

DOI: <https://doi.org/10.34921/amj.2025.2.027>

XRONİK NEYROİLTİHAB ZAMANI HİPPOKAMPIN MİKROQLIYA HÜCEYRƏLƏRİNİN İMMUNHİSTOKİMYƏVİ DƏYİŞİKLİKLƏRİ

G.M.Əyyubova, İ.O.Əliyeva, T.A.İbrahimova

Azərbaycan Tibb Universitetinin Sitologiya, Embriologiya və Histologiya kafedrası,
Bakı Azərbaycan

Məqalədə hipokampın neyroqliya hüceyrələrinin müxtəlif neyroiltihab nəticəsində törənən dəyişikliklərini öyrənmək məqsədilə aparılmış tədqiqat işi haqqında məlumat verilmişdir. Xronik neyroiltihab modeli ağ siçanlara ardıcıl olaraq 7 gün ərzində hər 1 kq çəkiyə 0,75 mq olmaqla peritondaxili *Escherichia coli* lipopolisaxaridinin (LPS) yeridilməsi ilə yaradılmışdır. Sonuncu LPS injeksiyasından 10 həftə sonra eksperimental heyvanların baş beyin tikələrindən histoloji kəsiklər əldə edilmişdir. Həm hematoksilin-eozinlə boyanmış nazik, həm toluidin abısı ilə boyanmış yarımnazik kəsiklərin, həm də İBA-1 antigeninə qarşı qoyulmuş immunohistokimyəvi reaksiyaların təhlili göstərmişdir ki, hipokampın və böyük yarımkürələr qabığının ön alın payında yerləşən mikroqliya hüceyrələrinin ümumi sayı artmış, damarətrafı zonalarda, eləcə də degenerativ neyronların yaxınlığında bu hüceyrələr toplanmış şəkildə yerləşmişdir. Morfoloji təhlil isə onların böyük əksəriyyətinin aktivləşmiş M1 mikroqliya fenotipinə uyğun olduğunu aşkar etmişdir. Alınan nəticələr göstərir ki, sistemli iltihab modeli yaradıldıqdan on həftə keçməsinə baxmayaraq, baş beyin toxumasında davam edən immun aktivasiya və neyroiltihab reaksiyaları, prosesin xronik hal aldığı sübut edir. Bu isə gələcəkdə bir çox nevroloji və neyrodegenerativ xəstəliklərin inkişafına əlverişli şərait yaradır.

Açar sözlər: neyroiltihab, hipokamp, mikroqliya, lipopolisaxarid, immunohistokimyə

Ключевые слова: нейровоспаление, гиппокамп, микроглия, липополисахарид, иммуногистохимия

Key words: neuroinflammation, hippocampus, microglia, lipopolysaccharide, immunohistochemistry

Limbik sistemin bir hissəsi olan hipokamp və ya dənizati qırışığı baş beyninin gicgah payının medial hissəsində yerləşərək uzunmüddətli yaddaşın formalaşmasında, öyrənmə və diqqət proseslərində mühüm rol oynayır. Hipokampın zədələnməsi nəticəsində yaddaş pozulur, xüsusən anterograd amneziya (yeni məlumatın formalaşmasının çətinləşməsi) yaranır. Həmçinin, Alzheimer xəstəliyi (AX) kimi neyrodegenerativ patologiyalarda bu nəhiyənin zədələnməsi erkən mərhələlərdə müşahidə edilir [1]. Məlumdur ki, bir çox neyropsixiatrik və neyrodegenerativ xəstəliklərin yaranması, patogenezi və proqnozunun müəyyənəşdirilməsi birbaşa baş beyninin xronik neyroiltihabi proseslərinin araşdırılması ilə əlaqədardır. Neyroiltihab hematoensefalik baryerin tamlığının pozulmasına, qliya hüceyrələrinin proliferasiyasına və aktivləşməsinə, eləcə də neyronların məhvində səbəb olmaqla sinir toxumasında daxili mühitin sabitliyinin və koqnitiv funksiyaların pozulmasına şərait yaradır [2, 3]. Mikroqliya hüceyrələri beynin immun

hüceyrələri olub iltihab reaksiyalarında əhəmiyyətli dərəcədə morfo-funksional dəyişikliklərə məruz qalır. Geniş genom assosiasiyasının tədqiqi (genome-wide association studies – GWAS) Alzheimer xəstəliyinə səbəb olan risk genlərin böyük əksəriyyətinin məhz mikroqliya hüceyrələrində ekspressiya olduğunu və onların xəstəliyin patogenezinə aparıcı rol oynadığını aşkar etmişdir [4]. Bu genlərin ekspressiyası mikroqliya hüceyrələrinin digər funksiyaları ilə yanaşı, onların faqositar qabiliyyətinin də pozulmasına səbəb olur. Təsadüfi deyil ki, son illərdə mikroqliyaya xas olan mieloid hüceyrələrdə ekspressiya edən aktivləşmə reseptoru 2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2 - TREM2), CD38, zinqirovabənzər reseptorlar (Toll-like receptors – TLR) və onlarla əlaqə yaradan immunoloji faktorları hədəfləyən immunoterapiyaların tətbiqi ilə aparılan klinik sınaqların sayı kəskin şəkildə artmışdır [5]. Adi halda mikroqliya homeostatik tipə aid olub toxumanın daxili mühitinin sabitliyini qoruyur. Müxtəlif

patologiyalar şəraitində isə istər sinir toxumasında, istərsə də qanda iltihab sitokinlərinin səviyyəsinin artması fonunda, mərkəzi sinir sistemində fərqli genlərin ekspressiyası ilə xarakterizə olunan Xəstəliklə-Əlaqəli Mikroqliya (disease-associated microglia – DAM) hüceyrələri müəyyən olunur [4, 6]. Bu isə mikroqliyanın tənzimləyici funksiyalarının pozulmasının bu xəstəliklərin etiologiyasında həlledici rol oynadığını ortaya qoyur.

Göstərilənləri nəzərə alaraq tədqiqatımızın **əsas məqsədi** hippokapda yerləşən mikroqliya hüceyrələrində neyroiltihab zamanı törənən dəyişikliklərin immunhistokimyəvi metoddan istifadə edilməklə öyrənilməsi olmuşdur.

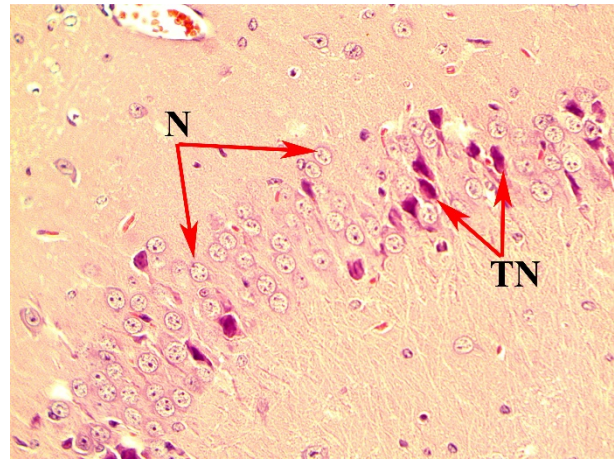
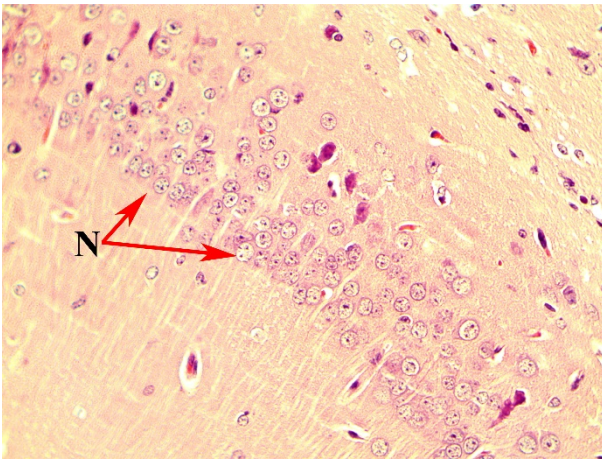
Tədqiqatın material və metodları. Tədqiqat kontrol (n=10) və eksperimental (n=10) olmaqla 2 qrupa bölünmüş 8 həftəlik erkək siçanlar üzərində aparılmışdır. Xroniki neyroiltihab modeli eksperimental heyvan qrupuna periton daxili olmaqla ardıcıl 7 gün ərzində 750 µg/kg dozada *E. coli* lipopolisaxaridi (*Escherichia coli* serotipi: 055:B5; Sigma-Aldrich, Sent-Luis, MO, ABŞ) yeritməklə yaradılmışdır. Kontrol qrupunda heyvanlarına periton daxilinə olmaqla eyni miqdarda fizioloji məhlul yeridilmişdir. Son LPS inyeksiyasından beş həftə sonra heyvanlar dekapitasiya edilmiş və beyin tikələri əldə olunmuşdur. Tədqiqatın məqsədinə uyğun olaraq baş beyin qabığı və hippokampdan əldə olunmuş tikələr sonra histoloji və immunhistokimyəvi üsullarla tədqiq edilmişdir. Əvvəlcə Leica EM UC7 (Leica, USA) mikrotomu vasitəsilə hazırlanmış 5 mkm qalınlıqlı histoloji kəsiklər hematoksilin-eozin boyagı ilə rənglənmiş və Primo Star (Zeiss, Germany) mikroskopu vasitəsilə tədqiq edilmişdir. Kəsiklərin lazımı hissələrindən mikroskop ilə əlaqələnməmiş EOS D650 rəqəmsal fotokameralardan istifadə edilməklə şəkillər çəkilmişdir.

İmunohistokimyəvi tədqiqat üçün mikroqliya hüceyrələrinin markeri olan ionlaşmış 1-ci kalsium-birləşdirici adapter molekul (İBA-1) antigeninə uyğun anticisimlər vasitəsilə boyanmadan istifadə edilmişdir; kriostat vasitəsilə alınmış 30 mkm qalınlıqlı kriostat kəsikləri əvvəlcə anti-İBA-1 birincili anticisimciklərlə (1:1000, Abcam, Cambridge, MA), daha sonra avidin-biotin kompleksi ilə nişanlanmış ikincili anticisimciklərlə (1:250, Vektor Laboratoriyalar, Burlingame, CA) işlənmişdir. Kəsiklər jelatinli əşya şüşələri üzərinə yerləşdirilmiş, susuzlaşdırılmış, şəffaflandırılmış və işıq mikroskopu ilə tədqiq edilmişdir. Ümumilikdə immunohistokimyəvi tədqiqat hər qrupdan 10 heyvan üzərində aparılmışdır. Hər bir heyvandan alınmış hipokampusun orta bölgəsindən keçən üç

seriya kəsiklərindən istifadə etməklə vahid həcmdə (0,1 mm³) İBA-1 antigeninə qarşı müsbət reaksiya verən mikroqliya hüceyrələrinin sayı hesablanmışdır. Bunun üçün rəngli rəqəmsal video kameraya qoşulmuş stereoinvestigator sistemindəki optik fraksiyaedici metodu tətbiq edilmişdir.

LPS-in yaratdığı neyroiltihabın mikroqliositlərin morfolojiyasına təsir edib-etmədiyini öyrənmək məqsədilə hər iki qrup heyvanın beyin tikələrində ayrı-ayrı İBA-1 müsbət mikroqliya hüceyrələrinin morfolojiyası və hüceyrə cisimlərinin tutduğu sahənin ölçüləri Nikon mikroskopuna birləşdirilmiş Neurolucida yarımavtomat hüceyrə izləmə sistemindən (Microbrightfield) istifadə edilməklə öyrənilmişdir. Tədqiqat hipokampın DQ-in molekulyar qatı, CA3 nahiyəsinin radial qatı və CA1 nahiyəsinin radial qatı yaxınlığındakı lakunoz təbəqədə yerləşən mikroqliya hüceyrələri üzərində aparılmışdır. Mikroskopun 100X obyektivindən istifadə edilərək təsadüfi seçilmiş mikroqliya hüceyrələrinin tutduğu orta sahə, çıxıntıların orta ümumi uzunluğu, şaxələrinin və uclarının ümumi sayı hesablanmışdır.

Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi. Beyin tikələrinin istər hematoksilin-eozinlə boyanmış nazik kəsiklərinin, istərsə də kriostatla alınmış kəsiklərinin tədqiqi kontrol qrup heyvanların baş beyinin hipokampında heç bir struktur pozuntusu aşkar edilmədi (Şək. 1). Şəkil 1A-da görüldüyü kimi, istər neyronların ümumi sayı, onların struktur xüsusiyyətləri, istərsə də ətraf toxumanın, burada yerləşən qliya və damar elementlərinin histoloji quruluşunda heç bir dəyişiklik müəyyən edilmir. Lakin LPS yeridilmiş eksperimental heyvanların hipokampına nəzər yetirdikdə burada normal strukturlu neyronlarla yanaşı, büzülmüş halda, piknotik neyronlara da rast gəlinir ki, bunların nüvələri də tünd boyanmışdır (Şək. 1B). Bəzi neyronlar və qliya hüceyrələrinin cisimləri isə əhəmiyyətli dərəcədə şişmiş və yuvarlaqlaşmışdır, hüceyrələri və kapilyarları əhatə edən boşluqlar genişlənməmişdir. Bundan əlavə, kontrol qrupuna aid heyvanlarla müqayisədə, eksperimental qrup heyvanların hipokampının müxtəlif sahələrində, həmçinin LPS yeridilmiş siçanların beyin qabığının ön alın payında (prefrontal korteks) təsadüf edilən mikroqliositlərin sayı əhəmiyyətli dərəcədə artmışdır ($p < 0.05$). Qliya hüceyrələrinə tünd sitoplazmaya malik degenerativ neyronların yaxınlığında, qan damarlarının ətrafında daha çox rast gəlinmişdir.



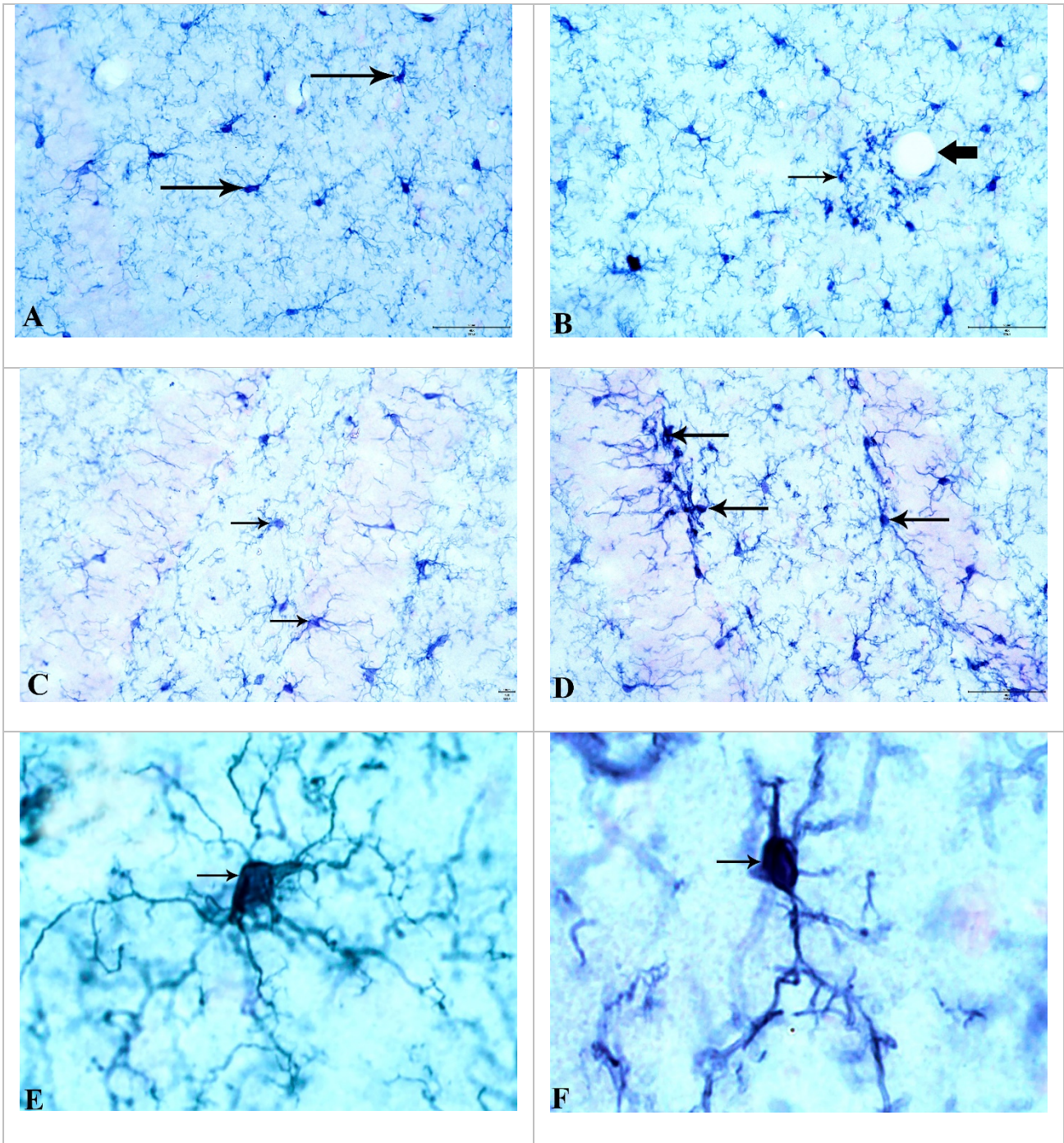
Şəkil 1. Kontrol (A) və eksperimental qrup heyvanların (B) hipokampının histoloji tədqiqi. Boyaq: hematoksilin-eozin. Böyütmə: x400. N-normal strukturlu neyron; TN – tündləşmiş neyron

Lipopolisaxaridin mərkəzi sinir sistemində yaratdığı iltihabi reaksiyanı öyrənmək üçün biz beyin toxumasından əldə olunan kəsiklər üzərində mikroqliya hüceyrələri üçün spesifik nişan (marker) olan IBA-1-ə qarşı immun-histokimyəvi tədqiqat apardıq (Şək. 2). Alınan preparatlarda hipokampın CA1, CA3 və DQ nahiyyələrində və beyin qabığının ön alın payında yerləşən IBA-1-ə qarşı müsbət reaksiya verərək boyanmış hüceyrələrin vahid həcmdə stereoloji metoddan istifadə edərək hesablanmasını həyata keçirdik. Nəticələr bütün tədqiq edilən nahiyyələrdə LPS inyeksiyaları alan heyvanların beyin kəsiklərində mikroqliyal hüceyrələrin mütləq sayında artım olduğunu göstərdi (Şəkil 2 A-D). Bununla belə, yalnız CA3, bütün hipokampus və prefrontal korteks sahələri üzrə mikroqliya hüceyrələrinin sayında statistik cəhətdən əhəmiyyətli dəyişikliklər müşahidə edilmişdir (Şək. 2). Şəkillərdən görüldüyü kimi, mikroqliya hüceyrələrinin sayı xüsusilə qan damarlarının ətrafında daha çox artmışdır.

Əgər kontrol qrupu heyvanlarının beyin tikələrində damar ətrafında yalnız bir ya iki mikroqliya hüceyrəsinə rast gəlinirsə, eksperimental heyvanlarda onların sayı 10 və daha çox ola bilər (Şək. 2). Hipokampusun bütün nahiyyələrində mikroqliya hüceyrələrinin sayının artması 7 gün ərzində LPS yeridilmiş heyvanların sinir toxumasında davam edən xronik

neyroiltihab əlamətlərini özündə əks etdirmiş oldu.

Sistemli LPS inyeksiyasının mikroqliya aktivasiyasına uzunmüddətli təsirlərini araşdırmaq üçün (Şək. 2E-F) siçanların hər iki qrupundan əldə olunmuş baş beyin tikələri üzərində morfometrik parametrləri öyrəndik. Bunun üçün hər bir qrupdan beş heyvanın beyin kəsikləri istifadə edilməklə, immunohistokimyəvi üsulla IBA-1-ə qarşı müsbət reaksiya verərək rənglənmiş mikroqliya hüceyrələrinin cisim və çıxıntılarının konturları izlənilərək hesablamalar aparıldı. Şəkillərdən görüldüyü kimi, LPS yeridilmiş heyvanlarda IBA-1 müsbət mikroqliya hüceyrələri morfoloji cəhətdən aktivləşmiş morfolojiya nümayiş etdirdi. Bunların cisimlərinin tutduğu sahə kiçilmiş, şaxələnmələri isə azalmış şəkildə nəzərə çarpmışdır. Bu isə onların M1 mikroqliya fenotipinə uyğun olduğunu müəyyən etmiş oldu (Şək. 2E-F). Bununla belə, kontrol qrupun heyvanlarında mikroqliya hüceyrələrinin böyük əksəriyyətində M2 fenotipinə uyğun morfolojiya müşahidə edildi (Şək. 2E). Belə ki, bu qrupa aid heyvanlardan əldə olunan kəsiklərdə hüceyrələrin əksəriyyətinin istər şaxələlərinin miqdarı, istərsə də şaxələnmə düyünlərinin və uclarının sayı kifayət qədər çox olduğu halda, LPS yeridilərək xronik neyroiltihab inkişaf etmiş heyvanlardan əldə olunan kəsiklərdə (Şək. 2F) hüceyrələrin şaxələnməsi əhəmiyyətli dərəcədə azalmışdır ($p < 0,05$).



Şəkil 2. Kontrol (A, C, E) və eksperimental heyvanların (B, D, F) hipokampında yerləşən mikroqliya hüceyrələrinin İBA-1 antigeninə qarşı immunhistokimyəvi tədqiqi. A və B şəkillərində hipokampın CA1; C və D şəkillərində DQ (dışli qırış) nahiyyəsi; E və F şəkillərində isə mikroqliya hüceyrələrinin morfolojiyası və şaxələnməsi müşahidə edilir. Nazik oxlarla mikroqliya hüceyrələri, qalın oxla qan damarı göstərilmişdir. Boyaq: İBA-1 antigeninə qarşı qoyulmuş immunhistokimyəvi boyanma. Böyütmə: A-D: 400X; E-F: 1000X.

Hüceyrə konturlarının Sholl analiz sistemi ilə təhlili eksperimental qrupdakı mikroqliositlərin cisimlərindən müxtəlif məsafələrdə yerləşən mikroqliya çıxıntılarının daha az sayda kəsişmə, düyün və uclara malik olduğunu və çıxıntılarının ümumi uzunluqlarının daha az olduğunu nümayiş etdirdi.

Məlumdur ki, periferik orqanlarda baş verən kəskin və ya xronik iltihabi proseslər, mərkəzi

sinir sisteminin müxtəlif şöbələrində fərqli iltihabi reaksiyalara səbəb olur. Beyin toxumasında hematoensefalik səddin mövcud olmasına baxmayaraq [7] qanda sirkulyasiya edən LPS və iltihab sitokinləri bu baryerin təhlükəsizliyini pozaraq beyin toxumasına keçir, buradakı sinir və qliya hüceyrələrində morfo-funksional dəyişikliklərə, o cümlədən sinaptik funksiyaların pozulmasına səbəb olur. Son

zamanlar xronik neyroiltihabın tədqiqi məhz lipopolisaxarid (LPS) vasitəsilə induksiya edilmiş heyvan modelləri üzərində aparıldığına görə biz də bu üsuldən istifadə etdik [8]. LPS, qram-mənfi bakteriyaların hüceyrə divarının tərkib hissəsi olub, anadangəlmə immun sistemə aid reseptorların tanıdığı patogenlə əlaqəli molekulyar nümunələrə (PAMPs) aiddir. LPS, qeyd edilmiş reseptorlardan olan Toll-like reseptor 4 (TLR4) üçün təbii liqand rolunu oynayır. Onun orqanizmə yeridilməsi mərkəzi sinir sisteminin immun hüceyrələri, daha dəqiqi olaraq makrofaqları olan mikroqliya hüceyrələrinin aktivləşməsinə və kəskin neyroiltihaba səbəb olur.

Periferik iltihabın müxtəlif növ demensiyaların, o cümlədən AX-nin səbəbi və ya nəticəsi olduğu haqda müzakirələr davam etsə də, tədqiqatlar bu xəstəliyə düçar olan xəstələrin qanında iltihabtörədicilərin miqdarının [9] və iltihab markerlərinin konsentrasiyasının artdığını göstərmişdir [5]. Müəyyən edilmişdir ki, koqnitiv cəhətdən normal insanlarda qanda sirkulyasiya edən iltihab mediatorlarının artması onlarda gələcəkdə yüngül idrak pozğunluğu (MCI), AX demensiyası, eləcə də demensiyanın digər formalarının inkişaf etməsi üçün şərait yaradır [1, 7, 10 11]. Həmçinin, sepsis keçirmiş insanlarda sonralar kəskin və xronik neyroiltihab, eləcə də psixi pozğunluqlar inkişaf edə bilər [12]. Bundan əlavə, qan cərəyanında iltihab mediatorlarının miqdarının uzun müddət ərzində yüksək səviyyədə qalması insanın baş beyin toxumasına öz mənfi təsirini göstərir və həmin insanların sinir sistemi xəstəlikləri ağır nəticələrlə xarakterizə olunur [6]. Heyvan modellərindən alınan tədqiqatlar da periferik iltihabın baş beyin funksiyalarına mənfi təsir etdiyini sübut etmişdir [13, 14, 15]. Tədqiqatlar göstərir ki, sistemli iltihabın fəsadı olaraq IL-1 β , TNF α və IL6 kimi iltihab sitokinləri baş beyində iltihabi proseslərə səbəb olur.

Az dozalarda LPS-in tətbiqi yüngül infeksiya proses və ya sistemli periferik iltihabi reaksiyaya səbəb olur [2]. Müvafiq olaraq, bu tədqiqatda LPS-in yeddi gün ərzində gündəlik kiçik dozalarla periton daxilinə yeridilməsi nəticəsində sistemli iltihab və neyroiltihab modeli yaradılmışdır. Bu modeldə xronik neyroiltihab CD68 zülalını ekspressiya edən, İBA-1 antigeninə müsbət reaksiya verən mik-

roqliya hüceyrələrinin aktivləşməsi ilə müşayiət olunmuşdur. İBA1 (1-ci İonlaşdırılmış kalsiumbirləşdirici adapter molekulu), həmçinin alloqtransplantatın iltihab faktoru 1 (AIF 1) də adlanır və makrofaqları, o cümlədən mikroqliyanı aşkar etmək üçün marker hesab edilir. Məlumdur ki, bu 17 kDa çəkiyə malik kalsiumbirləşdirici zülalın ekspressiyası mikroqliya hüceyrələrinin aktivləşməsi zamanı artır. Yüksək dərəcədə reaktiv hüceyrələr olan mikroqliya hüceyrələri aktivləşdikdə həddindən artıq miqdarda neyrotoksik və iltihab əleyhinə olan, neyronların ölümünə və beyin zədələnməsinə səbəb olan sitokinlər sintez edir. Tədqiqat qrupu heyvanlarında İBA-1 ekspressiya edən mikroqliya hüceyrələrinin sayının artması müşahidə edilmişdir. LPS injeksiyalarından 10 həftə sonra, hipokampın və beyin yarımkürələri qabığının medial prefrontal qırışında mikroqliya (İBA1-müsbət) hüceyrələrinin sayının kontrol qrupu ilə müqayisədə daha çox olduğu müşahidə edilmişdir. Bundan əlavə, LPS yeridilmiş siçanlarda mikroqliyanın morfometrik analizi onların əsasən amöbvari M1 fenotipinə uyğun olduğunu, kontrol qrup heyvanlarda isə onların daha çox sağlam, iltihab əleyhinə təsir göstərən M2 mikroqliya fenotipinə malik olduğu aşkar edilib. Eksperimental heyvanların hipokampının müxtəlif nahiyyələrinin hematoksilin-eozinlə boyanmış kəsiklərində yerləşən neyronların bir qisminin degenerasiyaya uğraması və onların bilavasitə yaxınlığında mikroqliya hüceyrələrinin aşkar edilməsi bu hüceyrələrin neyrodegenerasiyada birbaşa iştirakı haqda məlumat verir.

Sübut olunduğu kimi, infeksiya, travmatik beyin zədələnmələri, işemiya və diabet kimi risk faktorlarının yaratdığı sistemli iltihab mərkəzi sinir sistemində neyroiltihabın inkişafı üçün induksiyaedici faktordur. Əvvəllər sistemli iltihab keçirmiş gənc insanların ölümündən sonra aparılan tədqiqatlar onların baş beyinlərindəki mikroqliyanın, yaşlı insanların və ya demensiyası olan insanların mikroqliyaları ilə eyni morfolojiya və immunoloji dəyişikliklərə malik olduğunu göstərmişdi [15]. Ümumilikdə, toplanan sübutlar və alınan nəticələr göstərir ki, xronik və ya uzun müddət davam edən sistemli iltihab MSS-də neyroiltihaba və hipokampda yerləşən neyronların degenerasiya etməsinə səbəb olmaqla gələcəkdə AX inkişafı riskini artırmış olur.

1. Darweesh S. K., Wolters F. J., Ikram M. A., et al. Inflammatory markers and the risk of dementia and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Alzheimer's & Dementia* // 2018. - Vol. 11-14. -P. 1450–1459. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.014.
2. Kitazawa M., Oddo S., Yamasaki T. R., et al. Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease // *Journal of Neuroscience*. 2023, 25(39), 8843–8853. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2868-05.2005.
3. Rahimova, R. Determination of neurodegenerative markers in the blood serum of patients with autoimmune thyroiditis. *Azerbaijan Medical Journal*, 2022, (1), 75–80. <https://doi.org/10.34921/amj.2022.1.012>
4. Lambert J. C., Ibrahim-Verbaas C. A., Harold D., et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease// *Nature Genetics*. 2013, 45(12), 1452–1458. doi: 10.1038/ng.2802
5. Walker K. A., Le Page L. M., Terrando N., et al. The role of peripheral inflammatory insults in Alzheimer's disease: A review and research roadmap // *Molecular Neurodegeneration*. 2023 18(1), 1–19. doi: 10.1186/s13024-023-00627-2
6. O'Donovan A., Bahorik A., Sidney S., et al. Relationships of inflammation trajectories with white matter volume and integrity in midlife // *Brain, Behavior, and Immunity*. 2021, 91, 81–88. doi: 10.1016/j.bbi.2020.09.006.
7. Ayyubova G. M., Qasimov E. K., Huseynova Sh.A. Morphological characteristics of brain cortex vascular system *Azerbaijan Medical Journal*. 2018. № 4, p. 60-65.
8. Zhao J., Bi W., Xiao S., et al. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice // *Scientific Reports*. 2023, 9(1), 5790. doi: 10.1038/s41598-019-42286-8
9. Jorfi M., Maaser-Hecker A., Tanzi R. E. The neuroimmune axis of Alzheimer's disease// *Genome Medicine*. 2023, 15(1), 1–25. doi: 10.1186/s13073-023-01155-w
10. Shahverdiyeva, I.J., Gurbanova, J.F., Azizova, G.I., Islamzadeh, F.I. Comparative study of the levels of IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 in blood in physiological pregnancy and pregnancy with anemia. *Azerbaijan Medical Journal*, 2020, 2020(1), p. 113–118
11. Duggan M. R., Butler L., Peng Z., et al. Plasma proteins related to inflammatory diet predict future cognitive impairment// *Molecular Psychiatry*. - 2023, -Vol. 1. -P 11. doi: 10.1038/s41380-023-01975-7.
12. Xin Y., Tian M., Deng S., et al. The key drivers of brain injury by systemic inflammatory responses after sepsis: Microglia and neuroinflammation // *Molecular Neurobiology*. 2023, 60(3), 1369–1390. doi: 10.1007/s12035-022-03148-z.
13. Bathini M., Raghushaker C. R., Mahato K. K. The molecular mechanisms of action of photobiomodulation against neurodegenerative diseases: A systematic review// *Cellular and Molecular Neurobiology* - 2022. -Vol. 42-44, P. 955–971. doi: 10.1007/s10571-020-01016-9.
14. Ayyubova G. TREM2 signaling as a multifaceted player in brain homeostasis and a potential target for Alzheimer's disease treatment // *Eur J Neurosci* - 2023. 57(4):718-733. doi: 10.1111/ejn.15914.
15. Tischer J, Krueger M, Mueller W, et al. Inhomogeneous distribution of Iba-1 characterizes microglial pathology in Alzheimer's disease // *Glia*. - 2016 Vol. 64(9). P. 1562-1572. doi: 10.1002/glia.23024.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОК МИКРОГЛИИ ГИППОКАМПА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ

Г.М.Эйюбова, И.О.Алиева, Т.А.Ибрагимова

*Кафедра цитологии, эмбриологии и гистологии Азербайджанского медицинского университета,
Баку, Азербайджан*

Резюме. В статье представлены результаты исследования, проведенного с целью изучения структурных изменений клеток микроглии, расположенных в различных областях гиппокампа, под влиянием нейровоспаления. Модель хронического нейровоспаления была создана путем внутрибрюшинной инъекции липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli* в дозе 0,75 мг/кг массы тела белым мышам в течение 7 последовательных дней. Гистологические срезы были получены из срезов мозга экспериментальных животных через 10 недель после инъекции ЛПС. Как тонкие срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, так и полутонкие срезы, окрашенные толудином, а также иммуногистохимические исследования против антигена IBA-1 показали, что общее количество клеток микроглии, расположенных в гиппокампе и префронтальной коре больших полушарий, увеличилось, и эти клетки располагались кластерами в периваскулярных зонах, а также вблизи дегенерирующих нейронов. Морфологический анализ показал, что подавляющее большинство из них соответствовало фенотипу активированной микроглии M1. Полученные результаты показывают, что, несмотря на то, что с момента создания модели системного воспаления прошло уже десять недель, продолжающаяся активация иммунитета и нейровоспалительные реакции в мозговой ткани

свидетельствуют о том, что процесс стал хроническим. Это создает благоприятные условия для развития многих неврологических и нейродегенеративных заболеваний.

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHANGES OF HIPPOCAMPAL MICROGLIAL CELLS IN CHRONIC NEUROINFLAMMATION

G.M.Ayyubova, I.O.Aliyeva, T.A.Ibrahimova

*Department of Cytology, Embryology and Histology, Azerbaijan Medical University,
Baku, Azerbaijan*

Summary. The article provides information about a research study conducted to investigate the changes in hippocampal neuroglial cells resulting from various neuroinflammatory processes. The model of chronic brain inflammation was created by intraperitoneal injection of Escherichia coli lipopolysaccharide (LPS) at a dose of 0.75 mg/kg body weight to white mice for 7 consecutive days. Histological sections were obtained from brain sections of experimental animals 10 weeks after LPS injection. Both thin sections stained with hematoxylin and eosin and semi-thin sections stained with toluidine, as well as immunohistochemical studies against the IBA-1 antigen, showed that the total number of microglial cells located in the hippocampus and prefrontal cortex of the cerebral hemispheres increased. These cells were located in clusters in perivascular zones and near degenerating neurons. Morphological analysis showed that most of the cells corresponded to the phenotype of activated microglia M1. The results show that, even though ten weeks have passed since the creation of the systemic inflammation model, the ongoing activation of the immune system and neuroinflammatory reactions in the brain tissue indicate that the process has become chronic. This creates favorable conditions for the development of various neurological and neurodegenerative diseases.

Müəlliflə əlaqə üçün:

Günel Əyyubova – Azərbaycan Tibb Universitetinin Sitologiya, Embriologiya və Histologiya kafedrası, Bakı, Azərbaycan

E-mail: gunel.ayubova@gmail.com

Təqdim edilmişdir: 06.01.2025

Qəbul edilmişdir: 17.01.2025