

DOI: 10.34921/amj.2022.2.020

Qasimov E.K<sup>1</sup>., Hüseynova Ş.Ə<sup>1</sup>., Osmanov Ş.Ş<sup>2</sup>.

## BEYİN QIŞALARININ İMMUNHİSTOKİMYƏVİ VƏ ELEKTRON MİKROSKOPİK GÖRÜNTÜSÜNÜN MÜQAYİSƏLİ XARAKTERİSTİKASI

<sup>1</sup>Azərbaycan Tibb Universitetinin Sitologiya, Embriologiya və Histologiya kafedrası,<sup>2</sup>Siti hospital, Bakı, Azərbaycan

Məqalədə baş və onurğa beyni qişaları və onların əhatəsində yerləşən strukturlarda ara filament zülallarının ekspressiya dərəcələri ilə ultrastruktur xüsusiyyətləri arasında olan əlaqələr şərh edilmişdir.

Altı baş ev ördəyinin baş və onurğa beyni qişaları səviyyələrində götürülmüş tikələr fiksasiya edildikdən sonra onlardan parafin və epon-araldit blokları hazırlanmışdır. İmmunohistokimyəvi tədqiqatlar üçün parafin bloklarından hazırlanmış kəsiklər mikrodalğalı sobada qaynadıldıqdan sonra Avidin-Biotin peroksidaza metodu ilə ara filament zülallarının ekspresiyası müəyyən edilərək, Primo Star (Zeiss) işıq mikroskopu vastəsi ilə tədqiq edilmişdir. Araldit-epon bloklarından hazırlanmış ultranazik kəsiklər rəngləndikdən sonra transmission elektron mikroskopunda (JEM-1400 – Yaponiya) baxılaraq elektronogramlar çəkilmişdir. Sərt qişalar səviyyəsində ümumən zəif tündləşmə qeydə alınsa da, baş və onurğa beyninin höriümçəktorunabənzər və yumşaq qişalarında vimentin zülalının ekspresiyası qeydə alınmamışdır. Pansitokeratinin höriümçəktorunabənzər qişasının (HTBQ) hər iki qatında yerləşən leptomeningial hüceyrələrin sitoplazmalarında ekspresiya olunduğu müəyyən edilmişdir. Torlu qat səviyyəsində rənglənməmiş nahiyələrin ultrastruktur olaraq kollagen lifləri dəstələrinin topoqrafik vəziyyətlərinə uyğun olduğu dəqiqləşdirilmişdir. EMA ekspresiyası ancaq epitel toxumasına xas olan əlamətlərə malik HTBQ sədd qatı hüceyrələrində aşkar edilmişdir. Qliyanın fibrilyar turş zülalının ekspresiyası protoplazmatik və lifli astrositlərin yerləşdiyi nahiyələrdə aşkar edilmişdir. Ekspresiya səviyyəsi ilə ultrastruktur olaraq ara filamentlərin saylarından və sıxlıq dərəcəsindən asılılığı qeydə alınmışdır. İHK və elektron-mikroskopik olaraq ev ördəklərində xarici qlial hüddüdi zarın baş beyində sərbəst təkqatlı protoplazmatik astrositlərdən, onurğa beyində isə lifli astrositlərin çıxıntılarının ayaqşəkilli uc hissələrindən ibarət olduğu müəyyən edilmişdir. Son olaraq immunohistokimyəvi tədqiqatların nəticələrinin qiymətləndirilməsi zamanı tədqiq edilən strukturların histoloji və ultrastruktur xüsusiyyətlərinin nəzərə alınmasının məqsədəuyğun olduğunu qeyd etmək lazımdır.

**Açar sözlər:** ev ördəyi (*Anas platyrhynchos dom.*), baş və onurğa beyni qişaları, immunohistokimyə, transmission elektron mikroskop, ara filament zülalları, birincili əks-cisimlər

**Ключевые слова:** домашний лебедь (*Anas platyrhynchos dom.*), мозговые и спинномозговые оболочки, иммуногистохимия, трансмиссионный электронный микроскоп, белки промежуточных филаментов, первичные антитела

**Keywords:** domestic duck (*Anas platyrhynchos dom.*), meninges brain and spinal cord, immunohistochemistry, ultrastructure, transmission electron microscope, proteins of intermediate filaments, primary antibodies

Məlumdur ki, III tip ara filamentlər (vimentin, qliyanın fibrilyar turş zülalı və b.) təkcə mexaniki streslərə qarşı davamlığı təmin etməkdə yox, həm də ən əsası, müxtəlif siqnalların nəqlində bilavasitə iştirak edərək hüceyrələrin strukturları ilə funksiyaları arasında əlaqə yaradırlar. Bununla da müxtəlif streslərə qarşı hüceyrələrin optimal reaksiyalarını təmin etmək üçün karkas formalaş-

dırmaqla onların qocalmadan, xəstəliklərdən və ölümdən qorunmasında iştirak edirlər [1].

Təqdim etdiyimiz tədqiqat işinin aktuallığının göstəricisi kimi, normada beyin toxumasında pansitokeratinin (Clone AE1/AE3) və Epitel Membranı Antigeninin – EMA – Clone E29) aktivliyinin tədqiqinin beyin daxilində epitelial metastazların qliblastomalardan diferensial diaqnostikasında böyük əhəmiyyətə

malik olduğunu göstərmək olar [2, 3].

N.Wolf (2002) tədqiqat işində əldə etdiyi nəticələri və mövcud ədəbiyyat məlumatlarını imumiləşdirərək, beyin qışalarının qatları, onların formalaşmasında iştirak edən hüceyrə tiplərinin tərkibi, hüceyrəarası əlaqələrin növləri, topoqrafik vəziyyətləri və s. xüsusiyyətlərinə görə ev quşları, məməlilər, o cümlədən insanlar arasında nəzərə çarpacaq fərq olmadığını qeyd etmişdir [4].

Beyin qışalarının formalaşmasında iştirak edən strukturların toxuma mənsubiyyətlərinin və hüceyrə tiplərinin müəyyənləşdirilməsinin istər nəzəri, istərsə də praktik nöqtəyi-nəzərdən əhəmiyyətini nəzərə alaraq, təqdim edilən məqalədə onların immunhistokimyəvi və ultrastruktur xüsusiyyətlərinin müqayisəli analizi verilmişdir.

**Tədqiqatın materialı və metodları.** Tədqiqat obyektini olaraq *altı* ev ördəyinin baş və onurğa beyinlərini əhatə edən qışa elementlərindən istifadə edilmişdir. Dekapitasiya yolu ilə öldürüldükdən sonra 15 dəqiqə ərzində qışalar və onların ətrafında yerləşən strukturlar götürülmüş tikələr elektron-mikroskopik tədqiqat üçün fosfat buferində (pH 7,4) hazırlanmış 2%-li paraformaldehid, 2%-li qlütaraldehid və 0,1%-li pikrin turşusu mühitində, immunhistokimyəvi tədqiqat üçün isə 10%-li neytral formalin məhlullarında immersiya üsulu ilə 24 saat ərzində fiksasiya edilmişdir. Elektron-mikroskopik tədqiqatlar üçün götürülmüş tikələrdən araldit-epon bloklarının, yarım- və ultanazık kəsiklərin alınması, rənglənmələri və TEM-də tədqiqi haqqında 2019-cu ildə çap edilmiş məqaləmizdə [5] ətraflı məlumat vermişik. Immunhistokimyəvi tədqiqatlar ədəbiyyat materiallarında [6, 7] olan tövsiyələr nəzərə alınmaqla aparılmışdır. Deparafinizasiya edilmiş əşya şüşələri (kəsiklər) distillə suyunda yuyulduqdan sonra antigenin (epitopun) bərpası məqsədi ilə sitrat-buferində yerləşdirilərək mikrodalğalı sobada 20 dəqiqə ərzində (700 W) qaynadılmış və əşya şüşələri distillə edilmiş suda yuyulduqdan sonra kəsiklər peroksidadza aktivliyinin aradan qaldırılması məqsədilə 3%-li peroksidadza məhlulunda 5 dəqiqə inkubasiya edilmiş və preparatlar distillə edimiş su və PBS (Phosphate Buffered Salina with Tween Super Block) buferi ilə yuyulmuşlar. Sonra kəsiklərin üzərinə 1-cili əksisimlər [Pansitokeratin (Clone AE1/AE3), EMA (Clone E29), Vimentin (Clone V9), qliyanın fibrilyar turşu zülalı (glial fibrillary acidic protein – GFAP - Clone 2E1.E9)] damızdırılaraq 60 dəqiqə inkubasiya edilmişdir. Vizualizasiya (görüntü almaq) üçün hər inkubasiyadan sonra buferdə yuyulmaq şərti ilə kəsiklər əvvəlcə 30 dəqiqə ərzində biotin (Sensi Tek Anti-Polyvalent Biotinylated Antibody), sonra 30 dəqiqə avidin-streptovidin (Sensi Tek HRP), ən axırda isə 10 dəqiqə ərzində DAB (Diaminobenzidine Chromogen) məhlullarında inkubasiya edilmişdir.

İnkubasiya bitdikdən sonra kəsiklər distillə suyunda yuyularaq nüvələrin boyanması üçün əlavə olaraq Mayerin hematoksilin məhlulunda 10 dəqiqə saxlanıl-

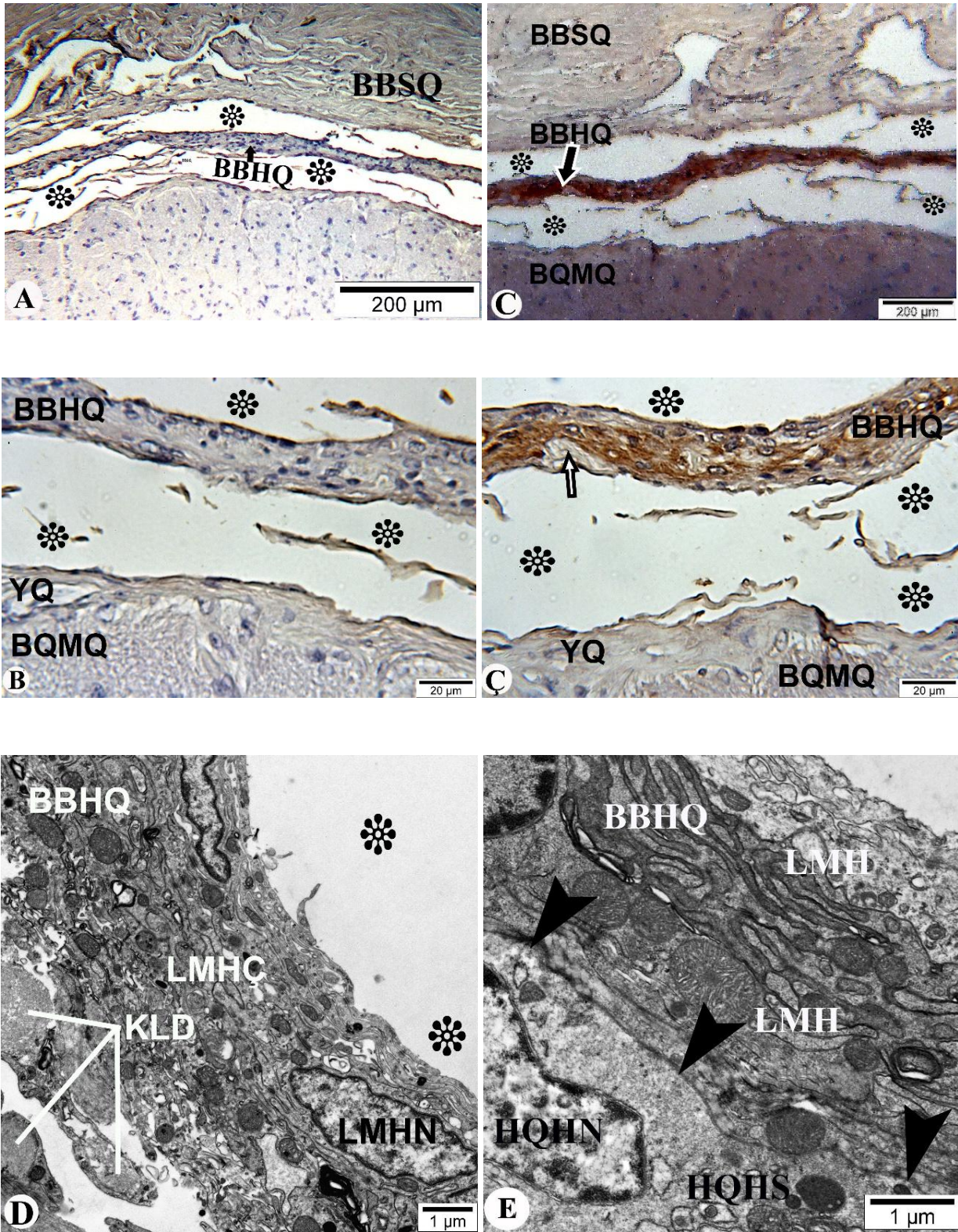
mışlar. Adı suda 10 dəqiqə yaxalandıqdan və dehidratasiya edildikdən sonra kəsiklər üzərinə balzam tökülərək örtük şüşəsi ilə örtülmüşlər. Histoloji kəsiklərin lazımı hissələrinin şəkilləri Zeiss işıq mikroskopunda Canon D650 (Yaponiya) 18 MP-li rəqəmli fotokamera sistemi ilə çəkilmişdir. Alınmış nəticələr müsbət (+) və mənfi (-) olaraq qiymətləndirilmişdir.

Tədqiq olunan strukturların morfometrik parametrləri Almaniyanın «Olympus Soft Imaging Solutions GmbH» şirkətinin hazırladığı təsviri analiz kompyuter proqramı (The TEM imaging platform) vasitəsilə TIF formatında çəkilmiş mikrofotolarda və elektronqramlarda müəyyən edilmişdir.

**Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi.** Əldə olunmuş faktik materialların təsvirindən əvvəl qeyd etmək lazımdır ki, istər parafin, istərsə də araldit-epon bloklarının hazırlanması zamanı susuzlaşdırma (dehidratasiya) mərhələsi keçilməz olduğuna görə, subaraxnoidal boşluqda yerləşən sərbəst beyin-onurğa beyni mayesinin kənarlaşdırılması baş və onurğa beyni qışalarının histotopoqrafiyasında normaya xas olmayan (artefakt) sahələrin meydana çıxmasına gətirib çıxarır. Biz bu haqda ədəbiyyat materiallarında göstərilən sərbəst subdural boşluğun olması iddiasını müxtəlif istiqamətli tədqiqatlarımızda təzkib etmişik [8]. Əvvəllər qeyd etdiyimiz kimi, dehidratasiya zamanı ya hörümçəktorunabənzər qışa elementləri sərt qışadan qopub ayrılır, ya da subaraxnoidal boşluq müxtəlif dərəcədə genişlənir. Bu məqalədə nümayiş etdirilmiş bütün şəkillərdə göstərilən atrefakt sahələr ulduzlarla nişanlanmışlar.

Əldə edilmiş məlumatlar göstərir ki, ev ördəklərində baş və onurğa beyni və onları əhatə edən qışa elementlərində I, II və III tip ara filament zülallarının ekspressiyasında fərqli nəticələr aşkar edilmişdir. Aşağıdakı şəkildə (şək. 1A) baş beyin qabığının molekulyar qatı ilə yanaşı, onu hər tərəfdən əhatə edən qışa elementlərində vimentin zülalının birincili əksisimciyi (Clone V9) ilə rənglənmiş şəkilləri nümayiş etdirilmişdir. Göründüyü kimi, baş beyninin sərt qışasında ümumən zəif tündləşmə qeydə alınsa da, baş beyninin hörümçəktorunabənzər və yumşaq qışalarında və beyin qabığının molekulyar qatında vimentin zülalının ekspressiyası qeydə alınmamışdır. Göstərilən strukturlarda vimentin zülalının ekspressiya etməməsi böyüdülmüş fraqmentdə (şək. 1B) daha aydın görünür.





**Şək. 1.** Ev ördəyinin baş beyni qışalarında ara filament zülallarından vimentin [(Clone V9) - A və B] və pansitokeratin [(Clone AE1/AE3) - C və Ç] müvafiq birincili əksisimciklərin istifadəsi ilə immunhistokimyəvi üsulla rənglənmişdir. Şəkil B - A-nın, şəkil Ç isə C-nin böyüdülmüş fraqmentləridir. D və E BBHQ-nın elektron mikroskopik şəkilləridir. A-Ç formalində fiksasiya edilmiş, parafin kəsikləri biotin-avidin-streptovidin kompleksi vastəsilə immunperoksidaza üsulu və əlavə olaraq hemotoksilinlə rənglənmişlər. D və E- ultranazik kəsiklər. Boyama: uranil-asetat və təmiz qurğuşun-sitrat. İzahı mətəndə verilmişdir. Artefakt sahələr ulduzlarla nişanlanıblar.

İstifadə edilmiş qısaltmalar: **BBSQ**–baş beynin sərt qışası; **BBHQ**–baş beynin hörümçəktorunabənzər qışası; **BQMQ**–beyin qabığının molekulyar qatı; **KLD**–kollagen lifi dəstəsi; **LMH**–leptmeningeal hüceyrələr; **LMHÇ**–leptmeningeal hüceyrələrin çıxıntıları; **LMHN**–leptmeningeal hüceyrənin nüvəsi; **YQ**–yumşaq qışa, **HQHC**–hüdədi qliya hüceyrəsinin cismi; **HQHS**–hüdədi qliya hüceyrəsinin sitoplazması.

Baş beyninin hörümçəktorunabənzər qışası səviyyəsində vimentindən fərqli olaraq pansitokeratinin ekspressiya olunduğu müəyyən edilmişdir. Əgər mikroskopun kiçik böyüdücüsündə (şək.1C) pansitokeratinin birincili əksicisimciyi ilə rənglənmənin ümumən intensiv müsbət olduğu görünsə də, mikroskopun böyük böyüdücüsü altında müvafiq əksicisimciklə rənglənmənin müxtəlif intensivliyi ilə yanaşı, ümumiyyətlə rənglənməmiş sahələrin olduğu (şək. 1C-də oxla göstərilmişdir) müşahidə edilmişdir. Təsvir olunan qışanın elektron-mikroskopik şəklinin tədqiqi zamanı rənglənməmiş sahələrin baş beyninin hörümçəktorunabənzər qışasının torlu qatı səviyyəsində aşkar edilən kollagen lifli dəstələrinin yeşlədiyi yerlərə uyğun olduğunu (şək. 1D-də KLD-lə işarə edilmişdir) söyləməyə əsas verir.

N.Wolff-un [4] qeyd etdiyi kimi, ev quşlarında hörümçəktorunabənzər qışa yastılaşmış, müxtəlif növ hüceyrəarası əlaqələr vasitəsilə bir-birilə birləşən və əksər hissəsində hədsiz sıx yerləşən leptomeningeal hüceyrələrdən ibarət olur.

Şək. 1E-də ox başları ilə işarə edilmiş xarici qlial hüdədi zarın bazal səfhəsindən yuxarıda, baş beyninin hörümçəktorunabənzər qışasının bütün qatlarında yerləşən leptomeningeal hüceyrələrin hamısı o dərəcədə sıx yerləşir ki, elektron mikroskopunun 7500 dəfə böyüdücüsündə belə onların sərhədlərini müəyyən etməkdə xeyli çətinlik yaranır. Qeyd etmək lazımdır ki, leptomeningeal hüceyrələrin ancaq nüvə yerləşən (şək. 1D-də LMHN-lə işarə olunub) mərkəzi və qismən mərkəzətrafi hissələrində leptomeningeal hüceyrələrin qalınlığı 1 mkm ətrafında dəyişdikləri halda, onların periferik hissələrindəki eni 100-150 nm-də çox olmur. Özü də mərkəzətrafi hissələrindən ölçücə daha nazik olan çıxıntılara ayrılırlar. Əldə edilmiş materialların müqayisəli təhlili göstərir ki, hörümçəktorunabənzər qışada pansitokeratinin ekspressiyasının yüksək olması leptomeningeal hüceyrələrin sitoplazmalarında keratin zülallarından ibarət olan ara filamentlərin miqdarından çox, həmin hüceyrələrin özlərinin hədsiz sıx yerləşmələri nəticəsində meydana çıxır.

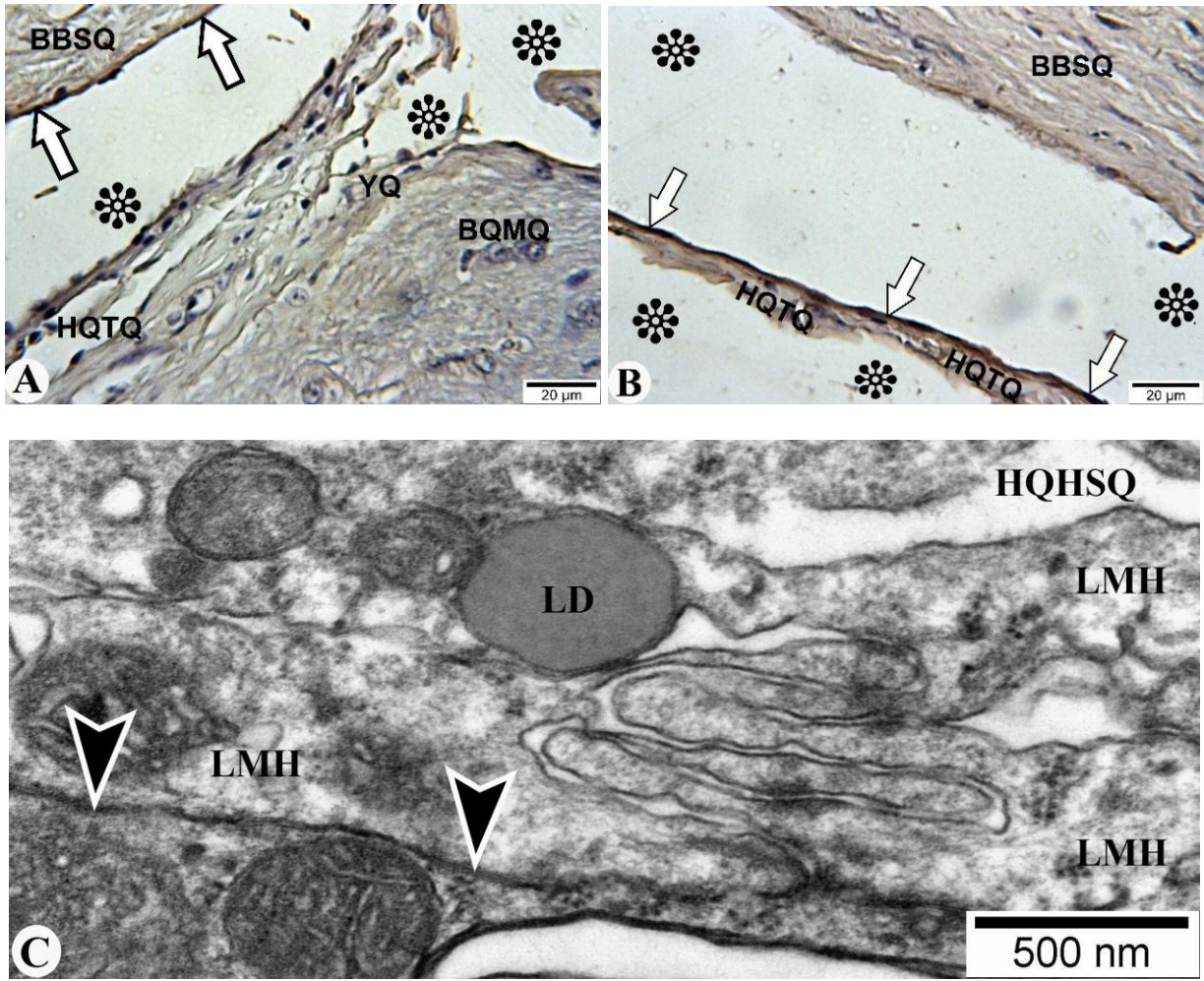
Əldə olunan məlumatlar arasında sual doğuran məsələlərdən biri hörümçəktorunabənzər qışa ilə yanaşı, bütövlükdə birləşdirici toxuma elementlərindən ibarət olan baş bey-

ninin sərt qışasında da (şək. 1A-da BBSQ ilə işarə edilib) xüsusi olaraq vimentin zülalının birincili əksicisimcikləri ilə boyanan hüceyrəvi elementlərin işıq mikroskopunun böyük böyüdücüsü altında belə aşkar olmamasıdır. Elektronogramların tədqiqi göstərir ki, sərt qışanın hüceyrəvi elementlərinin (əsasən fibrositlərin) vimentin zülalından ibarət olan ara filamentlərin topoqrafik olaraq yerləşdiyi nüvəətrafi hissələrinin və sitoplazmatik çıxıntılarının əksər hissələrinin qalınlığı 100-300 nm arasında tərəddüd edir. Beləliklə, nəinki diametrləri 10-11 nm olan ara filamentləri, hətə onların topoqrafik olaraq yerləşdikləri sitoplazmanın nüvə ətrafi hissələri və hüceyrələrin çıxıntılarının tam əksər hissələrinin qalınlıqlarının 400 nm-dən kiçik olması sitoskelet elementlərinin işıq mikroskopunda aşkar edilməsi və tədqiqini olunmalarını fiziki olaraq qeyri-mümkün edir. Yeganə çıxış yolu ara filamentlərin immumhistokimyəvi olaraq aşkar olunmasını elektron və ya konfokal mikroskopik səviyyələrdə tədqiq edilməsidir.

Ultrastruktur olaraq baş beyni, onurğa beyni və görmə sinirinin hörümçəktorunabənzər qışalarının hüceyrəvi sədd və tor qatlarından ibarət olduqları müəyyən edilmişdir [9,10]. Ummunhistokimyəvi tədqiqatın nəticələri göstərir ki, pansitokeratinin ekspressiyası hörümçəktorunabənzər qışanın hər iki qatında müşahidə edildiyi halda (şək. 1C və şək.1C), EMA-nın ekspressiyası ancaq hüceyrəvi sədd qatı (şək. 2A və şək. 2B-də oxlarla işarə olunublar) səviyyəsində müəyyən edilmişdir. Hörümçəktorunabənzər qışada hüceyrəvi sədd qatının topoqrafik cəhətdən bir-birindən fərqlənməsi, yuxarıda qeyd edildiyi kimi, preparatların dehidratasiyası zamanı meydana çıxan artefakt rənglənməmiş sahənin (ulduzlarla işarə edilib) hüceyrəvi sədd qatı ilə tor qatın arasında (şək. 2A) və baş beyninin sərt qışasının altında (şək. 2B) yerləşməsi ilə əlaqədardır.

Hörümçəktorunabənzər qışaların elektron-mikroskopik tədqiqi zamanı qarşıya çıxan çətinliklərdən biri də sədd qatı ilə tor qatı arasındakı sərhəddə fasilələrlə yerləşən bazal səfhənin aşkar olunmasıdır [7, 9]. Əldə olunan elektronogramların tədqiqi zamanı ev ördəklərində hörümçəktorunabənzər qışanın qatlarının daha sıx yerləşdikləri nahiyələrdə qonşu leptomeningeal hüceyrələrin plazmolemmaları və bazal səfhə





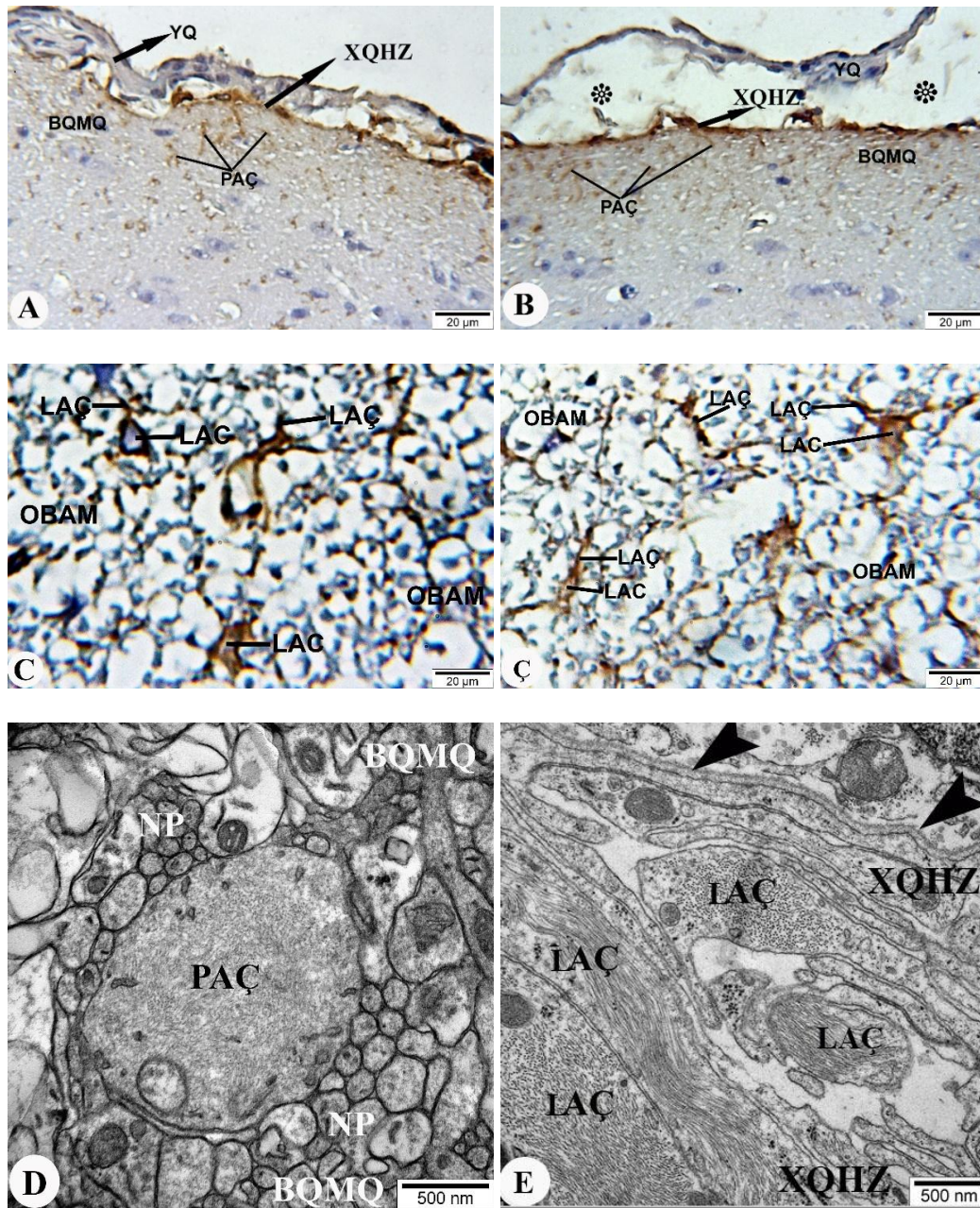
**Şək. 2.** Ev ödəyinin beyin qışalarında EMA zülalının (A və B) ekspresiyası və HTBQ-nın elektron mikroskopik şəkli (C). A-B – histoloji kəsiklərin mikrofotoları, immunhistokimyəvi reaksiyalardan sonra (bax material və metod başlığına), nüvələrin görünməsi üçün əlavə olaraq 10 dəq. Hematoksilin-Mayer məhlulunda saxlanılmışdır. C- ultranazik kəsik. Boyama: uranil-asetat və təmiz qurğuşun-sitrat. Enli oxlarla hörümçəktorunabənzər qışanın hüceyrəvi sədd qatları, ox başları ilə isə bazal səfhə nişanlanmışdır. İzahı mətəndə verilmişdir. İstifadə olunmuş qısaltmalar: **HQHSQ** – hörümçəktorunabənzər qışanın hüceyrəvi sədd qatı; **LD** – lipid damlası. Digərləri 1-ci şəkildə olduğu kimidir.

ilə birlikdə nisbətən qalın osmiofil xətt şəklində (şək. 2C-də ox başları ilə işarə olunub) görüdükləri aşkar edilmişdir. Bununla bərabər, hörümçəktorunabənzər qışanın hüceyrəvi sədd qatında (şək. 2C-də HQHSQ-lə işarə olunub) üç leptomeningeal hüceyrənin (LMH-lə işarə olunublar) periferik hissələrindən ayrılan nazik çıxıntıları vastəsilə bir-birlərinə barmaq-şəkilli pərçimlənməsi və onların aralarında iki ədəd desmosom və sıx əlaqələr üçün xarakter olan qunşu plazmolemmaların çoxlu sayda birləşmə nöqtələri aydın görünür.

İstər protoplazmatik, istərsə də lifli astro-sitlərin iştirakı ilə formalaşan strukturların immunhistokimyəvi üsullarla aşkar olunmasında ən çox istifadə edilən GFAP müvafiq əks-cisimciklər vastəsilə müəyyən edilməsidir [11, 12]. Şək. 3A və 3B-də nümayiş etdirilən

histoloji kəsiklərdə baş beyninin yumşaq qışası (YQ ilə işarə olunub) səviyyəsində GFAP ekspresiyası aşkar edilmədiyini aydın görünür. Bunun əksinə baş beyninin xarici qlial hüdudi zarında (şək. 3A və 3B-də XQHZ-la işarələnib) və beyin qabığının molekulyar qatında protoplazmatik astro-sitlərin çıxıntıları (şək. 3A və 3B-də PAÇ-la işarələnib) səviyyəsində müxtəlif intensivlikli narıncı (palıdı) çöküntülərin aşkar olunması sadalanan strukturlar səviyyəsində GFAP-ın ekspresiyasının müsbət olduğunu göstərir. Onurğa beyninin ağ maddəsi daxilində yerləşən lifli astro-sitlərdə də GFAP-ın ekspresiyası şək. 3C və şək. 3Ç-də nümayiş etdirilmişdir. Qeyd etmək lazımdır ki, lifli astro-sitlərin nüvə yerləşən hissələrində ya qlialının turş fibrilyar zülalının ekspresiyası müəyyən edilmir (şək. 3C), ya da





**Şək. 3.** Ev ödəyinin baş beyin qabığının molekulyar qatında, xarici qlial hüdüdi zarın tərkibində yerləşən protoplazmatik astrositlərin (A və B) və onurğa beyininin ağ maddəsində yerləşən (C və Ç) lifli astrositlərin ara filamentlərindən ibarət olan GFAP-ın (C və Ç) ekspressiyası. Baş beyin molekulyar qatında neyropil elementlərinin mərkəzi hissəsində yerləşən protoplazmatik astrosit çıxıntısının (PAÇ – işarə olunub) və onurğa beyininin xarici qlial hüdüdi zarının (XQHZ-la işarə olunub) elektron mikroskopik şəkilləri. A-Ç – histoloji kəsiklərin mikrofotoları, immunhistokimyəvi reaksiyadan sonra (bax material və metod başlığına), nüvələrin görünməsi üçün əlavə olaraq 10 dəq. Mayer-Hematoksilini məhlulunda saxlanılmışlar. D və E ultranazik kəsiklərdən çəkilmiş elektronogramlar. Boyama: uranil-asetat və təmiz qurğuşun-sitrat. İzahı mətnə verilmişdir. İstifadə olunmuş qısaltmalar: **XQHZ** – xarici qlial hüdüdi zar; **OBAM** – onurğa beyininin ağ maddəsi; **LAC** – lifli astrosit çıxıntısı; **PAÇ** – protoplazmatik astrosit çıxıntısı; **NP** – neyropil. Digər qısaltmalar əvvəlki şəkillərdə olduğu kimidir.

çixıntılarla müqayisədə (şək. 3C və şək. 3Ç-də LAC-lə işarələnib) ekspressiyanın intensivliyi xeyli aşağı olur. İstər protoplazmatik, istərsə də lifli astrosit çixıntılarında GFAP-ın ekspressiyasının yüksək olmasının səbəbi kimi, onların sitoplazmalarında (muvafiq olaraq şək. 3D və 3E-də nümayiş etdirilmişlər)

sıx topa şəklində ara filamentlərin yerləşməsini göstərmək olar. Sonuncu elektronogramda diqqət cəlb edən ev ördəklərinin baş beyindən fərqli olaraq, onurğa beyininin xarici qlial hüdüdi zarınının təşkilində xüsusi ixtisaslaşmış lifli astrositlərin mərkəzi və nüvətrafi hissələri yox, ancaq onların subpial

çıxıntıları iştirak edir (şək. 3E-də LAÇ-la işarə edilib).

Baş beyninin xarici hüdudi qliya zarı (şək. 3A və şək. 3B-də XQHZ-la işarələnib) immunhistokimyəvi reaksiyanın intensivliyi ilə yanaşı, palıdı çöküntülərin müxtəlif qalınlığa malik olması ilə də xarakterizə edilir. 1-ci cədvəl 1-dən görüldüyü kimi, baş beyninin xarici hüdudi qlial zarının qalınlığının minimal göstəricisi maksimal göstəricidən demək olar ki, 3 dəfə kiçikdir. Bu, özünü variasiya əmsalının (V) da yüksək olmasında (30,8%) göstərir. Göstərilənlərlə yanaşı, qeyd etmək lazımdır ki, şək. 3A və şək. 3B-də baş beyninin molekulyar qatında yerləşən protoplazmatik astrosit çıxıntıların (şək. 3A və şək. 3B-də PAÇ-la işarə olunublar) diametrlərinin maksimal ölçüsü 1,51 mkm bərabərdir. Beləliklə, baş beyninin xarici hüdudi qlial zarının qalınlığının maksimum 4,57µm olması onların ancaq protoplazmatik astrositlərin bazal səfhəyə söykənən ayaqvari uc hissələrindən (end feet) ibarət olmadığını göstərir (cədvəl). Cədvəldə nəzər diqqəti cəlb edən protoplazmatik astrositlərin çıxıntıların morfo-metrik göstəricilərin lifli astrositlərin subpial ayaqcıqların qalınlığının ölçülərindən orta hesabla 2,5 dəfə çox olmasıdır.

Cədvəldə variasiya əmsallarının (V) 33%-dən az olması nümayiş etdirilən morfo-metrik parametrlərin homogen (bircinsli) olduğunu düşünməyə əsas versə də, müvafiq göstəricilərin hamısının 20%-dən yuxarı olması variasiya genişliyinin və ədədi orta ətrafında tərəddüd dərəcələrinin yüksək olduğunu göstərir.

Əldə edilmiş məlumatların analizi nəticəsində ev ördəklərində baş və onurğa beyni, onları əhatə edən qişa strukturlarının təşkilində iştirak edən hüceyrələrin immunhistokimyəvi tədqiqi zamanı ara filamentləri zülallarının toxuma spesifikliyinə uyğun ekspressiya etmələrini göstərir. Bununla yanaşı, beyin qişalarından formalaşmış birləşdirici toxumadan ibarət olan sərt qişada da vimentinin ekspres-

siyasının aşkar edilməməsi diqqəti cəlb edən məsələlərdən biridir. Əsas kütləsi kollagen lifləri dəstələrindən ibarət olan sərt qişanın hüceyrəvi elementlərinin sitoplazmasında vimentin zülalı yerləşən hissələrin işıq mikroskopunda müşahidə edilməsinə fiziki imkanın olmaması ilə əlaqədar olduğunu qeyd etmək olar. Kartenbeck və b. [13] BBHQ mənşəli meningiomalardan, insan meyitindən avtopsiya yolu ilə götürülən BBHQ nümunələrində immunofluoresensiya və immunoelektronmikroskopik üsullarla leptomeningeal (müəliflər onları araxnoidal hüceyrələr adlandıırıblar) hüceyrələrin sitoplazmalarında desmosomal lövhələr səviyyəsində desmoplakinlə birlikdə vimentini müəyyən etdiklərinə görə onları “desmofibrositlər” adlandıрмаğı təklif etmişlər. Theaker və b. [14] qeyd edirlər ki, normada olduğu kimi, meningiomalarda da EMA, vimentin və S100 zülallarının ekspressiya olunduğunu nəzərə alaraq, beyin qişalarından inkişaf edən şişlərin ikili mənşəyə (epitelial və mezenximal) malik olduqlarını qeyd edirlər.

Göstərilənlərlə yanaşı, mezenximal mənşəyə malik olduqları təsdiqlənmiş mezoteliomalarda və oynaq kapsulundan inkişaf edən sinovial sarkomalarda da vimentinlə yanaşı, EMA və sitokeratinlərin ekspressiya etdiyi [15] aydın olmuşdur. Bununla da sadalanan şişlərdə EMA və sitokeratinlər ekspressiyası onların mənşəyi ilə yox, epitel kimi örtük funksiyasını yerinə yetirdikləri ilə əlaqələndirilir.

Qeyd etmək lazımdır ki, epitelial metastazlarla ilkin kəllədaxili şişləri fərqləndirmək üçün neyropatologiyada tez-tez istifadə edilən EMA-nın immunhistokimyəvi olaraq aşkar olunmasıdır [16]. Bizim tədqiqatımızın nəticələri də göstərir ki, beyin qişaları səviyyəsində EMA ekspressiyası olunan (şək. 2A və 2B), epitel toxumasına xas olan əlamətləri (ətraf strukturlardan bazal səfhə vasitəsilə ayrılması, hüceyrələrası maddənin

**Cədvəl.** Xarici hüdudi qlial zarların təşkilində iştirak edən strukturların morfo-metrik göstəriciləri (mkm-lə)

	Min	Max	$\bar{x}$	S	$S_x$	V (%)
Baş beyninin xarici hüdudi qlial zarının qalınlığı	1,65	4,57	2,63	0,81	0,19	30,8
Baş beyninin hüdudi qliya hüceyrələrinin qalınlığı	1,27	4,85	3,06	0,81	0,20	26,47
Protoplazmatik astrosit çıxıntıların diametri	0,55	1,51	1,03	0,27	0,06	26,21
Lifli astrosit ayaqcıqlarının qalınlığı	0,238	0,620	0,400	0,104	0,021	26,07

olmaması, hüceyrələrin sıx və desmosomlar vasitəsilə birləşmələri, xüsusi damar toruna malik olmaması və s.) özündə birləşdirən ancaq hörüçəktorunabənzər qışanın sədd qatıdır.

Xarici qlial hüdədi zarın formalaşmasında iştirak edən strukturlar haqqında tam bir-birinə əks olan məlumatlar mövcuddur. Bu məsələnin tarixinə varmadan qeyd etməliyik ki, hələ 1975-ci ildə Williams [17] pişik və siçovullarda xarici qlial hüdədi zarın bir qat sərbəst hüceyrələrdən ibarət olduğunu çoxsaylı elektronqramlarla nümayiş etdirdiyinə baxmayaraq, universitetlərində tədris edilən müasir histologiya [18] və nevrologiya dərslərlərində [19], sinir sisteminə həsr olunmuş monoqtafiya [20, 21] və əksər məqalələrdə [22, 23] xarici qlial hüdədi zarın topoqrafik vəziyyətindən asılı olaraq ya protoplazmatik, ya da lifli astrositlərin çıxıntılarının bazal səfhəyə söykənən ayağı xatırladan genişliklərdən ibarət olduğu göstərilir.

GFAP-ı immunhistokimyəvi olaraq siçan və meymunların beyin və onurğa beyində aşkar edərək, onların xarici qlial hüdədi zarlarının quruluşca növ xüsusiyyətlərinə malik

olduqlarını aşkar etmişlər [24]. Belə ki, siçanlarda baş beyin və onurğa beyini xarici qlial hüdədi zarlar astrositlərin özləri, meymunlarda isə əksərən qəbul olunduğu kimi, beyin molekulyar qatı və onurğa beyininin ağ maddəsi daxilində yerləşən astrositlərin çıxıntıları ilə əhatə olunduqları aşkar edilmişdir. Bizim tədqiqatımızın tam fərqli cəhəti ondan ibarətdir ki, ev ördəklərinin baş beyində xarici qlial hüdədi zar bir qatda yerləşən astrositlərdən, onurğa beyində isə bir və ya bir neçə qat əmələ gətirən astrosit çıxıntılarının ayaqşəkilli genişlikləri aşkar edilir.

İşıq mikroskopunda protoplazmatik və lifli astrositlərin çıxıntıları səviyyələrində GFAP zülalının ekspressiya dərəcələrinin yüksək olmasının onların ölçülərindən və sitoplazmalarında elektron mikroskopik olaraq aşkar edilən diametrləri 10-11 nm olan ara filamentlərin sayından asılılığı müəyyən edilmişdir.

Son olaraq immunohistokimyəvi tədqiqatların nəticələrinin qiymətləndirilməsi zamanı tədqiq olunan strukturların histoloji və ultrastruktur xüsusiyyətlərinin nəzərə alınmasının məqsədəuyğun olduğunu qeyd etmək lazımdır.

## ƏDƏBİYYAT

1. Hol E.M., Capetanaki Y. Type III Intermediate Filaments Desmin, Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), Vimentin, and Peripherin // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2017. Dec; 9(12). doi: 10.1101/cshperspect.a021642
2. Stoyanov G.st, Dzhankov D., Ghenev P. The great imitator – EMA positive glioblastoma multiforme // *Scripta Scientifica Medica*, – 2017, vol. 49, No. 1, – p.12-16.
3. Mandara M.A., Foiani G., Silvestri S., Chiaradia E. Immunoexpression of epithelial membrane antigen in canine meningioma: Novel results for perspective considerations // *Vet Comp Oncol.* – 2021, v.19, №1, – p.115-122. doi: 10.1111/vco.12648.
4. Wolff N. Studies on the ultrastructure of the encephalic meninges of the domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*). Digitale Dissertation - FU Berlin. 21 may 2002. 115P.
5. Gasimov E.K., Huseynova Sh.A. Light and Electronic microscopic study effects endotoxin *E. coli* on structural elements meninges of the brain // *Azerbaijan Medical Journal*, – 2019, №1, – pp. 87-95
6. Иммуногистохимические методы: Руководство / Ed. by George L. Kumar, Lars Rudbeck. DAKO / Пер. с англ. под ред. Г.А.Франка и П.Г.Малькова. – Москва: 2011. – 224 с. [Immunogistohimicheskie metody: Rukovodstvo / Ed. by George L. Kumar, Lars Rudbeck. DAKO / Per. s angl. pod red. G.A.Franka i P.G.Mal'kova. – Moskva: 2011. – 224 p.]
7. Kim S.W., Roh J., Park Ch.S. Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips // *J Pathol Transl Med.* – 2016;50(6):411-418. doi: 10.4132/jptm.2016.08.08.
8. Gasimov E.K., Guseynova Sh.A. Electron-microscopic features of structural elements in the brain meninges of white rats. // *National J. of Neurology (Scientific-practical journal)*. Baku, – 2018, №2 (14), – p. 63-71.
9. Vandenabeele F., Creemers J., Lambrechts I. Ultrastructure of the human spinal arachnoid mater and dura mater // *J Anat.* – 1996, v.189, Pt 2, – p.417-430.
10. Gasimov E.K., Orujov M.T. The ultrastructural organization of arachnoid of the white rat optic nerve // *Azerbaijan Medical Journal*, – 2006, №2, – p.99-102.
11. van Bodegraven E.J., van Asperen J.V., Robe P.A.J., Hol E.M. Importance of GFAP isoform-specific analyses in astrocytoma // *Glia.* – 2019 Aug;67(8): – 1417-1433. doi: 10.1002/glia.23594.
12. Messing A., Brenner M. GFAP at 50. // *ASN Neuro. Jan-Dec* – 2020, 12, – p.1–23. doi: 10.1177/1759091420949680.
13. Kartenbeck J., Schwechheimer K., Moll R., Franke W.W. Attachment of vimentin filaments to desmosomal



- plaques in human meningioma cells and arachnoidal tissue. // J Cell Biol. – 1984 Mar;98(3): – p.1072-81.
14. Theaker J.M., Gatter K.C., Esiri M.M., Fleming K.A. Epithelial membrane antigen and cytokeratin expression by meningiomas: an immunohistological study // J Clin Pathol 1986; 39: – p.435-439
  15. Solomon D.A., Pekmezci M. Pathology of meningiomas. Handbook of Clinical Neurology. Edited by Michael W. McDermott. – 2020, chapter 5, – p. 87-99.
  16. Stoyanov G.S., Petkova L., Dzhakov D.L. A Practical Approach to the Differential Diagnosis of Intracranial Tumors: Gross, Histology, and Immunoprofile-based Algorithm // Cureus. – 2019 Dec 15;11(12): e6384. doi: 10.7759/cureus.6384.
  17. Williams V. Intercellular relationships in the external glial limiting membrane of the neocortex of the cat and rat. // Am J Anat. – 1975 Dec;144(4): – p.421-31. doi: 10.1002/aja.1001440403.
  18. Ross M.H., Pawlina W. Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology. Seventh edition. Wolters Kluwer Health, 2016, p.392.
  19. Squire L., Berg D., Bloom F., et al. Cellular Components of Nervous Tissue. In book Fundamental neuroscience. 3rd ed. London: Elsevier. – 2008. – p 41-52.
  20. Peters A., Palay S.L., Webster H. The fine structure of the nervous system: neurons and their supporting cells. 3rd ed. New York: Oxford University Press. – 1991. – p. 288, 400–402.
  21. Kimelberg HK. Astrocyte Heterogeneity or Homogeneity? Astrocytes in Patho (Physiology) of the Nervous System. Edited by Parpura V. and Haydon P.G. Chapter 1, Springer. – 2009, – p.1-25.
  22. Nakazawa E, Ishikawa H. Ultrastructural observations of astrocyte end-feet in the rat central nervous system // J Neurocytol. – 1998 Jun;27(6): – p.431-40. doi: 10.1023/a:1006936527746.
  23. Brøchner C.B., Camilla B., Holst C.B., Møllgård K. Outer brain barriers in rat and human development. // Front. Neurosci. – 2015; Volume 9, Article 75. doi: 10.3389/fnins. 2015. 00075
  24. Liu X., Zhang Z., Guo W., Burnstock G. et al. The superficial glia limitans of mouse and monkey brain and spinal cord. // Anat Rec (Hoboken). – 2013 Jul;296(7): – p.995-1007. doi: 10.1002/ar.22717.

**Гасымов Э.К.<sup>1</sup>, Гусейнова Ш.А.<sup>1</sup>, Османов Ш.Ш.<sup>2</sup>.**

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ОБОЛОЧЕК ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА**

<sup>1</sup>*Кафедра Цитологии, эмбриологии и гистологии  
Азербайджанского медицинского университета, Баку, Азербайджан*

**Резюме.** В статье приводятся данные о взаимосвязи между экспрессией белков промежуточных филаментов и ультраструктурными особенностями элементов оболочек головного и спинного мозга и окружающих их структур.

Блоки из парафина и эпон-аралдита были изготовлены после фиксации кусочков, взятых на уровне оболочек головного и спинного мозга шести домашних уток. Для иммуногистохимического исследования срезы парафиновых блоков нагревали в микроволновой печи, после чего экспрессии белков промежуточных филаментов выявляли авидин-биотинпероксидазным методом с использованием диаминобензидина в качестве хромогена и фотографировали под световым микроскопом Primo Star (Zeiss). Ультратонкие срезы аралдит-эпоновых блоков после окрашивания просматривали под просвечивающим электронным микроскопом (JEM-1400 - Япония) и снимали электронограммы. Хотя слабое затемнение в основном наблюдалось на уровне твердых оболочек, в паукообразных и мягких оболочках головного и спинного мозга, экспрессии виментина не выявлено. Обнаружено, что панситокератин экспрессируется в цитоплазме лептоменингеальных клеток, расположенных в обоих слоях паутинной (ПО). Выяснено, что неокрашенные участки на уровне ретикулярного слоя ПО ультраструктурно совместимы с топографическими разложениями пучков коллагеновых волокон. Экспрессия ЕМА обнаружена только в клетках барьерного клеточного слоя ПО с характерными чертами эпителиальной ткани. Экспрессия глиальный фибриллярного кислого белка (GFAP) была обнаружена в местах расположения протоплазматических и волокнистых астроцитов. Зафиксирована зависимость уровня экспрессии GFAP от ультраструктурно выявленной количества и плотности промежуточных филаментов. При ИГХ и электронной микроскопии у домашних уток было обнаружено, что в головном мозге поверхностная глиальная пограничная мембрана состоит из однослойных протоплазматических астроцитов, а в спинном мозге – пиальных отростков фиброзных астроцитов. В заключении следует отметить, что при оценке результатов иммуногистохимического исследования следует учитывать гистологические и ультраструктурные особенности строения изучаемых структур.

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL AND ELECTRONIC MICROSCOPIC STRUCTURAL FEATURES OF THE BRAIN AND SPINAL CORD MENINGES**

<sup>1</sup>*Department of Cytology, Embryology and Histology of Azerbaijan Medical University,*

<sup>2</sup>*Pathological laboratory of City Hospital, Baku, Azerbaijan*

**Summary.** The article presents data on the relationship between the expression of intermediate filament proteins and the ultrastructural features of the elements of the meninges of the brain and spinal cord and their surrounding structures.

Blocks of paraffin and epon-araldite were made after fixing pieces taken at the level of the meninges of the brain and spinal cord of six domestic ducks. For immunohistochemical studies of sections of paraffin blocks after heating in a microwave oven, the expression of intermediate filament proteins was detected by the avidin-biotin peroxidase method using diaminobenzidine as a chromagen and photographed under a Primo Star (Zeiss) light microscope. Ultrathin sections of araldite-epon blocks after staining were examined under a transmission electron microscope (JEM-1400 - Japan) and took electronograms. Although weak shading was mainly observed at the level of the dura mater, no expression of vimentin was detected in the arachnids and pia maters of the brain and spinal cord. Pansitokeratin was found to be expressed in the cytoplasm of leptomeningeal cells located in both layers of the arachnoid. It was found that unstained areas at the level of the reticular layer of arachnoid are ultrastructurally compatible with topographic decomposition of collagen fiber bundles. EMA expression was found only in cells of the arachnoid barrier cell layer with characteristic features of epithelial tissue. Expression of glial fibrillar acidic protein (GFAP) has been found at the locations of protoplasmic and fibrous astrocytes. The dependence of the level of GFAP expression on the ultrastructurally detected amount and density of intermediate filaments was recorded. IHC and electron microscopy in domestic ducks revealed that the superficial glial limiting membrane in the brain consists of single-layer protoplasmic astrocytes, and in the spinal cord pial processes of fibrous astrocytes. In conclusion, it should be noted that when evaluating the results of an immunohistochemical study, one should take into account the histological and ultrastructural features structures under study.

***Müəlliflə əlaqə üçün:***

**Qasimov Eldar Köçəri oğlu** – tibb elmləri doktoru, professor, Azərbaycan Tibb Universitetinin Sitologiya, Embriologiya və Histologiya kafedrası, Bakı, Azərbaycan

**E-mail:** geldar1949@gmail.com