

Аналіз експресії апоптоз-асоційованих білків у базальному магнoцелюлярному ядрі щурів при експериментальній нейродеструкції

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

Ключові слова:

апоптоз, p53, анексин A5, нейродегенерація, нейрони, мозок.

Keywords:

apoptosis, p53, Annexin A5, neurodegeneration, neurons, brain.

Надійшла до редакції /
Received: 29.04.2025

Після доопрацювання /
Revised: 19.06.2025

Схвалено до друку /
Accepted: 30.06.2025

Конфлікт інтересів:
відсутній.

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

Мета роботи – розширити сучасні уявлення про особливості експресії p53 й анексину A5 і характер їхніх кореляційних зв'язків у базальному магнoцелюлярному ядрі (БМЯ) щурів на фоні колхіцин-індукованої нейродегенерації.

Матеріали і методи. Дослідження здійснено на 30 білих самцях щурів лінії Wistar. У 10 тварин змодельовано нейродеструкцію шляхом інтрацеребровентрикулярного (ІЦВ) введення колхіцину. Групи порівняння – інтактні (n = 10) та хібнооперовані тварини (n = 10). Групі хібнооперованих щурів замість колхіцину ІЦВ вводили 0,9 % NaCl. Надалі тварин евтаназували тіопенталом натрію та вилучали головний мозок для імунофлуоресцентного дослідження експресії p53 та анексину A5 (AnnV). Результати опрацьовані статистично.

Результати. Інтенсивність флуоресценції p53⁺-клітин у структурі головного мозку, яку вивчали, вірогідно не відрізнялась у щурів експериментальних груп. Водночас показник CTCF AnnV⁺-клітин у БМЯ щурів з ІЦВ введенням колхіцину вірогідно перевищував відповідний параметр інтактних і хібнооперованих експериментальних тварин – на 24,2 % і 46,9 % відповідно. Оцінювання ступеня колокалізації імуно-реактивного матеріалу до p53 та AnnV з ядерним барвником DAPI в клітинах БМЯ експериментальних щурів дало змогу встановити низьку колокалізацію для обох маркерів. Виявлено статистично значущу різницю за цим показником і для p53⁺-, і AnnV⁺-клітин у дослідженій структурі мозку тварин із груп порівняння порівняно зі щурами з експериментальною нейродеструкцією. Під час оцінювання кількості імунопозитивних клітин на фоні введення колхіцину визначено майже втричі більше p53⁺-клітин порівняно з інтактними і майже у 2,5 раза щодо хібнооперованих тварин. Зафіксовано майже вдвічі більше AnnV⁺-клітин у зразках від експериментальних тварин порівняно з відповідним показником щурів із груп порівняння.

Висновки. У БМЯ щурів з ІЦВ введенням колхіцину порівняно з тваринами з груп порівняння (інтактних та хібнооперованих) встановлено статистично більший показник CTCF AnnV⁺-, але не p53⁺- клітин та вірогідно більшу кількість p53⁺- і AnnV⁺-нейронів у зрізі. У тварин на фоні ІЦВ введення колхіцину порівняно з інтактними та псевдооперованими у БМЯ p53⁺-позитивні клітини характеризувалися вищим ступенем колокалізації імунореактивного матеріалу з DAPI. В експериментальних щурів на фоні ІЦВ введення колхіцину в нейронах БМЯ не виявлено залежності показника інтенсивності флуоресценції AnnV⁺-клітин від ступеня колокалізації DAPI з p53.

Сучасні медичні технології. 2025. Т. 17, № 3(66). С. 163-169

Analysis of apoptosis-associated proteins expression in the basal magnocellular nucleus of rats under experimental neurodegeneration

M. V. Danukalo, Yu. M. Kolesnyk

The aim. To expand current understanding of the expression characteristics of p53 and Annexin A5, as well as the nature of their correlations in the basal magnocellular nucleus (BMN) of rats undergoing colchicine-induced neurodegeneration.

Materials and methods. This study was conducted on 30 male Wistar rats. Neurodegeneration was induced in the group of animals (n = 10) via intracerebroventricular administration of colchicine. The comparison groups included intact rats (n = 10) and sham-operated rats (n = 10), the latter receiving an intracerebroventricular injection of 0.9 % NaCl instead of colchicine. Subsequently, the animals were euthanized with sodium thiopental, and their brains were collected for immunofluorescent analysis of p53 and Annexin A5 expression. The data obtained were analyzed statistically.

Results. The intensity of p53-positive cell fluorescence within the studied brain structure did not significantly differ between experimental groups. In contrast, the corrected total cell fluorescence of Annexin A5-positive cells in the BMN was significantly higher in colchicine-treated rats – by 24.2 % and 46.9 % – compared to intact and sham-operated animals, respectively. Evaluation of the colocalization degree between p53 and Annexin A5 immunoreactive materials with the nuclear stain DAPI in BMN cells demonstrated a low level of colocalization for both markers. However, compared to the neurodegeneration group, the intact and sham-operated animals showed statistically significant differences in this parameter for both p53-positive and Annexin A5-positive cells. Assessing the number of immunopositive cells, colchicine administration resulted in nearly a threefold increase in p53⁺ cells compared to intact animals and an approximately two-and-a-half-fold increase compared to sham-operated animals. Regarding Annexin A5⁺ cells, their number nearly doubled compared to both comparison groups. Colchicine treatment also led to a nearly threefold increase in p53⁺ cells and a twofold increase in Annexin A5⁺ cells compared to controls.

Conclusions. In the basal magnocellular nucleus of rats subjected to intracerebroventricular colchicine administration, a statistically significant increase in corrected total cell fluorescence values for Annexin A5-positive cells – but not for p53-positive cells – was observed compared to intact and sham-operated animals. Additionally, there was a significant increase in the number of both p53-positive and Annexin A5-positive neurons. Moreover, p53-positive cells in the BMN of colchicine-treated rats exhibited a higher degree of colocalization with DAPI compared to the comparison groups. Importantly, no correlation was found between the fluorescence intensity of Annexin A5-positive cells and the degree of DAPI colocalization with p53 in the neurons of the BMN under conditions of colchicine-induced neurodegeneration.

Modern medical technology. 2025;17(3):163-169

Базальне магноцелюлярне ядро (БМЯ), або ядро Мейнєрта – кластер холінергічних нейронів базальних відділів переднього мозку (групи Ch4), що забезпечує насамперед ацетилхолінову іннервацію кори головного мозку та амігдали [1,2]. Доведено, що ціла група нейродегенеративних захворювань, на перший погляд етіопатогенетично різних, як-от хвороба Альцгеймера [3], хвороба Паркінсона [4], деменція з тільцями Леві [5], хронічна травматична енцефалопатія [6], асоціюється з вираженою загибеллю нейронів у БМЯ. Внаслідок цього формується висхідна холінергічна деаферентація кори головного мозку з погіршенням когнітивних функцій, що є однією з ознак прогресування названих хвороб. Тому актуальним залишається дослідження механізмів і шляхів загибелі нейронів у БМЯ як потенційних терапевтичних мішеней для відтермінування розвитку глибокого когнітивного дефіциту.

Встановлено, що спільною рисою названих нейродегенеративних хвороб є ураження цитоскелета нейронів із супутнім порушенням аксонального транспорту. Згідно з висновками, що зробили E. G. Jorda et al., патохімічні шляхи, залучені до загибелі цих клітин, вивчено недостатньо. Однією з причин цього, на думку авторів, є відсутність експериментальних моделей, які давали б змогу здійснювати відповідні дослідження. Тому науковці запропонували використовувати для цього колхіцин – токсин, що призводить до ушкодження цитоскелета та ініціює процес нейроапоптозу [7].

Зауважимо, що загалом молекулярні шляхи цього виду клітинної загибелі доволі детально описано в науковій літературі, а отже вже сформовано певні уявлення про його ініціацію, перебіг і завершення. У низці аналітичних праць висвітлено численні міжмолекулярні взаємодії проапоптотичних (BIM, PUMA, BID, BMF, BAD, HRK, BIK, NOXA, каспази 3,7,8,9) та антиапоптотичних (BCL-2, BCL-XL, MCL-1, BCL-W, A1/BFL1) білків. Це свідчить про надзвичайну складність реалізації цього процесу і в разі природної загибелі «клітини, що відпрацювала», і в разі дії на здорову клітину пошкоджувального фактора сублетальної інтенсивності [8].

Водночас для окремих факторів, що беруть участь в апоптозі нейронів, зокрема p53 та анексин A5 (AnnV), підтверджено нейропротективну роль. Так, функції p53 виходять за межі регуляції клітинного циклу й ініціації апоптозу. Цей білок як фактор транскрипції може регулювати експресію численних генів, що беруть участь у різних клітинних процесах, зокрема відновленні ДНК й аутофагії [9,10,11].

Для AnnV також описано нейропротективну властивість, яку дослідники пов'язують з антикоагулянтною дією (шляхом зв'язування фосфатидилсерину з наступним запобіганням міжклітинній адгезії) [12], а також протизапальні й антиоксидантні ефекти (через пригнічення поляризації мікрогліальних M1 клітин і стимуляції антиоксидантного шляху Nrf2/HO-1). Крім того, для цього білка встановлено взаємодію з амілоїдогенними білками, що знижувало їхню токсичність при нейродегенеративних захворюваннях [13]. Функціональна спрямованість і p53, і AnnV істотно залежить від їхньої субклітинної локалізації. Ба більше, показано, що ядерна транслокація анексинів може призводити до їхньої взаємодії з ядерним p53 як кофактор та ініціювати апоптоз. Надалі встановили, що окремі анексини можуть специфічно зв'язуватися з p53-асоційованими сайтами внутрішнього входу рибосом (IRES), регулюючи в такий спосіб трансляцію цього білка [14].

Зауважимо, що проблема взаємодії цих важливих білків-регуляторів клітинного циклу залишається предметом багатьох досліджень, що дадуть змогу відкрити додаткові фармакологічні мішені для корекції нейродегенеративних захворювань.

Мета роботи

Розширити сучасні уявлення про особливості експресії p53 та анексину A5 і характер їхніх кореляційних зв'язків у базальному магноцелюлярному ядрі щурів на фоні колхіцин-індукованої нейродегенерації.

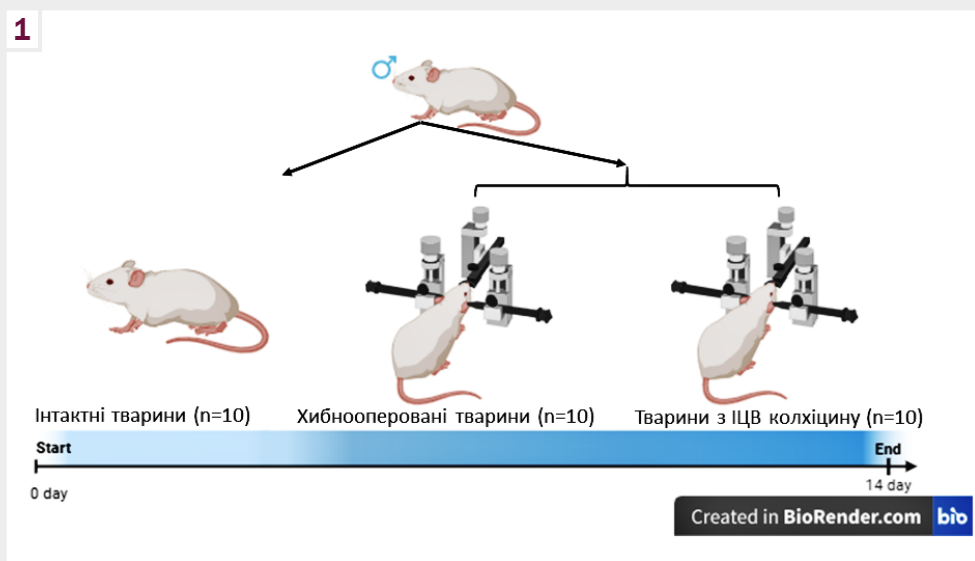


Рис. 1. Дизайн дослідження.

Матеріали і методи дослідження

Для експерименту відібрано групу з 30 самців щурів лінії Wistar віком 11–12 місяців, маса тіла – 250–350 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію Навчально-наукового медико-лабораторного центру Запорізького державного медико-фармацевтичного університету. Таким чином забезпечено контроль щодо зовнішніх факторів, що могли б вплинути на результати дослідження. Усі процедури здійснили відповідно до локальних і міжнародних протоколів з біоетики, як-от «Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2001 рік), що узгоджені з Директивою 2010/63 ЄС Європейського парламенту та Ради «Про захист прав тварин, що використовуються в наукових цілях» від 22 вересня 2010 року). Комісія з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету дала дозвіл на здійснення дослідження (протокол від 15 березня 2023 року № 2).

Експериментальних тварин поділили на 2 групи. У першій групі – 10 інтактних тварин. Другу групу ($n = 20$) поділили на 2 підгрупи: 2a ($n = 10$) – група контролю, яким під анестезією «Телазолом» інтрацеребровентрикулярно (ІЦВ) вводили фізіологічний розчин NaCl (37 °C), 2б ($n = 10$), яким під таким самим наркозом ІЦВ вводили розчин колхіцину (37 °C) (рис. 1).

Через 14 днів тварин виведено з експерименту шляхом одномоментної декапітації під знеболюванням «Тіопенталом» (тіопентал натрію 120 мг/кг внутрішньочеревинно). Для наступного гістологічного оцінювання мозок фіксували, дегідрували в серії спиртів концентрації, що зростає, потім перекладали послідовно в суміш спирту та хлороформу, чистий хлороформ і хлороформ з парапластом. Після цього препарати заливали в парапласт (MkCormick, США). Серійні зрізи завтовшки 5 мкм отримано на мікромомі Microm-325 (MicromCorp., Німеччина). Топографічну орієнтацію зрізів здійснено за стереотаксичним атласом мозку щура (рис. 2) [15].

Особливості експресії p53 і AnnV у нейронах БМЯ вивчено імунофлуоресцентним методом. Для цього гістологічні зрізи депарафінували, регідрували та демаскували в РТ-модулі (ThermoScientific, США) у цитратному буферному розчині (pH = 6,0) (ThermoScientific, США), інкубували в блокуючому буфері (SantaCruz Biotechnology, USA). Після цього нанесено відповідні моноклональні мишачі антитіла, кон'юговані з FITC (SantaCruz Biotechnology, USA) відповідно до інструкції виробника [16]. Для флуоресцентної візуалізації ядер клітин БМЯ застосовано DAPI (SantaCruz Biotechnology, USA).

Імунофлуоресцентне дослідження здійснили в ультрафіолетовому спектрі збудження на мікроскопі Axiolmager-M2 («Carl Zeiss», Німеччина) з камерою AxioCam-ERc 5s («Carl Zeiss», Німеччина). Мікрофотографії проаналізовано в ImageJ, обраховано такі показники:

– скориговану загальну клітинну флуоресценцію (corrected total cell fluorescence, CTCF), що характеризує вміст імунореактивного матеріалу (ІРМ) у клітині. Цей показник наведено в умовних одиницях імунофлуоресценції ($ОД_{\text{ф}}$), обраховано за формулою: $CTCF = ID_1 - (S \times ID_0)$, де ID_1 – показник інтегрованої щільності імунопозитивної клітини, обрахований програмою автоматично, S – площа імунопозитивної клітини, ID_0 – показник інтегрованої щільності фону (клітини, що не мали видимої флуоресценції);

– кількість імунопозитивних клітин у зрізі мозку в зоні інтересу.

Колокалізацію ІРМ до p53 та AnnV з DAPI також оцінено за допомогою програми ImageJ на плагіні JACOP з визначенням коефіцієнта кореляції Пірсона (r), що характеризує ступінь лінійної залежності між інтенсивністю сигналів у двох зображеннях. Значення коефіцієнта, близькі до +1, свідчать про високий ступінь колокалізації, а значення, що близькі до -1 або 0, вказують на відсутність або негативну кореляцію відповідно [17].

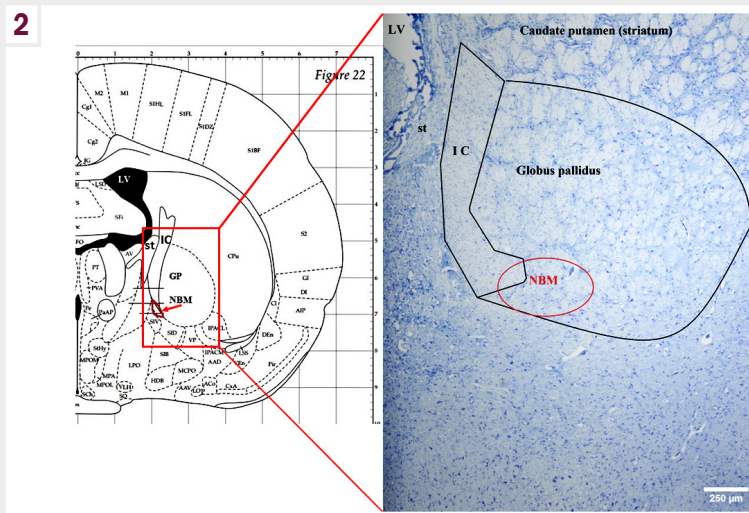


Рис. 2. Топографічне розташування нейронів у БМЯ мозку щура.

А: фрагмент стереотаксичного атласу мозку щура [15]; **Б:** оригінальне фото, забарвлення за Ніслем; **NBM:** базальне магноцелюлярне ядро (nucleus basalis magnocellularis); **IC:** внутрішня капсула (internal capsule); **st:** кінцева смужка (stria terminalis); **LV:** бічний шлуночок (lateral ventricle).

Експериментальні дані опрацьовано з використанням пакета прикладних і статистичних програм Statistica (ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J) і Microsoft Excel 10.0 (Microsoft Corp., США). Відповідність даних із вибірки закону нормального розподілу перевірено за критерієм Шапіро–Вілکا. Для оцінювання достовірності відмінностей показників, що встановлені в експериментальних групах щурів та відповідали закону нормального розподілу даних, використано коефіцієнт Стюдента (t); якщо розподіл даних не відповідав нормальному закону, застосовано критерій Манна–Вітні (U). Для кореляційного аналізу обраховано коефіцієнти кореляції Кендала. Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати

У результаті дослідження визначено особливості експресії p53 та AnnV в нейронах БМЯ на фоні ІЦВ введення колхіцину. Так, встановлено, що інтенсивність флуоресценції p53⁺-клітин у структурі головного мозку, яку вивчали, вірогідно не відрізнялась у щурів експериментальних груп. Показник CTCF AnnV⁺-клітин у БМЯ щурів з ІЦВ введенням колхіцину вірогідно перевищував відповідний параметр інтактних і хібнооперованих експериментальних тварин – на 24,2 % та 46,9 % відповідно. Зауважимо, що статистично значущі відмінності між інтактними і хібнооперованими тваринами за цим показником не зафіксовано (табл. 1).

У результаті оцінювання ступеня колокалізації IPM до p53 та AnnV із ядерним барвником DAPI в клітинах БМЯ експериментальних щурів встановлено достовірно вищу медіану коефіцієнта кореляції Пірсона і у p53⁺, і в AnnV⁺-клітинах БМЯ тварин з ІЦВ введенням колхіцину щодо інтактних і хібнооперованих щурів. Разом із тим, інтактні й хібнооперовані щури за цим показником статистично віро-

гідно не відрізнялися. В імунопозитивних клітинах БМЯ на фоні введення колхіцину рівень колокалізації DAPI із IPM до p53 наближався до середнього, а для AnnV залишався низьким (табл. 2).

Додатково здійснено кореляційний аналіз у групі тварин з ІЦВ введенням колхіцину – між показником CTCF AnnV⁺-клітин і ступенем колокалізації DAPI з IPM до p53 (r). Цей аналіз здійснено для оцінювання можливості впливу зміни субклітинної локалізації p53 на ступінь експресії AnnV у нейронах БМЯ цих щурів. Однак достовірний зв'язок не виявлено (дані не наведено).

Оцінювання кількості p53⁺- та AnnV⁺-клітин у БМЯ у зрізі головного мозку щурів експериментальних груп дало змогу встановити їхню вірогідно більшу кількість у щурів з ІЦВ введенням колхіцину порівняно з інтактними та хібнооперованими тваринами. Визначено майже втричі більше p53⁺-клітин порівняно з інтактними і майже у 2,5 раза щодо хібнооперованих тварин. Зафіксовано також майже дворазове збільшення AnnV⁺-клітин щодо обох груп порівняння. Зауважимо, що кількість імунопозитивних клітин до обох пептидів у групах інтакту та хібнооперованих щурів зіставна, статистично не відрізнялася (табл. 3).

Обговорення

У результаті дослідження встановлено вплив ІЦВ введення колхіцину на експресію апоптоз-асоційованих білків (p53 та AnnV) у БМЯ експериментальних щурів. У попередніх дослідженнях, що здійснені E. G. Jordà et al., показано особливості впливу колхіцину на нейрони, зокрема те, що цей токсин не пошкоджує ДНК, а отже не спричиняє повторного входження в клітинний цикл, не потребує прямої активації репаративних процесів і пов'язаних із ними білків, у тому числі й p53 [7].

Таблиця 1. Показники CTCF клітин, імунопозитивних до апоптоз-асоційованих білків, у БМЯ головного мозку щурів, Ме [Q1; Q4]

Експериментальна група	p53 ⁺ -клітини, Од _ф	AnnV ⁺ -клітини, Од _ф
Інтактні тварини, n = 10	6137,47 [4251,36; 7880,03]	3239,50 [1889,31; 4900,34]
Хібнооперовані тварини, n = 10	4860,98 [3065,88; 7309,35]	2739,18 [1956,03; 3902,76]
Тварини з ІЦВ введенням колхіцину, n = 10	5212,23 [3134,24; 7777,14]	4024,89 [2694,63; 6374,05] ^{1,2}

1: вірогідні відмінності показників ($p_U < 0,05$) щодо групи інтактних тварин; 2: вірогідні відмінності показників ($p_U < 0,05$) щодо групи хібнооперованих тварин.

Таблиця 2. Ступінь колокалізації DAPI з IPM до p53 та AnnV в імунопозитивних клітинах БМЯ головного мозку щурів експериментальних груп, Ме [Q1; Q4]

Експериментальна група	p53 ⁺ -клітини, г	AnnV ⁺ -клітини, г
Інтактні тварини, n = 10	0,27 [0,15; 0,46]	0,13 [0,09; 0,22]
Хібнооперовані тварини, n = 10	0,37 [0,25; 0,48]	0,16 [0,08; 0,29]
Тварини з ІЦВ введенням колхіцину, n = 10	0,45 [0,28; 0,57] ^{1,2}	0,22 [0,10; 0,41] ^{1,2}

1: вірогідні відмінності показників ($p_U < 0,05$) щодо групи інтактних тварин; 2: вірогідні відмінності показників ($p_U < 0,05$) щодо групи хібнооперованих тварин.

Таблиця 3. Кількість клітин, імунопозитивних до апоптоз-асоційованих білків у зрізі БМЯ головного мозку щурів, Ме [Q1; Q4]

Експериментальна група	p53 ⁺ -клітини	AnnV ⁺ -клітини
Інтактні тварини, n = 10	3 [3; 4]	3,5 [3; 4]
Хібнооперовані тварини, n = 10	4 [2; 5]	3 [2,5; 4,5]
Тварини з ІЦВ введенням колхіцину, n = 10	10 [8; 14] ^{1,2}	6 [4; 13] ^{1,2}

1: вірогідні відмінності показників ($p_U < 0,05$) щодо групи інтактних тварин; 2: вірогідні відмінності показників ($p_U < 0,05$) щодо групи хібнооперованих тварин.

Це спостереження підтверджено тим, що інгібітори PARP-1 (Poly(ADP-ribose) polymerase 1) – білка, що активується при пошкодженні ДНК, – майже не мали впливу на перебіг колхіцин-індукованого апоптозу в культурі гранулярних нейронів мозочка [7].

Хоча ці дані пояснюють, чому під час нашого дослідження не виявлено статистичні відмінності за показником CTCF p53⁺-клітин у БМЯ між тваринами із груп порівняння та після ІЦВ введення колхіцину, все ж не можна повністю відкидати роль p53 у колхіцин-індукованій нейродеструкції. Зауважимо, що попередні експерименти здійснено на чистих нейрональних культурах, де не було GFAP⁺-клітин (маркер, що експресується переважно астроглією), а отже було виключено можливу роль активованих астроцитів, які продукують цілу низку речовин (активні форми кисню, оксид азоту, матричні металопротеїнази, а також цитокіни, як-от фактор некрозу пухлин α), й окремі з них можуть активувати p53 у нейронах [18].

Інший факт, що свідчить про залученість p53 до колхіцин-індукованій нейродеструкції, – регуляція активності цього протеїна різними посттрансляційними модифікаціями, і ключова з них – фосфорилування, що запобігає убівітуванню цього білка, сприяє його стабілізації та наступній ядерній транслокації [11].

Показано, що вплив колхіцину на нейрони призводить до активації циклін-залежної кінази (cdk5), що бере участь у процесах гіперфосфорилування, зокрема і p53 [7, 11]. Зауважимо, що активність cdk5 залежить від концентрації йонів кальцію в клітині [19], і це ще раз акцентує на важливості

врахування ролі мікрооточення та ексайтотоксичності під час вивчення колхіцин-індукованої нейродеструкції, а також визначає обмеження, з якими асоційовані *in vitro* дослідження у цьому напрямі. Отже, отримані в результаті дослідження дані показали, що колхіцин все ж впливає на активність p53 в експериментах *in vivo*, разом із тим змінюючи його внутрішньоклітинну локалізацію в нейронах БМЯ експериментальних щурів.

Крім того, встановлено, що зміна субклітинної локалізації p53 не впливає на ступінь експресії AnnV у нейронах БМЯ експериментальних щурів з ІЦВ введенням колхіцину. Можливо, функціональна залежність між p53 та анексинами характерна для клітин із нестабільним клітинним циклом (оскільки власне і була описана для клітинної лінії а549 аденокарциноми легень людини) [14]. При цьому ступінь колокалізації IPM до AnnV із DAPI у нейронах БМЯ у тварин на фоні внутрішньошлуночкового введення колхіцину залишався низьким.

Втім, збільшення кількості імунопозитивних до AnnV клітин на фоні експресії цього білка, що переважала, в нейронах БМЯ у цих тварин порівняно зі щурами з груп порівняння може свідчити про те, що введення нейротоксину призводить до загибелі нейронів шляхом не тільки апоптозу, але й некрозу. Так, для AnnV описано здатність зв'язуватися з некротизованими клітинами [20].

Ще раніше K. Sennvik et al. на первинній культурі нейронів кори головного мозку щурів показали, що через добу після додавання до культури колхіцину кількість апоптотичних

нейронів переважала над некротизованими, а через 48 годин популяція нейронів, які загинули шляхом апоптозу та некрозу, вивільнювалась [21].

Отже, на підставі результатів дослідження припускаємо, що внаслідок ІЦВ введення колхіцину в БМЯ формується гетерогенний пул клітин, які експресують p53 та AnnV. Це підтверджено відсутністю кореляційних зв'язків між показниками експресії цих маркерів, а також безпосередньо різним характером їхньої експресії. Можливо, це пов'язано з різними формами клітинної загибелі, що виникає в нейронах БМЯ на фоні введення нейротоксину з наступним порушенням гістоархітеконики, виявлене в попередніх дослідженнях [22,23].

Висновки

1. У базальному магноцелюлярному ядрі щурів з інтрацеребровентрикулярним введенням колхіцину порівняно з тваринами з груп порівняння (інтактними та хібнооперованими) встановлено статистично більший показник STCF AnnV⁺-клітин (але не p53⁺-клітин) і вірогідно більшу кількість p53⁺-, і AnnV⁺-нейронів у зрізі.

2. У тварин на фоні інтрацеребровентрикулярного введення колхіцину порівняно з інтактними та псевдооперованими щурами у базальному магноцелюлярному ядрі p53⁺-позитивні клітини характеризуються більшим ступенем колокалізації імунореактивного матеріалу з DAPI.

3. В експериментальних щурах на фоні інтрацеребровентрикулярного введення колхіцину в нейронах базального магноцелюлярного ядра не виявлено залежність показника інтенсивності флуоресценції AnnV⁺-клітин від ступеня колокалізації DAPI з p53.

Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету: «Дисфункція нейро-гуморальної регуляції в патогенезі метаболічних розладів та когнітивних порушень при експериментальній патології», державний реєстраційний № 0123U103051 (2023–2028).

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, 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, Honored Science and Technology Figure of Ukraine.



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

References

- Oswald MJ, Han Y, Li H, Marashli S, Oglo DN, Ojha B, et al. Cholinergic basal forebrain nucleus of Meynert regulates chronic pain-like behavior via modulation of the prelimbic cortex. *Nat Commun.* 2022;13(1):5014. doi: [10.1038/s41467-022-32558-9](https://doi.org/10.1038/s41467-022-32558-9)
- 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](https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107484)
- Mieling M, Meier H, Bunzeck N. Structural degeneration of the nucleus basalis of Meynert in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease – Evidence from an MRI-based meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2023;154:105393. doi: [10.1016/j.neubiorev.2023.105393](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105393)
- Wilson H, de Natale ER, Politis M. Nucleus basalis of Meynert degeneration predicts cognitive impairment in Parkinson's disease. *Handb Clin Neurol.* 2021;179:189-205. doi: [10.1016/B978-0-12-819975-6.00010-8](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819975-6.00010-8)
- Schumacher J, Taylor JP, Hamilton CA, Firbank M, Cromarty RA, Donaghy PC, et al. In vivo nucleus basalis of Meynert degeneration in mild cognitive impairment with Lewy bodies. *Neuroimage Clin.* 2021;30:102604. doi: [10.1016/j.nicl.2021.102604](https://doi.org/10.1016/j.nicl.2021.102604)
- Mufson EJ, Kelley C, Perez SE. Chronic traumatic encephalopathy and the nucleus basalis of Meynert. *Handb Clin Neurol.* 2021;182:9-29. doi: [10.1016/B978-0-12-819973-2.00002-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819973-2.00002-2)
- Jordà EG, Verdager E, Jimenez A, Aribá SG, Allgaier C, Pallàs M, et al. Evaluation of the neuronal apoptotic pathways involved in cytoskeletal disruption-induced apoptosis. *Biochem Pharmacol.* 2005;70(3):470-80. doi: [10.1016/j.bcp.2005.04.036](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.04.036)
- Moujalled D, Strasser A, Liddell JR. Molecular mechanisms of cell death in neurological diseases. *Cell Death Differ.* 2021;28(7):2029-44. doi: [10.1038/s41418-021-00814-y](https://doi.org/10.1038/s41418-021-00814-y)
- Hernández Borrero LJ, El-Deiry WS. Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021;1876(1):188556. doi: [10.1016/j.bbcan.2021.188556](https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188556)
- Clark JS, Kaye R, Abate G, Uberti D, Kinnon P, Picciarelli S. Post-translational Modifications of the p53 Protein and the Impact in Alzheimer's Disease: A Review of the Literature. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:835288. doi: [10.3389/fnagi.2022.835288](https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.835288)
- Almeida A, Sánchez-Morán I, Rodríguez C. Mitochondrial-nuclear p53 trafficking controls neuronal susceptibility in stroke. *IUBMB Life.* 2021;73(3):582-91. doi: [10.1002/iub.2453](https://doi.org/10.1002/iub.2453)
- Dong X, Liu W, Shen Y, Houck K, Yang M, Zhou Y, et al. Anticoagulation targeting membrane-bound anionic phospholipids improves outcomes of traumatic brain injury in mice. *Blood.* 2021;138(25):2714-26. doi: [10.1182/blood.2021011310](https://doi.org/10.1182/blood.2021011310)
- Bartolome F, Krzyzanowska A, de la Cueva M, Pascual C, Antequera D, Spuch C, et al. Annexin A5 prevents amyloid-β-induced toxicity in choroid plexus: implication for Alzheimer's disease. *Sci Rep.* 2020;10(1):9391. doi: [10.1038/s41598-020-66177-5](https://doi.org/10.1038/s41598-020-66177-5)
- Sharathchandra A, Lal R, Khan D, Das S. Annexin A2 and PSF proteins interact with p53 IRES and regulate translation of p53 mRNA. *RNA Biol.* 2012;9(12):1429-39. doi: [10.4161/rna.22707](https://doi.org/10.4161/rna.22707)
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in stereotaxic coordinates.* London: Elsevier, Academic Press; 2018.
- Santa Cruz Biotechnology. Immunofluorescence Cell Staining [Internet]. www.scbt.com. Available from: <https://www.scbt.com/resources/protocols/immunofluorescence-cell-staining>
- Aditya V, Tambe V, Yue W. Development of a Novel Automated Workflow in Fiji ImageJ for Batch Analysis of Confocal Imaging Data to Quantify Protein Colocalization Using Manders Coefficient. *Bio Protoc.* 2025;15(7):e5285. doi: [10.21769/BioProtoc.5285](https://doi.org/10.21769/BioProtoc.5285)
- Murray TE, Richards CM, Robert-Gostlin VN, Bernath AK, Lindhout IA, Klegeris A. Potential neurotoxic activity of diverse molecules released by astrocytes. *Brain Res Bull.* 2022;189:80-101. doi: [10.1016/j.brainres-bull.2022.08.015](https://doi.org/10.1016/j.brainres-bull.2022.08.015)
- Toro-Fernández LF, Zuluaga-Monares JC, Saldarriaga-Cartagena AM, Cardona-Gómez GP, Posada-Duque R. Targeting CDK5 in Astrocytes Promotes Calcium Homeostasis Under Excitotoxic Conditions. *Front Cell Neurosci.* 2021;15:643717. doi: [10.3389/fncel.2021.643717](https://doi.org/10.3389/fncel.2021.643717)
- Li YZ, Wang YY, Huang L, Zhao YY, Chen LH, Zhang C. Annexin A protein family in atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* 2022;531:406-17. doi: [10.1016/j.cca.2022.05.009](https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.05.009)

21. Sennvik K, Benedikz E, Fastbom J, Sundström E, Winblad B, Ankarcrona M. Calcium ionophore A23187 specifically decreases the secretion of beta-secretase cleaved amyloid precursor protein during apoptosis in primary rat cortical cultures. *J Neurosci Res*. 2001 Mar 1;63(5):429-37. doi: [10.1002/1097-4547\(20010301\)63:5<429::AID-JNR1038>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1097-4547(20010301)63:5<429::AID-JNR1038>3.0.CO;2-U)
22. Danukalo MV, Kolesnyk YM. [Pathogenetic features of iNOS expression in the basal magnocellular nucleus of rats against the background of experimental neurodegeneration]. *Pathologia*. 2024;21(2):93-9. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1237.2024.2.303264](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2024.2.303264)
23. 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. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1210.2024.5.309732](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2024.5.309732)