

Морфологічні зміни GFAP⁺-астроцитів базального магноцелюлярного ядра головного мозку щурів як результат ранньої патогенетичної корекції колхіцин-індукованої нейродегенерації

М. В. Данукало^{id} A,D, Ю. М. Колесник^{id} A,E,F

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – описати морфологічні особливості GFAP⁺-клітин у базальному магноцелюлярному ядрі (БМЯ) головного мозку експериментальних щурів за умов ранньої патогенетично обґрунтованої корекції цитиколіном, тіоцетамом і HSF-1 колхіцин-індукованої нейродегенерації.

Матеріали і методи. Під час дослідження 50 щурів-самців лінії Wistar поділили на 5 груп (n = 10): 1 – щури з інтрацеребровентрикулярним введенням (ІЦВ) 0,9 % NaCl (37 °C) (контроль); 2 – щури з ІЦВ колхіцину; 3 – ІЦВ колхіцину + корекція цитиколіном; 4 – ІЦВ колхіцину + корекція тіоцетамом; 5 – ІЦВ колхіцином + корекція HSF-1. Після 14 днів корекції тварин виводили з експерименту шляхом одномоментної декапітації під знеболюванням, після чого негайно діставали головний мозок для наступної стандартної гістологічної підготовки до імунофлуоресцентного дослідження GFAP⁺-клітин в БМЯ.

Результати. ІЦВ колхіцину (2 група) спричинило активацію GFAP⁺-клітин у БМЯ: їхня щільність збільшилася на 56,3 %, площа – на 254,5 %, експресія маркера – на 193,4 %, кількість відростків зменшилася на 75,0 %, а довжина збільшилася на 188,8 %. Застосування засобів для нейропротекції (групи 3–5) суттєво обмежило ці зміни порівняно з групою 2. Найбільшу ефективність мала корекція HSF-1, що асоціювалася зі зменшенням площі імунопозитивних клітин на 39,6 % та 56,2 %, рівня експресії GFAP – на 16,8 % та 45,6 % порівняно з цитиколіном і тіоцетамом відповідно. Застосування нейропротекторів запобігало різкому скороченню кількості відростків та їхньому патологічному подовженню.

Висновки. У базальному магноцелюлярному ядрі експериментальних тварин на 14 добу після інтрацеребровентрикулярної ін'єкції колхіцину зафіксовано гіпертрофію, гіперплазію астроцитів із підвищеною експресією GFAP і зміною морфології відростків (подовження, зменшення кількості). Рання патогенетично обґрунтована корекція цитиколіном, тіоцетамом та HSF-1 достовірно знижує показники активації GFAP⁺-астроцитів (щільність, площа, експресія цитоскелетного протеїну) у базальному магноцелюлярному ядрі порівняно з неліквованими тваринами, однак ці параметри залишаються підвищеними щодо хібнооперованого контролю. У базальному магноцелюлярному ядрі нейропротективне втручання цитиколіном, тіоцетамом і HSF-1 запобігає виникненню патерну змін відростків, що характерні для щурів після інтрацеребровентрикулярної ін'єкції колхіцину, проте цей характер змін не відповідає показникам хібнооперованих тварин.

Ключові слова: нейропротекція, щури, GFAP, головний мозок, нейрони, цитиколін, тіоцетам, HSF-1.

Патологія. 2026. Т. 23, № 1(66). С. 5-11

Morphological changes of GFAP⁺-astrocytes in the basal magnocellular nucleus of the rat brain as a result of early pathogenetic correction of colchicine-induced neurodegeneration

M. V. Danukalo, Yu. M. Kolesnyk

Aim. To describe the morphological features of GFAP-positive cells in the basal magnocellular nucleus (BMN) of the rat brain of experimental rats under conditions of early pathogenetically substantiated correction of colchicine-induced neurodegeneration using citicoline, thioctetam, and HSF-1.

Materials and methods. Fifty male Wistar rats were divided into five groups (n = 10) as follows: group 1 – rats with intracerebroventricular (ICV) administration of 0.9 % NaCl (37 °C) (control); group 2 – rats with ICV administration of colchicine; group 3 – ICV colchicine followed by correction with citicoline; group 4 – ICV colchicine followed by correction with thioctetam; group 5 – ICV colchicine followed by correction with HSF-1. After 14 days of correction, the animals were withdrawn from the experiment by single-stage decapitation under anesthesia, after which the brain was immediately removed for subsequent standard histological processing and immunofluorescent analysis of GFAP-positive cells in the BMN.

Results. Colchicine administration (Group 2) induced maximum astrocyte activation in the BMN: cell density increased by 56.3 %, area by 254.5 %, and GFAP expression by 193.4 %, while the number of processes decreased by 75.0 % and their length increased by 18.8 %. The administration of neuroprotective agents (groups 3–5) significantly limited these changes compared to untreated animals. HSF-1 correction demonstrated the highest efficacy, reducing cell area by 39.6 % and 56.2 %, and GFAP expression by 16.8 % and 45.6 % compared to the citicoline and thioctetame groups, respectively. Furthermore, the therapy prevented the sharp reduction in process count and their pathological elongation.

Keywords: neuroprotection, rats, GFAP, brain, neurons, citicoline, thioctetam, HSF-1.

Pathologia. 2026;23(1):5-11

Conclusions. In the basal magnocellular nucleus of experimental animals, hypertrophy and hyperplasia of astrocytes with increased GFAP expression and altered process morphology (elongation and reduced number) were observed on day 14 after intracerebroventricular colchicine injection. Early pathogenetically substantiated correction with citicoline, thiocetam and HSF-1 significantly reduced the indicators of GFAP⁺ astrocyte activation (density, area, and cytoskeletal protein expression) in the basal magnocellular nucleus compared with untreated animals; however, these parameters remained elevated relative to sham-operated controls. In the basal magnocellular nucleus, neuroprotective intervention with citicoline, thiocetam, and HSF-1 prevented the development of process-related morphological patterns characteristic of rats following intracerebroventricular colchicine injection, although the resulting changes did not reach the levels observed in sham-operated animals.

Одна з поширених моделей для відтворення цілого комплексу патологічних процесів, що супроводжують нейродегенеративні стани, реалізується інтрацеребровентрикулярним введенням (ІЦВ) низьких доз колхіцину [1]. Цей алкалоїд пошкоджує аксональний транспорт, спричиняючи розвиток оксидативного стресу та нейрозапалення, ураження синаптичної передачі, формування мітохондріальної дисфункції та порушення протеостазу [2,3].

В експерименті на тваринах такий спосіб відтворення нейрональної загибелі клінічно супроводжується втратою здатності до навчання і погіршенням показників тестів у лабіринтах [4]. Саме тому колхіцин-індуковану нейродеструкцію визначають як модель спорадичної деменції алцгеймерівського типу [5].

Важливою ланкою патогенезу виникнення та прогресування когнітивних розладів і експериментальних тварин, які зазнали впливу у межах застосування цієї моделі, й у хворих на вік-асоційовані нейродегенеративні хвороби (хвороба Альцгеймера, Паркінсона) є холінергічна дисфункція кори мозку. В її основі – масивна загибель нейронів базального магнотелюлярного ядра (БМЯ) як ключового джерела ацетилхоліну в неокортексі [6]. Із застосуванням методів нейровізуалізації головного мозку людей показано, що дегенеративні зміни в цій структурі починають виникати ще на доклінічному етапі розвитку деменції [7]. Відтак, дослідження механізмів загибелі нейронів БМЯ є важливим біомедичним завданням, оскільки максимальне збереження його клітинної популяції створює підґрунтя для відновлення холінергічного дефіциту кори головного мозку та сприяє покращенню когнітивних властивостей [8].

Показано також, що нейрональна деструкція, що спричинена ІЦВ колхіцину (як і при низці названих нейродегенеративних хвороб), асоціюється з вираженою активацією астроглії [9,10,11]. Останні, як відомо, є важливими клітинами, що забезпечують нейрони енергетичними ресурсами, сприяють адекватній синаптичній передачі, беруть участь у підтримці водно-електролітного балансу в інтерстиції мозку [12,13,14,15].

Отже, їхній протекторний потенціал для нейронів безсумнівний, але, зважаючи на сучасні дані щодо транскриптомних профілів, визначають також нейротоксичний фенотип астроцитів (так званий А1-фенотип), що характеризуються продукцією прозапальних цитокінів і можуть поглиблювати нейродеструкцію [16]. Ба більше, А. Kısucká et al. показали хронологічний аспект активації різних підтипів астроцитів на прикладі травми спинного мозку. Дослідники встановили, що протягом першого тижня більше активуються гени прозапальних А1-астроцитів, а експресія генів і білків, що

характеризують протизапальний і нейропротекторний фенотип А2-клітин, починає переважати вже на другому тижні після експериментальної травми. Науковці підсумували, що після дії пошкоджувального агента часовий фактор є критичним для модуляції реактивних астроцитів у їхні нейропротекторні фенотипи [17].

Незважаючи на те, що застосування геномних і протеомних методик стає поширенішим, рутинне морфологічне оцінювання астроцитарної відповіді на дію пошкоджувальних факторів у мозку лишається актуальним і доповнює названі наукові підходи. Так, на думку М. V. Sofroniew, певні коливання молекулярної експресії та функції клітини без зміни її морфології можуть бути тимчасовими, і їх слід відрізняти від реактивних астроцитів, що характеризуються сталими морфологічними й організаційними змінами [18]. В окремих дослідженнях показано недостатність такого розподілу реактивних астроцитів, оскільки для них описано певні морфофункціональні перебудови залежно від захворювання або пошкоджувального фактора. Отже, спектр клітинних перебудов цього виду глії є значно ширшим [19].

У дослідженнях морфологічних проявів астроцитарної реакції, що зазвичай оцінюють за допомогою імунопозитивності до цитоскелетного білка GFAP (glial fibrillary acidic protein), ключове значення має застосування стандартизованих методів комп'ютерного аналізу зображень. Використання сучасних програм із відкритим кодом, як-от ImageJ, у поєднанні з макросами забезпечує автоматизований та об'єктивний підхід до кількісного оцінювання структурних параметрів астроцитів: площі клітинного тіла, кількості та довжини відростків, інтенсивності експресії маркера та щільності клітин. Такий методологічний підхід мінімізує суб'єктивний вплив дослідника та гарантує високу відтворюваність результатів [20].

Мета роботи

Описати морфологічні особливості GFAP⁺-клітин у БМЯ головного мозку експериментальних щурів за умов ранньої патогенетично обґрунтованої корекції цитиколином, тіоцетамом і HSF-1 колхіцин-індукованої нейродегенерації.

Матеріали і методи дослідження

До експерименту залучили 50 щурів-самців лінії Wistar віком 10–11 місяців. Дизайн дослідження показано на *рис. 1*.

Тварин утримували за стандартних умов віварію Навчально-наукового медико-лабораторного центру Запорізького державного медико-фармацевтичного

1

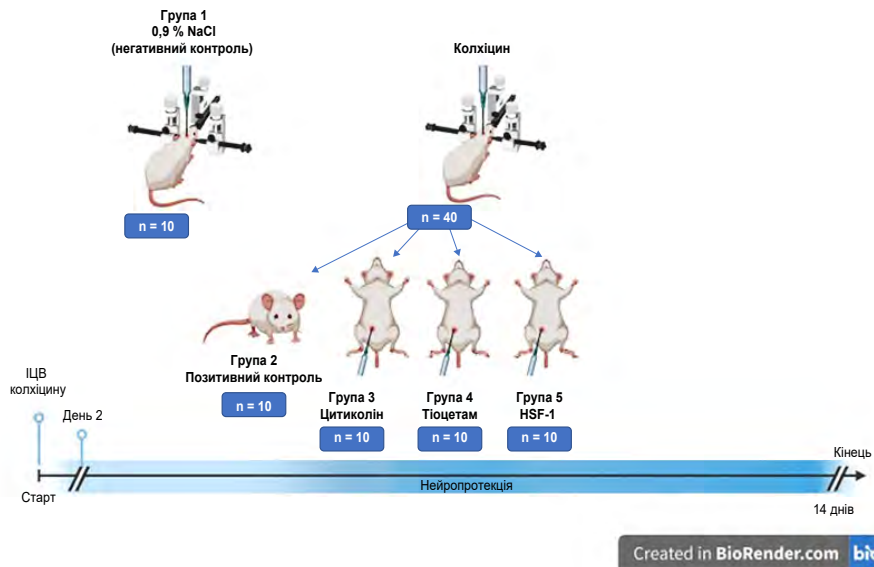


Рис. 1. Експериментальні групи тварин, що залучені до дослідження.

університету. Матеріали, викладені у статті, розглянуто на засіданні Комісії з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, порушень не виявлено (протокол від 06.02.2026 року № 2). Під час інвазивних втручань дотримувались національних «Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2001) та міжнародних правил поведінки з лабораторними тваринами (Директива 2010/63 ЄС Європейського парламенту та Ради від 22 вересня 2010 року «Про захист прав хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей»).

Процедуру ІЦВ 3 мкл 0,9 % NaCl (37 °C) або розчину колхіцину (15 мкг речовини, розчиненої в 3 мкл 0,9 % NaCl, 37 °C) виконали під знеболюванням препаратом «Телазол» (тіолетамін гідрохлорид і золазепам гідрохлорид по 250 мг у флаконі) в дозуванні 0,1 мл на 100 г маси тіла внутрішньоочеревинно. Місце ін'єкції (проскція латеральних шлуночків на поверхню черепа) визначено за допомогою стереотаксичного атласу мозку щура [21], втручання технічно здійснили з використанням цифрової стереотаксичної системи World Precision Instruments (США).

На наступну добу тваринам із груп корекції (групи 3–5) розпочинали інтраперитонеальне введення препаратів із нейропротекторною активністю в таких дозуваннях: група 3 – 500 мг/кг цитиколіну (Feger International, SA, Spain); група 4 – 250 мг/кг тіоцетаму (комбінація пірацетаму та тіотриазоліну 1:4, «Артеріум», Україна); група 5 – 200 мкл/кг фактора теплового шоку-1 (HSF-1; recombinant, «Sigma Aldrich», США). Речовини вводили протягом 14 днів 1 раз на добу.

На 15 день після процедури ІЦВ фізіологічного розчину або колхіцину експериментальних тварин виводили з експерименту декапітацією під знеболюванням тіопенталом натрію (120 мг/кг внутрішньоочеревинно). Після цього негайно вилучали головний мозок, тканину

якого фіксували в розчині Буена. Зразки зневоднювали та готували до переміщення в парапласт. Надалі мозок експериментальних тварин заливали в парапластові блоки, з яких на мікромомі «Microm-325» (Microm Corp., Німеччина) робили гістологічні зрізи структури БМЯ завтовшки 5 мкм. Топографічну орієнтацію у цій структурі мозку здійснювали за допомогою стереотаксичного атласу мозку щура [21].

Для мікроскопічного імунофлуоресцентного оцінювання експресії GFAP у клітинах БМЯ експериментальних тварин на підготовлені серійні гістологічні зрізи після депарафінізації, регідратації та інкубації в блокувальному буфері (SantaCruz Biotechnology, США) наносили первинні мишачі антитіла до цього білка та лишали їх у вологій камері при +4 °C на ніч. Після цього на добре відмиті в PBS (pH = 7,4) зразки тканини мозку наносили вторинні протимишинні антитіла, що кон'юговані з флуорохромом (FITC), і ще витримували й інкубували в темній вологій камері за температури 37 °C протягом години. Надалі скельця ще раз промивали з препаратами у PBS і наносили покривне середовище. Усі антитіла застосовано за інструкціями виробника (SantaCruz Biotechnology, США) [22].

Підготовлені у такий спосіб зразки тканини мозку експериментальних щурів аналізували на мікроскопі AxioImager-M2 («Carl Zeiss», Німеччина), який додатково обладнаний цифровою камерою AxioCam-ERc 5s («Carl Zeiss», Німеччина). Для візуалізації специфічного світіння флуорохрому (FITC) процедуру мікроскопії виконано з використанням світлофільтра 38HE. Зображення БМЯ зберігали як мікрофотографії для наступного опрацювання за допомогою інструментів програми ImageJ в напівавтоматичному режимі.

Оцінювали такі показники:

– щільність імунопозитивних клітин (кількість клітин, поділена на площу кадру) із застосуванням інструменту Analyse particles [23];

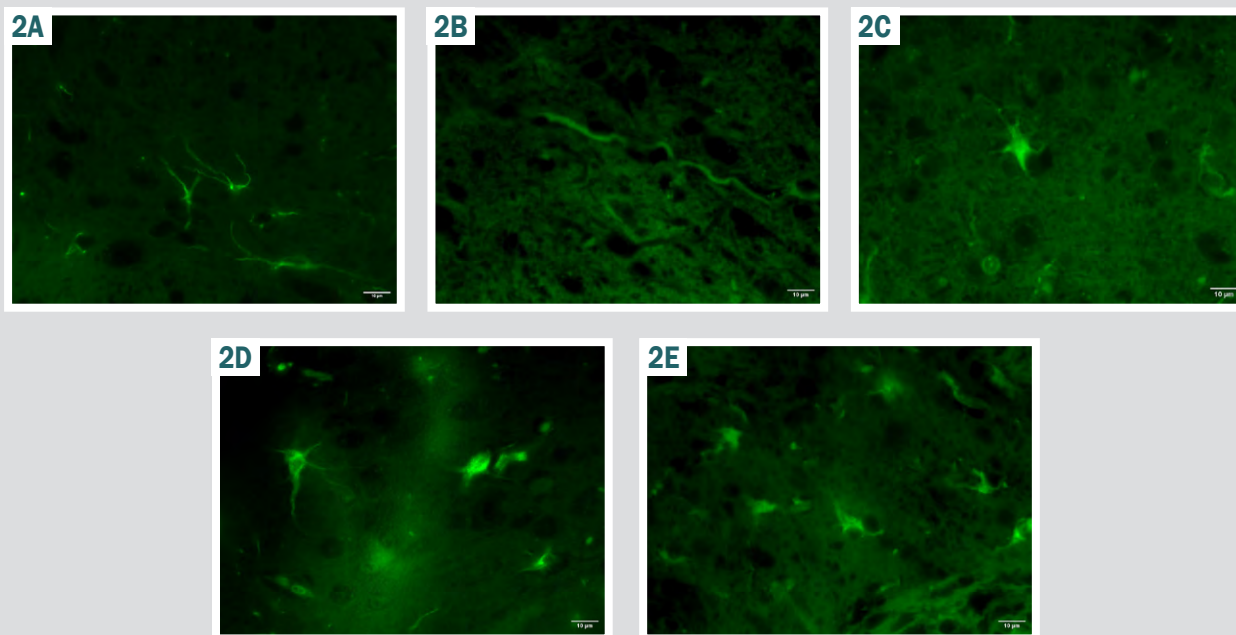


Рис. 2. Експресія GFAP у клітинах БМЯ експериментальних тварин. А: у щурів групи 1; В: у щурів групи 2; С: у щурів групи 3; D: у щурів групи 4; Е: у щурів групи 5.

- площа імунопозитивних клітин;
- скоригована загальна клітинна флуоресценція (Corrected Total Cell Fluorescence, CTCF); результат виражали в умовних одиницях імунофлуоресценції ($Од_{\text{CF}}$) та обчислювали за формулою: $CTCF = ID_1 - (S \times ID_0)$, де ID_1 – інтегрована оптична щільність імунопозитивної клітини (визначена автоматично в ImageJ), S – площа клітини з позитивною флуоресценцією; ID_0 – інтегрована щільність фону (з клітин, що не мали флуоресцентного сигналу). CTCF використовували як напівкількісну характеристику для оцінювання вмісту міченого білка в окремих клітинах;

- метричні параметри відростків астроцитів (кількість і довжина) обчислили за допомогою плагіну Skeletonize й інструменту Analyze skeleton [24].

Статистично результати опрацювали, застосовуючи критерій Шапіро–Вілка для оцінювання нормальності розподілу вибірки. Залежно від цього для оцінювання достовірності відмінностей показників між експериментальними групами тварин визначали або коефіцієнт Стюдента (t) – для вибірки з нормальним розподілом даних, або критерій Манна–Вітні (U) – для вибірки, дані якої не відповідають закону нормальності. Як достовірні визначали відмінності при $p < 0,05$. Усі обчислення виконали з використанням ліцензійного програмного забезпечення: Statistica (ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J) та Excel 10.0 (Microsoft Corp., США).

Результати

У результаті дослідження встановлено особливості впливу ІЦВ колхіцину, а також ефекти раннього патогенетично обґрунтованого нейропротекторного втручання на морфологічні параметри GFAP⁺ астроцитів у структурі БМЯ експериментальних щурів (рис. 2).

Встановлено, що щільність імунопозитивних клітин у тварин 2 експериментальної групи (з ІЦВ колхіцину без корекції) достовірно перевищувала відповідні показники і хібнооперованих щурів (група 1), і груп 3, 4, 5 (з корекцією Цитиколін, тіоцетамом і HSF-1 відповідно). Так, перевищення становило щодо групи 1 – 56,3 %, групи 3 – 41,5 %, групи 4 – 47,6 %, групи 5 – 27,5 %. Водночас, порівняно з негативним контролем (група 1) у тварин із 3 і 4 груп цей параметр достовірно не змінився, а у тварин 5 групи щільність GFAP⁺-астроцитів у БМЯ достовірно вища на 22,6 % (рис. 3).

Аналіз морфологічних параметрів імунореактивних до GFAP клітин БМЯ показав, що у тварин 2 групи площа астроцитів у цій структурі мозку достовірно більша за значення групи 1 на 254,5 %. У групі 3 цей показник перевищував контроль на 61,6 %, але на 54,4 % нижчий, ніж у групі 2. У групі 4 площа GFAP⁺-клітин на 80,8 % більша за відповідну характеристику астроцитів щурів групи 1 і водночас на 49 % менша, ніж у групі 2. Зауважимо, що досліджений параметр у групі 5 порівняно з контролем достовірно не відрізнявся, але щодо групи 2 зафіксовано зниження на 67,4 %. Разом із тим, площа імунокомпетентних клітин у БМЯ тварин із корекцією HSF-1 суттєво менша, ніж у щурів, які отримували цитиколін (на 39,6 %) та тіоцетам (на 56,2 %) (табл. 1).

Показник CTCF до GFAP в астроцитах БМЯ у групі 2 перевищував групу порівняння (хібнооперовані щури) на 193,4 %. У групі 3 інтенсивність флуоресценції міченого протеїну у досліджених клітинах більша за контроль на 89,2 %, але на 35,5 % нижча, ніж у групі 2. У групі 4 рівень експресії GFAP більший на 135,9 % щодо групи 1, але залишався на 19,6 % нижчим, ніж у тварин групи 2, статистично не відрізнявся від відповідного параметра щурів групи 3. У

Таблиця 1. Показники експресії GFAP у структурі базального магноцелюлярного ядра у щурів експериментальних груп, Ме [Q1; Q4]

Параметр, одиниці вимірювання	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4	Група 5
Площа імунопозитивних клітин, мкм ²	16,30 [10,00; 28,57]	57,79 [40,37; 84,66] ¹	26,34 [16,69; 39,22] ^{1,2}	29,48 [18,41; 40,29] ^{1,2}	18,86 [15,62; 24,27] ^{2,3,4}
СТСФ, Од _ф	1409,00 [863,05; 2361,03]	4133,91 [2506,13; 8464,77] ¹	2666,39 [1867,10; 4108,54] ^{1,2}	3323,65 [1771,89; 4904,39] ^{1,2}	2283,20 [1582,14; 3012,89] ^{1,2,3,4}
Кількість відростків імунопозитивних клітин	4 [4; 5]	1 [1; 2] ¹	3 [3; 4] ^{1,2}	2 [2; 3] ^{1,2,3}	3 [3; 4] ^{1,2,4}
Довжина відростків імунопозитивних клітин, мкм	8,40 [5,31; 12,83]	24,26 [17,27; 37,59] ¹	5,91 [3,97; 9,18] ^{1,2}	9,14 [5,53; 14,18] ^{2,3}	6,57 [5,00; 10,25] ^{1,2,3,4}

1: вірогідна різниця показників ($p_U < 0,05$) щодо групи 1; 2: вірогідна різниця показників ($p_U < 0,05$) щодо групи 2; 3: вірогідна різниця показників ($p_U < 0,05$) щодо групи 3; 4: вірогідна різниця показників ($p_U < 0,05$) щодо групи 4.

3

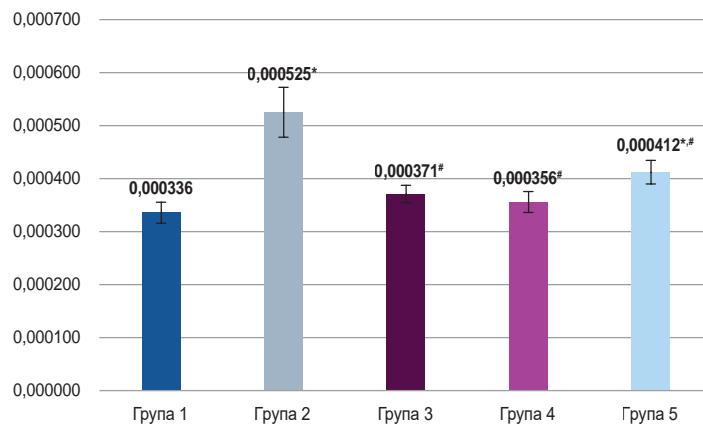


Рис. 3. Щільність GFAP⁺-клітин у структурі БМЯ щурів експериментальних груп. *: достовірна різниця щодо показника групи 1, $p_{st} < 0,05$; #: достовірна різниця щодо показника групи 2, $p_{st} < 0,05$.

групі 5 цей параметр експресії цитоскелетного білка клітин БМЯ більший за контрольні значення на 62 %, але нижчий за групу 2 на 44,8 %. Зауважимо, що в БМЯ HSF-1 асоціювався з достовірно нижчим рівнем GFAP-експресії, ніж інші нейропротектори: на 16,8 % нижче, ніж у групі з цитиколіном, на 45,6 % порівняно з тіоцетамом (табл. 1).

Кількість відростків GFAP⁺-клітин БМЯ у тварин 2 групи порівняно з відповідним значенням щурів 1 групи на 75 % менша. У групі 3 цей параметр на 25 % нижчий щодо контролю, хоча перевищував значення групи 2 втричі. У щурів групи 4 ця морфологічна характеристика вдвічі менша за значення групи 1, проте вдвічі вища, ніж у групі 2. Порівняно з групою 3, цей параметр імунореактивних астроцитів нижчий на 33,3 %. У групі 5 кількість відростків GFAP⁺-глії БМЯ на 25 % менша, ніж у контролі, однак втричі перевищувала рівень групи 2 і при цьому на 33,3 % нижча, ніж у групі 4 (табл. 1).

Довжина відростків імунореактивних астроцитів у БМЯ щурів групи 2 більша за показник групи 1 на 188,8 %. Відповідний параметр, що визначили у групі 3, достовірно менший за показник щурів групи 1 (на 29,6 %) та 2 (на 310,3 %). Зауважимо, що відростки імунопозитивних до GFAP гліоцитів БМЯ у групі 4 мали статистично однакову довжину з відповідними клітинами контрольних тварин (1 експериментальна група) й набагато коротші за такі самі астроцити в групах 2 (на 165,3 %) та 3 (на 54,6 %). У групі 5 ця морфологічна характеристика вірогідно менша за відповідне значення групи 1 – на 21,8 %, групи 2 – на

269,3 %, групи 4 – на 28,2 %, а порівняно з групою 3 встановлено статистично більший параметр – на 11,1 % (табл. 1).

Обговорення

У результаті дослідження встановлено сприятливий вплив раннього застосування цитиколіну, тіоцетаму та HSF-1 і на кількісні, і на якісні показники астроцитів у БМЯ щурів експериментальних груп. Цей факт асоціюється зі встановленим раніше зниженням параметрів нітрозативного стресу (нітритів та експресії iNOS – індукційної ізоформи синтази оксиду азоту) та загальною кращою виживаністю нейронів у дослідженій структурі мозку дослідних тварин [25].

Підтверджено, що в основі патогенезу нейрональної загибелі при ІЦВ колхіцину – запалення та оксидативний стрес, мітохондральна дисфункція та енергодефіцит, а також глутаматна ексайтотоксичність [2,26,27]. Отже, фармакологічні агенти, що можуть впливати на ключові патогенетичні ланки перебігу цих процесів можуть впливати на реактивність і морфологію астроглії. На підтвердження цієї думки показано, що в культурі клітин цитиколін сприяє покращеному виживанню астроцитів, що зазнали прооксидантного впливу (H₂O₂). Автори розширили розуміння механізмів цього явища, показавши, що нейропротектор, який застосували, у гліальних клітинах впливав на експресію ферменту кардіоліпінсинтази 1 (CRLS1). Він є важливим для

синтезу кардіоліпіну – фосфоліпіду, який є ключовим компонентом мітохондріальних мембран, і в такий спосіб відіграє важливу роль у функції мітохондрій, включаючи тканинне дихання та апоптоз [28].

Разом із тим, у результаті експериментальних досліджень J. A. Matamoros et al. виявили збільшення експресії GFAP у мозку дослідних тварин на фоні застосування цитиколіну. Дослідники пов'язують це з тим, що активація нейропротекторного ефекту в цьому випадку супроводжується модуляцією функцій астроцитів так, що вони спричиняють прямі захисні ефекти, як-от більше вивільнення нейротрофічних факторів, збільшення постачання енергії до нейронів тощо, запускають непрямі зміни (поглинання глутамату, реорганізація енергетичних шляхів, модуляція синаптичної передачі) [29]. Під час нашого дослідження встановили статистично значущі відмінності у щурів групи 3 порівняно з контролем, і це підтверджує наведені висновки.

Для тіоцетаму (зокрема і для одного з його активних компонентів пірацетаму) описано також виражені антиоксидантні властивості, енерготропну дію, а також можливість впливати на кальцієві канали, що має позитивний ефект на вираженість процесів ексайтотоксичності [30,31]. Щодо впливу на астроцити, встановлено: фармакологічна дія пірацетаму залежить від часу його абсорбції клітиною. З накопиченням нейропротектора у клітині посилювався його вплив на загальне виживання астроглії в умовах дії пошкоджувального фактора (бактеріального ліпополісахариду). Крім того, підтверджено стабілізаційний вплив на мітохондрії, мінімізацію ушкоджень астроцитарної ДНК через пригнічення транслокації мітохондріальної ендонуклеази G до ядра. Цей ефект сприяв зменшенню каспазо-незалежного апоптозу в досліджених гліоцитах [32].

Зауважимо, що серед трьох нейропротекторів, які застосовані під час дослідження, найбільш виражений ефект мав HSF-1. Хоча показник щільності астроцитів у БМЯ мозку статистично більший, ніж у контрольних тварин, морфологічні параметри площі імунокомпетентних клітин та ступеня експресії в них GFAP щурів групи 5 статистично менші, ніж у тварин, яким вводили цитиколін і тіоцетам (рис. 2, табл. 1).

Як відомо, транскрипційний фактор теплового шоку-1 (HSF-1) є членом родини ДНК-зв'язувальних білків, що опосередковують транскрипцію білків теплового шоку (HSP) для правильного згортання, транспортування та деградації неправильно згорнутих білків у відповідь на різноманітні стреси.

Цей білок вивчали також під час багатьох досліджень, що присвячені оцінюванню запальної активації астроцитів і його участі у конверсії A1-підтипу в A2. Так, L. Li et al показали, що активація HSF1 значно пригнічувала активність MAPK (мітоген-асоційованої протеїнкінази) і NFκB (ядерного фактора κB), що відповідали за регуляцію експресії C3-компонента системи комплементу (C3). Автори пояснюють це широкою палітрою генів, на які впливає HSF1, що виявляють за експресією відповідних білків. Це, наприклад, пригнічення транскрипції IL-1β, TNF-α, гальмування активації інфламасоми NLRP3. Паралельно цей білок стимулює експресію таких шаперонів, як HSP40, HSP70 і HSP90,

тому дослідники не виключають HSP-залежні механізми інгібування C3 у реактивних астроцитах [33].

Отже, результати нашого дослідження свідчать, що всі три нейропротектори: цитиколін, тіоцетам і HSF1 – модулюють ключові патогенетичні ланки, пов'язані з активацією астроцитів, зокрема оксидативний і нітрозативний стрес, запалення та енергодефіцит.

Окремо наголосимо на механізмі ексайтотоксичності, оскільки саме активація NMDA-рецепторів і пов'язане з нею підвищення внутрішньоклітинного рівня кальцію визначають як важливий фактор активації астроцитів. Серед застосованих у межах дослідження препаратів для тіоцетаму описано позитивний вплив на перебіг цього патологічного процесу. Так, показано, що пірацетам (один із його активних компонентів) гальмує кальцій-залежні ушкоджувальні каскади та продукування збуджувальних амінокислот [32].

Подібні ефекти зафіксовано і в разі використання більш специфічного блокатора NMDA-рецепторів (NMDAR) – мемантину. Так, S. K. Mishra et al. показали, що попереднє введення мемантину зменшує експресію GFAP, а також рівні TNF-α, IL-10, iNOS і каспази-3. Це супроводжувалося зниженням експресії субодиниць NMDAR на астроцитах і відновленням кальцієвих сигнальних шляхів (CaMKIIα, CREB), що підтверджує тісний зв'язок між регуляцією NMDAR і реактивністю астроцитів [34].

Висновки

1. У базальному магноцелюлярному ядрі експериментальних тварин на 14 добу після інтрацеребровентрикулярної ін'єкції колхіцину виявляють гіпертрофію та гіперплазію астроцитів із підвищеною експресією GFAP, зміною морфології відростків (подовження, зменшення кількості).

2. Рання патогенетично обґрунтована корекція цитиколіном, тіоцетамом і HSF-1 достовірно знижує показники активації GFAP⁺-астроцитів (щільність, площа, експресія цитоскелетного протеїну) у базальному магноцелюлярному ядрі порівняно з нелікованими тваринами, однак вони залишаються підвищеними щодо хібнооперованого контролю.

3. У базальному магноцелюлярному ядрі нейропротективне втручання цитиколіном, тіоцетамом та HSF-1 запобігає виникненню патерну змін відростків, що характерні для щурів після інтрацеребровентрикулярної ін'єкції колхіцину, проте цей характер змін не відповідає показникам хібнооперованих тварин.

Фінансування

Дослідження фінансоване Національним фондом досліджень України в рамках «Конкурсу на одержання грантів Президента України для підтримки наукових досліджень і розробок молодих вчених-докторів філософії / кандидатів наук (до 35 років включно)», реєстраційний номер 2025.05/0007, тема: «Оптимізація підходів до патогенетичної корекції порушень аксонального транспорту при експериментальній нейротравмі», № договору: 267.05/0007.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 19.01.2026

Після доопрацювання / Revised: 30.03.2026

Схвалено до друку / Accepted: 02.04.2026

Відомості про авторів:

Данукало М. В., PhD, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0003-3413-945X

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, Україна; заслужений діяч науки і техніки України.
ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

Information about the authors:

Danukalo M. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine. Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine; Honored Science and Technology Figure of Ukraine.



Максим Данукало (Maksym Danukalo)
danukalo.m.v@zsmu.edu.ua

References

- Rapaka D, Adukwu PC, Bitra VR. Experimentally induced animal models for cognitive dysfunction and Alzheimer's disease. *MethodsX*. 2022;9:101933. doi: 10.1016/j.mex.2022.101933
- Sleigh JN, Rossor AM, Fellows AD, Tosolini AP, Schiavo G. Axonal transport and neurological disease. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(12):691-703. doi: 10.1038/s41582-019-0257-2
- Guo W, Stoklund Dittlau K, Van Den Bosch L. Axonal transport defects and neurodegeneration: Molecular mechanisms and therapeutic implications. *Semin Cell Dev Biol*. 2020;99:133-50. doi: 10.1016/j.semcdb.2019.07.010
- Danukalo MV, Kolesnyk YM, Hancheva OV. Contemporary comprehensive approaches to assessing the effectiveness of experimental model of neurodegenerative disorders with cognitive status changes. *Mod Med Technol*. 2023;(4):51-8. doi: 10.34287/MMT.4(59).2023.7
- Kumar A, Seghal N, Naidu PS, Padi SS, Goyal R. Colchicines-induced neurotoxicity as an animal model of sporadic dementia of Alzheimer's type. *Pharmacol Rep*. 2007;59(3):274-83.
- Soma S, Suematsu N, Sato AY, Tsunoda K, Bramian A, Reddy A, et al. Acetylcholine from the nucleus basalis magnocellularis facilitates the retrieval of well-established memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2021;183:107484. doi: 10.1016/j.nlm.2021.107484
- Schulz J, Pagano G, Fernández Bonfante JA, Wilson H, Politis M. Nucleus basalis of Meynert degeneration precedes and predicts cognitive impairment in Parkinson's disease. *Brain*. 2018;141(5):1501-16. doi: 10.1093/brain/awy072
- Nazmuddin M, Philipppens IH, van Laar T. Electrical stimulation of the nucleus basalis of Meynert: a systematic review of preclinical and clinical data. *Sci Rep*. 2021;11(1):11751. doi: 10.1038/s41598-021-91391-0
- Andersen JV, Schousboe A, Verkhratsky A. Astrocyte energy and neurotransmitter metabolism in Alzheimer's disease: Integration of the glutamate/GABA-glutamine cycle. *Prog Neurobiol*. 2022;217:102331. doi: 10.1016/j.pneurobio.2022.102331
- Wilton DK, Stevens B. The contribution of glial cells to Huntington's disease pathogenesis. *Neurobiol Dis*. 2020;143:104963. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104963
- Tefera TW, Borges K. Neuronal glucose metabolism is impaired while astrocytic TCA cycling is unaffected at symptomatic stages in the hSOD1(G93A) mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2019;39:1710-24. doi: 10.1177/0271678X18764775
- Andersen JV, Schousboe A. Glial glutamine homeostasis in health and disease. *Neurochem Res*. 2023;48(4):1100-28. doi: 10.1007/s11064-022-03771-1
- Wang S, Wang B, Shang D, Zhang K, Yan X, Zhang X. Ion channel dysfunction in astrocytes in neurodegenerative diseases. *Front Physiol*. 2022;13:814285. doi: 10.3389/fphys.2022.814285
- Ioannou MS, Jackson J, Sheu SH, Chang CL, Weigel AV, Liu H, et al. Neuron-astrocyte metabolic coupling protects against activity-induced fatty acid toxicity. *Cell*. 2019;177(6):1522-35. doi: 10.1016/j.cell.2019.04.001
- Zhou Z, Zhan J, Cai Q, Xu F, Chai R, Lam K, et al. The water transport system in astrocytes-aquaporins. *Cells*. 2022;11(16):2564. doi: 10.3390/cells11162564
- Wang J, Cheng C, Liu Z, Lin Y, Yang L, Zhang Z, et al. Inhibition of A1 astrocytes and activation of A2 astrocytes for the treatment of spinal cord injury. *Neurochem Res*. 2023;48(3):767-80. doi: 10.1007/s11064-022-03820-9
- Kisucká A, Bimbová K, Bačová M, Gálik J, Lukáčová N. Activation of neuroprotective microglia and astrocytes at the lesion site and in the adjacent segments is crucial for spontaneous locomotor recovery after spinal cord injury. *Cells*. 2021;10:1943. doi: 10.3390/cells10081943
- Sofroniew MV. Astrocyte Reactivity: Subtypes, States, and Functions in CNS Innate Immunity. *Trends Immunol*. 2020;41(9):758-70. doi: 10.1016/j.it.2020.07.004
- Shulyatnikova T, Shavrin V. Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the endfeet of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain Res*. 2021;1751:147174. doi: 10.1016/j.brainres.2020.147174
- Marques SI, Carmo H, Carvalho F, Sá SI, Silva JP. A semi-automatic method for the quantification of astrocyte number and branching in bulk immunohistochemistry images. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):4508. doi: 10.3390/ijms24054508
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 7th ed. London: Elsevier Academic Press; 2018.
- SCBT. Santa Cruz biotechnology [Internet]. SCBT. [cited 2026 Mar 14]. Available from: <https://www.scbt.com/resources/protocols/immunofluorescence-cell-staining>
- Ferreira T. ImageJ user guide – IJ 1.46r [Internet]. ImageJ.net. [cited 2026 Mar 14]. Available from: <https://imagej.net/ij/docs/guide/146-30.html>
- AnalyzeSkeleton [Internet]. ImageJ Wiki. [cited 2026 Mar 14]. Available from: <https://imagej.net/plugins/analyze-skeleton/>
- Danukalo MV, Kolesnyk YM. The specificity of iNOS expression indicators in the basal magnocellular nucleus of rats under early pathogenetic correction in experimental neurodestruction. *Zaporozhye Medical Journal*. 2024;26(5):379-86. doi: 10.14739/2310-1210.2024.5.309732
- Saini N, Singh D, Sandhir R. Bacopa monnieri prevents colchicine-induced dementia by anti-inflammatory action. *Metabolic Brain Disease*. 2019;34(2):505-18. doi: 10.1007/s11011-018-0332-1
- Sil S, Ghosh T, Ghosh R. NMDA receptor is involved in neuroinflammation in intracerebroventricular colchicine-injected rats. *J Immunotoxicol*. 2016;13(4):474-89. doi: 10.3109/1547691X.2015.1130760
- Di Simone SC, Libero ML, Rapino M, di Giacomo V, Cataldi A, Guarneri S, et al. Neuroprotective effects induced by citicoline/coenzyme Q10 fixed combination in rat CTX-TNA2 astrocytes exposed to oxidative stress. *Food Biosci*. 2024;61:104758. doi: 10.1016/j.fbio.2024.104758
- Matamoros JA, Rubio-Casado S, Fernández-Albarral JA, Martínez-López MA, Ramírez AI, Salobrar-García E, et al. Citicoline and coenzyme Q10: therapeutic agents for glial activation reduction in ocular hypertension. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2025;18(5):694. doi: 10.3390/ph18050694
- Belenichev IF, Cherniy V, Nahorna E, Pavlov S, Cherniy T, Bukhtiyarova N, et al. [Neuroprotection and neuroplasticity]. Kyiv: Logos; 2015. Ukrainian.
- He Z, Hu M, Zha YH, Li ZC, Zhao B, Yu LL, et al. Piracetam ameliorated oxygen and glucose deprivation-induced injury in rat cortical neurons via inhibition of oxidative stress, excitatory amino acids release and P53/Bax. *Cell Mol Neurobiol*. 2014;34(4):539-47. doi: 10.1007/s10571-014-0037-x
- Gupta S, Verma DK, Biswas J, Rama Raju KS, Joshi N, Wahajuddin, et al. The metabolic enhancer piracetam attenuates mitochondrial-specific endonuclease G translocation and oxidative DNA fragmentation. *Free Radic Biol Med*. 2014 Aug;73:278-90. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.05.014
- Li L, Li Y, He B, Li H, Ji H, Wang Y, et al. HSF1 is involved in suppressing A1 phenotype conversion of astrocytes following spinal cord injury in rats. *J Neuroinflammation*. 2021;18(1):205. doi: 10.1186/s12974-021-02271-3
- Mishra SK, Hidau M, Rai S. Memantine and ibuprofen pretreatment exerts anti-inflammatory effect against streptozotocin-induced astroglial inflammation via modulation of NMDA receptor-associated downstream calcium ion signaling. *Inflammopharmacology*. 2021;29(1):183-92. doi: 10.1007/s10787-020-00760-0