

А. М. Нетлюх

Патоморфологія оболон головного мозку щурів при експериментальному субарахноїдальному крововиливі

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ключові слова: внутрішньочерепна аневризма, субарахноїдальний крововилив, головний мозок, донатори оксиду азоту.

Тверда оболонка головного мозку (ТМО) є складною, багато васкуляризованою мембраною, фізіологія та патофізіологія котрої недостатньо вивчені. Розгалуження оболонкових артерій дають початок артеріолам мікроциркуляторного русла, а зміни гемодинаміки на мікроциркуляторному рівні можуть бути важливим механізмом розвитку ранньої постгеморагічної ішемії, котра має першочергове значення для прогнозу в пацієнтів, які перенесли спонтанний субарахноїдальний крововилив (САК). З метою вивчення патоморфологічних змін і судинних реакцій із боку оболон головного мозку та впливу донаторів нітроксіду на виявлені порушення, у 18 білих щурів створили модель САКу методом субокципітального введення артеріальної аутокрові та виконали дослідження мікропрепаратів твердої оболони головного мозку, що були забарвлені гематоксилін-еозином і метиленовим синім-основним фуксином. Встановили, що після введення аутокрові спостерігається порушення орієнтації мікроволокон колагенового каркаса твердої оболони, лейкоцитарна інфільтрація оболон, порушення регулярності структури волокон та апоптоз клітин сполучної тканини. У тварин із субарахноїдальним крововиливом, котрі отримували донатор нітроксіду L-аргініну гідрохлорид (Тивортін), на тлі набряку гладком'язового шару артеріол відзначається упорядкованість ядер міоцитів відповідно до їхньої спіралеподібної орієнтованості в товщі медії, їхня веретеноподібна форма, а ядра ендотеліоцитів нормохромні, рівномірно розташовані вздовж базальної мембрани, явища апоптозу в мікропрепаратах не трапляються. Це свідчить про те, що введення донатора нітроксіду L-аргініну сприяє зменшенню запальних, некробіотичних змін клітин з боку оболон головного мозку й артеріол і процесів апоптозу при експериментальному субарахноїдальному крововиливі.

Морфология оболочек головного мозга крыс при экспериментальном субарахноидальном кровоизлиянии

А. М. Нетлюх

Твёрдая оболочка головного мозга (ТМО) является сложной, обильно васкуляризированной мембраной, физиология и патофизиология которой полностью не изучены. Разветвления оболочечных артерий дают начало артериолам микроциркуляторного русла, а изменения гемодинамики на микроциркуляторном уровне могут быть важным механизмом развития ранней постгеморрагической ишемии, которая имеет первостепенное значение для прогноза у пациентов, перенесших спонтанное субарахноидальное кровоизлияние (САК). С целью изучения патоморфологических изменений и сосудистых реакций со стороны оболочек головного мозга и влияния донаторов оксида азота на выявленные нарушения у 18 белых крыс создана модель САК методом субокципитального введения артериальной аутокрови и проведены исследования микропрепаратов твёрдой оболочки головного мозга, окрашенных гематоксилин-эозином и метиленовым синим-основным фуксином. Установлено, что после введения аутокрови происходит нарушение ориентации микроволокон колагенового каркаса твёрдой оболочки, лейкоцитарная инфильтрация оболочек, нарушение регулярности структуры волокон и апоптоз клеток соединительной ткани. У животных с субарахноидальным кровоизлиянием, которые получали донатор оксида азота L-аргинина гидрохлорид (Тивортин), на фоне отёка гладкомышечного слоя артериол отмечается упорядоченность ядер миоцитов в соответствии с их спиралевидной ориентированностью в толще меди, их веретенообразная форма, а ядра эндотелиоцитов нормохромные, равномерно расположенные вдоль базальной мембраны; явления апоптоза в микропрепаратах не встречаются. Это свидетельствует о том, что введение донатора оксида азота L-аргинина способствует уменьшению воспалительных, некробактериальных изменений и процессов апоптоза клеток со стороны оболочек головного мозга и артериол при экспериментальном субарахноидальном кровоизлиянии.

Ключевые слова: внутречерепная аневризма, субарахноидальное кровоизлияние, головной мозг, донаторы оксида азота.

Патология. – 2015. – №3 (35). – С. 84–89

Pathomorphology of rat brain meninges in experimental subarachnoid hemorrhage

А.М. Нетлюх

Aim. To study pathomorphological changes and vascular reactions of meninges and influence of nitric oxide donors on it in subarachnoid hemorrhage.

Methods and results. Eighteen white rats underwent suboccipital injection of autologous arterial blood to create model of subarachnoid hemorrhage (SAH) and study microanatomy of brain meninges stained with hematoxylin-eosin and metylen blue-basic fuchsine. Disorientation of dural collagen microfibrils, infiltration with leukocytes, irregularity of connective fibers structure and tissue cell apoptosis were noted. In animals with SAH after treatment with donor of nitric oxide L-arginin Tivortin on background of arteriolar smooth muscle layer edema order of myocytes nuclei in accordance with their spiral orientation in thickened media was noted, spindly nuclei of endothelial cells are normochromic, located evenly along basal membranes of arterioles, apoptosis phenomenon in micropreparations does not occur.

Conclusion. This shows that nitric oxide donor L-arginin injections provide reduction of inflammatory, necrobiotic processes and cell apoptosis of brain membranes and arterioles in the experimental SAH.

Key words: Intracranial Aneurysm, Subarachnoid Hemorrhage, Brain, Nitric Oxide Donors.

Pathologia. 2015; №3 (35): 84–89

Судинні захворювання головного мозку – серед найгостріших медико-соціальних проблем сьогодення. Вони завдають величезних економічних збитків, оскільки є однією з причин екстреної госпіталізації, тривалої втрати працездатності, інвалідизації та значної летальності [1].

Низка робіт присвячена дослідженню судинних захворювань в експерименті [2] та вивченню засобів корекції патологічних змін [3], у них показані патоморфологічні зміни з боку сенсомоторної кори, кори гіпокампа, кори потиличної частки головного мозку експериментальних тварин.

Огляд анатомії дає нову перспективу розуміння функції твердої оболони головного мозку (ТМО) [4]: очевидно, що ТМО – це більше, ніж волокнисте покриття для мозку. Це – складна, багато іннервована та чудово васкуляризована мембрана, фізіологія та патофізіологія котрої є неповністю вивченими.

Як відзначає В. С. Черно (2010), спочатку оболонкові артерії розташовуються в поверхневих відділах ТМО [5]. Їх розгалуження призводить до зміщення артерій всередину сполучнотканинного шару, де вони дають початок артеріолам мікроциркуляторного русла. Дослідження Benjamin Friedrich et al. (2011) показує [6], що САК викликає звуження мікроартеріол і мікротромбози в умовах *in vivo*. Цікаво, що звуження артеріол не були однорідними. Виявлено повторюваність перетяжок приблизно через кожні 50 мкм уздовж судини. Ці зміни можуть пояснити раннє зниження мозкового кровоплину після САК, що не залежить від рівня церебрального перфузійного тиску, і тому можуть служити новими мішенями для лікування ранніх проявів дефіциту перфузії після САК [6].

Результати наявних дотепер досліджень [6,7] дають змогу припустити, що тривалі зміни гемодинаміки на мікроциркуляторному рівні можуть бути важливим механізмом розвитку ранньої постгеморагічної ішемії, що має першорядне значення для прогнозу в пацієнтів, які перенесли САК.

У майбутньому дослідження мікроваскулярної дисфункції після САКу, наприклад, із використанням донорів нітроксиду або інших експериментальних інструментів можуть прояснити механізми постгеморагічного вазоспазму [6].

У фаховій літературі нами не знайдено робіт, де б досліджувалися мікроструктура та мікроангіоархітектоніка оболон головного мозку при САК.

Мета роботи

Встановити патоморфологічні зміни та судинні реакції з боку оболон головного мозку при експериментальній моделі спонтанного САКу та вплив донаторів NO на порушення, що виявили.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконували на 18 білих щурах масою 220–310 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Щурів одержали з розплідника Львівського

національного медичного університету імені Данила Галицького. Усі експериментальні процедури та втручання здійснювали згідно з Положенням про використання тварин у біомедичних досліджах [8]. Три здорові тварини (група А) становили контрольну групу. Експериментальним тваринам під загальним наркозом (нембутал 30 мг/кг ваги тіла) виконали субокципітальну пункцію, у п'яти тварин пункція субокципітальної цистерни супроводжувалась уведенням 0,15 мл підігрітого до температури тіла щура фізіологічного розчину хлориду натрію (група Б). Модель САК, що був ускладнений вазоспазмом, створювали на основі методики [9], котра описана R. V. Dudhani et al. (2013). Взяті безпосередньо перед уведенням шляхом надрізу 0,15 мл крові з хвостової артерії забирали у шприц. Виконували пункцію потиличної цистерни підпаутинного простору, забір 0,15 мл спинномозкової рідини для запобігання внутрішньочерепної гіпертензії, після чого вводили 0,15 мл артеріальної аутокрові, що забрали попередньо. Субарахноїдальний крововилив як прояв геморагічного інсульту розвивається одразу після ін'єкції артеріальної аутокрові в підпаутинний простір, після чого на 3–5 добу розвивається вазоспазм. Цю модель створили у 10 тварин. З 5 тваринами після процедури не здійснювали додаткових дій (група В), а 5 тваринам (група Г) вводили інтраперитонеально донатор NO Тівортін у дозі 100 мг/кг ваги тіла, 1 раз на добу, протягом 8 діб із другого дня від початку експерименту. Забір біологічного матеріалу (головний мозок, магістральні артерії головного мозку та оболони головного мозку) здійснювали на 9 добу експерименту після декапітації тварин на тлі наркозу діетиловим ефіром.

Тонкі зрізи (0,2–0,3 мкм) забарвлювали гематоксилін-еозином, а для забарвлення метиленовим синім-основним фуксином за S. R. Aparicio, P. Marsden (1968) [10] використовували напівтонкі зрізи (0,1 мкм). Препарати досліджували з використанням світлового мікроскопа при збільшенні у 120, 400, 600 разів. Мікрофотографії препаратів робили з використанням фотокамери Leica DM 2500. При дослідженні за S. R. Aparicio, P. Marsden, у всіх тканинах ядра клітин забарвлюють у блідо-фіолетовий, а цитоплазму – в синій колір. Спеціальні гістологічні компоненти: колаген фарбують у червоний, мієлін – у синій, еластин – в темно-фіолетовий, а аксоплазму – в блідо-блакитний колір [10].

В усіх групах тварин вимірювали товщину ТМО. У більшості ситуацій такі виміри виконують на випадкових перерізах структур [11], тому для коректної інтерпретації даних аналіз морфометричних параметрів ТМО в мікропрепаратах здійснювали шляхом серії вимірювань товщини оболони в кожному з них із використанням програми Outspace (microDimensions Free Trial) і Paint. Усього виконали 64 вимірювання. Результати статистично опрацювали за допомогою програми «Statistica 6». Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення

В інтактних тварин у препараті ТМО видно, що вона має шарувату будову, утворена щільною оформленою волокнистою сполучною тканиною, яка представлена в основному колагеновими волокнами, невеликою кількістю еластичних волокон, клітинами сполучної тканини, в основному фібробластами, та аморфною міжклітинною речовиною (рис. 1), що відповідає даним фахової літератури [12].

Це туга, багата на волокна сполучна тканина, котра здатна витримувати механічні навантаження, характеризується розташуванням у тканинах для підтримки міжклітинних структур. У ній наявні пучки волокон, які щільно переплітаються та розташовуються в різних напрямках. Таке розташування волокон забезпечує стійкість тканини до розтягу в усіх напрямках. Спорадично у зріз потрапляють судини [4,12].

При мікроскопії препаратів фрагментів оболон головного мозку та мозку щурів зі змодельованим САКом підтверджено наявність крововиливу, котрий локалізований у ділянці оболон головного мозку (рис. 2).

Виконали вимірювання товщини твердої оболони головного мозку в наявних мікропрепаратах, у кожному з них зробили замір в 3–7 місцях залежно від особливостей мікропрепарату (табл. 1).

Таблиця 1

Середні значення товщини ТМО та її коливання у групах тварин

	Група А	Група Б	Група В	Група Г
M	54,7	92,7*	118,1**	94,7*
SD	10,8	16,6	16,4	39,5
n	8	17	21	18
min	40	60	102	47,5
max	72	112,5	160	200
±m	3,8	4,0	3,6	9,3

Примітки: n – загальна кількість вимірювань у кожній групі;

* – вірогідна відмінність у порівнянні з групою А;

** – вірогідна відмінність у порівнянні з групою Б і Г.

Товщина ТМО у групі А коливалась у межах 40–72 мкм, в середньому становила 54,7±3,8 мкм. При перегляді мікропрепарату ТМО (рис. 3) на її периферії візуалізуються ділянки пухкої сполучної тканини з інфільтрацією еритроцитами та фрагменти арахноїдальної оболони й артеріоли на поперечному зрізі. При гістологічному дослідженні ТМО в нормі (рис. 1) колагенові волокна розташовуються організовано, в певному порядку, в кілька шарів один над іншим. У кожному шарі хвилеподібно вигнуті пучки колагенових волокон, що йдуть паралельно в одному напрямі, котрий не збігається з напрямом колагенових волокон у сусідніх шарах. Окремі пучки волокон переходять з одного шару в інший, пов'язуючи їх між собою. Крім пучків колагенових волокон виявлені еластичні волокна, що збігається з даними літератури [12]. Колагенові волокна при забарвленні метиленовим синім-основним фуксином мають червоне забарвлення, а еластинові – темно-фіолетове (рис. 1, 3а, 3б).

На рисунку 3а спостерігається порушення орієнтації мікрОВОЛОКОН колагенового каркаса ТМО після введення фізіологічного розчину, а після введення аутокрові (рис. 3б), окрім цього, відбувається лейкоцитарна інфільтрація оболон, порушення регулярності структури волокон сполучної тканини.

Виявили також зміни у структурі ТМО, котрі є характерними для процесів апоптозу клітин. Оскільки, як відомо з фахової літератури, стиснення клітини та формування апоптотичних тілець відбувається швидко, і також швидко вони фагоцитуються, розпадаються або викидаються у просвіт органа, то на гістологічних препаратах виявляється у випадках його значної вираженості [13]. У групі Б апоптотичні клітини знайдені в поверхнево-му шарі оболонки (рис. 3а), що вказує, на нашу думку, на програмоване оновлення тканини ТМО. У групі В апоптоз відбувається всередині тканин (рис. 3б), що є свідченням його індукованого характеру.

Введення фізіологічного розчину тваринам (група Б) призводило до набряку оболон і вірогідного збільшення товщини ТМО до 92,7±4,0 мкм (t=6,9, p<0,001) у порівнянні з інтактними тваринами. Товщина ТМО у тварин групи В після введення аутокрові становила 118,1±3,6 мкм, тобто показник у групі В вірогідно відрізнявся від групи А (t=12,1; p<0,001) і від групи Б (92,7±4,0 мкм, t=4,7; p<0,01). При цьому серійне вимірювання товщини ТМО в п'яти різних мікропрепаратах тварин групи В не виявило між ними вірогідних відмінностей, середнє значення товщини ТМО становило 115,0±3,3, 106,0±1,3, 106,7±1,7, 115,7±1,5 і 141,5±7,6 мкм (p>0,05–0,5) відповідно.

У групі В спостерігається лейкоцитарна інфільтрація внутрішнього шару ТМО, ділянки, де порушена регулярність колагенових волокон, інтерстечійний набряк (рис. 4).

Привертає увагу дистонія дрібних кровоносних судин у ділянці оболон, котра проявляється у вигляді спазму або дилатації, а також гіперхроматоз ядер їх ендотеліоцитів, що відповідає даним фахової літератури [13]. У групі Г (рис. 5б) відзначається потовщення гладком'язового шару артеріол унаслідок набряку, але ядра міоцитів є упорядкованими відповідно до їхньої спіралеподібної орієнтованості в товщі медії, веретенноподібної форми, а ядра ендотеліоцитів нормохромні, рівномірно розташовані вздовж базальної мембрани.

Наявна реакція твердої оболони, котра має запальний характер, свідчить про розвиток некробіотичних змін у групі В, а процеси апоптозу спостерігаються в тканині оболони в обох групах (Б і В). Це корелює з даними фахової літератури, бо апоптоз, на відміну від некрозу, ніколи не супроводжується запальною реакцією [13]. Подібних змін, які б свідчили про індукцію апоптозу клітин оболон мозку, в мікропрепаратах групи Г не виявили.

У групі Г спостерігається зменшення запальних проявів з боку оболон головного мозку та їхнього набряку, що проявляється у вірогідному (t=2,35, p=0,035) зменшенні товщини ТМО до 94,7±9,3 мкм, порівнюючи із показником у групі В (118,1±3,6 мкм).

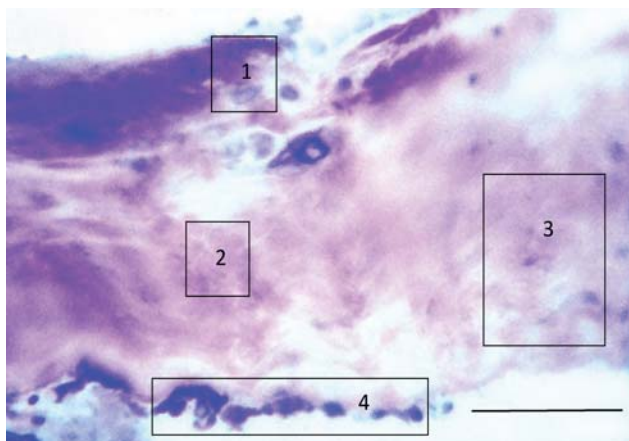


Рис. 1. Препарат твердої оболони (поперечний зріз) в нормі. Метиленовий синій-основний фуксин, $\times 600$. Мітка – 40 мкм.
Примітки: 1 – зовнішній покривний шар; 2 – колагенові волокна, невелика кількість еластичних волокон; 3 – клітини сполучної тканини із міжклітинною речовиною; 4 – внутрішній покривний шар.

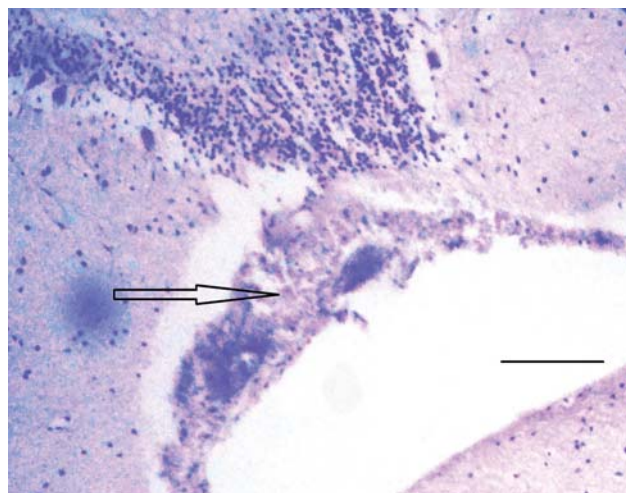


Рис. 2. Крововилив у ділянці оболонок головного мозку (група В). Мале збільшення $\times 120$, гематоксилін-еозин. Мітка – 200 мкм.

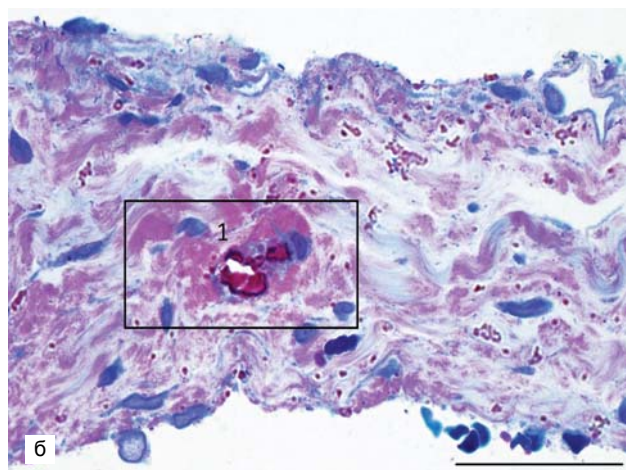
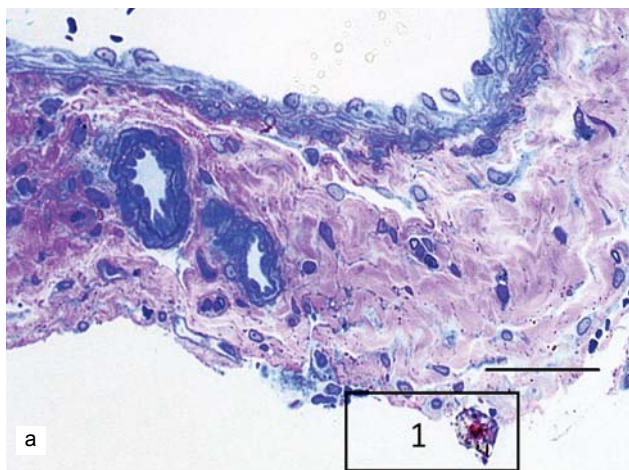


Рис. 3. Препарат твердої оболони (поперечний зріз): *а* – після введення фізіологічного розчину; *б* – після ін'єкції аутокрові.
Примітка: 1 – апоптоз клітини, метиленовий синій-основний фуксин, $\times 400$. Мітка – 40 мкм.

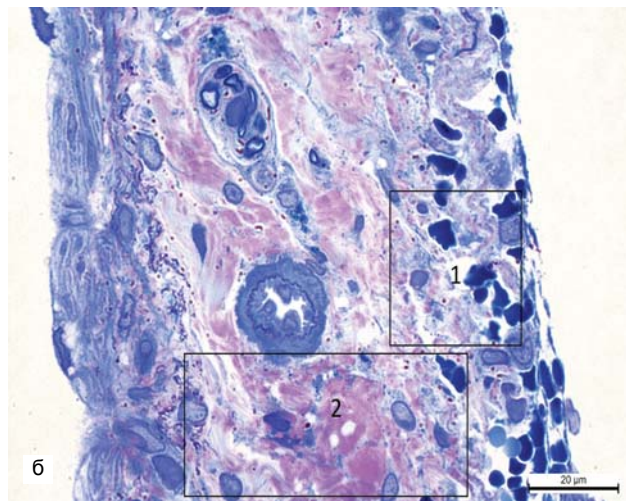
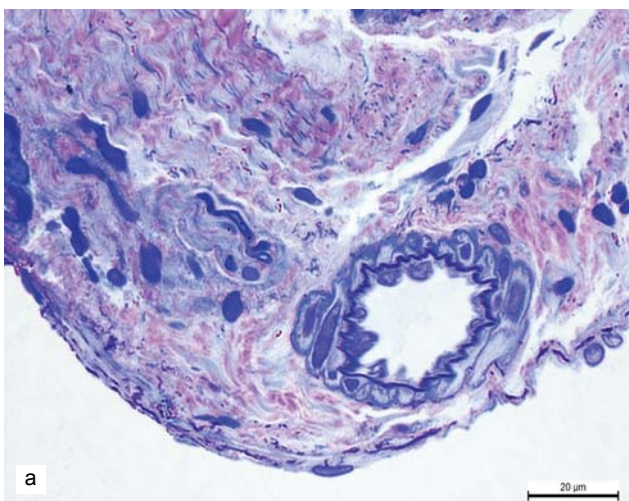


Рис. 4. Мікропрепарат ТМО. Поперечний зріз: *а* – після введення фізіологічного розчину; *б* – після ін'єкції аутокрові.
Примітки: 1 – лейкоцитарна інфільтрація внутрішнього шару ТМО; 2 – нерегулярність і фрагментація колагенових волокон. Метиленовий синій-основний фуксин, $\times 400$. Мітка – 20 мкм.

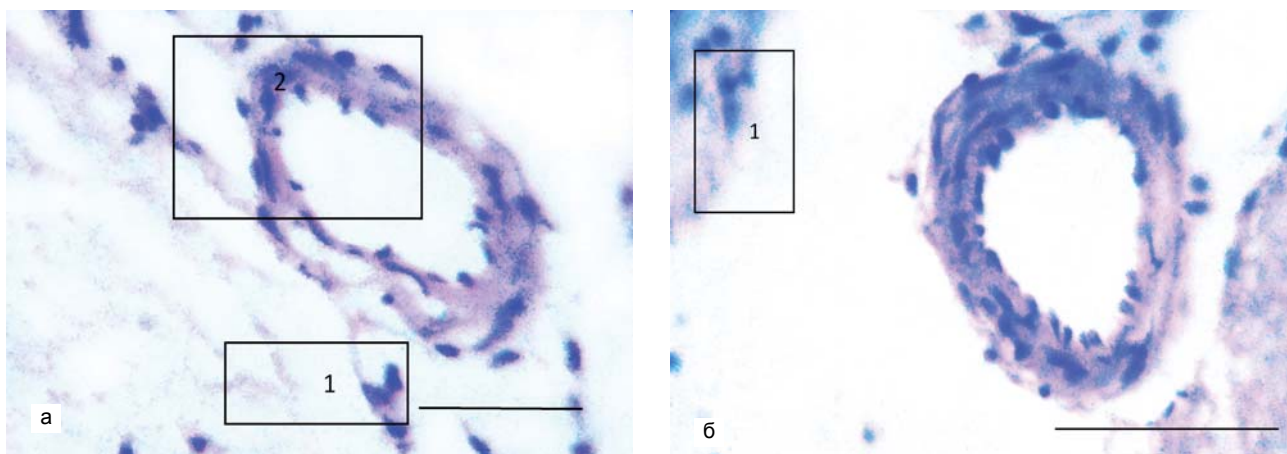


Рис. 5. Артеріоли ТМО: а – після ін'єкції аутокрові; б – після ін'єкції аутокрові та терапії Тівортином.

Примітки: 1 – фрагменти арахноїдальної оболони; 2 – набряк адвентиції, гіперплазія ендотеліального шару артеріол у групі В. Гематоксилін-еозин, $\times 600$. Мітка – 40 мкм.

Висновки

1. При мікроскопії препаратів шурів зі змодельованим субарахноїдальним крововиливом підтверджена наявність крововиливу, котрий локалізований у ділянці оболон головного мозку.

2. У групах тварин після ін'єкції фізіологічного розчину (група Б) та аутокрові (група В) відзначали набряк адвентиції та м'язового шару артеріол, вірогідне збільшення товщини ТМО в порівнянні з інтактними тваринами до $92,7 \pm 4,0$ мкм ($p < 0,01$) і $118,1 \pm 3,6$ мкм ($p < 0,001$) відповідно.

3. У групі тварин після ін'єкції фізіологічного розчину (група Б) спостерігається порушення орієнтації мікроволокон колагенового каркаса твердої оболони головного мозку, а у тварин після ін'єкції аутокрові (група В), окрім

цього, – лейкоцитарна інфільтрація оболон, порушення регулярності структури волокон сполучної тканини, індукований апоптоз клітин сполучної тканини.

4. Введення донатора нітроксиду Тівортину після ін'єкції аутокрові (група Г) сприяє зменшенню запальних, некробіотичних змін клітин із боку оболон головного мозку та артеріол та процесів апоптозу при експериментальному субарахноїдальному крововиливі, призводить до вірогідного ($p = 0,035$) зменшення товщини ТМО до $94,7 \pm 9,3$ мкм, порівнюючи із показником у групі В ($118,1 \pm 3,6$ мкм).

Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні мікроструктурних змін із боку кори головного мозку тварин при експериментальному САКу та впливові донаторів нітроксиду на виявлені порушення.

Список літератури

- Шведський В.В. Сучасна церебропротекторна терапія гострих порушень мозкового кровообігу при цукровому діабеті та шляхи її оптимізації / В.В. Шведський, С.Ю. Штриголь, О.А. Ходаківський // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15. – №2. – С. 7–12.
- Багаурі О.В. Характеристика морфологічних змін сомато-сенсорної кори головного мозку шурів на тлі експериментальної терапії модельного інсульту похідним 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу (сполука r-86) та цитиколіном / О.В. Багаурі, О.А. Ходаківський // Український медичний альманах. – 2013. – Т. 16. – №5. – С. 3–7.
- Аналіз впливу засобів із церебропротективними властивостями на мнестичні процеси та поведінкові реакції шурів в умовах гострої ішемії головного мозку / В.Й. Мамчур, Н.В. Журавель, В.І. Жилюк, К.О. Кравченко // Медичні перспективи. – 2007. – Т. 12. – №1. – С. 4–8.
- Anatomy and development of the meninges: implications for subdural collections and CSF circulation / J. Mack, W. Squier, J.T. Eastman // *Pediatr Radiol.* – 2009. – Vol. 39. – P. 200–210.
- Черно В.С. Гістотопографія артеріальних судин твердої оболонки головного мозку та її похідних – стінок синусів / В.С. Черно, Ю.К. Хилько // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – Вип. 4. – С. 185–188.
- Experimental subarachnoid hemorrhage causes early and long-lasting microarterial constriction and microthrombosis: an in-vivo microscopy study / B. Friedrich, F. Müller, S. Feiler et al. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* – 2012. – Vol. 32. – P. 447–455.
- Prunel dos Santos G.F. Pathophysiology of experimental subarachnoid hemorrhage at the rat / G.F. Prunel dos Santos // Karolinska University Press. – 2003. – 65 p.
- Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко та ін. – К., 2002. – 155 с.
- A Low Mortality Rat Model to Assess Delayed Cerebral Vasospasm After Experimental Subarachnoid Hemorrhage / R.V. Dudhani, M. Kyle, C. Dedeo et al. // *J. Vis. Exp.* – 2013. – Vol. 71. – P. 4157.
- Aparicio S.R. A rapid methylene blue-basic fuchsin stain for semi-thin sections of peripheral nerve and other tissues / S.R. Aparicio, P. Marsden // *Journal of Microscopy.* – 1969. – Vol. 89. – P. 139–141.
- Никоненко А.Г. Введение в количественную гистологию / А.Г. Никоненко. – К. : Книга-Плюс, 2013. – 256 с.
- Патент України №89743 МПК G01N 1/28. Спосіб визначення шарів твердої оболонки головного мозку та їхніх параметрів / А.О. Кувеньов, О.М. Кувеньова, Д.М. Татаренко; заявник і патентовласник А.О. Кувеньов, О.М. Кувеньова, Д.М. Татаренко. – № 2003014708; заявл. 16.12.2013; опубл. 25.04.2014 // Бюлетень. – №8.
- Вовенко Е.П. Продольные градиенты напряжения кислорода на мельчайших микрососудах коры головного мозга крысы при развитии острой анемии / Е.П. Вовенко, А.Е. Чуйкин // Российский физиологический журнал. – 2011. – Т. 97. – №11. – С. 1270–1280.

References

1. Shvedskiy, V. V., Shtryhol, S. Yu., & Khodakivskiy, O. A. (2011). Suchasna tserebroprotektivna terapiia hostrykh porushen mozkovoho krovoobihu pry tsukrovomu diabete ta shliakhy yii optymizatsii [Modern cerebroprotective therapy of acute brain circulation disorders in diabetes mellitus and ways of its optimisation]. *Klinichna farmatsiia*, 15(2), 7–12. [in Ukrainian].
2. Bahauri, O. V., & Khodakivskiy, O. A. (2013). Kharakterystyka morfolohichnykh zmin somato-sensornoї kory holovnoho mozku shchuriv na tli eksperymentalnoi terapii modelnoho insultu pokhidnym 3,2-spiro-pirrol-2-oksindolu (spoluka r-86) ta tsytokolinom [Characteristics of Morphological Changes of Somatosensory Cerebral Cortex of Rats Against Experimental Therapy of Model Insult with Derivative 3,2'- Spiro-Pyrrol-2-Oxindole (Compound R-86) and Citicoline]. *Ukrainskyi medychnyi almanakh*, 16(5), 3–7. [in Ukrainian].
3. Mamchur, V. I., Zhuravel, N. V., Zhyliuk, V. I., & Kravchenko, K. O. (2007) Analiz vplyvu zasobiv iz tserebroprotektivnyimi vlastyivostyami na mnestychni protsesy ta povedinkovi reaktsii shchuriv v umovakh hostroi ishemii holovnoho mozku [Analysis of cerebroprotective agents' action on mnestic processes and behavioral reactions of rats in conditions of acute cerebral ischemia] *Medychni perspektyvy*, 12(1), 4–8.
4. Mack, J., Squier, W., & Eastman, J. T. (2009). Anatomy and development of the meninges: implications for subdural collections and CSF circulation. *Pediatr. Radiol.*, 39, 200–210. doi: 10.1007/s00247-008-1084-6.
5. Chernov, B. S. & Khylyk, Yu. K. (2010). Histotopohrafiia arterialnykh sudyn tverdoi obolonky holovnoho mozku ta yii pokhidnykh – stinok synusiv [Histotopography of hard arachnoid membrane's arterial vessels and its derivatives – walls of sinuses]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 4, 185–188. [in Ukrainian].
6. Friedrich, B., Müller, F., Feiler, S., Schöller, K., & Plesnila, N. (2012). Experimental subarachnoid hemorrhage causes early and long-lasting microarterial constriction and microthrombosis: an in-vivo microscopy study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32, 447–455. doi: 10.1038/jcbfm.2011.154.
7. Prunel dos Santos, G. F. (2003). *Pathophysiology of experimental subarachnoid hemorrhage at the rat*. Karolinska University Press.
8. Kozhemiakin, Yu. M., Khromov, O. S., Filonenko, M. A., & Saifetdinova, H. A. (2002). *Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy* [Scientific and practical advice on keeping laboratory animals and work with them]. Kyiv. [in Ukrainian].
9. Dudhani, R. V., Kyle, M., Dedeo, C., Riordan, M., & Deshaies, E. M. (2013). A Low Mortality Rat Model to Assess Delayed Cerebral Vasospasm After Experimental Subarachnoid Hemorrhage. *J. Vis. Exp.* 71, 4157. <http://doi.org/10.3791/4157>.
10. Aparicio, S. R., & Marsden, P. (1969). A rapid methylene blue-basic fuchsin stain for semi-thin sections of peripheral nerve and other tissues. *Journal of Microscopy*, 89, 139–141. doi: 10.1111/j.1365-2818.1969.tb00659.x.
11. Nikonenko, A. G. (2013). *Vvedeniye v kolichestvennyuyu gistologiyu [Introduction to quantitative histology]*. Kyiv: Knyha-Plus. [in Ukrainian].
12. Kuvenov, A. O., Kuvenova, O. M., & Tatarenko, D. M. (patentee) (2014). Patent Ukrainy №89743 MPK G01N 1/28. Sposib vyznachennia shariv tverdoi obolonky holovnoho mozku ta yikhnikh parametriv [Patent of Ukraine №89743 MPK G01N 1/28. Method of determining of layers of brain dura mater and their parameters]. *Biuletyn*, 8. [in Ukrainian].
13. Vovenko, E. P., & Chuikin, A. E. (2011). Prodol'nye gradienty napryazheniya kisloroda na melchaishykh microsodakh kory golovnoho mozga krysy pri razvitii ostroj anemii [Longitudinal oxygen gradients in cerebral micro vessels in acute anaemia in rats]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal*, 97(11), 1270–1280. [in Russian].

Відомості про автора:

Нетлюх А. М., к. мед. н., доцент каф. невропатології та нейрохірургії ФПДО, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, лікар-рентгенолог відділення інтервенційної радіології, Львівська комунальна міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги, E-mail: romaivanova-mail@rambler.ua.

Сведения об авторе:

Нетлюх А. М., к. мед. н., доцент каф. невропатологии и нейрохирургии ФПДО, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, врач-рентгенолог отделения интервенционной радиологии, Львовская коммунальная городская клиническая больница скорой медицинской помощи, E-mail: romaivanova-mail@rambler.ru.

Information about author:

Netlyukh A. M., MD, PhD, Associate Professor, Department of Neurology&Neurosurgery, Danylo Halitsky Lviv National Medical University; Radiologists of Interventional Radiology Department, Municipal Lviv City Emergency Hospital, E-mail: romaivanova-mail@rambler.ua.

Надійшла в редакцію 16.11.2015 р.