

© Коллектив авторов, 2009  
УДК 611.813.3:599.323.4

*М.Г. Жвания, Т.Н. Болквадзе, Ц.Г. Чхиквишвили, Н.Т. Котария, Н.Д. Джапаридзе, Т.Г. Лордкипанидзе и Т.З. Бикашвили*

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ГЛИОЦИТОВ И СООТНОШЕНИЕ МАКРОГЛИОЦИТОВ И НЕЙРОНОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ КИНДЛИНГЕ

Отдел нейроанатомии (зав. — проф. И.К. Сванидзе) Института физиологии им. И.С. Бериташвили Грузии, г. Тбилиси

Глиоз — важнейший морфологический коррелят эпилепсии. Представленный в основном пролиферацией и гипертрофией астроцитов и реакцией микроглии (макрофагов) он наиболее характерен для тех отделов эпилептогенных зон, в которых число нейронов значительно уменьшено. Одна из таких структур — гиппокамп, склероз которого развивается уже на ранних стадиях эпилептогенеза. На препаратах, окрашенных крезильным фиолетовым, проведен количественный анализ глиоцитов и соотношения макроглиоцитов и нейронов в разных отделах гиппокампа крыс через 14 и 30 сут после электрического киндлинга гиппокампа. В тот и другой срок в гиппокампе уменьшается число нейронов и увеличивается количество глиоцитов. Через 14 сут изменения глиоцитов особенно значительно выражены в радиальном и ориентальном слоях аммонова рога, через 30 сут — так же и в пирамидном слое СА3 и хилусе. Таким образом, глиоциты гиппокампа активно вовлекаются в эпилептогенез.

**Ключевые слова:** глиоциты, количественный анализ, гиппокамп, киндлинг, крыса.

Глиоз — важнейший реактивный феномен, выражающийся, главным образом, в пролиферации астроцитов и специфической реакции макроглиоцитов (макрофагов), характерен для большинства патологических состояний мозга. Развитие глиоза наблюдается при большинстве форм клинической и экспериментальной эпилепсии. Он особенно хорошо выражен в тех отделах эпилептогенных зон, в которых судорожная активность вызывает гибель наибольшего числа нейронов [3, 6, 9, 11]. К таким структурам, в первую очередь, относится гиппокамп. Склероз гиппокампа, так же как и глиальная реакция, развиваются уже на самых ранних стадиях эпилептической активности [5, 7, 13].

Киндлинг — специфическая электрическая стимуляция эпилептогенных зон мозга и экспериментальная модель хронической темпоральной эпилепсии — вызывает в гиппокампе различные морфологические изменения [1, 7]. Ранее было показано, что в результате киндлинга вентрального гиппокампа в аммоновом роге и хилусе уменьшается число пирамидных клеток и ГАМК-ергических нейронов [1]. Цель настоящего исследования — изучение реакции глиоцитов аммонова рога и хилуса на гибель нейронов данных областей.

**Материал и методы.** Работа проведена на 12 белых лабораторных крысах-самцах. При проведении экспериментов руководствовались правилами работы с животными, утвержденными специальным советом Института физиологии Грузии.

Контрольную группу (n=4) составляли интактные животные, находившиеся в условиях вивария. Экспериментальным

животным (n=8) под внутрибрюшинным наркозом этиминалом натрия (40 мг/кг) вживляли электроды в вентральный гиппокамп [8], который стимулировали на 7-е постоперационные сутки по протоколу быстрого киндлинга (продолжительность раздражительной силы — 10 с, интенсивность — 450 мкА, частота — 40 Гц); через 24 ч после стимуляции животных с 5-минутным интервалом подвергали воздействию 5 тест-стимулов. Исследовали мозг только тех крыс, у которых в ответ на стимуляцию развивались генерализованные судороги IV–V степени (не менее пяти). Контрольных и экспериментальных крыс через 14 и 30 сут после электрического киндлинга перфузировали под внутрибрюшинным наркозом этиминалом натрия (40 мг/кг) интракардиальным введением 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,2–7,4). Мозг извлекали из черепа и дофиксировали в том же растворе параформальдегида в течение 2 ч, после чего на замораживающем микротоме (Leica, Германия) получали серийные срезы толщиной 4 мкм. Срезы окрашивали крезильным фиолетовым, который позволяет идентифицировать разные отделы и слои гиппокампа, провести количественный анализ нейронов и макроглиоцитов и вычислить глиально-нейрональный индекс (соотношение глиоцитов и нейронов). Такой анализ позволяет избежать погрешностей, опосредованных вариабельностью толщины срезов или гистологическими процедурами, сопутствующими анализу только нейронов или только глиоцитов, и таким образом, оценить результаты с большей объективностью. Подсчет проводили на каждом 3-м срезе (10 срезов от каждого животного) по методу М. West и соавт. [14] в 30 случайных полях зрения в ориентальном, пирамидном и радиальном слоях СА1 и СА3, СА4 и хилусе, с помощью окулярной морфометрической сетки (размер каждого деления сетки — 0,00625 мм<sup>2</sup>), при об. 40, ок. 40. Число нейронов и глиоцитов определяли по формуле:  $N=Q \cdot t$ , где N — общее число клеток в относительном объеме ткани мозга, с которого были получены срезы; Q — число клеток в данной серии срезов; t — последовательность срезов, в которых производили подсчет (каждый 3-й срез:  $t=1/3$ ) [14]. Статистическую