

## 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 MMP-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 MMP-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.

## 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, 2019 р.)*. Запоріжжя, 2019. С. 4-5. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).