

УДК 615.213: 616.13-018.74

DOI <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-2-3>

М. П. Первак <https://orcid.org/0000-0002-0360-5756>
Н. І. Букреєва <https://orcid.org/0009-0006-8161-1453>
О. А. Кащенко <https://orcid.org/0000-0003-0120-9503>
О. Д. Рябенка <https://orcid.org/0009-0004-1115-925X>
Л. С. Годлевський <https://orcid.org/0000-0003-0935-8255>

ОСОБЛИВОСТІ АНГІОГЕНЕЗУ МОЗКУ ЗА УМОВ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОЛ (ПТЗ)-ІНДУКОВАНОГО КІНДЛІНГА ТА ТРАНСКРАНІАЛЬНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ПОСТІЙНИМ СТРУМОМ МОЗОЧКА

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 615.213: 616.13-018.74

М. П. Первак, Н. І. Букреєва, О. А. Кащенко, О. Д. Рябенка, Л. С. Годлевський
ОСОБЛИВОСТІ АНГІОГЕНЕЗУ МОЗКУ ЗА УМОВ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОЛ (ПТЗ)-ІНДУКОВАНОГО КІНДЛІНГА ТА ТРАНСКРАНІАЛЬНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ПОСТІЙНИМ СТРУМОМ МОЗОЧКА

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

Метою дослідження було вивчення щільності мікросудин у шурів із пентиленететразол (ПТЗ)-викликаним кіндлінгом у корі головного мозку та за умов застосування транскраніального подразнення постійним струмом. Встановлено, що ТППС катодом (ТППС, 500 μ A, 15.0 хв) мозочка затримує розвиток генералізованих судом. Щільність мікросудин у шурів із кіндлінгом перевищувала таку у шурів групи контролю на 63,1% ($P < 0,05$). У кіндлінгових шурів із ТППС подібні відмінності становили 25,7% ($P < 0,05$) і одночасно були достовірно меншими (на 23,0%) ніж у кіндлінгових шурів із хибними ТППС ($P < 0,05$). Отримані результати свідчать, що ТППС катодом мозочка попереджає формування кіндлінг-викликаних судом та ангіогенез у корі головного мозку, зменшує мітоз ендотеліальних клітин, а також продукцію колагену IV.

Ключові слова: хронічна епілептична активність, транскраніальне подразнення постійним струмом, мозочок, ангіогенез, колаген IV.

UDC 615.213: 616.13-018.74

M. P. Pervak, N. I. Bukreeva, O. A. Kashchenko, O. D. Ryabenka, L. S. Godlevsky
PECULIARITIES OF BRAIN ANGIOGENESIS UNDER PENTYLENETETRAZOLE (PTZ)-INDUCED KINDLING AND CEREBELLAR TRANSCRANIAL DIRECT CURRENT STIMULATION

Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine

Background. Angiogenesis associated with neuroimmune inflammation is an important pathogenetic mechanism of chronic epileptogenesis.

The study aimed to study the microvascular density in the brain cortex of rats with pentylenetetrazole (PTZ)-induced kindling and under transcranial direct current stimulation conditions.

Methods. For three weeks, kindling was produced via PTZ (35,0 mg/kg, i.p.) administration. TDCS (500 μ A, 15.0 min) was applied with a cathode to the frontal and cerebellar cortex 60 min before each subsequent administration of an epileptogen.

Results. Cerebellar TDCS delays the development of generalized convulsions, while frontal cortex TDCS causes a less pronounced protective effect. The density of microvessels, which was determined by the presence of growth buds and endothelial cell mitoses in rats with developed kindling, increased by 47.6% compared to the control ($P < 0.05$). Against the background of cerebellar TDCS, the density of microvessels exceeded that in the control group by 10,4% ($P > 0.05$) and was significantly lower compared to the group with false stimulations ($P < 0.05$). The microvascular density determined by collagen IV staining in rats with developed kindling was 63.1% higher than in the control group ($P < 0.05$). In kindling rats with TDCS, such differences were 25.7% ($P < 0.05$) and, at the same time, were significantly lower (by 23.0%) compared to that in kindling rats with false TDCS ($P < 0.05$).

Conclusions. The cerebellar cathode-triggered TDCS prevents the formation of kindling-induced seizures and angiogenesis in the cerebral cortex. Moreover, it reduces endothelial cell mitosis and collagen IV production.

Key words: chronic epileptic activity, transcranial direct current stimulation, cerebellum, angiogenesis, collagen IV.

Скорочення

ГАМК – гама-аміномасляна кислота

ГЕБ – гемато-енцефалічний бар'єр

ПТЗ – пентиленететразол

ТППС – транскраніальне подразнення постійним струмом

PPAR- γ – рецептор, який активує пероксисомний проліфератор гама

VEGF – фактор росту ендотелію судин

Вступ. Механізми ангіогенезу, пов'язані з утворенням мережі мікросудин, є важливими в патогенезі хронічного запалення, яке в нервовій тканині забезпечує зокрема розвиток хронічної епілептичної активності [1]. Нейроімунне запалення пов'язане із вивільненням модуляторів росту судин, зокрема фактора

© М. П. Первак, Н. І. Букреєва, О. А. Кащенко, та ін., 2024

Стаття поширюється на умовах ліцензії



росту ендотелію судин (VEGF), змінами проникності гемато-енцефалічного бар'єру (ГЕБ), активацією місцевої мікроглії, що в комплексі забезпечує ангиогенез, підвищення збудливості нейронів, яке відбувається в тому числі за рахунок надмірного синтезу колагену, та змін міжклітинного матриксу з формуванням рубцевої тканини [2]. Остання забезпечує стійкий характер епілептогенезу.

Процеси ангиогенезу та судомної активності тісно пов'язані, позаяк нейро-васкулярний комплекс є основною функціональною одиницею нервової тканини [2; 3]. Посилення ангиогенезу та зростання щільності мікросудин спостерігали у разі пентилентетразол (ПТЗ)-індукованого кіндлінгу [4]. Останнім часом розробка підходів до попередження ангиогенезу є перспективною з точки зору визначення ефективних засобів профілактики та лікування хронічних захворювань головного мозку [1; 4]. На сьогодні встановлено низку клітинних та молекулярних механізмів реалізації впливів транскраніального подразнення постійним струмом (ТППС) на процеси ангиогенезу, нейрогенезу та розвитку нейроїмунного запалення [5]. Слід зазначити, що, незважаючи на тісний зв'язок ангиогенезу та запалення, дані щодо впливу ТППС на стан мікроциркуляції є неоднозначними та потребують подальшого дослідження [6].

Мета дослідження полягала у вивченні щільності мікросудин у щурів із ПТЗ-викликаним кіндлінгом у корі головного мозку та за умов застосування ТППС структур фронтальної кори та мозочка.

Матеріал та методи дослідження.

Експериментальні тварини

Дослідження проводили на 29 щурах – самцях лінії Вістар віком 2–3 місяці, масою 180–220 г. Тварин утримували за стандартних умов температури ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), вологості (60%) та 12-годинного циклу зміни освітлення з вільним доступом до води та їжі. Усі процедури проводились у відповідності до рекомендацій Керівництва з догляду та використання лабораторних тварин, прийнятого Національними інститутами здоров'я (Бетесда, США), а також відповідно до дозволу комісії з біоетики Одеського національного медичного університету (протокол за № 1 від 14.03.2023).

Модель хронічної епілепсії

ПТЗ-кіндлінг відтворювали відповідно до раніше наведеної методики [7]. Зокрема, ПТЗ (P6500, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) розчиняли в 0,9% розчині NaCl ex tempore і вводили внутрішньоочеревинно (в/очер) в дозі 35,0 мг/кг протягом 21 доби.

У всіх включених до імуногістохімічних досліджень щурів після кожного з трьох останніх введень ПТЗ спостерігались судоми тяжкістю 4–5 балів. Щурам групи контролю вводили в/очер 0,9% фізіологічний розчин NaCl. Після кожної ін'єкції щурів поміщали наодинці в ізольовану прозору клітку з оргскла і оцінювали тяжкість судом протягом 30 хв за шестибальною шкалою [7]. Тяжкість судом оцінювали за такою шкалою: 0 – відсутність судом; 1 – завмирання, тремор і міоклонічні посмикування окремих груп м'язів; 2 – клонічні судоми всього тіла; 3 – клонічні нападіві судоми передніх кінцівок тіла з підйомами на задні лапи; 4 – генералізовані клоніко-тонічні судоми з втратою рівноваги

та падіннями; 5 – повторні напади, як на 4-й стадії, або летальний результат внаслідок нападів.

Експериментальні групи було сформовано таким чином (рис. 1):

- інтактні щури із введеннями 0,9% розчину NaCl та хибними ТППС (8 щурів);
- введення ПТЗ та здійснення хибних ТППС (12 щурів);
- ТППС на зону мозочка та введення ПТЗ та (9 щурів).

Вплив ТППС

За 60 хв перед кожним черговим застосуванням епілептогену здійснювали вплив катодом постійного струму («GRASS» стимулятор, Astro.Med.Inc., США) на кору мозочка. Для цього катод (діаметр 3,5 мм) фіксували за допомогою гумової стрічки каудально від ламбди по середній лінії орієнтовно в зоні проєкції мозочка [8]. Попередньо на зону розташування електрода наносили електропровідний гель. Анод (40x45 мм) розміщували на животі щура. Постійний струм (500 μA) пропускали протягом 15 хв.

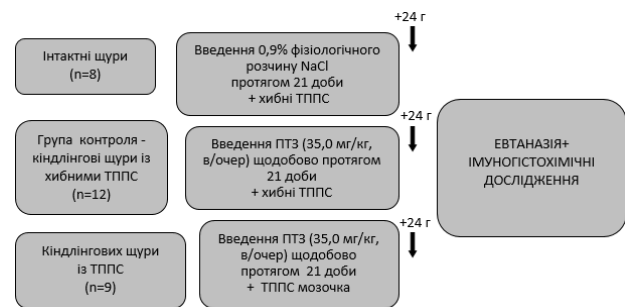


Рис. 1. Дизайн дослідження

Щурам групи контролю, а також інтактним щурам здійснювали хибні ТППС, під час виконання яких фіксували електроди та утримували щурів протягом 15 хв без пропускання електричного струму (рис. 1). Щурів спостерігали протягом 30 хв після ТППС та хибних ТППС (група контролю).

Імуногістохімічний аналіз

Для проведення імуногістохімічного дослідження згідно з раніше наведеним методом [7] використовували антитіла Collagen IV: sc-29010 (Santa Cruz Biotechnology), Collagen IV (ColIV; goat, SouthernBiotech 1340-01, 1:250, Birmingham, AL, США). Тканини головного мозку фіксували в 10% формальдегіді і згодом парафінізували. З парафінізованих блоків виготовляли зрізи товщиною 5 мкм за допомогою ротативного мікротома, розміщували їх на предметному склі, вкритому полі-L-лізином [7]. Для визначення відмінностей у експресії колагену IV, як маркера росту судин [9], у тканині мозку використовували авідин-біотинпероксидазний метод [7]. Крім того, в окремих серіях спостережень застосовували модифіковану методику імпрегнації сріблом за [10].

Зображення отримували за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX53 та EVOS® FL Auto Imaging System (Life Technol., Ltd.) і аналізували візуально. Підрахунок числа судин проводили сліпим методом. В 10 полях з зрізів кори мозку, які було отримано в межах

2,0–1,5 мм фронтально і кадуально від брегми кожного щура, визначали число мікросудин (капілярів) малого діаметра (7–10 мкм за [11] у полях розміром 500 x 500 мкм (0,25 мм²) за збільшення x400. Особливістю реєстрації наявності ангиогенезу в зразках з імпрегнацією сріблом здійснювали за характерними ознаками наявності «бруньок росту», а також наявності мітозу ендотеліальних клітин (рис. 2, А). Одночасно дотримувались правила щодо включення до підрахунку лише мікросудин із чітко визначеним луменом та ігноруванням випадків поперекового зрізу мікросудин [12].

Статистичні процедури

Для проведення статистичної обробки отриманих результатів використовували SPSS програму для Windows (SPSS Inc., версія 21.0, Чикаго, США). Для порівняння показників між групами контролю та ПТЗ-викликаного кіндлінгу застосовували непарний двосторонній t-тест Стюдента. Відмінності між групами приймали як достовірні при P<0,05. Розраховували середні величини, середньоквадратичне відхилення та помилку середньої величини, які використовували для представлення отриманих результатів.

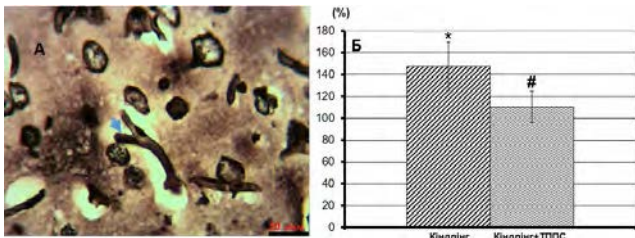


Рис. 2. Серебріння за Fujimoto et al., (1996) [10].

Наявність зони росту судини в характерному «сідлоподібному» розгалуженні мікросудини позначено стрілкою (А). Б – усереднені результати визначення щільності мікросудин у % стосовно групи інтактних щурів (контроль), який прийнято за 100% (ордината) при ТППС мозочка. * – P<0,05 порівняно до контролю; # – P<0,05 – порівняно до щурів із кіндлінгом (метод ANOVA+ Newman-Keuls тест)

Результати та їх обговорення

Формування кіндлінгу супроводжувалось скороченням латентного періоду судом: після останнього застосування ПТЗ (21-а ін'єкція) латентний період був меншим порівняно з таким, який реєстрували після третьої ін'єкції епілептогену на 51,1% (P<0,05). Розвинений кіндлінг характеризувався виникненням генералізованих клонічно-тонічних судом (4 бали) у шести із дванадцяти щурів, які носили повторний характер у решти тварин (табл. 1). У щурів із ТППС зони мозочка достовірно подовження латентного періоду перших судом порівняно до контролю спостерігалось вже після 9-го застосування епілептогена (на 24,7%, P<0,05) і після 21-го введення ПТЗ тривалість латентного періоду перевищувала показник у контролі на 34,8% (P<0,05).

Тяжкість судом достовірно зменшувалась починаючи з 17-го застосування епілептогена, коли у більшості щурів (6 із 9) виявлялись міоклонічні судоми м'язів тулуба та передніх кінцівок. Достовірні відмінності зберігались до кінця спостереження і після

21-го застосування ПТЗ їх тяжкість була меншою на 16,7% порівняно з контролем (P<0,05) (табл. 1).

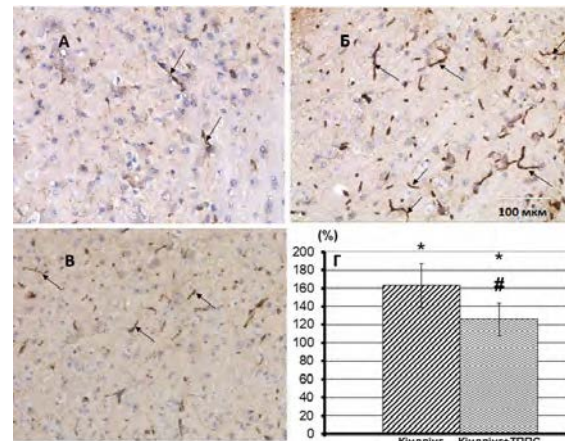


Рис. 3. Динаміка імуногістохімічного забарвлення на колаген IV тканини фронтальних відділів мозку у щурів з ПТЗ-індукованим кіндлінгом за умов застосування ТППС мозочка

Позначки: А – інтактна тварина з хибними ТППС; Б – розвинений кіндлінг на тлі хибних ТППС; В – кіндлінг за умов застосування ТППС; Г – щільність мікросудин у % стосовно групи інтактних щурів, прийнятих за 100% (ордината) в групах спостереження (абсциса). * – P<0,05 порівняно з групою інтактних щурів з хибними ТППС; # – P<0,05 порівняно з групою кіндлінгових щурів (ANOVA+ Newman-Keuls). Типові мікросудини, які брали до уваги під час підрахунку, позначені чорними стрілками

За ознакою наявності бруньок росту та мітозів ендотеліальних клітин щільність мікросудин у щурів із розвиненим ПТЗ-індукованим кіндлінгом зростала на 47,4% порівняно з групою інтактних щурів і становила 25,8±2,3 проти 17,5±1,4 мікросудин (P<0,05) (рис. 2, Б). На тлі ТППС мозочка щільність мікросудин перевищувала таку в групі інтактних щурів на 10,3% (19,3±1,7 мікросудин) (P>0,05) і була достовірно нижчою (на 33,7%) порівняно з групою кіндлінгових щурів із хибними ТППС (P<0,05) (рис. 2, Б).

У щурів із розвиненим кіндлінгом щільність мікросудин, яку визначали із забарвленням колагену IV, перевищувала таку у щурів групи контролю на 63,3% і становила 40,0±3,6 проти 24,5±1,8 мікросудин (P<0,05) (рис. 3, А, Б). У кіндлінгових щурів із ТППС подібні відмінності становили 25,7% (30,8±2,9 мікросудин) (P<0,05), однак досліджуваний показник був достовірно меншим (на 23,0%) порівняно з таким у кіндлінгових щурів із хибними ТППС (P<0,05) (рис. 3, В, Г).

Таким чином, отримані результати засвідчили, що за умови відтворення хронічної епілептичної активності методом ПТЗ-кіндлінгу в корі головного мозку щурів із розвиненими генералізованими судомними нападами спостерігається утворення нових мікросудин. На тлі застосування повторних ТППС мозочка, які здійснювали перед кожним введенням епілептогену, реєструвалось уповільнення розвитку судомних реакцій, а також

Динаміка формування ПТЗ-індукованих кіндлінгових судом за умов ТППС мозочка (M+ SEM)

	Період спостереження (добы)										
	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
Контроль – ПТЗ+хибні ТППС (n= 12)											
Латентний період судом (секунди)	256,3+ 23,0	178,5+ 26,7	147,0+ 21,5	129,6+ 17,1	118,2+ 8,6	113,0+ 7,5	103,7+ 8,1	101,0+ 7,9	95,5+ 7,6	90,0+ 7,8	87,3+ 7,4
Тяжкість судом (бали)	0,27+ 0,14	0,67+ 0,14	1,08+ 0,19	1,42+ 0,23	2,17+ 0,21	2,75+ 0,22	3,25+ 0,3	3,67+ 0,22	4,08+ 0,19	4,25+ 0,18	4,5+ 0,2
ТППС мозочка (n=9)											
Латентний період судом (секунди)	268,1 +20,9	214,4+ 25,5	198,7+ 22,7	163,7+ 6,9	156,9+ 7,9*	153,7+ 8,3*	150,0+ 8,13*	145,6+ 7,9*	141,2+ 7,2*	136,2+ 7,2*	133,8+ 7,3*
Тяжкість судом (бали)	0,25+ 0,16	0,63+ 0,18	0,75+ 0,16	1,5+ 0,19	1,88+ 0,13	2,38+ 0,18	2,88+ 0,23	3,0 + 0,27	3,38 + 0,18*	3,63 + 0,18*	3,75+ 0,16*

Примітка: * – P<0,05 порівняно до показника в групі контролю (ANOVA+ Newman– Keuls).

усунення генералізованих тоніко-клонічних судомних нападів, що узгоджується з раніше отриманими результатами [8]. Водночас наведені дані щодо попередження ангіогенезу під впливом ТППС мозочка також свідчать на користь патогенетичного значення ангіогенезу у формуванні хронічного епілептичного синдрому, а також на здатність мозочка регулювати ангіогенез.

Наведені результати, а саме визначення показника щільності мікросудин за результатами підрахунку числа бруньок росту, наявності мітозу ендотелію, дозволяють дійти висновку щодо їх меншого числа порівняно з визначенням показника щільності мікросудин за ознакою наявності колагену IV. Причому за умов застосування ТППС щільність мікросудин не відрізнялась від контролю в групі із визначенням щільності мікросудин за наявності мітозу, тоді як за ознакою наявності колагену IV, показник щільності мікросудин залишався більш високим порівняно з контролем. Цей результат свідчить про більшу інформативність колагену IV як відомого маркера ангіогенезу, а також менш виразну ефективність ТППС щодо впливу на процеси його утворення клітинами периваскулярного матриксу. Водночас наведені дані свідчать про можливість ТППС мозочка впливати на мітотичні процеси ендотеліоцитів. Подібні ефекти можуть бути опосередковані активацією PPAR-γ рецепторів, блокада яких усуває протисудомний вплив подразнення мозочка, тоді як на тлі застосування агоніста рецепторів піоглітазона протисудомна дія ТППС мозочка посилюється [8]. Водночас сигнальні механізми PPAR-γ є важливими для регуляції функції ендотеліоцитів та ангіогенезу [13].

Слід зазначити, що визначення ангіогенезу як одного з механізмів патогенезу хронічної епілептизації мозку не відповідає припущенню щодо компенсаторної ролі утворення нових мікросудин у відношенні до гіпоксії мозку та інших тканин [14]. Однак нові мікросудини, які утворюються в результаті ангіогенезу у зрілому віці, відрізняються функціональною недосконалістю, зокрема високою проникністю, що має критичне значення для регуляції збудливості нервової тканини і може відігравати важливу роль, у виникненні повторних інсультів та подібних пароксизмальних патологічних проявів [14].

Посилений ангіогенез відбувається за участю основного фактора його ініціації, яким є VEGF [1; 4]. Можливим механізмом попередження ангіогенезу є застосування ТППС, таким чином, може бути саме пригнічення продукції VEGF, яке визначено в клінічній практиці [5]. Зокрема, автори встановили зниження вмісту у сироватці крові ангіопоетину-2, а також VEGF та інтерферон-γ-індукуючого протеїну 10, а також фактора некрозу пухлин-α після десяти сеансів анодального ТППС з відчутним покращенням здоров'я пацієнтів [5]. Крім того, вплив подразнень мозочка активує антиоксидантні механізми в нейрональних утвореннях, яке теж має значення в контролі нейроімунного запалення та ангіогенезу [15]. Таким чином, ТППС здійснює протисудомний вплив не лише шляхом зміни збудливості нейронів за рахунок відновлення ГАМКергічного гальмівного контролю, але й забезпечує довготривалі зміни з боку мікроциркуляторного русла та перфузії крові в ділянках мозку [5; 16].

Колаген IV, як маркер ангіогенезу, є основним компонентом базальної мембрани капіляра і продукується переважно ендотеліальними клітинами, а також періцитами та астроцитами, які є також основними компонентами ГЕБ [17]. Збільшення експресії колагену IV спостерігається як у судинах, так і поза ними, хоча превалює судинна локалізація у щурів із моделюваною скроневою епілепсією [17]. Згідно з даними, отриманими як *in vitro*, так і *in vivo*, молекули колагену IV здатні мігрувати до нейрональних клітин зубчастої звини гіпокампу, в розвитку якої важливою є реакція глії у формі реактивного гліального запалення, формування гліального рубця, реорганізація нейронної мережі, дисфункція ГЕБ [2]. Важливо також зазначити, що колаген IV відіграє ключову роль у розвитку нейродегенеративних процесів, впливає на прогенеторні клітини, забезпечуючи їх диференціацію [17], що дозволяє розглядати перспективу застосування ТППС мозочка в процесі реабілітації хворих з травмою головного мозку.

Висновки

1. Хронічний епілептичний синдром, викликаний за допомогою повторного застосування пентилентетразолу, характеризується утворенням нових мікросу-

дин у корі головного мозку, що має патогенетичне значення у формуванні кіндлінг-викликаних судомних проявів.

2. Застосування ТППС мозочка за допомогою катоду в процесі формування кіндлінгу попереджає виник-

нення розвинених судомних проявів, а також попереджає ангиогенез, зменшує мітоз ендотеліальних клітин та продукцію колагену IV в корі головного мозку.

Дослідження виконані за фінансової підтримки МОЗ України (НДР N0121U114510).

ЛІТЕРАТУРА

1. Vezzani A. Brain inflammation and seizures: evolving concepts and new findings in the last 2 decades. *Epilepsy Currents*. 2020; 20(6): 40–43. doi: 10.1177/1535759720948900.
2. Verkhratsky A., Butt A.M. Neuroglia: Function and Pathology. Academic Press (an imprint of Elsevier), Nikki P. Levy Publ., 2023; 347–398.
3. Wagner N, Wagner KD. PPARs and angiogenesis-implications in pathology. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(16): 5723. <https://doi.org/10.3390/ijms21165723>.
4. van Lanen RHGJ, Melchers S, Hoogland G, et al. Microvascular changes associated with epilepsy: A narrative review. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2021;41(10): 2492–2509. doi: 10.1177/0271678X211010388.
5. Straudi S, Antonioni A, Baroni A, et al. Anti-inflammatory and cortical responses after transcranial direct current stimulation in disorders of consciousness: an exploratory study. *J Clin Med*. 2024; 13: 108. <https://doi.org/10.3390/jcm13010108>.
6. Wu X, Xu W, Zhang T, Bao W. Peripheral inflammatory markers in patients with prolonged disorder of consciousness after severe traumatic brain injury. *Ann Palliat Med*. 2021; 10: 9114–9121.
7. Doganyigit Z, Okan A, Akyuz E, Poshyvak O, Pervak M, Yehorenko O, et al. On the role of tumor necrosis factor – α (TNF- α) and nuclear factor P-NF- κ B in the pentylentetrazole kindling pathogenesis. *Odesa Medical Journal*. 2022; 1–2(179–180): 15–20. (in Ukrainian). doi: 10.54229/2226-2008-2022-1-2-2.
8. Godlevsky LS, Poshyvak OB, Pervak MP, Latypov KA, Pryboilovets KO, Yehorenko OS. Effects of a combination of transcranial DC cerebellar stimulation and pioglitazone administration on pentylentetrazole-induced seizures in kindled rats. *Neurophysiology*. 2022; 53: 88–92. <https://doi.org/10.1007/s11062-022-09919-7>.
9. Wareham LK, Baratta RO, Del Buono BJ, Schlumpf E, Calkins DJ. Collagen in the central nervous system: contributions to neurodegeneration and promise as a therapeutic target. *Mol Neurodegeneration*. 2024; 19: 11. <https://doi.org/10.1186/s13024-024-00704-0>.
10. Fujimoto K, Murakami-Hisaichi M, Tokuda C, Kajiya F. A silver impregnation method for study of cerebral microcirculation using confocal, light, and electron microscopy. *Microvascular Research*. 1996; 51(1): 116–120. <https://doi.org/10.1006/mvre.1996.0012>.
11. Fenstermacher JD, Lin S-Z, De Maro JA, et al. Quantification of small microvascular system morphology in five rat brain areas. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2005; 25(1): 208–208. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9591524.0208>.
12. Marien KM, Croons V, Waumans Y, et al. Development and validation of a histological method to measure microvessel density in whole-slide images of cancer tissue. *PLoS One*. 2016; 11(9): 0161496. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161496>.
13. Kotlinowski J., Jozkowicz A. PPAR-gamma and angiogenesis: endothelial cells perspective. *Diabetes Research*. 2016; 16: 8492353. <https://doi.org/10.1155/2016/8492353>.
14. Guan Y, Liu J, Gu Y, Ji X. Effects of hypoxia on cerebral microvascular angiogenesis: benefits or damages? *Aging Dis*. 2023; 1; 14(2): 370–385. <https://doi.org/10.14336/AD.2022.0902>.
15. Kresyun NV, Godlevskii LS. Superoxide dismutase and catalase activities in the retina during experimental diabetes and electric stimulation of the paleocerebellar cortex. *Bull of Exp Biol Med*. 2014; 58(2): 206–208. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2723-6>.
16. Pulgar VM. Direct electric stimulation to increase cerebrovascular function. *Front Syst Neurosci*. 2015; 9: 54. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00054>.
17. Grigorios K., Bernard A, Bôle A, Khrestchatsky M, Ferhat L. In the rat hippocampus, pilocarpine-induced status epilepticus is associated with reactive glia and concomitant increased expression of CD31, PDGFR β , and collagen IV in endothelial cells and pericytes of the blood–brain barrier. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(3): 1693. <https://doi.org/10.3390/ijms25031693>.

Надійшла до редакції 19.03.2024 р.

Прийнята до друку 30.05.2024 р.

Електронна адреса для листування tyukhailo.pervak@onmedu.edu.ua