

Міністерство охорони здоров'я України
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Міністерство охорони здоров'я України
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

КАЛЮЖКА Владислав Юрійович

УДК 618.14-005.1-07-08:616.441-008.64(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ

Оптимізація діагностики церебрального ангіоспазму та відтермінованої
церебральної ішемії у хворих, що перенесли аневризматичний
субарахноїдальний крововилив

за спеціальності 222 – «медицина», спеціалізація «Нейрохірургія»
22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне
джерело. _____ В.Ю. Калюжка

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: П'ятикоп В.О., доктор медичних наук, професор

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Калюжка В.Ю. Оптимізація діагностики церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії у хворих, що перенесли аневризматичний субарахноїдальний крововилив. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Нейрохірургія». – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2024. Захист відбудеться в Харківському національному медичному університеті.

Робота виконана на базі Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна клінічна лікарня» і Харківського національного медичного університету присвячена вирішенню актуального питання нейрохірургії, а саме – уточненню клініко-патогенетичних аспектів виникнення церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії у хворих, що перенесли аневризматичний субарахноїдальний крововилив для оптимізації лікувальних заходів щодо зниження частоти ускладнень.

Актуальність теми: Аневризматичний субарахноїдальний крововилив (аСАК) є тяжким захворюванням із високим рівнем смертності та інвалідизації. Щороку захворюваність становить близько 10 випадків на 100 000 осіб, причому до 40% пацієнтів помирають протягом першого місяця після госпіталізації. Ті, хто виживає, часто стикаються з тривалими когнітивними порушеннями та втратою працездатності. Попри прогрес у лікуванні та діагностиці, ефективність терапевтичних заходів залишається обмеженою, а результати лікування невтішними. Основними чинниками, що ускладнюють прогноз, є церебральний вазоспазм (ЦВ) і відтермінована церебральна ішемія (ВЦІ), які значно впливають на клінічні наслідки.

Одним із ключових напрямків досліджень є вивчення молекулярних механізмів, які лежать в основі ЦВ та ВЦІ, адже вони досі недостатньо

зрозумілі. Встановлено, що запальні процеси, зокрема активація Toll-подібного рецептора-4 (TLR4), відіграють важливу роль у патогенезі цих ускладнень. Підвищення рівнів прозапальних цитокінів, таких як IL-6, TNF- α , корелює з тяжкістю ЦВ, ВЦІ та загальними клінічними результатами. Аналіз таких біомаркерів може мати прогностичне значення для ранньої ідентифікації пацієнтів із високим ризиком ускладнень та вдосконалення терапевтичних підходів.

Останні дослідження також підкреслюють важливість вивчення ериптозу – програмованої загибелі еритроцитів, яка сприяє зменшенню запального впливу гемолізу. Патологічний ериптоз може бути пов'язаний із розвитком нейрозапалення та загибеллю нейронів, що в подальшому призводить до ВЦІ.

Розуміння цих процесів відкриває нові перспективи для створення ефективних методів профілактики ускладнень, покращення якості життя пацієнтів та зниження смертності.

Мета дослідження – оптимізація критеріїв діагностики ускладнень аневризматичного субарахноїдального кровововиливу, а саме церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії шляхом вивчення деяких показників ліквору, аналізу СКТ і УЗДГ

Для досягнення мети були визначені наступні завдання:

1. Провести аналіз клініко-неврологічних, інструментальних (спіральна комп'ютерна томографія, ангіографія, доплерографія) обстежень хворих на аСАК.
2. Дослідити показники запалення (інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10, інтерлейкіну-17, фактору некрозу пухлин- α) у спинномозковій рідині у хворих на аСАК.
3. Провести дослідження TLR4-залежного механізму нейрозапалення у спинномозковій рідині у хворих на аСАК.
4. Визначити показники ериптозу внаслідок аСАК у спинномозковій рідині хворих на аСАК.

5. Визначити предиктори церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії на основі показників проточної цитометрії та імуноферментного аналізу ліквору.

6. Розробити патофізіологічно обумовлений діагностичний алгоритм з врахуванням показників імуноферментного аналізу та проточної цитометрії для хворих на аСАК з метою запобігання розвитку ускладнень.

Об'єкт дослідження: субарахноїдальний крововилив.

Предмет дослідження механізми розвитку церебрального вазоспазму та відтермінованої церебральної ішемії внаслідок аневризматичного субарахноїдального крововиливу.

Методи дослідження: клінічні, неврологічні, біохімічні, імуноферментні, ультразвукові, доплерометричні, цитометричні, морфологічні та статистичні.

Дисертаційне дослідження ґрунтується на аналізі результатів обстеження та хірургічного лікування 60 хворих віком від 19 до 78 років ($46,7 \pm 11,6$ років) із аневризматичним субарахноїдальним крововиливом, які перебували у нейрохірургічному відділенні № 2 КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня» у період 2021–2024 рр.

В дисертаційній роботі проаналізовані результати проспективного дослідження 60 пацієнтів.

Для досягнення мети та вирішення встановлених завдань дослідження проводилося в 3 етапи. На першому етапі, після отримання результатів клініко-інструментального обстеження, пацієнти з субарахноїдальним крововиливом були розділені на дві клінічні групи (основну та групу контролю). Першу (основну) групу склали 45 пацієнтів з аневризматичним субарахноїдальним крововиливом до другої (контрольної) увійшли 15 пацієнтів без субарахноїдального крововиливу. Усім пацієнтам через наявність аневризм судин головного мозку було проведено оперативне втручання в об'ємі хірургічного кліпування чи ендovasкулярної емболізації в операційних відділеннях нейрохірургії №2 КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня».

На другому етапі (на 3 добу після початку захворювання) здійснювався забір спинномозкової рідини пацієнтів, томографічне та ультразвукове доплерографічне дослідження, аналіз результатів лабораторних показників, лікування в умовах відділення інтенсивної терапії.

Після проведення оперативного втручання та отримання результатів інструментальних досліджень на третьому етапі дослідження пацієнти основної групи (45 пацієнтів), були розділені на дві клінічні групи, в залежності від наявності церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії. Першу клінічну групу 20 пацієнтів з аСАК, у яких розвинувся ангіоспазм. Другу клінічну групу В 29 пацієнтів з аСАК, у яких розвинулась відтермінована церебральна ішемія.

У роботі використовували наступні методи дослідження: клінічні, неврологічні, біохімічні, імуноферментні, ультразвукові, доплерометричні, рентгенологічне (томографічні), цитометричні та статистичні.

Актуальність дослідження обумовлена тим, що у структурі захворюваності на субарахноїдальний крововилив пацієнти молодого, найбільш працездатного віку (від 30 до 59 років) складають 72 %. Близько 25–50 % пацієнтів помирають відразу або впродовж кількох днів після крововиливу. Серед тих, хто виживає, ризик повторного крововиливу та інших ускладнень залишається високим. Значна частина пацієнтів, що вижили стикається з важкими наслідками, включаючи когнітивні розлади, слабкість, порушення мовлення та функціонування м'язів. Приблизно 20–30 % пацієнтів залишаються серйозно інвалідизованими. Функціональне відновлення: лише близько 30–40 % пацієнтів повертаються до задовільного функціонального стану. Це залежить від обсягу крововиливу, своєчасності діагностики та якісного лікування.

У нашому дослідженні доведено, що стан пацієнта при госпіталізації, оцінений за клінічними шкалами (Hunt-Hess Scale, WFNS, GCS), є статистично значущим предиктором раннього виходу після САК. Вищий рівень (I–II) за оцінюваними шкалами в дебюті захворювання свідчить про

сприятливий прогноз для пацієнта (% пацієнтів), тоді як рівень III–V за цими ж шкалами асоціюється з високою летальністю ($r = 0,60$; $p < 0,01$, де r – коефіцієнт кореляції Спірмена). Нейровізуалізаційну шкалу Fisher на рівні з іншими клінічними шкалами можна вважати високочутливим методом прогнозування раннього виходу пацієнтів після САК, але кореляція з формуванням церебрального ангіоспазму не є завжди статистично значущою.

За підсумками роботи було визначено, що церебральний ангіоспазм розвинувся у 20 пацієнтів ($44,44 \pm 7,41$ %), а відтермінована церебральна ішемія – у 27 ($60,0 \pm 7,3$ %) обстежених пацієнтів.

У дослідженні відмічено вищий рівень концентрацій прозапальних цитокінів ліквору у порівнянні з пацієнтами без субарахноїдального крововиливу. У дослідження були включені вибрані цитокіни, які або раніше не досліджувалися, або була доступна обмежена інформація щодо їх зв'язку з ускладненнями та клінічними результатами після аСАК. Ми визначили рівні інтерлейкінів IL-6, IL-10, IL-17, ФНП-а на 3-й день після аСАК у спинномозковій рідині хворих. Рівень IL-6 у спинномозковій рідині (СМР) був значно підвищений у пацієнтів із аневризматичним субарахноїдальним крововиливом (аСАК) порівняно з контрольною групою ($326,3$ пг/мл проти $14,03$ пг/мл, $p < 0,01$, критерій Манна-Уїтні (КМУ)). У пацієнтів із церебральним ангіоспазмом рівень IL-6 був ще вищим і становив $366,3$ пг/мл, а у хворих із відтермінованою церебральною ішемією був також незначно підвищеним (DIND) і становив $349,3$ пг/мл ($p < 0,01$, КМУ). Крім того, підвищення рівня IL-6 асоціювалося з негативним клінічним результатом, включаючи низькі показники за шкалою GOS (1-3) та високі значення за шкалою mRS (3–6).

Концентрація TNF- α у СМР на третій день після аСАК також була значно вищою у порівнянні з контрольною групою ($138,2$ пг/мл проти $13,9$ пг/мл, $p < 0,01$, КМУ). У пацієнтів із церебральним ангіоспазмом рівень TNF- α був підвищеним ($141,03$ пг/мл проти $125,3$ пг/мл). Також

спостерігалась закономірність підвищення рівня TNF-а у спинномозковій рідині з негативним клінічним наслідком з шкалою наслідків Глазго (GOS) та модифікованою шкалою Ренкіна mRS

Рівень IL-10 у пацієнтів з аСАК також був підвищеним (86,05 пг/мл проти 22,9 пг/мл, $p < 0,01$, КМУ). Однак, між групами пацієнтів з ускладненнями та без них не було виявлено статистично значущої різниці в рівнях IL-10. Незважаючи на те, що підвищення IL-10 корелювало з негативним клінічним результатом, ця кореляція не досягла статистичної значущості.

Концентрація IL-17 була значно вищою у пацієнтів із аСАК (1401,1 пг/мл проти 8,10 пг/мл у контрольній групі). Особливо високі рівні IL-17 спостерігалися у пацієнтів із відтермінованою церебральною ішемією (1654 пг/мл проти 1095,07 пг/мл, $p < 0,0005$) порівняно з групою пацієнтів без цього ускладнення.

Рівні IL-6 і TNF- α можуть розглядатися як потенційні біомаркери для ранньої діагностики церебрального ангіоспазму, DIND і прогнозування клінічного результату у пацієнтів із аСАК. Підвищення рівнів IL-10 і IL-17 також заслуговує на увагу, хоча їхній вплив на клінічні результати потребує подальшого вивчення. Аналіз цитокінів у СМР може стати перспективним інструментом для моніторингу стану пацієнтів та оптимізації підходів до лікування.

У рамках визначення ролі нейрозапалення та активації TLR4-NF κ B-залежного механізму запалення у розвитку ускладнень субарахноїдального крововиливу (САК) було оцінено експресію TLR4-рецепторів на CD14+ моноцитах у спинномозковій рідині (СМР) у 45 пацієнтів із аСАК. Для цього було використано метод проточної цитометрії в НДІ клінічної та експериментальної медицини ХНМУ.

Встановлено, що експресія TLR4 на CD14+ моноцитах була значно вищою у пацієнтів із церебральним вазоспазмом порівняно з контрольною групою (середня інтенсивність флуоресценції (MFI) – 10041 au проти

3892 а.у., $p = 0,013$, КМУ). Подібна тенденція спостерігалась і у пацієнтів із відтермінованою церебральною ішемією (MFI – 7681 а.у. проти 4182 а.у., $p = 0,0146$, КМУ).

Для пацієнтів з підвищеним рівнем TLR4 у СМР виявлено статистично значущу кореляційну залежність ($r = 0,67$, $p = 0,046$) із концентрацією прозапального цитокініну ІЛ-6 та концентрацією TNF- α ($r = 0,79$, $p = 0,0314$). Виявлені залежності мали місце у перші три дні після аСАК. Цей факт підтверджує взаємозв'язок між активацією рецепторів TLR4 та розвитком системного нейрозапалення.

Крім того, у пацієнтів з високим рівнем TLR4 спостерігався несприятливий функціональний результат через три місяці після САК.

Отримані результати свідчать про важливу роль TLR4-рецепторів у механізмах розвитку церебрального вазоспазму та відтермінованої ішемії. Оцінка експресії TLR4 у аСМР може стати важливим маркером для прогнозування ускладнень та функціонального відновлення пацієнтів після аСАК, а також служити потенційною мішенню для корекції і розробки нових терапевтичних підходів.

Дослідження значення процесів ериптозу в розвитку ускладнень аСАК проводилося шляхом аналізу запрограмованої смерті еритроцитів у лікворі. Метод фарбування еритроцитів анексином V дозволив оцінити транслокацію фосфатидилсерину на зовнішній листок клітинної мембрани, що є маркером ериптозу. У пацієнтів із церебральним вазоспазмом (ЦВ) відсоток анексин-позитивних еритроцитів був значно вищим, ніж у пацієнтів без вазоспазму (19,3 % проти 4,1 %, $p = 0,05$, t-test).

Подібна тенденція спостерігалась і у пацієнтів із відтермінованою церебральною ішемією (ВЦІ) (21,8 % проти 5,1 %, $p = 0,04$, t-test).

Середня інтенсивність флюоресценції (MFI) анексину V-FITC в еритроцитах також була значно вищою у пацієнтів із ЦВ (1680 а.у. проти 701 а.у., $p < 0,01$, t-test) та ВЦІ (1780 а.у. проти 741 а.у., $p < 0,01$, t-test). Однією з ключових причин ериптозу було визначено окислювальний стрес,

рівень якого оцінювався за допомогою фарбування H2DCFDA для визначення рівня активних форм кисню (АФК) у еритроцитах. Пацієнти із ЦВ та ВЦІ мали значно вищі значення MFI DCF порівняно з пацієнтами без цих ускладнень (309 а.у. проти 112 а.у., $p = 0,05$, t-test) та 319,5 а.у. проти 105 а.у., $p = 0,05$, t-test).

На основі ROC-аналізу визначено пороговий рівень ериптозу (8,85 % анексин-позитивних еритроцитів у лікворі) для прогнозування ЦВ та ВЦІ. Чутливість прогнозу вазоспазму становила 92,31 %, специфічність – 87,5 %, а прогнозування ВЦІ показало 100 % чутливість та 72,73 % специфічність. Отримані дані свідчать про високу прогностичну цінність ериптозу для оцінки ризику розвитку ускладнень САК.

Було проаналізовано передопераційні дані СКТ головного мозку, СКТ-ангіографії, селективної церебральної ангіографії, ультразвукової доплерографії церебральних судин у передопераційному та постопераційному періоді хворих на аневризматичний субарахноїдальний крововилив та проведено співставлення з результатами імуноферментного аналізу та проточної цитометрії.

Таким чином, *наукова новизна* дослідження полягає в тому, що:

– отримані дані дозволили розширити знання про патогенез аСАК і обґрунтувати доцільність удосконалення лікувально-діагностичних заходів для попередження ускладнень та кращих клінічних результатів.

– вперше були визначені клініко-патофізіологічні особливості нейрозапалення та їх показники в розвитку ускладнень аневризматичного субарахноїдального крововиливу. Визначено потенційні діагностичні маркери церебрального ангіоспазму на 3-тю добу після початку захворювання у лікворі;

– вперше отримано наукові дані про клініко-патогенетичні особливості розвитку церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії;

– вперше отримані відомості про залучення TLR4-залежного механізму нейрозапалення внаслідок субарахноїдального крововиливу;

– вперше визначено роль ериптозу для діагностики церебрального ангіоспазму у хворих на аСАК внаслідок активації процесів ериптозу за рахунок розвитку оксидативного стресу в еритроцитах, що призводить до їх апоптозу, як наслідок формування прозапального середовища у спинномозковій рідині;

– вперше запропоновано комплексний метод діагностичних заходів для зниження частоти формування ускладнень у пацієнтів з аСАК, розроблений алгоритм обстеження та ведення хворих.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що:

– рівень ериптозу у СМР можливо використовувати як діагностичний маркер для ступеню важкості нейрозапалення у лікворі і як наслідок можливого розвитку церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії.

– запропоновані потенційні ранні діагностичні маркери церебрального вазоспазу та відтермінованої церебральної ішемії на підставі проведених досліджень вдосконалено критерії діагностики церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії у хворих з аСАК із урахуванням експресії TLR4 рецепторів на CD14+ моноцитах, концентрації цитокінів ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-17, ФНП-а, факторів ериптозу,

– удосконалено алгоритм діагностичних і терапевтичних заходів у пацієнтів з аСАК спрямований на зниження кількості ускладнень шляхом своєчасного визначення показників нейрозапалення, процесів ериптозу та своєчасного проведення корекції лікувальної стратегії, що сприятиме покращенню наслідків аневризматичного субарахноїдального крововиливу.

Ключові слова: субарахноїдальний крововилив, аневризма, церебральний вазоспазм, нейрозапалення, ериптоз, проточна цитометрія, відтермінована церебральна ішемія, цитокіни

SUMMARY

Kaliuzhka V. Optimization of Diagnosis of Cerebral Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. – Qualification scientific work (manuscript).

Dissertation for obtaining the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Healthcare," specialty 222 "Medicine," specialization "Neurosurgery." – Kharkiv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2024. The defense will take place at Kharkiv National Medical University.

This research was conducted at the premises of the Kharkiv Regional Clinical Hospital and Kharkiv National Medical University and is dedicated to addressing a critical issue in neurosurgery – clarifying the clinical and pathogenetic aspects of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. The study aims to optimize therapeutic approaches to reduce the frequency of complications.

Relevance of the study

Aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH) is a severe condition with high rates of mortality and disability. Annually, the incidence is approximately 10 cases per 100,000 individuals, with up to 40% of patients dying within the first month of hospitalization. Survivors often face prolonged cognitive impairments and loss of work capacity. Despite advances in treatment and diagnostics, the effectiveness of therapeutic measures remains limited, and clinical outcomes are often unsatisfactory. The main factors complicating prognosis are cerebral vasospasm (CV) and delayed cerebral ischemia (DCI), which significantly impact clinical outcomes.

One of the key areas of research is the study of the molecular mechanisms underlying CV and DCI, as they are still insufficiently understood. It has been established that inflammatory processes, particularly the activation of

Toll-like receptor-4 (TLR4), play a critical role in the pathogenesis of these complications. Elevated levels of pro-inflammatory cytokines, such as IL-6 and TNF- α , correlate with the severity of CV, DCI, and overall clinical outcomes. The analysis of such biomarkers may have prognostic significance for the early identification of patients at high risk of complications and the improvement of therapeutic approaches.

Recent studies also emphasize the importance of investigating eryptosis—a programmed death of erythrocytes that helps reduce the inflammatory effects of hemolysis. Pathological eryptosis may be associated with the development of neuroinflammation and neuronal death, which subsequently leads to DCI. Understanding these processes opens new perspectives for developing effective methods to prevent complications, improve patient quality of life, and reduce mortality rates.

Objective of the study:

To optimize the criteria for diagnosing complications of acute hemorrhagic stroke, namely cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia due to spontaneous aneurysmal subarachnoid hemorrhage, through the study of specific cerebrospinal fluid parameters, CT analysis, and Doppler ultrasound examination.

To achieve the aim of the study, the following objectives were defined:

1. To analyze clinical, neurological and instrumental examinations of patients with aSAH.
2. To investigate the indicators of inflammation (interleukin-6, interleukin-10, interleukin-17, tumor necrosis factor- α) in the cerebrospinal fluid of patients with aSAH.
3. To study the TLR4-dependent mechanism of neuroinflammation in the cerebrospinal fluid of patients with aSAH.
4. To determine the indicators of eryptosis in the cerebrospinal fluid of aSAH patients.

5. To determine the predictors of cerebral angiospasm and delayed cerebral ischemia based on flow cytometry and enzyme-linked immunosorbent assay of cerebrospinal fluid.

6. Scientifically substantiate the concept of the mechanism of development of cerebral angiospasm and delayed cerebral ischemia in aSAH patients, to develop a pathophysiologically determined diagnostic algorithm taking into account the indicators of enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry for patients with aSAH in order to prevent the development of complications.

Object of study:

Aneurysmal subarachnoid hemorrhage.

Subject of study:

Mechanisms of development of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage.

Methods of study:

Clinical, neurological, biochemical, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), ultrasound, Doppler sonography, radiological (CT imaging), cytometric, morphological, and statistical methods.

The dissertation research is based on the analysis of examination results and surgical treatment of 60 patients aged 19 to 78 years (46.7 ± 11.6 years) with aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH) treated in Neurosurgery Department No. 2 of the Kharkiv Regional Clinical Hospital (KNP KOR) during 2021–2024.

The dissertation analyzed the results of a prospective study ($n = 60$).

To achieve the study objectives, the research was conducted in three stages:

1. Stage One: After completing clinical and instrumental examinations, patients with subarachnoid hemorrhage were divided into two clinical groups (main and control groups).

– The main group comprised 45 patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage.

– The control group included 15 patients without subarachnoid hemorrhage.

All patients with cerebral aneurysms underwent surgical intervention in the form of surgical clipping or endovascular embolization at the operating unit of Neurosurgery Department No. 2 at Kharkiv Regional Hospital.

2. Stage Two: On the third day after the onset of the condition, CSF sampling, tomographic and ultrasound Doppler studies, and laboratory analyses were performed, along with treatment in the intensive care unit.

3. Stage Three: Following surgical intervention and the acquisition of instrumental examination results, the main group of 45 patients was further divided into two subgroups based on the presence of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia:

- Clinical Group A: 29 patients with aSAH who developed vasospasm and delayed cerebral ischemia.

- Clinical Group B: 26 patients with aSAH without these complications.

Methods of research: The study utilized clinical, biochemical, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), ultrasound, Doppler sonography, radiological (tomographic), cytometric, and statistical methods.

The relevance of the study was determined by the morbidity structure of subarachnoid hemorrhage (SAH), in which 72% of patients are of young and working age (30 to 59 years). Approximately 25–50 % of patients die immediately or within a few days after the hemorrhage. Among survivors, the risk of rebleeding and other complications remains high. A significant proportion of surviving patients face severe consequences, including cognitive impairments, weakness, speech disorders, and muscle dysfunction. About 20–30 % of patients are left with severe disability. Only about 30–40 % of patients return to a satisfactory functional state, which depends on the extent of the hemorrhage, timely diagnosis, and quality of treatment.

The patient's condition at admission, assessed using clinical scales (Hunt-Hess Scale, WFNS, GCS), is a reliable predictor of early outcomes after SAH. A higher level (I-II) on these scales at the onset of the disease indicates a favorable

prognosis for the patient, while levels III-V are associated with high mortality ($r = 0.60$; $p < 0.001$).

The Fisher neuroimaging scale, alongside other clinical scales, can be considered a highly sensitive method for predicting early outcomes in SAH patients; however, its correlation with the development of cerebral vasospasm is not always reliable.

According to the study, cerebral vasospasm developed in 20 patients (44%), and delayed cerebral ischemia occurred in 27 (60%) of the examined patients.

In patients with subarachnoid hemorrhage (SAH), significantly higher concentrations of pro-inflammatory cytokines in cerebrospinal fluid (CSF) were observed compared to those without SAH. The study also included selected cytokines that were either not previously investigated or had limited available data regarding their association with complications and clinical outcomes following SAH. The levels of interleukins IL-6, IL-10, IL-17, and TNF- α were determined on the 3rd day after SAH in the CSF of patients.

The level of IL-6 in CSF was significantly elevated in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH) compared to the control group (326.3 pg/mL vs. 14.03 pg/mL, $p < 0,01$ Mann-Witney test). Patients with cerebral vasospasm had even higher IL-6 levels (366.3 pg/mL), while those with delayed cerebral ischemia (DIND) showed slightly elevated levels (349.3 pg/mL, $p < 0,01$ Mann-Witney test). Furthermore, elevated IL-6 levels were associated with poor clinical outcomes, including low scores on the GOS scale (1-3) and high scores on the mRS scale (3-6).

The concentration of TNF- α in CSF on the third day after aSAH was also significantly higher compared to the control group (138.2 pg/mL vs. 13.9 pg/mL, $p < 0,01$). In patients with cerebral vasospasm, TNF- α levels were elevated (141.03 pg/mL vs. 125.3 pg/mL). A significant association was observed between high TNF- α levels and poor clinical outcomes (GOS).

The IL-10 level was also elevated in patients with aSAH (86.05 pg/mL vs. 22.9 pg/mL, $p < 0,01$ Mann-Witney test). However, no statistically significant differences in IL-10 levels were found between patients with and without complications. Although IL-10 elevation correlated with poor clinical outcomes, this correlation did not reach statistical significance.

The concentration of IL-17 was significantly higher in patients with aSAH (1401.1 pg/mL vs. 8.10 pg/mL in the control group). Particularly high IL-17 levels were observed in patients with delayed cerebral ischemia (1654 pg/mL vs. 1095.07 pg/mL, $p < 0,01$ Mann-Witney test).

Elevated levels of IL-6 and TNF- α can be considered potential biomarkers for the early diagnosis of cerebral vasospasm, DIND, and prognosis of clinical outcomes in aSAH patients. The increased levels of IL-10 and IL-17 also warrant attention, although their impact on clinical outcomes requires further investigation. Cytokine analysis in CSF may become a promising tool for patient monitoring and optimization of treatment approaches.

The study explored the role of neuroinflammation and the activation of the TLR4-NF κ B-dependent inflammatory mechanism in the development of complications following subarachnoid hemorrhage (SAH). TLR4 receptor expression on CD14⁺ monocytes in the cerebrospinal fluid (CSF) of 45 patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH) was analyzed using flow cytometry at the Research Institute of Clinical and Experimental Medicine of KhNMU.

It was found that TLR4 expression on CD14⁺ monocytes was significantly higher in patients with cerebral vasospasm compared to the control group (mean fluorescence intensity (MFI): 10,041 au vs. 3,892 au, $p = 0,013$ Mann-Witney test). A similar trend was observed in patients with delayed cerebral ischemia (MFI: 7,681 au vs. 4,182 au, $p = 0,0146$ Mann-Witney test).

Elevated TLR4 levels in CSF were correlated with increased concentrations of pro-inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α , particularly during the first three days post-aSAH. This confirms the connection between TLR4 receptor activation and the development of systemic neuroinflammation. Moreover, high TLR4 levels

were statistically significantly associated with poor functional outcomes three months after SAH.

These findings underscore the critical role of TLR4 receptors in the pathogenesis of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia. Assessing TLR4 expression in CSF may serve as an important marker for predicting complications and functional recovery in aSAH patients, as well as a potential target for therapeutic interventions.

The role of eryptosis in the development of aSAH complications was also studied by analyzing programmed erythrocyte death in CSF. Annexin V staining was used to evaluate the translocation of phosphatidylserine to the outer cell membrane leaflet, a marker of eryptosis. In patients with cerebral vasospasm (CV), the percentage of annexin V-positive erythrocytes was significantly higher compared to those without vasospasm (19.3 % vs. 4.1 %, $p = 0.0017$ t-test). A similar pattern was observed in patients with delayed cerebral ischemia (DCI) (21.8% vs. 5.1 %, $p = 0,04$ t-test).

The mean fluorescence intensity (MFI) of annexin V-FITC in erythrocytes was also significantly higher in patients with CV (1,680 au vs. 701 au, $p < 0,01$ t-test) and DCI (1,780 au vs. 741 au, $p < 0,01$ t-test). Oxidative stress was identified as one of the key causes of eryptosis, assessed through H2DCFDA staining to measure reactive oxygen species (ROS) levels in erythrocytes. Patients with CV and DCI exhibited significantly higher MFI DCF values compared to those without complications (309 au vs. 112 au, $p = 0,05$; and 319.5 au vs. 105 au, $p = 0,05$ t-test respectively).

Threshold values for eryptosis (8.85% of annexin-positive erythrocytes in CSF) for predicting cerebral vasospasm (CV) and delayed cerebral ischemia (DCI) were established based on ROC analysis. Sensitivity for vasospasm prediction was 92.31 %, specificity was 87.5 %, while prediction of DCI demonstrated 100 % sensitivity and 72.73 % specificity. These findings highlight the high predictive value of eryptosis in assessing the risk of SAH complications.

Preoperative CT brain scans, CT angiography, selective cerebral angiography, and transcranial Doppler ultrasound data were analyzed and compared with

the results of immunoassays and flow cytometry in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH) during preoperative and postoperative periods.

Scientific Novelty:

1. The findings expanded knowledge about aSAH pathogenesis and justified the need to improve diagnostic and therapeutic measures to prevent complications and achieve better clinical outcomes.

2. Clinical and pathophysiological features of neuroinflammation and their markers in the development of aSAH complications were identified. Potential diagnostic markers of cerebral vasospasm were determined on the third day post-onset in CSF.

3. New data were obtained regarding the clinical and pathogenetic features of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia.

4. The involvement of the TLR4-dependent mechanism of neuroinflammation in aSAH pathogenesis was demonstrated.

5. The role of eryptosis in diagnosing cerebral vasospasm in aSAH patients was established for the first time. The activation of eryptosis processes due to oxidative stress in erythrocytes, leading to their apoptosis and creating a pro-inflammatory environment in CSF, was identified.

6. A comprehensive diagnostic method was proposed to reduce the frequency of complications in aSAH patients. An algorithm for patient assessment and management was developed.

Practical Significance:

1. Eryptosis levels can serve as diagnostic markers for the severity of neuroinflammation in CSF and the potential development of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia.

2. Early diagnostic markers for CV and DCI were proposed. The criteria for diagnosing cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia in aSAH patients were refined by including TLR4 receptor expression on CD14⁺ monocytes, cytokine concentrations (IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α), and eryptosis factors.

3. Improved diagnostic and therapeutic algorithms aim to reduce complications by timely detecting neuroinflammation and eryptosis processes and making necessary adjustments in therapeutic strategies, leading to improved outcomes for aneurysmal subarachnoid hemorrhage.

Keywords: subarachnoid hemorrhage, aneurysm, cerebral vasospasm, neuroinflammation, eryptosis, flow cytometry, delayed cerebral ischemia, cytokines.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Повнота публікацій за темою дисертації з особистим внеском здобувача.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Калюжка, В. (2024). Значення ІЛ-6 у спинномозковій рідині для прогнозування розвитку церебрального ангіоспазму у хворих на субарахноїдальний крововилив. Експериментальна і клінічна медицина, 93(3). <https://doi.org/10.35339/ekm.2024.93.3.kav>. (Здобувачем особисто виконано клінічне дослідження та підготовлено текст статті).

2. Kaliuzhka V., Tkachenko A., Myasoedov V., Markevych M., Onishchenko A., Babalyan I., Piatykor V. The Prognostic Value of Eryptosis Parameters in the Cerebrospinal Fluid for Cerebral Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia Formation. *World Neurosurg.* 2023;173:e578-85. DOI: 10.1016/j.wneu. 2023.02.096. PMID: 36842532. Scopus Q2 (Здобувачем особисто проаналізовано ефективність застосованих діагностичних методів, систематизовано отримані результати, написані основні розділи статті).

3. Kaliuzhka, V. I., Piatykor, V. O., Markevych, M. A., & Babalian, I. O. (2023). Determination of inflammatory mediator levels in cerebrospinal fluid during the formation of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. *Ukrainian Neurosurgical Journal*, 29(4), 35–41. <https://doi.org/10.25305/unj.287723>. (Здобувачем особисто виконано клінічне дослідження та підготовлено текст статті).

Опубліковані наукові праці апробаційного характеру:

4. V. Kaliuzhka “Prognostic value of eryptosis in cerebrospinal fluid for formation of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia”. Abstract book of 9th EANS Vascular Session Annual Meeting, 5-6 September 2022 Nice, France.

(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).

5. V. Piatykor, V. Kaliuzhka, A. Tkachenko, M. Markevych, A. Onishchenko Prognostic value of erythrosis in cerebrospinal fluid for formation of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia, <https://doi.org/10.1016/j.bas.2022.101193>, Brain and Spine, Vol. 2, Supplement 2, 2022, 101193. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції)*

6. Калюжка В.Ю. «Прогностичне значення параметрів ериптозу у спинномозковій рідині для діагностики ускладнень субарахноїдального крововиливу». Збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» Харків: ХНМУ, 13–15 лютого 2023. С 156. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).*

7. Калюжка В. Прогностичне значення параметрів ериптозу спинномозкової рідини для діагностики церебрального вазоспазму та відтермінованої ішемії мозку. *Невідкладна нейрохірургія, присвяченої 100-річному ювілею проф. Г.П. Педаченка*: матеріали науково-практичної та освітньої конференції нейрохірургів України (31 травня по 1 червня 2023 р., м. Київ, Україна). Київ. С. 71. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).*

8. Piatykor V., Kaliuzhka V., Markevych M., Babalyan Iu. Prognostic value of TLR4 receptors in cerebrospinal fluid for formation of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia, Brain and Spine, Vol. 3, Supplement 1, 2023,101816 <https://doi.org/10.1016/j.bas.2023.101816>. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).*

9. Калюжка В.Ю. Прогностична цінність параметрів ериптозу в спинномозковій рідині для розвитку церебрального вазоспазму та відстроченої церебральної ішемії. *Інтерактивна нейрохірургія в умовах війни: матеріали щорічна наукова конференція УАН з міжнародною участю (12–14 вересня 2024 р., м. Тернопіль, Україна). Тернопіль. С. 56–57. (Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ	23
ВСТУП.....	24
РОЗДІЛ 1. АНЕВРИЗМАТИЧНИЙ СУБАРАХНОЇДАЛЬНИЙ КРОВОВИЛИВ ТА ЦЕРЕБРАЛЬНИЙ ВАЗОСПАЗМ (Огляд літератури).....	31
1.1 Субарахноїдальний крововилив.....	31
1.2 Ускладнення субарахноїдального крововиливу.....	38
1.3. Нейрозапалення і субарахноїдальний крововилив	48
1.4 Висновки до розділу 1.....	64
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	66
2.1. Дизайн дослідження.....	66
2.2. Методи обстеження та лікування хворих	71
2.3. Аналіз спинномозкової рідини хворих на аСАК.....	81
2.4. Статистичний аналіз	89
2.5. Висновки до розділу 2.....	90
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	92
3.1. Клінічні характеристики хворих.....	92
3.2. Дослідження цитокінів спинномозкової рідини після аСАК.....	105
3.3. Визначення ролі TLR4 рецепторів у формуванні ускладнень субарахноїдального крововиливу	113
3.4 Визначення процесів ериптозу у спинномозковій рідині.....	117
3.5. Висновки до розділу 3.....	124
АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	126
ВИСНОВКИ.....	134
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	137
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	138
ДОДАТКИ.....	161

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

- aСАК – аневризматичний субарахноїдальний крововилив.
- ЦВ – церебральний вазоспазм.
- ВЦІ – відтермінована церебральна ішемія.
- СІФ – середня інтенсивність флюоресценції.
- IL – інтерлейкін.
- TNF- α – фактор некрозу пухлин альфа.
- TLR4 – Toll-подібний рецептор 4.
- СМР – спинномозкова рідина.
- АФК – активні форми кисню.
- ROC-крива – характеристична крива приймача.
- GOS – шкала результатів Глазго (Glasgow Outcome Scale).
- mRS – модифікована шкала Ренкіна (Modified Rankin Scale).
- DAMP – молекули, асоційовані з пошкодженням (Damage-Associated Molecular Patterns).
- FITC – ізотіоціанат флуоресцеїну.
- H2DCFDA – дихлордигідрофлуоресцеїн-ацетат.
- DMSO – диметилсульфоксид.
- 7-AAD – 7-аміноактиоміцин D.
- APC-Cy7 – алофікоціанін-Cy7.
- PE – фікоеритрин.
- STAT3 – сигнальний перетворювач та активатор транскрипції 3.

ВСТУП

Актуальність теми. Аневризматичний субарахноїдальний крововилив (аСАК) являє собою серйозне захворювання, з високим рівнем інвалідизації та смертності. Захворюваність становить приблизно 10/100 000 осіб на рік. Приблизно 11 % пацієнтів помирають до отримання медичної допомоги, ще 40 % пацієнтів помирають протягом 4 тижнів після госпіталізації. До 30 % тих, хто вижив, стають непрацездатними і залежатимуть від інших у повсякденному житті. Майже у 50 % тих пацієнтів, хто вижив, протягом тривалого часу розвиваються когнітивні дисфункції і вони ніколи не повертаються до свого звичного життя. Незважаючи на прогрес у діагностиці та лікуванні аСАК, ефективні терапевтичні заходи все ще обмежені, а клінічні результати залишаються невтішними. Існують вагомі докази того, що дві основні проблеми сприяють значній смертності та захворюваності, пов'язаної з аСАК: церебральний вазоспазм (ЦВ) та відтермінована церебральна ішемія (ВЦІ). Спазм судин головного мозку зазвичай виникає на 3 день після аСАК, досягає максимуму на 6 та 8 день і триває протягом 2–3 тижнів. ЦВ вважався основною причиною високої смертності та невтішних клінічних результатів, тому дослідження були зосереджені в першу чергу на спазмі судин та його наслідках протягом останніх кількох десятиліть. Тим не менш, рівень успіху щодо покращення функціональних результатів обмежений.

Клінічне прогнозування виникнення потенційних ускладнень ґрунтується на стані важкості за шкалою Hunt-Hess та оцінкою КТ-головного мозку за шкалою Fisher та за Barrow Neurological Institute score. На жаль ці клінічні данні не завжди мають прогностичну цінність як для діагностики церебрального ангіоспазму та і для відтермінованої церебральної ішемії (ВЦІ).

Молекулярні механізми, що призводять до ВЦІ та ЦВ, досі залишаються незрозумілими, що перешкоджає клінічній ідентифікації

хворих на аСАК із ризиком розвитку ВЦІ. Визначення пацієнтів із аСАК, яким загрожує розвиток ВЦІ та ЦВ, на основі біологічно активних речовин, що відповідають за розвиток нейрозапалення, має вирішальне значення при розробці терапії, яка може знизити рівень ускладнень, якщо не запобігти цьому потенційно інвалідизуючому стану.

Попередні дослідження довели, що запальні процеси беруть участь у патогенезі ЦВ та ВЦІ після аСАК та передбачають погані клінічні результати. Після аСАН, рівні запальних цитокінів або білків, включаючи С-реактивний білок (СРБ), інтерлейкін-6 (IL-6), інтерлейкін-1 β (IL-1 β) та фактор некрозу пухлини- α (TNF- α) тощо у цереброспінальній рідині (ліквор) або крові збільшилися, і це збільшення корелювали з ЦВ та ВЦІ та/або поганими клінічними результатами. Продукція більшість цих запальних цитокінів після субарахноїдального крововиливу регулюється сигналізацією Toll-подібного рецептора-4 (TLR4), яка активується після аСАК у мозку багатьма ендogenous агоністами, такими як метгемоглобін, гем, гемін, білок теплового шоку 60 і 70 тощо. Існує все більше доказів, що свідчать про участь TLR4 у патофізіології аСАК. Однак клінічне значення підвищення TLR4 у пацієнтів з аСАК вивчено недостатньо.

Також перспективним напрямком досліджень в останній час став ериптоз – програмована загибель еритроцитів, аналог апоптозу без'ядерних клітин. Ериптоз індукується багатьма тригерами, включаючи надлишкове утворення активних форм кисню (АФК), гіперосмолярність, підвищену концентрацію внутрішньоклітинного Ca²⁺, а також утворення кераміду сфінгомієліназою з сфінгомієліну, присутніх у клітинних мембранах, а також великою кількістю ксенобіотики, такі як ліки (граміцидин, симвастатин, перифозин тощо). Було продемонстровано, що ериптоз інгібується нирковим гормоном еритропоєтином, оксидом азоту та катехоламінами. Фізіологічно ериптоз спрямований на видалення дефектних еритроцитів з кровообігу до настання гемолізу, оскільки гемоліз пов'язаний з розривом клітинних мембран та вивільненням молекул, пов'язаних з пошкодженням, таких як гем

та інші молекули, отримані з гемоглобіну, зв'язування яких із рецепторами вродженого імунітету забезпечує активацію макрофагів та прозапальну цитокінову реакцію. Ериптоз запобігає вивільненню прозапальних DAMP, оскільки ця суїцидальна загибель клітин пов'язана з появою фосфатидилсерину на поверхні еритроцитів, як описано вище, що служить так званим сигналом «eat me» для макрофагів, щоб забезпечити кліренс ериптотичних еритроцитів при збереженні цілісності їх клітинних мембран. Тобто аналіз ериптозу може мати прогностичну значущість для дослідження активації нейрозапалення та ускладнень аСАК. Патологічні процеси, що викликають ериптоз також можуть викликати загибель клітин з ядром. Припускається, що аналіз посиленого ериптозу може допомогти у вивченні патофізіології загибелі нейронів та як наслідок відтермінованої церебральної ішемії.

Враховуючи високу поширеність аневризматичного субарахноїдального крововиливу, високу смертність від ускладнень, значний вплив цієї патології на рівень якості життя пацієнтів, подальше вивчення патогенетичних механізмів захворювання є актуальним і необхідним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії виконана згідно плану НДР кафедри нейрохірургії Харківського національного медичного університету, що здійснюється за рахунок державного бюджету України «Розробити методи прогнозування наслідків церебральних інсультів після перенесеної інфекції SARS-Cov2, на основі вивчення показників крові і ліквору.» Державний реєстраційний номер: 0122U000120.

Мета дослідження – оптимізація діагностики ускладнень гострого порушення мозкового кровообігу за геморагічним типом, а саме церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії внаслідок спонтанного аневризматичного субарахноїдального крововиливу.

Для досягнення мети були визначені такі завдання:

1. Провести аналіз клініко-інструментальних обстежень хворих на аСАК.

2. Дослідити показники запалення (інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10, інтерлейкіну-17, фактору некрозу пухлин-а) у спинномозковій рідині у хворих на аСАК.

3. Провести дослідження TLR4-залежного механізму нейрозапалення у спинномозковій рідині у хворих на аСАК.

4. Визначити показники ериптозу внаслідок аСАК у спинномозковій рідині хворих на аСАК.

5. Визначити предиктори церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії на основі показників проточної цитометрії та імуноферментного аналізу ліквору.

6. Науково обґрунтувати концепцію механізму розвитку церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії аСАК, розробити патофізіологічно обумовлений діагностичний алгоритм з врахуванням показників імуноферментного аналізу та проточної цитометрії для хворих на аСАК з метою запобігання розвитку ускладнень.

Об'єкт дослідження: субарахноїдальний крововилив.

Предмет дослідження механізми розвитку церебрального вазоспазму та відтермінованої церебральної ішемії внаслідок аневризматичного субарахноїдального крововиливу.

Методи дослідження: клінічні, біохімічні, імуноферментні, ультразвукові, доплерометричні, рентгенологічні, цитометричні та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів.

Наукова новизна дослідження полягає в тому, що:

– вперше були визначені клініко-патофізіологічні особливості нейрозапалення та їх показники в розвитку ускладнень аневризматичного субарахноїдального крововиливу. Визначено потенційні діагностичні маркери церебрального ангіоспазму на 3-тю добу після початку захворювання у лікворі;

– вперше отримано наукові дані про клініко-патогенетичні особливості розвитку церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії;

– вперше отримані відомості про залучення TLR4-залежного механізму нейрозапалення внаслідок субарахноїдального крововиливу;

– вперше визначено роль ериптозу для діагностики церебрального ангіоспазму у хворих на аСАК внаслідок активації процесів ериптозу за рахунок розвитку оксидативного стресу в еритроцитах, що призводить до їх апоптозу, як наслідок формування прозапального середовища у спинномозковій рідині;

– вперше запропоновано комплексний метод діагностичних заходів для зниження частоти формування ускладнень у пацієнтів з аСАК, розроблений алгоритм обстеження та ведення хворих.

– отримані дані дозволили розширити знання про патогенез аСАК і обґрунтувати доцільність удосконалення лікувально-діагностичних заходів для попередження ускладнень та кращих клінічних результатів.

Теоретичне та практичне значення.

Результати дослідження дозволили теоретично обґрунтувати й вирішити актуальну проблему оптимізації діагностики субарахноїдального крововиливу шляхом вивчення механізмів розвитку церебрального вазоспазму та вторинних ішемічних уражень.

Отримані дані розширюють уявлення про патогенез ускладнень аСАК та їхній зв'язок із молекулярними і клітинними процесами у лікворі. Вивчення ефективності клітинних технологій та нейропротекторів забезпечує можливість впровадження інноваційних методів лікування для зменшення неврологічних дефіцитів.

На основі проведених досліджень розроблено алгоритм діагностики та лікування САК, що включає комплексний підхід до виявлення і корекції вазоспазму та вторинних ішемічних ушкоджень. Удосконалено критерії прогнозування наслідків САК з урахуванням нейровізуалізаційних даних, біомаркерів і динаміки неврологічного статусу пацієнтів.

Практичні рекомендації впроваджено в роботу провідних медичних закладів України, зокрема в діяльність регіональних нейрохірургічних

центрів, що підтверджено відповідними актами впровадження. Матеріали дослідження використовуються у навчальному та науковому процесі кафедри нейрохірургії Харківського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно знайдено та проаналізовано джерела літератури з досліджуваної теми, визначена тема роботи, обґрунтована мета, завдання та методологія наукового дослідження. Дисертантом проведено клінічні спостереження, лабораторні, клініко-інструментальні обстеження, лікування 60 тематичних пацієнтів, які перебували на лікуванні у нейрохірургічному відділенні №2 КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня». Автором розроблено сучасний клініко-патогенетичний метод діагностики ускладнень субарахноїдального крововиливу, проведено оцінювання ефективності лікувальних заходів. Особисто автором проаналізовано одержані результати й проведено їх статистичну обробку. Здобувачем обґрунтовано основні положення, сформульовано висновки й практичні рекомендації, підготовлено матеріали до публікації.

Апробація результатів дослідження. Основні положення роботи обговорювалися на європейських конгресах нейрохірургії EANS Congress 2022 (Белград, Сербія), EANS Congress 2023 (Барселона, Іспанія), EANS Vascular Section meeting 2022 (Ніца, Франція); міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2023); міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2024); Науково-практична та освітня конференція нейрохірургів України “Невідкладна нейрохірургія” (Київ, 2023). конференція Київ; Щорічна наукова конференція УАН з міжнародною участю «Інтерактивна нейрохірургія в умовах війни» (Тернопіль, 2024)

Апробація роботи проведена на фаховому семінарі кафедр нейрохірургії, неврології, неврології та дитячої неврології, медицини катастроф та військової медицини, біологічної хімії, науково дослідного інституту клінічної та експериментальної медицини Харківського національного медичного університету (28 лютого 2025 року, протокол №1).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 9 наукових праць, з яких: 2 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття – у виданнях, що входять до бази Scopus, 6 тез у матеріалах науково-практичних конференцій.

Обсяг та структура дисертації. Загальний обсяг роботи становить 167 сторінку, з них 158 сторінок основного тексту, що налічує 35 рисунків і 8 таблиць. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, власних досліджень, обговорення власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій і списку використаної літератури, який налічує 189 джерел (189 латиницею), 3 додатки.

РОЗДІЛ 1.

АНЕВРИЗМАТИЧНИЙ СУБАРАХНОЇДАЛЬНИЙ КРОВОВИЛИВ ТА ЦЕРЕБРАЛЬНИЙ ВАЗОСПАЗМ (Огляд літератури)

1.1 Субарахноїдальний крововилив

Субарахноїдальний крововилив (САК) – це крововилив, що виникає в просторі між павутинною та м'якою мозковими оболонками, де проходять церебральні артерії та вени. Він є різновидом геморагічного інсульту і становить близько 3 % усіх інсультів [98]. САК може виникати внаслідок травми голови, але до 85 % випадків спричинені розривом внутрішньо-черепної аневризми – локального розширення стінки кровоносної судини [99].

Захворюваність на САК у всьому світі оцінюється в 9 випадків на 100 000 населення на рік, причому вищі показники спостерігаються у жінок старше 55 років, а також серед населення Фінляндії та Японії [85, 96]. Щороку САК є причиною смерті і/або інвалідності 18 000 осіб у Північній Америці. У США витрати на лікування таких пацієнтів складають 1,75 млрд доларів на рік [27]. В Україні, за епідеміологічними розрахунками, щороку реєструється до 5 тисяч випадків САК аневризматичного генезу, що значно перевищує показники більшості країн Європи [34].

Оскільки більшість пацієнтів після САК потребують тривалої медичної реабілітації, це створює значний економічний тягар для систем охорони здоров'я. У Німеччині середня загальна пряма вартість лікування САК у перший рік після кровотечі становить 39 075 євро на пацієнта [34]. Враховуючи, що САК вражає переважно працездатних осіб (середній вік 55 років) і принаймні 20% постраждалих не можуть відновити функціональну незалежність [38], непрямий соціально-економічний тягар САК має значний вплив на національну економіку. Згідно з дослідженням у США за 1992 рік,

однорічна втрата продуктивності через аневризматичний САК становила близько 1,55 мільярда доларів США (у доларах 2018 року) [38].

Причини САК можуть бути різноманітними. Це може бути викликано травмою головного мозку, мальформаціями судин мозку, внутрішньо-черепними операціями, пухлинами центральної нервової системи, апоплексією гіпофіза, церебральною амілоїдною ангіопатією та ін. [151]. Серед нетравматичних САК близько 85% усіх кровотеч викликані спонтанним розривом внутрішньочерепної аневризми [151]. Аневризма – це розширення або випинання артеріальної стінки внаслідок її ослаблення. Частота внутрішньочерепних аневризм у загальній популяції становить близько 3,2 % [35]. Внутрішньочерепні аневризми частіше виникають на біфуркаціях великих судин [35]. Внутрішньочерепні кровоносні судини мають товсту внутрішню еластичну мембрану, але мало еластинових волокон та гладком'язових клітин, що робить їх схильними до розвитку аневризм. Конкретний патофізіологічний механізм утворення аневризм не є повністю з'ясованим. Припускають, що утворення внутрішньочерепних аневризм залежить від ступеня запалення стінки судини, структури колагену та/або еластину, а також гемодинамічного стресу через серцево-судинні фактори ризику [5, 35].

Відомі фактори ризику розриву аневризми включають жіночу стать, особисту або сімейну історію аневризматичного САК, артеріальну гіпертензію, куріння, вживання симпатоміметичних речовин та надмірне споживання алкоголю [128].

Приблизно 10–43 % пацієнтів з аневризматичним САК відчувають сильний головний біль грозоподібного характеру, який, можливо, спричинений збільшенням аневризми або незначною кровотечею, що передуює великій кровотечі [165].

Це може виникати за один-три тижні до розриву аневризми [14]. У 50 % пацієнтів з аневризматичним САК виникає миттєвий сильний головний біль, який часто описують як найгірший у житті. Більшість пацієнтів

відчувають нудоту (91 %), блювання (70 %) і загальну слабкість (50 %) разом із появою головного болю [78].

Вважається, що головний біль після САК спричинений підвищенням внутрішньочерепного тиску (ВЧТ), локальним розтягуванням внутрішньо-черепної судини або подразненням прилеглих чутливих нервів кров'ю (подразнення менінгеальних оболонок) [78].

У 35 % пацієнтів спостерігається ригідність шиї через кілька годин після кровотечі внаслідок запальної реакції на кров у субарахноїдальному просторі [45].

Пригнічення свідомості або повна її втрата відмічається приблизно у 34–67 % пацієнтів із САК. Половина пацієнтів відчуває неврологічні порушення, такі як зміна психічного стану або вогнищевий неврологічний дефіцит, який може вказувати на місце розриву аневризми. Наприклад, параліч третього черепного нерва може бути ознакою розриву аневризми задньої сполучної артерії [45]. Судоми виникають у 10–26 % пацієнтів під час або незабаром після САК і є фактором ризику несприятливого результату [45].

Близько 3% пацієнтів скаржаться на розмитість зору або плаваючі тіні через крововилив у склоподібне тіло (синдром Терсона). Загальноприйнятим механізмом є те, що раптове підвищення ВЧТ після САК викликає набряк диска зорового нерва та закупорку венозної системи сітківки, що призводить до внутрішньоочного крововиливу [151]. У хворих з порушенням свідомості часто виявляють внутрішньоочний крововилив [151].

Такі системні симптоми, як біль у грудях, серцебиття та задишка, можуть бути проявами тяжкої гіпертензії або гіпоксемії. Електрокардіографічні зміни можна виявити у 75 % пацієнтів із САК без раніше діагностованої хвороби серця [32].

Приблизно у 0,7 % пацієнтів без попередньої артеріальної гіпертензії відбувається зупинка серця на початку САК, але половина тих, хто вижив, відновлює здатність до самообслуговування [27].

1.1.1 Діагностика субарахноїдального крововиливу

При підозрі на САК першочергово виконується комп'ютерна томографія (КТ) голови, чутливість якої наближається до 100 % протягом перших шести годин після початку симптомів, але поступово зменшується в наступні години та дні, коли крововилив припиняється [1, 98]. Цей метод візуалізації також дозволяє оцінити наявність крові в інших просторах, що може підвищувати внутрішньочерепний тиск через мас-ефект або блокування дренажу спинномозкової рідини (ліквору), що призводить до розширення шлуночків – гідроцефалії.

Якщо КТ голови не виявляє патології, але є серйозна клінічна підозра на САК, особливо при відстроченому зверненні, необхідно отримати спинномозкову рідину за допомогою люмбальної пункції. Оптимальний час забору СМР не визначено, оскільки продуктам розпаду крові – білірубину – потрібно принаймні кілька годин для утворення. Білірубін є єдиним надійним маркером, який дозволяє відрізнити справжній САК від кровотечі, спричиненої самою процедурою.

Після центрифугування білірубін у СМР утворює супернатант, який називається ксантохромією і може бути визначений візуально або за допомогою спектрофотометрії [67].

Для визначення або виключення аневризми як причини САК використовують ангіографію – зображення церебральних кровоносних судин шляхом внутрішньовенного або внутрішньоартеріального введення контрастної речовини.

Це можна здійснити неінвазивно за допомогою КТ-ангіографії або магнітно-резонансної томографії (МРТ-ангіографії), або інвазивно за допомогою катетерної ангіографії, яка включає пункцію стегнової чи променевої артерії для введення катетера в загальну сонну та хребетну артерії, що живлять мозок. Катетерна ангіографія вважається "золотим стандартом" для виявлення внутрішньочерепних аневризм, проте сучасні

КТ- та МРТ-ангіографії пропонують швидші та безпечніші альтернативи з чутливістю 97 % для аневризми діаметром 4 мм і більше та загальною чутливістю 95 % відповідно [65].

1.1.2 Внутрішньочерепні аневризми та фактори ризику

Аневризми – це слабкі опуклі утворення або аномальні розширення в стінці артерій, присутні майже у 3,2 % населення. Вони утворюються внаслідок гемодинамічного стресу на артеріальну стінку в місцях біфуркацій артерій і характеризуються хронічним запаленням та дегенерацією артеріальної стінки [35].

Більшість аневризм мають мішкоподібну морфологію (90 %), тоді як веретеноподібні (фузіформні) аневризми, що виникають переважно у задньому колі мозкового кровообігу, становлять лише 10 % [35].

Факторами ризику розвитку аневризми є артеріальна гіпертензія, куріння, хронічне вживання алкоголю, вік, жіноча стать та сімейний анамнез аневризматичного субарахноїдального крововиливу (аСАК) у родичів першого ступеня [65].

Кілька генетичних розладів, таких як аутосомно-домінантний полікістоз нирок, синдром Марфана, синдром Елерса-Данлоса типу IV, нейрофіброматоз типу 1 та фіброзно-м'язова дисплазія, були пов'язані з утворенням внутрішньочерепних аневризм [85].

Поліморфізми одиничних нуклеотидів (SNP) у генах CDKN2B-AS1, регулятора транскрипції SOX17, рецептора ендотеліну, HDAC9 та гені, що кодує еластин, або поблизу них, були виявлені у широкогеномних асоціативних дослідженнях (GWAS) та аналізах зв'язків, і тісно пов'язані з внутрішньочерепними аневризми [109,].

Дослідження екзомних асоціацій виявило, що SNP гена ланцюга колагену типу XVII α 1 значно пов'язаний з аневризматичним субарахноїдальним крововиливом (аСАК) [109].

1.1.3 Лікування субарахноїдального крововиливу та артеріальних аневризм та ускладнення після САК

Пацієнтам із субарахноїдальним крововиливом (САК) необхідно терміново надати допомогу у відділенні невідкладної допомоги, де є судинна нейрохірургічна служба. Медичне лікування може включати забезпечення прохідності дихальних шляхів за допомогою ендотрахеальної інтубації та механічної вентиляції, серцево-судинну підтримку за допомогою вазопресорів або антигіпертензивних препаратів, застосування протиепілептичних засобів для контролю судом, осмотичних діуретиків або гіпертонічного розчину для зниження внутрішньочерепного тиску, а також аналгезію. [141, 160]

Остаточна профілактика повторної кровотечі полягає у виключенні аневризми з внутрішньочерепного кровообігу. У більшості випадків облітерація розірваної аневризми досягається шляхом нейрохірургічного кліпування або ендovasкулярного емболізування спіралями [108]. Проте саме хірургічне втручання не завжди покращує результати лікування пацієнтів [122]. Це головним чином пов'язано з ускладненнями після САК, які виникають переважно протягом перших двох тижнів після початкової кровотечі [161].

Відкрите нейрохірургічне кліпування аневризм є традиційним методом лікування внутрішньочерепних аневризм. Процедура передбачає виконання краніотомії для доступу до мозкових судин і накладання спеціальної титанової кліпси на шийку аневризми з метою її виключення з кровообігу. Це запобігає подальшому наповненню аневризми кров'ю та знижує ризик повторного розриву [6, 148].

Переваги кліпування:

– *Повне виключення аневризми:* кліпування забезпечує надійне та постійне виключення аневризми з кровообігу.

– *Пряма візуалізація:* під час операції хірург має можливість безпосередньо оглянути аневризму та прилеглі судини, що дозволяє виявити додаткові аневризми або патології.

– *Відсутність необхідності в подальшому спостереженні*: після успішного кліпування зазвичай не потрібні регулярні контрольні обстеження аневризми.

Недоліки кліпування:

– *Інвазивність процедури*: операція вимагає відкритого доступу до мозку, що підвищує ризик хірургічних ускладнень, таких як інфекції, кровотечі або неврологічні дефіцити.

– *Тривалий період відновлення*: пацієнти потребують більшого часу для реабілітації після відкритої хірургії.

– *Обмеження за локалізацією аневризми*: деякі аневризми, розташовані в глибоких або важкодоступних ділянках мозку, можуть бути недосяжними для кліпування.

Ендоваскулярна емболізація аневризм

Ендоваскулярна емболізація є мінімально інвазивним методом лікування, який передбачає введення мікрокатетера через стегнову або променеву артерію до аневризми. Аневризма заповнюється платиновими спіралями, стентами або іншими емболізаційними матеріалами, що призводить до тромбування її порожнини та виключення з кровообігу [12, 108, 173].

Переваги емболізації:

– *Мінімальна інвазивність*: відсутність потреби у краніотомії знижує ризик операційних ускладнень і скорочує час відновлення.

– *Підходить для складних аневризм*: ендоваскулярний доступ дозволяє лікувати аневризми у важкодоступних місцях або з складною анатомією.

– *Зниження ризику для пацієнтів з коморбідністю*: менш навантажувальна процедура є безпечнішою для пацієнтів з супутніми захворюваннями.

Недоліки емболізації:

– *Ризик реканалізації*: можливе повторне наповнення аневризми кров'ю через компресію або міграцію емболізаційного матеріалу, що вимагає повторних втручань.

– *Необхідність регулярного спостереження*: після емболізації потрібні періодичні контрольні обстеження (МРТ або КТ-ангіографія) для оцінки стану аневризми.

– *Обмеження за розміром і формою аневризми*: деякі великі або широкошийкові аневризми важко повністю емболізувати без використання додаткових пристроїв, таких як стенти.

Клінічні дослідження порівнюють ефективність та безпеку обох методів. Зокрема, міжнародне дослідження ISAT показало, що ендovasкулярна емболізація асоціюється з нижчою смертністю та інвалідизацією через рік після процедури порівняно з відкритим кліпуванням у вибраній групі пацієнтів [107]. Однак довгострокові результати свідчать про вищий ризик повторного крововиливу після емболізації, що вимагає ретельного спостереження [108].

Вибір методу лікування залежить від індивідуальних особливостей пацієнта та аневризми. Розташування, розмір, форма аневризми, вік пацієнта, наявність супутніх захворювань та загальний стан здоров'я – все це впливає на рішення між кліпуванням та емболізацією [6].

Багатоцентричні дослідження та метааналізи продовжують оцінювати довгострокову ефективність та безпеку обох методів для оптимізації підходів до лікування аневризми.

1.2 Ускладнення субарахноїдального крововиливу

1.2.1 Ускладнення субарахноїдального крововиливу

Ураження головного мозку після аневризматичного субарахноїдального крововиливу (аСАК) відбувається у дві фази (рис. 1.1). *Рання ураження головного мозку*, яке виникає протягом перших 72 годин після крововиливу, є результатом транзиторної глобальної церебральної ішемії та токсичних

ефектів екстравазованої крові [113]. Це може супроводжуватися *вторинною відтермінованою фазою* ураження мозку протягом 3–14 днів, що є періодом, коли можуть розвинутися ускладнення після аСАК і спричинити неврологічне погіршення [118, 120].

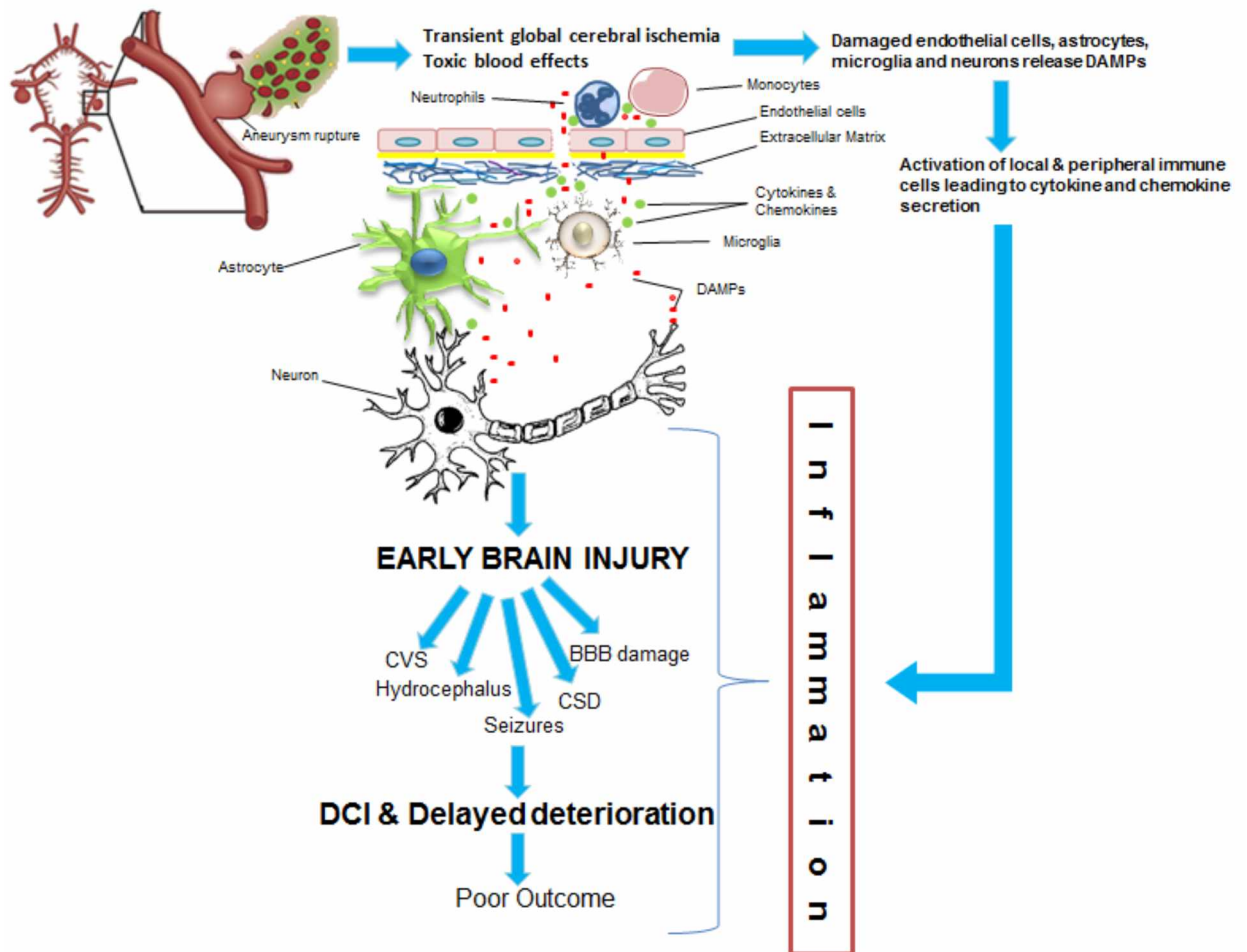


Рисунок 1.1 – Схематичне зображення ролі запалення, опосередкованого DAMP і цитокінами після САК, і їх можливого зв'язку з ускладненнями після САК і клінічними результатами (Luo, C., Yao, X., Li, J. et al.

Paravascular pathways contribute to vasculitis and neuroinflammation after subarachnoid hemorrhage independently of glymphatic control. *Cell Death Dis* 7, e2160 (2016))

Основні ускладнення після аСАК включають повторну кровотечу, церебральний вазоспазм (ЦВ), гідроцефалію, судоми, відстрочений ішемічний

неврологічний дефіцит (ВІНД), кортикальну депресію, що поширюється, відтерміновану церебральну ішемію (ВЦІ), інфекції, кардіоміопатію та набряк легенів [160]. Раніші дослідження були зосереджені переважно на церебральному вазоспазмі, і розроблялися стратегії, спрямовані на його усунення.

Однак нездатність антагоністів ендотеліну покращити клінічні результати, незважаючи на усунення церебрального вазоспазму, свідчить про те, що результат після аСАК визначається багатьма факторами. Ці суперечливі дані призвели до зміни напрямку досліджень аСАК на вивчення раннього ураження головного мозку з основним акцентом на ролі запалення, яке відіграє вирішальну та центральну роль у розвитку ускладнень після аСАК [37].

1.2.2 Визначення, епідеміологія та патофізіологія вазоспазму

Церебральний вазоспазм – це тривале, але самообмежувальне звуження калібру церебральних кровоносних судин через аномальне скорочення гладкої мускулатури у пацієнтів після аневризматичного субарахноїдального крововиливу (аСАК). Його наслідки можуть бути вогнищевими або дифузними, охоплювати проксимальні або дистальні артерії та відрізнятися за ступенем тяжкості від легкого до важкого [7].

Звуження внутрішньочерепних артерій виявляється за допомогою візуалізації судин у 49–67 % пацієнтів і називається ангиографічним вазоспазмом. Його початок може бути вже через 3 дні після аСАК, пік тяжкості досягається на 6–8-й день і спонтанно зникає через 12–14 днів [51].

Симптоматичний вазоспазм, також відомий як клінічний вазоспазм або відстрочена церебральна ішемія, виникає у частини пацієнтів з ангиографічним вазоспазмом, коли кровотік критично порушений [17]. Це викликає каскад молекулярних подій, включаючи деполяризацію клітинної мембрани, вивільнення збуджуючих нейромедіаторів і вироблення шкідливих

ферментів, що зрештою призводить до загибелі клітин з відповідним неврологічним дефіцитом. Залежно від ураженої зони церебральних судин, це може проявлятися зниженням рівня свідомості, слабкістю, онімінням, порушенням мови або корковою сліпотою.

Приблизно у 50 % пацієнтів, у яких розвивається ангіографічний вазоспазм, спостерігається симптоматичний вазоспазм, і у половини з них він прогресуватиме до церебральних інфарктів (загибель нейронів через неадекватне кровопостачання) [127]. Вазоспазм є основною причиною смертності та захворюваності, якій можна було б запобігти при аневризматичному САК. Він є причиною 23 % смертей, 11 % несприятливих результатів і стійкого неврологічного дефіциту у 37% тих, хто вижив [45].

1.2.3 Діагностика церебрального вазоспазму

Симптоматичний вазоспазм визначають за поступовим погіршенням неврологічного стану після виключення інших можливих причин за допомогою КТ голови. Якщо підозрюється спазм судин, зазвичай застосовують індуковану гіпертензію, і поліпшення симптомів після цього підтверджує діагноз.

Золотим стандартом візуалізації вазоспазму є катетерна церебральна ангіографія, яка має перевагу в можливості ендovasкулярного доступу для лікування. Однак КТ-ангіографія стає все більш поширеною, оскільки вона швидкодоступна, надає додаткову інформацію про паренхіму мозку, нові крововиливи та розміри шлуночків, а також є безпечнішою, оскільки виключає 0,5–1 % ризик ішемічного інсульту, пов'язаного з ендovasкулярним втручанням [147].

Порівняно з катетерною ангіографією, КТ-ангіографія демонструє високу точність у визначенні відсутності вазоспазму (чутливість: 95 %, специфічність: 96 %) або важкого вазоспазму (чутливість і специфічність: 100 %) у проксимальних відділах внутрішньої сонної артерії, базилярної артерії та перших сегментах передньої і середньої мозкових артерій [34]. Це

підтверджується метааналізом шести досліджень КТ-ангіографії, який показав сумарну чутливість 79,6 % і специфічність 93,1 % у діагностиці вазоспазму в різних артеріальних локалізаціях і ступенях тяжкості [28, 127].

Транскраніальна доплерографія

Транскраніальна доплерографія (ТКД) пропонує альтернативний, недорогий метод для виявлення звуження артерій, використовуючи ультразвук для вимірювання швидкості кровотоку в проксимальних судинах мозку через скроневу кістку або скроневе акустичне вікно. Метод базується на принципі Бернуллі: звуження просвіту судини внаслідок вазоспазму призводить до підвищення середньої швидкості кровотоку [34, 100].

Середня мозкова артерія є найпростішою та найнадійнішою для інсонації. Середня швидкість кровотоку понад 200 см/с вказує на виражений вазоспазм, тоді як швидкість менше 120 см/с не асоціюється зі значним звуженням артерії [30, 31]. Зміни об'єму кровотоку, наприклад, при посиленій гемодинаміці через терапію або ауторегуляторні механізми мозку, також можуть впливати на швидкість кровотоку [93]. Щоб це диференціювати, Lindegaard та ін. порівняли середні швидкості кровотоку в середній мозковій артерії та іпсилатеральній екстракраніальній внутрішній сонній артерії, встановивши, що співвідношення 3 або більше підтверджує наявність вазоспазму [62, 91].

Незважаючи на зручність, недоліками ТКД є залежність від якості акустичного вікна, низька чутливість на рівні 58,6%, що погано корелює з ангіографічними даними для передніх мозкових артерій, а також значна залежність від досвіду фахівця, який проводить обстеження [33, 34].

1.2.4 Лікування

Лікування субарахноїдального крововиливу

Після підтвердження діагнозу субарахноїдального крововиливу (САК) необхідно негайно розпочати як симптоматичне, так і етіологічне лікування, спрямоване на усунення аневризми [2].

Загальні заходи догляду:

- *Положення пацієнта:* хворого слід розмістити в ліжку з піднятим головним кінцем для покращення відтоку спинномозкової рідини.
- *Моніторинг:* необхідний постійний контроль життєво важливих показників, електрокардіографічних змін та неврологічних симптомів.
- *Харчування:* якщо пацієнт має труднощі з прийомом їжі, слід забезпечити регулярне харчування через назогастральний зонд.
- *Внутрішньовенний доступ:* встановлення постійного внутрішньовенного катетера є обов'язковим.
- *Корекція порушень:* потрібно відкоригувати електролітний дисбаланс, а також гіпо- чи гіперглікемію. Водночас слід уникати введення великих об'ємів гіпотонічних розчинів [58].
- *Знеболення:* для заспокоєння пацієнта часто необхідне призначення аналгетиків [65].

Хірургічні втручання:

- *Гемікраніектомія:* пацієнтам із великою гематомою може знадобитися розширена гемікраніектомія для зниження внутрішньочерепного тиску [50].
- *Видалення гематом:* субдуральні гематоми слід оперативно видалити, якщо вони становлять загрозу життю [65].

Профілактика повторної кровотечі:

- До встановлення остаточного діагнозу САК можуть бути призначені короткочасні антифібринолітики для запобігання повторній кровотечі.
- Згідно з проспективним рандомізованим дослідженням, негайне введення транексамової кислоти може зменшити ризик ранньої рецидивної кровотечі у пацієнтів із САК [98].

Гідроцефалія:

- *Частота виникнення:* гідроцефалія частіше розвивається у пацієнтів з масивним крововиливом у перимезенцефальні цистерни або при наявності крові в шлуночках мозку.

– *Спостереження*: після початкової КТ важливо постійно моніторити пацієнтів із розширеними шлуночками, оскільки у 50% з них можливе спонтанне покращення [146].

– *Лікування*: якщо розвивається симптоматична гідроцефалія, встановлюють зовнішній вентрикулярний дренаж для відведення надлишкової спинномозкової рідини. Проте пацієнти з таким дренажем мають ризик розвитку вентрикуліту, особливо якщо катетер залишається більше трьох днів [146]. Потрібен суворий контроль за дренажною системою. Люмбальний дренаж може бути розглянутий у пацієнтів з низьким ризиком церебральної грижі [90].

– *Хронічна гідроцефалія*: близько 26% пацієнтів із САК розвивають хронічну гідроцефалію та потребують встановлення вентрикуло-перитонеального шунта [52].

Відстрочена церебральна ішемія (ВЦІ):

– *Значення вазоспазму*: ВЦІ, обумовлена вазоспазмом великих артерій, є основним фактором смертності та інвалідизації у пацієнтів із САК.

– *Моніторинг*: необхідний постійний контроль церебральної гемодинаміки за допомогою транскраніальної доплерографії. Додатково КТ або МРТ можуть бути корисними для виявлення можливих ішемічних уражень [101].

Лікування вазоспазму:

– *Клазосентан*: є антагоністом рецепторів ендотеліну, який запобігає вазоконстрикції, опосередкованій ендотеліном-1 (ET-1). У трьох великих рандомізованих контрольованих дослідженнях (CONSCIOUS) клазосентан зменшив ангіографічний вазоспазм, але не вплинув на смертність, захворюваність і частоту церебрального інфаркту у пацієнтів із САК [33].

– *Німодипін*: кальцієвий блокатор, який у різних клінічних дослідженнях показав здатність зменшувати звуження артерій і захищати мозок від ішемії [55]. Він блокує кальцій-залежну вазоконстрикцію, сприяючи розширенню дрібних церебральних артерій діаметром від 100 до 200 мкм [56]. Німодипін також має

нейропротекторні властивості, підтверджені як на тваринних моделях, так і у клінічних дослідженнях [55, 59]. *Рекомендації щодо застосування німодипіну*: Метааналіз 16 досліджень показав, що пероральне застосування 60 мг німодипіну кожні чотири години є ефективним для пацієнтів із САК [47, 88, 95]. Тому його використання отримало найвищий рівень доказовості (А) у рекомендаціях Американської асоціації інсульту щодо САК [65].

Підтримуюча терапія:

– *Еуволемія та гіпертензія*: підтримка нормального об'єму циркулюючої крові з індукцією гіпертензії вважалася корисною для забезпечення адекватного церебрального перфузійного тиску у пацієнтів з ВЦІ [42]. Проте рандомізоване клінічне дослідження показало, що індукована гіпертензія може мати серйозні побічні ефекти [60].

– *Ангіопластика та вазодилататори*: пацієнтів із симптоматичним церебральним вазоспазмом слід лікувати за допомогою церебральної ангіопластики та/або внутрішньоартеріального введення вазодилататорів [80, 114].

Реабілітація:

Через високий рівень інвалідності у пацієнтів із САК, довготривала реабілітація є важливою для відновлення повсякденної активності та працездатності. Після виписки слід розпочати фізичну, професійну та психологічну терапію.

За останні десятиліття лікування субарахноїдального крововиливу значно покращилося завдяки ранньому усуненню аневризм, вдосконаленню інтенсивної терапії та застосуванню німодипіну. Хоча деякі невеликі нерандомізовані дослідження показали обнадійливі результати щодо використання цилостазолу, гепарину, еритропоетину, ейкозапентаєнової кислоти та метилпреднізолону, нових ефективних терапевтичних заходів поки що немає [88, 186].

Клінічні результати у пацієнтів із САК залишаються незадовільними, що вказує на потребу в подальших дослідженнях та вдосконаленні методів лікування.

Невдача досліджень CONSCIOUS свідчить про те, що зосередження виключно на лікуванні відстроченого вазоспазму може бути неправильним підходом.

Насправді, внутрішній зв'язок між вазоспазмом великих артерій та ішемічним ушкодженням під час відстроченої церебральної ішемії (ВЦІ) певною мірою невизначений. Серед усіх пацієнтів із САК, які вижили, лише близько 20–30% розвивають відстрочену ішемію, що супроводжується відстроченим вазоспазмом, тоді як 21% страждають від відстроченої ішемії без наявності вазоспазму [62].

Навпаки, раннє ураження головного мозку (РУГМ) є провідною причиною смертності після аСАК [63, 64]. Більше того, у тих, хто пережив РУГМ, патологічні механізми, запущені початковим ушкодженням, продовжують впливати на перебіг та результат захворювання [65–67]. Тому протягом останнього десятиліття фокус досліджень аСАК змістився в бік РУГМ.

Проте дослідження щодо РУГМ після аСАК все ще обмежені. Таким чином, необхідні подальші дослідження РУГМ після САК для розуміння патофізіології та виявлення нових терапевтичних цілей [68].

1.2.5 Лікування спазму судин

Швидке прогресування церебрального вазоспазму спричинило значну кількість досліджень, спрямованих на його попередження. Попри можливі протизапальні ефекти статинів, зниження вазоконстрикції за допомогою класосентану (антагоніста рецепторів ендотеліну) та нейропротекцію за допомогою сульфату магнію, німодипін залишається єдиним препаратом, який регулярно призначається і зменшує частоту церебральних інфарктів, позитивно впливаючи на клінічні результати [57, 65]. Це блокатор кальцієвих каналів, який вводять пацієнтам перорально або через назогастральний зонд

у дозі 60 мг кожні 4 години від моменту госпіталізації до 21-го дня після крововиливу.

Медичне лікування пацієнтів з аневризматичним САК спрямоване на забезпечення адекватного кровопостачання мозку та мінімізацію його метаболічних потреб з метою запобігання подальшій ішемії. Це включає підтримання нормальної температури тіла, еуволемії (уникнення гіповолемії), нормального або підвищеного артеріального тиску за умови повного закриття аневризми, запобігання розвитку анемії та гіпонатріємії, а також зниження внутрішньочерепного тиску за допомогою зовнішнього вентрикулярного дренажу [20, 99].

При виникненні або підозрі на симптоматичний вазоспазм необхідно негайно підвищити артеріальний тиск для покращення церебрального кровотоку, оскільки судини втратили здатність саморегуляції діаметра для підтримання адекватного постачання кисню та поживних речовин до мозку [132]. Основними проблемами такої терапії є ризик серцевої недостатності, що може призвести до набряку легень; посилення набряку мозку з підвищенням внутрішньочерепного тиску; повторні крововиливи з аневризми, яка ще не виключена з кровотоку; та геморагічна трансформація в зоні існуючого інфаркту. Одне або більше з цих ускладнень виникає приблизно у 25 % пацієнтів [40].

Цей ризик особливо високий у пацієнтів похилого віку з наявними серцево-легеневими захворюваннями. Якщо досягнуто систолічного артеріального тиску 200 мм рт. ст. або церебрального перфузійного тиску 80 мм рт. ст. без зникнення неврологічних симптомів, лікування вважається неефективним. У таких випадках або у тих, хто не може переносити підвищення гемодинаміки, необхідне ендovasкулярне втручання.

Ендovasкулярна терапія нині включає механічне розширення просвіту судини за допомогою балонної ангіопластики та селективного внутрішньо-артеріального введення препаратів для розслаблення гладкої мускулатури стінки артерії [155].

Поліпшення неврологічного стану після балонної ангіопластики спостерігається у 62–86 % випадків, при цьому частота ускладнень становить 1–5 %, найсерйознішим з яких є розрив судини [43, 44]. Зазвичай використовувані внутрішньоартеріальні вазодилататори включають мілринон, папаверин, нікардипін і верапаміл [40, 44, 45]. Їхній ефект може бути тимчасовим, і у 23% пацієнтів спостерігаються рецидиви вазоспазму, що вимагає повторного лікування шляхом додаткової внутрішньоартеріальної інфузії мілринону або повторної балонної ангіопластики, як повідомляють Fraticelli та ін. [45].

1.3. Запалення і субарахноїдальний крововилив

Гостре запалення є захисною реакцією організму на інфекцію або травму, історично визначеною такими основними ознаками, як почервоніння (rubor), набряк (tumor), біль (dolor), підвищення температури (calor) та втрата функції (functio laesa) [136].

Проте тривале та нерегульоване запалення може мати руйнівні та навіть згубні наслідки після ушкодження центральної нервової системи (ЦНС) [16].

Запалення, що виникає без присутності патогенів (як у випадку аневризматичного субарахноїдального крововиливу, аСАК), зазвичай називають стерильним запаленням, але воно залучає схожі каскади механізмів, які активуються проти патогенів [41]. Це пов'язано з рецепторами розпізнавання патернів (PRR), які реагують на еволюційно збережені небезпечні молекулярні мотиви [75].

Ці патерни можуть бути або екзогенними – «патоген-асоційованими молекулярними патернами» (PAMP), отриманими від патогенів, або ендогенними – «пошкодження-асоційованими молекулярними патернами»

(DAMP), що походять від пошкоджених, стресованих або некротичних клітин [77].

Одразу після гострої травми мозку місцева та системна запальна відповідь запускає запальні сигнальні каскади, що супроводжується активацією та інфільтрацією імунних клітин у зоні ушкодження [63, 75].

Значна кількість доказів підкреслює критичну роль запалення при аСАК [95, 104, 106]. Більш того, дані свідчать, що раннє запалення після аСАК призводить до несприятливих результатів [125]. Вивільнення DAMP може бути ключовим фактором у ініціації та підтримці запального процесу.

В останні роки з'являється все більше доказів того, що запальна відповідь нервової системи є повсюдною при церебральному ангіоспазмі [166]. Дослідження показали, що сигнальний шлях, опосередкований Toll-подібним рецептором 4 (TLR4), відіграє значну роль у запальному процесі нервової системи після аСАК [56–169].

Крім того, експерименти на тваринах виявили, що інгібування сигнального шляху TLR4 може зменшити запальну реакцію після САК, полегшуючи таким чином церебральний ангіоспазм і покращуючи прогноз [7, 40, 185]. Багато досліджень свідчать про те, що підвищена активація TLR4 у мозку після аСАК асоціюється з несприятливим прогнозом [56, 71, 97].

Таким чином, інгібування сигнального шляху TLR4 може бути перспективною терапевтичною мішенню для лікування церебрального ангіоспазму після аСАК [81]. Однак потенційний специфічний механізм нейрозапалення, опосередкованого TLR4, при САК залишається недостатньо зрозумілим.

1.3.1 Загальна інформація Toll-подібні рецептори

Toll-подібні рецептори (TLR) – це трансмембранні білки типу I, які виконують функцію рецепторів розпізнавання у вродженій імунній системі.

Вперше вони були виявлені під час досліджень ембріонального розвитку дрозофіли. TLR можуть активуватися лігандами як ендогенних молекулярних структур, пов'язаних з пошкодженням (DAMP), так і екзогенних молекулярних патернів, асоційованих з патогенами (PAMP), що ініціює відповідні сигнальні шляхи та відіграє ключову роль в імунній та запальній відповіді [25, 59].

На сьогодні у людини ідентифіковано 10 типів TLR. З них TLR1, TLR2, TLR4, TLR6 та TLR10 розташовані на клітинній поверхні, тоді як TLR3, TLR7, TLR8 і TLR9 експресуються внутрішньоклітинно [82].

TLR4 є важливим рецептором вродженого імунітету і є найбільш дослідженим представником сімейства TLR [82]. Структурно TLR4 складається з трьох доменів: позаклітинного, трансмембранного та внутрішньоклітинного [119]. Його N-кінцевий позаклітинний домен (ектодомен) містить приблизно 20–30 повторів, багатих на лейцин (LRR), які мають підковоподібну структуру та відповідають за розпізнавання PAMP і DAMP [25].

Трансмембранна область складається з домену, багатого на цистеїн. С-кінцевий внутрішньоклітинний домен містить висококонсервативну послідовність, подібну до домену рецептора інтерлейкіну-1 (IL-1), відому як Toll/IL-1 рецепторний домен (TIR), і бере участь у ініціації внутрішньоклітинних сигнальних шляхів [174].

1.3.2 Шлях передачі сигналу, опосередкований TLR4

У пацієнтів із субарахноїдальним крововиливом (САК) рецептор TLR4 зазвичай активується ендогенними DAMP, які вивільняються з крові (табл. 1.1).

Таблиця 1.1 – Список важливих представників DAMPs та їх рецепторів
(Воуараті та ін., 2016)

№ з/п	DAMPs (молекули, асоційовані з пошкодженням)	Рецептори
1	HMGB1 (білок групи високої рухливості 1)	TLR-2, TLR-4, TLR-9, RAGE
2	IL-1 α (інтерлейкін -1 альфа)	IL-1R
3	IL-33 (інтерлейкін-33)	ST2(IL-1RL1)
4	Гем, гемін, оксигемоглобін, метгемоглобін	TLR-4
5	mtDNA (мітохондріальна ДНК)	TLR-9, NLRP3, NLRC4, AIM-2, cGAS-STING
6	TFAM (мітохондріальний транскрипційний фактор А)	RAGE, TLR-9
7	N-форміл пептили	FPR1, FPRL1
8	Білки S-100	TLR-4, RAGE
9	Фібриноген	TLR-4
10	Фібронектин	
11	Гіалуронан	TLR-2, TLR-4
12	Біглікан	TLR-2, TLR-4, P2X4, P2X7, NLRP3
13	Версікан	TLR-2, TLR-6, CD14
14	Гепарансульфат	TLR-4
15	Тенасцин С	TLR-4
16	Гелектин-3	TLR-2, TLR-4

Після настання САК значна кількість крові потрапляє в субарахноїдальний простір. Утворені гем, оксигенований гемоглобін, метгемоглобін, пероксидаза-2, білок групи високої рухливості В1 (HMGB1), матрицелюлярні білки, білки теплового шоку, фібриноген та інші зв'язуються з рецепторами TLR4 як DAMP [4].

Усі ці речовини є внутрішньоклітинними компонентами пошкоджених клітин або продуктами розпаду, що виникають після САК [25].

Під час передачі сигналу через TLR4 спочатку DAMP, отримані з крові, взаємодіють з ектодоменом підковоподібної позаклітинної частини TLR4 за допомогою партнерів позаклітинного зв'язування – мієлоїдного фактора диференціювання-2 (MD-2) та кластера диференціювання 14 (CD14), ініціюючи сигналізацію [89].

Далі, через внутрішньоклітинний домен TIR, TLR4 зв'язується зі специфічними адаптерними білками зі структурою TIR шляхом взаємодії типу TIR-TIR, передаючи позаклітинні сигнали до внутрішньоклітинних сигнальних шляхів [58, 102].

Унікальність TLR4 полягає в тому, що він може індукувати запальну відповідь як через сигнальний шлях, залежний від мієлоїдного фактора диференціювання 88 (MyD88), так і через TRIF-залежний сигнальний шлях [73, 167].

Крім того, деякі дослідження показали, що експериментальний аневризматичний САК викликає двофазні зміни в експресії TLR4 та NF-κB під час раннього ураження мозку, які включають початкову пікову фазу (2–6 годин) та безперервну фазу підвищення (12–48 годин) [21, 183]. Також було виявлено, що MyD88-залежний шлях ініціює "ранню" активацію NF-κB, тоді як TLR4-сигналізація через TRIF бере участь у "пізній" активації NF-κB [167, 172]. Координація цих "ранніх" і "пізніх" сигналів є унікальною особливістю TLR4.

1.3.3 Роль Toll-подібного рецептора 4 (TLR4) у патогенезі внутрішньомозкового крововиливу

Дослідження на мишах з дефіцитом TLR4 у порівнянні з контрольною групою мишей продемонструвало, що відсутність сигналізації через TLR4 призводить до значного покращення неврологічної функції. Крім того, у таких тварин спостерігалось зменшення кількості нейтрофілів, моноцитів та мікрогліальних клітин у перифокальній зоні навколо внутрішньомозкової гематоми [92, 123]. За допомогою експериментів із трансфузією крові було встановлено, що основний внесок у розвиток неврологічного дефіциту здійснюють лейкоцити, які знаходяться в безпосередньому контакті з еритроцитами у зоні крововиливу [121, 189].

Додатково, дослідження показали, що фармакологічне інгібування TLR4 за допомогою TAK242 значно знижує об'єм мозкового набряку, концентрацію прозапальних цитокінів та ступінь пошкодження нейронів, що супроводжується покращенням неврологічного статусу [167].

Ще одне дослідження встановило, що присутність рецептора «прибиральника» типу А (SRA) зменшує активацію TLR4, тоді як його відсутність супроводжується більш вираженою запальною відповіддю [170]. Ці дані вказують на існування ендогенних механізмів регуляції TLR4, які виконують важливу захисну функцію. Зокрема, вони підтверджують гіпотезу про те, що геморагічний інсульт сприяє поляризації макрофагів у прозапальний фенотип.

Важливо, що SRA та інші рецептори-«прибиральники» розглядаються як маркери альтернативної активації макрофагів, які асоціюються з протизапальним фенотипом і можуть відігравати ключову роль у стримуванні надмірної запальної реакції [172].

Ці результати підкреслюють критичну роль TLR4 у патофізіології внутрішньомозкового крововиливу та його потенціал як терапевтичної мішені для мінімізації вторинного ушкодження мозку [188].

1.3.4 Сигналізація через Toll-подібний рецептор 4 (TLR4) та субарахноїдальний крововилив (САК)

Вивчення ролі TLR4 у САК переважно проводилося за допомогою непрямих спостережень, зокрема в дослідженнях за участю людей або експериментів на тваринах, у яких терапію вводили, а потім вимірювали рівні мРНК і білків, пов'язаних із сигналізацією TLR4, у спинномозковій рідині (СМР) і крові. На основі цього робили висновок, що препарат проявляє свої корисні властивості виключно через вплив на шлях TLR4. Однак така інтерпретація є проблематичною, оскільки сигнальний шлях TLR4 перетинається з багатьма іншими шляхами, і більшість фармакологічних агентів мають множинні дії. Таким чином, у таких дослідженнях неможливо визначити, чи зміни мРНК або білків, пов'язаних із сигналізацією TLR4, є основним механізмом дії або просто результатом транскрипційної/трансляційної відповіді на пошкодження чи терапевтичне втручання [182,183].

Наприклад, припускалося, що терапія за допомогою регуляторних Т-клітин (Tregs) покращує результати після експериментального САК шляхом модифікації реакції мікроглії (про що свідчить мікрогліальна забарвленість і результати Western blot для білків, пов'язаних із TLR4) [18, 60]. Однак існують сумніви щодо того, чи Tregs можуть проникати через гематоген-цефалічний бар'єр (ГЕБ) у значущій кількості навіть за умов його потенційного порушення, що ставить під сумнів запропонований механізм. Те саме стосується досліджень, у яких використовувалася імуноглобулінова терапія.

Крім того, деякі дослідження використовували моделі, що застосовують окремі «потенційні ліганди» або загальні нейрозапальні явища (наприклад, ін'єкція LPS у субарахноїдальний простір) як замітник експериментального САК. Наприклад, одне з досліджень використовувало лише метгемоглобін (metHb) як індуктор нейрозапалення [87]. Автори

зробили висновок, що метгемоглобін може бути лігандом TLR4, який ініціює нейрозапалення після САК, і що сигналізація метгемоглобін-TLR4 асоціюється зі збільшенням активації мікроглії (підвищене забарвлення Iba-1), що можна блокувати за допомогою TAK242. Однак ця інтерпретація є проблематичною, оскільки після САК утворюється багато різних лігандів, які можуть взаємодіяти з TLR4.

Аналогічно, Ханафі виконав низку експериментів *in vitro*, використовуючи гемін як передбачуваний ліганд [138]. Було показано, що гемін здатний стимулювати продукцію цитокінів через TLR4, хоча його зв'язок із САК можна лише припускати. САК індукує продукцію кількох різних лігандів TLR4, які, ймовірно, утворюються у різний час і мають різні сигнальні функції. Ханафі також використовував здорові зрізи аорти для тестування вазоспазму *in vitro*, що є проблематичним, оскільки велика судина, як-от аорта, навряд чи реагуватиме так само, як інтактна мозкова судина (особливо дрібні резистивні церебральні артерії), тим більше пошкоджена [54-55].

Додатково, експерименти Ханафі, спрямовані на мікроглію як ключових регуляторів несприятливих наслідків, не змогли виключити роль інших мієлоїдних клітин (наприклад, менінгеальних і периваскулярних макрофагів). Ба більше, у цих експериментах не використовувався САК, а для моделювання нейрозапалення застосовувалася ін'єкція LPS [56]. Нарешті, у дослідженнях не проводився аналіз кори головного мозку, що є важливим, оскільки кортикальна поверхня, мозолисте тіло та шлуночкова система – це єдині частини мозку, які безпосередньо контактують з еритроцитами під час САК.

1.3.5 Запальні цитокіни

1.3.5.1. Роль IL-1 β

IL-1 β є ключовим цитокіном, що відіграє важливу роль у регуляції локального та системного запалення, що робить його об'єктом активного

вивчення у контексті захворювань центральної нервової системи (ЦНС) [64]. IL-1, який вважається потужним ендogenous пірогеном, включає дві форми: IL-1 α та IL-1 β , що є продуктами різних генів. IL-1 α активний у своїй проформі, тоді як про-IL-1 β є неактивним і потребує активації каспазою-1 до зрілої форми молекули масою 17 кДа.

IL-1 β передає сигнал через рецептор IL-1 типу I (IL-1R1) та допоміжний білок IL-1RAcP, тоді як рецептор IL-1 типу II (IL-1R2) діє як рецептор-приманка, позбавлений сигнального домену [9]. Усі три рецептори можуть існувати у мембранній та розчинній формах. Крім того, третій ліганд IL-1, відомий як антагоніст рецептора IL-1 (IL-1RA), конкурентно інгібує дію IL-1, взаємодіючи з IL-1R [64].

IL-1 β в ішемічному інсульті та САК

Доклінічні та клінічні дослідження продемонстрували підвищення рівня IL-1 β під час ішемічного інсульту. У контексті САК активацію IL-1 β було виявлено в корі головного мозку, базилярних артеріях та периферичному кровообігу [43]. Рівні IL-1 β значно підвищуються як у ЦНС, так і системно у пацієнтів із аневризматичним САК (аСАК) [44].

Значне підвищення концентрації IL-1 β у спинномозковій рідині спостерігалось у пацієнтів із аСАК із високим ступенем за шкалою Н&Н, тоді як менш виражені підвищення були асоційовані з відстроченим ішемічним неврологічним дефіцитом (DIND) [145]. In vitro експерименти демонструють токсичну дію IL-1 β на церебральні ендотеліальні клітини, а доклінічні дослідження показують, що IL-1 β сприяє вазоспазму. Крім того, стимуляція LPS моноцитів у пацієнтів із аСАК показала підвищення активації IL-1 β у тих випадках, де пізніше розвинувся вазоспазм [89].

Антагоністи IL-1 та терапевтичні підходи

Цікаво, що рівні IL-1RA (антагоніста рецептора IL-1) у сироватці значно підвищуються після аСАК [44]. Підвищення рівня IL-1RA у спинномозковій рідині було асоційоване з DCI та несприятливими

клінічними наслідками [Mathiesen та ін., 1997]. Введення sIL-1RA у доклінічній моделі САК продемонструвало нейропротекторний ефект [45].

1.3.5.2 TNF- α

TNF- α (фактор некрозу пухлин альфа), також відомий як кахектин, є цитокіном, що бере участь у системних запальних процесах. Він був спочатку ідентифікований як фактор, здатний викликати геморагічний некроз пухлин, а також як медіатор макрофагального походження, що асоціюється з виснаженням і шоком, спричиненими захворюваннями [124]. TNF- α синтезується як трансмембранний білок масою 26 кДа, який потім розщеплюється металопротеазою ADAM17 (ферментом, що перетворює TNF- α , TACE), вивільняючи розчинний тример TNF- α (17 кДа). Розчинний TNF- α зв'язується з рецептором TNFR1 (також відомим як p55/p60), який містить домен смерті, або TNFR2 (p75/p80), ініціюючи складну сигнальну каскадну передачу, зокрема через активацію NF- κ B, що регулює експресію цитокінів та хемокінів [140].

TNF- α є одним із провідних цитокінів гострої фази, що секретується різними клітинами під час запальної відповіді [175]. У ЦНС його виділяють мікроглія та астроцити, що було продемонстровано в доклінічних моделях САК [3]. Цей цитокін виконує як гомеостатичну, так і патофізіологічну роль, беручи участь у нейрозапальних процесах і сприяючи клітинному пошкодженню [3].

TNF- α відіграє ключову роль у формуванні внутрішньочерепних аневризм та їх розриві, що призводить до САК [134]. Він також сприяє руйнуванню гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) і підтримці запального процесу після САК [149]. Підвищений рівень TNF- α після САК був виявлений як у спинномозковій, так і в інтерстиціальній рідинах, причому його концентрація корелює з тяжкістю САК за шкалою Н&Н та ангиографічним вазоспазмом [175].

TNF- α асоціюється з церебральним вазоспазмом (CVS), що підтверджено як клінічними, так і доклінічними даними. Було показано, що

його підвищені рівні у спинномозковій рідині пов'язані з розвитком CVS та несприятливими клінічними результатами [22]. In vitro дослідження показали, що TNF- α може опосередковувати вазоконстрикторні ефекти гемолізованої крові та спричиняти апоптоз церебральних ендотеліальних клітин шляхом активації каспази-3 [54].

Блокування TNF- α у доклінічних моделях САК показало значний захисний ефект. Зокрема, попередня обробка TNF- α -блокуючим антитілом у щурів захищала нейрони гіпокампу від апоптозу. Крім того, застосування комбінованої терапії (гіпотермія та барбітурати) демонструвало підвищений рівень TNF- α , що вказує на складний характер запальної відповіді під час лікування САК [74].

Підвищені системні рівні TNF- α у ранні терміни після САК також асоціюються з несприятливими функціональними результатами, підкреслюючи його роль у патофізіології захворювання [22]. Усі ці дані свідчать про те, що TNF- α є перспективною терапевтичною мішенню для зменшення нейрозапалення та покращення результатів лікування пацієнтів із САК.

1.3.5.3. IL-6

IL-6 – це плейотропний цитокін із гормоноподібною активністю, який відіграє важливу роль у судинних та метаболічних захворюваннях [83]. Він передає сигнали через IL-6R (CD126, α -субодиницю рецептора цитокінів 1-го типу) та gp130 (CD130, β -субодиницю рецептора), активуючи сигнальні шляхи, такі як GTPase Ras-Raf, MAPK та JAK-STAT [84]. Було ідентифіковано три режими сигналізації IL-6:

1. *Класичний режим*, що включає мембранозв'язаний IL-6R і gp130.
2. *Транс-сигналізація*, залежна від розчинного IL-6R (sIL-6R), завдяки чому відповідь на комплекс IL-6-sIL-6R можуть отримувати лише клітини, що експресують gp130.
3. *Кластерна сигналізація*, коли дендритні клітини з комплексом IL-6-IL-6R у мембранах залучають gp130 клітин-мішеней.

IL-6 може мати як прозапальну, так і протизапальну дію залежно від контексту захворювання [117].

При гострих патологічних станах, таких як аневризматичний субарахноїдальний крововилив, IL-6 стимулює нейрозапальну відповідь, яка сприяє прогресуванню захворювання [105]. TNF- α та IL-1 β , підвищуючись на ранніх етапах запального каскаду, індують продукцію IL-6 після аСАК [118]. Рівні IL-6 у спинномозковій рідині (СМР) корелюють із тяжкістю аСАК [133] і асоціюються з розвитком церебрального вазоспазму (CVS) та несприятливими клінічними результатами [139]. Збільшена експресія мРНК IL-6 була виявлена у вазоспастичних базилярних артеріях шурів на 7-й день [10].

Пацієнти з відтермінованим ішемічним неврологічним дефіцитом (DIND) після аСАК демонструють значно вищі рівні IL-6 як у СМР, так і в сироватці крові [116]. Показано, що рівні IL-6 можуть передбачати інфекційні ускладнення та потребу у шунтуванні через хронічну гідроцефалію. Підвищення IL-6 також асоціюється з інфарктами мозку після аСАК [79].

Сироваткові рівні IL-6 після аСАК пов'язані з розвитком DCI (відтермінованої церебральної ішемії), що є основним фактором несприятливих клінічних результатів [83]. Ранні підвищення сироваткового IL-6 асоціюються з несприятливими клінічними наслідками [94].

IL-6 широко досліджується як біомаркер у пацієнтів із аСАК. Розробка технологій для тестування рівнів IL-6 у ліжка пацієнта підкреслює його важливість у моніторингу запалення [109]. Крім того, IL-6 використовується як сурогатний показник ефективності різних терапевтичних втручань при аСАК [144].

Наведені вище дані свідчать, що IL-6 є ключовим цитокіном із важливим прогностичним потенціалом у визначенні ускладнень і клінічних результатів при аСАК. Його дослідження має значення для розробки нових підходів до лікування запалення, асоційованого з аСАК [180].

1.3.5.4. IL-17

IL-17, також відомий як IL-17A, є ключовим цитокином, що продукується клітинами Th17. Ці клітини експресують транскрипційний фактор ROR γ t (ретиноево-кислотний орфанний рецептор- γ t) і потребують IL-23 для диференціювання в запальний фенотип. Окрім Th17-клітин, IL-17 також синтезується клітинами вродженого імунітету, такими як $\gamma\delta$ T-клітини, NK T-клітини та вроджені лімфоїдні клітини [52].

IL-17 передає сигнали через гетеродимерний рецепторний комплекс IL-17RA та IL-17RC, активуючи прозапальні сигнальні шляхи, включаючи NF κ B, MAPK і C/EBP [52]. Цей цитокин відіграє важливу роль у підтримці запалення, стимулюючи секрецію TNF- α , IL-1 β , IL-6, а також хемокінів, що забезпечують рекрутування нейтрофілів і макрофагів до місця запалення [Mills, 2008].

IL-17 є ключовим фактором у розвитку багатьох аутоімунних і запальних захворювань, таких як псоріаз, запальні захворювання кишечника, розсіяний склероз, ревматоїдний артрит і астма [29,42]. Зокрема, було продемонстровано, що $\gamma\delta$ T-клітини, які продукують IL-17, опосередковують ішемічно-реперфузійне пошкодження [Shichita et al., 2009]. Крім того, IL-17-позитивні лімфоцити були виявлені в тканинах під час аутопсій після інсульту, і нейтралізація IL-17 за допомогою антитіл у доклінічних моделях ішемічного інсульту зменшувала об'єм інфаркту та покращувала функціональні результати [91].

Незважаючи на відомі ефекти IL-17 в інших неврологічних патологіях, його роль у патофізіології аневризматичного субарахноїдального крововиливу (аСАК) залишається недостатньо вивченою як у клінічних, так і доклінічних дослідженнях. Незодавно проведений мережевий аналіз цитокинів у периферичній крові пацієнтів після аСАК продемонстрував присутність IL-17A, який корелює з рівнями IFN- γ за різних умов, пов'язаних із аСАК [19]. Ці дані свідчать про те, що IL-17 може відігравати роль у запальному каскаді після аСАК, однак його точний внесок і механізми дії потребують подальшого дослідження.

1.3.5.5. IL-10

IL-10 є важливим протизапальним цитокином, який синтезується у відповідь на прозапальні цитокини для регуляції запальної реакції та обмеження пошкодження тканин [131]. Його продукують різні типи імунних клітин, включаючи Th-клітини, Tregs, CD8⁺ T-клітини, B-клітини, дендритні клітини (DC), макрофаги, нейтрофіли, еозинофіли та NK-клітини [131]. IL-10 виконує ключову функцію у стримуванні прозапальної відповіді шляхом пригнічення активності цитокінів Th1 та обмеження секреції прозапальних цитокінів макрофагами.

IL-10 пригнічує продукцію таких прозапальних цитокінів, як IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12 та IL-18, а також хемокінів, включаючи MCP-1, MIP-1 α , RANTES, CXCL8 та інші. Крім того, IL-10 сприяє диференціації імуносупресивних Tregs, що секретують IL-10 [143]. Сигналізація IL-10 опосередковується зв'язуванням із рецептором IL-10 (IL-10R) через STAT3-залежний шлях.

IL-10 відіграє протизапальну роль при різних захворюваннях центральної нервової системи (ЦНС), знижуючи синтез прозапальних цитокінів, пригнічуючи активацію рецепторів цитокінів і сприяючи виживанню нейронів і гліальних клітин [47]. Доклінічні моделі САК показали незначне підвищення експресії IL-10 у базилярних артеріях, що асоціюється з прозапальними цитокинами [134]. Зниження експресії IL-10 було виявлено у випадках розриву внутрішньочерепних аневризм із одночасним збільшенням TNF- α . Деякі SNP у гені IL-10 асоціювалися з утворенням аневризм [47].

Клінічні дослідження показали, що рівні IL-10 можуть бути детектовані в позаклітинній рідині за допомогою мікродіалізу або в спинномозковій рідині (СМР) [184]. Системні рівні IL-10, як правило, корелюють із рівнями в ЦНС [31]. Однак різниця в рівнях IL-10 між нормотермією та традиційним температурним контролем у пацієнтів із САК не виявилася суттєвою.

Було показано, що після первинного підвищення рівень ІЛ-10 у сироватці крові знижується у пацієнтів із САК [32]. Системні рівні ІЛ-10 були значно вищими у пацієнтів із тяжким перебігом захворювання ($H\&H \geq 4$) та високим ступенем за шкалою Фішера, а також у випадках, коли виникала пневмонія [105]. Дослідження показали, що рівні ІЛ-10, виміряні протягом перших 48 годин після аСАК, були підвищені у пацієнтів із загальним набряком мозку та великими об'ємами крововиливу. Також значно підвищені рівні ІЛ-10 у сироватці корелювали з поганими клінічними результатами при виписці [86].

ІЛ-10 має значний прогностичний потенціал у контексті САК. Його підвищені рівні асоціюються із запальними ускладненнями, включаючи DCI, загальний набряк мозку, розвиток хронічної гідроцефалії та несприятливі клінічні результати [118]. Хоча клінічні та доклінічні дані свідчать про важливість ІЛ-10 як протизапального медіатора, необхідно більше досліджень для визначення його терапевтичного потенціалу та значення у прогнозуванні клінічних результатів у пацієнтів із аСАК [26].

1.3.6 Ериптоз і його значення при субарахноїдальному крововиливі (САК)

1.3.6.1 Роль ериптозу в патологічних процесах

Очищення еритроцитів із спинномозкової рідини (СМР) відіграє ключову роль у патологічних механізмах, пов'язаних із відтермінованими церебральними ішемічними ураженнями (ВЦІ) [11, 70, 110]. Одним із основних механізмів загибелі еритроцитів є *ериптоз* – запрограмована, каспаза-незалежна смерть еритроцитів [126]. Фізіологічно ериптоз спрямований на видалення дефектних еритроцитів до настання гемолізу, що запобігає руйнуванню клітинних мембран і вивільненню гемоглобінових похідних, які активують прозапальні цитокінові реакції [163]. Ериптоз супроводжується зовнішньою експозицією фосфатидилсерину, який

сигналізує макрофагам про необхідність очищення еритроцитів із збереженням їх мембранної цілісності.

Проте надмірний ериптоз може бути залучений до інших патологічних станів, що ще не повністю вивчені. Є припущення, що оцінка ступеня ериптозу у СМР може стати перспективним діагностичним і прогностичним маркером для пацієнтів із САК.

1.3.6.2 Окислювальний стрес і енергетичне виснаження

Окислювальний стрес є потужним тригером ериптозу й відіграє важливу роль у патогенезі гемолізу [162]. Гемоліз еритроцитів після крововиливу не є синхронним: центральна частина гематоми особливо вразлива до гемолізу через ішемію та виснаження енергетичних ресурсів [45]. Це призводить до раннього утворення гему та заліза, які можуть спричиняти окислювальний стрес у навколишніх негемолітичних еритроцитах [42].

Порушення мітохондріального дихання, яке виникає під час глобальної ішемії при ранньому пошкодженні мозку чи вазоспазмі при відтермінованих ураженнях, спричиняє утворення надмірної кількості вільних радикалів [162]. Недостатність антиоксидантних систем, таких як супероксиддисмутаза (SOD) і глутатіонпероксидаза (GSH-Px), додатково підсилює окислювальний стрес [181].

1.3.6.3 Ериптоз і геморагічний інсульт

Крім очищення еритроцитів із субарахноїдальних згустків, ериптоз може впливати на тривалість життя циркулюючих еритроцитів у пацієнтів із геморагічним інсультом. Він часто пов'язаний із анемією, що є ускладненням при серцевій недостатності, хронічній хворобі нирок та сепсисі [11]. Анемія при САК, рівень якої сягає 25,8%, асоціюється з підвищеною смертністю від інсульту [13]. У пацієнтів із ішемічним інсультом виявлено збільшення кількості еритроцитів із зовнішньо експонованим фосфатидилсерином, що свідчить про їхню участь в ериптозі [163].

1.3.6.4 Клітинні механізми та необхідність подальших досліджень

Ериптоз характеризується зовнішньою експозицією фосфатидилсерину, зморщуванням клітин і утворенням везикул на мембранах [126]. Цей механізм нагадує апоптоз, який служить для видалення дефектних чи потенційно шкідливих клітин. Проте знання про ериптоз є обмеженими, і подальші дослідження потрібні для уточнення його ролі в патології.

Необхідно визначити кількість еритроцитів у гематомах чи субарахноїдальних згустках, які зазнали ериптозу, і оцінити їх внесок у очищення тканин від «аномальних» клітин. Крім того, дослідження взаємодії еритроцитів із запальними клітинами, такими як макрофаги та мікроглія, може відкрити нові терапевтичні перспективи для сприяння нейровідновленню після геморагічного інсульту.

1.4 Висновки до розділу 1

Діагностика ускладнень аСАК, таких як церебральний ангіоспазм (ЦВ) та відтермінована церебральна ішемія (ВЦІ), які виникають після спонтанного аневризматичного субарахноїдального крововиливу (САК), є одним із ключових викликів сучасної неврології та нейрохірургії. аСАК є тяжким станом, що супроводжується високим ризиком інвалідизації та смертності через розвиток цих небезпечних ускладнень. ЦВ і ВЦІ суттєво погіршують перебіг захворювання, негативно впливаючи на прогноз і якість життя пацієнтів.

Сучасна медицина потребує вдосконалення методів раннього виявлення та моніторингу цих станів. Традиційні діагностичні інструменти, як-от комп'ютерна томографія та магнітно-резонансна ангіографія, мають певні обмеження, тому особливого значення набуває вивчення молекулярних механізмів, які лежать в основі ускладнень. Одним із перспективних напрямів є дослідження TLR4-залежного шляху запалення, який відіграє важливу роль у патогенезі ЦВ та ВЦІ. Активація Toll-подібного рецептора-4 (TLR4) після САК

сприяє посиленню нейрозапалення через підвищення рівня прозапальних цитокінів, таких як TNF- α , IL-6 і IL-1 β , що може слугувати потенційною мішенню для терапії.

Ще одним перспективним напрямом є вивчення ериптозу – програмованої загибелі еритроцитів, яка супроводжується активацією оксидативного стресу та зміною фізико-хімічних властивостей мембран. Ериптоз може сприяти зниженню рівня гемолізу, але водночас активація цього процесу асоціюється з посиленням нейрозапалення. Аналіз ериптозу як потенційного прогностичного маркера дозволяє ідентифікувати пацієнтів із високим ризиком розвитку ускладнень.

Інтеграція нових біомаркерів запалення та ериптозу в діагностичний алгоритм, поряд із традиційними методами, відкриває перспективи для підвищення точності діагностики, своєчасного виявлення ризиків та оптимізації лікування пацієнтів із САК. Подальші дослідження у цьому напрямі є важливими для вдосконалення клінічної практики та покращення прогнозу для пацієнтів.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Дизайн дослідження

Для виконання дослідження було створено дизайн дослідження, який включав критерії включення та виключення, алгоритм аналізу отриманої інформації. На рис. 2.1 представлено дизайн дослідження.

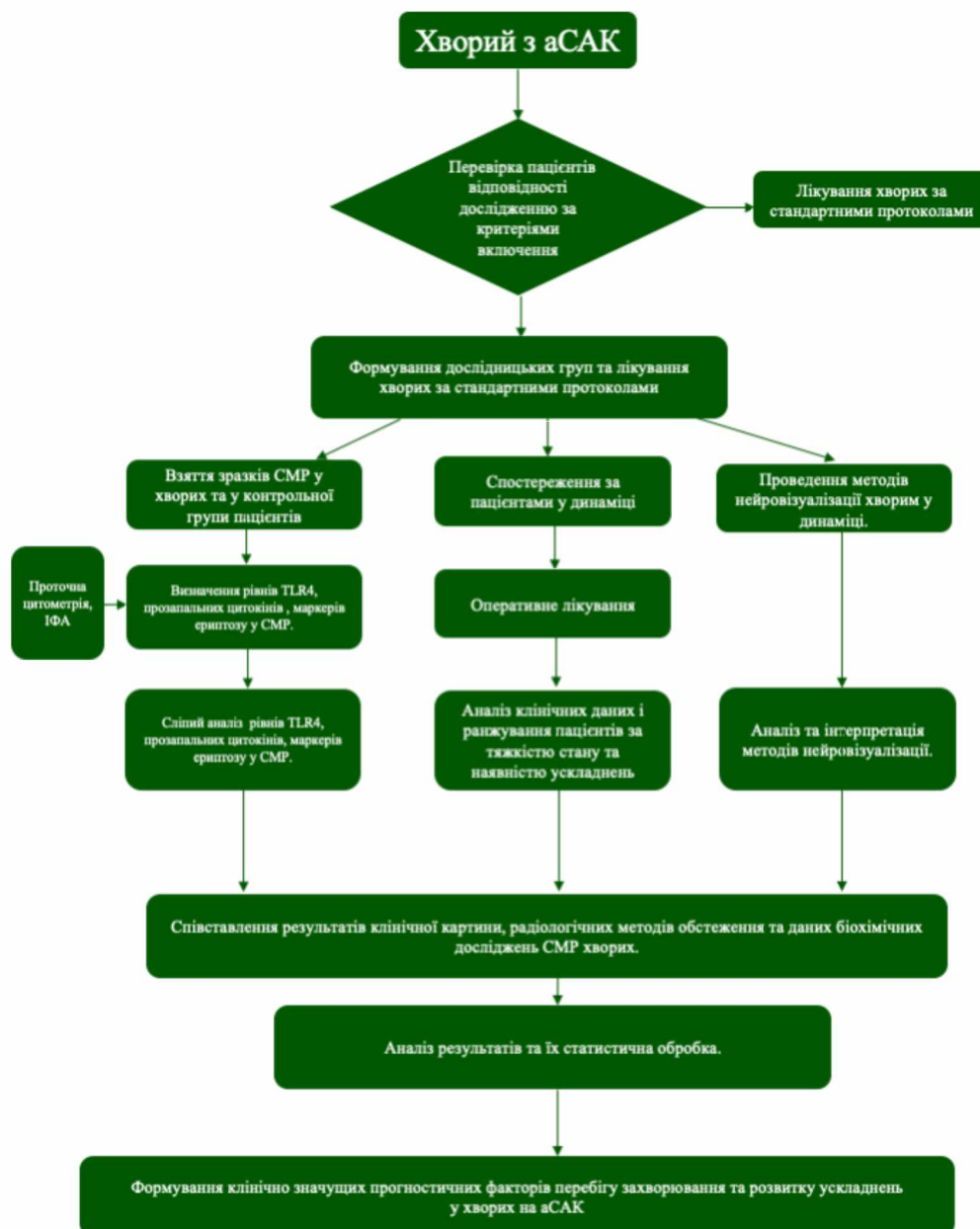


Рисунок 2.1 – Дизайн дослідження

Згідно з метою та завданнями дослідження проведено в 5 етапів:

– *на першому етапі* (обробка та аналіз сучасних вітчизняних та світових літературних джерел щодо основних питань дисертаційної роботи) – виконувалося ретельне вивчення та аналіз сучасної світової та вітчизняної наукової літератури щодо існуючих результатів наукових досліджень з пошуку глобальних проблемних питань та перспектив у напрямку оптимізації діагностики та прогнозування ускладнень субарахноїдального крововиливу, що визначалися вивченням факторів ризику розвитку церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії, аналізом сучасних вітчизняних та світових рівнів їх поширеності, питанням оцінки показників нейрозапалення у спинномозковій рідині в їх взаємозв'язків із клініко-інструментальними параметрами у таких пацієнтів, визначенням прогностичних можливостей ериптозу для формування церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії.

Аналіз сучасних літературних джерел з визначених питань проводився за допомогою поглибленого вивчення та аналізу 189 наукових джерел (189 – англомовне).

Пошук наукових джерел з тематики дослідження виконувався з використанням загальноновизнаних інтернет-ресурсів, мережі PubMed, Medscape тощо та веб-ресурсів міжнародних медичних організацій за наступними ключовими словами: Субарахноїдальний крововилив, церебральний ангіоспазм, відтермінована церебральна ішемія, ериптоз, TLR4 рецептори, цитокіни.

– *на другому етапі* (розробка основних положень дизайну дисертаційної роботи) – розробка програми та методологічного апарату дисертаційної роботи, в результаті якої остаточно було визначено основний її напрям із актуалізацією основної мети та завдань, предмету і об'єкту дослідження з його обсягами, програмою, методичним апаратом, науковою базою та ін.;

– *на третьому етапі* (формування груп респондентів) – серед хворих, що лікувалися на базі нейрохірургічного відділення №2 КНП ХОР «Обласна

клінічна лікарня» в 2021–2023 рр. було сформовано дві (основна та контрольна) групи досліджених загальним обсягом 60 осіб.

Основну групу ($n = 45$) склали хворих із субарахноїдальним крововиливом і контрольну ($n = 15$) – особи, які лікувались з приводу безррозривних церебральних аневризм, рандомізовані за віком та статтю;

– на четвертому етапі (аналіз медико-анамнестичних, інструментальних та лабораторних проявів субарахноїдального кровоиливу) – проведено визначення основних медико-анамнестичних характеристик, лабораторних показників (клінічний аналіз крові (визначення рівнів гемоглобіну та еритроцитів, КП, гематокрит, рівні лейкоцитів і тромбоцитів, ШОЕ), біохімічне дослідження крові (визначення показників вуглеводного обміну (глюкоза венозної крові натще) та ліпідного профілю (ЗХ, ТГ, тощо), встановлення рівнів АСТ, АЛТ, ГГТ, ЛФ, альбумінів, загального білку, електролітів, креатиніну, сечовини, тощо), ІФА (визначення рівня ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-17, TNF-а), проточної цитометрії (визначення рівнів флюоресценції TLR4 рецепторів на CD14+ мононуклеарах, показників формування АФК, показників ериптозу) та інструментальних показників (спіральна коп'ютерна томографія, ангиографія, транскраніальна доплерографія).

– на п'ятому етапі (визначення прогностичних можливостей для церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії) – було реалізовано розробку прогностичних моделей формування ускладнень церебрального ангіоспазму із дослідженням їх клінічної ефективності на основіотриманих медико-анамнестичних, лабораторних та інструментальних характеристик таких хворих.

2.1.1 Критерії включення /виключення

Критерії включення в першу (основна) групу:

1. Повноліття на момент проведення дослідження (досягнення 18-річчя).

2. Наявність підтвердженого субарахноїдального крововиливу.
3. Наявність церебральної аневризми.
4. Госпіталізація до стаціонару у перші 24–28 годин після початку захворювання
5. Згода на участь у дослідженні, власноручний підпис в інформованій згоді й дотримання всіх приписів.

Критерії виключення з першої (основної) групи:

1. Неповноліття на момент дослідження (не досягнення 18-річчя).
2. Відсутність субарахноїдального крововиливу
3. Відсутність верифікованої церебральної аневризми
4. Алергічні реакції.
5. Системні захворювання сполучної тканини.
6. Гострі та хронічні запальні захворювання внутрішніх органів.
7. Важка декомпенсована соматична патологія.
8. Психіатричні та онкологічні захворювання.
9. Гострий серцево-судинний розлад.
10. Тиреотоксичний криз.
11. Вагітність та грудне вигодування.
12. Хронічний алкоголізм.
13. Нездатність до продуктивної праці в силу різних причин.
14. Незгода на участь у дослідженні, відмова від власноручного підпису інформованій згоді й незгода на дотримання всіх приписів.

2.1.2 Загальна характеристика спостережень

Робота ґрунтується на проведенні проспективного аналізу лікування 45 хворих з аневризматичним субарахноїдальним крововиливом та 15 пацієнтів контрольної групи в період з 2021 р. по 2023 р., в відділенні нейрохірургії №2 КНП ХОР ОКЛ. Всі хворим проводилось хірургічне та консервативне лікування.

Найменшими віковими групами виявилися групи до 20 років та від 70 років, що пояснюється тим фактом, що анеризми головного мозку частіше розриваються в дорослому активному віці та при фізичних та психоемоційних навантаженнях. У всіх спостереженнях мало місце ГПМК за геморагічним типом внаслідок розриву анеризми судин головного мозку.

Передопераційний діагностичний комплекс обстеження хворих включав: клініко-неврологічний огляд, СКТ головного мозку, СКТ-ангіографію судин голови та шиї або церебральну ангіографію (ЦАГ), дуплексне сканування магістральних судин голови та шиї або транскраніальну доплерографію (ТКДГ).

При надходженні в нейрохірургічному відділенні оцінювали стан внутрішніх органів та систем (серцево-судинна система, дихальна система, органи травлення, зоровий та слуховий аналізатори та ін.), проводився набір лабораторних аналізів (загальний аналіз крові; біохімічний аналіз крові; аналіз крові на коагулограму та на Rh-приналежність; загальний аналіз сечі), проводилась Електрокардіографія (ЕКГ) та огляд суміжних медичних спеціалістів (терапевт, отоневролог, офтальмолог). Якщо стан хворого при госпіталізації був тяжким та потребував невідкладних заходів діагностики та хірургічного втручання, то огляд отоневролога та офтальмолога відкладали до післяопераційного періоду.

Огляд офтальмолога включав: гостроту зору з корекцією та без корекції, поля зору – рефракція, стан очного дня. Огляд отоневролога включав: риноскопію, ларингоскопію, отоскопію, оцінку координарно-статичних розладів.

У всіх хворих лабораторні аналізи включали наступні параметри:

– *загальний аналіз крові*: лейкоцити, еритроцити, Гемоглобін, гематокрит, тромбоцити, лімфоцити, моноцити, базофіли, еозинофіли, нейтрофіли, швидкість осідання еритроцитів;

– *біохімічний аналіз крові*: гематокрит, К⁺, No ⁺, Білок, глюкоза, креатинін, сечовина;

– дослідження крові на коагулограму: протромбіновий час, протромбіновий індекс; фібриноген.

У багатьох хворих виявлені супутні захворювання: гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, виражений атеросклероз і хронічні обструктивні захворювання легень.

Всім хворим було проведено мікрохірургічні операції клішування аневризм головного мозку або ендovasкулярна емболізація аневризм головного мозку у гострому періоді розриву АА у перші 3 доби.

Після операції проводився клінічно-неврологічний огляд (оцінювали рівень свідомості, аналізували появу вогнищевої неврологічної симптоматики, динаміку неврологічних розладів). Всім хворим після операції виконано контрольне нейровізуалізаційне обстеження (КТ головного мозку, церебральна ангіографія). Результати лікування оцінювали при виписці, в середньому на 19 ± 11 добу після операції.

2.2. Методи обстеження та лікування хворих

2.2.1. Методи передопераційного обстеження хворих

Оцінка тяжкості стану і неврологічного статусу хворих

Всім хворим при госпіталізації оцінювали рівень свідомості за шкалою ком Glasgow, ступінь тяжкості стану хворого за шкалою Hunt-Hess (табл. 2.1), за шкалою WFNS неврологічна оцінка наявності загальнономозкової, менингеальної, вогнищевої, стовбурової симптоматики, її вираженість та прогноз щодо результату лікування хворих.

Шкала Hunt-Hess давала можливість спрогнозувати ризик хірургічного втручання у пацієнтів з спонтанним САК. Так, чим вищий ступінь тяжкості пацієнта за шкалою Hunt-Hess при госпіталізації, тим вищий ризик хірургічного втручання та рівень смертності в післяопераційному періоді.

Таблиця 2.1 – Шкала оцінки тяжкості субарахноїдального крововиливу В. Ханта та Р. Хесса (Hunt W. & Hess R. Scale, 1965)

Ступінь	Описання
0	Аневризма, що не розірвалась
I	Аневризма, що не розірвалась
II	Неврологічний дефіцит відсутній, за винятком парезів черепних нервів. Головний біль від помірного до вираженого.
III	Сонливість, оглушення і/або фокальний неврологічний дефіцит
IV	Сопор, неврологічний дефіцит від помірного до вираженого.
V	Глибока кома, агонуючий пацієнт.

Примітка: при наявності супутньої системної патології або вираженого церебрального вазоспазму градація збільшується на одиницю.

На сьогоднішній день найбільш використаними шкалами оцінки тяжкості САК є Шкала В. Ханта – Р. Хесса (див. табл. 2.1) та шкала Всесвітньої асоціації нейрохірургів – World Federation Of Neurological Surgeon (WFNS) (табл. 2.2). Зважаючи на те, що шкала Hunt-Hess на відміну від шкали WFNS, враховує як ступінь порушення свідомості, так і наявність/відсутність менінгеальних симптомів, вогнищевої неврологічної симптоматики, наявність супутньої системної патології, ми в нашій роботі надали перевагу шкалі Hunt- Hess.

Рівень свідомості перед операцією оцінювали за шкалою ком Глазго (ШКГ) на підставі трьох показників: мовної продукції (від 1 до 6 балів), реакції на больові подразники (від 1 до 5 балів) і відкривання очей (від 1 до 4 балів) (табл. 2.3).

Таблиця 2.2 – Шкала оцінки тяжкості субарахноїдального крововиливу Всесвітньої асоціації нейрохірургів – WFNS (Teasdale G., Drake C., et al., 1988)

Ступінь	Оцінка за ШКГ (кількість балів)	Руховий дефіцит *
I	15	Відсутній
II	13–14	Відсутній
III	13–14	Наявний
IV	7–12	Наявний чи відсутній
V	3–6	Наявний чи відсутній

Примітка: руховий дефіцит – наявність вираженої вогнищевої неврологічної симптоматики.

Клінічні ознаки диференційовані за ступенем їх вираженості, що відображено у балах. Для отримання інформації про ступінь пригнічення свідомості бали додаються. Чим більша сума балів, тим менший ступінь пригнічення функції мозку, і навпаки – чим менша ця сума, тим глибший коматозний стан (табл. 2.4).

Таблиця 2.3 – Параметри оцінки за шкалою ком Глазго

Параметр	Варіанти	Бали
1	2	3
Розплющування очей (E, Eye response)	Довільне	4
	На звернену мову	3
	На больові подразники	2
	Відсутнє	1

Закінчення табл. 2.3

1	2	3
Мовна реакція (V, Verbal)	Орієнтованість повна 5	5
	Сплутана 4	4
	Незрозумілі слова 3	3
	Нечленороздільні звуки 2	2
	Відсутня 1	1
Рухова реакція (M, Motor response)	Виконує команди	6
	Цілеспрямована на больовий подразник	5
	Нецілеспрямована на больовий подразник	4
	Тонічне згинання на больовий подразник	3
	Тонічне розгинання на больовий подразник	2
	Відсутня	1

Таблиця 2.4 – Оцінка та інтерпретація рівня свідомості за Шкалою ком Глазго

Рівень свідомості	Інтерпретація	Ш К Г (у балах)
1	2	3
Ясна свідомість	Характеризується повною орієнтацією хворого в часі та просторі, адекватними реакціями на подразники.	15
Помірне приглушення	Відмічається помірна сонливість, незначні помилки при орієнтуванні в часі та просторі. Сповільнення виконання команд та інструкцій. Підвищений поріг сприйняття	13–14

Закінчення табл. 2.4

1	2	3
Глибоке приглушення	Глибока сонливість, дезорієнтація. Пацієнт виконує лише найпростіші елементарні інструкції, хоча можливий елементарний вербальний контакт.	11–12
Сопор	Повне відключення свідомості, вербальний контакт відсутній, словесні команди не виконує. Біль локалізує, захисні реакції збережені. Відкриває очі на біль.	9–10
Кома I ст. (помірна)	Хворого розбудити неможливо, очі не відкриває. Нескоординовані захисні реакції без локалізації болю.	7–8
Кома II ст. (глибока)	Захисна реакція на біль відсутня. Пригнічені зіничні та корнеальні рефлекси. Збережене спонтанне дихання та серцева діяльність.	5–6
Кома III ст. (термінальна)	Повна арефлексія, м'язова атонія, двобічний мідріаз. Дихання здійснюється за допомогою апарату ШВЛ. Критичні порушення діяльності систем кровообігу та дихання	3–4

2.2.2. Комп'ютерна томографія головного мозку

Всім хворим перед операцією виконувалось КТ головного мозку. За результатами КТ оцінювали характер внутрішньочерепного крововиливу (субарахноїдальний, субарахноїдально-паренхиматозний, субарахноїдально-

вендрикулярний, субарахноїдально-паренхиматозно-вендрикулярний його обсяг, локалізацію та ступінь за шкалою С. М. Fisher і співавт. (1980 р.), наявність набряку або ішемії головного мозку, латерального або аксіального зміщення.

Визначали наявність та розповсюдження базального та/або конвекситального САК, проводилась денситометрія згустків крові та ліквору в цистернах головного мозку в одиницях Hounsfield (од Н).

Визначали наявність та вираженість внутрішньошлуночкового крововиливу. Проводилась денситометрія ліквору в шлуночкової системі та згустків крові в шлуночках головного мозку, їх об'єм та ступінь вендрикулярної геморагії.

Окрім геморагічних вогнищ, при КТ-дослідженні головного мозку була можливість виявити зони зниженої щільності, котрі були оцінені як вогнища ішемії та перифокального набряку.

Також локалізація та розповсюдженість геморагії на КТ-знімках давала інформацію про приблизну локалізація розірваної церебральної аневризми. Слід враховувати факт, що кров яка знаходиться у субарахноїдальному просторі, може не виявлятися на КТ вже через 24 год, а через 5 днів вона не визначається у 50 % випадків. Тому у разі відсутності САК на КТ-знімках, при наявності цефалгії, менінгеальних симптомів, підвищеної температури тіла, виконували КТ головного мозку в динаміки та люмбальну пункцію (ЛП).

Щоб оцінити ризик виникнення церебрального вазоспазму внаслідок САК використовували шкалу СМ. Fisher і співавт. (1980 р.), що включає 4 ступеня крововиливу (табл. 2.5).

З метою клінічної характеристики та визначення можливості розвитку гідроцефалії, яка є важливим прогностичним фактором у пацієнтів з крововиливом в шлуночкову систему, використовували шкалу Graeb (1982).

Таблиця 2.5 – Ступінь САК за шкалою Fisher

Ступінь САК	
I	Крові не видно
II	Дифузний крововилив або вертикальний шар крові у цистерні, менше 1 мм в діаметрі
III	Явний згусток у цистерні і/або вертикальний шар крові у цистерні понад 1 мм в діаметрі
IV	Внутрішньомозковий або внутрішньошлуночковий крововилив

2.2.3. Церебральна ангиографія

Всім хворим при надходженні була проведена спіральна комп'ютерна ангиографія або транскатетерна церебральна ангиографія, яка дозволяла визначити локалізацію, розміри, форму, наявність множинних аневризм, визначити та спланувати оптимальний метод хірургічного втручання, доступність АА для відкритого транскраніального хірургічного втручання чи ендovasкулярної емболізації, оцінити стан колатерального кровопостачання та прогнози щодо можливих ускладнень та наслідків в післяопераційному періоді. Показом для проведення церебральної АГ вважався наявність САК у пацієнта.

Протипоказами для проведення церебральної АГ являлись:

- наявність глибокої коми з порушенням вітальних функцій;
- супутні захворювання, які є протипоказом для проведення будь-якого хірургічного втручання (дихальна недостатність, пневмонія, стенокардія; декомпенсований цукровий діабет);
- наявність гнійних уражень шкірних покривів;
- алергія на контрастні йодовмісні речовини.

В більшості випадках церебральна АГ була виконана протягом 24 годин (1–2 доба) після госпіталізації в відділення, а при наявності

внутрішньомозкової гематоми з дислокаційним синдромом, що передбачало проведення ургентного хірургічного втручання, церебральна АГ таким хворим проводилась в першу чергу, одразу після госпіталізації.

Ускладнень, пов'язаних з виконанням церебральної АГ не спостерігали.

2.2.4. Хірургічне лікування

Всім хворим було проведено мікрохірургічні операції клішування аневризм головного мозку або ендovasкулярна емболізація аневризм головного мозку у гострому періоді розриву АА у перші 3 доби.

2.2.5 Методи після операційного обстеження хворих

КТ головного мозку після операції була виконана всім хворим. Мета проведення КТ після операції: післяопераційний контроль, важкий перебіг захворювання, або погіршення стану хворого після операції. У більшості пацієнтів КТ була проведена на другу добу після хірургічного втручання, при переведенні хворого з відділення інтенсивної терапії в загальну палату. За результатами КТ оцінювали поява і наростання обсягу ішемії півкуль головного мозку, ішемії стовбура і розвиток повторного внутрішньо-черепного крововиливу.

При виявленні вогнищ набряку-ішемії мозку враховували їх обсяг, локалізацію та наявність геморагічного просочування, проводили КТ головного мозку в динаміці для вирішенні необхідності виконання операції декомпресійної трепанації черепа.

Незважаючи на високу інформативність КТ головного мозку та церебральної АГ при «ГПМК по геморагічному типу внаслідок розриву церебральних АА», але для оцінки мозкового кровотоку основним методом діагностики являється ТКДГ, яка є неінвазійним методом та дає змогу для моніторингу ЦВС в динаміці.

ТКДГ перед операцією була проведена всім хворим. ТКДГ виконували на апараті «Siemens 050» та «Toshiba Ariio 400». При збільшенні лінійної швидкості кровотоку по артеріях основи мозку понад 120 см / с і величиною індексу Ліндегаард [125] більше 3 судинний спазм вважали помірним, при швидкості кровотоку, що перевищує 200 см / с і величиною індексу Ліндегаард більше 6 вираженим. Ангіоспазм оцінювали як нерозповсюджений, якщо він охоплював 1–2 артерії артеріального кола, і вважали поширеним при спазмі 3-х артерій і більш.

2.2.6. Визначення церебрального ангіоспазму

Симптоматичний вазоспазм визначався як артеріальне звуження діагностовано на підставі рентгенологічних звітів, що документують візуалізацію вазоспазму всіх ступенів тяжкості на КТ, МРТ або катетерній церебральній ангіографії або вимірюваннях ТКД, що відповідають критеріям помірного та важкого вазоспазму. Ангіографічний вазоспазм був потенційною причиною неврологічного погіршення лише в тому випадку, якщо ділянка зниженої перфузії відповідала ділянці, яка зазвичай опосередковує цю функцію.

Наприклад, вазоспазм у лівій середній мозковій артерії може пояснити слабкість у правій половині обличчя обличчя та руки внаслідок порушення церебрального кровотоку до лівої прецентральної звивини, яка, як відомо, опосередковує правосторонні моторні рухи. На основі цього визначення та того, що прийнято клінічно, симптоматичний вазоспазм був діагнозом виключення.

2.2.7 Визначення відтермінованої церебральної ішемії

Відтермінована церебральна ішемія визначалась за візуалізованими доказами вторинних інфарктів, не пов'язаних із процедурою оклюзії

аневризми чи іншими втручаннями та/або на основі наявності вторинних неврологічних порушень після виключення конкуруючих причин, які реагували на індуковану гіпертензію з вторинними інфарктами або без них.

2.2.8 Оцінка результатів захворювання

Результати лікування оцінювали при виписці зі стаціонару за шкалою результатів Глазго (Glasgow outcome scale (GOS)), яка розподіляє хворих за результатами лікування на 5 ступенів (табл. 2.6) та за модифікованою шкалою Ренкіна (табл. 2.7), яка оцінює недієздатність або залежність в повсякденній діяльності у жертв інсульту.

Таблиця 2.6 – Шкала результатів Глазго (Glasgow outcome scale (GOS))

Кількість балів (GOS)	Значення
5	Одужанню пацієнта без неврологічних розладів, або з мінімальним дефіцитом. Повне або часткове відновлення трудової діяльності.
4	Помірна інвалідизація. Неврологічні порушення, що обмежують повсякденну діяльність, але хворий не потребує сторонньої допомоги.
3	Глибока інвалідизація. Хворий потребує стороннього догляду
2	Вегетативний стан або глибокий психоорганічний синдром
1	Смерть

Таблиця 2.7 – Модифікована шкала Ренкіна (Modified Rankin scale (mRS))

Кількість балів (mRS)	Значення
0	Відсутність симптомів.
1	Відсутність суттєвої функціональної неспроможності, незважаючи на наявність симптомів, здатність до виконання повсякденних обов'язків і буденної активності.
2	Легке порушення функціональної спроможності; нездатність до минулої активності, але збережена здатність до обслуговування власних потреб без сторонньої допомоги.
3	Помірне порушення функціональної спроможності: необхідність деякої сторонньої допомоги, збережена здатність ходити без сторонньої допомоги.
4	Помірно-тяжке порушення функціональної спроможності; нездатність ходити без сторонньої допомоги і самостійно задовольняти фізіологічні потреби.
5	Важка функціональна неспроможність; «прикутість» до ліжка, нетримання сечі та калу; потреба в постійному нагляді та увазі.
6	Смерть.

2.3 Аналіз спинномозкової рідини хворих на аСАК

2.3.1 Забір спинномозкової рідини

Зразки спинномозкової рідини (3 мл) пацієнтів з субарахноїдальним крововиливом збирали з вентрикулостомічного порту, найближчого до

пацієнта, з люмбального дренажу або шляхом звичайної люмбальної пункції на 3-й, 7-й та 10 дні після виникнення крововиливу.

2.3.2 Імуноферментний аналіз спинномозкової рідини

Імуноферментні методи дослідження дослідження проводились на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Харківського національного медичного університету.

Дослідження вмісту ІЛ-6 у спинномозковій рідині хворих проводилось за допомогою трьохстадійного «сендвіч» – варіанту твердофазного ІФА використанням моно- та поліклональних антитіл до ІЛ-6 людини.

Використовувався автоматичний аналізатор Multiscan з доданими діагностичними наборами фірми "Elabscience" (США). Дослідження проводилось відповідно до наданих до тест систем інструкцій. Принцип цього методу полягає у наступному. У лунках планшету при додаванні досліджуваного зразку під час першої інкубації відбувалось зв'язування гамма-інтерферону з моноклональними антитілами, іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок. ІЛ-6, що зв'язався, взаємодіє під час другої інкубації з біотинільованими поліклональними антитілами до інтерлейкіну 6 людини (кон'югат №1). На третій стадії біотин у складі кон'югату №1 взаємодіє із стрептавідином, кон'югованим з пероксидазою хрому (кон'югат №2).

Під час інкубації з розчином тетраметилбензидину відбувалось фарбування розчину у лунках. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації ІЛ-6 у аналізованих пробах. Після вимірювання оптичної щільності розчину у лунках на підставі каліброваного графіку розраховувалась концентрація гамма-інтерферону у аналізованих зразках. Для реалізації цього методу вносились до усіх лунок по 100 мкл розчину для розведення зразків. Вносились у дублях, починаючи з верхніх лунок перших двох стрипів, по 100 мкл калібрувальних зразків 0; 20; 40; 200; 500 та 1000 пг/мл. У наступну

пару лунок вносилося по 100 мкл контрольного зразку. До інших лунок вносилося по 100 мкл досліджуваних зразків. Час внесення зразків не був перевищений за 15–20 хв при використанні усіх лунок планшету. Відрізалась липку плівку необхідного розміру. Стрипи заклеювались плівкою та інкубувались при температурі 37 °С протягом 120 хв у термостатованому шейкері з частотою 700 об/хв. За допомогою промивного пристрою промивались лунки планшету 5 разів розчином 1, чергуючи аспірацію та негайне заповнення лунок. До лунок планшету вносилося по 100 мкл кон'югату № 1. Стрипи закривались плівкою, поміщались до шейкеру. Інкубувались 60 хв при температурі 37 °С, при 700 об/хв. Після закінчення інкубації промивався планшет 5 разів. До лунок планшету вносилося по 100 мкл кон'югату № 2. Стрипи закривались плівкою, поміщались до шейкеру. Інкубувались 30 хв при температурі 37 °С, при 700 об/хв. Після закінчення інкубації промивався планшет 5 разів. Вносилося до усіх лунок по 100 мкл розчину ТМБ плюс. Планшет витримувався у захищеному від світла місці протягом 25 хв при температурі 18–25 °С. Вносилося до усіх лунок по 100 мкл стоп-реагенту з тією ж швидкістю і у той самій послідовності, як і розчин тетраметилбензидину. Вимірялась оптична щільність за допомогою спектрофотометра у двоххвильовому режимі: основний фільтр – 450 нм, референс-фільтр – у діапазоні 620–655 нм. Допускалося вимірювання тільки з фільтром 450 нм.

Показник TNF-а визначався за допомогою «сендвіч» варіанту твердофазного ІФА із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до TNF-а. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубували у лунках з іммобілізованими антитілами. Наявний у зразках TNF-а зв'язувався з іммобілізованими антитілами. TNF-а, що зв'язався, взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла до TNF-а людини з біотином). На третій стадії кон'югат №1, що зв'язався, взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №2 (стрептавідин з пероксидазою хрону). Кількість кон'югату № 2, що зв'язався, визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази

хрону – перекису водню та хромогену – тетраметилбензидину. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна концентрації TNF-а, що міститься у зразку. Використовувався автоматичний аналізатор Multiscan з доданими діагностичними наборами «Elabscience» (США). Аналіз проводився згідно зі схемою, що наведена вище.

Показник ІІ-10 визначався за допомогою «сендвіч» варіанту твердофазного ІФА із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІІ-10. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубували у лунках з іммобілізованими антитілами. Наявний у зразках ІІ-10 зв'язувався з іммобілізованими антитілами. TNF-а, що зв'язався, взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла до ІІ-10 людини з біотином). На третій стадії кон'югат №1, що зв'язався, взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №2 (стрептавідин з пероксидазою хрону). Кількість кон'югату №2, що зв'язався, визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрону – перекису водню та хромогену – тетраметилбензидину. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна концентрації ІІ-10, що міститься у зразку. Використовувався автоматичний аналізатор Multiscan з доданими діагностичними наборами «Elabscience» (США). Аналіз проводився згідно зі схемою, що наведена вище.

Показник ІІ-17 визначався за допомогою «сендвіч» варіанту твердофазного ІФА із застосуванням моно- та поліклональних антитіл до ІІ-10. На першій стадії аналізу досліджувані та контрольні зразки інкубували у лунках з іммобілізованими антитілами. Наявний у зразках ІІ-10 зв'язувався з іммобілізованими антитілами. ІІ-10, що зв'язався, взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №1 (антитіла до ІІ-10 людини з біотином). На третій стадії кон'югат №1, що зв'язався, взаємодіяв при інкубації з кон'югатом №2 (стрептавідин з пероксидазою хрону). Кількість кон'югату №2, що зв'язався, визначали кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрону – перекису водню та хромогену – тетраметилбензидину. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна концентрації ІІ-10, що міститься у

зразку. Використовувався автоматичний аналізатор Multiscan з доданими діагностичними наборами «Elabscience» (США). Аналіз проводився згідно зі схемою, що наведена вище.

2.3.3 Проточна цитометрія

Рівень експресії TLR4 рецепторів на CD14+ мононуклеарах, показники ериптозу та генерацію активних форм кисню вивчали в Лабораторії НДІ клінічної та експериментальної медицини ХНМУ [103, 129].

Спиномозкову рідину практично здорових пацієнтів (контрольна група) та пацієнтів з субарахноїдальним крововиливу (2 групи хворих аСАК з розвитком ускладнень та без них) поділяли та вносили в декілька мікропробірок (Eppendorf, об'ємом 1,5 мл) для уникнення ефекту неодноразових циклів заморожування – розморожування. Зразки спиномозкової рідини доставлялись лабораторії НДІ без заморозки.

Для дослідження особливостей генерації активних форм кисню лейкоцитами та еритроцитами, процесів ериптозу за умов застосування проточної цитометрії відбір спиномозкової рідини у групи контролю та пацієнтів з аСАК здійснювали у вакутейнери K₂EDTA (IMPROVACUTER Evacuated EDTA K2 Spray Suated PET Tubs, Гуанчжоу, Китай) та протягом 3 годин на холоді доставляли у Науково-дослідний інститут експериментальної та клінічної медицини Харківського національного медичного університету.

Проведення підготовки спиномозкової рідини для проведення проточної цитометрії для визначення генерації активних форм кисню лейкоцитами проводили шляхом отримання суспензії лейкоцитів периферичної крові.

Процедура отримання суспензії лейкоцитів.

Зразки отриманої спиномозкової рідини використовували для отримання суспензії лейкоцитів відповідно до протокольної процедури

лізування / промивання. Спочатку ми брали зразки спинномозкової рідини крові здорових людей та пацієнтів з аСАК у кількості 100 мкл та додавали у пробірки з полістирола розміром 12×75 мм із закритою кришкою (Falcon, 5 ml Polysterene Round-Bottom Tube, Corning Science Mexico, S.A. de C.V., Mexico). Додавали до пробірок зі зразками крові 2 мл $1 \times$ FACSlyse розчину (BD FACS™ Lysing Solution, Becton, Dickinson and Company BD Biosciences, 9029989, Сан Хосе, США) аби такий самий об'єм розчину $1 \times$ Pharmlyse (BD Pharmlyse™ Lysing Buffer, партія 0070764, Сан-Хосе, США).

Зразки ліквору та розчини для проведення лізування та промивання перемішували за допомогою вортексу. При кімнатній температурі ($t = 23\text{--}25^\circ \text{C}$) вміст пробірок інкубували протягом 15 хв в темряві. Далі розчини центрифугували за допомогою центрифуги Universal 320R при 500g протягом 5 хв. Після чого виливали супернатант. Далі додавали 2 мл натрій-фосфатного буферу (PBS, pH 7,4; BDTM Cell Wash, Польща). Визначену протокольну процедуру ми повторювали двічі.

Для ідентифікації області загальної популяції лейкоцитів спинномозкової рідини та визначення життєздатних клітин використовували SSC/FL6 дотплоти після фарбування антитілами до CD45^+ , що були мічені тандемним флуорохромом APC-Cy™7 (BD Pharmingen, США).

За допомогою CD45^+ ми проводили гейтування регіонів, де спостерігали життєздатні клітини (негативно забарвлені 7-AAD).

Відомо, що визначений флуоресцентний барвник зв'язується з ДНК за умов порушення цілісності цитоплазматичної мембрани клітини, за рахунок чого 7-AAD може потрапити до клітини. Флуоресценцію 7-AAD визначали в каналі FL-3.

Процедура визначення генерації активних форм кисню лейкоцитами.

Отримували суспензію лейкоцитів спинномозкової рідини відповідно до протоколу (дивись вище). Клітини піддавали дії індикатору вільних радикалів H2DCFDA (Invitrogen™, США) при кінцевій концентрації 5 мкМ.

Далі готували робочий розчин H2DCFDA з вихідного розчину в ДМСО (10 мМ). Лейкоцити інкубували при $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 30 хв. Крім того, суспензію лейкоцитів інкубували з 10 мкл антитіл до CD45, що були мічені флуорохромом APC-CyTM7 (BD Pharmingen, США) та 5 мкл 7-AAD (BD Pharmingen, США) для визначення життєздатних лейкоцитів. Отримані зразки аналізували за допомогою проточного цитометра FACS Canto II (BD Biosciences, США). Канал FL-1 використовували для виявлення флуоресценції 2',7'-дихлорфлуоресцеїну (ДХФ), який є АФК – чутливим барвником, що утворюється внутрішньоклітинно за умов дії АФК після впливу естераз з H2DCFDA. За допомогою програмного забезпечення BD FACSDivaTM (Becton Dickinson, США) аналізували середню інтенсивність флуоресценції ДХФ для кількісної оцінки внутрішньоклітинної генерації АФК. Таким чином, флуоресценцію ДХФ вимірювали в каналі FL1 у CD45⁺ та 7-AAD⁻ клітинах.

Отримання суспензії еритроцитів для проведення дослідження генерації активних форм кисню еритроцитів та визначення процесів еритролізу методом проточної цитометрії.

Спиномозкову рідину збирали у стерильні пробірки – вакутейнери з цитратом натрію. Кров у кількості 100 мкл додавали до 12 × 75 мм пробірок з полістиролом із закритою кришкою, в яких знаходився 1 мл фізіологічного розчину (0,9% NaCl, Юрія-Фарм, Україна). Отриману суміш ми центрифугували протягом 5 хв при 1000 об/хв, з наступним вивільненням супернатанту. Еритроцити спиномозкової рідини пацієнтів з аСАК промивали для приготування суспензії еритроцитів.

У подальшому отримані нами еритроцити спиномозкової рідини ресуспендували в 1 % розчині ізотонічного натрію хлориду, а далі повторювали центрифугування. Визначену протокольну процедуру, а саме відмивку еритроцитів повторювали 2 рази.

Далі 10 мкл суспензії еритроцитів змішували з 1 мл 0,9% NaCl, отриману суспензію еритроцитів відразу використовували для дослідження.

Визначення генерації АФК в еритроцитах спинномозкової рідини за допомогою проточної цитометрії з використанням барвника H2DCFDA.

Аліквоти спинномозкової рідини, що було зібрані у вакутейнери з K2EDTA, відмивалися. Відмити еритроцити в кількості 2 мкл інкубували з робочим розчином H2DCFDA (Invitrogen™, США), що було виготовлено із 10 мМ вихідного розчину в диметилсульфоксиді (DMSO, Sigma-Aldrich, США). Кінцева концентрація барвника H2DCFDA становила 10 мкМ. Суспензії еритроцитів інкубували протягом 30 хв у темряві при кімнатній температурі. Далі еритроцити двічі відмивали та ресуспендували. За умов дії ферменту естерази та подальшого окиснення АФК барвник H2DCFDA (не флуоресцентний) утворює флуоресцентний продукт 2', 7'-дихлорфлуоресцеїн. Флуоресценція дихлорфлуоресцеїну (DCF) є пропорційною внутрішньоклітинній концентрації АФК, яку вимірювали в каналі FL1 за допомогою аналізатора клітин BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США). Для аналізу середньої інтенсивності DCF-залежної флуоресценції в еритроцитах використовували програмне забезпечення BD FACSDiva™ (Бектон Дікінсон, США).

Визначення інтенсивності процесів ериптозу еритроцитів спинномозкової рідини пацієнтів, що перенесли субарахноїдальний крововилив шляхом оцінки транслокації фосфоліпиду клітинних мембран - фосфатидилсерину до зовнішнього шару мембрани методом проточної цитометрії.

Інтенсивність процесів ериптозу еритроцитів спинномозкової рідини оцінювали шляхом аналізу екстерналізації фосфатидилсерину (ФС) за допомогою фарбника – анексину V. Спинномозкову рідину пацієнтів, промивали. Далі 2 мкл еритроцитів крові змішували з 500 мкл 1x анексин-зв'язуючого буферу (BD Pharmingen™ Annexin V Binding Buffer, BD Biosciences, Сан-Хосе, США). Отриману суміш у кількості 100 мкл інкубували з 5 мкл анексину V, міченого флуоресцеїном ізотіоціанатом (FITC) (BD Pharmingen™ FITC-Annexin V, BD Biosciences, Сан-Хосе, США). Отримані зразки крові інкубували протягом 30 хв у темряві при

кімнатній температурі. Безпосередньо перед реєстрацією флуоресценції до зразків додавали 400 мкл 1х анексин V-зв'язуючого буферу. В каналі FL1 ми виявляли флуоресценцію за допомогою аналізатора клітин BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США).

Для характеристики інтенсивності ериптотичних процесів, а саме зв'язування анексину – V з фосфоліпідом – фосфатидилсеріном – було використано програмне забезпечення BD FACSDiva™ (Бектон Дікінсон, США). Визначали відсоток анексин V-позитивних еритроцитів, середню інтенсивність флуоресценції анексину V-FITC в еритроцитах та анексин V-позитивних клітинах. У кожній пробі реєстрували 100 000 подій.

Дослідження експресії TLR4 (CD284) на поверхні лейкоцитів. До зразків (суспензії лейкоцитів) додавали 5 мкл Mouse Anti-Human CD284, що були мічені PE (BD Pharmygen, США), інкубували протягом 20 хв при кімнатній температурі. PE – фікоеритрин, що походить з фікобіліпротеїнових барвників, є флуорохромом, мультимерним флуоресцентним фікобіліпротеїном. Інтенсивність флуоресценції реєстрували при хвилі збудження 488 нм та хвилі емісії – 585 нм за допомогою проточного цитометра BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США).

Визначення експресії CD14 на поверхні моноцитів. До зразків – суспензії лейкоцитів додавали 5 мкл Mouse Anti-Human CD14, мічених APC-Cy7 (BD Pharmygen, США), інкубували протягом 20 хв при кімнатній температурі. Інтенсивність флуоресценції реєстрували та оцінювали при хвилі збудження 633 нм та хвилі емісії – 780 нм за допомогою проточного цитометра BD FACSCanto™ II (BD Biosciences, США).

2.4 Статистичний аналіз

Для порівняння двох незалежних груп застосовували непараметричний U-критерій Манна–Уїтні (КМУ), для перевірки залежності від групи –

критерій Краскела-Уолліса (ККУ), для порівняння відсотків – t-тест, зв'язки між показниками оцінювали за допомогою непараметричного коефіцієнта кореляції Спірмена. Числові значення представлені у вигляді середнього значення та стандартного відхилення.

Для оцінки прогностичної значущості біомаркерів і предикторів розвитку ускладнень використовували аналіз ROC-кривих (Receiver Operating Characteristic) з визначенням площі під кривою (AUC). ROC-аналіз дозволив оцінити чутливість, специфічність та оптимальні порогові значення показників для прогнозування церебрального вазоспазму та відтермінованої церебральної ішемії.

Обробка даних проводилася за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism 10.00 для MacOS (CA, USA). Виявлені залежності вважалися статистично значущими при рівні значущості $p < 0,05$.

2.5 Висновки до розділу 2

1. Дизайн дослідження спрямований на оптимізацію діагностики та прогнозування ускладнень САК шляхом комплексної оцінки молекулярних маркерів нейрозапалення, таких як прозапальні цитокіни, експресія TLR4 на CD14+ мононуклеарах спинномозкової рідини, та маркерів ериптозу у лікворі. Застосовані методики дозволили не лише ідентифікувати предиктори ЦВ та ВЦІ, але й оцінити їх прогностичну цінність у динаміці.

2. Сформована вибірка включає 45 пацієнтів із аСАК, а також контрольну групу з 15 осіб із безрозривними церебральними аневризмами. Групи порівняння були ретельно паритетними за демографічними та клінічними характеристиками, що забезпечує репрезентативність і релевантність отриманих результатів для загальної популяції.

3. Використані методи імуноферментного аналізу (ІФА) для визначення рівнів прозапальних (IL-6, TNF- α , IL-17) та протизапальних

(IL-10) цитокінів у спинномозковій рідині, а також проточна цитометрія для оцінки показників ериптозу (флуоресценція Annexin V-FITC) і рівнів експресії TLR4-рецепторів. Флуоресценція TLR4-рецепторів була визначена з використанням моноклональних антитіл, що дозволило оцінити ступінь активації нейрозапалення. Ці методики визнані високочутливими, валідними і специфічними, що забезпечує достовірність отриманих результатів.

4. Сучасні методи дослідження, включно з ІФА, проточною цитометрією для визначення експресії TLR4-рецепторів і флуоресценції Annexin V, а також статистичними підходами до аналізу, такими як ROC-аналіз і кореляційно-регресивні моделі, дозволили отримати обґрунтовані та достовірні результати. Це забезпечило можливість сформулювати нові наукові положення, висновки та практичні рекомендації, які мають значний внесок у вдосконалення діагностики і прогнозування ускладнень САК.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Клінічні характеристик хворих

Вік хворих основної групи ($n = 45$) варіював від 19 до 78 років (середній вік – $46,7 \pm 11,6$ років). Розподіл за статтю:

- Чоловіків: 23 (51,11 %).
- Жінок: 22 (48,89 %).

Розподіл за віковими групами:

- до 20 років: 0 (0 %);
- від 20 до 29 років: 3 (6,67 %);
- від 30 до 39 років: 9 (20 %);
- від 40 до 49 років: 14 (31,11 %);
- від 50 до 59 років: 12 (26,67 %);
- від 60 до 69 років: 5 (11,11 %);
- 70 років та старше: 2 (4,44 %).

Вік хворих контрольної групи ($n = 15$) варіював від 20 до 69 років (середній вік – $47,7 \pm 11,6$ років). Розподіл за статтю:

- Чоловіків: 8 (53,33%).
- Жінок: 7 (46,67%).

Розподіл за віковими групами:

- до 20 років: 0 (0%);
- від 20 до 29 років: 1 (6,67%);
- від 30 до 39 років: 2 (13,33%);
- від 40 до 49 років: 6 (40%);
- від 50 до 59 років: 4 (26,67%);
- від 60 до 69 років: 2 (13,33%);
- 70 років та старше: 0 (0%).

Найменшими віковими групами виявилися групи до 20 років та від 70 років, що пояснюється тим фактом, що анеризми головного мозку частіше розриваються в дорослому активному віці та при фізичних та психоемоційних навантаженнях.

САК було діагностовано у 16 (35,6 %) хворих, субарахноїдально-паренхіматозний крововилив – у 10 (22,2 %) хворих; субарахноїдально-вентрикулярний – у 10 (22,2%) хворих; субарахноїдально-паренхіматозно-вентрикулярний – у 9 (20,0%) хворих (рис. 3.1).

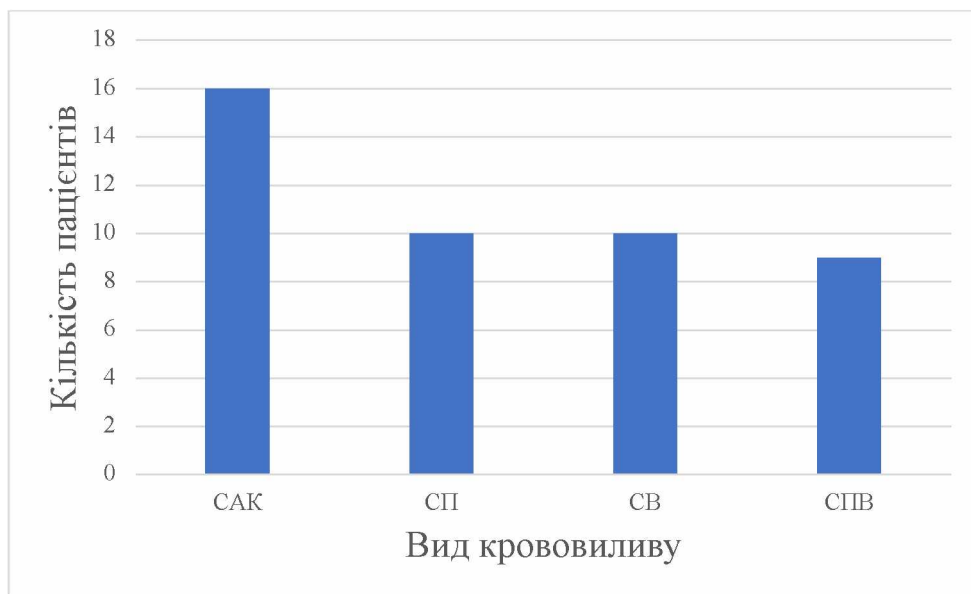


Рисунок 3.1 – Розподіл хворих з САК за видом крововиливу.

САК – субарахноїдальний крововилив, СП – субарахноїдально-паренхіматозний крововилив, СВ – субарахноїдально-вентрикулярний, СПВ – субарахноїдально-паренхіматозно-вентрикулярний крововилив

За локалізацією АА у пацієнтів з субарахноїдальним крововиливом переважали АА комплексу ПМА-ПСА – 19 (42,2 %). АА інших локалізацій склали: середньої мозкової артерії – 12 (26,7 %), базилярної та хребетної артерії – 5, (11,1 %) внутрішньої сонної артерії 9 (20 %) (рис. 3.2).

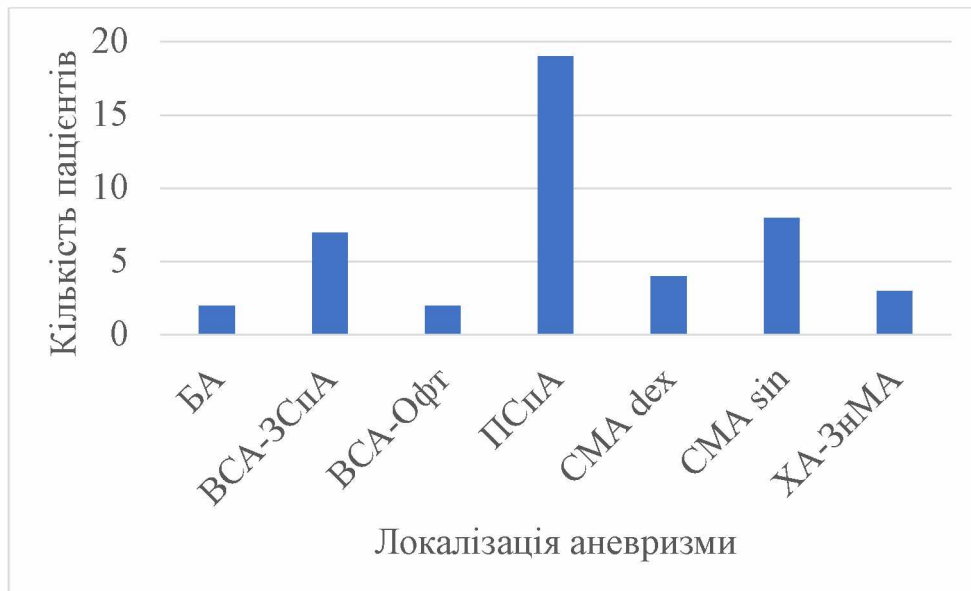


Рисунок 3.2 – Розподіл хворих з САК за локалізацією аневризми

За локалізацією АА у пацієнтів контрольної групи з безрозривними аневризмами переважали ПМА-ПСА – 6 (40,0 %). АА інших локалізацій склали: середньої мозкової артерії – 4 (26,7 %), базилярної та хребетної артерії – 2, (13,3 %) внутрішньої сонної артерії 3 (20 %) (рис. 3.3).

Отже за локалізацією аневризм групи є співставними.



Рисунок 3.3 – Розподіл хворих з контрольної групи за локалізацією аневризми

Свідомість при госпіталізації була ясною у 8 (17,8 %) хворих, помірне приглушення спостерігалось – у 16 (35,5%) хворих, глибокого приглушення - у 11 (24,4 %), сопор – у 8 (17,8 %), кома I ступеня – у 3 (6,7 %) хворих, Глибокої коми та у стадії термінальної коми хворих не було (рис. 3.4).

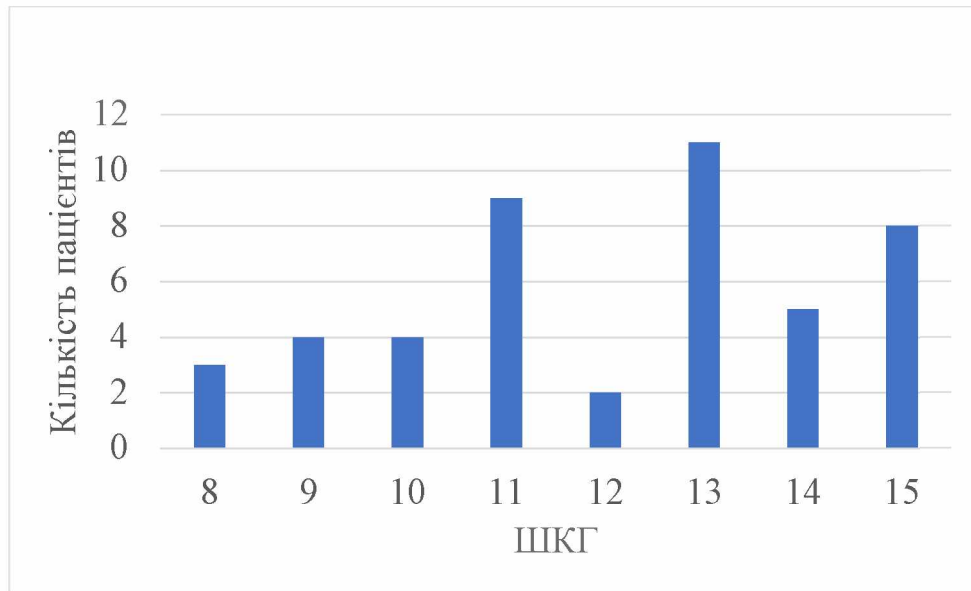


Рисунок 3.4 – Розподіл хворих за рівнем свідомості

Вогнищеві неврологічні розлади при госпіталізації були у 24 (53,3 %) хворих (рис. 3.5). У 7 (15,56 %) хворих спостерігалися порушення рухових функцій за центральним типом, у 4 (8,89 %) – окорухові порушення, у 6 (13,3 %) – афатичні порушення, у 5 (11,1%) – психічні порушення, у 2 (4,44 %) – поєднання рухових та афатичних розладів. У 21 (46,7 %) хворих при госпіталізації вогнищевої неврологічної симптоматики не відмічалось (рис. 3.5).

Клінічну тяжкість пацієнтів з САК оцінювали за ступенями Ханта та Гесса (ступені Н&Н) – хворих з I ступеню було у 7 (15,6 %) випадків, II ступеня – у 15 (33,3 %) випадків, III ступеня – у 11 (24,4 %) і IV ступеня – 9 (20 %) випадків (рис. 3.6). у 8 (17,8 %), V ступеня – 3 (6,67 %).

У подальшому були поділенням на дві групи: пацієнти з аСАН з Н&Н I–II ступенів вважалися такими, що мають менш важкий або хороший ступінь, тоді як пацієнти з Н&Н ступенів III -V вважалися такими, що мають важку аСАК і погані оцінки (Mathiesen та ін., 1997).



Рисунок 3.5 – Наявність вогнищевих неврологічних розладів при госпіталізації

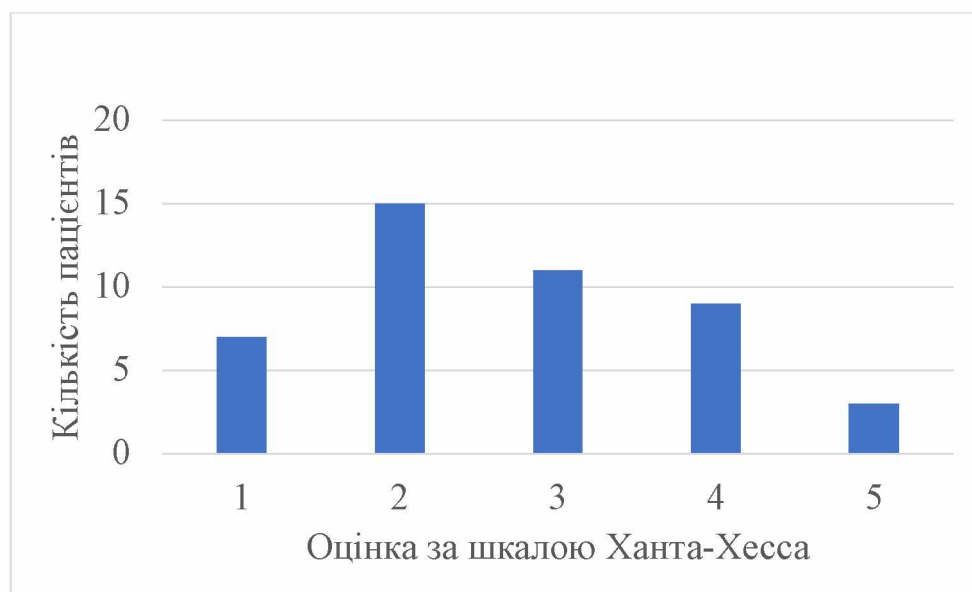


Рисунок 3.6 – Розподіл хворих за важкістю перебігу САК

Розподіл хворих за та за шкалою Fisher

В наших спостереженнях для оцінки ризику виникнення церебрального вазоспазму внаслідок САК за шкалою CM. Fisher, хворих САК I ступеня було у 9 (20 %) випадків, II ступеня – у 15 (33,%) випадків, III ступеня – у 13 (28,9 %) і IV ступеня - випадків (рис. 3.7). у 8 (17,8 %). У дослідженні не

виявлено достовірної кореляції між величиною крововиливу, оціненою за шкалою mFisher на КТ, та ризиком розвитку церебрального вазоспазму і відтермінованої церебральної ішемії. Хоча більш високі показники за шкалою Fisher традиційно асоціюються зі збільшенням ризику зазначених ускладнень, отримані результати не підтвердили статистично значущого зв'язку ($p < 0,05$).

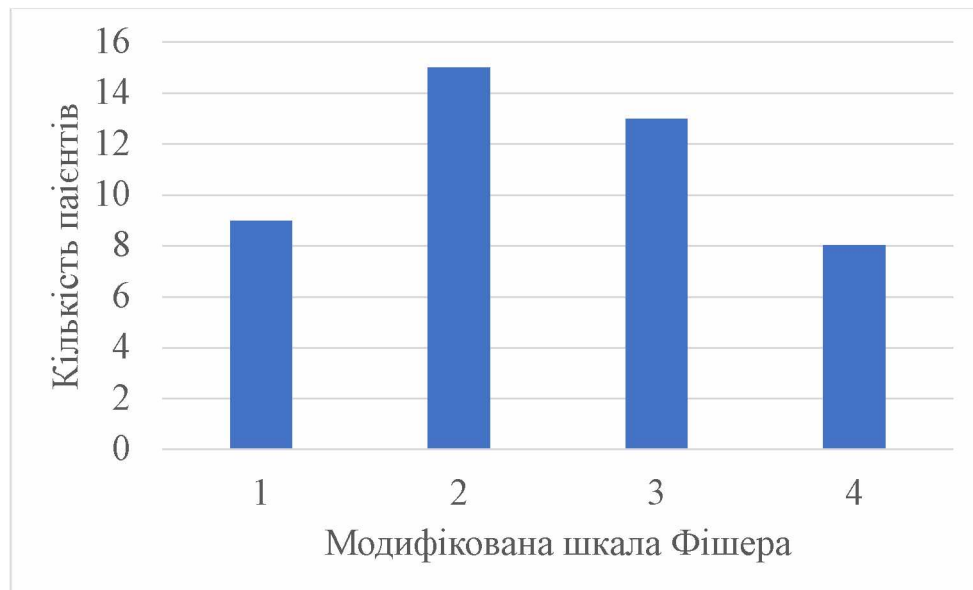


Рисунок 3.7 – Розподіл хворих за та за шкалою Fisher

Всім хворим основної групи проводилось оперативне лікування методом хірургічного кліпування або ендovasкулярної емболізації. Хірургічне кліпування було методом вибору у 28 (62%) випадках, ендovasкулярна емболізація у 17 (38%) випадках (рис. 3.8, рис. 3.9). Перевагу ендovasкулярним методам віддавали у випадках локалізації аневризми задньої циркуляції.

Для хворих контрольної групи хірургічне лікування було варіантом вибору у 8 (53%) випадках, ендovasкулярна емболізація у 7 (47%) випадках. У пацієнтів контрольної групи хірургічне лікування використовувалось лише у випадках локалізації аневризми передньої циркуляції. Групи по варіантам хірургічного лікування були співставні.

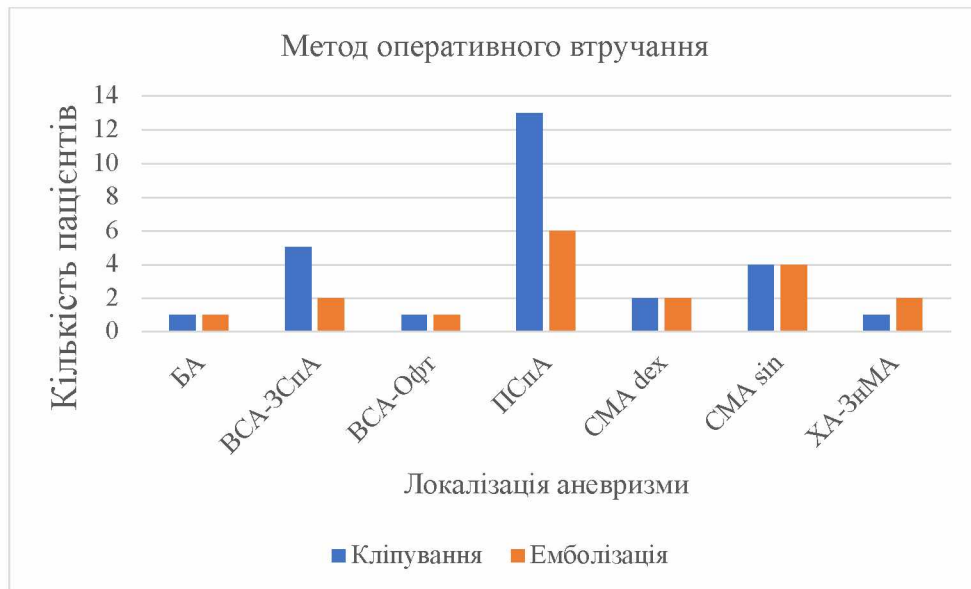


Рисунок 3.8 – Розподіл хворих на аСАК за видом оперативного втручання

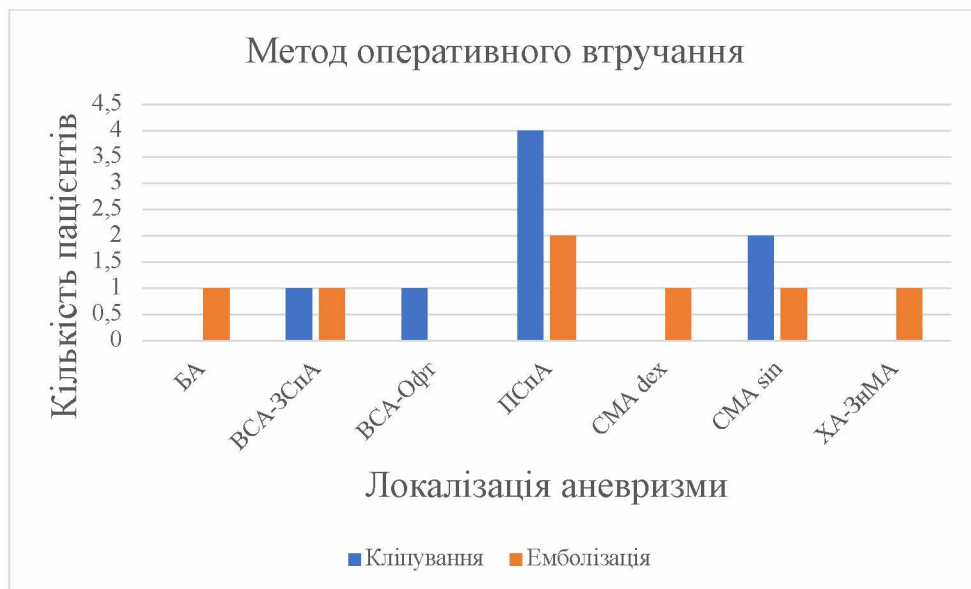


Рисунок 3.9 – Розподіл хворих контрольної групи за видом оперативного втручання

Церебральний вазоспазм було зафіксовано у 20 пацієнтів основної групи (44 %) (рис. 3.10).



Рисунок 3.10 – Розподіл хворих з наявністю вазоспазму

Частота відтермінованої церебральної ішемії становила 27 пацієнтів (60%) (рис. 3.11).

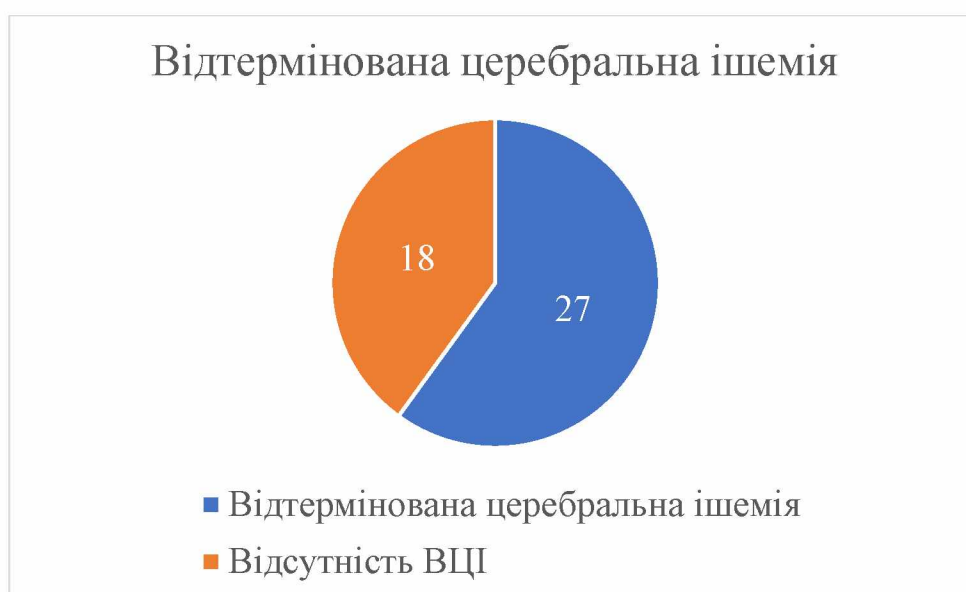


Рисунок 3.11 – Розподіл хворих за наявністю відтермінованої ішемії

Вогнищеві неврологічні розлади під час виписки були у 30 (66,7 %) хворих (рис. 3.12). У 7 (15,6 %) хворих спостерігалися порушення рухових функцій за центральним типом, у 4 (8,9 %) – окорухові порушення, у 6 (13,3 %) –

афатичні порушенн, у 8 (17,8 %) – психічні порушення, у 2 (4,4 %) – поєднання парезів та афатичних порушень, у 3 (6,7 %) – поєднання рухових та психічних порушень. У 15 (33,3 %) хворих під час виписки із стаціонару вогнищевої неврологічної симптоматики не відмічалось.



Рисунок 3.12 – Наявність вогнищевих неврологічних розладів під час виписки

Оцінка результатів захворювання

Клінічні результати пацієнтів з САК оцінювали при виписці за добре відомими та широко використовуваними шкалами оцінки клінічних результатів шкалою результатів Глазго (GOS) і модифікованою шкалою Ренкіна (mRS). За шкалою результатів Глазго 5–10 (22,2 %), 4–17(37,8 %), 3–13 (28,9 %), 2–0 (0 %), 1–5 (11,1 %) хворих (рис. 3.13). За модифікованою шкалою Ренкіна (mRS) 1–6 (13,3 %), 2–11 (24,4 %), 3–12 (26,7 %) 4–11 (24,4 %), 5–0 (0 %), 6–5 (11,1 %) (рис. 3.14).

Для того, щоб розділити пацієнтів на пацієнтів із хорошим і поганим результатом для зручності порівняння, обидві шкали були поділені, щоб представляти погані та хороші результати під час виписки.



Рисунок 3.13 – Оцінки клінічних результатів
за шкалою Глазго (GOS)

Оцінки за шкалою результатів Глазго були поділені так, що оцінка GOS 1–3 представляла поганий клінічний результат у 18 (40 %) хворих на САК, а оцінка GOS 4–5 представляла добрий клінічний результат у результат у 27 (60 %) хворих, як описано раніше (Chaudhry et al., 2017). 17 (37,8 %) пацієнтів з mRS 0–2 були згруповані в групу з хорошим результатом, тоді як 28 (62,2 %) пацієнтів з балом 3–6 вважалися такими з поганим результатом, як описано іншими (Broessner та ін., 2010).



Рисунок 3.14 – Оцінки клінічних результатів за модифікованою шкалою Ренкіна (mRS)

Клінічні результати пацієнтів контрольної групи також оцінювали при виписці за шкалою результатів Глазго (GOS) і модифікованою шкалою Ренкіна (mRS). За шкалою результатів Глазго 5–5 (33,3 %), 4–8(53,4 %), 3–2 (13,3 %), 2–0 (0 %), 1–5 (0 %) хворих (рис. 3.15).



Рисунок 3.15 – Оцінки клінічних результатів за шкалою Глазго (GOS) пацієнтів контрольної групи

За модифікованою шкалою Ренкіна (mRS) 0–2 (13,3 %), 1–4 (26,7 %), 2–6 (40,0 %), 3–3 (20,0 %) 4–0 (0%), 5–0 (0 %), 6–0 (0 %) (рис. 3.16).



Рисунок 3.16 – Оцінки клінічних результатів за модифікованою шкалою Ренкіна (mRS) пацієнтів контрольної групи

Для того, щоб розділити пацієнтів на пацієнтів із хорошим і поганим результатом для зручності порівняння, обидві шкали були поділені, щоб представляти погані та хороші результати під час виписки. за шкалою результатів Глазго були поділені так, що оцінка GOS 1–3 представляла поганий клінічний результат у 2 (13,3 %) хворих на САК, а оцінка GOS 4–5 представляла добрий клінічний результат у результат у 13 (86,7 %) хворих .

12 (80 %) пацієнтів з mRS 0–2 були згруповані в групу з хорошим результатом, тоді як 3 (20 %) пацієнтів з балом 3–6 вважалися такими з поганим результатом, як описано іншими.

3.2. Дослідження цитокінів спинномозкової рідини після аСАК

Крім дослідження цитокінів спинномозкової рідини після аСАК у це дослідження також були включені вибрані цитокіни, які або раніше не досліджувалися, або була доступна обмежена інформація щодо їх зв'язку з ускладненнями та клінічними результатами після аСАК. Ми визначили рівні ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-17, ФНП-а на 3-й день після аСАК у спинномозковій рідині хворих.

3.2.1. СМР ІЛ-6

Базові показники пацієнтів з САК, чії сироватки використовувалися для визначення. Ми проаналізували рівні ІЛ-6 у спинномозковій рідині пацієнтів з аСАК на ранньому етапі, на 3й день від початку захворювання, до початку розвитку відтермінованих ускладнень. Рівні ІЛ-6 у спинномозковій рідині були значно підвищені у пацієнтів з аСАК в усі моменти часу порівняно з контрольними пацієнтами, яку склали пацієнти без аСАК (рис. 3.17).

Середні (\pm SEM) рівні ІЛ-6 у лікворі пацієнтів з аСАК на 3-й день після початку захворювання та контрольної групи становили $326,3(\pm 3,83)$, $14,03(\pm 3,83)$ пг/мл відповідно ($p < 0,01$, КМУ).

Щоб проаналізувати вплив системних рівнів ІЛ-6 на появу ускладнень після САК, ми розділили пацієнтів на групи, у яких розвинулися ускладнення, і тих, хто не мав цих ускладнень.

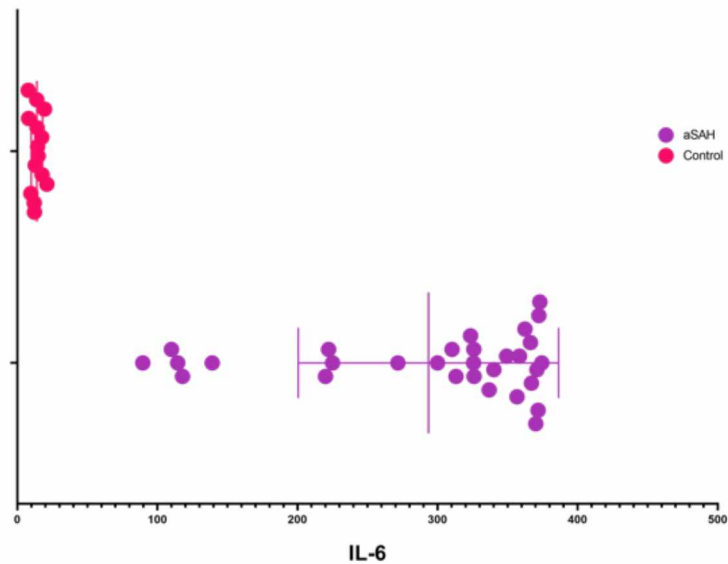


Рисунок 3.17 – Концентрація *IL-6* (пг/мл) у спинномозковій рідині основної та контрольної груп пацієтів

Було виявлено, що рівні *IL-6* у спинномозковій рідині були значно підвищені після САК у пацієнтів, у яких спостерігалось ускладнення у вигляді церебрального ангіоспазму 366,3 ($\pm 1,99$) пг/мл, 225,07 ($\pm 3,40$) пг/мл (рис. 3.18, а) ($p < 0,01$, КМУ). Подібним чином пацієнти, у яких була діагностована відтермінована церебральна ішемія мали підвищені рівні *IL-6* у спинномозковій рідині (рис. 3.18, б). 349,3 ($\pm 1,99$) пг/мл, 310,4 ($\pm 3,40$) пг/мл ($p = 0,043$, КМУ).

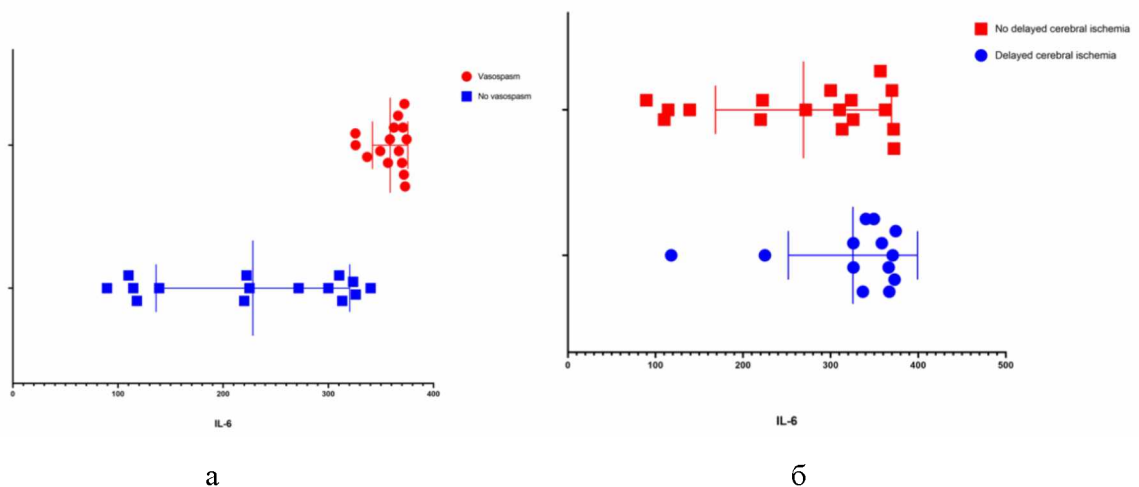


Рисунок 3.18 – Концентрація *IL-6* (пг/мл) у спинномозковій рідині основної пацієтів з вазоспазмом та відтерміную ішемією

Клінічний результат пацієнтів з аСАК при виписці оцінювали по шкалам наслідків Глазго (GOS) і модифікованої шкалі Ренкіна (mRS). Дихотомія на хороший клінічний результат і поганий клінічний результат за обома шкалами виявила значну різницю в рівнях ІЛ-6 у спинномозковій рідині. Рівні ІЛ-6 у спинномозковій рідині були значно вищими на початку захворювання у пацієнтів з САК з поганим клінічним результатом (GOS 1-3) за оцінкою GOS $357,3 (\pm 1,99)$ пг/мл, $224,7 (\pm 3,40)$ пг/мл ($p < 0,01$, КМУ). Спостерігалось значне підвищення рівня ІЛ-6 у спинномозковій рідині у пацієнтів із негативним клінічним результатом (mRS 3–6), оціненим за допомогою mRS, порівняно з пацієнтами з хорошим результатом (mRS 0-2). $359,2 (\pm 1,99)$ пг/мл, $229,8 (\pm 3,40)$ пг/мл ($p < 0,01$, КМУ).

3.2.2. СМР ФНП-а

Базові показники пацієнтів з аСАК, чії сироватки використовувалися для визначення. Ми проаналізували рівні ФНП-а у спинномозковій рідині пацієнтів з аСАК на ранньому етапі, на 3-й день від початку захворювання, до початку розвитку відтермінованих ускладнень. Рівні ФНП-а у спинномозковій рідині були значно підвищені у пацієнтів з аСАК на 3 добу порівняно з контрольними пацієнтами (рис. 3.19).

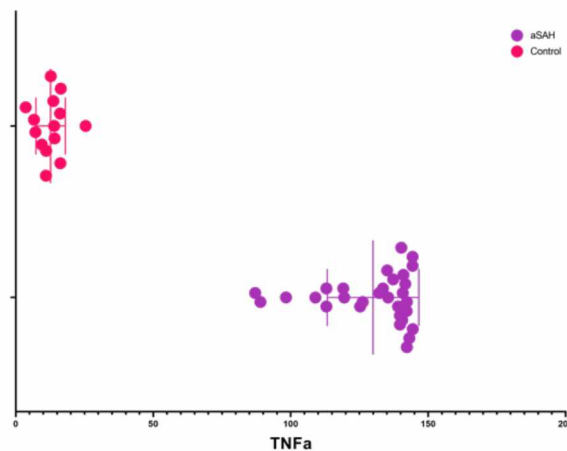


Рисунок 3.19 – Концентрація ІЛ-6 (пг/мл) у спинномозковій рідині основної та контрольної груп пацієтів

Середні (\pm SEM) рівні ФНП-а у лікворі пацієнтів з аСАК на 3-й день становили 138,2 (\pm 1,99) пг/мл та контрольної групи 13,9 (\pm 3,83) пг/мл відповідно ($p < 0,01$, КМУ).

ФНП-а при ускладненнях після аСАК

Для аналізу впливу рівнів ФНП-а у спинномозковій рідині на появу ускладнень після САК, ми розділили пацієнтів на групи, у яких розвинулися ускладнення, і тих, хто не мав цих ускладнень. Було виявлено, що рівні ФНП-а у спинномозковій рідині були значно підвищені після САК у пацієнтів, у яких спостерігався церебральний ангіоспазм 141,03 (\pm 1,99) пг/мл порівняно з 125,3 (\pm 3,40) пг/мл (рис. 3.20, а) ($p < 0,047$, КМУ). Подібним чином пацієнти, у яких була діагностована відтермінована церебральна мали підвищені рівні ФНП-а у спинномозковій рідині (рис. 3.20, б). 140,8 (\pm 1,99) пг/мл, 133,6 (\pm 3,40) пг/мл ($p = 0,046$, КМУ).

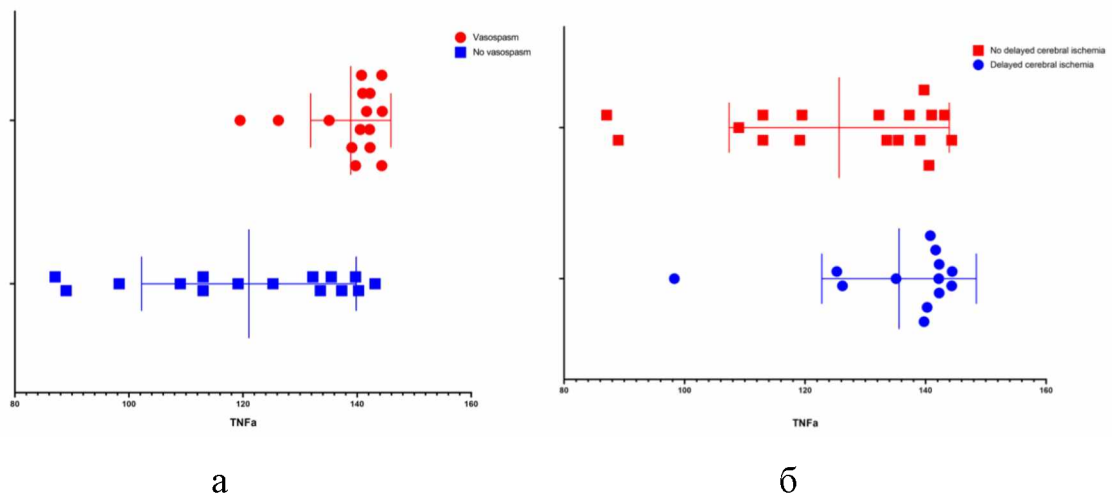


Рисунок 3.20 – Концентрація ФНП-а (пг/мл) у спинномозковій рідині основної пацієтів з вазоспазмом та відтерміноваю ішемією

Клінічний результат пацієнтів з аСАК при виписці оцінювали по шкалі наслідків Глазго (GOS) і модифікованої шкалі Ренкіна (mRS). Розділення на хороший -поганий клінічні результат за обома шкалами виявила значну різницю в рівнях ФНП-а у спинномозковій рідині. Рівні ФНП-а у

спинономозковій рідині були значно вищими на початку у пацієнтів з САК з поганим клінічним результатом (GOS 1-3) за оцінкою GOS 138,9 ($\pm 1,99$) пг/мл, з добрим клінічним результатом (GOS 4-5) за оцінкою GOS 121,7 ($\pm 3,40$) пг/мл ($p = 0,01$, КМУ). Спостерігалось значне підвищення рівня ФНП-а у спинономозковій рідині у пацієнтів із поганим клінічним результатом (mRS 3-6), оціненим за допомогою mRS, порівняно з пацієнтами з хорошим результатом (mRS 0-2). 133,8 ($\pm 1,99$) пг/мл, та 121,0 ($\pm 3,40$) пг/мл відповідно ($p = 0,030$, КМУ).

3.2.3. СМР ІЛ-10

Базові показники пацієнтів з САК, чий сироватки використовувалися для визначення представлені в таблиці 6. Ми проаналізували рівні ІЛ-10 у спинономозковій рідині пацієнтів з аСАК у три різні моменти часу, у день 3-й як ранній час, на 7 добу, коли найчастіше розвивається клінічний ангіоспазм та на 10 добу, яка є пізньою точкою під час перебігу захворювання. Середні рівні ІЛ-10 у спинономозковій рідині були значно підвищені у пацієнтів з аСАК на 3 добу порівняно з контрольними пацієнтами (рис. 3.21).

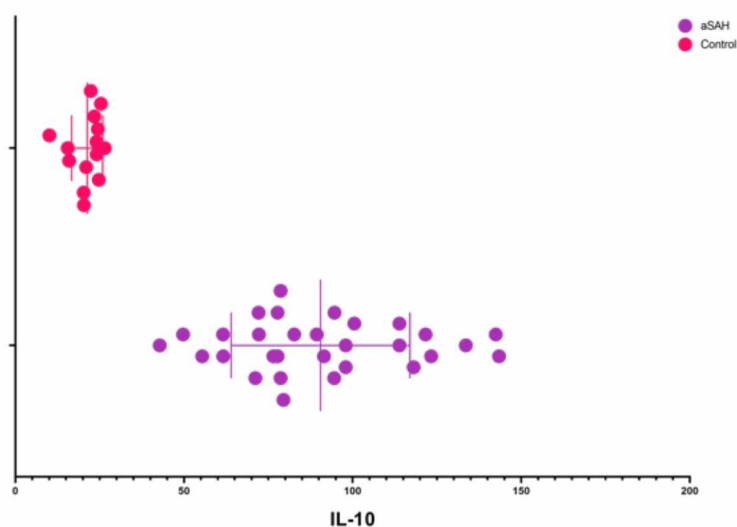


Рисунок 3.21 – Концентрація ІЛ-10 (пг/мл) у спинономозковій рідині основної пацієнтів з вазоспазмом та відтерміновою ішемією

Середні (\pm SEM) рівні IL-10 у лікворі пацієнтів з аСАК на 3-й день становили 86,05 (\pm 1,99) пг/мл та контрольної групи 22,9 (\pm 3,83) пг/мл відповідно ($p < 0,01$, КМУ).

СМР IL-10 при ускладненнях після аСАК

Для того, щоб проаналізувати вплив рівнів IL-10 на появу ускладнень після аСАК, ми розділили пацієнтів на групи, у яких розвинулися ускладнення, і тих, хто не мав цих ускладнень. Було виявлено, що рівні IL-10 у спинномозковій рідині були не значно підвищені на 3 добу після САК у пацієнтів, у яких спостерігався церебральний ангіоспазм 89,38 (\pm 1,99) пг/мл порівняно з 79,5 (\pm 3,40) пг/мл (рис. 3.22, а) ($p=0,3295$, КМУ).

Подібним чином пацієнти, у яких була діагностована відтермінована церебральна ішемія не мали підвищених рівнів IL-10 у спинномозковій рідині (рис. 3.22, б). 79,5 (\pm 1,99) пг/мл, 89,4 (\pm 3,40) пг/мл ($p = 0,796$, КМУ). Значення IL-10 у лікворі на 3 добу не досягли статистично значущої різниці між групами, у яких сформувались церебральний вазоспазм та відтермінована церебральна ішемія і без цих ускладнень.

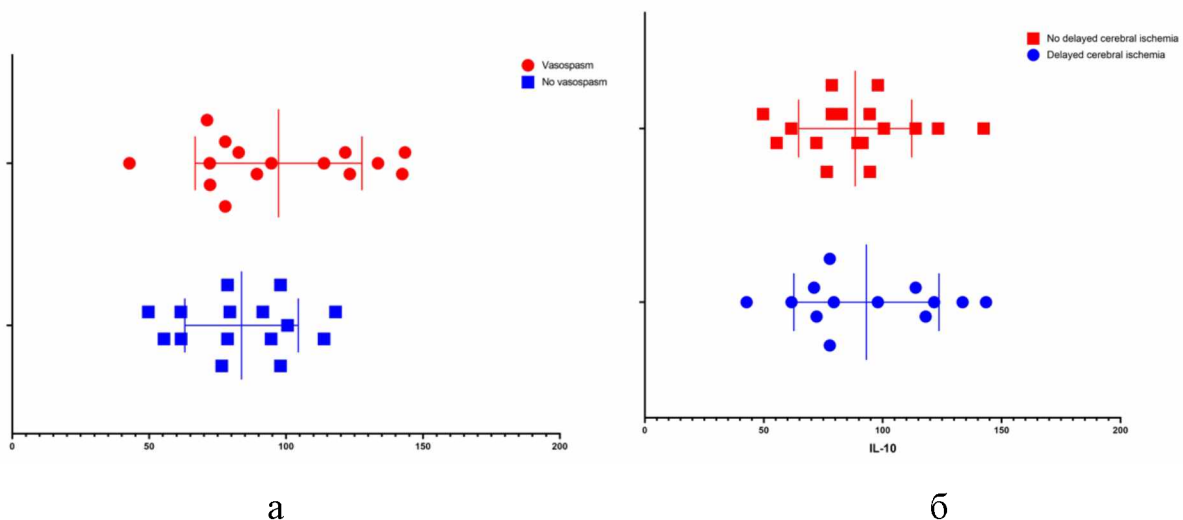


Рисунок 3.22 – Концентрація IL-10 (пг/мл) у спинномозковій рідині основної пацієнтів з вазоспазмом та відтермінованою ішемією

З'ясування питання, чи пов'язана ця відсутність статистично значущої різниці з реальною ситуацією, або є наслідком обмеженого об'єму вибірки лежить поза межі роботи та може розглядатися як напрямок подальших досліджень.

IL-10 у СМР і клінічний результат після аСАК

Клінічний результат пацієнтів з аСАК при виписці оцінювали по шкалі наслідків Глазго (GOS) і модифікованій шкалі Ренкіна (mRS). Дихотомія на хороший клінічний результат і поганий клінічний результат за обома шкалами виявила значну різницю в рівнях IL-10 у спинномозковій рідині. Рівні IL-10 у спинномозковій рідині були вищими на початку захворювання у пацієнтів з САК з поганим клінічним результатом (GOS 1-3) за оцінкою GOS (рис. 23А) 94,28 ($\pm 1,99$) пг/мл, 83,71 ($\pm 3,40$) пг/мл, але статистично значущої різниці не було отримано ($p = 0,1503$, КМУ).

Спостерігалось підвищення рівня IL-10 у спинномозковій рідині у пацієнтів із поганим клінічним результатом (mRS 3-6), який оцінювали за допомогою mRS, порівняно з пацієнтами з хорошим результатом (mRS 0-2). 92,44 ($\pm 1,99$) пг/мл, 80,44 ($\pm 3,40$) пг/мл, але також не досягли статистично значущих значень ($p = 0,1108$, КМУ). Ці залежності також можуть розглядатися як напрямок подальших досліджень.

3.2.4. СМР ІЛ-17

Ми проаналізували рівні IL-17 у спинномозковій рідині пацієнтів з аСАК на 3й день захворювання. Рівні IL-17 у спинномозковій рідині були значно підвищені у пацієнтів з аСАК порівняно з контрольними пацієнтами (рис. 3.23). Середні (\pm SEM) рівні IL-17 у сироватці крові пацієнтів з аСАК на 3-й день становили 1401,1 ($\pm 1,99$) пг/мл, та контрольної групи 8,10 ($\pm 3,83$) пг/мл відповідно ($p < 0,01$, КМУ).

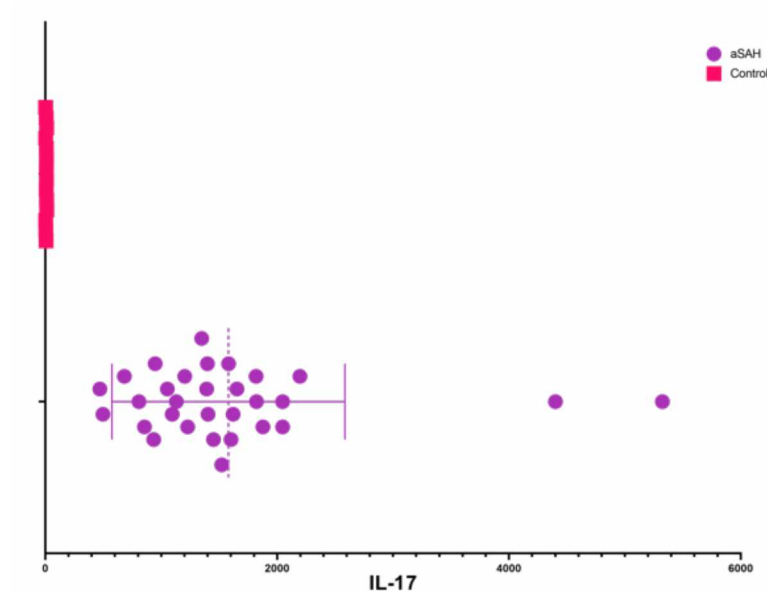


Рисунок 3.23 – Концентрація *IL-17* (пг/мл) у спинномозковій рідині основної пацієтів з вазоспазмом та відтерміною ішемією

СМР IL-17 при ускладненнях після аСАК

Для того, щоб проаналізувати вплив системних рівнів *IL-17* на появу ускладнень після аСАК, ми розділили пацієнтів на групи, у яких розвинулися ускладнення, і тих, хто не мав цих ускладнень. Було виявлено, що рівні *IL-6* у спинномозковій рідині були значно підвищені після аСАК у пацієнтів, у яких спостерігався відтермінована церебральна ішемія протягом усіх днів оцінки (рис. 3.24, а). 1654 ($\pm 1,99$) пг/мл, 1095,07 ($\pm 3,40$) пг/мл ($p < 0,01$, КМУ).

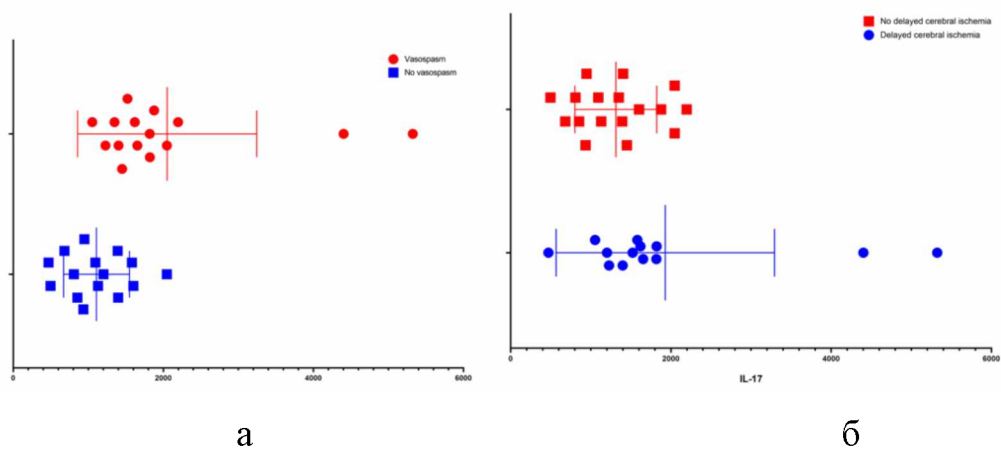


Рисунок 3.24 – Концентрація *IL-17* (пг/мл) у спинномозковій рідині основної пацієтів з вазоспазмом та відтерміною ішемією

Подібним чином пацієнти, у яких був діагностований ангіографічний вазоспазм, мали значно підвищені рівні ІЛ-17 у спинномозковій рідині 1582 ($\pm 1,99$) пг/мл, 1350,07 ($\pm 3,40$) пг/мл ($p < 0,194$, КМУ) (рис. 3.24, б), але не досягли статистично значущих відмінностей між групами. Висновки можуть розглядатися як напрямок подальших досліджень.

ІЛ-17 у СМР і клінічний результат після аСАК

Клінічний результат пацієнтів з аСАК при виписці оцінювали по шкалі наслідків Глазго (GOS) і модифікованій шкалі Ренкіна (mRS). Дихотомія на хороший клінічний результат і поганий клінічний результат за обома шкалами виявила значну різницю в рівнях ІЛ-17 у спинномозковій рідині. Рівні ІЛ-17 у спинномозковій рідині значно вищими на 3й день після крововиливу у пацієнтів з аСАК з поганим клінічним результатом (GOS 1-3) за оцінкою GOS (рис. 23А) 1582 ($\pm 1,99$) пг/мл, 1131 ($\pm 3,40$) пг/мл відповідно ($p = 0,0336$, КМУ). Спостерігалось значне підвищення рівня ІЛ-17 у спинномозковій рідині у пацієнтів із поганим клінічним результатом (mRS 3-6), оціненим за допомогою mRS, порівняно з пацієнтами з хорошим результатом (mRS 0-2). 1620 ($\pm 1,99$) пг/мл та 1350 ($\pm 3,40$) пг/мл відповідно ($p = 0,0284$, КМУ)

3.3. Визначення ролі TLR4 рецепторів у формуванні ускладнень субарахноїдального крововиливу

Для розуміння значення нейрозапалення і активації TLR4-nfKb залежного механізму запалення у спинномозковій рідині в розвитку ускладнень субарахноїдального крововиливу дослідження була проведена оцінка активації TLR4-рецепторів на CD14+ мононуклеарах у спинномозковій рідині в 45 пацієнтів, що перенесли аСАК у НДІ клінічної та експериментальної медицини ХНМУ.

Інтенсивність флуоресценції обраної популяції лейкоцитів реєстрували як середнє значення популяції клітин і середню інтенсивність флуоресценції. На підставі аналізу проточної цитометрії ми відмічали статистично значуще збільшення експресії TLR4 на CD14 + моноцитах у спинномозковій рідині було вище у групі з вазоспазмом ($p < 0,001$) (рис. 3.25).

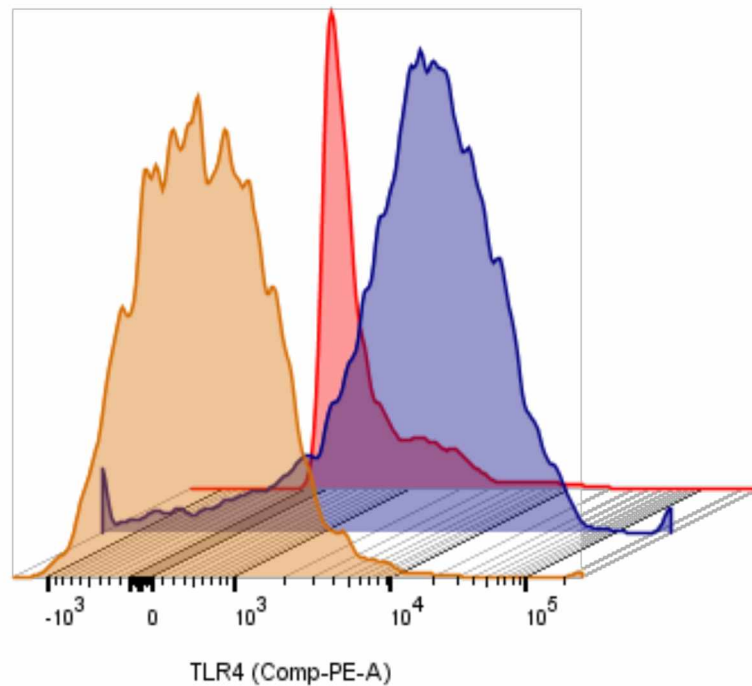


Рисунок 3.25 – Репрезентативні гістограми пацієнтів з церебральним вазоспазмом

Середня інтенсивність флуоресценції TLR4 отриманих із СМР пацієнтів із церебральним вазоспазмом також була значно вищою зі статистично підтвердженою різницею 10041 au. порівняно з 3892 au. ($p < 0,01$, КМУ). (рис. 3.26).

На підставі аналізу результатів дослідження за допомогою проточної цитометрії ми відмічали статистично значуще збільшення експресії TLR4 на CD14 + моноцитах у спинномозковій рідині було вище у групі з відтермінованою церебральною ішемією ($p < 0,01$, КМУ). (рис. 3.27).

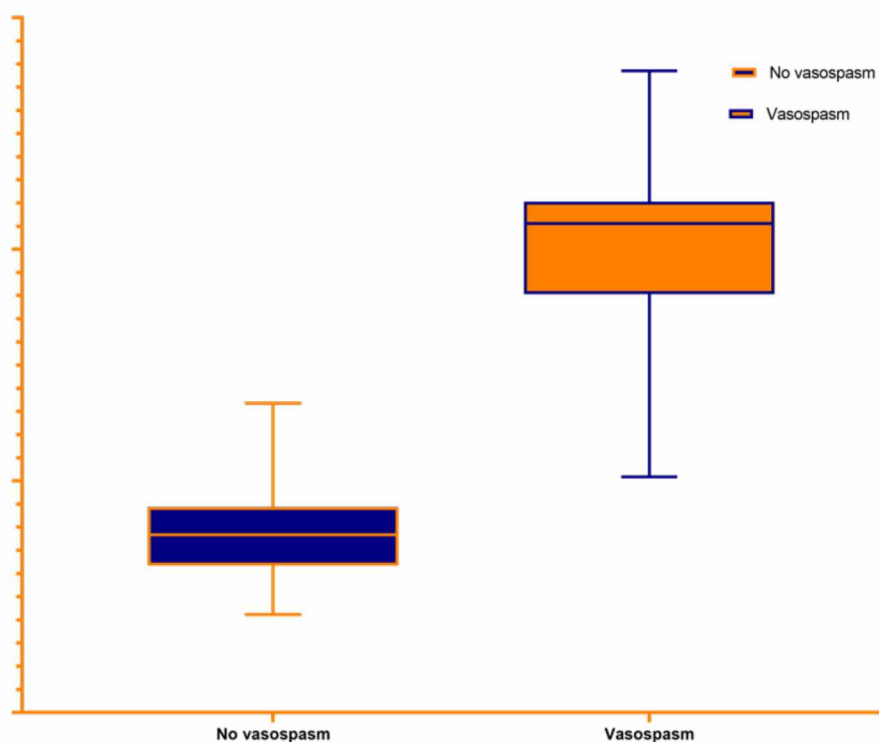


Рисунок 3.26 – Середня інтенсивність TLR4 на CD14 + мононклеарах у спинномозковій рідині у пацієнтів з ЦВ та без ЦВ

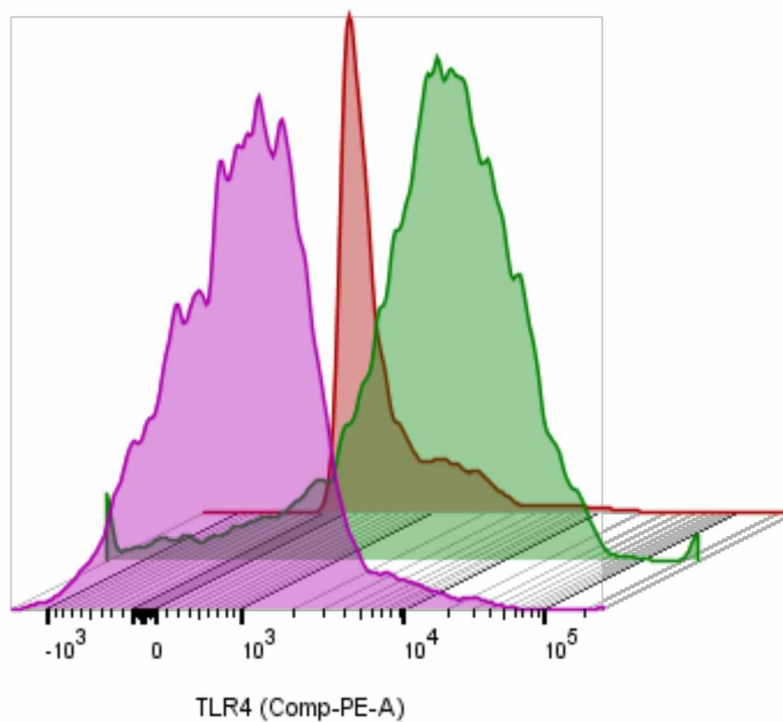


Рисунок 3.27 – Репрезентативні гістограми пацієнтів з відтерміною церебральною ішемією

Середня інтенсивність флюоресценції TLR4 отриманих із СМР пацієнтів із відтермінованою церебральною ішемією також була значно вищою зі статистично підтвердженою різницею 7681 аи. порівняно з 4182 аи. ($p < 0,01$, КМУ) (рис. 3.28).

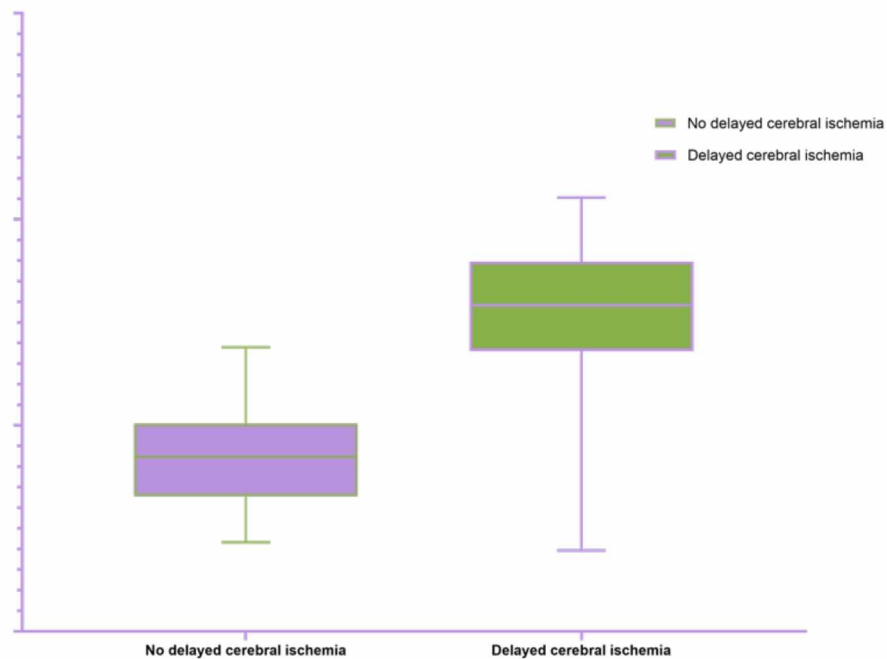


Рисунок 3.28 – Середня інтенсивність TLR4 на CD14 + мононклеарах у спинномозковій рідині у пацієнтів з ВЦІ та без ВЦІ

Ми порівняли рівні TLR4 із концентраціями прозапальних цитокінів у спинномозковій рідині. Вищі показники середньої інтенсивності флуоресценції (СІФ) TLR4 у спинномозковій рідині протягом трьох днів після аСАК позитивно корелювали як із рівнями IL-6 так і TNF- α .

Високий рівень середньої інтенсивності флюорисценції TLR4 був статистично значуще пов'язаний із несприятливим функціональним результатом через 3 місяці ($p < 0,01$, КМУ) за модифікованою шкалою Ренкіна.

Визначення ролі внутрішньоклітинних сигнальних шляхів TLR4 і ролі CD14+ у цих процесах є ключем до розуміння механізмів регуляції TLR4 –

індукованої запальної реакції при аутоімунних захворюваннях. Контроль активації TLR4 рецепторів може бути успішним інструментом для регуляції активації макрофагів і гліальних клітин, а розробка молекул, що діють на TLR4, є перспективною терапевтичною тактикою, що може змінити підхід до лікування та профілактики ускладнень САК. Визначення процесів ериптозу у спинномозковій рідині пацієнтів, що перенесли аСАК.

3.4 Визначення процесів ериптозу у спинномозковій рідині

Для розуміння значення процесів ериптозу в розвитку ускладнень субарахноїдального крововиливу та їх прогностичної цінності дослідження еритроцитів було проведено в 45 пацієнтів, що перенесли САК у НДІ клінічної та експериментальної медицини ХНМУ.

Фарбування еритроцитів анексином V застосовувалося для аналізу скремблінгу клітинної мембрани в еритроцитах пацієнтів. У подальшому всі пацієнти були поділені на групи з вазоспазмом та без нього та з формуванням відтермінованої ішемії та без неї.

Забарвлення анексином V-FITC використовували для виявлення ступеня транслокації фосфатидилсерину на зовнішній листок клітинної мембрани еритроцитів з метою характеристики ериптозу.

Відсоток аннексин-позитивних еритроцитів у пацієнтів із церебральним вазоспазмом був значно вищим порівняно з групою без вазоспазму 19,3 % та 4,1 % ериптотичних клітин відповідно ($p = 0,0017$, t-test) (рис. 3.29 а). Крім того, більш високі значення цього індексу були значно пов'язані з утворенням вогнищ відтермінованої церебральної ішемії 21,8 % та 4,1 % клітин відповідно ($p < 0,01$, t-test) (рис. 3.30 а).

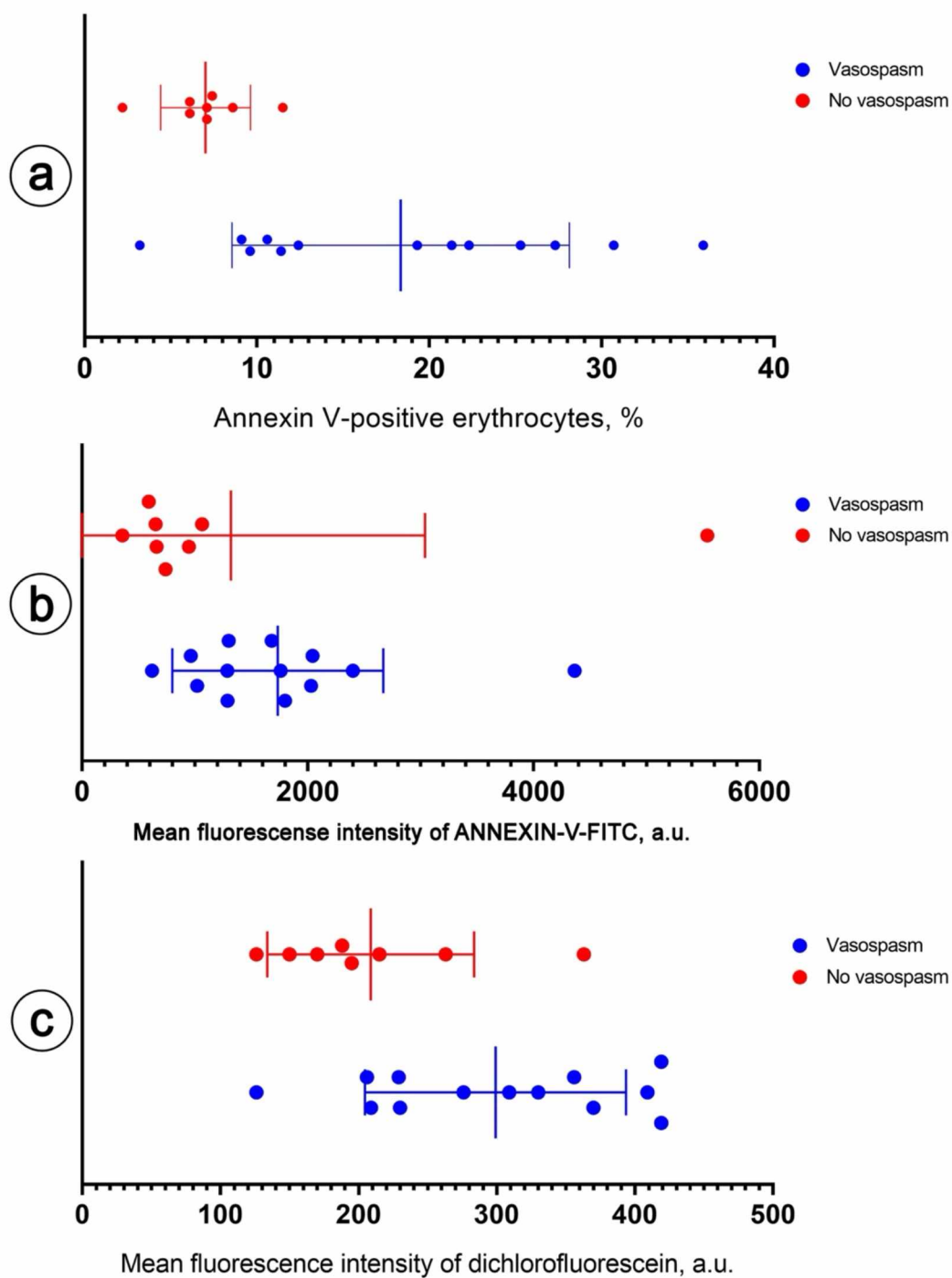


Рисунок 3.29 – Порівняльний аналіз показників проточної цитометрії еритрозу у ліковрі хворих із вазоспазмом та без нього. Фосфоліпідний скремблінг клітинних мембран в еритроцитах, оцінений за допомогою фарбування аннексином V (а і b) і оцінки генерації активних форм кисню (АФК) (с) в еритроцитах за допомогою зонда 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїндіацетату (H2DCFDA).

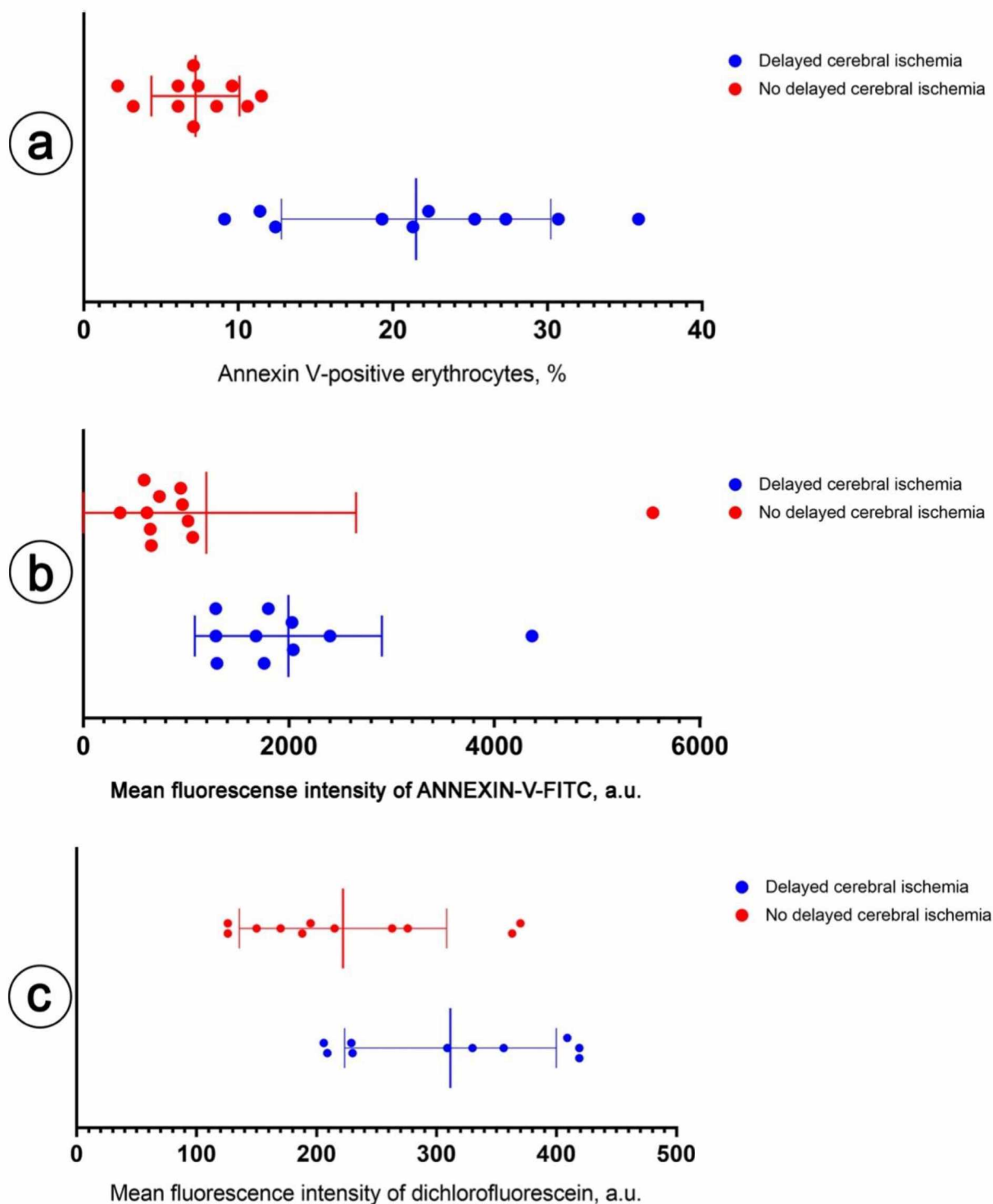


Рисунок 3.30 – Порівняльний аналіз показників проточної цитометрії еритроцитів у лікворі хворих із відтерміною церебральною ішемією та без неї. Фосфоліпідний скремблінг клітинних мембран в еритроцитах, оцінений за допомогою фарбування аннексином V (a і b) і оцінки генерації активних форм кисню (АФК) (c) в еритроцитах за допомогою зонда 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїндіацетату (H2DCFDA).

При порівнянні значень середньої інтенсивності флюоресценції (СІФ) аннексину-FITC в еритроцитах, отриманих із СМР пацієнтів із ЦВ порівняно з групою без вазоспазму, було виявлено статистично значуще 1680 а.у. та 701 а.у. ($p = 0,0199$, КМУ) відповідно підвищення цього параметра порівняно з групою без ЦВ (рис. 3.29 b).

Аналіз значень СІФ аннексину V-FITC у популяції аннексин V-позитивних еритроцитів виявили статистично значущі зміни ($p < 0,01$, КМУ) між цим параметром у групах пацієнтів з DCI 1780 а.у. та без нього 741 а.у. відповідно (рис. 3.29, b).

Одним з головних причин ериптозу є окислювальний стрес. Окислювально-відновний статус клітин крові оцінювався шляхом фарбування H2DCFDA, що дозволяє виявити рівень АФК всередині клітин. Генерацію АФК порівнювали серед пацієнтів із та без ЦВ та ВЦІ. Пацієнти з ЦВ мали вищі значення СІФ DCF в еритроцитах порівняно з пацієнтами без ЦВ 309 а.у. та 191,5 а.у. відповідно ($p = 0,0258$, КМУ) (рис. 3.29, c). Крім того, пацієнти з ВЦІ мали вищі значення СІФ DCF у еритроцитах 319,5 а.у. та 195 а.у. ($p = 0,0282$, КМУ) (рис.3.30, c). Репрезентативні гістограми доступні на рис. 3.30–3.31.

Прогностична чутливість ериптозу в порівнянні з ангиографічно підтвердженим вазоспазмом становить 92,31 %, специфічність – 87,5 %, позитивна прогностична цінність – 92,3 %, негативна прогностична цінність – 87,5 % (рис. 3.32, a).

У порівнянні з підтвердженим ВЦІ на основі зображення отримано, що для прогнозування чутливість цього тесту становить 100,00 %, специфічність – 72,73 %, позитивна прогностична цінність – 76,92 %, негативна прогностична цінність – 100,00 % (рис. 3.32, b).

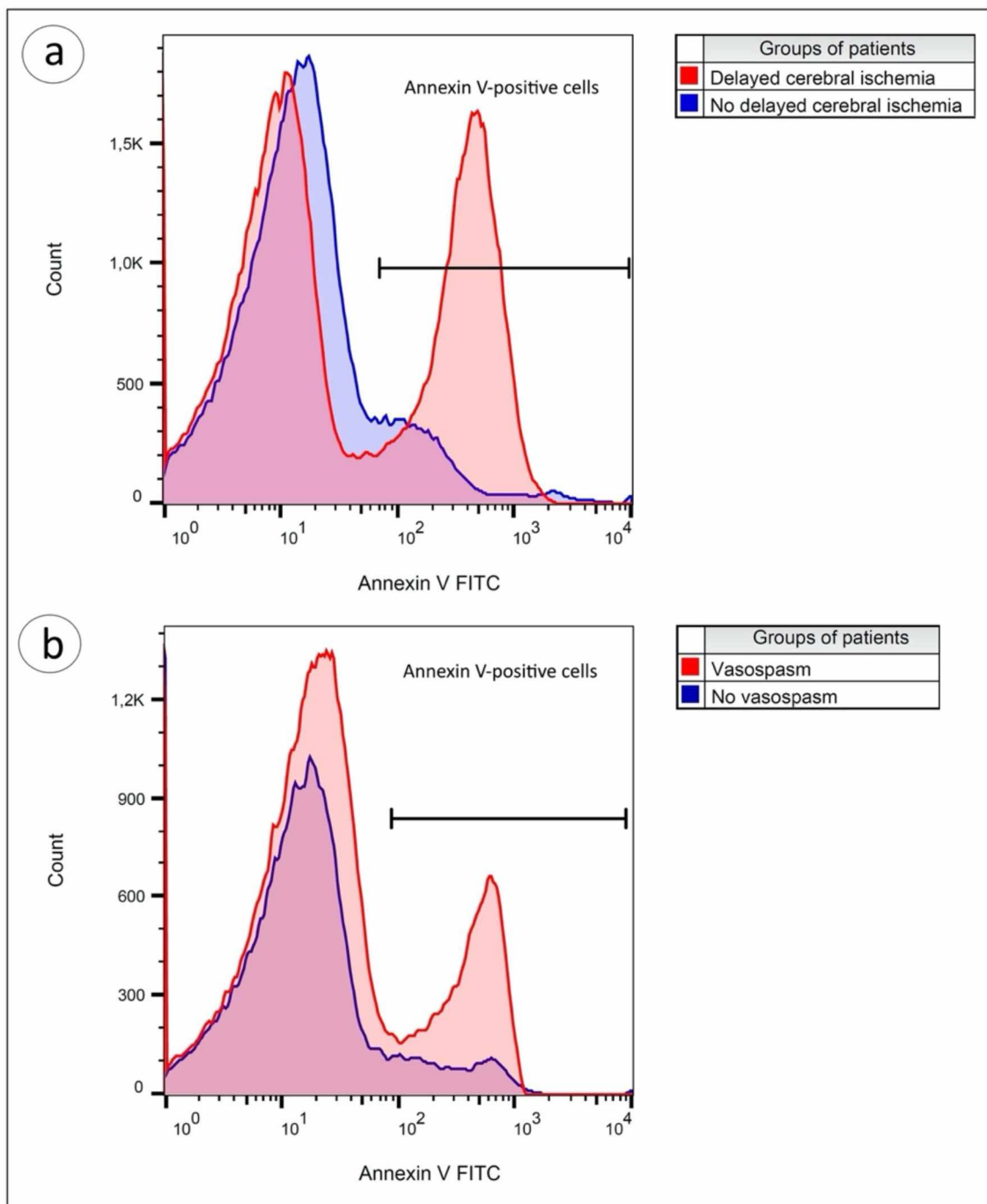


Рисунок 3.31 – Репрезентативні гістограми показують відмінності у кількості анексин V- позитивних клітин у пацієнтів з аСАК із та без відстроченої церебральної ішемії (панель a) та вазоспазму (панель b), відповідно.

На основі аналізу ROC-кривих ми визначили пороговий індекс на рівні 8,85% анексин-позитивних еритроцитів у лікворі для прогнозу спазму судин та відстроченої церебральної ішемії (рис. 3.32).

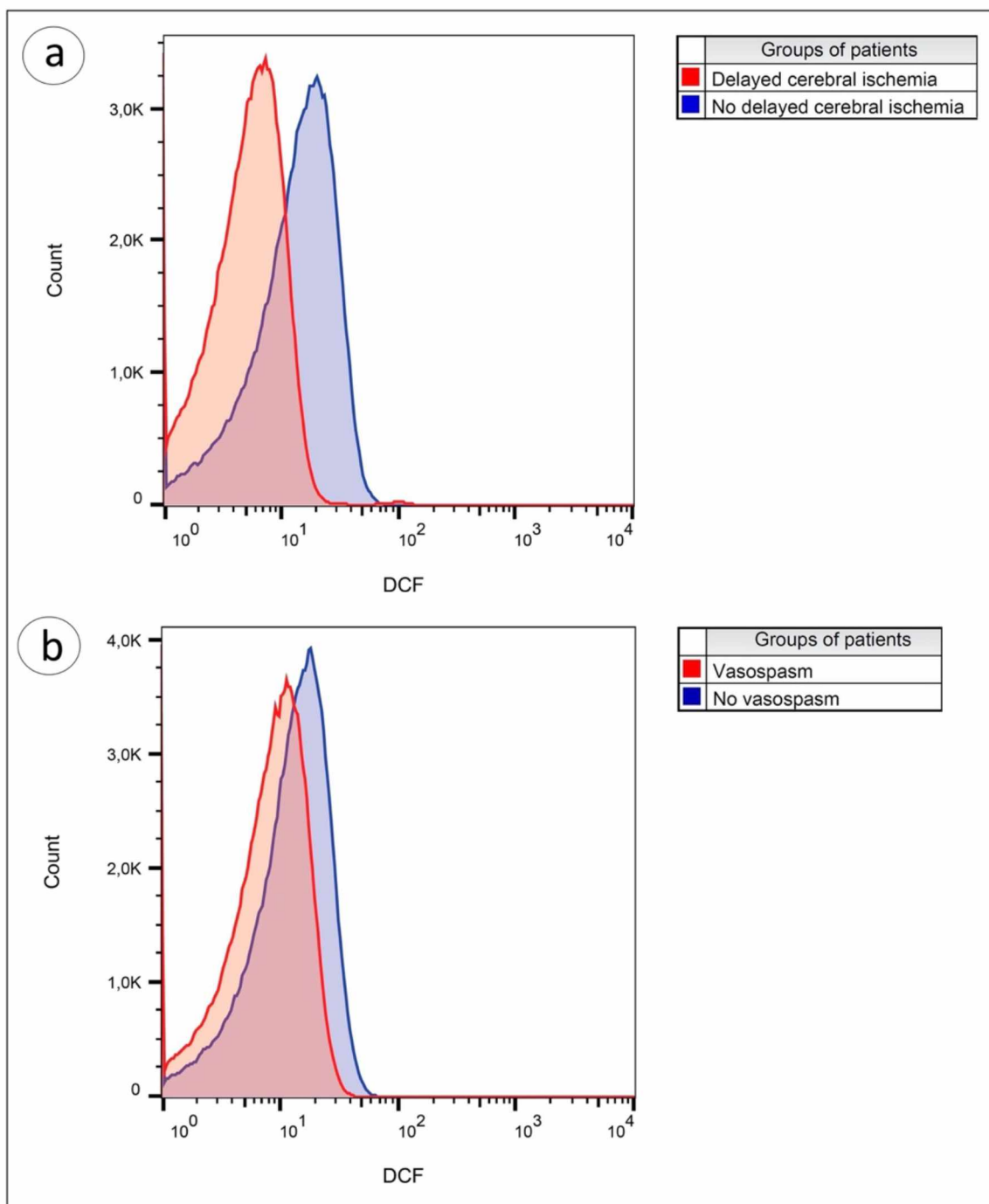


Рисунок 3.32 – Репрезентативні гістограми показують особливості продукції АФК у пацієнтів з аСАК із та без відстроченої церебральної ішемії (панель а) та вазоспазму (панель б), відповідно

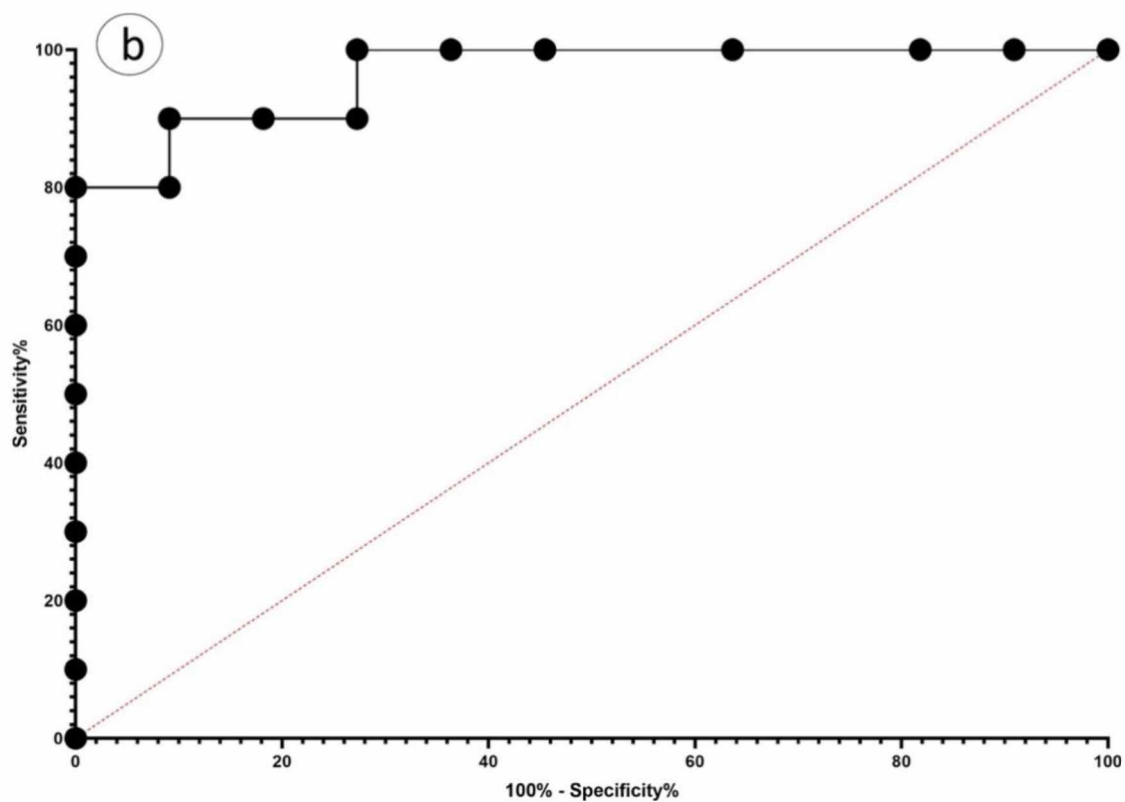
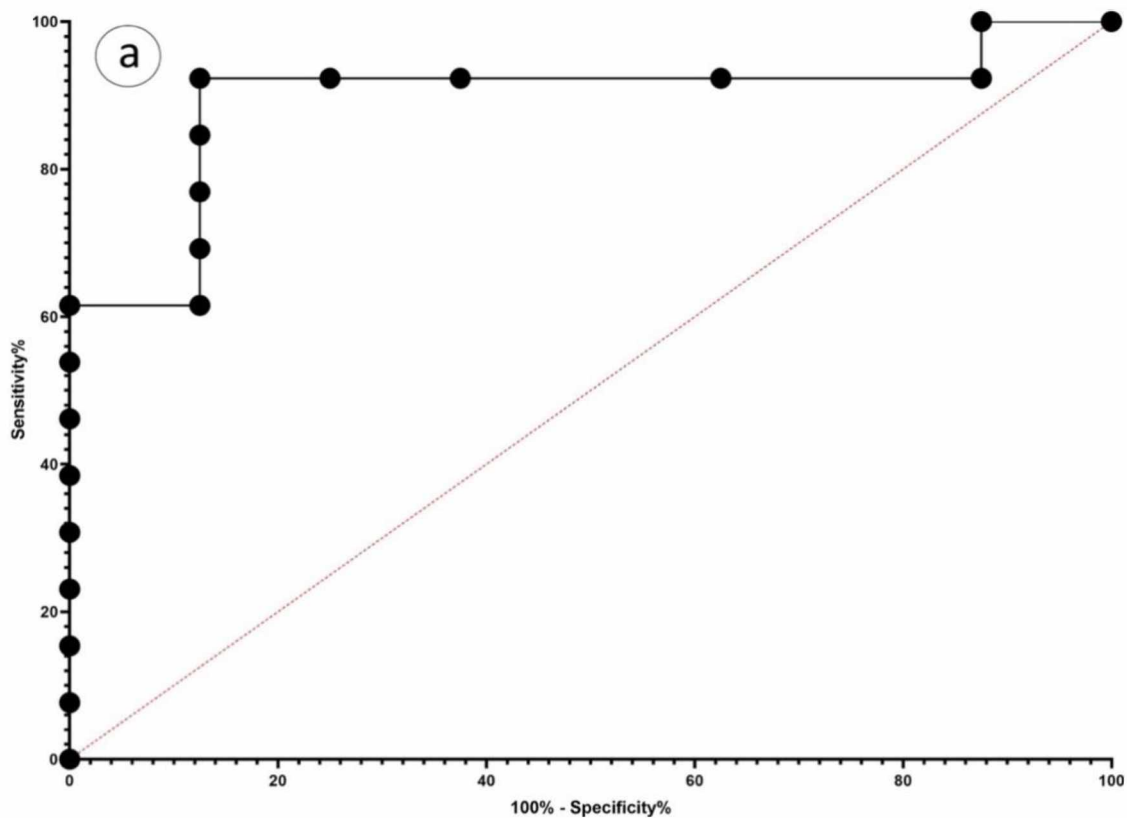


Рисунок 3.33 – Аналіз ROC- кривої для еритрозу в спинномозковій рідині у пацієнтів із церебральним вазоспазмом (а) та відтермінованою церебральною ішемією (b)

Вищий відсоток аннексин-позитивних еритроцитів у спинномозковій рідині після 3 днів аСАК мав місце в групі пацієнтів з поганим неврологічним результатом ($p < 0,01$, ККУ).

3.5 Висновки до розділу 3

1. Найбільш поширеними симптомами серед пацієнтів із аСАК були раптовий сильний головний біль (85 %), нудота та блювання (62 %), а також порушення свідомості різного ступеня (47 %). У половини пацієнтів були присутні менінгеальні симптоми. Локалізація аневризми здебільшого охоплювала передню мозкову та передню сполучну артерії (42,2 %), середню мозкову артерію (26,7 %) та внутрішню сонну артерію (20 %). Клінічна картина та локалізація аневризми відповідають типовим даним, наведеним у літературі, що підвищує репрезентативність вибірки дослідження. Більшість пацієнтів були госпіталізовані у стані середньої або тяжкої важкості (за шкалою Hunt-Hess). У 44% хворих діагностовано церебральний ангіоспазм, а у 60 % – відтерміновану церебральну ішемію, що підкреслює високу частоту ускладнень серед вибірки. Серед методів хірургічного лікування переважало мікрохірургічне кліпування аневризми (72 %) над ендovasкулярною емболізацією (28 %). Вибір методу залежав від локалізації, розміру аневризми та стану пацієнта.

2. Високі рівні прозапальних цитокінів, зокрема IL-6 та TNF- α , асоціюються із підвищеним ризиком розвитку вазоспазму та відтермінованої ішемії. Це підтверджує їхню прогностичну цінність у пацієнтів із аневризматичним субарахноїдальним крововиливом (аСАК).

3. Експресія TLR4 на CD14+ моноцитах демонструє значне підвищення у пацієнтів із ускладненнями аСАК. Цей показник може використовуватися як маркер запальної активності та нейрозапалення, що сприяє розвитку ішемічних уражень, а також може у подальшому використовуватись як мішень для індивідуалізованих схем лікування хворих.

4. Підвищення рівня ериптозу (анексин-позитивні еритроцити) асоціюється з формуванням вазоспазму. Це відкриває перспективи використання показників ериптозу для прогнозування ускладнень аСАК.

5. Отримані результати підтверджують необхідність інтеграції оцінки цитокінів, експресії TLR4 та ериптозу в клінічну практику. Це може знизити частоту тяжких ускладнень, таких як церебральний ангіоспазм та відтермінована ішемія. Крім того, наші результати свідчать про те, що індекси ериптозу можуть служити багатообіцяючим діагностичним і прогностичним інструментом при САК.

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Церебральний ангіоспазм та відтермінована церебральна ішемія залишаються одними з найважливіших ускладнень аневризматичного субарахноїдального крововиливу (аСАК). За даними численних досліджень, частота вазоспазму коливається від 30 % до 70 %, а відтермінована ішемія розвивається у 20–40 % пацієнтів. Одними із найважливіших питань, які потребують подальшого вивчення, є питання патогенезу і об'єктивізації цих ускладнень. Наприклад, дослідження підтвердили важливість прозапальних цитокінів, таких як IL-6 і TNF- α , у формуванні цих ускладнень [158]. Інші роботи вказують на значення Toll-like рецепторів, зокрема TLR4, у патогенезі нейрозапалення, пов'язаного з аСАК [61, 97]. Особливо перспективним є вивчення ериптозу, процесу програмованої загибелі еритроцитів у спинномозковій рідині, яке є першим подібним дослідженням. Отже, комплексне вивчення цитокінів, TLR4 та ериптозу є надзвичайно важливим для оптимізації діагностики та лікування аСАК.

У дослідженні взяли участь 60 пацієнтів віком від 19 до 78 років (середній вік – $46,7 \pm 11,6$ років). Розподіл за статтю: 51 % чоловіків та 49 % жінок. Серед пацієнтів основної групи ($n = 45$) субарахноїдальний крововилив було діагностовано у 35,6%, субарахноїдально-паренхіматозний крововилив – у 22,2 %, субарахноїдально-вентрикулярний – у 22,2 %, комбінований варіант – у 20 %.

Локалізація аневризм частіше включала передню напівциркуляцію: передню сполучну артерію (42,2 %), середню мозкову артерію (26,7 %) та внутрішню сонну артерію (20 %). У 44 % пацієнтів розвинувся церебральний ангіоспазм, а відтермінована ішемія була зафіксована у 60 %. Ці дані співставні з результатами Schönfeld et al. (2018), які також описували подібні показники частоти ускладнень у пацієнтів із аСАК.

Аневризматичний субарахноїдальний крововилив найчастіше виникає внаслідок розриву аневризми церебральної артерії, що призводить до

потрапляння крові в субарахноїдальний простір, що призводить до серії ранніх неврологічних і відтермінованих ускладнень. [102–159] Постсубарахноїдальний церебральний вазоспазм є основною причиною захворюваності та смертності. Багатьом хворим остаточно діагноз встановлюють після того, як ішемічні ускладнення вже виникли і патогенетичний процес важко змінити. Ключовим моментом для успішного лікування вазоспазму є передбачення виникнення спазму судин. Патофізіологія ВЦІ та вторинних інфарктів залишається неясною, але запальна реакція, викликана церебральним крововиливом, може відігравати значну патогенетичну роль [150–157].

Після аСАК компоненти гематоми потрапляють у паренхіму головного мозку разом із спинномозковою рідиною, викликаючи низку деструктивних реакцій, які призводять до загибелі клітин нейронів. Компоненти гематоми в основному складаються з еритроцитів, їх лізату та гемоглобіну тощо [30]. Гемоглобін і молекулярні фрагменти асоційовані з ураженням, що вивільняються з еритроцитів, мають сильний цитотоксичний ефект, який, як було продемонстровано в теперішньому дослідженні, викликає загибель нейронних клітин [152–154].

IL-6 і TNF- α є прозапальними цитокінами, які регулюють численні фізіологічні процеси [124, 158]. Дослідження демонструють, що IL-6 і TNF- α відіграють важливу роль у пошкодженні мозкової тканини, але основний механізм недостатньо вивчений [175]. Ми провели дослідження за типом «випадок-контроль», щоб дослідити взаємозв'язок між розвитком ускладнень САК та рівнями IL-6, IL-10, IL-17 і TNF- α у СМР.

аСАК є поширеним захворюванням, які спричиняють цереброваскулярні ушкодження, і після аСАК у субарахноїдальному просторі швидко виникає запалення. Наші результати показали, що рівні IL-6, IL-10, IL-17 і TNF- α у СМР пацієнтів із аСАК були вищими, ніж у здорових контрольних осіб, і їхні рівні були більшими відповідно до тяжкістю захворювання, що свідчить про підвищення синтезу прозапальних та протизапальних

цитокінів в СМР може бути пов'язаний із прогресуванням ускладнень аСАК [19].

У нашому дослідженні концентрації ІЛ-6 у спинномозковій рідині були збільшені статистично значуще у пацієнтів із аСАК, у яких розвинувся церебральний вазоспазм і відтермінована церебральна ішемія, у порівнянні з групою без цих ускладнень. Рівні ІЛ-6 були значно підвищені у пацієнтів із вазоспазмом (366,3 пг/мл) та відтермінованою ішемією (349,3 пг/мл) порівняно з пацієнтами без ускладнень ($p < 0,01$, КМУ), що свідчить про те, що запальні реакції, опосередковані ІЛ-6, можуть відігравати важливу роль у прогресуванні ускладнень аСАК [81]. У сукупності ці результати свідчать про те, що підвищений рівень ІЛ-6 у лікворі може впливати на прогресування аСАК і може бути предиктором поганих клінічних результатів у пацієнтів із САК [68].

TNF- α є ключовим цитокіном у запальному каскаді та відіграє важливу роль у захисті організму від інфекцій. Наше дослідження типу «випадок-контроль» підтвердило, що різко підвищений рівень TNF- α також корелює з утворенням церебрального вазоспазму та відстроченими ускладненнями аСАК, такими як ВЦІ [20, 76]. Сучасні теорії, що гіпотезують формування ВЦІ, включають порушення фібринолітичної активності, активацію запального каскаду та ендотеліальну дисфункцію, що призводить до утворення мікротромбів, які активують підвищення активності TNF- α . Наші висновки узгоджуються з попередніми дослідженнями [22, 73]. Концентрація TNF- α також виявилася підвищеною у пацієнтів із ускладненнями (141,03 пг/мл при вазоспазмі, $p < 0,01$, КМУ). Ці результати показали, що як TNF- α , так і ІЛ-6 відіграють важливу роль у розвитку церебрального вазоспазму та відтермінованої церебральної ішемії після аСАК і можуть використовуватися як потенційні біомаркери для раннього виявлення.

Було доведено, що функція ІЛ-17 різноманітна, оскільки він не тільки сприяє патогенному запаленню, але й індукує гострий імунний захист, подібний до вродженого. [21] Таким чином, ІЛ-17А є не просто фактором

запалення, а також імунокоректором. Хоча специфічний механізм ІЛ-17А при нейродегенеративних захворюваннях все ще залишається суперечливим. Загальновизнаним є те, що ІЛ-17А викликає захворювання шляхом активації гліальних клітин. Функції ІЛ-17А виявилися більш адаптивними та різноманітними, ніж передбачалось спочатку. Наші висновки про те, що рівень ІЛ-17 був різко підвищений у пацієнтів із САК, у яких розвинувся церебральний вазоспазм, але не у тих, у кого розвинулася відстрочена церебральна ішемія, можуть бути пов'язані з терміном забору зразка СМР і повинні бути досліджені пізніше після початку аСАК [125]. Рівні ІЛ-17 були найвищими у пацієнтів із відтермінованою ішемією (1654 пг/мл, $p < 0,01$, КМУ).

ІЛ-10 вважається протизапальним цитокином, його підвищення як при геморагічному, так і при ішемічному інсульті корелює з тяжкістю захворювання та гіршим прогнозом у пацієнтів [31]. В даний час вважається, що підвищені рівні ІЛ-10 відображають баланс між прозапальними цитокинами та протизапальними цитокинами. Вважається, що високий рівень ІЛ-10 спричинений надмірною реакцією на запальний стимул [143].

У наших результатах ми не спостерігали кореляції з рівнями ІЛ-10 у спинномозковій рідині, яку відмічали на 3-й день після виникнення крововиливу та церебрального вазоспазму та відстроченої церебральної ішемії у подальшому. Цілком імовірно, що здатність ІЛ-10 впливати на прозапальне середовище відрізняється для різних форм гострого ураження головного мозку [39]. Сповільнений синтез ІЛ-10, можливо призводить до тривалого запалення, яке посилює вторинне ураження мозку, що призводить до гірших результатів. Цікаво, що ІЛ-10, незважаючи на підвищення загального запалення, не мав значущої різниці між групами, що може свідчити про його менш виражену роль у патогенезі ускладнень.

Гостра запальна відповідь після аСАК є складним і багатофакторним каскадом із великими міжіндивідуальними варіаціями між клітинним та гуморальним імунітетом, і не може бути адекватно описана лише кількома

цитокінами. Запальна реакція є процесом, що залежить від часу, і підвищення різних параметрів не можна описати лише на ранній стадії захворювання, їх необхідно досліджувати в динаміці [97].

Регуляція більшості прозапальних цитокінів відбувається внаслідок активації TLR4 сигнального ланцюга. Шлях TLR4 є важливим у багатьох неврологічних розладах, пов'язаних із нейрозапаленням [174, 178]. DAMP, що з'являються в ЦНС внаслідок різних дисрегуляцій або пошкоджень, зв'язуються з TLR4, що призводить до активації внутрішньоклітинного запального каскаду, яка завершується вивільненням прозапальних молекул [123, 156].

Нейрозапалення, з особливою увагою до шляху TLR4, все більше стає предметом обговорення індивідуальної терапії після аСАК, щоб захистити тих, хто вижив, від несприятливих результатів [49, 171, 174]. Таким чином, вищезазначені учасники цього шляху можуть бути важливими мішенями у клінічних умовах для отримання інформації про запальний статус і, крім того, можуть стати потенційними мішенями для майбутніх протизапальних методів лікування [53, 66].

Передача сигналів TLR4 шляхом залучення гена первинної відповіді 88 на міелоїдну диференціацію (MyD88) завершується активацією ядерного фактора каппа В (NF- κ B) і мітоген-активованих протеїнкіназ, які все частіше визнаються вирішальним гравцем у патогенезі пошкодження нейронів після аСАК [57, 18].

Будучи однією з найважливіших молекул, розташованих нижче за течією, у сигнальному шляху TLR4, NF- κ B є фактором транскрипції, необхідним для експресії генів багатьох медіаторів запалення, таких як інтерлейкін-1 β (IL-1 β), фактор некрозу пухлини- α (TNF- α), інтерлейкін-6 (IL-6), молекула міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1) і білок-1 хемоаттрактанта моноцитів (MCP-1), усі з яких були вивчені в літературі та у нашому дослідженні, демонструючи значний зв'язок із патофізіологією ускладнень аСАК [176–178].

Крім того, нами показано, що експресія TLR4 на CD14+ моноцитах була значно вищою у пацієнтів із вазоспазмом (10041 au) та ішемією (7681 au) порівняно з пацієнтами, у яких ці ускладнення не розвинулись ($p < 0,0001$).

Ці дані відображають, що підвищений рівень експресії TLR4 на CD14+ моноклеарах спинномозкової рідини відображає потенційний розвиток ЦВ та ВЦІ та прогнозує 3-місячний невтішний неврологічний результат у пацієнтів, що перенесли аСАК.

Також було продемонстровано, що ускладнення аСАК, такі як ВС та ВЦІ, пов'язані з екстерналізацією фосфатидилсерину в клітинних мембранах і надлишковою продукцією АФК в еритроцитах. Чітко визначеними ознаками апоптозу є фосфоліпідне зморщування і окислювальний стрес, спричинений АФК [181]. Таким чином, наші спостереження свідчать про те, що еритроцити активуються в спинномозковій рідині пацієнтів з аСАК, ускладненим ВС та ВЦІ, і ми вважаємо, що фізіологічно це може полегшити очищення еритроцитів через опосередкований фосфатидилсерином ефероцитоз, таким чином запобігаючи гемолізу та вторинному пошкодженню мозку завдяки активації еритроцитарної DAMP-опосередкованої імунної відповіді [30, 137, 181]. Ця гіпотеза узгоджується з повідомленнями, які наголошують на пошкодженні нейронів, гліальних клітин і ендотеліальних клітин у мозку через лізовані еритроцити [164, 168]. Інший описаний механізм загострення нейрозапалення пов'язаний із вивільненням геміну та заліза з лізованих еритроцитів, що може сприяти фероптозу, прозапальної гемолітичної запрограмованої загибель клітин, керована залізом [187]. Важливо зазначити, що клітини мікроглії було продемонстровано, що вони мають вищу фагоцитарну активність [138, 171]; отже, вони можуть сприяти видаленню еритроцитів. Крім того, ефероцитоз еритроцитів може зменшити запалення, індукуючи зміни у фенотипах макрофагів, які охоплені цими еритроцитами, перемикаючи їх на

протизапальні та пророзчинні фенотипи. Таким чином, можна припустити, що прискорення ериптозу при аСАК є компенсаторним і спрямоване на послабити вторинне пошкодження нейронів. Примітно, що прискорений ериптоз із аномальним скремблунням фосфоліпідів і накопиченням АФК часто зустрічається при геморагічному інсульті [187]. Вірогідно, що індукція ериптозу є універсальною реакцією на крововилив у центральній нервовій системі [142, 162, 179]. Однак потрібні більш ретельно сплановані дослідження, щоб внести ясність на вплив ериптозу та ефероцитозу еритроцитів на імунну відповідь і вторинне пошкодження нейронів при крововиливах у мозок [111].

Отримані дані, підтверджують кореляцію між вищим відсотком ериптозних клітин відповідно до СМР та тяжкості ВС та ВЦІ. Показник анексин-позитивних еритроцитів (маркера ериптозу) був значно вищим у пацієнтів із вазоспазмом (19,3 %) та відтермінованою ішемією (21,8 %) порівняно з пацієнтами без ускладнень ($p < 0,01$, t-test). Аналіз показав, що ця кореляція в першу чергу можлива внаслідок генерації високих рівнів АФК у спинномозковій рідині пацієнтів ($p = 0,02586$ КМУ), у яких розвиваються вторинні інфаркти. Крім того, ми не виявили кореляції між рівнем ериптозу з та об'ємом крововиливу за даними СКТ за шкалою mFisher пацієнтів при надходженні. Важливо, що наші дані підкреслюють роль ериптозу в патофізіології ускладнень аСАК, оскільки досліджувані параметри були оптимальними предикторами вазоспазму. Проте розвиток вазоплазму не можна виключити на основі оцінки параметрів ериптозу. Навпаки, ВЦІ можна виключити без прогнозування його розвитку. Крім того, наші результати свідчать про те, що індекси ериптозу можуть служити багатообіцяючими діагностичними та прогностичними критеріями для аСАН. Ми також виявили, що максимальна кількість ериптозних клітин у спинномозковій рідині позитивно корелює з поганими неврологічними результатами після аСАК протягом 3 місяців спостереження за

модифікованою шкалою Ренкіна. Аналіз ROC-кривих підтвердив високу чутливість (92%) та специфічність (87%) цього маркера для прогнозування вазоспазму.

На відміну від добре вивченого апоптозу, наявні знання про ериптоз є відносно обмеженими, і ще багато чого належить дослідити з точки зору клітинних механізмів, залучених до ериптозу, та його ролі в патологічних станах як у цілому, так і при аСАК.

Виконане дослідження демонструє значення використання біомаркерів, таких як IL-6, TNF- α , експресія TLR4 та ступінь ериптозу у спинномозковій рідині, для покращення ранньої діагностики та профілактики ускладнень. Подальше удосконалення терапевтичних підходів із застосуванням інгібіторів TLR4 або регуляторів ериптозу може значно знизити ризик вазоспазму та ішемії [84].

Практичне впровадження результатів дослідження передбачає створення стандартизованих протоколів діагностики, що включатимуть аналіз ериптозу як ключового показника тяжкості ускладнень після перенесеного аСАК [130].

Комплексний підхід до аналізу цитокінів, TLR4 та ериптозу дозволяє визначати ризики розвитку ускладнень у пацієнтів із аСАК та вдосконалювати алгоритми їх лікування. Отримані результати створюють підґрунтя для подальших досліджень і впровадження нових методів профілактики та терапії церебральних ускладнень [8, 135].

Висновки дослідження дозволяють рекомендувати включення оцінки цитокінового профілю та ступеня ериптозу до стандартів клінічного спостереження за пацієнтами з аСАК. Це сприятиме зниженню частоти ускладнень та підвищенню ефективності лікування.

ВИСНОВКИ

У результаті дисертаційного дослідження встановлено, що розвиток церебрального вазоспазму та відтермінованої церебральної ішемії при аневризматичному субарахноїдальному крововиливі не завжди корелює з об'ємом крововиливу за шкалою mFisher, що свідчить про недостатність традиційних шкал для оцінки ризику ускладнень. Патогенетичним підґрунтям формування віддалених ускладнень є активація TLR4-залежного механізму нейрозапалення, підвищення рівнів прозапальних цитокінів (IL-6, TNF- α , IL-17) у спинномозковій рідині, а також інтенсифікація процесів еритролізу, які супроводжуються оксидативним стресом і пошкодженням клітинних мембран еритроцитів. Визначення порогового рівня анексіно-позитивних еритроцитів дозволяє прогнозувати ймовірність розвитку вазоспазму та ішемічних ускладнень. Отримані результати підтверджують доцільність пошуку і впровадження нових біомаркерів нейрозапалення та оксидативного стресу для стратифікації ризику ускладнень, а також відкривають перспективи використання TLR4 як потенційної мішені для патогенетично обґрунтованої терапії у хворих на аСАК.

1. У пацієнтів із аСАК, верифікованих за даними СКТ та СКТ-ангіографії чи селективної церебральної ангіографії, розвиток ЦВ спостерігався у 44 % випадків, а ВЦІ – у 60 %. Дані свідчать, що у хворих із більш вираженим крововиливом за даними СКТ головного мозку (за шкалою mFisher) ризик ЦВ та ВЦІ не був вищий ($p < 0,005$), що підтверджує необхідність пошуку нових прогностично цінних маркерів оцінки початкового стану пацієнта.

2. У пацієнтів з аСАК, у яких розвинулись віддалені ускладнення, відмічається підвищення синтезу прозапальних цитокінів IL-6, TNF- α , IL-17 у відповідних групах пацієнтів ($p = 0,01$) у спинномозковій рідині. Збільшення концентрації прозапальних цитокінів мало статистично значущий вплив на

формування церебрального вазоспазму ($p < 0,01$, КМУ) та відтермінованої церебральної ішемії ($p < 0,01$, КМУ), що призводило до негативного функціонального відновлення хворих пацієнтів за модифікованою шкалою Ренкіна ($p = 0,01$, ККУ) через 3 місяці.

3. Активація Toll-подібного рецептора 4 (TLR4) залежного механізму нейрозапалення у спинномозковій рідині та мікроглії призводить до формування церебрального вазоспазму та відтермінованої церебральної ішемії хворих на аСАК. У пацієнтів з церебральним ангіоспазмом середня інтенсивність флюорисценції TLR 4 становила 10041 а.о. на відміну від 3892, у кого його не було ($p < 0,01$, КМУ). При порівнянні пацієнтів з формуванням відтермінованої церебральної ішемії відмічалась таж сама закономірність 7681 а.о. та 4182 а.о ($p < 0,01$, КМУ). Використання TLR4-залежного механізму як потенційної мішені терапії у пацієнтів із аСАК може сприяти зниженню оксидативного стресу та інгібуванню запальної відповіді.

4. Встановлено, що активація процесів ериптозу в еритроцитів у лікворі пацієнтів з аСАК супроводжується розвитком оксидативного стресу, підвищенням рівня внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК) та зміною фізико-хімічних властивостей фосфоліпідного бішару клітинних мембран. Зниження гідратації мембран сприяє апоптозу еритроцитів. Проведене фарбування Annexin V виявило статистично значуще підвищення показників флуоресценції Annexin V-FITC ($p = 0,0262$ КМУ) і DCF ($p = 0,0176$, КМУ), що асоціюється з посиленням перекисним окисленням ліпідів. Це може свідчити про значну роль ериптозу та оксидативного стресу в патогенезі ускладнень аневризматичного субарахноїдального крововиливу. Збільшення відсотку ериптотичних клітин у спинномозковій рідині було відмічено у групах пацієнтів з церебральним вазоспазмом та відтермінованою церебральною ішемією.

5. На основі аналізу ROC-кривих ериптозу у спинномозковій рідині було визначено пороговий індекс на рівні 8,85% аннексин-позитивних еритроцитів у лікворі для прогнозу спазму судин та відстроченої

церебральної ішемії. При досягненні цього показника у лікворі достовірно відбувається формування церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії.

6. Визначено, що віддалені ускладнення аСАК розвиваються внаслідок формування прозапального середовища у спинномозковій рідині. Синтез прозапальних цитокінів, таких як IL-6, IL-17, TNF- α , регулюється активацією TLR4 залежного механізму запалення. Високий рівень середньої інтенсивності флюорисценції TLR4 був статистично значуще пов'язаний із несприятливим функціональним результатом через 3 місяці ($p < 0,0001$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Необхідно враховувати показники ериптозу у лікворі, які є чутливим та специфічним діагностичним інструментом, для оптимізації діагностики формування відтермінованих ускладнень аСАК.

2. Доцільно рекомендувати дослідження рівня експресії TLR4 у спинномозковій рідині і включення TLR4-антагоністів у схеми патогенетичного лікування для зменшення ризику вторинних ускладнень.

3. Для покращення довгострокових результатів лікування пацієнтів із аСАК рекомендується проведення досліджень, спрямованих на подальше вивчення механізмів активації TLR4 та його впливу на прогресування вазоспазму, ішемії та інших ускладнень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abdulazim A, Heilig M, Rinkel G, Etminan N. Diagnosis of Delayed Cerebral Ischemia in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage and Triggers for Intervention. *Neurocrit Care*. 2023 Oct;39(2):311-319. doi: 10.1007/s12028-023-01812-3.
2. Abdulazim A, Küppers C, Hackenberg KAM, Neumaier-Probst E, Alzghoul MM, Krebs J, Thiel M, Lingsma H, Rinkel GJE, Groden C, Etminan N. Multidisciplinary and standardized management of patients with delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 2022 Nov;164(11):2917-2926. doi: 10.1007/s00701-022-05347-y.
3. Agnello D, Wang H, Yang H, Tracey KJ, Ghezzi P (2002) HMGB-1, a DNA-binding protein with cytokine activity, induces brain TNF and IL-6 production, and mediates anorexia and taste aversion. *Cytokine* 18:231-236.
4. Aihara Y, Kasuya H, Onda H, Hori T, Takeda J (2001) Quantitative Analysis of Gene Expressions Related to Inflammation in Canine Spastic Artery After Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke* 32:212-217.
5. Andersson U, Wang H, Palmblad K, Aveberger AC, Bloom O, Erlandsson-Harris H, Janson A, Aoki T, Kataoka H, Ishibashi R, Nozaki K, Hashimoto N (2008) Gene expression profile of the intima and media of experimentally induced cerebral aneurysms in rats by laser-microdissection and microarray techniques. *Int J Mol Med* 22:595-603.
6. Ayling OG, Ibrahim GM, Drake B, Torner JC, Macdonald RL (2015) Operative complications and differences in outcome after clipping and coiling of ruptured intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 123:621-628.
7. Balança B, Bouchier B, Ritzenthaler T. The management of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Rev Neurol (Paris)*. 2022 Jan-Feb;178(1-2):64-73. doi: 10.1016/j.neurol.2021.11.006. Epub 2021 Dec 24. PMID: 34961603.

8. Bartels YL, van Lent PLEM, van der Kraan PM, Blom AB, Bongers KM, van den Bosch MHJ. Inhibition of TLR4 signalling to dampen joint inflammation in osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2024 Mar 1;63(3):608-618. doi: 10.1093/rheumatology/kead493.
9. Boraschi D, Tagliabue A (2013) The interleukin-1 receptor family. *Seminars in immunology* 25:394-407.
10. Bowman G, Dixit S, Bonneau RH, Chinchilli VM, Cockcroft KM (2004) Neutralizing antibody against interleukin-6 attenuates posthemorrhagic vasospasm in the rat femoral artery model. *Neurosurgery* 54:719-725; discussion 725-716.
11. Briglia M, Rossi MA, Faggio C. Eryptosis: Ally or Enemy. *Curr Med Chem*. 2017; 24(9):937-942.
12. Brinjikji, W., et al. (2019). Endovascular treatment of very small (3 mm or smaller) intracranial aneurysms: report of the Cerebral Aneurysm Renal Metabolism Study. *AJNR American Journal of Neuroradiology*, 31(6), 1122–1126.
13. Cahill J, Calvert JW, Zhang JH (2006) Mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 26:1341-1353.
14. Cahill J, Zhang JH (2009) Subarachnoid Hemorrhage: Is It Time for a New Direction? *Stroke* 40:S86-S87.
15. Campi, A., et al. (2007). Retreatment of ruptured cerebral aneurysms in patients randomized by coiling or clipping in the International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT). *Stroke*, 38(5), 1538-1544.
16. Carr KR, Zuckerman SL, Mocco J (2013) Inflammation, Cerebral Vasospasm, and Evolving Theories of Delayed Cerebral Ischemia. *Neurology Research International* 2013:12.
17. Chamling B, Gross S, Stoffel-Wagner B, Schubert GA, Clusmann H, Coburn M, Hollig A (2017) Early Diagnosis of Delayed Cerebral Ischemia: Possible Relevance for Inflammatory Biomarkers in Routine Clinical Practice? *World Neurosurg* 104:152-157.
18. Chang CZ, Wu SC, Lin CL, Kwan AL (2015b) Valproic acid attenuates intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin through a chemokine ligand 5

dependent mechanism and subarachnoid hemorrhage induced vasospasm in a rat model. *J Inflamm (Lond)* 12:27.

19. Chaudhry SR, Guresir E, Vatter H, Kinfe TM, Dietrich D, Lamprecht A, Muhammad S (2017) Aneurysmal subarachnoid hemorrhage lead to systemic upregulation of IL-23/IL-17 inflammatory axis. *Cytokine* 97:96-103.

20. Chen T, Guo X, Cai M (2025) Clinical Application of Ventricular Intracranial Pressure Monitoring in the Treatment of Ruptured Anterior Circulation Aneurysms: A Retrospective Study. *Cureus* 17(2): e79138. doi:10.7759/cureus.79138

21. Chen T, Wang W, Li J-R, Xu H-Z, Peng Y-C, Fan L-F, Yan F, Gu C, Wang L, Chen G (2016) PARP inhibition attenuates early brain injury through NF- κ B/MMP-9 pathway in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *Brain Research* 1644:32-38.

22. Chou SH-Y, Feske SK, Atherton J, Konigsberg RG, De Jager PL, Du R, Ogilvy CS, Lo EH, Ning M (2012) Early Elevation of Serum Tumor Necrosis Factor- α Is Associated With Poor Outcome in Subarachnoid Hemorrhage. *Journal of Investigative Medicine* 60:1054-1058.

23. Chrapusta SJ, Gorski A, Mrowiec T, Grieb P, Andrychowski J, Ryba MS (2000) Immune abnormalities in aneurysmal subarachnoid haemorrhage patients: relation to delayed cerebral vasospasm. *Scand J Immunol* 51:400-407.

24. Da Silva IRF, Gomes JA, Wachsmann A, de Freitas GR, Provencio JJ (2017) Hematologic counts as predictors of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of Critical Care* 37:126-129.

25. David B. Kurland VG, J. Marc Simard (2015) DAMPs converging on Toll-like receptor 4 in hemorrhagic stroke, a Mini-Review. *Current Neurobiology* 6:4-8.

26. De Azua Lopez ZR, Egea-Guerrero JJ, Rivera-Rubiales G, Rodriguez-Rodriguez A, Vilches-Arenas A, Murillo-Cabezas F (2015) Serum brain injury biomarkers as predictors of mortality after severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: preliminary results. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 53:e179-181.

27. De Rooij NK, Linn FH, van der Plas JA, Algra A, Rinkel GJ (2007) Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78:1365-1372.
28. Ditz C, Hartlieb M, Neumann A, Machner B, Schacht H, Krajewski KL, Leppert J, Tronnier VM, Kuchler J. Routine use of perfusion computed tomography for the detection of delayed cerebral ischemia in unconscious patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 2021 Jan; 163(1):151-160. doi: 10.1007/s00701-020-04571-8.
29. Du J, Li Z, Shi J, Bi L (2014) Associations between serum interleukin-23 levels and clinical characteristics in patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of international medical research* 42:1123-1130.
30. Dutra FF, Alves LS, Rodrigues D, Fernandez PL, de Oliveira RB, Golenbock DT, Zamboni DS, Bozza MT (2014) Hemolysis-induced lethality involves inflammasome activation by heme. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:E4110-E4118.
31. Dziedzic T, Bartus S, Klimkowicz A, Motyl M, Slowik A, Szczudlik A (2002) Intracerebral hemorrhage triggers interleukin-6 and interleukin-10 release in blood. *Stroke* 33:2334-2335.
32. Dziedzic T, Slowik A, Klimkowicz A, Szczudlik A (2003) Asymmetrical modulation of interleukin- 10 release in patients with intracerebral hemorrhage. *Brain, Behavior, and Immunity* 17:438-441.
33. Endo H, Hagihara Y, Kimura N, Takizawa K, Niizuma K, Togo O, Tominaga T. Effects of clazosentan on cerebral vasospasm-related morbidity and all-cause mortality after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: two randomized phase 3 trials in Japanese patients. *J Neurosurg*. 2022 Apr 1;137(6):1707-1717. doi: 10.3171/2022.2.JNS212914.
34. Etminan N, Chang HS, Hackenberg K, de Rooij NK, Vergouwen MDI, Rinkel GJE, Algra A. Worldwide Incidence of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage According to Region, Time Period, Blood Pressure, and Smoking

Prevalence in the Population: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurol.* 2019 May 01;76(5):588-597.

35. Etminan N, Rinkel GJ (2016) Unruptured intracranial aneurysms: development, rupture and preventive management. *Nat Rev Neurol* 12:699-713.

36. Fang M, Xia F, Chen Y, Shen Y, Ma L, You C, Tao C, Hu X. Role of Eryptosis in Hemorrhagic Stroke. *Front Mol Neurosci.* 2022 Jul 28;15:932931.

37. Fang Y, Liu Y, Chen L, Wang J, Zhang J, Zhang H, Tian S, Zhang A, Zhang J, Zhang JH, Wang X, Yu J, Chen S. Cerebrospinal fluid markers of neuroinflammation and coagulation in severe cerebral edema and chronic hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage: a prospective study. *J Neuroinflammation.* 2024 Sep 27;21(1):237. doi: 10.1186/s12974-024-03236-y.

38. Fanizzi C, Sauerbeck AD, Gangolli M, Zipfel GJ, Brody DL, Kummer TT (2017) Minimal Long- Term Neurobehavioral Impairments after Endovascular Perforation Subarachnoid Hemorrhage in Mice. *Scientific Reports* 7:7569.

39. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schutt S, Fritzing M, Horn P, Vajkoczy P, Kreisel S, Brunner J, Schmiedek P, Hennerici M (2001) Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 70:534-537.

40. Fei X, Dou YN, Lv W, Ding B, Wei J, Wu X, He X, Fei Z, Fei F. TLR4 Deletion Improves Cognitive Brain Function and Structure in Aged Mice. *Neuroscience.* 2022 Jun 1;492:1-17. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.04.007.

41. Fu XM, Li CL, Jiang HR, Zhang JY, Sun T, Zhou F. Neuroinflammatory response after subarachnoid hemorrhage: A review of possible treatment targets. *Clin Neurol Neurosurg.* 2025 Mar 16;252:108843. doi: 10.1016/j.clineuro.2025.108843. Epub ahead of print. PMID: 40107192.

42. Fujii J, Homma T, Kobayashi S, Warang P, Madkaikar M, Mukherjee MB. Erythrocytes as a preferential target of oxidative stress in blood. *Free Radic Res.* 2021 May;55(5):562-580. doi: 10.1080/10715762.2021.1873318. Epub 2021 Jan 17. PMID: 33427524.

43. Galea J, Brough D (2013) The role of inflammation and interleukin-1 in acute cerebrovascular disease. *Journal of Inflammation Research* 6:121-128.
44. Galea J, Ogungbenro K, Hulme S, Patel H, Scarth S, Hoadley M, Illingworth K, McMahon CJ, Tzerakis N, King AT, Vail A, Hopkins SJ, Rothwell N, Tyrrell P (2017a) Reduction of inflammation after administration of interleukin-1 receptor antagonist following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of the Subcutaneous Interleukin-1Ra in SAH (SCIL-SAH) study. *J Neurosurg*:1-9.
45. Gao Q, Su Z, Pang X, Chen J, Luo R, Li X, Zhang C, Zhao Y. Overexpression of Heme Oxygenase 1 Enhances the Neuroprotective Effects of Exosomes in Subarachnoid Hemorrhage by Suppressing Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress. *Mol Neurobiol*. 2024 Dec 22. doi: 10.1007/s12035-024-04651-1. Epub ahead of print. PMID: 39710823
46. Gao Y, Li K, Li X, Li Q, Wang J, Zhang S, Zhang J. Exploration of cerebral vasospasm from the perspective of microparticles. *Front Neurosci*. 2022 Oct 28;16:1013437. doi: 10.3389/fnins.2022.1013437.
47. Geraldini F, De Cassai A, Diana P, Correale C, Boscolo A, Zampirolo S, Disarò L, Carere A, Cacco N, Navalesi P, Munari M. A Comparison Between Enteral and Intravenous Nimodipine in Subarachnoid Hemorrhage: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Neurocrit Care*. 2022 Jun;36(3):1071-1079. doi: 10.1007/s12028-022-01493-4. Epub 2022 Apr 13. PMID: 35419702.
48. Göcking B, Biller-Andorno N, Brandi G, Gloeckler S, Glässel A. Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage and Clinical Decision-Making: A Qualitative Pilot Study Exploring Perspectives of Those Directly Affected, Their Next of Kin, and Treating Clinicians. *Int J Environ Res Public Health*. 2023 Feb 11;20(4):3187. doi: 10.3390/ijerph20043187.
49. Gogoleva VS, Mundt S, De Feo D, Becher B. Mononuclear phagocytes in autoimmune neuroinflammation. *Trends Immunol*. 2024 Oct;45(10):814-823. doi: 10.1016/j.it.2024.08.005.
50. Grasso G, Alafaci C, Macdonald RL (2017) Management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: State of the art and future perspectives. *Surgical Neurology International* 8:11.

51. Grossen AA, Ernst GL, Bauer AM. Update on intrathecal management of cerebral vasospasm: a systematic review and meta-analysis. *Neurosurg Focus*. 2022 Mar;52(3):E10. doi: 10.3171/2021.12.FOCUS21629.

52. Gu C, Wu L, Li X (2013) IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. *Cytokine* 64:477-485.

53. Han DW, Oh JE, Lim BJ, Han Y, Song Y. Dexmedetomidine attenuates subarachnoid hemorrhage-induced acute lung injury through regulating autophagy and TLR/NF κ B signaling pathway. *Korean J Anesthesiol*. 2022 Dec;75(6):518-529. doi: 10.4097/kja.22165.

54. Hanafy KA, Grobelny B, Fernandez L, Kurtz P, Connolly ES, Mayer SA, Schindler C, Badjatia N (2010) Brain interstitial fluid TNF-alpha after subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Sci* 291:69-73.

55. Hanafy KA, Stuart RM, Khandji AG, Connolly ES, Badjatia N, Mayer SA, Schindler C (2010) Relationship between brain interstitial fluid tumor necrosis factor-alpha and cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia* 17:853-856.

56. Hanafy KA. The role of microglia and the TLR4 pathway in neuronal apoptosis and vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Neuroinflammation*. 2013 Jul 13;10:83. doi: 10.1186/1742-2094-10-83. PMID: 23849248; PMCID: PMC3750560.

57. Hafeez S, Grandhi R. Systematic Review of Intrathecal Nicardipine for the Treatment of Cerebral Vasospasm in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2019 Oct;31(2):399-405. doi: 10.1007/s12028-018-0659-9. PMID: 30607826.

58. Hassan T, Nassar M, Elhadi SM, Radi WK (2012) Effect of magnesium sulfate therapy on patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage using serum S100B protein as a prognostic marker. *Neurosurgical review* 35:421-427; discussion 427.

59. Heine H, Zamyatina A. Therapeutic Targeting of TLR4 for Inflammation, Infection, and Cancer: A Perspective for Disaccharide Lipid A Mimetics. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022 Dec 23;16(1):23. doi: 10.3390/ph16010023.

60. Heinz R, Brandenburg S, Nieminen-Kelhä M, Kremenetskaia I, Boehm-Sturm P, Vajkoczy P, Schneider UC. Microglia as target for anti-inflammatory approaches to prevent secondary brain injury after subarachnoid hemorrhage (SAH). *J Neuroinflammation*. 2021 Jan 30;18(1):36. doi: 10.1186/s12974-021-02085-3.

61. Heinz R, Schneider UC. TLR4-Pathway-Associated Biomarkers in Subarachnoid Hemorrhage (SAH): Potential Targets for Future Anti-Inflammatory Therapies. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 20;23(20):12618. doi: 10.3390/ijms232012618. PMID: 36293468; PMCID: PMC9603851.

62. Helbok R, Schiefecker AJ, Beer R, Dietmann A, Antunes AP, Sohm F, Fischer M, Hackl WO, Rhomberg P, Lackner P, Pfausler B, Thomé C, Humpel C, Schmutzhard E (2015) Early brain injury after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a multimodal neuromonitoring study. *Critical Care* 19:75.

63. Hendrix P, Foreman PM, Harrigan MR, Fisher WSR, Vyas NA, Lipsky RH, Lin M, Walters BC, Tubbs RS, Shoja MM, Pittet JF, Mathru M, Griessenauer CJ (2017) Impact of high-mobility group box-1 polymorphism on delayed cerebral ischemia following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg*.

64. Hendryk S, Jarzab B, Josko J (2004) Increase of the IL-1 beta and IL-6 levels in CSF in patients with vasospasm following aneurysmal SAH. *Neuro Endocrinol Lett* 25:141-147.

65. Hoh BL, Ko NU, Amin-Hanjani S, et al.: 2023 Guideline for the management of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2023, 54:e314-70. 10.1161/STR.0000000000000436

66. Hollig A, Rimmel D, Stoffel-Wagner B, Schubert GA, Coburn M, Clusmann H (2015b) Association of early inflammatory parameters after

subarachnoid hemorrhage with functional outcome: A prospective cohort study. *Clin Neurol Neurosurg* 138:177-183.

67. Hong CM, Tosun C, Kurland DB, Gerzanich V, Schreiber D, Simard JM (2014) Biomarkers as outcome predictors in subarachnoid hemorrhage – a systematic review. *Biomarkers* 19:95- 108.

68. Hopkins SJ, McMahon CJ, Singh N, Galea J, Hoadley M, Scarth S, Patel H, Vail A, Hulme S, Rothwell NJ, King AT, Tyrrell PJ (2012) Cerebrospinal fluid and plasma cytokines after subarachnoid haemorrhage: CSF interleukin-6 may be an early marker of infection. *J Neuroinflammation* 9:255.

69. Huang Q, Wang G, Hu YL, Liu JX, Yang J, Wang S, Zhang HB (2017) Study on the expression and mechanism of inflammatory factors in the brain of rats with cerebral vasospasm. *European review for medical and pharmacological sciences* 21:2887-2894.

70. Ineichen BV, Okar SV, Proulx ST, Engelhardt B, Lassmann H, Reich DS. Perivascular spaces and their role in neuroinflammation. *Neuron*. 2022 Nov 2;110(21):3566-3581. doi: 10.1016/j.neuron.2022.10.024.

71. Islam R, Vrionis F, Hanafy KA. Microglial TLR4 is Critical for Neuronal Injury and Cognitive Dysfunction in Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2022 Dec;37(3):761-769. doi: 10.1007/s12028-022-01552-w. Epub 2022 Jul 1. PMID: 35778649; PMCID: PMC9672010.

72. Ivanidze J, Sanelli PC. Vasospasm: Role of Imaging in Detection and Monitoring Treatment. *Neuroimaging Clin N Am*. 2021 May;31(2):147-155. doi: 10.1016/j.nic.2021.01.004.

73. Jayaraman T, Berenstein V, Li X, Mayer J, Silane M, Shin YS, Niimi Y, Kılıç T, Gunel M, Berenstein A (2005) Tumor Necrosis Factor α is a Key Modulator of Inflammation in Cerebral Aneurysms. *Neurosurgery* 57:558-564.

74. Jiang Y, Liu D-W, Han X-Y, Dong Y-N, Gao J, Du B, Meng L, Shi J-G (2012b) Neuroprotective effects of anti-tumor necrosis factor-alpha antibody on apoptosis following subarachnoid hemorrhage in a rat model. *Journal of Clinical Neuroscience* 19:866-872.

75. Jin J, Duan J, Du L, Xing W, Peng X, Zhao Q. Inflammation and immune cell abnormalities in intracranial aneurysm subarachnoid hemorrhage (SAH): Relevant signaling pathways and therapeutic strategies. *Front Immunol.* 2022 Nov 23;13:1027756. doi: 10.3389/fimmu.2022.1027756.

76. Jung CS, Lange B, Zimmermann M, Seifert V (2013) CSF and Serum Biomarkers Focusing on Cerebral Vasospasm and Ischemia after Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke research and treatment* 2013:560305.

77. Kang J-W, Kim S-J, Cho H-I, Lee S-M (2015) DAMPs activating innate immune responses in sepsis. *Ageing Research Reviews* 24:54-65.

78. Kanning JP, van Os HJA, Rakers M, Wermer MJH, Geerlings MI, Ruijgrok YM. Prediction of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in comparison with other stroke types using routine care data. *PLoS One.* 2024 May 31;19(5):e0303868. doi: 10.1371/journal.pone.0303868.

79. Kao HW, Lee KW, Kuo CL, Huang CS, Tseng WM, Liu CS, Lin CP (2015) Interleukin-6 as a Prognostic Biomarker in Ruptured Intracranial Aneurysms. *PLoS One* 10:e0132115.

80. Kelly PD, Yengo-Kahn AM, Tang AR, Jonathan SV, Reynolds RA, Ye F, Zhao Z, Froehler MT, Fusco MR, Morone PJ, Chitale RV. Conditional Vasospasm-Free Survival Following Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care.* 2022 Aug;37(1):81-90. doi: 10.1007/s12028-022-01444-z.

81. Kılıç G, Engin BE, Halabi A, Tuncer C, Sungur MA, Alpay M, Kurtuluş A, Soylu H, Gök A, Polat Ö. Mitigating Post-Subarachnoid Hemorrhage Complications: Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Effects of Anakinra in an Experimental Study. *J Clin Med.* 2025 Feb 14;14(4):1253. doi: 10.3390/jcm14041253. PMID: 40004783; PMCID:

82. Kim HJ, Kim H, Lee JH, Hwangbo C. Toll-like receptor 4 (TLR4): new insight immune and aging. *Immun Ageing.* 2023 Nov 24;20(1):67. doi: 10.1186/s12979-023-00383-3.

83. Kleiner G, Marcuzzi A, Zanin V, Monasta L, Zauli G (2013) Cytokine Levels in the Serum of Healthy Subjects. *Mediators of Inflammation* 2013:6.

84. Kooijman E, Nijboer CH, van Velthoven CTJ, Mol W, Dijkhuizen RM, Kesecioglu J, Heijnen CJ (2014b) Long-Term Functional Consequences and Ongoing Cerebral Inflammation after Subarachnoid Hemorrhage in the Rat. *PLoS One* 9:e90584.

85. Korja M, Kaprio J (2016) Controversies in epidemiology of intracranial aneurysms and SAH. *Nat Rev Neurol* 12:50-55.

86. Kwon KY, Jeon BC (2001) Cytokine levels in cerebrospinal fluid and delayed ischemic deficits in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of Korean medical science* 16:774-780.

87. Kwon MS, Woo SK, Kurland DB, Yoon SH, Palmer AF, Banerjee U, Iqbal S, Ivanova S, Gerzanich V, Simard JM (2015) Methemoglobin is an endogenous toll-like receptor 4 ligand-relevance to subarachnoid hemorrhage. *International journal of molecular sciences* 16:5028-5046.

88. Lakhali K, Hivert A, Alexandre PL, Fresco M, Robert-Edan V, Rodière-Talbere PA, Ambrosi X, Bourcier R, Rozec B, Cadet J. Intravenous Milrinone for Cerebral Vasospasm in Subarachnoid Hemorrhage: The MILRISPASM Controlled Before-After Study. *Neurocrit Care*. 2021 Dec;35(3):669-679. doi: 10.1007/s12028-021-01331-z.

89. Lemarchand E, Grayston A, Wong R, Rogers M, Ouvrier B, Llewellyn B, Webb F, Lénárt N, Dénes Á, Brough D, Allan SM, Bix GJ, Pinteaux E. Selective deletion of interleukin-1 alpha in microglia does not modify acute outcome but may regulate neurorepair processes after experimental ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2025 Mar

90. Lee KS, Chari A, Motiwala M, Khan NR, Arthur AS, Lawton MT. Effectiveness of Cerebrospinal Fluid Lumbar Drainage Among Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *World Neurosurg*. 2024 Mar;183:246-253.e12. doi: 10.1016/j.wneu.2024.01.062.

91. Li K, Barras CD, Chandra RV, Kok HK, Maingard JT, Carter NS, Russell JH, Lai L, Brooks M, Asadi H. A Review of the Management of Cerebral

Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurg.* 2019 Jun;126:513-527. doi: 10.1016/j.wneu.2019.03.083. Epub 2019 Mar 18. PMID: 30898740.

92. Li R, Zhao M, Yao D, Zhou X, Lenahan C, Wang L, Ou Y, He Y. The role of the astrocyte in subarachnoid hemorrhage and its therapeutic implications. *Front Immunol.* 2022 Sep 29;13:1008795. doi: 10.3389/fimmu.2022.1008795.

93. Lidington D, Wan H, Bolz SS. Cerebral Autoregulation in Subarachnoid Hemorrhage. *Front Neurol.* 2021 Jul 23;12:688362. doi: 10.3389/fneur.2021.688362.

94. Lucke-Wold B, Hosaka K, Dodd W, Motwani K, Laurent D, Martinez M, Hoh B. Interleukin-6: Important Mediator of Vasospasm Following Subarachnoid Hemorrhage. *Curr Neurovasc Res.* 2021;18(3):364-369. doi: 10.2174/1567202618666211104122408.

95. Luzzi S, Bektaşoğlu PK, Doğruel Y, Güngör A. Beyond nimodipine: advanced neuroprotection strategies for aneurysmal subarachnoid hemorrhage vasospasm and delayed cerebral ischemia. *Neurosurg Rev.* 2024 Jul 5;47(1):305. doi: 10.1007/s10143-024-02543-5. PMID: 38967704; PMCID: PMC11226492.

96. Lv B, Lan JX, Si YF, Ren YF, Li MY, Guo FF, Tang G, Bian Y, Wang XH, Zhang RJ, Du ZH, Liu XF, Yu SY, Tian CL, Cao XY, Wang J. Epidemiological trends of subarachnoid hemorrhage at global, regional, and national level: a trend analysis study from 1990 to 2021. *Mil Med Res.* 2024 Jul 11;11(1):46. doi: 10.1186/s40779-024-00551-6.

97. Ma L, Yao L, Zhang Z, Hao B. Nimodipine ameliorates subarachnoid hemorrhage-induced neuroinflammation and injury by protecting mitochondrial function and regulating autophagy. *Hum Cell.* 2025 Jan 20;38(2):46. doi: 10.1007/s13577-025-01174-2. PMID: 39831947.

98. Macdonald RL, Dringer M, Citerio G (2014) Understanding the disease: aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Intensive Care Med*:1-4.

99. Macdonald RL, Schweizer TA (2017) Spontaneous subarachnoid haemorrhage. *The Lancet* 389:655-666.

100. Macdonald RL, Weir BK (1991) A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke* 22:971-982.

101. Macdonald RL. Delayed neurological deterioration after subarachnoid haemorrhage. *Nat Rev Neurol*. 2014 Jan;10(1):44-58. doi: 10.1038/nrneurol.2013.246. Epub 2013 Dec 10. PMID: 24323051.

102. Macedo SK, de Siqueira CP, de Siqueira SBP, Nuss RM, Dias LC, Souza AC, Pereira GVR (2010) Frequency/prevalence analysis of risk factors on aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Critical Care* 14:P337.

103. Manohar SM, Shah P, Nair A. Flow cytometry: principles, applications and recent advances. *Bioanalysis*. 2021 Feb;13(3):181-198. doi: 10.4155/bio-2020-0267. Epub 2021 Feb 5.

104. McMahon CJ, Hopkins S, Vail A, King AT, Smith D, Illingworth KJ, Clark S, Rothwell NJ, Tyrrell PJ (2013) Inflammation as a predictor for delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Journal of neurointerventional surgery* 5:512-517.

105. Mellergard P, Aneman O, Sjogren F, Saberg C, Hillman J (2011) Differences in cerebral extracellular response of interleukin-1beta, interleukin-6, and interleukin-10 after subarachnoid hemorrhage or severe head trauma in humans. *Neurosurgery* 68:12-19; discussion 19.

106. Miller BA, Turan N, Chau M, Pradilla G (2014) Inflammation, Vasospasm, and Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage. *BioMed Research International* 2014:16.

107. Molyneux, A.J., et al. (2005). International subarachnoid aneurysm trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomized trial. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 14(3), 157–159.

108. Molyneux, A. J., Kerr, R. S., et al. (2009). International subarachnoid aneurysm trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling: 10-year follow-up. *The Lancet*, 366(9488), 809–817.

109. Monsour M, Croci DM, Grüter BE, Taussky P, Marbacher S, Agazzi S. Cerebral Aneurysm and Interleukin-6: a Key Player in Aneurysm Generation and

Rupture or Just One of the Multiple Factors? *Transl Stroke Res.* 2023 Oct; 14(5): 631-639. doi: 10.1007/s12975-022-01079-4.

110. Moraes L, Grille S, Morelli P, Mila R, Trias N, Brugnini A, N LL, Biestro A, Lens D (2015) Immune cells subpopulations in cerebrospinal fluid and peripheral blood of patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *SpringerPlus* 4:195.

111. Muhammad SA, Abbas AY, Imam MU, Saidu Y, Bilbis LS. Efficacy of stem cell secretome in the treatment of traumatic brain injury: A systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Mol Neurobiol.* 2022 May; 59(5): 2894-2909. doi: 10.1007/s12035-022-02759-w. Epub 2022 Mar 1. PMID: 35230664.

112. Mukherjee R, Kanti Barman P, Kumar Thatoi P, Tripathy R, Kumar Das B, Ravindran B (2015) Non- Classical monocytes display inflammatory features: Validation in Sepsis and Systemic Lupus Erythematosus. *Scientific Reports* 5:13886.

113. Munoz-Guillen NM, Leon-Lopez R, Tunez-Finana I, Cano-Sanchez A (2013) From vasospasm to early brain injury: new frontiers in subarachnoid haemorrhage research. *Neurologia* 28:309- 316.

114. Muroi C, Burkhardt JK, Hugelshofer M, Seule M, Mishima K, Keller E (2012) Magnesium and the inflammatory response: potential pathophysiological implications in the management of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage? *Magnesium research* 25:64-71.

115. Muroi C, Frei K, El Beltagy M, Cesnulis E, Yonekawa Y, Keller E (2008) Combined therapeutic hypothermia and barbiturate coma reduces interleukin-6 in the cerebrospinal fluid after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg Anesthesiol* 20:193-198.

116. Muroi C, Hugelshofer M, Seule M, Tastan I, Fujioka M, Mishima K, Keller E (2013) Correlation Among Systemic Inflammatory Parameter, Occurrence of Delayed Neurological Deficits, and Outcome After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurosurgery* 72:367-375.

117. Nakura T, Osuka K, Inukai T, Takagi T, Takayasu M (2011) Soluble gp130 regulates interleukin-6 in cerebrospinal fluid after subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 82:952-954.
118. Neifert SN, Chapman EK, Martini ML, Shuman WH, Schupper AJ, Oermann EK, Mocco J, Macdonald RL. Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: the Last Decade. *Transl Stroke Res*. 2021 Jun;12(3):428-446. doi: 10.1007/s12975-020-00867-0. Epub 2020 Oct 19. PMID: 33078345.
119. Olona A, Hateley C, Muralidharan S, Wenk MR, Torta F, Behmoaras J. Sphingolipid metabolism during Toll-like receptor 4 (TLR4)-mediated macrophage activation. *Br J Pharmacol*. 2021 Dec; 178(23):4575-4587. doi: 10.1111/bph.15642.
120. Peng J, Xie Y, Pang J, Wu Y, Zhou J, Gu L, Guo K, Zhang L, Xie B, Yin S, Sun X, Chen L, Jiang Y. Toll-like receptor 4-mediated microglial inflammation exacerbates early white matter injury following experimental subarachnoid hemorrhage. *J Neurochem*. 2023 Jul;166(2):280-293. doi: 10.1111/jnc.15851. Epub 2023 Jun 13. PMID: 37309616.
121. Peng L, Li X, Li H, Zhong Y, Lian J, Gao H, Chen G. Relationship between Peripheral Blood Inflammatory Factors and Prognosis of Subarachnoid Hemorrhage: A Meta-Analysis. *Eur Neurol*. 2023;86(3):193-206. doi: 10.1159/000530208.
122. Pereira AR, Sanchez-Pena P, Biondi A, Sourour N, Boch AL, Colonne C, Lejean L, Abdennour L, Puybasset L (2007) Predictors of 1-year outcome after coiling for poor-grade subarachnoid aneurysmal hemorrhage. *Neurocrit Care* 7:18-26.
123. Piazza M, Damore G, Costa B, Gioannini TL, Weiss JP, Peri F (2011) Hemin and a metabolic derivative coprohemin modulate the TLR4 pathway differently through different molecular targets. *Innate immunity* 17:293-301.
124. Probert L (2015) TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience* 302:2-22.
125. Qadri SM, Bissinger R, Solh Z, Oldenburg PA. Eryptosis in health and disease: A paradigm shift towards understanding the (patho)physiological

implications of programmed cell death of erythrocytes. *Blood Rev.* 2017 Nov; 31(6): 349-361.

126. Provencio JJ (2013) Inflammation in subarachnoid hemorrhage and delayed deterioration associated with vasospasm: A review. *Acta neurochirurgica Supplement* 115:233-238.

127. Raymond J, Létourneau-Guillon L, Darsaut TE. Angiographic vasospasm and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: Moving from theoretical to practical research pertinent to neurosurgical care. *Neurochirurgie.* 2022 Jul; 68(4):363-366. doi: 10.1016/j.neuchi.2021.10.001.

128. Rinkel GJ, Ruigrok YM. Preventive screening for intracranial aneurysms. *Int J Stroke.* 2022 Jan;17(1):30-36. doi: 10.1177/17474930211024584.

129. Robinson JP, Ostafe R, Iyengar SN, Rajwa B, Fischer R. Flow Cytometry: The Next Revolution. *Cells.* 2023 Jul 17;12(14):1875. doi: 10.3390/cells12141875.

130. Romenskaya T, Longhitano Y, Piccolella F, Berger JM, Artico M, Taurone S, Maconi A, Saviano A, Caramuta M, Savioli G, Zanza C. Cerebral Vasospasm: Practical Review of Diagnosis and Management. *Rev Recent Clin Trials.* 2023;18(1):12-18. doi: 10.2174/1574887117666220810121048.

131. Sabat R, Grutz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, Geginat J (2010) Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev* 21:331-344.

132. Sanicola HW, Stewart CE, Luther P, Yabut K, Guthikonda B, Jordan JD, Alexander JS. Pathophysiology, Management, and Therapeutics in Subarachnoid Hemorrhage and Delayed Cerebral Ischemia: An Overview. *Pathophysiology.* 2023 Sep 14;30(3):420-442. doi: 10.3390/pathophysiology30030032.

133. Sarrafzadeh A, Schlenk F, Gericke C, Vajkoczy P (2010) Relevance of cerebral interleukin-6 after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* 13:339-346.

134. Sathyan S, Koshy LV, Srinivas L, Easwer HV, Premkumar S, Nair S, Bhattacharya RN, Alapatt JP, Banerjee M (2015) Pathogenesis of intracranial

aneurysm is mediated by proinflammatory cytokine TNFA and IFNG and through stochastic regulation of IL10 and TGFBI by comorbid factors. *Journal of Neuroinflammation* 12:1-10.

135. Savarraj J, Parsha K, Hergenroeder G, Ahn S, Chang TR, Kim DH, Choi HA (2017a) Early Brain Injury Associated with Systemic Inflammation After Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*.

136. Savarraj JPJ, Parsha K, Hergenroeder GW, Zhu L, Bajgur SS, Ahn S, Lee K, Chang T, Kim DH, Liu Y, Choi HA (2017b) Systematic model of peripheral inflammation after subarachnoid hemorrhage. *Neurology*.

137. Schaefer L (2014) Complexity of Danger: The Diverse Nature of Damage-associated Molecular Patterns. *The Journal of Biological Chemistry* 289:35237-35245.

138. Schallner N, Pandit R, LeBlanc R, III, Thomas AJ, Ogilvy CS, Zuckerbraun BS, Gallo D, Otterbein LE, Hanafy KA (2015) Microglia regulate blood clearance in subarachnoid hemorrhage by heme oxygenase-1. *The Journal of Clinical Investigation* 125:2609-2625.

139. Schoch B, Regel JP, Wichert M, Gasser T, Volbracht L, Stolke D (2007) Analysis of intrathecal interleukin-6 as a potential predictive factor for vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 60:828-836; discussion 828-836.

140. Sedger LM, McDermott MF (2014) TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 25:453-472.

141. Robba C, Busl KM, Claassen J, Diringner MN, Helbok R, Park S, Rabinstein A, Treggiari M, Vergouwen MDI, Citerio G. Contemporary management of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. An update for the intensivist. *Intensive Care Med*. 2024 May;50(5):646-664. doi: 10.1007/s00134-024-07387-7. Epub 2024 Apr 10. PMID: 38598130; PMCID: PMC11078858.

142. Shiba M, Fujimoto M, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Taki W, Suzuki H. Tenascin-C causes neuronal apoptosis after subarachnoid hemorrhage in

rats. *Transl Stroke Res.* 2014 Apr;5(2):238-47. doi: 10.1007/s12975-014-0333-2. Epub 2014 Feb 1. PMID: 24481545.

143. Shiozaki T, Hayakata T, Tasaki O, Hosotubo H, Fujjita K, Mouri T, Tajima G, Kajino K, Nakae H, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H (2005) Cerebrospinal fluid concentrations of anti-inflammatory mediators in early-phase severe traumatic brain injury. *Shock* 23:406-410.

144. Simon M, Grote A. Interleukin 6 and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. A Narrative Review. *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 16;22(8):4133. doi: 10.3390/ijms22084133.

145. Singh N, Hopkins SJ, Hulme S, Galea JP, Hoadley M, Vail A, Hutchinson PJ, Grainger S, Rothwell NJ, King AT, Tyrrell PJ (2014) The effect of intravenous interleukin-1 receptor antagonist on inflammatory mediators in cerebrospinal fluid after subarachnoid haemorrhage: a phase II randomised controlled trial. *J Neuroinflammation* 11:1.

146. Sokol B, Wozniak A, Jankowski R, Jurga S, Wasik N, Shahid H, Grzeskowiak B (2015) HMGB1 Level in Cerebrospinal Fluid as a Marker of Treatment Outcome in Patients with Acute Hydrocephalus Following Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 24:1897-1904..

147. Schmidt TP, Weiss M, Hoellig A, Nikoubashman O, Schulze-Steinen H, Albanna W, Clusmann H, Schubert GA, Veldeman M. Revisiting the Timeline of Delayed Cerebral Ischemia After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Toward a Temporal Risk Profile. *Neurocrit Care.* 2022 Dec;37(3):735-743. doi: 10.1007/s12028-022-01545-9. Epub 2022 Jul 6. PMID: 35790670; PMCID: PMC9672023.

148. Spetzler, R. F., & McDougall, C. G. (2015). Surgical management of aneurysms. *Handbook of Clinical Neurology*, 136, 1193–1205.

149. Starke RM, Chalouhi N, Jabbour PM, Tjoumakaris SI, Gonzalez LF, Rosenwasser RH, Wada K, Shimada K, Hasan DM, Greig NH, Owens GK, Dumont AS (2014) Critical role of TNF- α in cerebral aneurysm formation and progression to rupture. *Journal of Neuroinflammation* 11:77-77.

150. Stuckey SM, Ong LK, Collins-Praino LE, Turner RJ. Neuroinflammation as a Key Driver of Secondary Neurodegeneration Following Stroke? *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 3;22(23):13101. doi: 10.3390/ijms222313101.
151. Suarez JJ, Tarr RW, Selman WR (2006) Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *New England Journal of Medicine* 354:387-396.
152. Suffee N, Le Visage C, Hlawaty H, Aid-Launais R, Vanneaux V, Larghero J, Haddad O, Oudar O, Charnaux N, Sutton A (2017) Pro-angiogenic effect of RANTES-loaded polysaccharide- based microparticles for a mouse ischemia therapy. *Scientific Reports* 7:13294.
153. Sun Q, Wu W, Hu YC, Li H, Zhang D, Li S, Li W, Li WD, Ma B, Zhu JH, Zhou ML, Hang CH (2014b) Early release of high-mobility group box 1 (HMGB1) from neurons in experimental subarachnoid hemorrhage in vivo and in vitro. *J Neuroinflammation* 11:106.
154. Sun XG, Zhang MM, Liu SY, Chu XH, Xue GQ, Zhang BC, Zhu JB, Godje Godje IS, Zhu LJ, Hu HY, Hai-Wang, Shen YJ, Wang GQ. Role of TREM-1 in the development of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Exp Neurol*. 2021 Jul;341:113692. doi: 10.1016/j.expneurol.2021.113692.
155. Sung SB, Kim YD, Ban SP, Lee YJ, Kwon OK. Initial severity of aneurysmal subarachnoid hemorrhage (SAH): Trend over time. *J Cerebrovasc Endovasc Neurosurg*. 2022 Dec;24(4):349-355. doi: 10.7461/jcen.2022.E2022.06.010.
156. Suzuki H, Fujimoto M, Kawakita F, Liu L, Nakano F, Nishikawa H, Okada T, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Shiba M. Toll-Like Receptor 4 and Tenascin-C Signaling in Cerebral Vasospasm and Brain Injuries After Subarachnoid Hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2020;127:91-96. doi: 10.1007/978-3-030-04615-6_15. PMID: 31407069.
157. Suzuki H, Fujimoto M, Kawakita F, Liu L, Nakatsuka Y, Nakano F, Nishikawa H, Okada T, Kanamaru H, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Shiba M. Tenascin-C in brain injuries and edema after subarachnoid hemorrhage: Findings from basic and clinical studies. *J Neurosci Res*. 2020 Jan;98(1):42-56. doi: 10.1002/jnr.24330.

158. Suzuki S, Tanaka K, Suzuki N (2009) Ambivalent aspects of interleukin-6 in cerebral ischemia: inflammatory versus neurotrophic aspects. *J Cereb Blood Flow Metab* 29:464-479.

159. Tawk RG, Hasan TF, D'Souza CE, Peel JB, Freeman WD. Diagnosis and Treatment of Unruptured Intracranial Aneurysms and Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Mayo Clin Proc.* 2021 Jul;96(7):1970-2000. doi: 10.1016/j.mayocp.2021.01.005.

160. Thilak S, Brown P, Whitehouse T, Gautam N, Lawrence E, Ahmed Z, Veenith T. Diagnosis and management of subarachnoid haemorrhage. *Nat Commun.* 2024 Feb 29;15(1):1850. doi: 10.1038/s41467-024-46015-2.

161. Thompson JC, Chalet FX, Manalastas EJ, Hawkins N, Sarri G, Talbot DA. Economic and Humanistic Burden of Cerebral Vasospasm and Its Related Complications after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Systematic Literature Review. *Neurol Ther.* 2022 Jun;11(2):597-620. doi: 10.1007/s40120-022-00348-6. Epub 2022 Apr 20. PMID: 35441974; PMCID: PMC9095797.

162. Tkachenko A. Apoptosis and eryptosis: similarities and differences. *Apoptosis.* 2024 Apr;29(3-4):482-502.

163. Tkachenko A. Hemocompatibility studies in nanotoxicology: Hemolysis or eryptosis? (A review). *Toxicol In Vitro.* 2024 Jun;98:105814. doi: 10.1016/j.tiv.2024.105814.

164. Van Dijk BJ, Vergouwen MDI, Kelfkens MM, Rinkel GJE, Hol EM (2016) Glial cell response after aneurysmal subarachnoid hemorrhage – Functional consequences and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1862:492-505.

165. Van Gijn J, Kerr RS, Rinkel GJE (2007) Subarachnoid haemorrhage. *The Lancet* 369:306-318.

166. Viderman D, Tapinova K, Abdildin YG. Mechanisms of cerebral vasospasm and cerebral ischaemia in subarachnoid haemorrhage. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2023 Jan;43(1):1-9. doi: 10.1111/cpf.12787.

167. Wang CX, Xie GB, Zhou CH, Zhang XS, Li T, Xu JG, Li N, Ding K, Hang CH, Shi JX, Zhou ML. Baincalein alleviates early brain injury after

experimental subarachnoid hemorrhage in rats: possible involvement of TLR4/NF- κ B-mediated inflammatory pathway. *Brain Res.* 2015 Jan 12;1594:245-55. doi: 10.1016/j.brainres.2014.10.014. Epub 2014 Oct 17. PMID: 25451085.

168. Wang KC, Tang SC, Lee JE, Li YI, Huang YS, Yang WS, Jeng JS, Arumugam TV, Tu YK (2017) Cerebrospinal fluid high mobility group box 1 is associated with neuronal death in subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 37:435-443.

169. Wang L, Geng G, Zhu T, Chen W, Li X, Gu J, Jiang E. Progress in Research on TLR4-Mediated Inflammatory Response Mechanisms in Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage. *Cells.* 2022 Nov 26;11(23):3781. doi: 10.3390/cells11233781. PMID: 36497041; PMCID: PMC9740134.

170. Wang Q, Luo Q, Zhao YH, Chen X. Toll-like receptor-4 pathway as a possible molecular mechanism for brain injuries after subarachnoid hemorrhage. *Int J Neurosci.* 2020 Sep;130(9):953-964. doi: 10.1080/00207454.2019.1709845. Epub 2020 Jan 14. PMID: 31903827.

171. Wang XY, Wu F, Zhan RY, Zhou HJ. Inflammatory role of microglia in brain injury caused by subarachnoid hemorrhage. *Front Cell Neurosci.* 2022 Dec 6;16:956185. doi: 10.3389/fncel.2022.956185.

172. Wang Z, Zuo G, Shi X-Y, Zhang J, Fang Q, Chen G (2011b) Progesterone administration modulates cortical TLR4/NF- κ B signaling pathway after subarachnoid hemorrhage in male rats. *Mediators of inflammation* 2011.

173. Wu C, Dong X, Li Q, Liu S, He Y, Zhang Y, Zhang S. Changes of serum MMP-9, NSE, MPO levels and prognostic influencing factors in patients with intracranial aneurysm undergoing interventional embolization at different treatment timing. *J Med Biochem.* 2024 Jan 25;43(1):144-152. doi: 10.5937/jomb0-44364.

174. Wu J, Li K, Zhou M, Gao H, Wang W, Xiao W. Natural compounds improve diabetic nephropathy by regulating the TLR4 signaling pathway. *J Pharm Anal.* 2024 Aug;14(8):100946. doi: 10.1016/j.jpha.2024.01.014.

175. Wu W, Guan Y, Zhao G, Fu X-J, Guo T-Z, Liu Y-T, Ren X-L, Wang W, Liu H-R, Li Y-Q (2016a) Elevated IL-6 and TNF- α Levels in

Cerebrospinal Fluid of Subarachnoid Hemorrhage Patients. *Molecular Neurobiology* 53:3277-3285.

176. Wu Y, Pang J, Peng J, Cao F, Vitek MP, Li F, Jiang Y, Sun X (2016) An apoE-derived mimic peptide, COG1410, alleviates early brain injury via reducing apoptosis and neuroinflammation in a mouse model of subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Lett* 627:92-99.

177. Xu Z, Shi WH, Xu LB, Shao MF, Chen ZP, Zhu GC, Hou Q. Resident Microglia Activate before Peripheral Monocyte Infiltration and p75NTR Blockade Reduces Microglial Activation and Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage. *ACS Chem Neurosci*. 2019 Jan 16;10(1):412-423. doi: 10.1021/acschemneuro.8b00298.

178. Xu Z, Zhang F, Xu H, Yang F, Zhou G, Tong M, Li Y, Yang S. Melatonin affects hypoxia-inducible factor 1 α and ameliorates delayed brain injury following subarachnoid hemorrhage via H19/miR-675/HIF1A/TLR4. *Bioengineered*. 2022 Feb;13(2):4235-4247. doi: 10.1080/21655979.2022.2027175.

179. Yan Z, Zou Y, Deng Y, Liu S, Li K, Yang J, Guo X, He R, Zheng W, Xie H. Analysis of role of rat cerebral pericytes in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage and molecular mechanism of neurovascular injury. *Bioengineered*. 2021 Dec;12(1):3957-3967. doi: 10.1080/21655979.2021.1947630.

180. Yasukawa H, Ohishi M, Mori H, Murakami M, Chinen T, Aki D, Hanada T, Takeda K, Akira S, Hoshijima M, Hirano T, Chien KR, Yoshimura A (2003) IL-6 induces an anti-inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages. *Nat Immunol* 4:551-556.

181. Yefimova S, Onishchenko A, Klochkov V, Myasoedov V, Kot Y, Tryfonyuk L, Knigavko O, Maksimchuk P, Kökbaş U, Kalashnyk-Vakulenko Y, Arkatov A, Khanzhyn V, Prokopyuk V, Vyshnytska I, Tkachenko A. Rare-earth orthovanadate nanoparticles trigger Ca²⁺-dependent eryptosis. *Nanotechnology*. 2023 Mar 1;34(20).

182. Yin D, Zhou S, Xu X, Gao W, Li F, Ma Y, Sun D, Wu Y, Guo Q, Liu H, Han L, Wang Z, Wang Y, Zhang J. Dexmedetomidine attenuated early

brain injury in rats with subarachnoid haemorrhage by suppressing the inflammatory response: The TLR4/NF- κ B pathway and the NLRP3 inflammasome may be involved in the mechanism. *Brain Res.* 2018 Nov 1;1698:1-10. doi: 10.1016/j.brainres.2018.05.040. Epub 2018 May 26. PMID: 29842860.

183. You W, Zuo G, Shen H, Tian X, Li H, Zhu H, Yin J, Zhang T, Wang Z (2016) Potential dual role of nuclear factor-kappa B in experimental subarachnoid hemorrhage-induced early brain injury in rabbits. *Inflammation Research* 65:975-984.

184. Zeiler FA, Thelin EP, Czosnyka M, Hutchinson PJ, Menon DK, Helmy A (2017) Cerebrospinal Fluid and Microdialysis Cytokines in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Scoping Systematic Review. *Front Neurol* 8:379.

185. Zhang Y, Liang X, Bao X, Xiao W, Chen G. Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitors: Current research and prospective. *Eur J Med Chem.* 2022 May 5;235:114291. doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114291.

186. Zhang Z, Zhang A, Liu Y, Hu X, Fang Y, Wang X, Luo Y, Lenahan C, Chen S. New Mechanisms and Targets of Subarachnoid Hemorrhage: A Focus on Mitochondria. *Curr Neuropharmacol.* 2022;20(7):1278-1296. doi: 10.2174/1570159X19666211101103646. PMID: 34720082; PMCID: PMC9881073.

187. Zheng B, Zhou X, Pang L, Che Y, Qi X. Baicalin suppresses autophagy-dependent ferroptosis in early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Bioengineered.* 2021 Dec;12(1):7794-7804. doi: 10.1080/21655979.2021.1975999.

188. Zhou C, Xie G, Wang C, Zhang Z, Chen Q, Zhang L, Wu L, Wei Y, Ding H, Hang C, Zhou M, Shi J (2015) Decreased progranulin levels in patients and rats with subarachnoid hemorrhage: a potential role in inhibiting inflammation by suppressing neutrophil recruitment. *Journal of Neuroinflammation* 12:200.

189. Zhou Y, Jiang Y, Peng Y, Zhang M (2017) The Quantitative and Functional Changes of Postoperative Peripheral Blood Immune Cell Subsets Relate to Prognosis of Patients with Subarachnoid Hemorrhage: A Preliminary Study. *World Neurosurg* 108:206-215.

ДОДАТОК А
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Повнота публікацій за темою дисертації з особистим внеском здобувача.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Калюжка, В. (2024). Значення ІЛ-6 у спинномозковій рідині для прогнозування розвитку церебрального ангіоспазму у хворих на субарахноїдальний крововилив. Експериментальна і клінічна медицина, 93(3). <https://doi.org/10.35339/ekm.2024.93.3.kav>. (Здобувачем особисто виконано клінічне дослідження та підготовлено текст статті).

2. Kaliuzhka V., Tkachenko A., Myasoedov V., Markevych M., Onishchenko A., Babalyan I., Piatykor V. The Prognostic Value of Eryptosis Parameters in the Cerebrospinal Fluid for Cerebral Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia Formation. World Neurosurg. 2023;173:e578-85. DOI: 10.1016/j.wneu. 2023.02.096. PMID: 36842532. Scopus Q2 (Здобувачем особисто проаналізовано ефективність застосованих діагностичних методів, систематизовано отримані результати, написані основні розділи статті).

3. Kaliuzhka, V. I., Piatykor, V. O., Markevych, M. A., & Babalian, I. O. (2023). Determination of inflammatory mediator levels in cerebrospinal fluid during the formation of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage. Ukrainian Neurosurgical Journal, 29(4), 35–41. <https://doi.org/10.25305/unj.287723>. (Здобувачем особисто виконано клінічне дослідження та підготовлено текст статті).

Опубліковані наукові праці апробаційного характеру:

4. V. Kaliuzhka “Prognostic value of erythrosis in cerebrospinal fluid for formation of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia”. Abstract book of 9th EANS Vascular Session Annual Meeting, 5-6 September 2022 Nice, France. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).*

5. V. Piatykor, V. Kaliuzhka, A. Tkachenko, M. Markevych, A. Onishchenko Prognostic value of erythrosis in cerebrospinal fluid for formation of cerebral vasospasm and delayed cerebral ischemia, <https://doi.org/10.1016/j.bas.2022.101193>, Brain and Spine, Vol. 2, Supplement 2, 2022, 101193. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції)*

6. Калюжка В.Ю. «Прогностичне значення параметрів ериптозу у спинномозковій рідині для діагностики ускладнень субарахноїдального крововиливу». Збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» Харків: ХНМУ, 13–15 лютого 2023. С 156. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).*

7. Калюжка В. Прогностичне значення параметрів ериптозу спинномозкової рідини для діагностики церебрального вазоспазму та відтермінованої ішемії мозку. *Невідкладна нейрохірургія, присвяченої 100-річному ювілею проф. Г.П. Педаченка*: матеріали науково-практичної та освітньої конференції нейрохірургів України (31 травня по 1 червня 2023 р., м. Київ, Україна). Київ. С. 71. *(Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).*

8. Piatykor V., Kaliuzhka V., Markevych M., Babalyan Iu. Prognostic value of TLR4 receptors in cerebrospinal fluid for formation of cerebral vasospasm and

delayed cerebral ischemia, *Brain and Spine*, Vol. 3, Supplement 1, 2023,101816 <https://doi.org/10.1016/j.bas.2023.101816>. (Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).

9. Калюжка В.Ю. Прогностична цінність параметрів ериптозу в спинномозковій рідині для розвитку церебрального вазоспазму та відстроченої церебральної ішемії. *Інтерактивна нейрохірургія в умовах війни: матеріали щорічна наукова конференція УАН з міжнародною участю (12–14 вересня 2024 р., м. Тернопіль, Україна)*. Тернопіль. С. 56–57. (Здобувачем проведено пошук та вивчення літературних джерел, аналіз результатів, оформлення тез та представлення їх на науково-практичній конференції).

Додаток Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор ДУ Інститут неврології,
 психіатрії та наркології імені П.В. Волошина
 Національної академії медичних наук України
 д.м.н., проф., член кореспондент НАМН України
 Ігор Лінський



2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.)
Спосіб прогнозування церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії у хворих на аневризматичний субарахноїдальний крововилив
 2. Ким і коли запропоновано *Калюжка В.Ю., П'ятикоп В.О., Бабалян Ю.О., 2025 р.*
 3. Джерело інформації (інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конгреси, конференції, семінари тощо)
Kaliuzhka V, Tkachenko A, Myasoedov V, Markevych M, Onishchenko A, Babalyan I, Piatykor V. The Prognostic Value of Eryptosis Parameters in the Cerebrospinal Fluid for Cerebral Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia Formation. World Neurosurg. 2023 May;173:e578-e585.
 4. Де і коли введено в *Комунальне некомерційне підприємство Харківської обласної ради «Обласна клінічна лікарня»*
 5. Результати застосування методу за період з *2023-2025 рр.*
 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3) *В залежності від показників ериптозу у спинномозковій рідині був стратифікований ризик розвитку ускладнень аневризматичного субарахноїдального крововиливу.*
- Відповідальний(і) за впровадження** к.м.н., доцент завідувач відділу відділу функціональної нейрохірургії з групою патоморфології **Посохов Микола Федорович**

_____ (дата)


 _____ (підпис)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Генеральний директор
 комунального некомерційного підприємства
 Харківської обласної ради
 «Обласна клінічна лікарня»
 Руслан ВРАГОВ

«___» _____ 2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.)

Спосіб прогнозування церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії у хворих на аневризматичний субарахноїдальний крововилив

2. Ким і коли запропоновано *Калюжка В.Ю., П'ятикоп В.О., Бабалян Ю.О., 2025 р.*

3. Джерело інформації (інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конгреси, конференції, семінари тощо)

Kaliuzhka V, Tkachenko A, Myasoedov V, Markevych M, Onishchenko A, Babalyan I, Piatykop V. The Prognostic Value of Eryptosis Parameters in the Cerebrospinal Fluid for Cerebral Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia Formation. World Neurosurg. 2023 May;173:e578-e585.

4. Де і коли впроваджено в *Комунальне некомерційне підприємство Харківської обласної ради «Обласна клінічна лікарня»*

5. Результати застосування методу за період з *2023-2025 рр.*

6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3) *В залежності від показників ериптозу у спинномозковій рідині був стратифікований ризик розвитку ускладнень аневризматичного субарахноїдального крововиливу.*

Відповідальний(і) за впровадження завідувач нейрохірургічного відділення №2 з інсультним блоком та блоком інтенсивної терапії **Бабалян Юрій Олександрович.**

(дата)

(підпис)



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.б. проректора з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету
проф. Михайло МИРОШНИЧЕНКО

«__» _____ 2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.)

Спосіб прогнозування церебрального ангіоспазму та відтермінованої церебральної ішемії у хворих на аневризматичний субарахноїдальний крововилив

2. Ким і коли запропоновано *Калюжка В.Ю., П'ятикоп В.О., Бабалян Ю.О., 2025 р.*

3. Джерело інформації (інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конгреси, конференції, семінари тощо)

4. *Kaliuzhka V, Tkachenko A, Myasoedov V, Markevych M, Onishchenko A, Babalyan I, Piatykop V. The Prognostic Value of Eryptosis Parameters in the Cerebrospinal Fluid for Cerebral Vasospasm and Delayed Cerebral Ischemia Formation. World Neurosurg. 2023 May;173:e578-e585.*

5. Де і коли впроваджено *в науково-педагогічну діяльність кафедри нейрохірургії Харківського національного медичного університету.*

6. Результати застосування методу за період з 2021-2025 рр.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3) *В залежності від типу АМК у дівчат ПП застосовано схему лікування даного патологічного стану.*

Відповідальний(і) за впровадження завідувач кафедри нейрохірургії ХНМУ, д.мед.н., проф. П'ятикоп В.О.

_____ (дата)

_____ (підпис)

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 09:31:13 23.04.2025

Назва файлу з підписом: Калюжка В.Ю._дисертація_21.04.pdf.p7s

Розмір файлу з підписом: 10.6 МБ

Назва файлу без підпису: Калюжка В.Ю._дисертація_21.04.pdf

Розмір файлу без підпису: 10.5 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: КАЛЮЖКА ВЛАДИСЛАВ ЮРІЙОВИЧ

П.І.Б.: КАЛЮЖКА ВЛАДИСЛАВ ЮРІЙОВИЧ

Країна: Україна

РНОКПП: 3480303899

Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 22:10:04 21.04.2025

Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"

Серійний номер: 5E984D526F82F38F04000000B8B51901D7C75905

Тип носія особистого ключа: Незахищений

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Удосконалений

Тип контейнера: Підпис та дані в одному файлі (CAAdES enveloped)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.01.15 13:00