

Морфологічні особливості реваскуляризації перифокальних ділянок інфаркту мозку

С. І. Тертишний^{id} *^{A,E,F}, О. О. Волошанська^{id} ^{B,C,D}, А. М. Сергеева^{id} ^{C,D}

Запорізький державний медично-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – дослідити патоморфологічні прояви реваскуляризації перифокальних ділянок інфаркту мозку в динаміці гострого періоду захворювання.

Матеріали та методи. Вивчали перифокальні ділянки інфаркту мозку в померлих хворих у термінах 1, 3, 7 і 14 діб. Здійснили оглядове світлооптичне дослідження, імпрегнацію препаратів 10 % аміачним сріблом та імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл *Mo a-Hu CD34*, *Clone QBEnd/10* (Thermo Fisher Scientific Inc., США) і *Mo a-Hu CD105 Endoglin*, *Clone: SN6h¹* (DAKO, Данія). Дослідили щільність судин і сумарну площу поперечного перетину судин. Морфометричне дослідження здійснили за допомогою програми Відеотест – Морфологія 5.2.0.158 (ООО ВідеоТест). Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою програми Statistica® for Windows 13.0.

Результати. За даними експресії CD34 і морфометричного дослідження, з 3 доби в перифокальних ділянках інфаркту мозку посилюються процеси ангиогенезу, збільшується щільність судин на 18,48 %, в 1,93 раза зростає сумарна площа поперечного перетину судин. На 7 добу в цих ділянках зареєстрували максимальні показники щільності судин і сумарної площі поперечного перетину судин, визначили брунькування судин, формування ендотеліальних проліфератів, спостерігали посилення інтенсивності мембранної експресії CD105 в ендотелії судин і перичитах, що свідчить про активну участь останніх в ангиогенезі. На 14 добу щільність судин і показники сумарної площі поперечного перетину судин зменшилися. В цей термін у перифокальних ділянках інфаркту збільшилися щільність розташування астроглії з гіпертрофією тіл і відростків астроцитів.

Висновки. У перифокальних ділянках мозкового інфаркту, за даними експресії CD34 і CD105, із 3 доби поступово посилюються процеси ангиогенезу, збільшується щільність судин, сумарна площа поперечного перетину судин, а також спостерігають брунькування судин, формування ендотеліальних проліфератів. Судинне ремоделювання супроводжується збільшенням щільності та гіпертрофією астроглії в перифокальних ділянках мозкового інфаркту.

Ключові слова:

перифокальні ділянки інфаркту мозку, реваскуляризація, CD34, CD105, астроцити.

Патологія. 2023. Т. 20, № 3(59). С. 243-249

*E-mail: tertishniypath@gmail.com

Morphological peculiarities of revascularization of perifocal areas of brain infarction

S. I. Tertyshnyi, O. O. Voloshanska, A. M. Serheieva

Aim. To study pathomorphological signs of revascularization of perifocal areas of brain infarction in the dynamics of the acute period of the disease.

Material and methods. Perifocal areas of brain infarction in patients who died at the 1st, 3rd, 7th, and 14th days were studied. General histopathological study was followed by 10 % ammonium silver impregnation and immunohistochemical examination using monoclonal antibodies *Mo a-Hu CD34*, *Clone QBEnd/10* ("Thermo Fisher Scientific Inc." – USA) and *Mo a-Hu CD105 Endoglin were used. clone: SN6h¹* ("DAKO", Denmark). Vascular density and total cross-sectional area of vessels were studied. For the morphometric study, Videotest – Morphology 5.2.0.158 software (VideoTest LLC) was used. Statistical processing of the obtained data was carried out using the Statistica® for Windows 13.0 software.

Results. According to the data of CD34 expression, from the 3rd day in the perifocal areas of brain infarction, the angiogenesis processes were increased: the density of blood vessels increased by 18.48 %, and the total cross-sectional area of vessels increased by 1.93 times. On the 7th day, the maximal vessel density and total cross-sectional area of vessels were registered in these areas; there was a vascular budding, formation of endothelial proliferates, and increased expression of CD105 on the vascular endothelium and pericytes, which indicates the active participation of the latter in angiogenesis. On the 14th day, blood vessel density and indicators of the total cross-sectional area of vessels decreased. During this period, the density of the astrocytes increased in the infarct's perifocal areas with hypertrophy of their bodies and processes.

Conclusions. According to CD34 and CD105 expression data, in the perifocal areas of cerebral infarction, the processes of angiogenesis gradually increase from the 3rd day manifesting by increase in the blood vessel density and total vascular cross-sectional area, as well as in the vascular budding and the formation of endothelial proliferates. Vascular remodeling is accompanied by increased density and hypertrophy of astroglia in the perifocal areas of cerebral infarction.

Key words:

perifocal areas of brain infarction, revascularization, CD34, CD105, astrocytes.

Pathologia, 2023. 20(3), 243-249

Ішемічний інсульт – основна причина смертності та тяжкої інвалідності в усьому світі, й кількість хворих на інсульт у багатьох країнах неухильно зростає [1,2].

Враховуючи соціальну значущість цієї патології, кількість наукових досліджень, що присвячені про-

блемам ішемічного інсульту, за останнє десятиліття також суттєво зросла [3]. Останнім часом дослідники приділяють чимало уваги процесам відновлення функцій мозку після перенесеного ішемічного інсульту. Критичну роль у цьому процесі відіграє стан судинної

системи [4,5]. Все більше доказів свідчать, що покращення кровопостачання ішемічних ділянок відбувається шляхом посиленого ангіо- та васкулогенезу.

Процес постінсультного ангіогенезу досить складний і остаточно не з'ясований. У ньому задіяно багато механізмів, які нині інтенсивно вивчають [6,7]. Нові судини утворюються в мозку кількома способами, включаючи ангіогенез, васкулогенез і ріст колатеральних судин. Головна мета утворення цих нових судин – посилення колатерального кровообігу як першої лінії захисту від ішемії. Ангіогенез відіграє вирішальну роль у відновленні мозку після ішемічного інсульту та тривалому функціональному відновленні.

Чимало дослідників зазначають, що в процесах ангіогенезу важлива роль належить CD34+-клітинам [8,9]. Вони здатні до проліферації та диференціювання, виділяють ангіогенні фактори, що може посилювати процеси регенерації при ішемічному пошкодженні тканин [10,11,12]. Крім того, CD34+-клітини ідентифікують як ендотеліальні клітини-попередники, а також як мультипотентні гемопоетичні стовбурові клітини.

Зауважимо, що експресію CD34 визначають і в нормальних тканинах, тому для ідентифікації активованих ендотеліальних клітин у сучасних дослідженнях часто використовують імуногістохімічний маркер CD105, або ендоглін. Повідомляють, що CD105 сильно експресується в ендотеліальних клітинах тканин, які беруть участь в ангіогенезі. Крім ендотеліальних клітин, що задіяні в відновленні кровопостачання перифокальних відділів інфаркту мозку, важлива роль у цих процесах належить перицитам та астроцитам [13,14] як невід'ємним компонентам судин і гематоенцефалічного бар'єра.

Вираженість процесів ангіогенезу в перифокальних ділянках мозкових інфарктів у різні терміни захворювання має важливе значення для впровадження ефективних лікувальних заходів, що спрямовані на запобігання поширенню ішемічних змін при інфарктах мозку та покращення неврологічного статусу хворих. Однак морфологічні зміни в перифокальних ділянках мозкових інфарктів, і зокрема процеси ангіогенезу, висвітлено в поодиноких дослідженнях останніх років [15].

Мета роботи

Дослідити патоморфологічні прояви реваскуляризації перифокальних ділянок інфаркту мозку в динаміці гострого періоду захворювання.

Матеріали і методи дослідження

Матеріал дослідження – мозок хворих, які померли в різні терміни півкульового ішемічного інфаркту. Вивчали перифокальні зони інфаркту в такі терміни: 1 доба – $n = 17$, 3 – $n = 15$, 7 – $n = 14$, 14 діб – $n = 9$. Як контроль дослідили відповідні ділянки мозку протилежної півкулі.

Для оглядової світлової мікроскопії мозок фіксували 10 % розчином нейтрального формаліну (24–48 годин), надалі обробляли за загальноприйнятою методикою. Парафінові серійні зрізи забарвлювали

гематоксиліном та еозином. Стан базальних мембран судин визначали на препаратах, забарвлених шифф-йодною кислотою (PAS-реакція).

Ендотелій мікросудин визначали, використовуючи моноклональні антитіла *Mo a-Hu CD34*, *Clone QBEnd/10* (Thermo Fisher Scientific Inc., США) і *Mo a-Hu CD105 Endoglin*, *Clone: SN6h¹* (DAKO, Данія).

Здійснили контрольні дослідження для виключення хибнопозитивного і хибнонегативного результатів імуногістохімічного дослідження (ІГХ). Позитивний контроль – зрізи головного мозку померлих без цереброваскулярної патології; при цьому досліджені антигени були наявні в тканині в достатній мірі, мали відповідний розподіл. Для негативного контролю під час ІГХ-забарвлення виключали інкубацію з первинним антитілом.

Посилення ангіогенезу як адаптивного механізму при ішемічному інфаркті мозку в перифокальних зонах оцінювали шляхом обрахунку щільності мікросудин, яку визначали за допомогою методу «гарячих точок» ангіогенезу за N. Weidner [16]. На зрізах із позитивною експресією CD34 в ендотелії судин визначали три ділянки з найбільшою кількістю мікросудин в умовно стандартизованому полі зору (УСПЗ) мікроскопа при збільшенні $\times 400$. У кожній із цих ділянок обраховували кількість мікросудин; середнє арифметичне значення кількості мікросудин, що отримали в трьох полях зору, вважали показником щільності мікросудин.

Експресію CD105 оцінювали з визначенням оптичної щільності в умовних одиницях оптичної щільності (УООЩ) за допомогою програми ImageJ. Слабка інтенсивність – від 21 до 50 УООЩ, помірна – від 51 до 100 УООЩ, виражена експресія – понад 100 УООЩ. Інтенсивність експресії часто не відповідала площі експресії, залежала від щільності поверхневих рецепторів на клітинах.

На оглядових препаратах у перифокальних ділянках інфаркту мозку обчислювали сумарну площу поперечного перетину судин (СПС) у стандартизованому полі зору мікроскопа при збільшенні $\times 200$. У кожному випадку аналізували від 10 до 15 полів зору. Показники СПС наведено в відсотках до площі поля зору.

Виразність гліальної реакції в перифокальних ділянках інфаркту мозку визначали методом імпрегнації попередньо заморожених зрізів у розчині 10 % аміачного срібла.

Дослідження здійснили, використавши мікроскоп Axio Scope A1 Carl Zeiss (Німеччина) з камерою Jenoptik Progres gryphax® серії SUBRA (Німеччина). У кожному випадку аналіз судинних змін здійснили в 5 полях зору за допомогою програми Відеотест – Морфологія 5.2.0.158 (ООО ВідеоТест).

Одержані дані статистично опрацювали за допомогою програми Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J). Статистичний аналіз морфометричних параметрів здійснили з обчисленням медіани (Me), нижнього і верхнього квантилів (Q1; Q3). Відмінності між двома незалежними вибірками оцінювали за допомогою U-критерію Манна–Вітні. Статистично значущими вважали відмінності на рівні 95 % ($p < 0,05$).

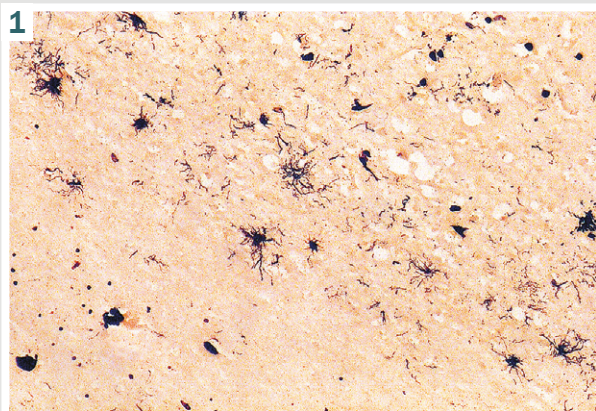


Рис. 1. Руйнування астроцитів у перифокальній ділянці інфаркту. Термін спостереження – 1 доба. Імпрегнація солями срібла. 36. $\times 200$.

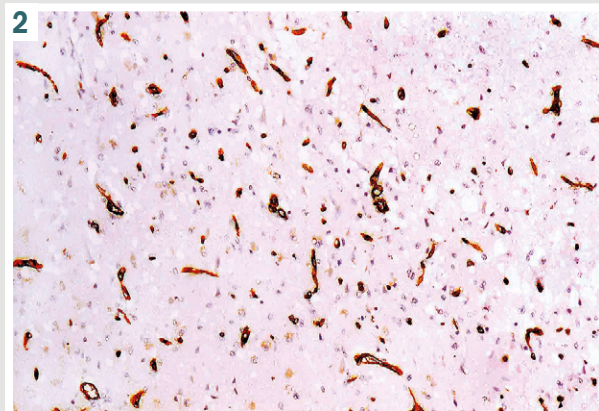


Рис. 2. Експресія CD34 у перифокальній ділянці інфаркту мозку на 3 добу захворювання. ІГХ, Мо *a-Hu CD34*, Clone QBEnd/10. 36. $\times 100$.

Результати

За даними експресії CD34, у контрольних спостереженнях щільність судин у корі та білій речовині становила 21,1 (19,00; 23,75) і 10,5 (9,00; 12,00) в УСПЗ відповідно при збільшенні $\times 200$. У кіркових відділах дрібні артеріоли та капіляри частіше розташовувалися навколо нейронів. У білій речовині визначили рівномірніше розташування дрібних судин. СПС у корі мозку становила 1,43 (1,21; 1,75) %.

На 1 добу захворювання в перифокальних ділянках мозкового інфаркту на фоні циркуляторних, гемокоагуляційних змін у капілярах і дрібних артеріолах реєстрували дистрофічні зміни ендотелію з наявністю в них сплоснених або вакуолізованих ядер із нечіткими межами. Визначили ділянки деендотелізації зі зниженою щільністю розташування ендотелію. Базальна мембрана дрібних артеріол характеризувалася нерівномірною товщиною, почасти внаслідок її руйнування зі зниженням оптичної щільності на окремих ділянках, почасти – внаслідок гіалінозу; це свідчило про наявність ангіопатії в більшості хворих на ішемічний інфаркт мозку. У цей термін визначали також фрагментацію, руйнування відростків і тіл астроцитів, нерівномірність їх розподілу по периметру інфарктного ядра, а також варіабельність їхніх розмірів (рис. 1).

У цей термін підвищувалася експресія CD34 в оболонках і корі мозку, визначали суттєве розгалуження і нерівномірний розподіл капілярної мережі в іпсилатеральній півкулі, але на межі з ішемічним осередком руйнування судин призводило до істотного зниження інтенсивності експресії CD34. Щільність судин у перифокальних ділянках ішемічного осередку на 1 добу становила 16,00 (14,00; 18,50); це на 24,17 % менше, ніж у контрольних спостереженнях ($p \leq 0,01$). СПС у корі мозку перифокальних ділянок інфаркту становила 0,77 (0,62; 1,16) %; це відповідало 58,84 % від показника контрольних спостережень. Отже, СПС істотніше знижується порівняно зі щільністю судин перифокальних ділянок інфаркту мозку. Це відбувається внаслідок спадіння частини дрібних артеріол і капілярів, а також у результаті вакуолізації ендотелію зі зменшенням просвіту судин. Однак в

окремих випадках у цьому терміні виявляли ділянки з розширенням судин зі стазом крові та розширені судини венозної ланки кровообігу, що спричиняло збільшення показників СПС. Такі зміни фіксували на обмежених ділянках перифокальної зони інфаркту, вони свідчили про неефективність кровообігу в цих зонах.

На 3 добу інтенсивність експресії CD34 у перифокальній зоні інфаркту мозку та щільність судин збільшувалися порівняно з контрольними спостереженнями. У зонах із підвищеною проникністю судин визначили інтенсивнішу експресію CD34. Щільність судин у цьому терміні становила 25,00 (22,25; 27,00); це на 18,48 % більше ніж у контролі. На окремих ділянках визначили хаотичне розташування великої кількості судин, щільність яких більш ніж удвічі перевищувала контрольні параметри (рис. 2). Показники СПС суттєво зростали внаслідок розширення колатеральних судин і становили 2,77 (2,07; 3,45) %, що в 1,93 раза більше порівняно з контрольними спостереженнями.

На 7 добу захворювання щільність судин, за даними щодо рівня експресії CD34, становила 27,00 (25,25; 29,00) в УСПЗ; це більше порівняно з показником, що встановили на 1 і 3 доби, на 68,75 % ($p < 0,05$) і 8,00 % ($p > 0,05$) відповідно. На межі з ішемічним осередком посилювалися процеси ангіогенезу – брунькування судин і формування ендотеліальних проліфератів, локалізованих навколо дрібних судин, які містили до 5–7 клітин. Кількість таких проліфератів зменшувалася з віддаленням від осередку некрозу. Показники СПС у цей термін становили 3,42 (3,25; 3,68) %; це більше порівняно з 1 і 3 добами в 4,44 і 1,23 раза відповідно ($p \leq 0,01$).

На 14 добу інтенсивність експресії CD34 по периферії інфаркту нерівномірна. Щільність судин становила 25,50 (22,25; 28,00) в УСПЗ, що менше порівняно з попереднім терміном на 5,55 %; показники СПС становили 3,09 (2,96; 3,71) %. У цей термін спостерігали суттєву редукцію набряку, циркуляторних і гемокоагуляційних розладів на межі з осередком ішемічного інфаркту, по периметру якого зростала щільність макрофагів.

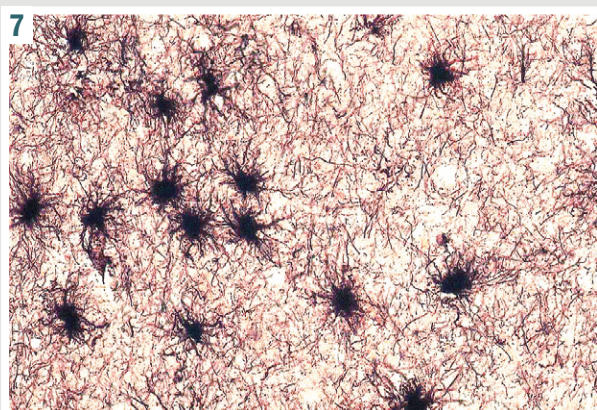
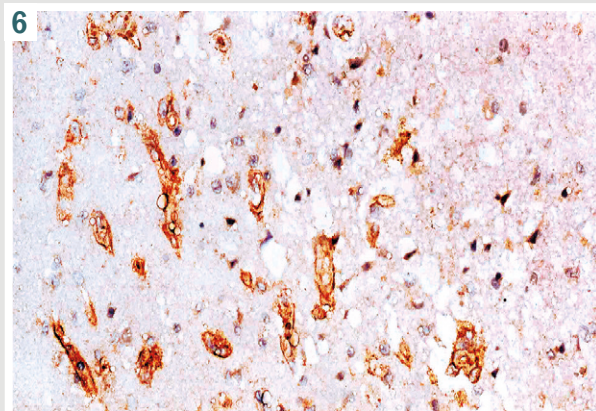
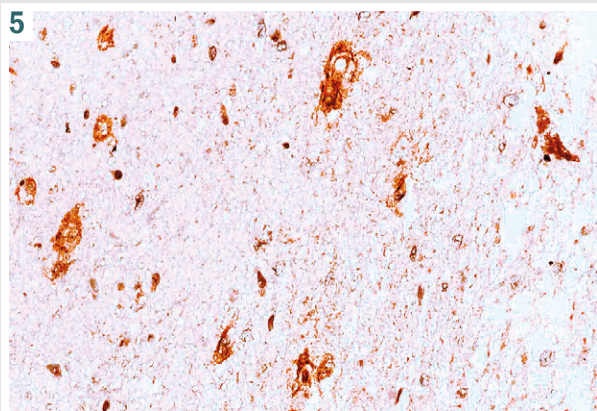
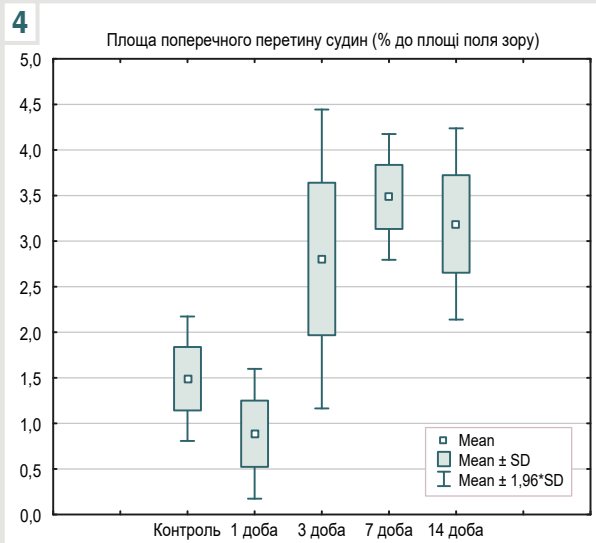
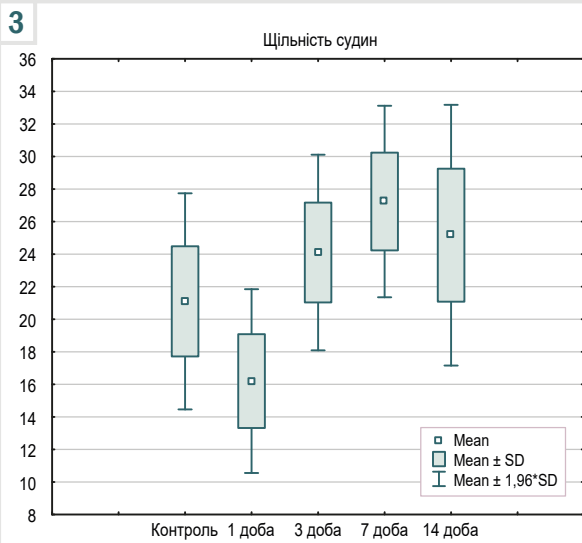


Рис. 3. Щільність судин у перифокальних відділах інфаркту мозку в різні терміни спостереження.

Рис. 4. Показники сумарної площі поперечного перетину судин у перифокальних відділах інфаркту мозку в різні терміни спостереження.

Рис. 5. Експресія CD105 в перифокальній ділянці інфаркту мозку на 3 добу (ділянка некрозу на рисунку справа). Мо *a-Hu CD105 Endoglin*, Clone: SN6h1. 36. ×200.

Рис. 6. Експресія CD105 у перифокальній ділянці інфаркту мозку на 7 добу (ділянка некрозу на рисунку в правому верхньому куті). Мо *a-Hu CD105 Endoglin*, Clone: SN6h1. 36. ×200.

Рис. 7. Формування астрогліозу в перифокальних ділянках інфаркту мозку. Термін спостереження – 14 діб. Імпрегнація солями срібла. 36. ×100.

На 7 і 14 добу, поряд із посиленням експресії CD34 в ендотелії судин, збільшувалася кількість CD34-позитивних клітин, які вільно розташовувалися серед нейронів і гліальних клітин; почасти такі клітини формували осередки підвищеної щільності, що визначили як прояви початкових стадій васкулогенезу. Кількість таких клітин на 7 і 14 добу становила 9,50 (7,00; 13,00) і 20,00 (16,25; 23,75) відповідно.

Зведені діаграми щільності судин і сумарна площа поперечного перетину судин на 1–14 добу наведені на рис. 3 і 4.

Визначили аналогічну спрямованість за термінами спостереження щодо експресії CD105. У перші 3 доби в перифокальних ділянках інфаркту визначили слабку мембранну експресію маркера (рис. 5). На окремих ділянках її визначили тільки в поодиноких ендотеліальних клітинах, що свідчило про відсутність активації ендотелію.

Починаючи з 7 доби, в перифокальних відділах інфаркту мозку визначали виражену інтенсивність експресії CD105 (рис. 6), що зменшувалася з віддаленням від некротичного осередку. Виражену мембранну

експресію CD105 виявляли і в ендотелії судин, і в перицитах; це свідчить про активну участь останніх в ангиогенезі, враховуючи спільність їхньої мембрани з ендотелієм. Зауважимо, що в більшості судин інтенсивність мембранної експресії в перицитах значно перевищувала таку в ендотелії.

Судинне ремоделювання перифокальних ділянок інфаркту супроводжувалося збільшенням щільності та нерівномірністю розташування астроглії з вираженою гіпертрофією тіл і переплетених відростків (рис. 7); це призводило до формування гліозу за анізоморфним типом з утворенням рубця.

Обговорення

Посилення ангиогенезу є однією зі стратегій сприяння функціональному відновленню після ішемічного інсульту [17,18]. Ангиогенез також тісно пов'язаний із процесами нейрогенезу [19], тому дослідження васкуляризації може бути хорошим біомаркером для моніторингу процесів реабілітації, а також ефектів фармакотерапії [20].

Дані наукової літератури свідчать, що ангиогенез стимулюється на межі ішемічного ядра після початку осередкової ішемії. Появу нових капілярів фіксують через 4–14 днів після церебральної ішемії [17]. В інших дослідженнях наводять термін 4–7 днів [21]. Зіставні результати одержали в нашому дослідженні. В ранні терміни (1 доба) спостерігали зменшення щільності судин внаслідок їх руйнування в перифокальних відділах некротичного осередку. Частина судин спадається через незаповнення кров'ю, і це призводить до значного зменшення сумарної площі поперечного перетину судин. Посилення експресії маркера CD34 на судинах перифокальних відділів інфаркту зі збільшенням щільності судин свідчило про посилення васкуляризації вже на 3 добу. Такі зміни пов'язують із посиленням колатерального кровотоку [22]. Максимальні показники щільності судин зареєстровані на 7 добу. В цей самий термін посилення ангиогенезу фіксували за появою брунькування судин.

Аналіз відомостей фахової літератури свідчить, що в дослідженнях різних авторів наведені терміни початку ангиогенезу та максимальних його проявів, що істотно відрізняються. Це зумовлено тим, що значна кількість досліджень, де вивчали ангиогенез, здійснено на експериментальному матеріалі з застосуванням різних моделей ішемічного ураження мозку [23,24]. На терміни васкуляризації перифокальних відділів інфаркту в померлих можуть впливати об'єм інфаркту, вік хворих, стан судинних колатералей і супутня судинна патологія, застосування лікарських засобів [25].

Дослідження у пацієнтів з інсультом показали, що активний ангиогенез відбувається через 3–4 дні після ішемічного ушкодження [26]. Дослідження аутопсійного матеріалу пацієнтів із різним терміном виживання після інсульту показали збільшення щільності мікросудин головного мозку порівняно з контралатеральною півкулею.

Особливістю змін на 7 і 14 добу, що виявили під час наших спостережень, є експресія CD34 в окремих

клітинах, що не пов'язані з судинами. Кількість таких клітин суттєво збільшувалася з 7 до 14 доби. Зважаючи, що CD34+клітини є маркером ендотеліальних клітин-попередників, таке збільшення свідчить про їхню активну участь у процесах ангиогенезу. У фаховій літературі наведено достатню кількість відомостей про роль ендотеліальних клітин-попередників у підтримці васкуляризації після ішемічного інсульту [11,27]. У дослідженнях останніх років показано: CD34-позитивні клітини, що циркулюють, необхідні для активації відновлення ендотелію [28]; вони є також джерелом факторів росту, ангиогенезу [10]. З підвищенням рівнів ендотеліальних клітин-попередників, які циркулюють, зменшується зростання інфаркту, спостерігають поліпшення неврологічного статусу в пацієнтів після гострого ішемічного інсульту [29]. Показано, що CD34+клітини людини виділяють численні ангиогенні фактори, включаючи VEGF, HGF (фактор росту гепатоцитів) та IGF-1 (інсуліноподібний фактор росту) [30]. В експериментальних дослідженнях підтверджено, що після оклюзії середньої мозкової артерії локальне введення CD34+клітин у зону інфаркту посилює процеси неоваскуляризації, збільшуючи у ній кортикальний кровотік. Протягом останніх років клітинна терапія ендотеліальними клітинами-попередниками запропонована як альтернативний підхід для сприяння ангиогенезу та відновлення мозку після інсульту.

Крім CD34, дослідили експресію CD105, або ендогліну, який також відіграє важливу роль у процесах васкуляризації при ішемічних ураженнях. Важливість ендогліну в реперфузії після оклюзії судин підтверджується зокрема тим, що його експресія посилюється в судинах, які виявляють активний ангиогенез та/або ремоделювання [31]. Інтенсивна експресія ендогліну, згідно з результатами, що одержали, також свідчить про активацію ангиогенезу в перифокальних ділянках інфаркту мозку на 7 добу захворювання. За останніми даними, експресія ендогліну значною мірою індукується гіпоксією в ендотеліальних моношарах мозку людини *in vitro*, і наступна реоксигенація індукує його виділення [32]. Доведено, що рівні ендогліну в сироватці крові значно вищі в пацієнтів з ішемічним інсультом [19]. Інтенсивну експресію ендогліну виявили також на перицитах, що свідчило про їхню активну роль в ангиогенезі. Важливе значення перицитів у процесах ангиогенезу детально вивчено в наукових дослідженнях останніх років [4,13,33]. Перицити не тільки мають ключове розташування на межі кров / мозок, вони також виконують численні функції: підтримують цілісність гематоенцефалічного бар'єра, відіграють важливу роль в ангиогенезі та мають значну секреторну здатність [4].

Поряд з активацією ангиогенезу в перифокальних ділянках мозкового інсульту виявили посилену проліферацію астроцитів. Незважаючи на досить суперечливу роль астроцитів у процесах відновлення після мозкового інсульту, в деяких дослідженнях показано важливу роль реактивних астроцитів у захисті вже наявних судин і полегшенні відновлення, ремоделювання судин після інсульту [34]. Автори констатують, що астроцити можуть опосередковувати відновлення після інсульту шляхом посилення ангиогенезу [14].

проте в нашому дослідженні не акцентували на ролі астроцитів у цих процесах.

Висновки

1. У перифокальних ділянках мозкового інфаркту на 1 добу визначають істотне руйнування дрібних артерій і капілярів. Це призводить до зменшення площі експресії CD34 і показників сумарної площі поперечного перетину судин на 24,17 % і 46,15 % відповідно.

2. На 3 і 7 доби в перифокальних ділянках інфаркту поступово збільшується інтенсивність експресії CD34, зростає щільність судин і показники сумарної площі поперечного перетину судин, збільшується кількість вільно розташованих CD34-позитивних клітин.

3. На 7 і 14 доби активується ангиогенез – брунькування судин і формування ендотеліальних проліфератів, зростає інтенсивність експресії CD105 в ендотелії та перичитах. Судинне ремоделювання перифокальних ділянок інфаркту супроводжується збільшенням щільності та гіпертрофією астроглії.

Перспективи подальших досліджень полягають у детальнішому вивченні процесів ангіо- та васкулогенезу, а також аналізі ролі астроглії та ендотеліальних клітин-попередників у динаміці відновлювального періоду при інфарктах мозку, застосовуючи ширші панелі маркерів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 22.08.2023

Після доопрацювання / Revised: 11.10.2023

Схвалено до друку / Accepted: 16.10.2023

Відомості про авторів:

Тертишний С. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3856-4234

Волошанська О. О., д-р філософії, асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-4504-2066

Сергеева А. М., PhD-аспірант каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0009-0005-9021-0582

Information about authors:

Tertyshnyi S. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

Voloshanska O. O., MD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Serheieva A. M., Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- King, D., Wittenberg, R., Patel, A., Quayyum, Z., Berdunov, V., & Knapp, M. (2020). The future incidence, prevalence and costs of stroke in the UK. *Age and ageing*, 49(2), 277-282. <https://doi.org/10.1093/ageing/afz163>
- Akinyemi, R. O., Ovbiagele, B., Adeniji, O. A., Sarfo, F. S., Abd-Allah, F., Adoukonou, T., Ogah, O. S., Naidoo, P., Damasceno, A., Walker, R. W., Ogunniyi, A., Kalaria, R. N., & Owolabi, M. O. (2021). Stroke in Africa: profile, progress, prospects and priorities. *Nature reviews. Neurology*, 17(10), 634-656. <https://doi.org/10.1038/s41582-021-00542-4>
- Millenaar, D., Ragoschke-Schumm, A., Fehlmann, T., Raible, M., Lochner, P., Böhm, M., Fassbender, K., Keller, A., Mahfoud, F., & Ukena, C. (2022). Ischemic Stroke-A Scientometric Analysis. *Frontiers in neurology*, 13, 893121. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.893121>
- Yang, Y., & Torbey, M. T. (2020). Angiogenesis and Blood-Brain Barrier Permeability in Vascular Remodeling after Stroke. *Current neuropharmacology*, 18(12), 1250-1265. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200720173316>
- Williamson, M. R., Franzen, R. L., Fuentes, C. J. A., Dunn, A. K., Drew, M. R., & Jones, T. A. (2020). A Window of Vascular Plasticity Coupled to Behavioral Recovery after Stroke. *The Journal of neuroscience*, 40(40), 7651-7667. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1464-20.2020>
- Ma, Y., Yang, S., He, Q., Zhang, D., & Chang, J. (2021). The Role of Immune Cells in Post-Stroke Angiogenesis and Neuronal Remodeling: The Known and the Unknown. *Frontiers in immunology*, 12, 784098. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.784098>
- Sun, P., Zhang, K., Hassan, S. H., Zhang, X., Tang, X., Pu, H., Stetler, R. A., Chen, J., & Yin, K. J. (2020). Endothelium-Targeted Deletion of microRNA-15a/16-1 Promotes Poststroke Angiogenesis and Improves Long-Term Neurological Recovery. *Circulation research*, 126(8), 1040-1057. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.315886>
- Sargento-Freitas, J., Pereira, A., Gomes, A., Amorim, P., Matos, T., Cardoso, C. M. P., Silva, F., Santo, G. C., Nunes, C., Galego, O., Carda, J., Branco, J., Lourenço, V., Cunha, L., & Ferreira, L. (2018). STROKE34 Study Protocol: A Randomized Controlled Phase IIa Trial of Intra-Arterial CD34+ Cells in Acute Ischemic Stroke. *Frontiers in neurology*, 9, 302. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00302>
- Bachelier, K., Bergholz, C., & Friedrich, E. B. (2020). Differentiation potential and functional properties of a CD34CD133+ subpopulation of endothelial progenitor cells. *Molecular medicine reports*, 21(1), 501-507. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10831>
- Matta, A., Nader, V., Galinier, M., & Roncalli, J. (2021). Transplantation of CD34+ cells for myocardial ischemia. *World journal of transplantation*, 11(5), 138-146. <https://doi.org/10.5500/wjtv11.i5.138>
- Kukumberg, M., Zaw, A. M., Wong, D. H. C., Toh, C. M., Chan, B. P. L., Seet, R. C. S., Wong, P. T. H., & Yim, E. K. F. (2021). Characterization and Functional Assessment of Endothelial Progenitor Cells in Ischemic Stroke Patients. *Stem cell reviews and reports*, 17(3), 952-967. <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10064-z>
- Rodríguez-Esparragón, F., Torres-Mata, L. B., López-Fernández, J. C., Cappiello, L., González-Martín, J. M., Clavo, B., Serna-Gómez, J. A., Estupiñán-Quintana, L., Torres-Ascensión, C., & Villar, J. (2022). Clinical relevance of circulating angiogenic cells in patients with ischemic stroke. *BMC cardiovascular disorders*, 22(1), 118. <https://doi.org/10.1186/s12872-021-02421-8>
- Zhou, S. Y., Guo, Z. N., Zhang, D. H., Qu, Y., & Jin, H. (2022). The Role of Pericytes in Ischemic Stroke: From Cellular Functions to Therapeutic Targets. *Frontiers in molecular neuroscience*, 15, 866700. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.866700>
- He, T., Yang, G. Y., & Zhang, Z. (2022). Crosstalk of Astrocytes and Other Cells during Ischemic Stroke. *Life*, 12(6), 910. <https://doi.org/10.3390/life12060910>
- Voloshanska, O. (2021). Patomorfolohichni proiavy sudynnoho remodeliuvannia v perifokalnykh diliankakh ishemichnykh infarktiv mozku [Pathomorphological manifestations of vascular remodeling in the perifocal areas of ischemic cerebral infarction]. *Bukovynskiy medychny visnyk*, 25(2), 22-28. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.4>
- Weidner, N. (1999). Tumour vascularity and proliferation: clear evidence of a close relationship. *The Journal of pathology*, 189(3), 297-299. [https://doi.org/10.1002\(SICI\)1096-9896\(199911\)189:3<297::AID-PATH434>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002(SICI)1096-9896(199911)189:3<297::AID-PATH434>3.0.CO;2-O)
- Kanazawa, M., Takahashi, T., Ishikawa, M., Onodera, O., Shimohata, T., & Del Zoppo, G. J. (2019). Angiogenesis in the ischemic core: A potential treatment target?. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, 39(5), 753-769. <https://doi.org/10.1177/0271678X19834158>
- Xue, L. X., Shu, L. Y., Wang, H. M., Lu, K. L., Huang, L. G., Xiang, J. Y., Geng, Z., Zhao, Y. W., & Chen, H. (2023). miR-181b promotes angiogenesis and neurological function recovery after ischemic stroke. *Neural regeneration research*, 18(9), 1983-1989. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.367957>
- Alrafiah, A., Alofi, E., Almohaya, Y., Hamami, A., Qadah, T., Almaghrabi, S., Hakami, N., Alrawaili, M. S., & Tayeb, H. O. (2021). Angiogenesis Biomarkers in Ischemic Stroke Patients. *Journal of inflammation research*, 14, 4893-4900. <https://doi.org/10.2147/JIR.S331868>
- Włodarczyk, L., Szelenberger, R., Cichon, N., Saluk-Bijak, J., Bijak, M., & Miller, E. (2021). Biomarkers of Angiogenesis and Neuroplasticity as

- Promising Clinical Tools for Stroke Recovery Evaluation. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 3949. <https://doi.org/10.3390/ijms22083949>
21. Hatakeyama, M., Ninomiya, I., & Kanazawa, M. (2020). Angiogenesis and neuronal remodeling after ischemic stroke. *Neural regeneration research*, 15(1), 16-19. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.264442>
 22. Voloshanska, O. O., & Tertyshnyi, S. I. (2020). Patomorfologichni zminy sudynnoho rusla ta stan kolateralnoho krovotoku pry mozkovykh infarktakh [Pathomorphological changes of the vascular bed and the state of collateral blood flow in cerebral infarction]. *Pathologia*, 17(2), 234-240. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212808>
 23. Gregorius, J., Wang, C., Stambouli, O., Hussner, T., Qi, Y., Tertel, T., Börger, V., Mohamud Yusuf, A., Hagemann, N., Yin, D., Diltrich, R., Mouloud, Y., Mairinger, F. D., Magraoui, F. E., Popa-Wagner, A., Kleinschnitz, C., Doepfner, T. R., Gunzer, M., Meyer, H. E., Giebel, B., Hermann, D. M. (2021). Small extracellular vesicles obtained from hypoxic mesenchymal stromal cells have unique characteristics that promote cerebral angiogenesis, brain remodeling and neurological recovery after focal cerebral ischemia in mice. *Basic research in cardiology*, 116(1), 40. <https://doi.org/10.1007/s00395-021-00881-9>
 24. Kishida, N., Maki, T., Takagi, Y., Yasuda, K., Kinoshita, H., Ayaki, T., Noro, T., Kinoshita, Y., Ono, Y., Kataoka, H., Yoshida, K., Lo, E. H., Arai, K., Miyamoto, S., & Takahashi, R. (2019). Role of Perivascular Oligodendrocyte Precursor Cells in Angiogenesis After Brain Ischemia. *Journal of the American Heart Association*, 8(9), e011824. <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.011824>
 25. Mangiardi, M., Bonura, A., Iaccarino, G., Alessiani, M., Bravi, M. C., Crupi, D., Pezzella, F. R., Fabiano, S., Pampana, E., Stilo, F., Alfano, G., & Anticoli, S. (2023). The Pathophysiology of Collateral Circulation in Acute Ischemic Stroke. *Diagnostics*, 13(14), 2425. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13142425>
 26. Krupinski, J., Kaluza, J., Kumar, P., Kumar, S., & Wang, J. M. (1994). Role of angiogenesis in patients with cerebral ischemic stroke. *Stroke*, 25(9), 1794-1798. <https://doi.org/10.1161/01.str.25.9.1794>
 27. Li, J., Ma, Y., Miao, X. H., Guo, J. D., & Li, D. W. (2021). Neovascularization and tissue regeneration by endothelial progenitor cells in ischemic stroke. *Neurological sciences*, 42(9), 3585-3593. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05428-3>
 28. Shimizu, Y., Kawashiri, S. Y., Kiyoura, K., Koyamatsu, J., Fukui, S., Tamai, M., Nobusue, K., Yamanashi, H., Nagata, Y., & Maeda, T. (2020). Circulating CD34+ cells and active arterial wall thickening among elderly men: A prospective study. *Scientific reports*, 10(1), 4656. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61475-4>
 29. Rudnicka-Drożak, E., Drożak, P., Mizerski, G., & Drożak, M. (2022). Endothelial Progenitor Cells in Neurovascular Disorders-A Comprehensive Overview of the Current State of Knowledge. *Biomedicines*, 10(10), 2616. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10102616>
 30. Hassanpour, M., Salybekov, A. A., Kobayashi, S., & Asahara, T. (2023). CD34 positive cells as endothelial progenitor cells in biology and medicine. *Frontiers in cell and developmental biology*, 11, 1128134. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1128134>
 31. Núñez-Gómez, E., Pericacho, M., Ollauri-Ibáñez, C., Bernabéu, C., & López-Novoa, J. M. (2017). The role of endoglin in post-ischemic revascularization. *Angiogenesis*, 20(1), 1-24. <https://doi.org/10.1007/s10456-016-9535-4>
 32. Haarmann, A., Zimmermann, L., Bieber, M., Silwedel, C., Stoll, G., & Schuhmann, M. K. (2022). Regulation and Release of Vasoactive Endoglin by Brain Endothelium in Response to Hypoxia/Reoxygenation in Stroke. *International journal of molecular sciences*, 23(13), 7085. <https://doi.org/10.3390/ijms23137085>
 33. Cao, L., Zhou, Y., Chen, M., Li, L., & Zhang, W. (2021). Pericytes for Therapeutic Approaches to Ischemic Stroke. *Frontiers in neuroscience*, 15, 629297. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.629297>
 34. Williamson, M. R., Fuertes, C. J. A., Dunn, A. K., Drew, M. R., & Jones, T. A. (2021). Reactive astrocytes facilitate vascular repair and remodeling after stroke. *Cell reports*, 35(4), 109048. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109048>