

Морфологічні особливості астроцитів базального магноцелюлярного ядра головного мозку щурів після внутрішньошлуночкового введення колхіцину

М.В. Данукало, Ю.М. Колесник

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет; e-mail: danukalo.m.v@zsmu.edu.ua

В оцінці змін морфології астроцитів при нейродегенеративних станах, що відображає їх як захисні, так і патологічні аспекти функціонування, важливо застосовувати програми автоматизованої обробки зображень. Такий підхід створює надійну базу для стандартизації оцінки гліозу та дозволяє отримати прецизійні кількісні дані щодо стану цитоскелета астроцитів. У базальному магноцелюлярному ядрі (БМЯ) – кластері холінергічних нейронів, загибель яких поглиблює когнітивні порушення – ці дослідження є особливо актуальними з огляду на медико-соціальну значущість деменцій. Мета нашої роботи – із застосуванням сучасних методів комп'ютерної обробки зображень вивчити морфологічні особливості клітин, імунопозитивних до гліального кислого фібрилярного протеїну (GFAP) у базальному магноцелюлярному ядрі щурів після внутрішньошлуночкового (ВШ) введення колхіцину. Для дослідження використано 3 групи щурів Вістар (по 10 тварин у кожній): інтактних, хібнооперованих та тварин з колхіциніндукованою нейродеструкцією. Через 14 днів після втручання проводили імунофлюоресцентну мікроскопію GFAP⁺-клітин у БМЯ. За допомогою програми ImageJ оцінювали щільність та площу імунопозитивних клітин, скориговану загальну клітинну флюоресценцію (CTCF), кількість відростків астроцитів та їх довжину. ВШ колхіцину призвело до зростання порівняно з інтактними тваринами в БМЯ щільності імунопозитивних клітин на 43,5%, їхньої площі на 183,9% та CTCF на 163,6%. Відносно хібнооперованої групи ці показники збільшилися на 56,3, 254,5 та 193,4% відповідно. При цьому вірогідно зменшувалася кількість відростків (на 75 % порівняно з групами контролю) та збільшення їх довжини (на 236,9 % порівняно з інтактними та на 188,8 % – з хібнооперованими щурами). Результати свідчать про гіпертрофію та гіперплазію астроцитів у БМЯ після ВШ колхіцину. Гіпертрофовані астроцити відзначаються підвищеною експресією GFAP, більшою довжиною відростків водночас з їх меншою кількістю, ніж у контрольних щурів.

Ключові слова: астроцити; GFAP; колхіцин; мозок; щури.

ВСТУП

Нині значення астроцитів у підтримці нормальної життєдіяльності та адекватного функціонування нейронів описана достатньо детально. Показано, що вони є найчисельнішою популяцією гліальних клітин в мозку, відіграють ключову роль у забезпеченні енергетичних потреб нейронів [1]. Крім того, переконливо продемонстровано участь цих клітин у регуляції нейротрансмісії та синаптичної пластичності в структурах головного мозку, оскільки вони безпосередньо беруть

участь в обміні нейромедіаторів, зокрема глутамату, γ -аміномасляної кислоти [2], та мікроелементів [3]. Також описано протекторну функцію астроцитів для нейронів завдяки здатності утилізувати такі токсичні продукти їх життєдіяльності, як жирні кислоти [1].

Водночас багато досліджень присвячені ролі астроцитів у нейродегенеративних станах, а саме хворобі Альцгеймера [4], Хантінгтона [5], бічному аміотрофічному склерозі [6] тощо, що значно розширює уявлення про патогенез цих хвороб і від-

криває можливість до пошуку нових терапевтичних підходів. З огляду на значення астроцитів у підтримці нейрональної функції та формуванні патологічних змін, виникає потреба у використанні дослідницьких методів, які дають змогу простежити їх внесок у розвиток нейродегенерації. Одним із таких, що добре відтворюються, є тваринна модель деменції альцгеймерівського типу, яка формується за допомогою введення колхіцину в бічні шлуночки мозку (внутрішньошлуночково, ВШ). При цьому виникає порушення холінергічної іннервації кори головного мозку внаслідок загибелі нейронів базального магноцелюлярного ядра (БМЯ), що в свою чергу посилює дегенеративні процеси в нейронах і проявляється когнітивним дефіцитом у тварин [7, 8]. Електрична стимуляція цієї структури позитивно впливає на процеси навчання та запам'ятовування і відновлює вміст медіатора в корі великих півкуль мозку тварин [9]. Тому БМЯ є перспективним об'єктом для досліджень, а вивчення механізмів загибелі його нейронів та ролі астроцитів у цьому процесі становить важливе біомедичне завдання.

З іншого боку, постає питання об'єктивного опису функціонального стану астроглії в структурах мозку за умов експериментальної нейродеструкції. При вивченні астроцитів більшість дослідників застосовують специфічний маркер – гліальний фібрилярний кислий протеїн (glial fibrillary acidic protein, GFAP). Водночас при патологічних процесах у центральній нервовій системі оцінка GFAP⁺-клітин, незважаючи на їх морфологічне різноманіття, залишається недостатньо об'єктивізованою, а класичні методи кількісної оцінки зазвичай ґрунтуються на візуальному підрахунку, що зумовлює їх суб'єктивність і трудомісткість [10]. Сучасна імуофлюоресцентна мікроскопія у поєднанні з безкоштовними та простими у використанні програмами комп'ютерної обробки зображень із відкритим кодом і підтримкою макросів (наприклад, ImageJ),

дають змогу автоматизувати та об'єктивно розрахувати морфологічні параметри астроцитів, зокрема площу тіла клітини, кількість і довжину відростків, інтенсивність експресії маркера, а також кількість клітин у площі кадру без значних затрат часу. Такий підхід не потребує глибоких знань мов програмування, застосування спеціалізованих мікроскопічних систем, оснащених стереологічним обладнанням та забезпечує максимальну відтворюваність результатів [10].

Мета нашої роботи – із застосуванням сучасних методів комп'ютерної обробки зображень дослідити морфологічні особливості GFAP⁺-клітин у БМЯ щурів після внутрішньошлуночкового введення колхіцину.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 30 щурах-самцях лінії Вістар віком 11-12 міс та масою 250–350 г. Догляд за щурами на час проведення експерименту здійснювали у стандартизованих умовах віварію Навчально-наукового медико-лабораторного центру Запорізького державного медико-фармацевтичного університету. Маніпуляції відбувалися з обов'язковим дотриманням безпекових та біоетичних протоколів (протокол № 2 засідання Комісії з питань біоетики при ЗДМФУ від 15 березня 2023 р.), відповідно до «Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджені з Директивою 2010/63 ЄС Європейського парламенту та Ради від 22 вересня 2010 р. «Про захист прав тварин, що використовуються в наукових цілях»).

Тварин було розподілено на 3 дослідні групи по 10 щурів у кожній. До I увійшли інтактні тварини, до II – хибнооперовані щури, яким проводили шлуночково-шлуночкове введення (ВШВ) теплового (37°C) розчину 0,9 %-го NaCl. Щурам III групи здійснювали ВШВ теплового (37°C) розчин колхіцину (15 мкг у 3 мкл 0,9 %-го NaCl; «Sigma Aldrich», США) протягом 2 хв. Зазначені інвазивні втручання проводили під анестезією препаратом «Тела-

зол» (тіолетамін гідрохлорид та золазепам гідрохлорид по 250 мг у флаконі) в дозі 0,1 мл/100 г, внутрішньоочеревино. Для забезпечення точного введення препарату до латерального шлуночка головного мозку тварин використовували цифрову стереотаксичну систему World Precision Instruments (США) та шприц Гамільтона.

Через 14 днів після втручань усіх тварин одномоментно виводили із експерименту декапітацією під загальною анестезією тіопенталом натрію (120 мг/кг, внутрішньоочеревино). Після цього негайно вилучали головний мозок для подальшої гістологічної обробки із стандартними етапами фіксації (розчин Буена), дегідратації в етанолі з висхідною концентрацією (50–100 %), проведення в розчинах хлороформу із абсолютним спиртом у співвідношеннях 1:2, 1:1 та 2:1 та суміші хлороформу із парапластом. Підготовлені таким чином зразки головного мозку заливали в парапластові («MkCormick», США) блоки, з яких надалі на мікромомі «Microm-325» («MicromCorp.», Німеччина) виготовляли серійні зрізи товщиною 5 мкм у ділянці БМЯ. Топографічне розташування вказаного ядра головного мозку визначали за допомогою стереотаксичного атласу мозку щура [11].

Експресію GFAP у клітинах БМЯ досліджували імунофлюоресцентним методом із використанням одного набору антитіл. Для цього серійні зрізи структури депарафінували в РТ-модулі («ThermoScientific», США) в цитратному буфері (рН 6,0; «ThermoScientific», США), промивали в фосфатному буфері (PBS, рН 7,4) та інкубували в блокуючому буфері («SantaCruz Biotechnology», США) із подальшим нанесенням первинних моноклональних (IgG₂) мишачих антитіл (кат. № sc-33673 GFAP(2E1), Lot G1819). Підготовлені таким чином препарати залишали на ніч у вологій камері при +4°C. На наступний день зразки ретельно відмивали в PBS, після чого обробляли вторинними протимишачими антитілами кон'югованими з FITC (кат. № sc-2010 goat anti-mouse IgG-

FITC, Lot E1216) та інкубували в темній вологій камері при +37°C протягом години. Після цього зрізи ретельно промивали в PBS і поміщали в покривне середовище. Всі антитіла, котрі застосовувались, були виробництва фірми «SantaCruz Biotechnology» (США); їх концентрацію та об'єм підбирали згідно з рекомендаціями виробника [12].

Отримані препарати головного мозку аналізували за допомогою мікроскопа Axio-Imager-M2 («Carl Zeiss», Німеччина), оснащеного цифровою камерою AxioCam-ERc 5s («Carl Zeiss», Німеччина) в ультрафіолетовому діапазоні із застосуванням світлофільтра 38HE. Структуру БМЯ фотографували, після чого збережені мікрофотозображення, аналізували в напівавтоматичному режимі в програмі ImageJ з визначенням таких параметрів:

Щільність імунопозитивних клітин – визначали як кількість GFAP⁺-клітин поділену на площу кадру, з перерахунком на 1 мм². Параметр розраховували за допомогою модуля автоматизованого аналізу частинок «Analyze Particles».

Площа імунопозитивних клітин – визначали у мікрометрах квадратних.

Скоригована загальна клітинна флуоресценція (Corrected Total Cell Fluorescence, CTCF) – визначала рівень накопичення імунореактивного матеріалу в клітині. Показник виражали в умовних одиницях імунофлюоресценції (Од_{іф}) та обчислювали за формулою:

$$CTCF = ID_1 - (S \cdot ID_0)$$

де: ID₁ – інтегрована оптична щільність імунопозитивної клітини (визначалась автоматично в ImageJ); S – площа клітини з позитивною флуоресценцією; ID₀ – інтегрована щільність фону (визначена за клітинами, що не демонстрували флуоресцентного сигналу).

Параметр CTCF використовували як напівкількісну характеристику для оцінки вмісту міченого білка в окремих клітинах.

Кількість відростків астроцитів та їх довжина – визначали за допомогою плагінів «Skeletonize» та «Analyze skeleton» (рис. 1).

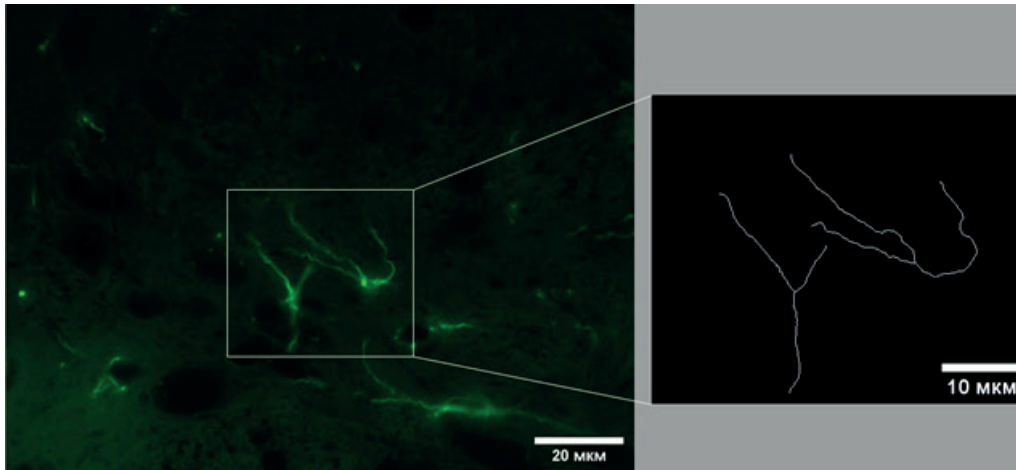


Рис. 1. Демонстрація роботи плагіна «Skeletonize» при аналізі GFAP⁺-клітини в структурі базального магноцелюлярного ядра інтактного щура

Для статистичної обробки цифрових результатів використовували ліцензійне програмне забезпечення (STATISTICA, ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J і EXCEL 10.0 («Microsoft Corp.», США)). Перевірку нормальності їхнього розподілу у вибірці проводили за критерієм Шапіро-Уїлка. Для виявлення достовірності відмінностей результатів досліджень між дослідними групами щурів визначали коефіцієнт t Стьюдента для вибірки з нормальним законом розподілення або критерій Манна-Уїтні (U) для вибірки, результати якої не мають нормального роз-

поділу. Достовірними відмінностями вважалися при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ

У результаті проведеного дослідження встановлено, що щільність GFAP⁺-клітин у структурі БМЯ щурів III групи (з ВШВ колхіцину) була вірогідно вищою порівняно з показником у тварин I групи (інтактних) – на 43,5% та II групи (хибнооперованих) – на 56,3%. Водночас між групами I та II вірогідної різниці за цим параметром не виявлено (рис. 2; 3).

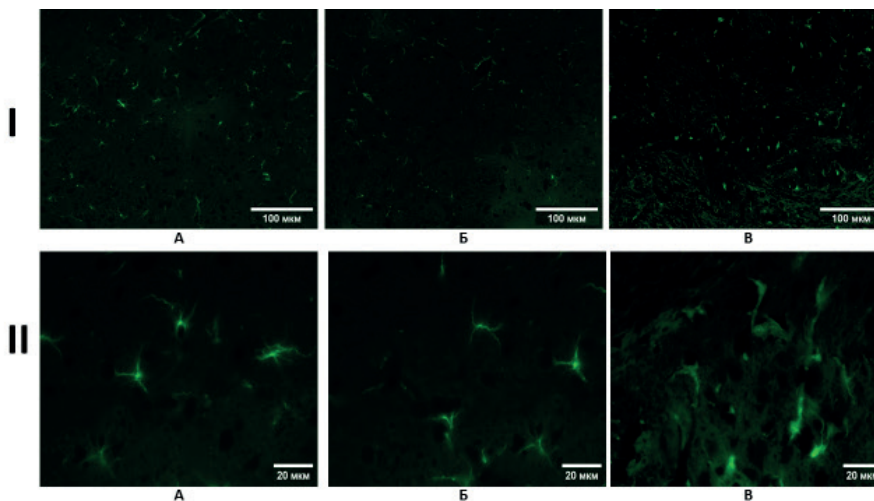


Рис. 2. Експресія GFAP у клітинах базального магноцелюлярного ядра. а – інтактних, б – хибнооперованих, в – після введення колхіцину; I – 100 МКМ, II – 20 мкм

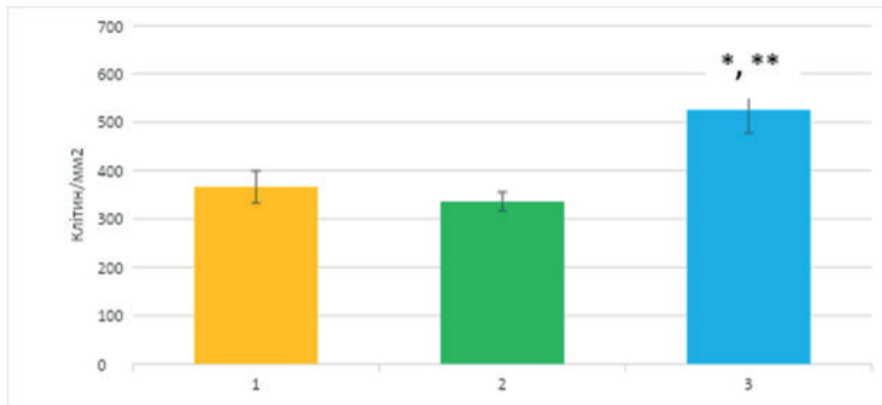


Рис. 3. Щільність GFAP⁺-клітин у структурі базального магноцелюлярного ядра щурів: 1 – інтактних; 2 – хибнооперованих; 3 – тварин із введенням колхіцину; *P < 0,05 порівняно із показником інтактних тварин; **P < 0,05 порівняно із показником хибнооперованих тварин

Вивчення морфологічних показників GFAP⁺-клітин у структурі БМЯ щурів показало відсутність статистично значущої різниці між клітинами I та II груп. Водночас введення колхіцину вірогідно впливало на параметри імунопозитивних клітин порівняно з групами порівняння (I і II). Площа імунопозитивних клітин у БМЯ тварин групи III перевищувала відповідні показники I групи на 183,9% та II – на 254,5%. Значення STCF GFAP⁺-клітин у структурі БМЯ щурів після введення колхіцину перевищувало показник інтактних тварин на 163,6% та хибнооперованих – на 193,4%. При цьому у тварин III групи вірогідно зменшувалася кількість відростків (на 75% порівняно з групами порівняння) та збільшувалася їх

довжина (на 236,9% порівняно з I групою та на 188,8% – з II; таблиця).

ОБГОВОРЕННЯ

Вплив ІЦВ введення колхіцину на реактивність астроцитів вивчався ще в 1990-х роках і описувався як гліоз зі збільшенням експресії GFAP [13]. Згідно з даними цих досліджень для реактивних астроцитів характерні зміни морфології, зокрема гіпертрофія та підвищена експресії цитоскелетних білків (GFAP та віментину). Гіпертрофовані клітини відзначаються збільшеним тілом та видовженими основними відростками з більшою товщиною. Такий гіпертрофічний фенотип зазвичай характеризується вже згаданою

Показники експресії імунопозитивних GFAP-клітин у структурі базального магноцелюлярного ядра щурів (Me[Q1;Q4])

Показники	Інтактні тварини (I група)	Хибнооперовані тварини (II група)	Тварини, яким вводили колхіцин (III група)
Площа, мкм ²	20,36[14,42;27,32]	16,30[10,00;28,57]	57,79[40,37;84,66] *,**
Скоригована загальна клітинна флюоресценція	1568,10[1138,01;2360,99]	1409,00[863,05;2361,03]	4133,91[2506,13; 8464,77]*,**
Кількість відростків	4[3;5]	4[4;5]	1[1;2]*,**
Довжина відростків, мкм	7,20[5,08;11,06]	8,40[5,31;12,83]	24,26 [17,27; 37,59] *,**

*P < 0,05 порівняно із показником інтактних тварин; **P < 0,05 порівняно із показником хибнооперованих тварин.

вище підвищеною імунореактивністю до GFAP [14].

Сучасні методики, що дають змогу оцінювати експресію різних молекул, морфологію клітин та міжклітинні взаємодії, розширюють уявлення про морфологічні фенотипи активованих астроцитів, проте слід зазначити, що це питання досі не є закритим. Так, Sofroniew [15] пропонує розрізняти підтипи реактивних астроцитів, що характеризуються сталими морфологічними та організаційними змінами (проліферативні та непроліферативні), від станів реактивності, які відображають лише тимчасові коливання молекулярної експресії та функцій клітини без зміни її базових морфологічних характеристик. Водночас Shulyatnikova та співавт. [16] стверджують, що наявні нині підходи до поділу реактивних астроцитів на проліферативні і непроліферативні, або нейротоксичні та нейропротекторні, не можуть достатньою мірою описати широкий спектр морфофункціональних трансформацій цих клітин, оскільки вони часто специфічні для певного захворювання. Подібну думку висловлюють також інші автори [17], зазначаючи, що астрогліоз у нервовій тканині та його вплив на функції мозку не є однорідним або стереотипним, а змінюється залежно від контексту: в одних випадках він може виступати як адаптивна й корисна відповідь, тоді як в інших – це дезадаптивний і шкідливий процес. При цьому зауважується, що дедалі більше уваги слід звертати на концепцію астроцитопатій, згідно з якою порушення нормальних функцій астроцитів, їх дегенерація або дисфункціональний/патологічний астрогліоз стають ключовим чинником розвитку неврологічних порушень.

Таким чином, зазначені в нашій роботі морфологічні особливості GFAP⁺-клітин у структурі БМЯ після ВШВ колхіцину за наявними нині уявленнями можна характеризувати як реактивний астрогліоз із астроцитами, які мають гіпертрофічний фенотип та не формують при цьому палісад-

ну архітектуру із утворенням тканинного бар'єра (т.зв. «glial scars») [15]. Описані клітини, окрім класичних ознак реактивності (гіпертрофія, гіперплазія, надмірна експресія GFAP, збільшення довжини відростків), мають характерну особливість – зменшену кількість відростків і відсутність формування палісадної архітектури, як це спостерігається при абсцесі або травмі [18]. Це, відповідно, не призводить до створення класичного бар'єра або відмежування від зони ушкодження (див. рис. 2). Виявлений характер морфологічних змін GFAP⁺-клітин частково узгоджується з даними Liang та співавт. [19], які показали, що специфічний вплив колхіцину на 7-му добу після введення супроводжується формуванням менш розгалуженої астроцитарної структури, зі збільшенням розмірів тіла та ядра клітини, а також появою коротких і потовщених відростків. Натомість на контрольному боці, де вплив обмежувався механічною дією процедури введення фізіологічного розчину, автори спостерігали довгі, інтенсивно розгалужені відростки на тлі типових гіпертрофічних змін астроцитів. Відповідно, встановлені нами морфологічні особливості GFAP⁺-клітин, можуть мати ознаки як специфічної (колхіцинової) так і неспецифічної (вторинної) активації. Водночас зменшення кількості відростків у реактивних астроцитах БМЯ після ВШВ колхіцину можна розглядати як один із факторів додаткового пошкодження нейронів досліджуваної структури, зумовленого втратою астроцитозалежного контролю глутаматергічної передачі та порушенням захоплення глутамату цими клітинами, що призводить до розвитку глутаматної ексайтотоксичності. Тобто на думку Рекну та співавт. [17] описане явище можна характеризувати як астроцитопатію.

ВИСНОВКИ

1. ВШВ колхіцину в структурі БМЯ супроводжується гіпертрофією та гіперплазією астроцитів.

2. Гіпертрофовані астроцити в БМЯ мозку після введення колхіцину відзначаються підвищеною експресією GFAP, більшою довжиною відростків, водночас з їх меншою кількістю порівняно з контрольними щурами.

Робота виконана в рамках науково-дослідної роботи Запорізького державного медико-фармацевтичного університету: «Дисфункція нейро-гуморальної регуляції в патогенезі метаболічних розладів та когнітивних порушень при експериментальній патології». Державний реєстраційний номер N 0123U103051 (2023-2028).

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

M. V. Danukalo, Yu. M. Kolesnyk

MORPHOLOGICAL FEATURES OF ASTROCYTES IN THE BASAL MAGNOCELLULAR NUCLEUS OF THE BRAIN OF RATS FOLLOWING INTRACEREBROVENTRICULAR COLCHICINE ADMINISTRATION

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University; e-mail: danukalo.m.v@zsmu.edu.ua

In assessing astrocyte morphological changes during neurodegenerative conditions, which reflect both their protective and pathological functional aspects, the application of automated image processing software is essential. This approach establishes a reliable foundation for standardizing gliosis evaluation and allows for obtaining precise quantitative data regarding the state of the astrocyte cytoskeleton. In the basal magnocellular nucleus (BMN) – a cluster of cholinergic neurons whose death exacerbates cognitive impairment – such investigations are particularly relevant given the medical and social significance of dementia. Aim: to study the morphological features of cells immunopositive to glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the basal magnocellular nucleus of rats following intracerebroventricular (ICV) administration of colchicine using modern methods of computer image processing. The study was conducted on three groups of Wistar rats (10 animals in each): intact, sham-operated, and animals with colchicine-induced

neurodegeneration. Fourteen days after the intervention, immunofluorescence microscopy of GFAP⁺ cells in the BMN was performed. Using the ImageJ program, the density and area of immunopositive cells, corrected total cell fluorescence (CTCF), the number of astrocyte processes, and their length were evaluated. Compared to intact animals, ICV colchicine administration led to an increase in immunopositive cell density (43.5%), cell area (183.9%), and CTCF (163.6%) in the NBM. Relative to the sham-operated group, these parameters increased by 56.3%, 254.5%, and 193.4%, respectively. At the same time, there was a significant decrease in the number of processes (by 75% compared to the control groups) and an increase in their length (by 236.9% compared to intact rats and by 188.8% compared to sham-operated rats). The data indicate hypertrophy and hyperplasia of astrocytes in the BMN after ICV colchicine administration. Hypertrophied astrocytes are characterized by increased GFAP expression, greater process length, and fewer processes than in control rats.

Key words: astrocytes; GFAP; colchicine; brain; rats.

REFERENCES

1. Ioannou MS, Jackson J, Sheu SH, Chang CL, Weigel AV, Liu H, Pasolli HA, Xu CS, Pang S, Matthies D, Hess HF, Lippincott-Schwartz J, Liu Z. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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 Cerebr Blood Flow Metab*. 2018;39(9):1710-24. doi:10.1177/0271678x18764775.
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.
8. 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.
9. Nazmuddin M, Philippens 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.
 10. 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.
 11. Watson C, Paxinos G. *Rat brain in stereotaxic coordinates.* London: Elsevier Science & Technology Books; 2017.
 12. *Antibodies, Gene Editors, Chemicals & Lab Supplies For Research* [Internet]. Santa Cruz Biotechnology; Доступно на: <https://www.scbt.com/resources/protocols/immunofluorescence-cell-staining>
 13. Aguado F, Ballabriga J, Pozas E, Ferrer I. TrkA immunoreactivity in reactive astrocytes in human neurodegenerative diseases and colchicine-treated rats. *Acta Neuropathol.* 1998;96(5):495-501. doi:10.1007/s004010050924.
 14. Lawal O, Ulloa Severino FP, Eroglu C. The role of astrocyte structural plasticity in regulating neural circuit function and behavior. *Glia.* 2022;70(8):1467-83. doi:10.1002/glia.24191.
 15. 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.
 16. 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.
 17. Pekny M, Pekna M, Messing A, Steinhäuser C, Lee JM, Parpura V, et al. Astrocytes: a central element in neurological diseases. *Acta Neuropathol.* 2016;131(3):323-45. doi:10.1007/s00401-015-1513-1.
 18. Shulyatnikova T, Verkhratsky A. Astroglia in sepsis associated encephalopathy. *Neurochem Res.* 2020;45(1):83-99. doi:10.1007/s11064-019-02743-2.
 19. Liang Y, Li S, Wen C, Zhang Y, Guo Q, Wang H, et al. Intrastriatal injection of colchicine induces striatonigral degeneration in mice. *J Neurochem.* 2008;106(4):1815-27. doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05526.x.

*Матеріал надійшов
до редакції 05.12.2025*