

**Н.В.Пашковська**

Буковинський державний  
медичний університет

УДК 616.831-005.1-071.7

## **ГІСТОПАТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ СУДИН МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА ДІАБЕТИЧНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ**

*Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи «Патогенетичні механізми захворювань нервової системи: шляхи їх медикаментозної та немедикаментозної корекції» (№ державної реєстрації 2600U00105).*

**Ключові слова:** цукровий діабет, головний мозок, мікроциркуляція, ендотеліоцити, ядерний хроматин.

*Надійшла: 18.11.2007*

*Прийнята: 25.12.2007*

**Резюме.** У гістопатологічних препаратах різних ділянок головного мозку за діабетичної енцефалопатії встановлена десквамація ендотелію артеріол та венул, спазмування та периваскулярний набряк різного ступеня тяжкості артеріол та капілярів. Показано, що коефіцієнти варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів артеріол, венул та капілярів за діабетичної енцефалопатії є вірогідно вищим у порівнянні з відповідними показниками контрольної групи, що вказує на зниження функціональної спроможності цих клітин та розвиток ендотеліальної дисфункції.

**Морфологія.- 2008.- Т.ІІ, №1.- С.86-90**

© Н.В.Пашковська, 2008

**Pashkovska N.V. Histopathological aspects of endothelial dysfunction in the vessels of brain microcirculation in case of diabetic encephalopathy.**

**Summary.** The desquamation of endothelium of arteries, small veins and venules, the arteriolospasm and perivascular edematization of varying degrees of severity was established in histological preparations of different brain regions in case of diabetic encephalopathy. It was shown, that variation coefficients of optical density of stained nuclear chromatin of endotheliocytes in the vessels of brain microcirculation were reliably higher in case of diabetic encephalopathy as compared with corresponding indices of control group; this indicated the decrease of functional capability of these cells and the development of endothelial dysfunction.

**Key words:** diabetes mellitus, brain, microcirculation, endotheliocytes, nuclear chromatin.

### **Вступ**

Зростання тривалості життя хворих на цукровий діабет (ЦД) у зв'язку із оптимізацією методів контролю і корекції глікемії призвело до росту числа його пізніх ускладнень, провідне місце серед яких посідає ураження нервової системи. На сьогоднішній день діабетична енцефалопатія є найменш вивченою галуззю нейродіабетології, що нерідко залишається поза межами існуючих клінічних класифікацій (Рудакова И., 2002; Маньковський Б.Н., 2003; Мищенко Т.С. та співавт., 2005).

Однією з найважливіших ланок патогенезу мікроангіопатій, що відіграють провідну роль у розвитку церебральних порушень за ЦД, є пошкодження судинного ендотелію, якому притаманна бар'єрна, секреторна, гемостатична, вазотонічна функції тощо (Волосовець О.П. та співавт., 2005). Водночас оцінка ступеня ендотеліальної дисфункції, як правило, зводиться до визначення окремих ендотеліальних факторів (Li J.M., Shah A.M., 2004; Kitayama J. et al., 2006). У реалізації більшості функцій ендотелію бере

участь ДНК ядра ендотеліоцитів шляхом залучення її до процесів продукції різних протеїнів (через посередництво відповідних РНК) – ферментів, структурних та рецепторних білків тощо. Вважається, що функціональне навантаження ядра із залученням ДНК віддзеркалює будова ядерного хроматину. Зокрема, про підсилення активності ДНК ядра у вказаних процесах неспецифічно свідчить зсув балансу еухроматин/гетерохроматин у бік першого (Pober J.S., Min W., 2006).

Зважаючи на вищевказане, ми вирішили дослідити гістопатологічні аспекти ендотеліальної дисфункції судин мікроциркуляторного русла головного мозку за діабетичної енцефалопатії із проведенням кількісної оцінки балансу між еухроматином та гетерохроматином на цифрових зображеннях шляхом вимірювання коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину, який відображає ступінь гомогенності (гетерогенності) забарвлення ядра.

Мета роботи. З'ясувати патоморфологічні особливості ендотелію судин мікроциркулятор-

ного русла головного мозку за діабетичної енцефалопатії із урахуванням коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів.

#### **Матеріали та методи**

Досліджували секційний матеріал (тканину мозочку, стовбуру та різних часток півкуль головного мозку) 22 хворих на діабетичну енцефалопатію, який отримували впродовж 10-12 год. після смерті (дослідна група). Для порівняння використовували зразки мозкової тканини 20 загиблих від нещасних випадків, практично здорових за життя (контрольна група). Шматочки тканини фіксували у 5% водному розчині сульфосаліцилової кислоти впродовж 24 годин. Здійснювали проводку у висхідній батареї етанолу та парафінову заливку при 56°C (для збереження параметрів ядра). Виготовлені парафінові зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном Гарріса, який дає можливість отримання контрастного забарвлення ядерного хроматину. Цифрові копії оптичного зображення виготовляли із використанням об'єктиву мікроскопа 60<sup>x</sup> – при водній імєрсії.

В ядрах недесквамованих ендотеліоцитів вимірювали середню арифметичну оптичної густини забарвлення (у відносних одиницях оптичної густини у діапазоні «0-1») та показник середньоквадратичного відхилення оптичної густини забарвлення (у відносних одиницях оптичної густини) із використанням комп'ютерної програми GIMP (the GNU Image Manipulation Program) Portable 2.2.13.

Обрахування коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення (вираженого у відсотках) здійснювали шляхом ділення величини середньоквадратичного відхилення оптичної густини забарвлення на середню арифметичну оптичної густини забарвлення із множенням на 100. Отримані результати оброблені за допомогою статистичної програми Biostat із використанням t-критерію Стюдента.

#### **Результати та їх обговорення**

Загальновідомо, що ураженню судин мікроциркуляторного русла за ЦД притаманна триада чинників Сенако-Вірхова: зміни в судинній стінці, порушення системи згортання крові й уповільнення кровообігу, які створюють передумови для мікротромбування. Зміни в дрібних судинах (артеріолах, капілярах, венулах) носять специфічний для ЦД характер. Провідна роль у їх розвитку належить пошкодженню ендотелію (Дедов И.И. та співавт., 2002; Ефимов А.С. та співавт., 2005).

У досліджуваних гістопрепаратах лобової частки півкуль головного мозку за діабетичної енцефалопатії в цілому спостерігаються артеріоли зі збереженим ендотелієм. Привертає увагу те, що велика кількість досліджуваних судин спазмована, зі звуженими просвітом (рис. 1). Деякі артеріоли деформовані, навколо більшості з них

має місце периваскулярний набряк різного ступеня тяжкості.

Проведення кількісної оцінки балансу між еухроматином та гетерохроматином на цифрових зображеннях ендотеліоцитів досліджуваних судин шляхом вимірювання коефіцієнта оптичної густини забарвлення ядерного хроматину (табл.) виявило збільшення показника останнього у 1,6 рази порівняно з контролем з високим ступенем вірогідності ( $P < 0,001$ ).

У потиличній частці відмічається периваскулярний набряк артеріол різного ступеня тяжкості. Спостерігається спазмування значної кількості артеріол. Визначення показника варіації оптичної густини забарвлення ядра ендотеліоцитів цих судин виявило його вірогідне ( $P < 0,001$ ) збільшення у 1,3 рази порівняно з контролем (табл. 1).

Артеріоли скроневої частки в основному спазмовані. Водночас іноді зустрічаються артеріоли з нормальним просвітом. Показник варіації оптичної густини ядра ендотеліальних клітин вірогідно ( $P < 0,001$ ) більший за контрольний у 1,6 рази (табл. 1).

У тім'яній частці спостерігається периваскулярний набряк артеріол різного ступеня тяжкості. Не дивлячись на те, що ендотелій в основному збережений, гетерогенність забарвлення ядер його клітин зменшена (коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного забарвлення у 1,6 рази вірогідно ( $P < 0,001$ ) перевищує відповідний показник у контролі (табл. 1).

У досліджуваних гістопрепаратах стовбуру головного мозку за діабетичної енцефалопатії артеріоли в основному мають звичайну будову. Помітний периваскулярний набряк різного ступеня тяжкості (рис. 1). Частина артеріол спазмована. Слід зауважити, що ендотелій судин у більшості гістопрепаратів у цілому збережений. Показник варіації оптичної густини забарвлення ядра ендотеліоцитів артеріол майже у 1,4 рази вірогідно ( $P < 0,001$ ) вищий порівняно з контролем (табл.), що є непрямим свідченням зниження функціональної здатності ендотеліальних клітин досліджуваних судин.

Дослідження гістопатологічних препаратів мозочку виявило спазмування артеріол різного ступеня тяжкості (рис. 1). Привертає увагу те, що ендотелій більшості артеріол десквамований. Лише зрідка в досліджуваних зразках відмічаються артеріоли нормальної будови. Проведення кількісної оцінки балансу між еухроматином та гетерохроматином ендотеліоцитів виявило вірогідне збільшення коефіцієнта оптичної густини забарвлення ядерного хроматину (табл.) більше, ніж у 1,3 рази ( $P < 0,01$ ).

Патологічні зміни з боку венул виявлені практично у всіх досліджуваних ділянках головного мозку.

Таблиця 1

Коефіцієнти варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів судин мікроциркуляторного русла головного мозку за діабетичної енцефалопатії (%)

| Тип судин               | Контрольна група, (n=20) | Дослідна група, (n=22) | P щодо контролю |
|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------|
| <b>Артеріоли</b>        |                          |                        |                 |
| Півкулі головного мозку |                          |                        |                 |
| • Лобова частка         | 13,2±0,54                | 20,7±0,89              | P<0,001         |
| • Потилична частка      | 9,3±0,56                 | 12,3±0,90              | P<0,01          |
| • Скроневая частка      | 10,1±0,62                | 15,8±0,81              | P<0,001         |
| • Тім'яна частка        | 14,0±0,55                | 22,0±1,03              | P<0,001         |
| Мозочок                 | 10,2±0,67                | 13,1±0,66              | P<0,01          |
| Стовбур                 | 14,2±0,32                | 18,9±0,59              | P<0,001         |
| <b>Венули</b>           |                          |                        |                 |
| Півкулі головного мозку |                          |                        |                 |
| • Лобова частка         | 9,2±0,64                 | 14,0±0,85              | P<0,001         |
| • Потилична частка      | 6,4±0,39                 | 10,8±0,74              | P<0,001         |
| • Скроневая частка      | 6,4±0,40                 | 9,2±0,62               | P<0,001         |
| • Тім'яна частка        | 6,2±0,47                 | 9,4±0,66               | P<0,001         |
| Мозочок                 | 6,5±0,48                 | 10,3±0,70              | P<0,001         |
| Стовбур                 | 8,2±0,47                 | 14,9±0,52              | P<0,001         |
| <b>Капіляри</b>         |                          |                        |                 |
| Півкулі головного мозку |                          |                        |                 |
| • Лобова частка         | 12,4±0,55                | 18,2±0,90              | P<0,001         |
| • Потилична частка      | 8,1±0,51                 | 10,3±0,61              | P<0,05          |
| • Скроневая частка      | 7,9±0,54                 | 10,1±0,59              | P<0,01          |
| • Тім'яна частка        | 11,8±0,64                | 15,3±0,73              | P<0,001         |
| Мозочок                 | 9,2±0,58                 | 11,5±0,70              | P<0,05          |
| Стовбур                 | 15,1±0,24                | 19,2±0,52              | P<0,001         |

Примітка: n – кількість спостережень; P – вірогідність змін між групами спостереження ( $P \leq 0,05$ ).

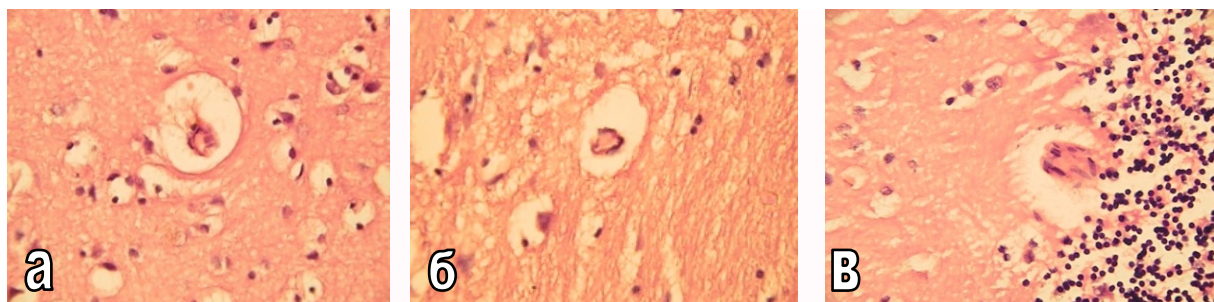


Рис. 1. Головний мозок. Діабетична енцефалопатія. а) Півкулі головного мозку. Потилична частка; б) Стовбур мозку; в) Мозочок. Пояснення у тексті. Мікрофотографії. Гематоксилін-еозин.  $\times 600$  (водна імєрсія).

Так, у венулах лобової частки спостерігається десквамація двох третин від усіх ендотеліоцитів (рис. 2). У деяких венулах має місце руйнування всіх шарів, що супроводжується дрібними крововиливами. Показник варіації оптичної густини забарвлення ядер ендотеліоцитів майже у 1,6 рази вірогідно ( $P < 0,001$ ) вищий порівняно з контролем (табл. 1).

Близько 50% відсотків ендотеліоцитів венул потиличної частки десквамовані. Коефіцієнт варіації оптичної густини забарвлення ядер збере-

жених ендотеліальних клітин у 1,7 рази вірогідно ( $P < 0,001$ ) більший за контрольний показник.

Ендотелій венул скроневої частки приблизно на 50% денудований. Гетерогенність ядер ендотеліоцитів збільшилась у 1,4 рази порівняно із контролем.

Не дивлячись на те, що венули тім'яної частки гістологічно не мають особливостей, функціональна спроможність їх ендотеліоцитів знижена, про що свідчить зниження коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення їх ядер.



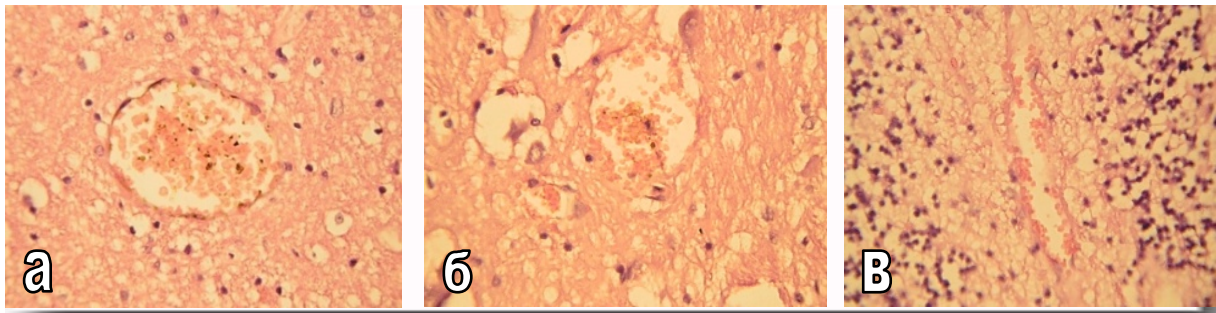


Рис. 2. Головний мозок. Діабетична енцефалопатія. а) Півкулі головного мозку. Лобова частка; б) Стовбур мозку; в) Мозочок. Пояснення у тексті. Мікрофотографії. Гематоксилін-еозин.  $\times 600$  (водна імерсія).

У переважній більшості гістопрепаратів стовбуру головного мозку відмічаються венули з десквамованим ендотелієм. Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину ендотеліальних клітин майже вдвічі вірогідно ( $P < 0,001$ ) перевищує контрольний показник.

Більшість венул гістопатологічних препаратів мозочку за діабетичної енцефалопатії мають нормальну будову. Водночас у деяких венулах має місце десквамація ендотелію (рис. 2). Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину ендотеліальних клітин майже у 1,7 рази вірогідно ( $P < 0,001$ ) вищий, ніж у контролі.

Дослідження гістологічних препаратів півкуль головного мозку за діабетичної енцефалопатії виявило патологічні зміни ендотелію капілярного русла. Так, капіляри лобової частки в основному без особливостей. Водночас серед деяких досліджуваних судини без ендотелію спостерігається перикапілярний набряк (рис. 3), а також вірогідне зростання коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення ядер ендотеліальних клітин у 1,6 рази.

Ендотелій більшості капілярів потиличної частки збережений, має місце перикапілярний

набряк, у деяких капілярах відмічається десквамація ендотелію. Коефіцієнт оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів вірогідно ( $P < 0,05$ ) зростає у 1,3 рази порівняно з контролем.

У скроневій частці відмічається спадання або звуження просвітів значної частини капілярів. Ендотелій в цілому збережений. Гетерогенність ядер збережених ендотеліоцитів у 1,3 рази вірогідно більша порівняно з відповідною у контролі. У гістопатологічних препаратах тім'яної частки головного мозку за діабетичної енцефалопатії капіляри без особливостей. Вірогідне збільшення показника варіації оптичної густини забарвлення ядер ендотеліоцитів судин у 1,3 рази ( $P < 0,001$ ) порівняно із контролем свідчить про зниження активності ДНК і, отже, порушення функціональної здатності цих клітин.

Патологічних змін з боку капілярів більшості досліджуваних гістопатологічних препаратів стовбуру головного мозку не виявлено (рис. 3). Водночас вірогідне збільшення показника варіації оптичної густини забарвлення ядер ендотеліоцитів судин ( $P < 0,05$ ) порівняно із контролем свідчить про наявність дисфункції останніх.

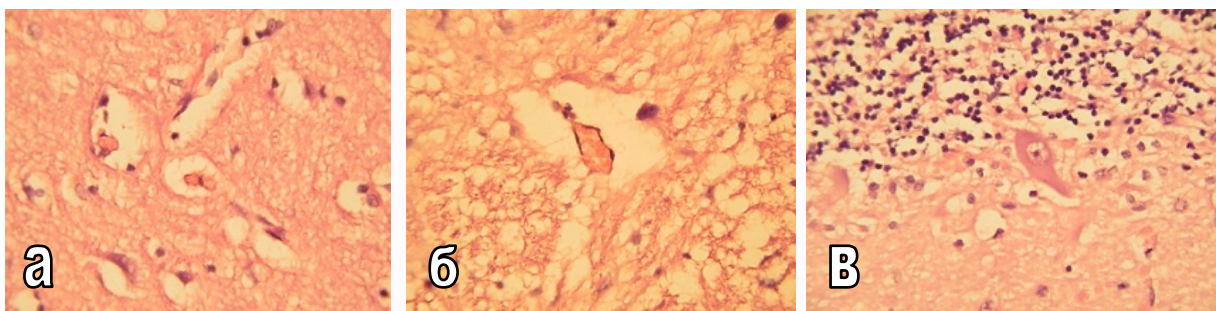


Рис. 3. Головний мозок. Діабетична енцефалопатія. а) Півкулі головного мозку. Тім'яна частка; б) Стовбур мозку; в) Мозочок. Пояснення у тексті. Мікрофотографії. Гематоксилін-еозин.  $\times 600$  (водна імерсія).

Не дивлячись на те, що будова капілярів серед більшості гістопрепаратів мозочку виявилася без особливостей (рис. 3), відмічається вірогідне збільшення показника варіації оптичної густини забарвлення ядер ендотеліоцитів судин у 1,3 рази ( $P < 0,001$ ) порівняно із контролем.

Таким чином, проведене дослідження пока-

зало, що за діабетичної енцефалопатії ураження ендотеліальної стінки притаманно практично всім церебральним судинам мікроциркуляторного русла головного мозку, про що свідчить зростання гетерогенності ядер ендотеліальних клітин. Водночас привертає увагу той факт, що ступінь ураження того чи іншого типу судин різна

залежно від ділянки головного мозку. Усе це зумовлює домінування відповідної клінічної симптоматики.

Численні дослідження показали, що ендотеліальна дисфункція за ЦД проявляється підвищенням в плазмі крові рівня фактора Віллебранда, зростанням експресії, синтезу і концентрації в плазмі ендотеліну-1, 3, зниженням вивільнення простацикліну, збільшенням вмісту тромбомодуліну на поверхні ендотеліоцитів, порушенням розщеплення плазміногеном глікозилизованого фібрину, зростанням кінцевих продуктів глікозилювання, надлишковим утворенням аніона супероксиду, підвищенням проникності судин, порушенням реактивності останніх тощо (Li J.M., Shah A.M., 2004; Ефимов А.С. и соавт., 2005; Kitayama J. et al., 2006). Це призводить до прогресування хронічних ускладнень ЦД, зокрема діабетичної енцефалопатії.

#### **Висновки**

1. За діабетичної енцефалопатії відбувається десквамація ендотелію артеріол та венул різних ділянок головного мозку. Спостерігається

периваскулярний набряк артеріол різного ступеня тяжкості та їх спазмування. У деяких венулах має місце руйнування всіх шарів, що супроводжується дрібними крововиливами. Відмічається перикапілярний набряк та спадання або звуження просвітів значної частини капілярів.

2. Коефіцієнти варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів судин мікроциркуляторного русла різних часток півкуля, мозочку та стовбуру головного мозку за діабетичної енцефалопатії є вірогідно більшими порівняно з контролем, що вказує на зниження активності ядра цих клітин щодо залучення ДНК до синтетичних процесів і створює морфологічний субстрат для розвитку ендотеліальної дисфункції.

#### **Перспективи подальших досліджень**

Доцільно дослідити патоморфологічні аспекти ендотеліальної дисфункції судин артеріального та венозного головного мозку за цукрового діабету з метою встановлення її ролі у механізмах розвитку діабетичної енцефалопатії.

#### **Літературні джерела**

Волосовец О.П., Кривоустов С.П., Остапчук Т.С. Сучасні погляди на проблему дисфункції ендотелію та можливості її корекції засобами антигомотоксичної терапії // *Прак. ангіологія*.- 2005.- №1(01).- С.26-30.

Дедов И.И., Шестакова М.В., Кочемасова Т.В. Дисфункция эндотелия в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета // *Пробл. эндокринологии*.- 2002.- №4.- С.21-24.

Ефимов А., Зуева Н., Скробонская Н. Диабетическая невропатия // *Ліки України*.- 2005.- №3.- С.21-25.

Маньковский Б.Н. Поражение нервной системы при сахарном диабете – клинические проявления и лечение // *Журн. практич. врача*.- 2003.- №1.- С.27-32.

Мищенко Т.С, Перцева Т.Г, Мищенко В.Н. Сахарный диабет и цереброваскулярные заболе-

вания // *Міжн. неврол. журн.*- 2005.- №4.- С.29-34.

Рудакова И. Диабетическая энцефалопатия // *Врач*.- 2002.- №9.- С.24-26.

Kitayama J., Faraci F.M., Gunneth C.A. Impairment of dilator responses of cerebral arterioles during diabetes mellitus role of Inducible NO synthase // *Stroke*.- 2006.- №37.- P.2129-2130.

Li J.M., Shah A.M. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*- 2004.- №287.- P.1014-1030.

Pober J.S., Min W. Endothelial cell dysfunction, injury and death // *Handbook of experimental pharmacology*.- 2006.- Vol.176, №2.- P.135-157.

**Пашковская Н.В. Гистопатологические особенности эндотелиальной дисфункции сосудов микроциркуляторного русла головного мозга при диабетической энцефалопатии.**

**Резюме.** В гистопатологических препаратах разных областей головного мозга при диабетической энцефалопатии выявлена десквамация эндотелия артериол и венул, спазмирование и периваскулярный отек разной степени тяжести артериол и капилляров. Показано, что коэффициенты вариации оптической плотности окрашивания ядерного хроматина эндотелиоцитов артериол, венул и капилляров при диабетической энцефалопатии являются достоверно выше по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы, что указывает на снижение функциональной способности этих клеток и развитие эндотелиальной дисфункции.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, головной мозг, микроциркуляция, эндотелиоциты, ядерный хроматин.