi A, Soma T, Tanaka H, et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest.* 2004. Vol. 114(3). P.330-338. doi:10.1172/JCI20622

55. Bioactivity of CD34+ cells in patients with acute-on-chronic liver failure. Y.C. Wu, Z.H. Wan, Y.H. Rong et al. *Int J Clin Exp Pathol.* 2017. Vol. 10(11). P.10781-10791.

56. [Expression of Insulin-like Growth Factor Receptor Type I in CD34⁺ Cells of Patients with Myelodysplastic Syndromes]. Q. X. Zhang, Q. He, J. Guo, et al. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2018. Vol. 26(3). P.849-853. Chinese. doi: 10.7534/j.issn.1009-2137.2018.03.036.

57. Murohara T. Therapeutic Angiogenesis with Somatic Stem Cell Transplantation. *Korean Circ J*. 2020. Vol. 50(1). P. 12-21. doi: 10.4070/kcj.2019.0288.

58. Bachelier K., Bergholz C., Friedrich E.B. Differentiation potential and functional properties of a CD34-CD133+ subpopulation of endothelial progenitor cells. *Mol Med Rep*. 2020. Vol. 21(1). P.501-507. doi: 10.3892/mmr.2019.10831.

59. Laddha A. P., Kulkarni Y. A. VEGF and FGF-2: Promising targets for the treatment of respiratory disorders. *Respir Med*. 2019. Vol. 156. P.33-46. doi: 10.1016/j.rmed.2019.08.003.

60. Bendfeldt K., Radojevic V., Kapfhammer J., Nitsch C. Basic fibroblast growth factor modulates density of blood vessels and preserves tight junctions in organotypic cortical cultures of mice: a new in vitro model of the blood-brain barrier. *J Neurosci*. 2007. Vol. 27(12). P.3260-3267. doi:10.1523/JNEUROSCI.4033-06.2007

61. Chertok V. M., Zakharchuk N. V., Chertok A. G. Kletочно-молекулярные механизмы регуляции ангиогенеза в головном мозге [The cellular and molecular mechanisms of angiogenesis regulation in the brain]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2017. Vol. 117(8. Vyp. 2). P.43-55. Russian. doi: 10.17116/jnevro20171178243-55.

62. Lazarous D. F. The Fibroblast Growth Factors and Angiogenesis: Basic Considerations. *Curr Interv Cardiol Rep*. 2001. Vol. 3(3). P.213-217.

63. Diverse Functions and Mechanisms of Pericytes in Ischemic Stroke. S. Yang, H. Jin, Y. Zhu et al. *Curr Neuropharmacol*. 2017. Vol. 15(6). P.892-905. doi: 10.2174/1570159X15666170112170226.

64. Dalkara T., Alarcon-Martinez L., Yemisci M. Pericytes in Ischemic Stroke. *Adv Exp Med Biol*. 2019. Vol. 1147. P.189-213. doi: 10.1007/978-3-030-16908-4_9.

65. Pericyte dynamics during angiogenesis: new insights from new identities. P. C. Stapor, R. S. Sweat, D. C. Dashti et al. *J Vasc Res.* 2014. Vol. 51(3). P.163-174. doi:10.1159/000362276
66. Pericytes as Inducers of Rapid, Matrix Metalloproteinase-9-Dependent Capillary Damage during Ischemia. R. G. Underly, M. Levy, D. A. Hartmann et al. *J Neurosci.* 2017. Vol. 37(1). P.129-140. doi:10.1523/JNEUROSCI.2891-16.2016
67. Potente M., Gerhardt H., Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell.* 2011. Vol. 146(6). P.873-887. doi:10.1016/j.cell.2011.08.039
68. Greenberg D. A. Cerebral angiogenesis: a realistic therapy for ischemic disease? *Methods Mol Biol.* 2014. Vol. 1135. P. 21-24. doi:10.1007/978-1-4939-0320-7_2
69. Pericyte dynamics during angiogenesis: new insights from new identities. P. C. Stapor, R. S. Sweat, D. C. Dashti et al. *J Vasc Res.* 2014. Vol. 51(3). P.163-174. doi:10.1159/000362276
70. Gibbons G. H, Dzau V. J. The emerging concept of vascular remodeling. *N Engl J Med.* 1994. Vol. 330(20):1431-1438. doi:10.1056/NEJM199405193302008
71. Chopp M., Li Y. Stimulation of Plasticity and functional recovery after stroke – cell-based and pharmacological therapy *European Neurological Review.* 2011. Vol. 6(2). P.97-100.
72. Structural Overview of Vascular Endothelial Growth Factors Pharmacological Ligands: From Macromolecules to Designed Peptidomimetics. *Molecules.* 2021. Vol. 9. 26(22). P.6759. doi: 10.3390/molecules26226759.
73. Greenberg D. A, Jin K. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) and stroke. *Cell Mol Life Sci.* 2013. Vol. 70(10). P.1753-1761. doi:10.1007/s00018-013-1282-8

74. Hirashima M. Regulation of endothelial cell differentiation and arterial specification by VEGF and Notch signaling. *Anat Sci Int*. 2009. Vol. 84(3). P. 95-101. doi:10.1007/s12565-009-0026-1

75. Neuroprotective and Neurorestorative Effects of Epo and VEGF: Perspectives for New Therapeutic Approaches to Neurological Diseases. M. E. Ureña-Guerrero, J. L. Castañeda-Cabral, M. C. Rivera-Cervantes et al. Beas-Zárate C. *Curr Pharm Des*. 2020. Vol. 26(12). P.1263-1276. doi:10.2174/1381612826666200114104342.

76. Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases. C. Lange, E. Storkebaum, C. R. de Almodóvar, et al. *Nat Rev Neurol*. 2016. Vol. 12(8). P. 439-454. doi:10.1038/nrneurol.2016.88

77. Mackenzie F., Ruhrberg C. Diverse roles for VEGF-A in the nervous system. *Development*. 2012. Vol. 139(8). P.1371-1380. doi:10.1242/dev.072348

78. Rosenstein J. M., Krum J. M., Ruhrberg C.. VEGF in the nervous system. *Organogenesis*. 2010. Vol. 6(2). P. 107-114. doi:10.4161/org.6.2.11687

79. Ferrara N., Gerber H. P. , LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003. Vol. 9(6). P. 669-676. doi:10.1038/nm0603-669

80. Ангиогенез (литературный обзор). И.С. Васильев, С.А. Васильев, И.А. Абушкин и др. *Человек. Спорт. Медицина*. 2017. т.17, №1. С.36-45

81. Abumiya T., Yokota C., Kuge Y., Minematsu K. Aggravation of hemorrhagic transformation by early intraarterial infusion of low-dose vascular endothelial growth factor after transient focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res*. 2005. Vol. 1049(1). P. 95-103. doi:10.1016/j.brainres.2005.05.011

82. Vascular endothelial growth factor promotes pericyte coverage of brain capillaries, improves cerebral blood flow during subsequent focal cerebral ischemia, and preserves the metabolic penumbra. A. Zechariah, A. ElAli, T. R. Doeppner, et al. *Stroke*. 2013. Vol. 44(6). P.1690-1697. doi:10.1161/STROKEAHA.111.000240

83. Klimaschewski L., Claus P. Fibroblast Growth Factor Signalling in the Diseased Nervous System. *Mol Neurobiol.* 2021. Vol. 58(8). P.3884-3902. doi:10.1007/s12035-021-02367-0

84. Microvascular density and hypoxia-inducible factor in intraepithelial vocal fold lesions. A. Rzepakowska, M. Żurek, J. Grzybowski et al. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2019. Vol. 276(4). P. 1117-1125. doi: 10.1007/s00405-019-05355-2.

85. Anatomy, immunohistochemistry, and numerical distribution of human splenic microvessels. S. Almenar, C. Rios-Navarro, M. Ortega et al. *Ann Anat.* 2019. Vol. 224. P. 161-171. doi: 10.1016/j.aanat.2019.05.004.

86. Comparative analysis of microvessel density quantified through the immunohistochemistry expression of CD34 and CD105 in rectal cancer. D. S. Goldiș, M. F. Sferdian, C. Tarță et al. *Rom J Morphol Embryol.* 2015. Vol. 56(2). P.419-424.

87. Assessment of Micro-vessel Density in Brain Glioma by CD105 Expression. H. Saffar, M. Mirzaii, E. Mirzaian et al. *Iran J Pathol.* 2018. Vol. 13(2). P. 205-211.

88. The Role of Endoglin in Hepatocellular Carcinoma. K. S. Jeng, I. S. Sheen, S. S. Lin et al. *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22(6). P. 3208. doi:10.3390/ijms22063208

89. Expression Profile of Endoglin in Different Grades of Endometrial Cancer. M. Oplawski, K. Dziobek, I. Adwent et al. *Curr Pharm Biotechnol.* 2018. Vol. 19(12). P.990-995. doi: 10.2174/1389201020666181127152605.

90. Negative correlation between endoglin levels and coronary atherosclerosis. H. Chen, Y. Wang, B. Sun et al. *Lipids Health Dis.* 2021. Vol. 20(1). P. 127. doi:10.1186/s12944-021-01545-2

91. Matrix metalloproteinase inhibition in atherosclerosis and stroke. M. D. Roycik, J. S. Myers, R. G. Newcomer et al. *Curr Mol Med.* 2013. Vol. 13(8). P. 1299-1313. doi:10.2174/15665240113139990067

92. Wang X., Khalil R. A. Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease. *Adv Pharmacol.* 2018. Vol. 81. P.241-330. doi:10.1016/bs.apha.2017.08.002

93. Grigorkevich O. S., Mokrov G. V., Kosova L. Yu. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2019. Vol. (2). P.3-16. (In Russ.) <https://doi.org/10.24411/2587-7836-2019-10040>

94. Metzincin proteases and their inhibitors: foes or friends in nervous system physiology? S. Rivera, M. Khrestchatisky, L. Kaczmarek et al. *J Neurosci.* 2010. Vol. 30(46). P.15337-15357. doi:10.1523/JNEUROSCI.3467-10.2010

95. Huntley G. W. Synaptic circuit remodelling by matrix metalloproteinases in health and disease. *Nat Rev Neurosci.* 2012. Vol. 13(11). P.743-757. doi:10.1038/nrn3320

96. Kaczmarek L. Mmp-9 inhibitors in the brain: can old bullets shoot new targets?. *Curr Pharm Des.* 2013. Vol. 19(6). P.1085-1089. doi:10.2174/1381612811319060010

97. Neuroprotective effects and dynamic expressions of MMP9 and TIMP1 associated with atorvastatin pretreatment in ischemia-reperfusion rats. X. Fang, D. Tao, J. Shen, et al. *Neurosci Lett.* 2015. Vol. 603. P. 60-65. doi:10.1016/j.neulet.2015.07.013;

98. Different roles of matrix metalloproteinases-2 and -9 after human ischaemic stroke. V. Lucivero, M. Prontera, D. M. Mezzapesa et al. *Neurol Sci.* 2007. Vol. 28(4). P.165-170. doi:10.1007/s10072-007-0814-0.

99. Serum matrix metalloproteinase-9 levels and prognosis of acute ischemic stroke. C. Zhong, J. Yang, T. Xu et al. *Neurology.* 2017. Vol. 22. 89(8). P. 805-812. doi: 10.1212/WNL.0000000000004257.

100. Limb remote ischemic postconditioning protects integrity of the blood-brain barrier after stroke. J. Li, X. S. Hu, F.F. Zhou et al. *Neural Regen Res.* 2018. Vol. 13(9). P. 1585-1593. doi:10.4103/1673-5374.237122
101. Matrix Metalloproteinase-9 Expression is Enhanced by Ischemia and Tissue Plasminogen Activator and Induces Hemorrhage, Disability and Mortality in Experimental Stroke. S. Saleem, D. Wang, T..Zhao et al. *Neuroscience.* 2021. Vol. 5. 460. P. 120-129. doi: 10.1016/j.neuroscience. 2021.01.003.
102. S100 β , Matrix Metalloproteinase-9, D-dimer, and Heat Shock Protein 70 Are Serologic Biomarkers of Acute Cerebral Infarction in a Mouse Model of Transient MCA Occlusion. J. I. Choi, S. K. Ha, D. J. Lim et al. *Korean Neurosurg Soc.* 2018. Vol. 61(5). P. 548-558. doi: 10.3340/jkns.2017.0200.
103. Kumar G, Patnaik R. Inhibition of Gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by *Withania somnifera* Phytochemicals Confers Neuroprotection in Stroke: An In Silico Analysis. *Interdiscip Sci.* 2018. Vol. 10(4). P. 722-733. doi: 10.1007/s12539-017-0231-x.
104. Jin Z., Liang J., Li J., Kolattukudy P. E. Absence of MCP-induced Protein 1 Enhances Blood-Brain Barrier Breakdown after Experimental Stroke in Mice. *Int J Mol Sci.* 2019. Vol. 20(13). P.3214. doi: 10.3390/ijms20133214.
105. Reinhold A. K., Rittner H. L. Barrier function in the peripheral and central nervous system-a review. *Pflugers Arch.* 2017. Vol. 469(1). P.123-134. doi: 10.1007/s00424-016-1920-8.
106. Early inhibition of MMP activity in ischemic rat brain promotes expression of tight junction proteins and angiogenesis during recovery. Y. Yang, J. F. Thompson, S.Taheri et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013. Vol. 33(7). P. 1104-1114. doi:10.1038/jcbfm.2013.56

107. Chaturvedi M., Kaczmarek L. Mmp-9 inhibition: a therapeutic strategy in ischemic stroke. *Mol Neurobiol.* 2014. Vol. 49(1). P.563-573. doi:10.1007/s12035-013-8538-z

108. Planas A. M., Solé S., Justicia C. Expression and activation of matrix metalloproteinase-2 and -9 in rat brain after transient focal cerebral ischemia. *Neurobiol Dis.* 2001. Vol. 8(5). P. 834-846. doi:10.1006/nbdi.2001.0435

109. Analysis of the association of MPO and MMP-9 with stroke severity and outcome: Cohort study. I. Maestrini, M. Tagzirt, S. Gautier et al. *Neurology.* 2020. Vol. 7. 95(1). P. e97-e108. doi: 10.1212/WNL.00000000000009179.

110. Relationship between plasma metalloproteinase-9 levels and volume and severity of infarct in patients with acute ischemic stroke. R. Demir, H. Ulvi, L. Özel et al. *Acta Neurol Belg.* 2012. Vol. 112(4). P. 351-356. doi:10.1007/s13760-012-0067-4

111. Bone marrow-derived cells are the major source of MMP-9 contributing to blood-brain barrier dysfunction and infarct formation after ischemic stroke in mice. G. Wang, Q. Guo, M. Hossain et al. *Brain Res.* 2009. Vol. 1294. P. 183-192. doi:10.1016/j.brainres.2009.07.070

112. Matrix Metalloproteinases and Blood-Brain Barrier Disruption in Acute Ischemic Stroke. S. E. Lakhan et al. *Frontiers in Neurology.* 2013. Vol. 4. URL: <https://doi.org/10.3389/fneur.2013.00032>

113. Early inhibition of MMP activity in ischemic rat brain promotes expression of tight junction proteins and angiogenesis during recovery. Y. Yang, J. F. Thompson, S. Taheri, et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013. Vol. 33(7). P. 1104-1114. doi:10.1038/jcbfm.2013.56

114. Matrix metalloproteinase-8 overexpression prevents proper tissue repair. P. L. Danielsen, A. V. Holst, H. R. Maltesen et al. *Surgery.* 2011. Vol. 150(5). P. 897-906. doi:10.1016/j.surg.2011.06.016

115. Rempe R. G., Hartz A. M. S., Bauer B. Matrix metalloproteinases in the brain and blood-brain barrier: Versatile breakers and makers. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016. Vol. 36(9). P. 1481-1507. doi:10.1177/0271678X16655551

116. Соломахина Н.И., Беленков Ю.Н. Прогностическое значение тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 (TIMP-1) у больных ХСН. Сердечная недостаточность. 2010. Т. 61, № 5. С. 281-284.

117. Тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ-1 (TIMP-1) как независимый маркер ишемического ремоделирования миокарда при хронической сердечной недостаточности. А.Т. Тепляков, А.В. Андриянова, Е.Ю. Пушникова и др. Сибирский медицинский журнал. 2014. Том 29, №2. С.28-34

118. Serum tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 levels are associated with mortality in patients with malignant middle cerebral artery infarction. *BMC Neurol.* 2015. Vol. 15. P. 111. doi:10.1186/s12883-015-0364-7

119. High serum levels of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 during the first week of a malignant middle cerebral artery infarction in non-surviving patients. L. Lorente, M. M. Martín, L. Ramos et al. *BMC Neurol.* 2019. Vol. 19(1). P. 167.

120. Serum tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and risk of cognitive impairment after acute ischaemic stroke. J. Ge, R. Li, P. Yuan et al. *J Cell Mol Med.* 2020. Vol. 24(13). P.7470-7478. doi:10.1111/jcmm.15369

121. Association between serum tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 levels and mortality in patients with severe brain trauma injury. L. Lorente, M. M. Martín, P. López et al. *PLoS One.* 2014. Vol. 9(4). e94370. doi:10.1371/journal.pone.0094370

122. Тертишний С.І. Морфогенез змін в ядрах кардіореспіраторного центру стовбура головного мозку при інсультах півкульової локалізації. Дис... докт.мед.наук. Сімферополь, 2009. 332с.

123. Activation and Role of Astrocytes in Ischemic Stroke. X. Y. Shen, Z. K. Gao, Y. Han, et al. *Front Cell Neurosci.* 2021. Vol. 15. P.755955. doi:10.3389/fncel.2021.755955

124. Суслина З. А., Гулевская Т. С., Максимова М. Ю., Моргунов В. А. Нарушения мозгового кровообращения: диагностика, лечение, профилактика. М.: МЕДпресс-информ, 2016. 536 с.

125. Морфологические критерии давности развития ишемических инсультов в острую и раннюю подострую стадии. П. А. Мачинский, Н. А. Плотникова, С. П. Кемайкин, и др. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки.* 2017. № 4 (44). С. 5-20. БОР 10.21685/2072-3032-2017-4-1

126. Лычко В.С., Малахов В.А., Потапов А.А. Морфологические изменения мозговой ткани у крыс с экспериментальной моделью ишемического инсульта в динамике лечения иммунобиологическим препаратом криоцелл-криокорд. *Современные технологии в медицине.* 2015. том 7, №4. С.58-63

127. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. СПб.: СпецЛит, 2010. 95 с. ISBN 978-5-299-00438-0

128. Пирс Э. Гистохимия. М.:Иностран.лит. 1962. 964 с.

129. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии : руководство / Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик, М. Н. Карпенко [и др.]; под ред. Д. Э. Коржевского. 2-е изд., испр. и доп. Санкт-Петербург : СпецЛит, 2014. 119 с. ISBN 978-5-299-00596-7.

130. Багрій М. М., Діброва В. А., Попадинець О.Г., Грищук М. І. Методики гістологічних досліджень. Монографія; за ред. Багрія ММ, Діброви А. Вінниця: Нова книга, 2016: 328.

131. Морозова К.Н. Электронная микроскопия в цитологических исследованиях: методическое пособие / Новосиб. гос. ун-т. Новосибирск, 2013. 85 с.

132. Сальникова М. М., Малютина Л.В., Саитов В.Р., Голубев А.И. Трансмиссионная электронная микроскопия в биологии и медицине. Казань: Изд-во Казан.ун-та, 2016. 125 с.

133. Волошанська О.О., Тertiшний С.І. Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах. *Патологія*. 2020. № 2(49). С. 234-240. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212808>

134. Волошанська О.О. Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку. *Буковинський медичний вісник* 2021. Т.25, №2 (98). С. 22-28. DOI: 10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.4

135. Волошанська О.О., Тertiшний С.І. Патоморфологічні зміни мікроциркуляторного русла в перифокальній області інфаркту мозку. *Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря: міжнар. наук.-практ. конф. (м. Вінниця, 10-11 квіт. 2019р.)*. Вінниця, 2019. С. 34-36.

136. Волошанська О.О., Тertiшний С.І. Патоморфологія мікроциркуляторних розладів в гострому періоді ішемічного інсульту. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації: збірник тез доп. наук.-практ. конф. з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 2019р.)*. Запоріжжя, 2019. С.4-5.

137. Волошанська О.О. Морфологічні прояви перебудови судинного русла в перифокальних зонах ішемічного інфаркту мозку. *Медична наука у практику охорони здоров'я* : всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених (м. Полтава, 27 лист. 2020р.). Полтава, 2020р. С.34-35.

138. Волошанська О.О. Морфологічні зміни судинного русла в ранні терміни ішемічного інсульту. *Медична наука у практику охорони здоров'я* : всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених (м. Полтава, 27 лист. 2020р.). Полтава, 2020р. С.33-34.

139. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Ультроструктурні зміни в мікросудинах і периваскулярному просторі при інфаркті головного мозку в експерименті. *Морфологія*. 2020; 14 №4: 16-28. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.4.16-28>

140. Coupling of neurogenesis and angiogenesis after ischemic stroke. L. Ruan, B. Wang, Q. ZhuGe et al. *Brain Res*. 2015. Vol. 14. 1623. P. 166-73. doi: 10.1016/j.brainres.2015.02.042;

141. Collaterals: Implications in cerebral ischemic diseases and therapeutic interventions. Y. Nishijima, Y. Akamatsu, P. R. Weinstein et al. *Brain Res*. 2015. Vol. 1623. P. 18–29. doi:10.1016/j.brainres.2015.03.006.

142. Yin K. J., Hamblin M., Chen Y. E. Angiogenesis-regulating microRNAs and Ischemic Stroke. *Curr Vasc Pharmacol*. 2015. Vol. 13(3). P.352-365. doi:10.2174/15701611113119990016

143. Lambertsen K. L., Finsen B., Clausen B. H. Post-stroke inflammation-target or tool for therapy? *Acta Neuropathol*. 2019. Vol. 137(5). P.693-714. doi: 10.1007/s00401-018-1930-z.

144. Lapi D., Colantuoni A. Remodeling of Cerebral Microcirculation after Ischemia-Reperfusion. *J Vasc Res*. 2015. Vol. 52(1). P.22-31. doi:10.1159/000381096

145. Post-stroke neovascularization and functional outcomes differ in diabetes depending on severity of injury and sex: Potential link to hemorrhagic transformation. W. Li, J. P. Valenzuela, R. Ward et al. *Exp Neurol*. 2019. Vol. 311. P.106-114. doi:10.1016/j.expneurol.2018.09.013

146. Hnatjuk, M.S., Bodnarchuk, I.V. i Tatarchuk, L.V. Особливості структурної перебудови артерій язика при десквамативному глоситі. *Вісник наукових досліджень*. 2019. Vol. 2. С. 285–89. DOI:<https://doi.org/10.11603/2415-8798.2019.2.10022>.

147. Перепелица С.А., Голубев А. М., Мороз В. В. Расстройства микроциркуляции при респираторном дистресс-синдроме новорожденного (морфологическое исследование). *Общая реаниматология*. 2016. № 12(6). С.16-26. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2016.6>. С.16-26.

148. Шевчук Т. І., Піскун Р. П., Васенко Т. Б. Зміна морфометричних характеристик судин серця при експериментальній дисліпопротеїдемії *Світ медицини та біології*. 2017. № 3(61). С.154-157. DOI 10.26724 / 2079-8334-2017-3-61-154-157

149. S. B. Raymond, P. W. Schaefer Imaging Brain Collaterals: Quantification, Scoring, and Potential Significance. *Top Magn Reson Imaging*. 2017. Vol. 26(2). P.67-75. doi:10.1097/ RMR.0000000000000123

150. Absence of Collaterals is Associated with Larger Infarct Volume and Worse Outcome in Patients with Large Vessel Occlusion and Mild Symptoms. E. R. Kimmel, S. Al Kasab, J. B. Harvey et al. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2019. Vol. 28(7). P:1987-1992. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.03.032

151. Atrial Fibrillation and Mechanisms of Stroke: Time for a New Model. H. Kamel, P. M. Okin, M. S. Elkind et al. *Stroke*. 2016. Vol. 47(3). P.895–900. doi:10.1161/STROKEAHA.115.012004;

152. Pattern of atrial fibrillation and risk of outcomes: the Loire Valley Atrial Fibrillation Project. A. Banerjee, S. Taillandier, J. B. Olesen et al. *Int J Cardiol.* 2013. Vol. 10. 167(6). P.2682-7. doi:10.1016/j.ijcard. 2012.06.118.

153. Hahne K., Mönnig G., Samol A. Atrial fibrillation and silent stroke: links, risks, and challenges. *Vasc Health Risk Manag.* 2016. Vol. 7;12. P.65-74. doi: 10.2147/VHRM.S81807.

154. Okyere B., Creasey M., Lebovitz Y., Theus M.H. Temporal remodeling of pial collaterals and functional deficits in a murine model of ischemic stroke. *J Neurosci Methods.* 2018. Vol. 293. P.86-96. doi:10.1016/j.jneumeth.2017.09.010

155. The impact of native leptomeningeal collateralization on rapid blood flow recruitment following ischemic stroke. A. Kanoke, Y. Akamatsu, Y. Nishijima et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2020 Vol. 40(11). P. 2165-2178. doi: 10.1177/0271678X20941265.

156. Zhang H., Chalothorn D., Faber J. E. Collateral Vessels Have Unique Endothelial and Smooth Muscle Cell Phenotypes. *Int J Mol Sci.* 2019. Vol. 20(15). P.3608. doi:10.3390/ijms20153608

157. Prognosis of Subtypes of Acute Large Artery Atherosclerotic Cerebral Infarction by Evaluation of Established Collateral Circulation. X. Gui, L. Wang, C. Wu et al. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2020. Vol. 29(11). P.105232. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105232

158. Schaper W. Collateral circulation: past and present. *Basic Res Cardiol.* 2009. Vol. 104(1). P.5-21. doi:10.1007/s00395-008-0760-x;

159. Calcium-dependent signalling is essential during collateral growth in the pig hind limb-ischemia model. C. Troidl, H. Nef, S. Voss et al. *J Mol Cell Cardiol.* 2010. Vol. 49(1). P.142-151. doi:10.1016/j.yjmcc.2010.03.021

160. A pilot study of drug-induced hypertension for treatment of acute stroke. G. Rordorf, W. J. Koroshetz, M. A. Ezzeddine et al. *Neurology*. 2001. Vol. 56(9). P.1210-1213. doi:10.1212/wnl.56.9.1210
161. Intracerebralis steal jelenség acetazolamidterhelés alatt [Intracerebral steal after acetazolamide administration]. I. Vastagh, M. Pozsár, A. Folyovich, et al. *Ideggyogy Sz.* 2008. Vol. 61(5-6). P.168-173.
162. Vascular remodeling after ischemic stroke: mechanisms and therapeutic potentials. J. Liu, Y. Wang, Y. Akamatsu et al. *Prog Neurobiol.* 2014. Vol. 115. P. 138-156. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.11.004
163. Collateral blood vessels in acute ischaemic stroke: a potential therapeutic target. A. Shuaib, K. Butcher, A. A. Mohammad, et al. *Lancet Neurol.* 2011. Vol. 10(10). P. 909-21. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70195-8.
164. H. C. Alves, F. T. Pacheco, A. J. Rocha Collateral blood vessels in acute ischemic stroke: a physiological window to predict future outcomes. *Arq Neuropsiquiatr.* 2016. Vol. 74(8). P. 662-670. doi: 10.1590/0004-282X20160050.
165. Matei N., Camara J., Zhang J. H. The Next Step in the Treatment of Stroke. *Front Neurol.* 2021. 11. P.582605. doi:10.3389/fneur.2020.582605
166. Increased Arterial Stiffness is Associated with Poor Collaterals in Acute Ischemic Stroke from Large Vessel Occlusion. M. Acampa, D. G. Romano, P. E. Lazzerini et al. *Curr Neurovasc Res.* 2018. Vol. 15(1). P.34-38. doi:10.2174/1567202615666180326100347;
167. Kim H. J., Lee S. J., Jung K. O. Association of Concomitant Intracranial Atherosclerotic Stenosis with Collateral Status in Patients with Emergent Large Vessel Occlusion. *World Neurosurg.* 2019. Vol. 128. e1102-e1108. doi:10.1016/j.wneu.2019.05.073
168. Chan S. L, Sweet J. G., Bishop N., Cipolla M. J. Pial Collateral Reactivity During Hypertension and Aging: Understanding the Function of Collaterals for

Stroke Therapy. *Stroke*. 2016. Vol. 47(6). P.1618-25. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.013392.

169. Impact of stroke co-morbidities on cortical collateral flow following ischaemic stroke. I. J. Biose, D. Dewar, I. M. Macrae et al. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2020. Vol. 40(5). P.978-990. doi: 10.1177/0271678X19858532.

170. The rheological properties of blood in the most acute stage of ischemic stroke and their relation to the severity of neurological impairment. M. N. Azhermacheva, D. M. Plotnikov, O. I. Aliev et al. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2013. Vol. 12(5). P.5-12. (In Russ.) <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2013-5-5-12>

171. Vascular remodeling after ischemic stroke: mechanisms and therapeutic potentials. J. Liu, Y. Wang, Y. Akamatsu et al. *Prog Neurobiol*. 2014. Vol. 115. P. 138-156. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.11.004

172. Correlation of VEGF and angiopoietin expression with disruption of blood-brain barrier and angiogenesis after focal cerebral ischemia. Z. G. Zhang, L. Zhang, W. Tsang et al. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002. Vol. 22(4). P.379-392. doi:10.1097/00004647-200204000-00002

173. Enhanced Neurogenesis and Collaterogenesis by Sodium Danshensu Treatment After Focal Cerebral Ischemia in Mice. Z. Z. Wei, D. Chen, L.P. Liu et al. *Cell Transplant*. 2018. Vol. 27(4). P.622-636. doi:10.1177/0963689718771889

174. Tie2-expressing monocytes/macrophages promote cerebral revascularization in peri-infarct lesions upon ischemic insult. Y. Sheng, X. Duan, Y. Liu et al. *Signal Transduct Target Ther*. 2021. Vol. 6(1). P.295. doi:10.1038/s41392-021-00637-w

175. Schaper W. Collateral circulation: past and present. *Basic Res Cardiol*. 2009. Vol. 104(1). P.5-21. doi:10.1007/s00395-008-0760-x

176. Persistent inflammation worsens short-term outcomes in massive stroke patients. D. Hou, C. Wang, X. Ye et al. *BMC Neurol.* 2021. Vol. 21(1). P.62. doi:10.1186/s12883-021-02097-9
177. Yilmaz G., Granger D. N. Leukocyte recruitment and ischemic brain injury. *Neuromolecular Med.* 2010. Vol. 12(2). P.193–204. doi:10.1007/s12017-009-8074-1
178. Anrather J., Iadecola C. Inflammation and Stroke: An Overview. *Neurotherapeutics.* 2016. Vol. 13(4). P.661-670. doi: 10.1007/s13311-016-0483-x.
179. Neutrophils Obstructing Brain Capillaries Are a Major Cause of No-Reflow in Ischemic Stroke / M. El Amki et al. *Cell Reports.* 2020. Vol. 33, no. 2. P. 108260. URL: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108260>
180. Neutrophil extracellular traps released by neutrophils impair revascularization and vascular remodeling after stroke. L. Kang, H. Yu, X. Yang et al. *Nat Commun.* 2020. Vol. 11(1). P.2488. doi:10.1038/s41467-020-16191-y
181. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Is a Prognostic Marker in Acute Ischemic Stroke. J. Xue, W. Huang, X. Chen, et al. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2017. Vol. 26(3). P.650-657. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.11.010.
182. Gong Y., Koh D. R. Neutrophils promote inflammatory angiogenesis via release of preformed VEGF in an in vivo corneal model. *Cell Tissue Res.* 2010. Vol. 339(2). P.437-448. doi:10.1007/s00441-009-0908-5
183. Human neutrophils uniquely release TIMP-free MMP-9 to provide a potent catalytic stimulator of angiogenesis. V. C. Ardi, T. A. Kupriyanova, E. I. Deryugina et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007. Vol. 104(51). P. 20262-20267. doi:10.1073/pnas.0706438104;
184. Wang J. Neutrophils in tissue injury and repair. *Cell Tissue Res.* 2018. Vol. 371(3). P.531-539. doi:10.1007/s00441-017-2785-7

185. The evolving role of neuro-immune interaction in brain repair after cerebral ischemic stroke. X. Wang, W. Xuan, Z. Y. Zhu et al. *CNS Neurosci Ther.* 2018. Vol. 24(12). P.1100-1114. doi:10.1111/cns.13077
186. Monocyte activation in angiogenesis and collateral growth in the rabbit hindlimb. M. Arras, W. D. Ito, D. Scholz et al. *J Clin Invest.* 1998. Vol.1;101(1). P.40-50.
187. Vascular remodeling after ischemic stroke: mechanisms and therapeutic potentials. J. Liu, Y. Wang, Y. Akamatsu et al. *Progress in Neurobiology.* 2014. Vol. 115. P. 138–156
188. The temporal and spatial distribution of macrophage subpopulations during arteriogenesis. C. Troidl, G. Jung, K. Troidl et al. *Curr Vasc Pharmacol.* 2013. Vol.11(1). P.5-12
189. Stroke-evoked angiogenesis results in a transient population of microvessels. S. W. Yu, B. Friedman, Q. Cheng et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007. Vol. 27(4). P.755-763. doi:10.1038/sj.jcbfm.9600378
190. New Insight Into Neutrophils: A Potential Therapeutic Target for Cerebral Ischemia. R. Chen, X. Zhang, L. Gu et al. *Front Immunol.* 2021. Vol. 12. P.692061. doi:10.3389/fimmu.2021.692061
191. Hatakeyama M., Ninomiya I., Kanazawa M. Angiogenesis and neuronal remodeling after ischemic stroke. *Neural Regen Res.* 2020. Vol. 15(1). P.16-19. doi:10.4103/1673-5374.264442
192. New vessels formation in young strokes with isolated stenocclusive MCA. M. Liang, P. Wang, Y. Ma, et al. *Brain Behav.* 2018. Vol 8. e01088. DOI: 10.1002/brb3.1088
193. Angiogenesis in old-aged subjects after ischemic stroke: a cautionary note for investigators. E. B. Petcu, R. A. Smith, R. I. Miroiu et al. *J Angiogenes Res.* 2010. Vol.26;2. P.26. doi: 10.1186/2040-2384-2-26

194. LaManna J. C, Chavez J. C., Pichiule P. Structural and functional adaptation to hypoxia in the rat brain. *J Exp Biol.* 2004. Vol. 207(Pt 18). P.3163-9.
195. Halder S. K, Milner R. The impact of chronic mild hypoxia on cerebrovascular remodelling; uncoupling of angiogenesis and vascular breakdown. *Fluids Barriers CNS.* 2021. Vol. 18(1). P.50. doi:10.1186/s12987-021-00284-x
196. Halder S. K., Kant R., Milner R. Chronic mild hypoxia promotes profound vascular remodeling in spinal cord blood vessels, preferentially in white matter, via an $\alpha 5\beta 1$ integrin-mediated mechanism. *Angiogenesis.* 2018. Vol. 21(2). P.251-266. doi: 10.1007/s10456-017-9593-2.
197. Шаврин В. А. Авраменко Ю. Н. Сравнительная морфометрия церебральных микрососудов при атеросклеротической и диабетической энцефалопатиях. *Morphologia.* 2017. Т. 11, № 1. С. 58-61.;
198. Шаврин В. А., Авраменко Ю. Н. Сравнительная морфометрия пиальных сосудов при дисциркуляторно-ишемической и диабетической энцефалопатиях. *Патологія.* 2019. Том 16, № 1(45). С.94-98
199. Chronic cerebral hypoxia promotes arteriogenic remodeling events that can be identified by reduced endoglin (CD105) expression and a switch in $\beta 1$ integrins. A. Boroujerdi, J. V. Welser-Alves, U. Tigges et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012. Vol. 32(9). P.1820-1830. doi: 10.1038/jcbfm.2012.94.
200. Авраменко Ю.М. Патоморфологічна характеристика церебральних мікросудин у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ішемічним піккульовим інфарктом мозку. Дис... канд. мед.н. Запоріжжя, 2021
201. Endothelial progenitor cell transplantation improves long-term stroke outcome in mice. Y. Fan, F. Shen, T. Frenzel et al. *Ann Neurol.* 2010. Vol. 67(4). P.488-497. doi:10.1002/ana.21919;

202. Characterization and Functional Assessment of Endothelial Progenitor Cells in Ischemic Stroke Patients. M. Kukumberg, A. M. Zaw, D. H. C. Wong et al. *Stem Cell Rev Rep*. 2021. Vol. 17(3). P.952-967. doi:10.1007/s12015-020-10064-z
203. Circulating CD34+ cells and active arterial wall thickening among elderly men: A prospective study. Y. Shimizu, S. Y. Kawashiri, K. Kiyoura et al. *Sci Rep*. 2020. Vol. 10(1). P. 4656. doi:10.1038/s41598-020-61475-4
204. Matta A., Nader V., Galinier M, Roncalli J. Transplantation of CD34+ cells for myocardial ischemia. *World J Transplant*. 2021. Vol. 11(5). P.138-146. doi:10.5500/wjt.v11.i5.138
205. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. N. Werner, S. Junk, U. Laufs et al. *Circ Res*. 2003. Vol. 93(2). e17-e24. doi:10.1161/01.RES.0000083812.30141.74
206. The increase of circulating endothelial progenitor cells after acute ischemic stroke is associated with good outcome. T.Sobrino, O. Hurtado, M. A. Moro et al. *Stroke*. 2007. Vol. 38(10). P. 2759-2764. doi:10.1161/STROKEAHA.107.484386
207. Level and value of circulating endothelial progenitor cells in patients after acute ischemic stroke. H. K. Yip, L. T. Chang, W. N. Chang et al. *Stroke*. 2008. Vol. 39(1). P.69-74. doi:10.1161/STROKEAHA.107.489401
208. Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. A. Taguchi, T. Matsuyama, H. Moriwaki et al. *Circulation*. 2004. Vol. 109(24). P.2972-2975. doi:10.1161/01.CIR.0000133311.25587.DE
209. Cerebral ischemia and angiogenesis. T. Hayashi, K. Deguchi, S. Nagotani et al. *Curr Neurovasc Res*. 2006. Vol. 3(2). P.119-129. doi:10.2174/156720206776875902
210. VEGF protein associates to neurons in remote regions following cortical infarct. A. M. Stowe, E. J. Plautz, I. Eisner-Janowicz et al. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007. Vol. 27(1). P.76-85. doi:10.1038/sj.jcbfm.9600320

211. Role of vascular endothelial growth factor in neuronal DNA damage and repair in rat brain following a transient cerebral ischemia. Z. J. Yang, W. L. Bao, M. H. Qiu et al. *J Neurosci Res*. 2002. Vol. 70(2). P.140-149. doi:10.1002/jnr.10380

212. Geiseler S. J, Morland C. The Janus Face of VEGF in Stroke. *Int J Mol Sci*. 2018. Vol. 19(5). P.1362. doi:10.3390/ijms19051362

213. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia. H. J. Marti, M. Bernaudin, A. Bellail et al. *Am J Pathol*. 2000. Vol. 156(3). P.965-976. doi:10.1016/S0002-9440(10)64964-4

214. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors (Flt-1 and Flk-1) following permanent and transient occlusion of the middle cerebral artery in the rat. F. Lennmyr, K. A. Ata, K. Funa et al. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1998. Vol. 57(9). P.874-882. doi:10.1097/00005072-199809000-00009

215. Inhibition of VEGF Signaling Reduces Diabetes-Exacerbated Brain Swelling, but Not Infarct Size, in Large Cerebral Infarction in Mice. E. Kim, J. Yang, K.W. Park et al. *Transl Stroke Res*. 2018. Vol. 9(5). P.540–548. doi:10.1007/s12975-017-0601-z

216. Dassan P., Keir G., Jager H. R., Brown M. M. Value of measuring serum vascular endothelial growth factor levels in diagnosing acute ischemic stroke. *Int J Stroke*. 2012. Vol.7(6). P.454-459. doi:10.1111/j.1747-4949.2011.00677.x

217. Increased circulating endothelial progenitor cells in patients with haemorrhagic and ischaemic stroke: the role of endothelin-1. E. Paczkowska, M. Gołąb-Janowska, A. Bajer-Czajkowska et al. *J Neurol Sci*. 2013. Vol. 325(1-2). P.90-99. doi:10.1016/j.jns.2012.12.005

218. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke - research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study. R. Matsuo, T. Ago, M. Kamouchi et al. *BMC Neurol*. 2013. Vol. 13. P.32. doi:10.1186/1471-2377-13-32

219. Influence of VEGF deprivation upon vascular formation by endothelium in the presence of macrophages. A.R. Kozyreva, T.Yu. Lvova, K.L. Markova et al. *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2020. Vol. 22, №. 2, pp. 231-248. doi: 10.15789/1563-0625-IOV-1894
220. Matrix Metalloproteinase-9 Relationship With Infarct Growth and Hemorrhagic Transformation in the Era of Thrombectomy. L. Mechtouff, T. Bochaton, A. Paccalet et al. *Front Neurol*. 2020. Vol. 11. P.473. doi:10.3389/fneur.2020.00473
221. Plasma and brain matrix metalloproteinase-9 after acute focal cerebral ischemia in rats. K. P. Park, A. Rosell, C. Foerch et al. *Stroke*. 2009. Vol. 40(8). P.2836-2842. doi:10.1161/STROKEAHA.109.554824
222. Yao Y. Basement membrane and stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2019. Vol. 39(1). P.3-19. doi:10.1177/0271678X18801467
223. Hemorrhagic Transformation in Ischemic Stroke and the Role of Inflammation. E. Spronk, G. Sykes, S. Falcione et al. *Front Neurol*. 2021. Vol. 12. P.661955. doi:10.3389/fneur.2021.661955
224. Thomsen M. S., Routhe L. J., Moos T. The vascular basement membrane in the healthy and pathological brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017. Vol. 37(10). P.3300-3317. doi:10.1177/0271678X17722436;
225. Matrix Metalloproteinase-9 and Recovery of Acute Ischemic Stroke. M. M. Abdelnaseer, N. M. Elfauomy, E. H Esmail et al. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017. Vol. 26(4). P.733-740. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis. 2016.09.043
226. Endothelial SIRT6 blunts stroke size and neurological deficit by preserving blood-brain barrier integrity: a translational study. L. Liberale, D. S. Gaul, A. Akhmedov et al. *Eur Heart J*. 2020. Vol. 41(16). P.1575-1587. doi:10.1093/eurheartj/ehz712

227. Pericytes in Brain Injury and Repair After Ischemic Stroke. W. Cai, H. Liu., J. Zhao et al. *Transl Stroke Res.* 2017. Vol. 8(2). P. 107-121. doi: 10.1007/s12975-016-0504-4.

228. Kang M., Yao Y. Basement Membrane Changes in Ischemic Stroke. *Stroke.* 2020. Vol. 51(4). P.1344-1352. doi: 10.1161/STROKEAHA.120.028928.

229. Krueger M., Mages B., Hobusch C., Michalski D. Endothelial edema precedes blood-brain barrier breakdown in early time points after experimental focal cerebral ischemia. *Acta Neuropathol Commun.* 2019. Vol. 11. 7(1). P.17. doi: 10.1186/s40478-019-0671-0.

230. Stokum J. A, Gerzanich V., Simard J. M. Molecular pathophysiology of cerebral edema. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016. Vol. 36(3). P.513-38. doi: 10.1177/0271678X15617172.

231. Haley M. J, Lawrence C. B. The blood-brain barrier after stroke: Structural studies and the role of transcytotic vesicles. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017. Vol. 37(2). P.456-470. doi:10.1177/0271678X16629976

232. Nahirney P. C., Reeson P., Brown C. E. Ultrastructural analysis of blood-brain barrier breakdown in the peri-infarct zone in young adult and aged mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016. Vol. 36(2). P.413-425. doi:10.1177/0271678X15608396

233. Tight junctions in the blood-brain barrier promote edema formation and infarct size in stroke - Ambivalent effects of sealing proteins [published online ahead of print, 2020 Feb 13]. L. Winkler, R. Blasig, O. Breitzkreuz-Korff et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2021. Vol. 41(1). P.132-145. doi:10.1177/0271678X20904687

234. Matrix metalloproteinase-9 mediates hypoxia-induced vascular leakage in the brain via tight junction rearrangement. A. T. Bauer, H. F. Bürgers, T. Rabie et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010. Vol. 30(4). P.837-848. doi:10.1038/jcbfm.2009.248

235. Delayed inhibition of VEGF signaling after stroke attenuates blood-brain barrier breakdown and improves functional recovery in a comorbidity-dependent manner. P. Reeson, K. A. Tennant, K. Gerrow et al. *J Neurosci*. 2015. Vol. 35(13). P.5128-5143. doi:10.1523/JNEUROSCI.2810-14.2015

236. Overexpression of caveolin-1 attenuates brain edema by inhibiting tight junction degradation. K. H. Choi, H. S. Kim, M. S. Park et al. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7(42). P.67857-67867. doi:10.18632/oncotarget.12346

237. Organelle-specific autophagy in inflammatory diseases: a potential therapeutic target underlying the quality control of multiple organelles. R. Q. Yao, C. Ren, Z. F. Xia et al. *Autophagy*. 2021. Vol. 17(2). P.385-401. doi:10.1080/15548627.2020.1725377.

238. Autophagy in hemorrhagic stroke: Mechanisms and clinical implications. H. Li, J. Wu, H. Shen et al. *Prog Neurobiol*. 2018. Vol. 163-164. P.79-97. doi:10.1016/j.pneurobio.2017.04.002

239. Phagocytic response of astrocytes to damaged neighboring cells. N. M. Wakida, G. M. S. Cruz, C. C. Ro et al. *PLoS One*. 2018. Vol. 30. 13(4). e0196153. doi: 10.1371/journal.pone.0196153.

240. Reactive astrocytes function as phagocytes after brain ischemia via ABCA1-mediated pathway [published correction appears in *Nat Commun*. 2017 Nov 14;8(1):1598]. Y. M. Morizawa, Y. Hirayama, N. Ohno et al. *Nat Commun*. 2017. Vol. 8(1). P.28. doi:10.1038/s41467-017-00037-1

241. Choudhury G. R., Ding S. Reactive astrocytes and therapeutic potential in focal ischemic stroke. *Neurobiol Dis*. 2016. Vol. 85. P.234-244. doi: 10.1016/j.nbd.2015.05.003.

242. Sims N. R., Yew W. P. Reactive astrogliosis in stroke: Contributions of astrocytes to recovery of neurological function. *Neurochem Int*. 2017. Vol. 107. P.88-103. doi: 10.1016/j.neuint.2016.12.016.

243. Inhibition of reactive astrocytes with fluorocitrate retards neurovascular remodeling and recovery after focal cerebral ischemia in mice. K. Hayakawa, T. Nakano, K. Irie et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010. Vol. 30(4). P.871-82. doi:10.1038/jcbfm.2009.257.

244. A Window of Vascular Plasticity Coupled to Behavioral Recovery after Stroke. M. R. Williamson, R. L. Franzen, C. J. A. Fuertes et al. *J Neurosci.* 2020. Vol. 40(40). P. 7651-7667. doi:10.1523/JNEUROSCI.1464-20.2020

245. Bates D. O. Vascular endothelial growth factors and vascular permeability. *Cardiovasc Res.* 2010. Vol. 87(2). P.262-271. doi:10.1093/cvr/cvq105

246. Early Post-stroke Activation of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 Hinders the Receptor 1-Dependent Neuroprotection Afforded by the Endogenous Ligand. A. Cárdenas-Rivera, A. N. Campero-Romero, Y. Heras-Romero et al. *Front Cell Neurosci.* 2019. Vol. 13. P.270. doi:10.3389/fncel.2019.00270

247. Troidl K., Schaper W. Arteriogenesis versus angiogenesis in peripheral artery disease. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews.* 2012. Vol. 28. P. 27–29. URL: <https://doi.org/10.1002/dmrr.2232>

248. Angiogenesis in the ischemic core: A potential treatment target?. M. Kanazawa, T. Takahashi, M. Ishikawa et al. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2019. Vol. 39(5). P.753-769. doi:10.1177/0271678X19834158

249. Profiling the mouse brain endothelial transcriptome in health and disease models reveals a core blood-brain barrier dysfunction module. R. N. Munji, A. L. Soung, G. A. Weiner et al. *Nat Neurosci.* 2019. Vol. 22(11). P.1892-1902. doi:10.1038/s41593-019-0497-x

250. Freitas-Andrade M., Raman-Nair J., Lacoste B. Structural and Functional Remodeling of the Brain Vasculature Following Stroke. *Front Physiol.* 2020. Vol. 11. P.948. doi:10.3389/fphys.2020.00948

ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЄ»

Проректор з науково-педагогічної роботи

Дніпровського державного медичного
університету

Доцент

Захаров С.В.

« 23 » « 4 » 2021 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для запровадження:** патоморфологічна оцінка стану судинного русла і колатерального кровотоку при мозкових інфарктах.
2. **Устава розробника:** Запорізький державний медичний університет, пр. Мажковського, 26, м. Запоріжжя, 69035, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: виклест кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ Володимирська Ольга Олександрівна, завідувач кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ, д.мед.н., професор Тертишній Сергій Ігорович.
3. **Джерело інформації:** Володимирська О.О., Тертишній С.І. Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах. Патологія. Том 17, № 2(49), 2020 р. – С. 234-240. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212808>
4. **Впроваджено:** Морфо-функціональна оцінка стану судинного русла в перифокальних участках мозкового інфаркту в різні терміни захворювання.
5. **Термін впровадження:** листопад-грудень 2021 р.
6. **Базова установа, що проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії і судової медицини Дніпровського державного медичного університету.
7. **Форма впровадження:** Впровадження у навчальний процес – в матеріалі лекцій і практичних занять з патоморфології, а також в наукову роботу кафедри.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.
9. Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії і судової медицини Дніпровського державного медичного університету.
(протокол № 15 від 18.11.2021 р.).

Завідувач кафедри патологічної анатомії і судової медицини
Дніпровського державного медичного університету
доцент

Александренко О.А.

« 25 » « 11 » 2021 р.

ДОДАТОК А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
Навчально-Наукового Медичного
інституту

Сумського державного
університету МОН України
проф. Дьобода А.М.



2021р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** патоморфологічна оцінка стану судинного русла і колатерального кровотоку при мозкових інфарктах.
 2. **Установа розробника:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: викладач кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ Волошанська Ольга Олександрівна, завідувач кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ, д.мед.н., професор Тертишник Сергій Ігорович.
 3. **Джерело інформації:** Волошанська О.О., Тертишник С.І. Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах. Патологія. Том 17, № 2(49), 2020 р. - С. 234-240. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212808>
 4. **Впроваджене:** Морфо-функціональна оцінка стану судинного русла в периферичних участках мозкового інфаркту в різні терміни захворювання.
 5. **Термін впровадження:** 30.06.2021-30.12.2021р.
 6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Сумський державний університет МОН України, Медичний інститут, кафедра патологічної анатомії.
 7. **Форма впровадження:** в навчальний процес - в матеріали лекцій і практичних занять з патоморфології, а також в наукову роботу кафедри.
 8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.
- Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету МОН України (протокол № 7 від 20.10 2021 р.).

Завідувач кафедри патологічної анатомії
Сумського державного
університету МОН України
д.мед.н., проф.

А.М. Романюк

ДОДАТОК АЗ

ЗАТВЕРДЖУЮ



Перший проректор НУОЗ України
імені П.Л.Шурика
член-кореспондент НАМН України,
професор Ю.П. Вдовиченко

2021р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** патоморфологічна оцінка стану судинного русла і колатерального кровотоку при мозкових інфарктах.
2. **Установа розробника:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: асистент кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ Волошанська Ольга Олександрівна, завідувач кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ, д.мед.н., професор Тертишній Сергій Ігорович.
3. **Джерела інформації:** Волошанська О.О., Тертишній С.І. Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах. Патологія. Том 17, № 2(49), 2020 р. – С. 234-240. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212808>
4. **Впроваджено:** Морфо-функціональна оцінка стану судинного русла в перифокальних участках мозкового інфаркту в різні терміни захворювання.
5. **Термін впровадження:** лютий-грудень 2021 р.
6. **Базова установа, що проводить впровадження:** кафедра патологічної та топографічної анатомії Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шурика.
7. **Форма впровадження:** Впровадження у навчальний процес – в матеріали лекцій, семінарських і практичних занять з церебро-васкулярної патології для лікарів-інтернів та лікарів патологоанатомів.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.
9. Пропозиція обговорена та затверджена на навчально-методичній нараді кафедри патологічної та топографічної анатомії Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шурика.
(протокол № 11 від 26 листопада 2021 р.).

Завідувачка кафедри патологічної та топографічної анатомії
д.мед.н., професор

Дядик О.О.

« 26 » листопада 2021 р.

ДОДАТОК А4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної
 роботи Запорізького державного
 медичного університету, МОЗ України
 д.мед.н., професор Візір В.А.



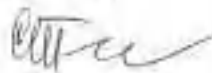
_____ 2021 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** Морфо-функціональна оцінка стану судинного ремоделювання в перифокальних участках мозкового інфаркту в різні терміни захворювання.
2. **Установа розробника:** Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автори: асистент кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ Волошанська Ольга Олексіївна.
3. **Джерела інформації:** Волошанська О.О. Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку. *Буковинський медичний вісник*. 2021. Т.25, №2 (98). С. 22-28. DOI: 10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.4
4. **Впроваджено:** морфологічні прояви судинного ремоделювання перифокальних ділянок мозкового інфаркту в різні терміни захворювання.
5. **Термін впровадження:** 30.10.2021-30.12.2021р.
6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної анатомії і судової медицини.
7. **Форма впровадження:** в навчальний процес – в матеріали лекцій і практичних занять з патоморфології.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медичного університету, МОЗ України (протокол № 10 від 28.10.2021 р.).

Зав. кафедри патологічної анатомії і судової медицини
 Запорізького державного медичного університету,
 МОЗ України
 д.мед.н., професор



С.І.Терещук

ДОДАТОК А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Генеральний директор КНП КОР
 «Київська обласна клінічна лікарня»
 Г.В.Клюшко
 « 26 » 11 2021р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до лікувально-діагностичного процесу

1. Назва впровадження: патоморфологічні особливості процесів ангиогенезу та васкулогенезу в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку.

2. Установа-розробник, автори: Запорізький державний медичний університет, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автор: асистент кафедри патологічної анатомії і судової медицини Волошанська О.О.

3. Джерела інформації: Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку. Буковинський медичний вісник, м. Чернівці. Т.25, №2 (98). С. 22-28. DOI: <https://doi.org/10.34061/2413-0737.XXV.2.98.2021.4>

4. Результати застосування методу за період з лютого 2021 р. продовжує впроваджуватись.

позитивна (кількість спостережень) 29

негативна: немає

5. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації: запропоновані критерії ефективні.

| Показники | За даними | |
|----------------------|-------------|--------------------------------------|
| | Розробників | Установи, яка проводить впровадження |
| Позитивний результат | 75,5% | 69,5% |

6. Термін впровадження: лютий – грудень 2021р.

7. Базова установа, яка проводить впровадження: КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня»

8. Форма впровадження: в практичну роботу відділення для покращення патоморфологічної діагностики ішемічних інфарктів мозку.

9. Зауваження і пропозиції: не вносилися. Пропонуємо подальше впровадження у роботу патологоанатомічного відділення

Завідувач патологоанатомічним відділенням

КНП «Київська обласна клінічна лікарня»

« 26 » 11 2021р.

П.П. Саксарівський

ДОДАТОК А6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Г.в.о. начальника КУ «Запорізьке

обласке бюро СМЕ» ЗОР:

І.С. Курілов

2021

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ в діагностичний процес

1. **Назва впровадження:** патоморфологічні особливості процесів негіпертензивного та васкулогенезу в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку.

2. **Установа-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автор: асистент кафедри патологічної анатомії і судової медицини Волошанська О.О.

3. **Джерела інформації:** Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку. Буковинський медичний вісник, м. Чернівці, Т.25, №2 (98). С. 22-28. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.2.98:2021.4>

4. **Впроваджено:** КУ «Запорізьке обласке бюро СМЕ» ЗОР.

5. **Дата початку впровадження:** листопад - грудень 2021 р.

6. **Загальна кількість спостережень:** 35

7. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації:** запропоновані критерії ефективні.

| Показники | За даними | |
|----------------------|-------------|---------------------------------------|
| | Розробників | Устремани, які проходили впровадження |
| Позитивний результат | 85,5% | 82,6% |

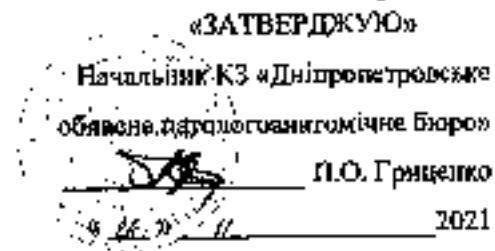
8. **Зуваження, додатки:** немає.

Відповідальний за впровадження

Лікар-патологоанатом патологоанатомічного відділу
з гістологічною лабораторією
в. _____ 2021 р.

Р.А. Положенко

ДОДАТОК А7



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
в діагностичний процес

1. **Назва впровадження:** патоморфологічні особливості процесів ангиогенезу та васкулогенезу в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку.

2. **Устава-розробник, автори:** Запорізький державний медичний університет, кафедра патологічної анатомії і судової медицини. Автор: асистент кафедри патологічної анатомії і судової медицини Волощакєва О.О.

3. **Джерела інформації:** Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку. Буковинський медичний вісник, м. Чернівці, Т.25, №2 (98), С. 22-28.
DOI: https://doi.org/10.24061/2413-0737_XXV.2.98.2021.4

4. **Впроваджено:** КЗ «Дніпропетровське обласне патологоанатомічне бюро».

5. **Дата початку впровадження:** листопад - грудень 2021 р.

6. **Загальна кількість спостережень:** 29

7. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями,** викладеними в джерелі інформації: запропоновані критерії ефективні.

| Показники | За даними | |
|----------------------|-------------|--------------------------------------|
| | Розробників | Установи, яка проводила впровадження |
| Позитивний результат | 75,5% | 72,6% |

8. **Зауваження, додатки:** немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач відділення загальної патології
«27» _____ 2021 р.



Р.В. Лисуненко

ДОДАТОК Б
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ
ДИСЕРТАЦІЇ

1. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах. *Патологія*. 2020. № 2(49). С. 234-240. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212808> (Дисертант виконала набір матеріалу, патогістологічне дослідження).
2. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Ультраструктурні зміни в мікросудинах і периваскулярному просторі при інфаркті головного мозку в експерименті. *Морфологія*. 2020. Т.14, №4. С. 16-28. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.4.16-28> (Дисертант виконала набір матеріалу, патогістологічне дослідження).
3. Волошанська О.О. Патоморфологічні прояви судинного ремоделювання в перифокальних ділянках ішемічних інфарктів мозку. *Буковинський медичний вісник*. 2021. Т.25, №2 (98). С. 22-28. DOI: 10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.4 (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).
4. Волошанська О.О. Морфологічні зміни судинного русла в ранні терміни ішемічного інсульту. *Медична наука у практику охорони здоров'я : всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених (м. Полтава, 27 лист. 2020р.)*. Полтава, 2020р. С.33-34. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).
5. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Патоморфологічні зміни мікроциркуляторного русла в перифокальній області інфаркту мозку. *Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря : міжнар. наук.-практ. конф. (м. Вінниця, 10-11 квіт. 2019р.)*. Вінниця, 2019. С. 34-36. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

6. Волошанська О.О., Тертишний С.І. Патоморфологія мікроциркуляторних розладів в гострому періоді ішемічного інсульту. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : збірник тез доп. наук.-практ. конф. з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 2019р.). Запоріжжя, 2019. С.4-5. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

ДОДАТОК В
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря», м. Вінниця, 2019р. *(публікація тез)*.
2. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації», м. Запоріжжя, 2019р. *(публікація тез)*.
3. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука у практику охорони здоров'я», м. Полтава, 2020р. *(публікація тез і усна доповідь)*.
4. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини та фармації», м. Запоріжжя, 2021р. *(усна доповідь)*.