

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

АВРАМЕНКО ЮЛІЯ МИКОЛАЇВНА



УДК: 616.16:616.831]:616.379-008.64-06:616.831-005.1-005.4]-091.8

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕРЕБРАЛЬНИХ  
МІКРОСУДИН У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ II ТИПУ,  
УСКЛАДНЕНИЙ ШЕМІЧНИМ ПІВКУЛЬОВИМ ІНФАРКТОМ МОЗКУ**

14.03.02 – патологічна анатомія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Запоріжжя – 2021



Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Запорізькому державному медичному університеті МОЗ України.

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, доцент **Шаврін Володимир Олександрович**, професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет МОЗ України;

**Офіційні опоненти:**

заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор **Шпонька Ігор Станіславович**, перший проректор, професор кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»;

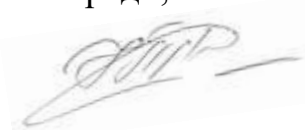
доктор медичних наук, професор **Волос Лілія Іванівна**, професор кафедри патологічної анатомії та судової медицини, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України.

Захист відбудеться « 22 » квітня 2021 р. о 10<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.04 Запорізького державного медичного університету МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий « 18 » березня 2021 року.

Учений секретар спеціалізованої вченої ради,  
доцент



Т.В. Іваненко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** У світі нараховується 425 мільйонів дорослих хворих на цукровий діабет (ЦД), з прогнозованим зростанням цієї цифри в 1,5 рази до 2045 року [Cho, N. H. et al., 2018]. ЦД займає 3-є місце за поширеністю після серцево-судинної патології та злоякісних новоутворень, його найнебезпечнішими наслідками є системні судинні ускладнення [Madhu S. V. et al., 2015, Lin, X., Xu, Y., Pan, X. et al, 2020], у хворих на діабет у 2-3 рази вищий ризик розвитку інфаркту та інсульту. ЦД посідає друге місце за сумарним негативним впливом на зменшення тривалості життя хворих [Lin, X., Xu, Y., Pan, X. et al, 2020], скорочуючи її на 10-30 % і зумовлює підвищення рівня смертності у 2-3 рази [Ткаченко В.І., 2015]. Загальне збільшення тривалості життя хворих на діабет у зв'язку з вдосконаленням методів контролю і корекції глікемії призвело до зростання числа пізніх ускладнень ЦД, серед яких одне з провідних місць займає діабетична енцефалопатія [ВООЗ, 2016], обумовлена ураженням дрібних судин головного мозку або діабетичною церебральною мікроангіопатією.

Розвиток мікроангіопатії при ЦД носить багатобактерний характер, її патогенез пояснюють гормональна, метаболічна, імунологічна, гемореологічна, генетична теорії [Дорогой А.П. 2007, Маньковский Б.Н. 2010, Пашковська Н.В. та ін., 2011]. Одну з ключових ролей у розвитку діабетичної церебральної мікроангіопатії відіграє генералізоване ураження дрібних судин діаметром до 500 мкм, що в останні роки стало причиною її асоціації з церебральною хворобою дрібних судин (SVD) [Liu J. et al., 2018]. Як вважають, ця хвороба обумовлена ураженням перфорантних мозкових артеріол, капілярів та венул, що призводить до пошкодження білої і глибоких прошарків сірої речовини головного мозку, яке має схожі клініко-невропатологічні і когнітивні прояви та нейровізуалізаційні характеристики [Umemura T. et al., 2016, Sanahuja J. et al., 2016, van Sloten T.T. et al., 2020]. Однак сучасна інформація щодо патоморфології діабетичної церебральної мікроангіопатії та її впливу на розвиток і прогресування церебрального інфаркту досі нечисельна. Для вирішення цього питання необхідні новітні морфологічні, імуногістохімічні і електронно-мікроскопічні дослідження мікросудин головного мозку у хворих на ЦД.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є фрагментом 2-х науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету: «Закономірності формування метаболічних порушень, нейроендокринного та вегетативного дисбалансів у патогенезі експериментальної артеріальної гіпертензії різного генезу» (номер державної реєстрації 0114U000966, строки виконання 2014-2016 рр.) та «Морфогенез деструктивно-репаративних процесів головного мозку при захворюваннях судинного та токсико-метаболічного генезу» (номер державної реєстрації 0118U004253, строки виконання 2018-2022 рр.), в яких автор була співвиконавцем.

**Мета і завдання дослідження.** Мета – визначення патоморфологічних параметрів мікросудин м'якої оболонки і кори головного мозку у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ішемічним інфарктом мозку, у порівнянні зі змінами аналогічних мікросудин при церебральному атеросклерозі з артеріальною гіпертензією та ішемічним інфарктом мозку.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Вивчити патоморфологічні і морфометричні зміни в артеріолах м'якої оболонки головного мозку (ГМ) у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД-2) та порівняти їх зі змінами аналогічних артеріол померлих хворих груп умовного контролю (УК) і дисциркуляторно-ішемічної енцефалопатії (ДІЕП) при церебральному атеросклерозі (ЦА) з артеріальною гіпертензією (АГ).

2. Охарактеризувати стан мікросудин м'якої оболонки ГМ за експресією каспази-3, Ki-67, CD31, CD105, колагену IV типу, VEGF і VEGFR-2, MMP-9/TIMP-1 у померлих хворих на ЦД-2 та порівняти їх з аналогічними параметрами груп УК і ДІЕП.

3. Визначити патоморфологічні і морфометричні зміни в артеріолах кори півкуль ГМ у померлих хворих на ЦД-2 та порівняти їх зі змінами церебро-кортикальних артеріол померлих хворих груп УК і ДІЕП.

4. Дослідити і порівняти патоморфологічні, морфометричні, електронно-мікроскопічні зміни в капілярах кори ГМ у померлих хворих на ЦД-2 та в групах УК і ДІЕП.

5. Вивчити і порівняти стан мікросудин кори ГМ за експресією каспази-3, Ki-67, CD31, CD105, колагену IV типу, VEGF і VEGFR-2, MMP-9/TIMP-1 у померлих хворих на ЦД-2 та в групах УК і ДІЕП.

6. Охарактеризувати і порівняти патоморфологічні, морфометричні і ІГХ зміни артеріол м'якої оболонки ГМ в некротичну стадію півкульового інфаркту мозку у померлих хворих на ЦД-2 і у хворих на ЦА з АГ, також у хворих ЦД-2 без інфаркту.

7. Визначити і порівняти патоморфологічні, морфометричні і ІГХ зміни артеріол і капілярів кори ГМ в некротичну стадію півкульового інфаркту мозку у померлих хворих на ЦД-2 і у хворих на ЦА з АГ, а також у хворих на ЦД-2 без інфаркту.

*Об'єкт дослідження:* діабетична мікроангіопатія.

*Предмет дослідження:* патоморфологічні зміни мікросудин головного мозку при цукровому діабеті 2 типу та церебральному атеросклерозі з артеріальною гіпертензією, ускладнених ішемічним півкульовим інфарктом.

*Методи дослідження:* гістологічні, гістохімічні (ГХ) (ШИК-реакція, Масон-трихром, за Вейгертом), імуногістохімічні (ІГХ): експресія каспази-3, Ki-67, CD31, CD105, VEGF, VEGFR2, Collagen IV, MMP-9, TIMP-1), електронно-мікроскопічні (ЕМ) і комп'ютерно-морфометричні (КМ) для визначення змін церебральних мікросудин при ЦД. Порівняльний статистичний і кореляційний аналіз отриманих морфометричних і ІГХ результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Гістологічними, ГХ і ІГХ методами в порівняльному аналізі вперше встановлено, що у хворих на ЦД 2 типу в артеріолах м'яких оболонки і кори ГМ через плазматичне просочення розвивається фіброз з накопиченням колагену 4 типу, а також гіаліноз, які за морфометричними параметрами перевищують патологічні зміни артеріол при дисциркуляторно-ішемічній енцефалопатії у хворих на церебральний атеросклероз з артеріальною гіпертензією. В капілярах кори ГМ при ЦД 2 типу через накопичення ШИК-позитивних компонентів плазми крові формується значний гіаліноз стінок з втратою перицитів, які обумовлюють значні розлади гемомікроциркуляції.

Поглиблені наукові уявлення щодо особливостей підвищеної експресії VEGF, VEGFR-2, CD31, CD105, Ki-67 та каспази-3 в ГМ при ЦД 2 типу. Про компенсаторний неоангіогенез в корі ГМ при ЦД 2 типу свідчать достовірно вища площа експресії VEGF, підвищений рівень експресії Ki-67 в мікросудинах та достовірно вищий показник щільності мікросудин в корі ГМ (у порівнянні з групою умовного контролю і дисциркуляторно-ішемічної енцефалопатії), а також нечисленні бруньки росту капілярів. Визначено, що вищий рівень експресії Ki-67 та каспази-3 в ендотелії мікросудин м'яких оболонки і кори ГМ, в порівнянні з групою умовного контролю, віддзеркалюють реендотелізацію мікросудин у відповідь на підвищений апоптоз ендотеліальних клітин. Підвищені показники експресії VEGF і Ki-67 в корі ГМ та статистично значущі прямі помірної сили кореляційні зв'язки між підвищеною площею експресії CD31 і CD105 ( $r = 0,39$ ), між площею експресії CD105 і VEGFR-2 ( $r = 0,31$ ) свідчать про інтенсивні процеси реендотелізації мікросудин мозку активованими CD105 ендотеліоцитами у відповідь на їх постійне пошкодження у хворих на ЦД 2 типу. Ішемічний півкульовий інфаркт у хворих на ЦД 2 типу індукує значне підвищення (в порівнянні з церебральним атеросклерозом) експресії васкулоендотеліального фактору росту та рецепторів до нього, що стимулює неоангіогенез безпосередньо в перинфарктній зоні, в той час як в корі ГМ над інфарктом в стадії некрозу визначаються поодинокі бруньки росту капілярів та тенденція до зниженої щільності мікросудин (в порівнянні з групою ЦД 2 типу).

**Практичне значення одержаних результатів.** На підставі гістологічних, ГХ, ІГХ і ЕМ досліджень встановлено, що при ЦД 2 типу і при дисциркуляторно-ішемічній енцефалопатії у хворих на церебральний атеросклероз з АГ, різні за морфогенезом патологічні зміни мікросудин м'якої оболонки і кори ГМ (дисметаболічне плазматичне просочення стінок артеріол і капілярів при ЦД на відмінність від вазоспастичного плазматичного просочення стінок артеріол при церебральному атеросклерозі з АГ) завершуються розповсюдженим гіалінозом мікросудин, більш виразним при ЦД 2 типу. Визначено, що у хворих обох груп порівняння патологічні зміни церебральних мікросудин супроводжуються мікроскопічними проявами хронічної цереброваскулярної недостатності: наявністю багатопросвітних судинних конволутів через недостатню гемоперфузію мікросудин, розширенням периваскулярних і перинейрональних просторів через набряк відростків астроцитів, наявністю ішемічних змін у частині нейронів, а також великої

кількості «крохмалоподібних» тілець навколо кортикальних дрібних венул та у верхньому молекулярному шарі кори ГМ.

Результати дисертаційного дослідження з позитивним ефектом впроваджені в практичну роботу Дніпропетровського і Чернігівського обласних патологоанатомічних бюро. Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького МОЗ України, кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії, Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України та Сумського державного університету МОН України.

**Особистий внесок дисертанта.** Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора, науковим керівником визначені тема і складена програма дослідження. Здобувач особисто виконала патентно-інформаційний пошук і проаналізувала літературу; самостійно виконала гістологічні, імуногістохімічні та морфометричні дослідження секційного матеріалу померлих хворих; провела статистичний аналіз отриманих даних, систематизувала і інтерпретувала отримані результати; написала всі розділи дисертації; сформулювала висновки і рекомендації. Електронно-мікроскопічні дослідження ГМ померлих хворих виконані автором з науковим керівником в електронно-мікроскопічній лабораторії Запорізького державного медичного університету.

**Апробація результатів дисертації.** Апробація дисертації відбулася на засіданні кафедр патологічної анатомії і судової медицини; патологічної фізіології; анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії; гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету МОЗ України 24.12.2020 р.

Основні положення дисертації були представлені й обговорені на науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної патоморфології», присвяченій 90-річчю з дня заснування кафедри патологічної і топографічної анатомії НМАПО ім. П.Л. Шупика (Київ, 2012), на міжнародних науково-практичних конференціях «Вітчизняна та світова медицина в сучасних умовах» (Дніпропетровськ, 2015) та «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» (Львів, 2015), на міжрегіональній науково-практичній конференції «Итоги и перспективы развития патологоанатомической службы республики Саха (Якутия, 2015), на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і студентів з міжнародною участю «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я – 2015» (Запоріжжя, 2015), на XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2019).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, серед яких: 6 статей у наукових фахових виданнях України [зокрема 4 з них – у наукових фахових виданнях України, які індексуються міжнародною наукометричною базою Web of Science CC (з них одна моноавторська стаття)], 1 стаття у матеріалах науково-практичної конференції та 5 тез в матеріалах міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 238 сторінках машинопису, вона складається з анотацій, вступу, 6 розділів (огляд літератури, матеріали і методи дослідження, 3 розділи власних досліджень, аналіз й узагальнення отриманих результатів), висновків, практичних рекомендацій, списку 222 використаних джерел літератури (72 – кирилицею і 150 – латиницею) та додатків. Робота ілюстрована 122 рисунками і 17 таблицями.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження мікросудин м'якої мозкової оболонки (ММО) і кори півкуль ГМ та ретроспективний аналіз історій хвороб проведені у 150 померлих хворих, розподілених на 5 груп: 1-а група – 30 померлих віком 39-94 років (20 жінок, 10 чоловіків), хворих на ЦД 2-го типу без клінічного діагнозу діабетичної енцефалопатії та проявів АГ; 2-а група – 30 померлих віком 47-93 роки (15 чоловіків, 15 жінок), хворих на ішемічно-дисциркуляторну енцефалопатію з атеросклеротичним стенозом (>75 % просвіту) внутрішньочерепних магістральних артерій ГМ та АГ; 3-тя група – 30 померлих від ішемічного інфаркту (в стадії некрозу) лівої півкулі ГМ, віком 58-85 років (16 жінок, 14 чоловіків), хворих на ЦД 2-го типу з атеросклеротичним 50-75 % стенозом внутрішньочерепних магістральних артерій ГМ без проявів АГ; 4-а група – 30 померлих від ішемічного інфаркту (в стадії некрозу) лівої півкулі ГМ, віком 43-91 рік (17 чоловіків, 13 жінок) з атеросклеротичним 50-75 % стенозом внутрішньочерепних магістральних артерій ГМ та АГ; 5-а група умовного контролю – 30 хворих віком 35-88 років (16 чоловіків, 14 жінок), померлих від гострого інфаркту міокарда, гострої пневмонії, хронічної виразкової хвороби шлунку, гангрені кишківника, без ознак ЦД і церебральної судинної патології. У 83 % померлих пацієнтів 1-ї групи визначався ЦД середньої тяжкості, у 17 % – тяжкий ЦД. Безпосередніми причинами смерті хворих 1-ї групи були гострий інфаркт міокарду, декомпенсація серцевої діяльності, гостра пневмонія, гангрена нижніх кінцівок, гостра судинна недостатність кишківника.

Для гістологічних, ГХ, ІГХ досліджень шматочки ГМ з м'якими мозковими оболонками фіксували в 10 % забуференому формаліні, заливали в парафін. Серійні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, методом Масон-трихром, за Вейгертом, проводили ШИК-реакцію. Визначали зміни товщини базальної мембрани, внутрішньої еластичної мембрани і стінки мікросудин м'якої оболонки і кори ГМ; плазматичне просякання стінки судин; гіаліноз стінки артеріол; наявність мікротромбів; набухання, гіперплазію та десквамацію ендотеліоцитів.

Комп'ютерна морфометрія проводилася в мікроскопі Scope. A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) з камерою Progres Gryphax Jenoptik 60N-C1"1,0x426114 (Німеччина), з'єднаною з комп'ютером, оснащеним програмою цифрового аналізу Progres Gryphax 1.1.4.2 (Jenoptik Optical System, Німеччина). Вимірювали наступні параметри судин: зовнішній D1 і внутрішній D2 діаметри; зовнішній F1 і внутрішній F2 фактори форми; площу просвіту і площу стінки. Товщину судинної стінки визначали за формулою:  $T = (D1 - D2) / 2$ , де D1 – зовнішній



діаметр, мкм, D2 – внутрішній діаметр, мкм [Автандилов Г.Г., 2002]. Для визначення функціонального стану судин обчислювали індекс Вогенворта: відношення площі стінки до площі просвіту  $\times 100\%$  [Шкробот Л. В., 2013], а також індекс Керногана: відношення товщини стінки до діаметра просвіту судини  $\times 100\%$  [Шульгай, А. Г. та ін., 2013]. Морфометричні вимірювання параметрів мікросудин виконували у 20 померлих хворих з кожної групи спостереження, в кожному випадку вимірювання проводили в 5-ти полях зору мікроскопа при збільшенні: окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 20$ , окремо – в м'яких оболонках ГМ і в корі ГМ. Таким чином, в кожній групі спостережень вимірювалися параметри мікросудин в 100 полях зору м'яких оболонок ГМ і в 100 полях зору кори лівої півкулі ГМ.

В парафінових зрізах ГМ з м'якими мозковими оболонками проводили ІГХ реакції із застосуванням антитіл та системи детекції ДАКО EnVision+System з діамінобензидином («ДАКО», США), за протоколом, рекомендованим виробником антитіл. Відповідно до завдань дослідження застосовані такі антитіла: для ідентифікації ендотелію судин – Мо а-Ну CD31 Endothelial Cell Marker Ab-1, *Clone JC/70A* («ДАКО», Данія); для ідентифікації активованих ендотеліальних клітин – Мо а-Ну CD105 Endoglin, *Clone SN6h<sup>1</sup>* («ДАКО», Данія); для оцінки ангиогенезу – Мо а-Ну VEGF, *Clone VG1* («ДАКО», Данія) та його основного рецептора – Rb а-Ну Flk-1 / KDR / VEGFR2 Ab-1 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США); для визначення процесів деградації екстрацелюлярного матриксу – Rb а-Ну MMP-9 (92kDa Collagenase IV) («Thermo Fisher Scientific Inc.», США) та тканинного інгібітора-1 металопротейназ-1 – Мо TIMP-1 Ab-2, *Clone 102D1* («Thermo Fisher Scientific Inc.», США); визначення площі експресії колагену IV типу – Мо а-Ну Collagen IV, *Clone CIV 22* («ДАКО», Данія); наявність апоптозу клітин мікросуд – Мо а-Ну Caspase 3 (CPP32) Ab-3, *Clone 3CSP03* («ThermoScientific», США); проліферацію клітин мікросудин оцінювали за ядерною експресією – Мо а-Ну Ki-67, *Clone SP6* («ThermoScientific», США). Оцінку результатів усіх ІГХ реакцій проводили в мікроскопі Score. A1 (Carl Zeiss, Німеччина) в програмі Progres Gryphax 1.1.4.2 (Jenoptik Optical System, Німеччина) в мікрофотографіях, згідно з рекомендаціями виробника програмного забезпечення.

Результати ІГХ експресії CD31, CD105, VEGF, VEGFR-2, MMP-9, TIMP-1, Collagen IV у кожному випадку оцінювали в 5 стандартизованих полях зору мікроскопа Score. A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) з камерою Progres Gryphax Jenoptik 60N-C1"1,0x426114 (Німеччина) при збільшенні  $\times 200$ : отримували цифрові фотокопії ділянок ІГХ мікропрепаратів, площу експресії маркерів оцінювали в мкм<sup>2</sup> за допомогою програми ВідеоТест – Морфологія 5.2.0.158 (ООО ВідеоТест, Росія). Далі обчислювали відносну площу експресії маркера шляхом поділу площі імунопозитивного забарвлення на загальну площу мікрофотографії, отриманий результат множили на 100 % і отримували  $S_{\text{відн. експресії}}, \%$ . Кількісну оцінку рівня експресії Ki-67 та Caspase-3 у клітинах мікросудин м'якої мозкової оболонки і кори ГМ визначали шляхом обчислення відношення числа Ki-67+ та Caspase-3+ імунопозитивних клітин в судинах до загальної кількості клітин в судинах у стандартизованому полі зору, підрахунок

проводили в 5 полях зору при збільшенні  $\times 200$  (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 20$ ), %. Визначення кількості мікросудин кори ГМ мозку проводили в ІГХ мікропрепаратах, забарвлених антитілами до CD31, у кожному випадку в 5 стандартизованих полях зору мікроскопа, при збільшенні  $\times 200$  (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 20$ ), кількість мікросудин підраховували за методом S. Bosari et al. (1992). Підрахунок кількості перицитів в капілярах ГМ проводили в ІГХ мікропрепаратах тканини ГМ з експресією колагену IV типу [в 5 стандартизованих полях зору мікроскопа, при збільшенні  $\times 200$  (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 20$ )].

Для ЕМ у 3-х померлих хворих на ЦД 2 типу і у 2-х померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію через 4 - 6 годин після їх смерті вирізали дрібні шматочки ГМ з м'якими мозковими оболонками, які фіксували в 2,5 % глутаральдегіді на 0,1 М фосфатному буфері, контрастували в 1% OsO<sub>4</sub>, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, контрастували 2,5 % ураніацетатом на 70<sup>0</sup> спирті і заливали в епон-аралдит. Ультратонкі зрізи, отримані на ультратомі Reichert Om43 (Австрія), вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 (Україна).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили в персональному комп'ютері з використанням статистичного пакету Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія №JPZ804I382130ARCN10-J). Гіпотезу про нормальність розподілу досліджуваних показників перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Отриманні дані представляли у вигляді медіани та міжквартильного розмаху Me (Q1; Q3), порівняння отриманих даних у 2 групах проводили за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні для незалежних вибірок, в 3 і більше групах спостереження використовувався непараметричний дисперсійний аналіз Краскела-Уоліса. Для оцінки зв'язків між імуногістохімічними маркерами використовували непараметричний аналіз з обчисленням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (r). значення якого від 0,1 до 0,29 свідчило про слабкий зв'язок ознак, від 0,3 до 0,69 – про середній зв'язок ознак, від 0,7 і вище – про сильний зв'язок ознак. Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Встановлено, що при ЦД-2 в мікросудинах ГМ визначалися суттєві патоморфологічні зміни: нерівномірне потовщення судинної стінки внаслідок плазматичного просочення з накопиченням ШИК-позитивних компонентів плазми крові, значне потовщення базальних мембран з накопиченням колагенових фібрил, а також формування гіалінозу артеріол ММО, артеріол та капілярів кори ГМ.

За даними КМ у померлих хворих на ЦД-2 артеріоли ММО характеризувалися достовірно ( $p < 0,05$ ) більш потовщеною судинною стінкою (на 84,53 % – в порівнянні з групою УК, та на 20,1 % – в порівнянні з групою ДІЕП) та більшим внутрішнім і зовнішнім діаметром (внутрішній діаметр – на 20,46 % більший, порівняно з групою УК, та на 19,64 % більший, порівняно з групою ДІЕП) (табл. 1). Достовірно вищими були індекс Вогенворта (на 60,71 % – в порівнянні з групою УК, та на 20,18 % – в порівнянні групою ДІЕП), а також індекс Керногана (на 64,34 % вищий, в порівнянні з групою УК) (табл. 1). За даними ЕМ у померлих хворих на ЦД-2 в артеріолах ММО

визначався апоптоз ендотеліальних клітин і перицитів та значне накопичення колагенових волокон в розширених базальних мембранах. При ЦД-2 суттєвих змін зазнавали фактори форми артеріол ММО (табл. 1), особливо зміни внутрішнього фактору форми, які свідчили про деформацію просвіту мікросудин та збільшення ризику тромбоутворення.

Патоморфологічні зміни в артеріолах кори ГМ у хворих на ЦД-2 мали схожі характеристики. Артеріоли кори ГМ мали достовірно більш потовщені стінки (на 40,65 % і на 5,95 % товстіші в порівнянні з групами УК та ДІЕП, відповідно), більший зовнішній діаметр (на 8,9 % і на 10,77 % більший у порівнянні з групами УК та ДІЕП, відповідно) та тенденцію до зменшення внутрішнього діаметра, а також достовірно вищі показники функціональних індексів Вогенворта та Керногана (на 73,12 % і на 49,26 % відповідно, вищі, ніж в групі УК; та на 22,32 % і на 11,18 %, відповідно, вищі, ніж в групі ДІЕП (табл. 1). Збільшення індексів Вогенворта та Керногана, за даними Л.В. Татарчук (2012), відображають погіршення кровопостачання органів.

Через плазматичне просочення та гіаліноз капіляри кори ГМ в групі ЦД-2 мали достовірно потовщену стінку (на 66,62 % і на 20,31 % товстішу, порівняно з групами УК та ДІЕП, відповідно), більший на 4,9 % зовнішній діаметр (порівняно з групою УК), менший внутрішній діаметр (на 9,78 % і на 9,03 % менший, в порівнянні з групами УК та ДІЕП, відповідно) (табл. 1).

Таблиця 1 – Морфометричні параметри артеріол м'якої мозкової оболонки (ММО) і кори головного мозку (ГМ), капілярів кори ГМ в групах померлих умовного контролю (УК), хворих на ЦД 2 типу (ЦД-2), на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію (ДІЕП), на ішемічний церебральний інфаркт при ЦД 2 (ІЦІ ЦД) і при церебральному атеросклерозі (ІЦІ ЦА); Ме(Q1; Q3)

Морфометричні параметри	Група ЦД-2 (n = 20)	Група ДІЕП (n = 20)	ІЦІ ЦД (n = 20)	ІЦІ ЦА (n = 20)	Група УК (n = 20)
1	2	3	4	5	6
<b>Артеріоли ММО</b>					
Зовнішній діаметр D1 (мкм)	89,71*• (69,19; 106,86)	73,02* (61,53; 87,99)	102,10*• (85,45; 134,08)	105,02* (93,57; 120,84)	67,96 (50,49; 84,36)
Внутрішній діаметр D2 (мкм)	61,01*• (44,20; 69,87)	51,03 (39,31; 59,57)	66,03*• (54,42; 88,07)	68,63* (59,67; 81,69)	50,65 (38,14; 65,87)
Товщина стінки Tw (мкм)	13,70*• (11,60; 18,84)	11,77* (9,86; 14,37)	18,10*• (13,21; 22,14)	16,78* (13,96; 20,73)	7,43 (5,73; 9,81)
Індекс Вогенворта iV (%) (мкм)	118,92*• (90,02; 174,95)	98,95* (82,94; 128,44)	127,63*♦ (96,14; 172,25)	104,24* (90,67; 136,99)	74,00 (56,38; 85,52)
Індекс Керногана iK (%)	25,94* (20,37; 35,54)	23,40* (19,26; 27,78)	25,48* (20,21; 32,50)	24,34* (21,10; 29,01)	15,79 (12,56; 20,00)
<b>Артеріоли кори ГМ</b>					
Зовнішній діаметр D1 (мкм)	68,79*• (60,20; 78,65)	62,10 (50,56; 75,65)	77,82*♦• (69,60; 88,85)	72,68* (62,59; 84,56)	63,16 (50,86; 75,42)

## Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6
Внутрішній діаметр D2 (мкм)	44,70 (36,95; 53,94)	41,91 (30,94; 54,87)	48,99 $\bullet$ (41,09; 56,75)	48,35 (41,16; 56,22)	45,32 (36,72; 55,91)
Товщина стінки Tw (мкм)	11,36* $\bullet$ (9,833; 13,43)	10,02* (8,62; 11,06)	14,52* $\bullet$ $\bullet$ (11,82; 17,12)	12,28* (10,34; 14,62)	8,08 (6,17; 9,38)
Індекс Вогенворта iV (%) (мкм)	133,08* $\bullet$ (99,14; 173,15)	103,38* (86,52; 139,87)	146,14* $\bullet$ $\bullet$ (116,77; 202,86)	121,38* (98,11; 158,06)	76,87 (63,24; 87,89)
Індекс Керногана iK (%)	26,42* $\bullet$ (22,28; 32,94)	23,76* (18,73; 32,58)	28,45* (23,61; 37,02)	24,56* (21,58; 30,32)	17,70 (14,69; 21,12)
<b>Капіляри кори ГМ</b>					
Зовнішній діаметр D1 (мкм)	7,712 (6,86; 9,05)	7,88* (6,79; 9,80)	7,83 (6,78; 9,21)	7,47 (6,75; 8,55)	7,35 (6,81; 8,84)
Внутрішній діаметр D2 (мкм)	5,44* $\bullet$ (4,55; 6,59)	5,98 (4,83; 7,72)	5,61* (4,84; 6,35)	5,64* (4,82; 6,30)	6,03 (5,26; 7,20)
Товщина стінки Tw (мкм)	1,11* $\bullet$ (0,95; 1,36)	0,97* (0,84; 1,13)	1,09* $\bullet$ (0,88; 1,32)	0,96* (0,81; 1,18)	0,67 (0,55; 0,85)
Зовнішній фактор форми F1	0,89* (0,85; 0,94)	0,89* (0,87; 0,92)	0,91 (0,87; 0,94)	0,92 (0,8; 0,94)	0,91 (0,89; 0,95)
Внутрішній фактор форми F2	0,90 (0,85; 0,92)	0,89* (0,84; 0,91)	0,88 $\bullet$ (0,82; 0,92)	0,91 (0,87; 0,93)	0,90 (0,88; 0,93)

Примітка 1. \* – статистично достовірні відмінності від групи умовного контролю ( $p < 0,05$ );

Примітка 2.  $\bullet$  – статистично достовірні відмінності між групами ЦД-2 і ДІЕП ( $p < 0,05$ );

Примітка 3.  $\bullet$  – статистично достовірні відмінності між групами ЦД-2 і ІЦІ ЦД ( $p < 0,05$ );

Примітка 4.  $\bullet$  – статистично достовірні відмінності між групами ІЦІ ЦА і ІЦІ ЦД ( $p < 0,05$ ).

За даними ЕМ у померлих хворих на ЦД-2 в капілярах кори ГМ відмічалися апоптоз ендотеліальних клітин і перицитів та зменшення числа перицитів в капілярних стінках. За результатами морфометричних підрахунків в групі ЦД-2 кількість перицитів в капілярах кори ГМ була значно меншою (на 57,14 % меншою, ніж в групі УК, та на 50 % меншою, ніж в групі ДІЕП). В групі ЦД-2, в порівнянні з групою УК, рівень експресії каспази-3 оболонкових та коркових мікросудин був збільшеним на 165,95 % і на 230,85 %, відповідно, а також збільшеним на 205,84 % і на 81,67 %, відповідно, – в порівнянні з групою ДІЕП (табл. 2). За даними P. Geraldес et al. (2009) втрата перицитів капілярами сітківки при діабетичній ретинопатії пояснюється тим, що висока концентрація глюкози в крові активує  $\delta$  протеїнкіназу С та мітоген-активовану протеїнкіназу, які пригнічують рецепторну передачу ендотеліоцитами сигналів тромбоцитарного фактору росту перицитам, що призводить до їх апоптозу.

Водночас в групі ЦД-2 було визначене достовірне підвищення відносної площі експресії VEGF та його рецептора – VEGFR-2 (табл. 2), а також позитивні помірної сили кореляції між VEGF і Caspase-3,  $r = 0,41$  та VEGFR-2 і Caspase-3,  $r = 0,43$  у ММО. Такі кореляції між маркерами протилежного спрямування пояснюють дані S. Elshaer et al. (2018), які в культурі ендотеліальних клітин сітківки in vitro продемонстрували, що підвищений рівень глюкози, через пероксинітрит-опосередковану зміну Akt-1 / p38 сигнального шляху

мітоген-активованої протеїнкінази, порушує функції VEGF сигналів, які в нормі направлені на підтримку виживання судинних клітин.

При ЕМ в артеріолах ММО, в артеріолах і капілярах кори ГМ при ЦД-2 визначалися розповсюджені, значні розширення субендотеліальних базальних мембран з накопиченням в них електроннощільного аморфного матеріалу та колагенових фібрил. Прогресування фіброзу в мікросудинах при ЦД також підтверджувалося збільшенням площі депонування колагену IV типу: на 22,96 % – в мікросудинах кори ГМ та на 23,02 % - в ММО (в порівнянні з групою УК) (табл. 2). В огляді S. Biswas, S. Chakrabarti (2019) вказано, що фіброз мікросудин сітківки при ЦД може пояснюватися активуючим впливом хронічної гіперглікемії на набуття ендотеліальними клітинами мезенхімоподібного фенотипу з продукцією колагену, фібронектину і інших білків позаклітинного матриксу.

У померлих хворих групи ЦД-2 та групи ДІЕП в ГМ були визначені мікроскопічні ознаки хронічної церебро-васкулярної недостатності: ішемічні зміни певної частини нейронів кори ГМ, так звані судинні конволюти (мікросудини з декількома просвітами через їх перекалібровку при недостатній гемоперфузії), а також велика кількість крохмалоподібних тілець (corpora amylacea) навколо кортикальних дрібних венул та у верхньому молекулярному шарі кори ГМ.

Одночасно при ЦД-2 спостерігалися мікроскопічні, морфометричні і ІГХ ознаки компенсаторного неоангіогенезу мікросудин кори ГМ, а також складні співвідношення між площами експресії судинних ростових факторів, їхніх рецепторів та судинних маркерів, які визначали процеси реендотелізації церебральних мікросудин. Про компенсаторний неоангіогенез в корі ГМ при ЦД-2 свідчили достовірно вища площа експресії VEGF (на 197,63 % і на 40,85 %, у порівнянні з групами УК і ДІЕП, відповідно), підвищений рівень експресії Ki-67 в мікросудинах (на 186,38 % і на 68,42 % у порівнянні з групами УК і ДІЕП, відповідно), вищий показник щільності мікросудин в корі ГМ (на 27,27 % і на 21,74 %, у порівнянні з групами УК і ДІЕП, відповідно) (табл. 2), а також нечисленні бруньки росту капілярів.

Таблиця 2 – Характеристика експресії ІГХ маркерів мікросудин та периваскулярних тканин м'якої мозкової оболонки (ММО), кори головного мозку (КГМ) в групах померлих умовного контролю (УК), хворих на ЦД 2 типу (ЦД-2), на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію (ДІЕП), на ішемічний церебральний інфаркт при ЦД 2 типу (ІЦІ ЦД) і при церебральному атеросклерозі (ІЦІ ЦА); Me (Q1; Q3), %

Параметри ІГХ маркерів	Локація	Показник експресії ІГХ маркерів в групах дослідження				
		Група ЦД-2 (n = 10)	Група ДІЕП (n = 10)	Група ІЦІ ЦД (n = 10)	Група ІЦІ ЦА (n = 10)	Група УК (n = 5)
1	2	3	4	5	6	7
Відносна площа експресії CD 31	КГМ	1,09* (0,75; 1,38)	0,89* (0,67; 1,21)	1,18* (0,85; 1,58)	0,91* (0,74; 1,17)	0,71 (0,43; 0,87)
	ММО	0,91 (0,47; 1,36)	0,85 (0,44; 1,53)	1,48* (1,17; 2,17)	1,43* (0,72; 2,41)	0,70 (0,41; 1,09)

## Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5	6	7
Відносна площа експресії CD 105	КГМ	0,43* (0,27; 0,74)	0,35 (0,17; 0,71)	0,50* (0,37; 0,69)	0,49 (0,22; 0,74)	0,35 (0,26; 0,46)
	ММО	0,49* (0,38; 0,73)	0,35 (0,28; 0,51)	0,87* (0,53; 1,07)	0,47* (0,25; 0,76)	0,33 (0,25; 0,44)
Відносна площа експресії Collagen-IV	КГМ	1,86* (1,51; 2,60)	1,91* (1,47; 2,48)	1,45* (1,07; 1,84)	1,20* (0,92; 1,95)	1,52 (1,36; 2,03)
	ММО	3,22* (2,56; 4,29)	3,99* (2,41; 5,42)	2,56 (1,39; 3,46)	3,79* (2,43; 5,91)	2,62 (1,55; 3,23)
Відносна площа експресії VEGF	КГМ	1,00* (0,70; 1,63)	0,71* (0,44; 1,30)	1,63* (1,17; 2,10)	1,24* (0,82; 1,69)	0,34 (0,23; 0,62)
	ММО	1,00 (0,35; 1,53)	0,98 (0,57; 1,39)	1,57* (1,13; 2,15)	1,21* (0,93; 1,70)	0,76 (0,52; 1,30)
Відносна площа експресії VEGFR-2	КГМ	1,15 (0,58; 1,78)	1,24 (0,76; 1,61)	3,55* (2,80; 4,25)	1,74* (1,23; 2,15)	0,92 (0,55; 1,56)
	ММО	1,60* (1,02; 2,65)	1,35 (0,96; 1,76)	2,30* (1,78; 4,04)	1,59* (1,11; 1,96)	1,08 (0,84; 1,58)
Відносна площа експресії MMP-9	КГМ	0,83* (1,03; 0,83)	0,65 (1,10; 0,67)	1,22* (0,70; 2,22)	1,05* (0,50; 1,25)	0,43 (0,34; 0,79)
	ММО	1,63* (1,19; 2,43)	1,43* (0,59; 2,34)	2,26* (1,71; 2,45)	1,52* (1,95; 1,42)	0,52 (0,38; 0,63)
Відносна площа експресії TIMP-1	КГМ	0,28* (0,20; 0,55)	0,44 (0,31; 0,69)	0,23* (0,31; 0,20)	0,22* (0,17; 0,31)	0,45 (0,25; 0,601)
	ММО	0,11 (0,05; 0,18)	0,14 (0,09; 0,17)	0,13 (0,08; 0,19)	0,15* (0,10; 0,22)	0,13 (0,08; 0,19)
Площа експресії MMP9 / TIMP-1	КГМ	2,73* (1,67; 4,64)	1,53 (0,69; 3,06)	5,26* (3,18; 11,99)	4,06* (1,98; 6,77)	1,39 (0,62; 2,29)
	ММО	20,22* (11,99; 31,27)	12,03* (5,25; 19,60)	18,55* (10,91; 28,48)	9,96* (6,02; 17,05)	3,81 (2,46; 6,55)
Рівень експресії Ki-67	КГМ	5,47* (3,64; 6,85)	3,25* (2,00; 4,69)	6,08* (3,95; 8,85)	4,23* (2,00; 5,46)	1,91 (0,00; 3,33)
	ММО	12,06* (7,50; 16,13)	5,27* (4,05; 6,98)	14,72* (7,14; 23,08)	8,47* (3,70; 15,63)	2,82 (1,09; 3,48)
Рівень експресії Caspase-3	КГМ	7,57* (5,10; 9,33)	4,17* (3,18; 5,88)	8,82* (7,46; 11,86)	7,55* (6,02; 9,68)	2,29 (2,00; 2,78)
	ММО	11,15* (6,67; 18,37)	3,65* (2,86; 6,67)	16,68* (10,00; 25,00)	14,29* (11,43; 18,75)	4,19 (2,78; 8,70)

Примітка 1. \* – статистично достовірні відмінності від групи умовного контролю ( $p < 0,05$ );

Примітка 2. • – статистично достовірні відмінності між групами ЦД-2 і ДІЕП ( $p < 0,05$ );

Примітка 3. ☉ – статистично достовірні відмінності між групами ЦД-2 і ІЦІ ЦД ( $p < 0,05$ );

Примітка 4. ♦ – статистично достовірні відмінності між групами ІЦІ ЦА і ІЦІ ЦД ( $p < 0,05$ ).

Про реендотелізацію мікросудин кори ГМ у відповідь на пошкодження у хворих на ЦД-2 свідчили достовірно вища площа експресії VEGF в корі ГМ (на 197,63 % і на 40,85 %, у порівнянні з групами УК і ДІЕП, відповідно), вища площа експресії CD31 (на 52,83 %, ніж в групі УК) та CD105 в корі ГМ (на 22,86 % у порівнянні з групою УК та ДІЕП), підвищений рівень експресії Ki-67 в

мікросудинах (на 186,38 % і на 68,42 % у порівнянні з групами УК і ДІЕП, відповідно) та вогнищева гіперплазія ендотеліоцитів в мікросудинах кори ГМ. За даним Н. Tian et al. (2018) передачі сигналів VEGF та ангиогенезу, викликаному VEGF-A, сприяє взаємодія ендогліну (CD105) та VEGFR-2. В нашому дослідженні в корі ГМ встановлена статистично значуща пряма помірної сили кореляція між показниками експресії CD31 і CD105 ( $r = 0,39$ ) та достовірна пряма середньої сили кореляції між показниками експресії CD105 і VEGFR-2 ( $r = 0,31$ ), які вказували на реендотелізацію мікросудин кори ГМ активованими CD105 ендотеліоцитами. Процеси реендотелізації мікросудин та ангиогенезу в ГМ при ЦД також підтверджені в експериментальних моделях на тваринах [Prakash R. et al. 2012, 2013] та дослідженнями ГМ людей [Гулевская Т.С., Ануфриев П.Л., 2017].

В ММО та в корі ГМ в групі ЦД-2 мав місце вищий показник співвідношення експресії MMP-9 / TIMP-1 (на 430,71 % і на 96,4 % вищий, ніж в групі УК та на 68,08 % і на 78,43 % вищий, ніж в групі ДІЕП) (див. табл. 2). Основою підвищення цього показника було зростання рівня експресії MMP-9 та одночасне зниження рівня експресії TIMP-1. В експериментальних дослідженнях на лабораторних тваринах показано, що гіперглікемічне діабетичне середовище викликає зміни експресії генів матриксних металопротеїназ і спонукає до дисбалансу гомеостазу судинного позаклітинного матриксу [de Senna P. N. et al., 2015].

За результатами патоморфологічних і морфометричних досліджень встановлено, що у хворих групи ІЦІ ЦД тяжкий фіброз і гіаліноз артеріол ММО і кори ГМ над вогнищем церебрального півкульового інфаркту в стадії некрозу сформувалися і прогресували ще до розвитку ішемічного інфаркту. В групі ІЦІ ЦД, в порівнянні з групою ЦД-2, визначалося достовірне потовщення на 32,12 % стінок артеріол ММО, значне збільшення їхнього зовнішнього і внутрішнього діаметрів (на 13,81 % та 8,23 %, відповідно), а в порівнянні з групою ІЦІ ЦА – збільшений на 22,45 % індекс Вогенворта (див. табл.1). Артеріоли кори ГМ групі ІЦІ ЦД, в порівнянні з групою ЦД-2, мали достовірно більш товсту на 27,82 % стінку, збільшений на 13,13 % зовнішній діаметр, на 9,81 % вищий індекс Вогенворта (див. табл. 1). При цьому, в порівнянні з групою ІЦІ ЦА, в групі ІЦІ ЦД артеріоли кори ГМ через гіаліноз мали більш потовщену на 18,21 % стінку, збільшений на 7,07 % зовнішній діаметр, на 20,4 % вищий індекс Вогенворта і на 15,85 % вищий індекс Керногана (див. табл. 1). Ch. Rong et al. (2016) також підтверджують, що у хворих на ЦД 2 типу має місце більш виразне зниження еластичності артерій, ніж в осіб з нормальним рівнем глюкози.

Капіляри кори ГМ над півкульовим ішемічним інфарктом у стадії некрозу в групі ІЦІ ЦД, через гіаліноз, мали достовірно більш товсті стінки (на 12,5 % – у порівнянні з групою ІЦІ ЦА), а також тенденцію до збільшення зовнішнього діаметру (в порівнянні з групою ЦД-2). Встановлено, що в групі ІЦІ ЦД кількість перицитів в капілярах кори ГМ над церебральним півкульовим інфарктом достовірно не відрізнялася від групи ЦД-2, та була достовірно меншою на 42,86 % та 20 %, в порівнянні з аналогічним показником групи УК і групи ІЦІ ЦА, відповідно. Показник внутрішньої форми капілярів в групі

ІЦІ ЦД, в порівнянні з групою ЦД-2, мав тенденцію до зниження, тобто морфометричні профілі капілярів практично не змінювалися при гострій ішемії. Це підтверджує положення про те, що у хворих на ЦД має місце цереброваскулярна дисфункція, яка веде до порушень церебральної гемодинаміки [Chen R. et al., 2016, Drewes A. M., 2016].

За результатами ІГХ аналізу встановлено, що в групі ІЦІ ЦД в порівнянні з групою ЦД-2 без гострої церебральної патології, в ММО над ішемічним півкульовим інфарктом ГМ в стадії некрозу реєструвалася більша площа експресії CD31 (на 62,64 %), CD105 (на 77,55 %), VEGF (на 57 %), VEGFR-2 (на 43,78 %) MMP-9 (на 38,65 %) та знижена на 20,5 % площа експресії колагену IV типу (див. табл. 2). За даними кореляційного аналізу в ММО в групі ІЦІ ЦД визначено достовірний помірної сили негативний кореляційний зв'язок між показниками експресії Caspase-3 і CD105 ( $r = -0,44$ ), що пояснюється тим, що ендоглін (CD105) в судинах пригнічує апоптоз ендотеліальних клітин [Morishita T. et al., 2017]. Також встановлено достовірний негативний кореляційний зв'язок помірної сили між показниками експресії VEGFR-2 і CD105 ( $r = -0,33$ ). За припущенням Н. Tian et al. (2018) ендоглін (CD105) регулює інтерналізацію VEGFR-2 та визначає його подальшу долю між активацією і деградацією. P. Bus et al. (2018) спостерігали взаємозв'язок між втратою ендогліну та зменшенням базального рівня VEGFR-2. Ендоглін (CD105) регулює клітинний рівень VEGFR-2 залежно від рівня VEGF-A [Williams E. et al., 1980], тому в групі ІЦІ ЦД при гіпоксії і гіперглікемії експресія ендогліну позитивно впливає на експресію VEGFR-2 в ММО. В групі ІЦІ ЦД в ММО визначений прямий помірної сили кореляційний зв'язок між показниками експресії колагену-IV і каспази-3 ( $r = 0,61$ ), тобто апоптоз ендотеліальних клітин (визначений за рівнем експресії каспази-3) сприяє утворенню колагену в ММО. Таку можливість підтверджують дані P. Laplante et al. (2009), які встановили, що паракринні медіатори апоптотичних ендотеліальних клітин можуть відігравати важливу роль у диференціюванні фібробластів та у фіброгенезі.

В групі ІЦІ ЦД, в порівнянні з групою ІЦІ ЦА, мали місце достовірно вищі показники відносної площі експресії VEGF (на 29,75 % – у ММО та на 31,45 % – в корі ГМ), VEGFR-2 (на 44,65 % – у ММО та на 104,02 % – в корі ГМ, а також були вищими показники співвідношення експресії MMP9 / TIMP-1 (на 86,24 % - у ММО та на 29,56 % - в корі ГМ) (див. табл. 2). В порівнянні з групою ЦД-2 в групі ІЦІ ЦД в корі ГМ над ішемічним півкульовим інфарктом в некротичній стадії визначався більший на 16,57 % рівень експресії каспази-3, більша площа експресії VEGF (на 63 %), VEGFR-2 (на 208,7 %), MMP-9 (на 48,19 %), а також нижчі площі експресії колагену 4 типу (на 22,04 %), експресії TIMP-1 (на 17,86 %) та підвищений на 92,67 % показник співвідношення MMP-9 / TIMP-1 (див. табл. 2). Відомо, що гіперглікемія індукує продукцію активних форм кисню, що в свою чергу приводить до підвищення активності MMP-9 [Uemura S. et al., 2001], яка позитивно корелює з тяжкістю інсульту і збільшує проникність гематоенцефалічного бар'єру [Hassan E. et al., 2015], а підвищення співвідношення MMP-9 / TIMP-1 при ішемії ГМ проявляється значним набряком ГМ [Ikemoto S. et al., 2018], який спостерігався нами у померлих груп ІЦІ ЦД та ІЦІ ЦА.



Незважаючи на значну активацію ангиогенних факторів та достовірний прямий слабкої сили кореляційний зв'язок між експресією в корі ГМ VEGF і VEGFR-2 ( $r = 0,29$ ), у померлих хворих групи ІЦІ ЦД в корі ГМ над інфарктом в стадії некрозу визначалися поодинокі бруньки росту капілярів, а щільність мікросудин мала тенденцію до зниження (в порівнянні з групою ЦД 2 типу). Це пояснюється тим, що, найбільш ймовірно, підвищений рівень ангиогенних факторів з кори ГМ дистантно активує ангиогенез в перинфарктній зоні ГМ для процесу резорбції некротичних мас. Дані Н.-S. Kim et al. (2014), X. Shen et al. (2020) також свідчать про те, що при інфаркті ГМ має місце зростання рівня факторів ангиогенезу не лише в перинфарктній зоні, а і в інших відділах ураженої півкулі ГМ.

## ВИСНОВКИ

Незважаючи на широку розповсюдженість цукрового діабету 2 типу, який ускладнюється діабетичною енцефалопатією та інсультом, патоморфологічні особливості діабетичної церебральної мікроангіопатії досліджені недостатньо. В дисертації вирішується актуальне питання патологічної анатомії щодо патоморфологічних параметрів мікросудин м'якої оболонки і кори головного мозку (ГМ) у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу у порівнянні зі змінами аналогічних мікросудин при дисциркуляторно-ішемічній енцефалопатії (ДІЕП), а також при півкульовому інфаркті ГМ у хворих на ЦД 2 типу та у хворих на церебральний атеросклероз з артеріальною гіпертензією (АГ).

1. При ЦД 2 типу артеріоли м'якої оболонки ГМ у померлих хворих характеризуються потовщенням базальної і внутрішньої еластичних мембран та нерівномірним потовщенням судинної стінки через її просочення ШИК+ компонентами плазми крові та через гіаліноз з втратою гладком'язових клітин. Товщина стінки артеріол на 84,53 % і на 20,1 % більша, ніж в групі умовного контролю та в групі ДІЕП (відповідно), а показники індексів Вогенворта і Керногана на 60,71 % і на 64,34 %, відповідно, вищі, ніж в групі умовного контролю; та на 20,18 %, вищий індекс Керногана, в порівнянні з групою ДІЕП.

2. При ЦД 2 типу в артеріолах м'якої оболонки ГМ має місце достовірно вищий рівень експресії каспази-3 (на 165,95 % і на 205,84 %, ніж в групі умовного контролю та в групі ДІЕП, відповідно), на 328,15 % і на 129,08 % вищий рівень експресії Ki-67 (у порівнянні з групами умовного контролю та ДІЕП, відповідно), а також визначаються вогнища гіперплазії ендотеліоцитів, що свідчить про реендотелізацію артеріол у відповідь на інтенсивний апоптоз ендотеліальних клітин. Відносна площа експресії VEGF в м'якій оболонці ГМ достовірно не відрізняється в групах порівняння, а відносна площа експресії VEGFR-2 при ЦД 2 типу достовірно на 47,32 % вища, ніж в групі умовного контролю. Позитивний помірної сили кореляційний зв'язок між експресією VEGF і каспази-3,  $r = 0,41$  та VEGFR-2 і каспази-3,  $r = 0,43$  підтверджує, що зростання рівня апоптозу ендотелію судин стимулює експресію VEGF та його рецептора VEGFR-2. Вищий на 214,89 % рівень експресії MMP-9 та знижений рівень експресії TIMP-1 з підвищенням на 430,71 % співвідношення

MMP-9/TIMP-1 при ЦД 2 типу (в порівнянні з групою умовного контролю) сприяє руйнуванню міжклітинного матриксу та розвитку фіброзу м'якої оболонки ГМ зі збільшенням на 23,02 % відносної площі депонування в ній колагену 4 типу.

3. При ЦД 2 типу артеріоли кори ГМ мають потовщені базальні і внутрішні еластичні мембрани, а також нерівномірно потовщену стінку через просочення ШИК+ глікопротеїдами плазми крові та через її гіаліноз з втратою гладком'язових клітин. Стінки артеріол достовірно на 40,65 % і 5,95 % товстіші, ніж в групах умовного контролю і ДІЕП, відповідно; індекси Вогенворта та Керногана артеріол кори ГМ при ЦД також достовірно збільшені. За даними ЕМ в артеріолах визначається апоптоз ендотелію і перицитів та значне накопичення колагенових волокон в розширених базальних мембранах. Відносна площа експресії колагену 4 типу в мікросудинах кори ГМ достовірно на 22,96 % більша, ніж в групі умовного контролю, та не відрізняється від підвищеного аналогічного показника групи ДІЕП.

4. При ЦД 2 типу капіляри кори ГМ у померлих хворих мають найбільш суттєві патологічні зміни: на 66,62 % більш потовщені стінки через плазматичне просочення та гіаліноз і на 9,78 % менший внутрішній діаметр (у порівнянні з групою умовного контролю). За даними ЕМ в капілярах визначається апоптоз перицитів і поодиноких ендотеліальних клітин, накопичення колагенових фібрил та електроннощільного аморфного матеріалу в значно розширених базальних мембранах. Кількість перицитів в потовщених стінках капілярів достовірно менша: на 57,14 % і на 50 %, в порівнянні з групами умовного контролю і ДІЕП, відповідно.

5. В корі ГМ при ЦД 2 типу, в порівнянні з групою умовного контролю, визначаються достовірно вищі рівні експресії каспази-3 (на 230,85 %) і Ki-67 (на 186,38 %), достовірно вища на 197,63 % відносна площа експресії VEGF, на 27,27 % вищий показник щільності капілярів кори (за експресією CD31), підвищена відносна площа експресії CD31 і CD105, підвищена експресія MMP-9 і знижена – TIMP-1, на 96,4 % підвищене співвідношення MMP-9/TIMP-1. Підвищені показники експресії VEGF і Ki-67, а також статистично значущі прямі помірної сили кореляційні зв'язки між підвищеними показниками експресії CD31 і CD105 ( $r = 0,39$ ), між показниками експресії CD105 і VEGFR-2 ( $r = 0,31$ ), свідчать про інтенсивні процеси реендотелізації мікросудин мозку активованими CD105+ ендотеліоцитами.

6. В некротичну стадію півкульового інфаркту мозку у померлих хворих на ЦД 2 типу артеріоли м'якої оболонки ГМ мають на 32,12 % більш потовщену стінку (в порівнянні з групою ЦД 2 типу) через її фіброз та гіаліноз, збільшений зовнішній і внутрішній діаметр, а також достовірно вищий індекс Вогенворта. В м'якій оболонці ГМ над півкульовим церебральним інфарктом визначені достовірно вищі показники експресії Ki-67, CD105, VEGF, VEGFR-2 та співвідношення MMP-9/TIMP-1, порівняно з групою померлих від півкульового інфаркту мозку хворих на церебральний атеросклероз з АГ.

7. В некротичну стадію півкульового інфаркту мозку у померлих хворих на ЦД 2 типу в корі ГМ над вогнищем інфаркту визначаються фіброз і гіаліноз артеріол зі значним на 27,82 % потовщенням їх стінок (у порівнянні з

групою ЦД 2 типу) та збільшенням діаметру судин, а також потовщені через гіаліноз капіляри зі зменшеною кількістю перицитів. В корі ГМ визначаються вищі (ніж при інфаркті мозку у хворих на церебральний атеросклероз з АГ) показники експресії Ki-67, VEGF, VEGFR-2 та співвідношення MMP-9/TIMP-1, які стимулюють неоангіогенез в перинфарктній зоні, в той час як в корі ГМ над інфарктом визначаються поодинокі бруньки росту капілярів та тенденція до зниження щільності мікросудин (в порівнянні з групою ЦД 2 типу).

### ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

При диференціальній патоморфологічній діагностиці діабетичної енцефалопатії/мікроангіопатії та дисциркуляторно-ішемічної енцефалопатії на тлі церебрального атеросклерозу і артеріальної гіпертензії, а також при оцінці церебрального неоангіогенезу рекомендується звернути увагу на наступне.

1. При ЦД, в порівнянні з дисциркуляторно-ішемічною енцефалопатією, артеріоли м'якої мозкової оболонки і кори головного мозку, через плазматичне просочення та гіаліноз, мають більш потовщену стінку і збільшений зовнішній діаметр; в корі головного мозку збільшена щільність мікросудин з наявністю бруньок росту капілярів, а також зменшена кількість перицитів в капілярах, потовщених та звужених через гіаліноз.

2. При оцінці інтенсивності ангіогенезу в головному мозку померлих хворих на ЦД 2 типу доцільним є визначення ІГХ площі експресії VEGF і VEGFR-2, підрахунок щільності мікросудин за експресією CD31 в судинному ендотелії та мікроскопічне виявлення вогнищевої гіперплазії ендотелію, бруньок росту та судинних паростків в артеріолах і капілярах кори головного мозку.

3. При оцінці інтенсивності ангіогенезу в головному мозку померлих хворих на церебральний ішемічний інфаркт доцільним є визначення ІГХ площі експресії VEGF і VEGFR-2 в корі головного мозку, а також підрахунок щільності мікросудин за експресією CD31 в судинному ендотелії та мікроскопічне виявлення вогнищевої гіперплазії ендотелію, бруньок росту та судинних паростків в перинфарктній зоні та в корі головного мозку над півкульовим інфарктом мозку.

### НАУКОВІ ПРАЦІ, ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Туманский В. А., Авраменко Ю. Н. Некоторые аспекты морфогенеза диабетической энцефалопатии. *Запорожский медицинский журнал*. 2013. № 4 (79). С. 39-42. DOI: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2013.4.16835> (Дисертант виконала підбір літератури).

2. Авраменко Ю. Н. Некоторые особенности структурной перестройки церебральных микрососудов при сахарном диабете. *Якутский медицинский журнал*. 2015. №2. С. 70-72.

3. Шаврин В. А., Авраменко Ю. Н. Сравнительная морфометрия церебральных микрососудов при атеросклеротической и диабетической энцефалопатиях. *Морфология*. 2017. Т. 11. № 1. С. 58-61. DOI:

<https://doi.org/10.26641/1997-9665.2017.1.58-61> (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

4. Шаврин В. А., Авраменко Ю. Н. Сравнительная морфометрия пиальных сосудов при дисциркуляторно-ишемической и диабетической энцефалопатиях. *Патология*. 2019. Т.16. № 1(45). С. 94–98. DOI: 10.14739/2310-1237. 2019.1.166331 (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

5. Авраменко Ю. Н. Иммуногистохимическая характеристика процессов ангиогенеза в ткани головного мозга при сахарном диабете 2 типа. *Патология*. 2020. Т. 17. № 1(48). С. 46-51. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203736>

6. Шаврин В. А., Авраменко Ю. Н. Морфометрические показатели артериол коры головного мозга при диабетической микроангиопатии и инфаркте мозга на ее фоне. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. № 2(156). С. 305-308. DOI 10.29254/2077-2414-2020-2-156-305-308 (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

7. Шаврин В. А., Авраменко Ю. Н. Иммуногистохимическая характеристика экспрессии маркеров MMP-9 и TIMP-1 в коре головного мозга при сахарном диабете 2 типа. *Запорожский медицинский журнал*. 2020. Т. 22. № 4(121). С. 468-472. DOI: 10.14739/2310-1210.2020.4.208355 (Дисертант виконала набір матеріалу, ІГХ дослідження та статистичну обробку результатів).

8. Туманский В. А., Авраменко Ю. Н. Патоморфологические изменения головного мозга при диабетической энцефалопатии. *Актуальні питання сучасної патоморфології* : матеріали наук.-практ. конф., присвяч. 90-річчю з дня заснування кафедри патологічної і топографічної анатомії Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. (Київ, 4-5 жовтня 2012). Запоріжжя: Патологія 2012, Т.9. №3. С. 124. (Дисертант виконала набір матеріалу, патогістологічне дослідження).

9. Авраменко Ю. Н., Шаврин В. А. Морфологические особенности сосудов микроциркуляторного русла головного мозга при сахарном диабете 2 типа. *Вітчизняна та світова медицина в сучасних умовах*: зб. тез міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, 16-17 січня 2015. Дніпропетровськ, 2015. С. 7-9. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

10. Авраменко Ю. Н., Шаврин В. А. Сравнительная патогистологическая характеристика микрососудов мозга при диабетической и атеросклеротической энцефалопатиях. *Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку*: зб. тез міжнар. наук.-практ. конф., м. Львів, 30-31 січня 2015. Львів, 2015. С. 7-8. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

11. Авраменко Ю. Н. Патоморфологические изменения пиальных сосудов при сахарном диабете 2-го типа. *Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я – 2015*: зб. тез всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя. 26-27 березня 2015. Запоріжжя, 2015. С. 12. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

12. Шаврин В. О., Авраменко Ю. М. Морфометричні параметри резистивних судин кори головного мозку при ішемічному інфаркті головного мозку на тлі цукрового діабету 2 типу. *XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених: матеріали XXIII Міжнародного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль, 15-17 квітня. Тернопіль, 2019. С. 332. (Дисертант виконала набір матеріалу, морфометричне дослідження та статистичну обробку результатів).*

### АНОТАЦІЯ

**Авраменко Ю.М. Патоморфологічна характеристика церебральних мікросудин у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ішемічним півкульовим інфарктом мозку. На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія. – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

При ЦД-2, в порівнянні з УК і ДІЕП, мікросудини ММО і кори ГМ мають потовщені стінки через просочення плазмою і гіаліноз, вищі індекси Вогенворта, Керногана і рівні апоптозу ендотелію (за рівнем експресії каспази-3), вищу щільність судин в корі ГМ і меншу кількість перицитів в капілярах; в ГМ має місце вища експресія VEGF і VEGFR-2 та співвідношення MMP-9/TIMP-1, збільшена площа колагену 4 типу. За даними ЕМ має місце апоптоз перицитів і ендотелію, розширені базальні мембрани містять колаген і щільні аморфні маси. Над півкульовим інфарктом ГМ на тлі ЦД-2 артеріоли мають більш товсті стінки і вищий індекс Вогенворта, а потовщені капіляри - менше число перицитів (ніж при інфаркті на тлі ЦА). В корі ГМ над інфарктом визначаються поодинокі бруньки росту капілярів та підвищена експресія VEGF і VEGFR-2.

**Ключові слова:** цукровий діабет, ішемічний інфаркт, артеріоли, капіляри, м'яка мозкова оболонка, CD31, CD105, VEGF, VEGFR-2, MMP-9, TIMP-1, Ki-67, каспаза-3, колаген IV типу.

### АННОТАЦИЯ

**Авраменко Ю.Н. Патоморфологическая характеристика церебральных микрососудов у больных сахарным диабетом 2 типа, осложненным ишемическим полушарным инфарктом мозга. На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия. – Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2021.

При СД-2, в сравнении с УК и ДИЭП, микрососуды ММО и коры ГМ имеют утолщенные стенки из-за пропитывания плазмой и гиалиноза, высокие индексы Вогенворта, Керногана и уровни апоптоза эндотелия (по уровню экспрессии каспазы-3), большую плотность сосудов в коре ГМ и меньшее число перицитов в капиллярах; в ГМ повышена экспрессия VEGF, VEGFR-2 и соотношение MMP-9/TIMP-1, увеличена площадь коллагена 4 типа. При ЭМ наблюдается апоптоз перицитов и эндотелия, а также коллаген и плотные аморфные массы в расширенных базальных мембранах. Над полушарным

инфарктом ГМ на фоне СД-2 артериолы имеют более толстую стенку и увеличенный индекс Вогенворта, а утолщенные капилляры – меньшее число перицитов (нежели при инфаркте на фоне ЦА) В коре ГМ над инфарктом определяются единичные почки роста капилляров и повышенная экспрессия VEGF и VEGFR-2.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, ишемический инфаркт, артериолы, капилляры, мягкая мозговая оболочка, CD31, CD105, VEGF, VEGFR-2, MMP-9, TIMP-1, Ki-67, каспаза-3, коллаген IV типа.

## ANNOTATION

**Avramenko Y. Pathomorphological characteristics of cerebral microvessels in patients with diabetes mellitus type II complicated by ischemic cerebral infarction. – As manuscript.**

Thesis for a Candidate of Medical degree by specialty 14.03.02 “Pathological anatomy”. – Zaporizhzhia State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

In deceased patients with diabetes mellitus type 2 (DM-2) in the arterioles and capillaries of the pial meninges (PM) and cerebral cortex (CC) is determined by uneven thickening of the inner elastic membrane and basement membrane, respectively, with the accumulation of PAS-positive material, uneven thickening of the vascular wall due to plasma permeation that progress to hyalinosis with loss of smooth muscle cells. According to digital morphometry, the arterioles of the PM and the arterioles and capillaries of the CC have a greater vascular wall thickness, as well as significantly higher Wogenworth and Kernogan indices. In DM-2, an increase in the level of vascular endothelial apoptosis (by the level of expression of caspase-3) stimulates increased expression of survival factor VEGF and VEGFR-2, a significant increase in the expression ratio of MMP-9/TIMP-1, which creates conditions for destruction of the intercellular matrix and the development of fibrosis of PM and cortical microvessels, which confirms enlarge area expression of collagen type 4. According to EM, apoptosis of pericytes and single endothelial cells is observed in capillaries, as well as widespread and significant expansion of basement membranes with the accumulation of electron-dense amorphous material and collagen fibrils. The number of pericytes in the thickened walls of capillaries is significantly lower, and the density of microvessels in the CC is statistically significantly higher than in the conditional control group and the group dyscirculatory-ischemic encephalopathy. The development of ischemic hemispheric infarction in patients with DM-2 leads to change the parameters of the microvessels of the PM and CC: arterioles have a significantly thickened wall and increased outer and inner diameter, as well as increased Wogenworth index and significantly thickened capillaries due to hyalinosis with a reduced number of pericytes. According to the IHC study of hemispheric cerebral infarction observed significantly higher expression of VEGF, VEGFR-2, the ratio of MMP-9/TIMP-1 expression, which stimulates neoangiogenesis directly in the periinfarction zone, while in the CC over necrosis single buds of capillary growth and a tendency towards a decrease in vascular density (compared with the DM-2 group).

**Key words:** diabetes mellitus, ischemic infarction, arterioles, capillaries, pial meninges, CD31, CD105, VEGF, VEGFR-2, MMP-9, TIMP-1, Ki-67, caspase-3, type IV collagen.





## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

Caspase-3	– фермент апоптотичної деградації клітини
CD31	– молекула адгезії тромбоцитів-ендотеліальних клітин 1 (PECAM-1)
CD105	– ендоглін
Collagen IV	– колаген 4 типу
MMP-9	– матриксна металопротеїназа 9
TIMP-1	– тканинний інгібітор матриксних металопротеїназ-1
VEGF-A	– судинно-ендотеліальний фактор росту А
VEGFR-2	– рецептор судинно-ендотеліального фактору росту 2-го типу
АГ	– артеріальна гіпертензія
ГМ	– головний мозок
ГХ	– гістохімічне дослідження
ДІЕП	– дисциркуляторно-ішемічна енцефалопатія
ЕМ	– електронна-мікроскопія
ІГХ	– імуногістохімічне дослідження
ІЦІ ЦА	– ішемічний церебральний інфаркт на тлі церебрального атеросклерозу і артеріальної гіпертензії
ІЦІ ЦД	– ішемічний церебральний інфаркт на тлі цукрового діабету 2 типу
КМ	– комп'ютерна-морфометрія
ММО	– м'яка мозкова оболонка
УК	– умовний контроль
ЦА	– церебральний атеросклероз
ЦД	– цукровий діабет

Підписано до друку 17.03.2021. Гарнітура Times New Roman.

Папір друкарський. Формат 60×90/16. Ум. друк. арк. 0,83.

Обл.-вид. арк. 0,9. Друк –ризограф.

Наклад - 100 прим. Зам № 9120.

Надруковано з оригінал-макету в типографії  
Запорізького державного медичного університету  
м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26