УДК 616.831-005.1-071.7

Н.В. Пашковська

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ СУДИН МОЗОЧКА ЗА ДІАБЕТИЧНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

Ключові слова: *цукровий діабет, мозочок, ендотеліоцити.*

Резюме. *У гістологічних препаратах мозочка за діабетичної енцефалопатію (ДЕ) встановлено десквамацію ендотелію вен дрібного калібру, артеріол та венул, спазмування артеріол різного ступеня тяжкості. Показано, що коефіцієнти варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів вен дрібного калібру, артеріол, венул та капілярів мозочка за діабетичної енцефалопатії є вірогідно більшими порівняно з відповідними показниками контрольної групи, що вказує на зниження функціональної спроможності цих клітин та розвиток ендотеліальної дисфункції.*

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 [5]. Під діабетичною енцефалопатією розуміють стійку церебральну патологію, яка виникає внаслідок гострих, підгострих і хронічних діабетичних обмінних і судинних порушень, що клінічно проявляються неврозоподібними й психоподібними дефектами, органічною й вегетативною церебральною симптоматикою [6].

Оскільки діабетичні ураження головного мозку - це комплекс судинних, неврологічних та метаболічних порушень, патогенез яких надзвичайно складний. Більшість авторів зазначають, що однією з найважливіших його ланок є пошкоджен-

© *Н.В. Пашковська, 2008*

ня ендотелію судин [2]. Проте оцінка ступеня цього процесу, як правило, зводиться до трактування наявності ендотеліальної дисфункції за визначенням окремих ендотеліальних чинників [2,9]. Водночас ендотелій відіграє багато функцій, зокрема бар'єрну, секреторну, гемостатичну, вазотонічну, бере участь у процесах ремоделювання та запалення судинної стінки тощо [1]. У реалізації більшості з них 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 [12].

Симптоми мозочкової недостатності є одними з домінуючих у клінічній картині діабетичної енцефалопатії. За нашими даними вони трапляються майже у 60% хворих на цю патологію, сягаючи 80% і вище при третій стадії захворювання [12].

Ось чому ми вирішили з'ясувати морфологічні аспекти ендотеліальної дисфункції судин мозочка за діабетичної енцефалопатії із проведенням кількісної оцінки балансу між еу- та гетерохроматином на цифрових зображеннях судин цієї структури шляхом вимірювання коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину, який відображає ступінь гомогенності (гетерогенності) забарвлення ядра.

Мета дослідження

З'ясувати морфологічні аспекти ендотеліальної дисфункції судин мозочка за діабетичної енцефалопатії із урахуванням коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів.

Матеріал і методи

Досліджували секційний матеріал (тканину мозочка) 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°С (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 60ˣ - при водній імерсії (оптимальне компромісне збільшення для достатньої деталізації ядерного хроматину з можливістю визначити тип судини).

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 2.213.

Обраховування коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення (вираженого у відсотках) здійснювали шляхом ділення величини середньоквадратичного відхилення оптичної густини забарвлення на середню арифметичну оптичної щільності забарвлення із множенням на 100.

Отримані результати оброблені за допомогою статистичної програми Biostat із використанням t-критерію Стьюдента.

Обговорення результатів дослідження

Провідна роль у розвитку діабетичних енцефалопатій належить генералізованному ураженню всіх ланок системи кровообігу, що проявляється як ушкодженням великих і середніх артеріальних судин (макроангіопатією), так і дегенеративними змінами артеріол, вен, капілярів (мікроангіопатією) [5]. Венозні судини беруть безпосередню участь у регуляції мозкового кровотоку та циркуляції спинномозкової рідини, провідна роль у чому належить ендотеліоцитам [12].

Вивчення в гістопатологічних препаратах мозочка за діабетичної енцефалопатії вен дрібного калібру виявило ендотеліальні денудацію більшості досліджуваних судин (рис. 1).

Така активація процесу злущення ендотеліоцитів вказує на пошкодження судин, зумовлене патологічними змінами за ЦД.

Ураження судин мікроциркуляторного русла (артеріол, капілярів, венул) за ЦД носять специфіч-

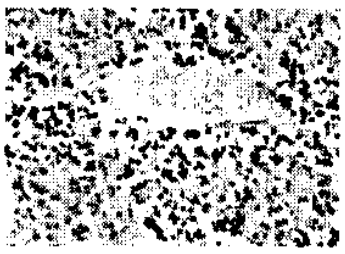

Рис. 1. Мозочок. Діабетична енцефалопатія. Пояснення у тексті. Мікрофотографія. Гематоксилін-еозин. Об.60ˣ (водна імерсія), Ок.10ˣ.

ний характер і супроводжуються змінами в судинній стінці, порушенням системи згортання крові й уповільненням кровотоку, що створює передумови для мікротромбування [11].

У досліджуваних гістопатологічних препаратах відмічається спазмування артеріол різного ступеня тяжкості (рис.2).

Привертає увагу те, що ендотелій більшості артеріол десквамований (рис. 3).

Лише зрідка в досліджуваних зразках відмічаються артеріоли нормальної будови (рис.4).

Проведення кількісної оцінки балансу між еу- та гетерохроматином на цифрових зображеннях артеріол мозочка за діабетичної енцефалопатії шляхом вимірювання коефіцієнта оптичної густини забарвлення ядерного хроматину (табл.) виявило вірогідне збільшення показника більше, ніж у 1,3 раза (P<0,01).

Таке зростання гетерогенності забарвлення ядра ендотеліоцитів вказує на зменшення в ньому еухроматину, тобто є свідченням зниження активності ядра щодо залучення ДНК до синтетичних процесів. Всі ці зміни створюють морфологічне підґрунтя для розвитку ендотеліальної дисфункції і сприяють прогресуванню цереброваскулярних порушень.

Більшість венул у гістопатологічних препаратах мозочка за діабетичної енцефалопатії мають нормальну будову (рис. 5).

Водночас в деяких венулах має місце десквамація ендотелію (рис.6).

Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину ендотеліальних клітин вену мозочка майже у 1,7 раза вірогідно (P<0,001) перевищує контрольний показник (табл.).

Патологічних змін з боку капілярів більшості досліджуваних гістопатологічних препаратів не виявлено (рис. 7). Водночас вірогідне збільшення показника варіації оптичної густини забарвлення ядер ендотеліоцитів судин (P<0,05) порівняно із контролем свідчить про дисфункцію цих клітин (табл.).

Отже, в ендотеліальних клітинах судин мікроциркуляційного русла мозочка за діабетичної енцефалопатії відбувається зростання гетерогенності забарвлення ядер, що свідчить про порушення балансу між еу- та гетерохроматином за рахунок зменшення вмісту останнього і створює підґрунтя для розвитку дисфункції ендотеліальних клітин.

Виявлені зміни пояснюються тим, що унікальне розташування клітин ендотелію мікроциркуляторного русла на межі між циркулюючою кров'ю та тканинами робить їх найбільш вразливими до дії патогенних факторів, що знаходяться у системному та тканинному кровообігу за ЦД [2]. Ключова роль у цьому належить гіперглікемії, яка запускає цілий каскад механізмів, що викликають швидке прогресування судинної патології, зокрема активує в ендотеліальних клітинах протеїнкіназу С, що може збільшити синтез судиннозвужувальних простагландинів, ендотеліну-1 і ангіотензинперетворювального ферменту, які володіють безпосередньою або опосередкованою негативною дією на судиннорухову реактивність [3]. Крім того, доведено, що еритроцити, що містять глікозильований гемоглобін, мають змінений поверхневий s-потенціал, що призводить до стазу, аглютинації й сладжу еритроцитів. Результатом даних процесів є мікротромбоз, який створює місцеву циркуляторну й гемічну гіпоксію, активацію пероксидного окиснення ліпідів з ушкодженням цитоплазматичних мембран ендотеліальних клітин [13]. До чинників ушкодження мембран ендотеліальних клітин також слід віднести кетоацидоз і глікозилювання N-кінців трансмембранних протеїнів [10]. Все це веде до розвитку судинних уражень різних структур головного мозку, зокрема мозочкових, що клінічно проявляється симптоматикою недостатності останніх, зокрема мозочковою атаксією.

Таблиця

Коефіцієнт варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів мозочка за діабетичної енцефалопатії (%)

Тип судин	Контрольна група, (n=20)	Дослідна група, (n=22)	P щодо контролю
Капіляри	9,2±0,58	11,5±0,70	P<0,05
Артеріоли	10,2±0,67	13,1±0,66	P<0,01
Венули	6,5±0,48	10,3±0,70	P<0,001
Артерії дрібного калібру	*	*	*
Вени дрібного калібру	*	*	*

Примітка. n - кількість спостережень; P - вірогідність змін між групами спостереження; * - недостатньо даних для вірогідних результатів на рівні p=0,05

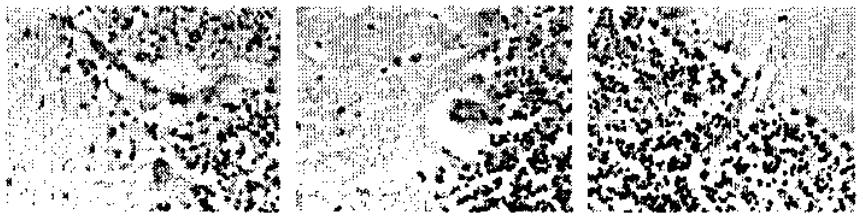

Рис. 2. Мозочок. Діабетична енцефалопатія. Пояснення у тексті. Мікрофотографія. Гематоксилін-еозин. Об.60ˣ (водна імерсія), Ок.10ˣ

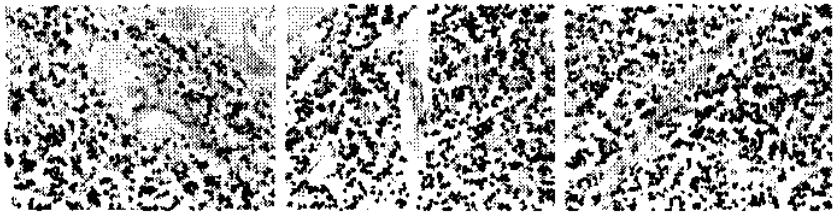

Рис. 3. Мозочок. Діабетична енцефалопатія. Пояснення у тексті. Мікрофотографія. Гематоксилін-еозин. Об.60ˣ (водна імерсія), Ок.10ˣ

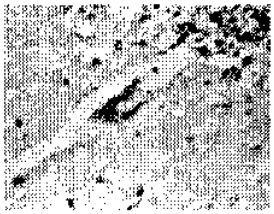

Рис. 4. Мозочок. Діабетична енцефалопатія. Пояснення у тексті. Мікрофотографія. Гематоксилін-еозин. Об.60ˣ (водна імерсія), Ок.10ˣ

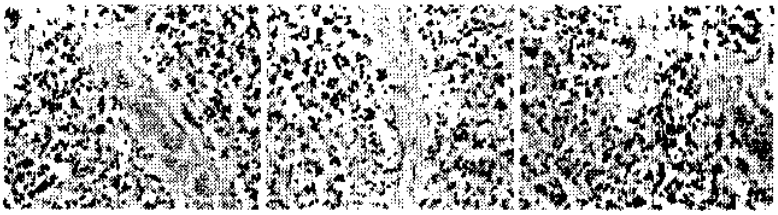

Рис. 5. Мозочок. Діабетична енцефалопатія. Пояснення у тексті. Мікрофотографія. Гематоксилін-еозин. Об.60ˣ (водна імерсія), Ок.10ˣ

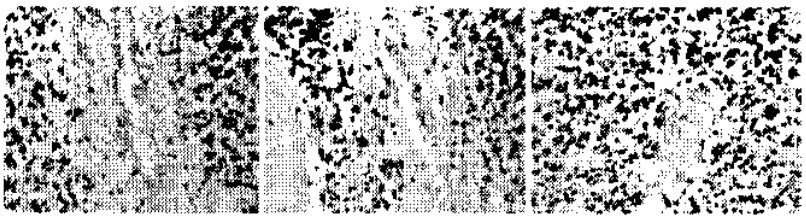

Рис. 6. Мозочок. Діабетична енцефалопатія. Пояснення у тексті. Мікрофотографія. Гематоксилін-еозин. Об.60ˣ (водна імерсія), Ок.10ˣ

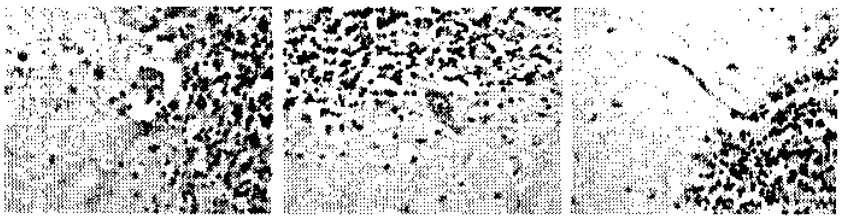

Рис. 7. Мозочок. Діабетична енцефалопатія. Пояснення у тексті. Мікрофотографія. Гематоксилін-еозин. Об.60ˣ (водна імерсія), Ок.10ˣ

Висновки

1. За діабетичної енцефалопатії відбувається підсилена десквамація ендотелію вен дрібного калібру, артеріол та венул мозочка різного ступеня тяжкості.

2. Коефіцієнти варіації оптичної густини забарвлення ядерного хроматину ендотеліоцитів судин мікроциркуляторного русла (артеріол, венул, капілярів) мозочка за діабетичної енцефалопатії є вірогідно більшими порівняно з відповідними показниками контрольної групи, 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 інших структур головного мозку за цукрового діабету з метою встановлення її ролі у механізмах розвитку діабетичної енцефалопатії.

Література. 1. *Волосовець О.П., Кривопустов С.П., Остапчук Т.С.* Сучасні погляди на проблему дисфункції ендотелію та можливості її корекції засобами антигомотоксичної терапії // Практ. ангіологія. - 2005. - №1(01) - С.26-30. 2. *Дедов И.И., Шестакова М.В., Кочемасова Т.В.* Дисфункция эндотелия в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета // Пробл. эндокринол. - 2002. - №4. - С.21-24. 3. *Ковалева О.Н., Нижегородцева О.А.* Эндотелийзависимая вазодилатация: молекулярные основы, физиологические эффекты, участие в патогенезе артериальной гипертензии // Укр. терапевт. ж. - Том 3, №4. - 2001. - С.39-42. 4. *Котов С.В., Рудакова И.Г., Исакова Е.В.* Энцефалопатия у больных сахарным диабетом II типа. Клиника и лечение // Неврол. ж. - 2001. - Т.6, №3. - С.35-37. 5. *Маньковский Б.Н.* Поражение нервной системы при сахарном диабете - клинические проявления и лечение // Ж.практич.врача. - 2003. - №1. - С.27-32. 6. *Мищенко Т.С, Перцева Т.Г, Мищенко В.Н.* Сахарный диабет и цереброваскулярные заболевания // Міжн. неврол. журн. - 2005. - №4. - С.29-34. 7. *Пашковська Н.В., Пашковський В.М.* Особливості перебігу діабетичних енцефалопатій залежно від типу основного захворювання // Буков. мед. вісник. - №3. - 2006. - С.60-63. 8. *Kitayama J., Faraci F.M., Gunnett C.A.* Impairment of Dilator Responses of Cerebral Arterioles During Diabetes Mellitus Role of Inducible NO Synthase // Stroke. - 2006. - №37. - P.2129-2130. 9. *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. 10. *Loomans C.J., de Koning E.J., Staal F.J.* Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes // Diabetes. - 2004. - №53. - P.195-199. 11. *Mohsin F., Craig M.E., Cusumano J.* Discordant trends in microvascular complications in adolescents with type 1 diabetes from 1990 to 2002 // Diabetes Care. - 2005. - Vol.28. - P.1974-1980. 12. *Pober J.S., Min W.* Endothelial cell dysfunction, injury and death // Handbook of experimental pharmacology. - Vol. 176(II) - P.135-157. 13. *Zachary I.* VEGF signalling: integration and multitasking in endothelial cell biology // Biochem. Soc. Trans. - 2003. - №31. - P.1171-1177.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ СОСУДОВ МОЗЖЕЧКА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Н.В. Пашковская

Резюме. В гистопатологических препаратах мозжечка при диабетической энцефалопатии выявлена десквамация эндотелия вен мелкого калибра, артериол и венул, спазмирование артериол разной степени тяжести. Показано, что коэффициенты вариации оптической плотности окрашивания ядерного хроматина эндотелиоцитов вен мелкого калибра, артериол, венул и капиляров при диабетической энцефалопатии являются достоверно большими по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы, что указывает на снижение функциональной способности этих клеток и развитие эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: сахарный диабет, мозжечок, эндотелиоциты.

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTIONS OF CEREBELLUM VESSELS IN CASE OF DIABETIC ENCEPHALOPATHY

N.V. Pashkovska

Abstract. The desquamation of endothelium of small veins, arterioles and venules, the arteriolospasm of various degrees of severity was established in histological preparations of cerebellum in case of diabetic encephalopathy. It was shown, that variation coefficients of optical density of stained nuclear chromatin of endotheliocytes in cerebellar small veins, arterioles, venules and capillaries were significantly 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, cerebellum, endotheliocytes.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2008.- Vol.7, №1.-P.69-73.
Надійшла до редакції 15.01.2008

Рецензент - проф. І.С. Давиденко