

**ГЛІАЛЬНИЙ ФІБРИЛЯРНИЙ КИСЛИЙ ПРОТЕЇН (ГФКП):  
ДО 45-РІЧЧЯ ВІДКРИТТЯ**

*Огляд присвячується світлій пам'яті професора  
Володимира Олександровича Березіна (1946–2016) –  
засновника української школи дослідників астроглії  
та її специфічних протеїнів*

Надійшов 23.02.16

Гліальний фібрилярний кислий протеїн (ГФКП) – головний компонент проміжних філаментів цитоскелета астроцитів. За більш ніж чотири десятиріччя фундаментальних та прикладних досліджень ГФКП набув статусу класичного маркера астроглії. В огляді проаналізовано та систематизовано дані літератури стосовно особливостей структурної організації молекул даного протеїну, його ізоморфного складу та змін експресії гена ГФКП у перебігу онтогенезу ЦНС; описано ієрархічний принцип формування гліальних проміжних філаментів. Подано інформацію про ключові реакції посттрансляційної модифікації ГФКП та їх роль у функціонуванні згаданого протеїну. На підставі сучасних даних літератури обмежений протеоліз ГФКП розглянуто не лише як стадію катаболічних перетворень цього протеїну, але й як механізм регуляції динамічних властивостей цитоскелета в клітинах астроглії. Вважається, що головною функцією ГФКП є підтримка морфології астроцитів, забезпечення міграції зазначених клітин та стабільності їх відростків, але все більше даних вказують на залучення цього протеїну до процесів клітинного сигналіngu та модуляції нейрон-гліальної взаємодії. ГФКП у складі проміжних філаментів цитоскелета відіграє ключову роль у розвитку реактивного астроцитозу – типової відповіді ЦНС на ушкодження. Надлишкова експресія ГФКП або пригнічення його біосинтезу корелюють зі змінами функціональної активності астроцитів, пов'язаними з пошкодженням нервової тканини, метаболічними порушеннями та розвитком нейродегенеративних станів. Кількісне визначення ГФКП, продуктів його розщеплення, а також анти-ГФКП аутоантитіл у біологічних рідинах використовується як вагомий критерій у діагностуванні нейродегенеративних станів. «Неканонічні» функції ГФКП, які він виконує в «неастроцитарних» клітинах, вказують на функціональний поліморфізм цього протеїну та потребують подальшого дослідження.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гліальний фібрилярний кислий протеїн (ГФКП), астроцити, цитоскелет, проміжні філаменти (ПФ), реактивний астроцитоз.

**ВСТУП**

Гліальний фібрилярний кислий протеїн – ГФКП (glial fibrillary acidic protein, GFAP) – мономерна протеїнова субодиниця проміжних філаментів

(ПФ) цитоскелета астроцитів. З огляду на те, що деякі клітини інших гістотипів у принципі здатні синтезувати ГФКП, але лише в обмежених кількостях, цей протеїн використовується як досить специфічний молекулярний маркер астроглії. ГФКП відноситься до III класу протеїнів ПФ, в який входять також віментин, десмін і периферин [1, 2]. Відкриття ГФКП Енгом на початку 70-х років XX сторіччя ознаменувало початок нової ери в до-

---

<sup>1</sup> Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ (Україна).<sup>2</sup> Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара (Україна).

Ел. пошта: artem\_tykhomyrov@ukr.net (А. О. Тихомиров).

слідженнях нейрофізіології глії [3]. Саме завдяки відкриттю даного астроцитарного маркера та отриманню відповідних антитіл стали можливими детальне вивчення внутрішньоклітинних процесів в астроцитах, візуалізація та оцінка функціонального стану цих зіркоподібних клітин мозку. Перші дослідження клітинних функцій ГФКП-вмісних філаментів сприяли формуванню парадигми про їх провідну роль у модуляції рухливості астроцитів, забезпеченні специфіки морфології вказаних клітин та стабільності астроцитарних відростків [4, 5]. Проте з часом уявлення про функціональне значення згаданих структур значно розширилися; стало зрозумілим, що роль ГФКП у функціонуванні астроцитів не обмежується виключно структурно-інтегративними аспектами. Унікальні фізико-хімічні властивості ГФКП визначають здатність його полімерів до асоціації з іншими цитоскелетними компонентами; при цьому різні міжбілкові взаємодії регулюються на рівні посттрансляційних модифікацій [6, 7]. Молекулярне клонування гена ГФКП у 1985 р. відкрило нові перспективи в дослідженнях функціональної специфіки даного протеїну [8]. Створення тварин, нокаутованих за геном ГФКП, та інші молекулярно-генетичні підходи дозволили встановити, що протеїн ПФ астроцитів є активним модулятором цілої низки процесів, включаючи нейрон-гліальну комунікацію, модуляцію синаптичної передачі, мієлінізацію нервових волокон, формування архітектури білої речовини, підтримку цілісності гемато-енцефалічного бар'єра (ГЕБ) [1, 2, 6].

У ЦНС хребетних після пошкоджень, викликаних травматизацією, нейродегенеративними захворюваннями, генетичними розладами та/або хімічною інтоксикацією, астроцити демонструють досить чіткі реакції, а їх типова відповідь отримала назву «астроцитоз» [9, 10]. У реактивних астроцитів спостерігаються інтенсивна проліферація, гіпертрофія,

надлишкова експресія ГФКП та посилений фібрилогенез. Скупчення реактивних астроцитів, клітинні тіла та відростки яких заповнені ГФКП-вмісними філаментами, формують у нервовій тканині захисне утворення – гліальний рубець. Доведено, що варіації профілю експресії ГФКП, а також інтенсивність його катаболічних перетворень корелюють зі змінами функціональної активності клітин астроглії [11, 12]. З урахуванням цього ГФКП є потужним та інформативним показником перебігу широкого кола нейродегенеративних розладів, спричинених різними несприятливими впливами або хворобами [13]. Імунохімічна детекція ГФКП використовується для ідентифікації типу пухлин гліального походження [14]. Результати аналізу аутоантитіл до ГФКП у біологічних рідинах організму становлять значну діагностичну цінність при виявленні аутоімунних астроцитопатій та визначенні ступеня тяжкості травматизації нервової тканини [15].

Протягом останніх десятиріч у світі спостерігається справжній бум у сфері досліджень цього протеїну, що спричинено необхідністю з'ясування широкого кола питань, пов'язаних з вивченням структурно-функціональних особливостей ГФКП та перспективами прикладного застосування отриманих даних. На сьогодні кількість публікацій, присвячених відповідним питанням, сягнула 30 тисяч і продовжує стрімко зростати (див. таблицю). На жаль, у вітчизняній літературі в останні роки спостерігається певний дефіцит публікацій, які б мали за мету узагальнити фактичний матеріал з цього питання. Отже, в нашому огляді зроблено спробу систематизації та критичного аналізу існуючих на сьогодні даних літератури, а також результатів власних експериментів, які стосуються локалізації ГФКП. Розглядаються структурні особливості його молекули, синтез ГФКП та принципи зборки філаментів, обмін ГФКП, включаючи його ковалентні посттрансляційні модифікації та протеоліз, функції

#### Кількість цитувань за запитом “Glial fibrillary acidic protein” (або “GFAP”) у Pubmed Search

Період (роки)	“Glial fibrillary acidic protein”	“GFAP”	Загалом
2011–2016	4358...	3842...	8200...
2010–2006	3911	2698	6609
2005–2001	3403	1919	5322
2000–1996	2664	1577	4241
1995–1991	2398	1359	3757
1990–1986	1565	850	2415
1985–1981	714	278	992
1980–1972	116	23	139

ГФКП у складі астроцитарного цитоскелета, роль ГФКП у розвитку реактивного астроцитозу, застоювання ГФКП як маркера пошкодження нервової тканини, особливості експресії та функціонування ГФКП поза клітинами астроглії.

## ІСТОРІЯ ВІДКРИТТЯ ГФКП

Уперше даний протеїн ізолювали в 1969 р. Енг та співавт. із тканин головного мозку пацієнтів із розсіяним склерозом; автори описали його як «протеїн бляшок» («*plaque protein*») [16]. У подальшому ГФКП був ідентифікований як один із головних компонентів, присутніх у ділянках мозку пацієнтів, що страждали на важку форму фіброзного гліозу. Такі ділянки фактично представляли собою скупчення фіброзних астроцитів і демієлінованих нейронів. У статті, опублікованій у 1971 р. в журналі «*Brain Research*», було наведено детальну характеристику протеїну та спосіб його виділення з фракції водонерозчинних протеїнів склеротичних бляшок [3]. Остаточна назва ГФКП закріпилася за цим протеїном з 1972 р. [5]. У тому ж самому році були вперше отримані специфічні антитіла щодо ГФКП [4].

## ЛОКАЛІЗАЦІЯ ГФКП

У ЦНС ГФКП синтезується майже виключно астроцитами і є найбільш масовим протеїном цих клітин. Клітинна специфічність біосинтезу ГФКП настільки виражена, що його імунохімічне забарвлення стало класичним підходом для візуалізації нормальних астроцитів головного мозку та неопластичних клітин гліального походження (рис. 1). У зрілому головному мозку ГФКП виявляється в протоплазматичних астроцитах у межах сірої речовини, фіброзних астроцитах білої речовини, радіальній (бергманівській) глії мозочка та у субependимальних астроцитах, що вистилають шлуночки мозочка. На поверхні мозку імунореактивні до ГФКП клітини представлені виключно астроцитами, які формують пограничну гліальну мембрану (*glia limitans*). Цікаво, що астроцити різних структур головного мозку розрізняються за своєю здатністю синтезувати ГФКП; клітини астроглії білої речовини експресують ГФКП у більшій кількості, ніж астроцити сірої речовини [1, 4].

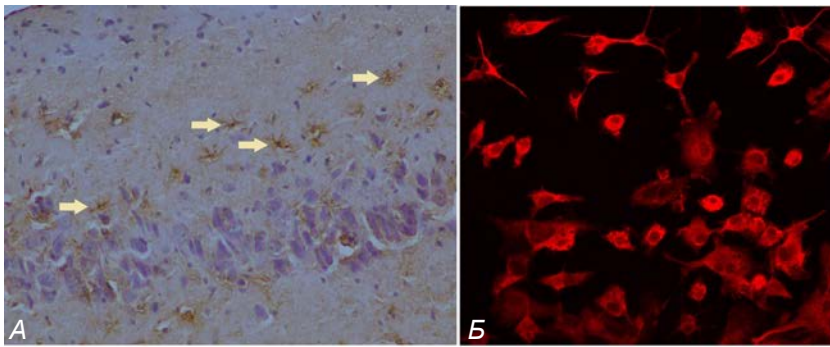
Виявлено певні міжвидові особливості синтезу ГФКП. Астроцити головного мозку людини утво-

рюють ГФКП на порядок інтенсивніше, ніж астроцити гризунів. За межами головного мозку ГФКП синтезується астроцитами і мюлерівськими клітинами сітківки, які беруть участь у забезпеченні комунікації між нейронами, гангліозними клітинами та ендотеліоцитами [17]. У периферичній нервовій системі (ПНС) до ГФКП-позитивних клітин відносяться переважно немієліновані шванівські клітини, що оточують нервові волокна соматичних нервів, зокрема сідничного, а також вегетативні нервові волокна вісцеральних органів [18–20]. Описано наявність ГФКП-позитивних клітин в ентеричній нервовій системі (ЕНС) [21] (рис. 2).

В останні роки з'являється все більше повідомлень про «незвичайну» локалізацію ГФКП у нервових тканинах, проте кількість цього протеїну в таких випадках є мізерною порівняно з його вмістом в астроцитах. «М'які» методи обробки тканин та застосування високоафінних антитіл, що розпізнають виключно специфічні епітопи ГФКП, дозволили ідентифікувати його в клітинах епітелію кристалика ока, клітинах Лейдена, купферівських клітинах печінки, клітинах підшлункової залози, подоцитах, мезангіальних клітинах, хондроцитах, остеокцитах [1, 13, 22]. Анти ГФКП-антитіла містять фібробласти і кератиноцити у гризунів і людини [23]. ГФКП виявлено в клітинах спинного мозку під час його регенерації [24]. Експресія ГФКП характерна для клітин деяких пухлин слинних залоз та шишкоподібної залози, папілярних менінгіом, хряща клітин надгортанника, нормальних пітуїцитів та клітин пітуїтарних аденом і метастазуючих карцином нирок [1, 25, 26].

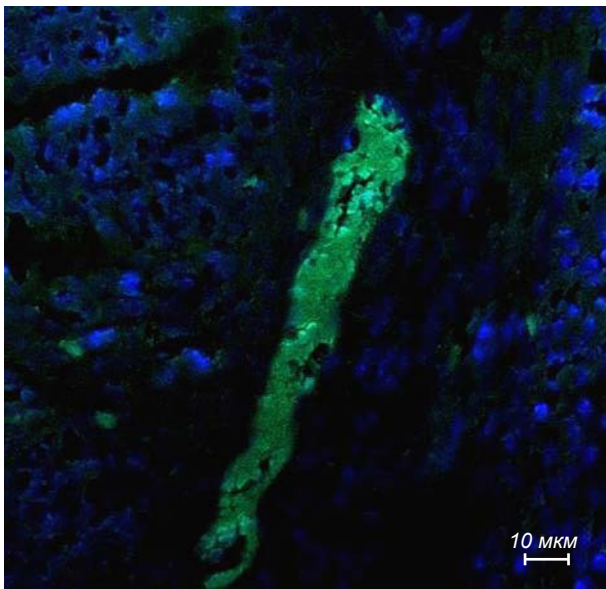
## МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ ГФКП. ІЗОФОРМНИЙ СКЛАД

Ген ГФКП людини, локалізований у хромосомі 17q21.1-q25 (~ 10 kb ДНК), було вперше клоновано в 1989 р. [27]. Ген складається з восьми інтронів і дев'яти екзонів; серед них альтернативними є чотири екзони і два інтрони, що транскрибуються в мРНК (~ 3 kb). Результатом альтернативного сплайсингу є досить значний поліморфізм ГФКП. На сьогодні відкрито та описано 10 ізоформ ГФКП, серед яких ГФКП- $\alpha$ , - $\delta$ (- $\epsilon$ ) та - $\kappa$  є найбільш повно охарактеризованими субтипами даного протеїну [2, 28]. ГФКП- $\alpha$  (ізоформа 1), що складається з 432 амінокислотних залишків (а. з.), є найбільш поширеною ізоформою в головному та спинному моз-



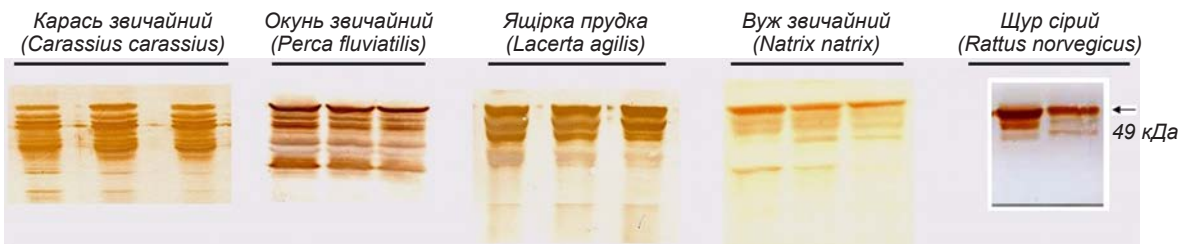
**Р и с. 1.** Мікрофотографії астроцитів головного мозку.

*А* – зріз гіпокампа щура; стрілками позначені астроцити, що зв’язали антитіла щодо гліального фібрилярного кислого протеїну (ГФКП) та були візуалізовані із застосуванням вторинних антитіл, кон’югованих із пероксидазою ( $\times 100$ ). *Б* – конфокальна мікроскопія астроцитів у первинній культурі гіпокампа; червоне забарвлення – клітини астроглії, що зв’язали антитіла щодо ГФКП (вторинні антитіла Goat Anti-Rabbit IgG Fc, кон’юговані з Alexa Fluor 647;  $\times 200$ ). Результати власних досліджень, раніше не були опубліковані.



**Р и с. 2.** Конфокальна мікрофотографія позитивних за гліальним фібрилярним кислим протеїном (ГФКП) клітин ентероїї тонкої кишки ембріона теляти (зелене забарвлення – ГФКП-позитивні клітини, вторинні антитіла Goat Anti-Rabbit IgG, кон’юговані з FITC; синє забарвлення – ядра клітин, мічені NucleoCounter 33342).

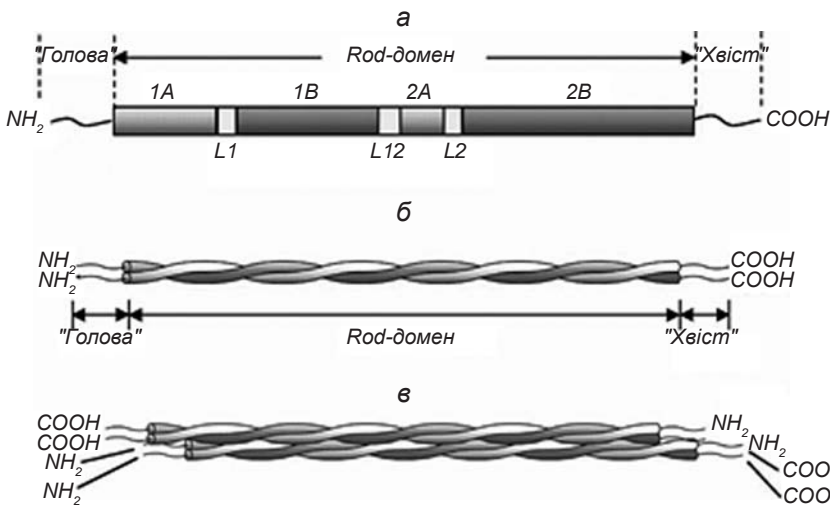
Результати власних досліджень, раніше не були опубліковані.



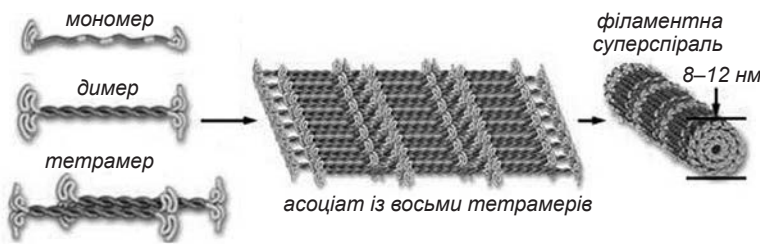
**Р и с. 3.** Імуноблотинг гліального фібрилярного кислого протеїну в протеїнових пробах, отриманих із тканин головного мозку різних тварин в умовах розвитку астроцитозу. Результати власних досліджень, раніше не були опубліковані.

ку. ГФКП- $\delta$ -(- $\epsilon$ ) (ізоформа 2) складається з 431 а. з. та має альтернативну послідовність залишків у С-кінцевому домені; ця ізоформа переважно експресується стовбуровими нервовими клітинами субвентрикулярної зони головного мозку. Саме завдяки унікальності структури С-кінцевої послідовності згадана ізоформа специфічно взаємодіє з пре-

сенілінами-1 та -2. Цей феномен може відігравати важливу роль у Notch-сигналінгу і визначенні подальшої долі клітин (набутті ГФКП-позитивного, тобто астроцитарного, або нейрогенного фенотипу) [29]. Можливо, ГФКП- $\delta$ -(- $\epsilon$ ) є залученим до процесів міграції та злоякісної трансформації клітин. Показана підвищена експресія цієї ізофор-



**Р и с. 4.** Схема молекулярних структур фібрилярного фібрілярного кислого протеїну. *a* – мономер, *б* – паралельний димер, *в* – антипаралельний тетрамер. *1A, 1B, 2A, 2B* – ділянки суперспіралізованої  $\alpha$ -спіралі, розділені неспіралізованими спейсерними ланцюгами (*L1, L12, L2*). Спіралізовані ділянки кожного ланцюга складаються із п'яти (*1A*), 14–15 (*1B*), двох-трьох (*2A*) і 17–18 (*2B*) блоків амінокислотних залишків; «голова» – гіперваріабельний N-кінцевий домен; rod-домен – константний домен; «хвіст» – гіперваріабельний C-кінцевий домен [47, 48].



**Р и с. 5.** Ієрархічний принцип побудови проміжного філамента [50, 51].

ми в клітинах пухлин астроцитарного походження. ГФКП-к (ізоформа 3; 328 а. з.) виділено з кори півкуль головного мозку, смугастого тіла та мозочка миші. ГФКП- $\beta$ , що побудований з не менш ніж 432 а. з., є ізоформою, яка превалює в немієлінованих шванівських клітинах ПНС. Зростання рівнів мРНК ГФКП- $\beta$  та власне цього протеїну відбувається внаслідок пошкодження нервових волокон [30]. ГФКП- $\gamma$  (431 а. з.) та його мРНК виявлено в ЦНС (мозолистому тілі), а також у ненервових тканинах, наприклад у кістковому мозку і селезінці. Первинна послідовність ГФКП- $\xi$  має в своєму складі більше ніж 438 а. з. [31]. Існують ще чотири ізоформи ГФКП, які виникають внаслідок зміщення «рамки зчитування» на один нуклеотид; отже, вони отримали колективну назву «ГФКП+1» (ГФКП $\Delta$ Ex6 – 347 а. з., ГФКП $\Delta$ 164 – 366 а. з., ГФКП $\Delta$ 135 – 374 а. з., ГФКП $\Delta$ Ex7 – 418 а. з.) [6]. Ці ізоформи виявляються, як правило, в реактивних астроцитах різних відділів головного мозку пацієнтів із хворобою Альцгеймера. Слід зазначити, що три сплайс-форми ГФКП+1 ідентифіковано в пірамідних нейронах гіпокампа пацієнтів із хворобою Альцгеймера та син-

дромом Дауна, а також виявлено в клітинах астроглії в місцях фокальних уражень мозку пацієнтів з епілепсією [33]. Складні регуляторні механізми альтернативного сплайсингу ГФКП досліджено недостатньо; так само незрозумілими залишаються питання, чи всі продукти альтернативного сплайсингу транскрибуються в протеїн та яку роль відіграє співвідношення різних ізоформ ГФКП у регуляції процесів збірки та властивостей ПФ астроцитів.

Описано більше 80 мутацій гена ГФКП, переважну більшість яких виявлено у пацієнтів із хворобою Александра [34]. Оскільки більшість мутацій приходяться на кодуючі ділянки гена ГФКП і лише декілька виникають у промоторній послідовності, то 95 % усіх мутацій у разі хвороби Александра носять функціональний характер. Механізм патогенезу цього нейродегенеративного розладу полягає у формуванні всередині астроцитів скупчень цитоскелетних структур (фібрил Розенталя), котрі побудовані з дефектного ГФКП та так званих протеїнів теплового шоку; для даних структур є характерними виражені цитотоксичні властивості. Отже, хвороба Александра являє собою важливий приклад

практично повної втрати вказаним протеїном своєї функції; це відкриває певні перспективи для досліджень даної патології [35].

## СТРУКТУРА І ВЛАСТИВОСТІ ГФКП. ПРИНЦИПИ ФОРМУВАННЯ ФІЛАМЕНТІВ

Продуктом трансляції мРНК  $\alpha$ -ГФКП є поліпептид із молекулярною масою (Mm)  $\sim 49,8$  кДа, який являє собою мономерну субодиницю гліальних ПФ. Основний пул ГФКП є нерозчинним у воді. Цей протеїн характеризують висока здатність до агрегації та полімеризації, а також чутливість до протеолізу нейтральними протеазами. У молекулі ГФКП наявні високоспецифічні антигенні епітопи. ГФКП – амфіфільний протеїн, що має спорідненість до гідрофобних радикалів [1, 2, 36]. Високий еволюційний консерватизм будови та гомологія амінокислотного складу ГФКП, показані для різних представників тваринного царства [37], зумовлюють досить низький рівень його видоспецифічності, що підтверджується перехресною імунореактивністю (рис. 3).

У ранній постембріональний період недиференційовані попередники астроцитів експресують ГФКП у дуже обмежених кількостях. У таких клітинах ПФ складаються переважно з віментину, який поступово замінюється на ГФКП у перебігу онтогенезу [38]. Найбільш інтенсивний синтез цього протеїну відбувається в перші місяці неонатального розвитку, проте у ссавців складний залежний від віку ремоделінг астроцитів реалізується протягом усього життя. З перебігом онтогенезу інтенсивність експресії ГФКП поступово зменшується [39]. Існує, проте, так звана друга хвиля експресії ГФКП, яка притаманна переважно пацієнтам із хворобою Альцгеймера, а також спостерігається в умовах розвитку неспецифічного («м'якого») гліозу, пов'язаного зі старінням мозку [40]. В астроцитах IV ступеня відмічається драматичне зниження рівня ГФКП, що може вказувати на втрату злоскісними клітинами здатності синтезувати протеїн ПФ у перебігу їх дедиференціації [41].

Активацію транскрипції гена ГФКП індукують численні ростові фактори, такі як циліарний (гліальний) нейротрофічний фактор (CNTF), фактор росту фібробластів (FGF), трансформуючий фактор росту  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), інтерлейкін-6 [40]. Тиреоїдний гормон і глюкокортикоїди також сприяють посиленню транскрипції гена ГФКП (можливо, через

активацію ROCK-шляху) [42]. Трофічні фактори гліального походження – гліальний нейротрофічний фактор (GDNF), нейрурін і артемін – забезпечують активацію ауторегуляторного цитопротективного механізму, спрямованого, зокрема, на підтримку синтезу ГФКП. Ці та інші клітинні регулятори індукують активацію астроглії – або безпосередньо через STAT3-сигналінг в астроцитах, або опосередковано, через впливи на клітини мікроглії, ендотеліоцити та нейрони [43, 44].

У головному мозку різних тварин інтегральна регуляція експресії гена ГФКП забезпечується нейроендокринними та запальними медіаторами [45]. Показано, що нейрогенний потенціал астроцитів і напрямок диференціювання астроцитів визначаються декількома факторами, зокрема трансформуючим ростовим фактором (TGF)- $\beta$ 1, пероксисомальним проліферативно-активуючим рецептором  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) і фактором контролю клітинного циклу (TP53). Дія всіх цих факторів асоційована із запальним процесом; отже, запальні сигнальні шляхи можуть контролювати диференціацію астроцитів та профіль експресії генів, що кодують специфічні протеїни в нормі та в умовах реактивної відповіді гліальних клітин [46].

Подібно до всіх протеїнів ПФ, ГФКП побудовано за єдиним принципом (рис. 4). У структурі молекули цього білка розрізняють гомологічну центральну ділянку (rod-домен), яка складається приблизно із 310 а. з.; останні формують досить обширну  $\alpha$ -спіральну область. Даний регіон вміщує тандемні повтори із семи різних амінокислотних залишків (гептадні повтори). Центральний домен ГФКП опосередковує взаємодію двох мономерів з утворенням спіралью закрученої димерної структури. Rod-домен у ПФ усіх типів є найбільш консервативним, тоді як кінцеві домени молекули являють собою гіперваріабельні ділянки поліпептидного ланцюга. У більшості ПФ глобулярні N- і C-домени утворюють «ручки» на поверхні філамента, які опосередковують взаємодію останнього з іншими філаментами та внутрішньоклітинними структурами. На відміну від «ручок» нейрофіламентів відповідні деталі поверхні астроцитарних філаментів не є такими витягнутими; вони організовані щільніше та простягаються в цитоплазмі астроцитів у вигляді компактних пучків [47, 48].

Як показано, існує певна ієрархія будови філамента – мономер  $\rightarrow$  димер  $\rightarrow$  тетрамер (рис. 5). Саме з тетрамерів формується власне філамент, який є симетричною неполярною структурою. Утворення

гомомерних полімерів ГФКП відбувається за рахунок взаємодії N-кінцевих «головних» (“head”-) доменів. В умовах *in vivo* ГФКП існує у вигляді гетерополімерів; він кополімеризується із віментином та/або нестином [13, 49].

Регуляція зборки астроцитарних ПФ регулюється за допомогою амінокислотних замінів, викликаних мутаціями гена, посттрансляційних модифікацій, конкурентних взаємодій різних ізоформ ГФКП та взаємодій з іншими протеїнами (S100, анексином, віментином,  $\alpha$ -кристаліном та ін.). На відміну від мікротрубочок і мікрофіламентів, ПФ є відносно стабільними структурами; їх реорганізація в клітині відбувається досить рідко [50, 51].

Як свідчать дані літератури і отримані нами результати, частково деградовані поліпептиди ГФКП, які входять до складу нативних філаментів, інтенсивно екстрагуються та надходять до фракції водонерозчинних протеїнів головного мозку в умовах впливу різних несприятливих чинників, зокрема в разі розвитку нейропатій (рис. 3) [52–54]. З урахуванням цих спостережень було зроблено наступне припущення: лімітований протеоліз протеїнів, які складають філамент, може бути єдиним шляхом реорганізації фібрилярного апарату астроцитів, стабільного в умовах норми. Ступінь фрагментації ГФКП було запропоновано використовувати як показник розвитку реактивного астроцитозу, що доповнює результати кількісного аналізу даного протеїну [55, 56]. Вміст продуктів розщеплення ГФКП у біологічних рідинах організму використовують як показник ступеня тяжкості травмування спинного мозку або пошкодження ЦНС [57, 58].

Унікальною особливістю ГФКП, котра відрізняє його від інших гомологічних протеїнів, є наявність в його складі невеликого пулу водорозчинних поліпептидів. Вперше розчинну фракцію ГФКП було отримано з нервової тканини людини та тварин *post mortem*. Походження цієї фракції можна було пов'язати з активацією кальційзалежної нейтральної протеїнази [1, 59]. Результати досліджень останніх років довели, проте, що неполімеризовані розчинні поліпептиди ГФКП можуть існувати в мозку *in vivo*; поява їх відчутних кількостей спостерігається при впливах, асоційованих із кальційопосередкованими процесами фосфорилування та протеолізу [60]. Незважаючи на значний прогрес досліджень ГФКП, питання про функціональне значення розчинних поліпептидів у складі інтегративного пулу цього протеїну залишається не до кінця з'ясованим.

## МЕТАБОЛІЗМ ГФКП: ПОСТТРАНСЛЯЦІЙНІ МОДИФІКАЦІЇ ТА ДЕГРАДАЦІЯ

До основних посттрансляційних модифікацій ГФКП належать фосфорилування, цитрулінування, глікозилювання та ацетилювання [13, 61]. Фосфорилування ГФКП здійснюється головним чином протеїнкіназами С (PKC) і А (PKA), а також кальмодулінзалежною протеїнкіназою II (CAMPKII). Ці ензими є ключовими агентами, що беруть участь у процесах внутрішньоклітинного сигналіngu. Фосфорилуванню підлягають шість амінокислотних залишків, п'ять з яких розташовані в N-термінальному домені первинної послідовності NKRM. Нижче вказані ці залишки та ензими, відповідальні за їх фосфорилування: Thr-7 (PKA), Ser-8 (PKA, PKC, cdk2), Ser-13 (CAMPKII, PKA, PKC), Ser-17 (CAMPKII), Ser-38 (CAMPKII, PKA, PKC), Ser-289 (CAMPKII). Оскільки більша частина сайтів фосфорилування ГФКП розташовані в N-кінцевій ділянці, ця модифікація протеїну інгібує процес збирання філамента. Існують вказівки не те, що фосфорилування ГФКП забезпечує регуляцію міжклітинних взаємодій нейрон–астроцит [62, 63]. Снайдер і Омарі [64] звернули увагу на значення аберантного фосфорилування ГФКП у патофізіологічних процесах у нервовій тканині, котрі реалізуються за участі астроцитів. Зокрема, ступінь фосфорилування ГФКП, що посилюється під час гіпоксії/ішемії мозку, визначає здатність астроцитів до ремоделювання. Таким чином, цей фактор відіграє важливу роль у пластичності нервової системи в патофізіологічних умовах та в перебігу репаративних процесів [65].

Нещодавно була встановлена можливість ендогенного цитрулінування ГФКП за рахунок деамінування залишків аргініну в положеннях Arg-30, -36, -270, -406 і -416. Поява залишків цитруліну в складі ГФКП надає йому властивостей аутоантигена при розвитку деяких неврологічних розладів, проте фізіологічне значення цитрулінізації цього протеїну в нормі залишається невідомим [66]. Ацетилювані залишками лізину в положеннях Lys-89, -153, -189, -218, -259 і -331 поліпептиди ГФКП виявляються в спинному мозку пацієнтів з аміотрофічним бічним склерозом [67].

За розщеплення ГФКП відповідальна низка протеолітичних ензимів, результатом дії яких є поява більш чи менш деградованих поліпептидів. Як доведено, провідну роль у деградації ГФКП віді-

грають кальційзалежні протеїнази-кальпаїни, які специфічно гідролізують пептидні зв'язки як у С-, так і в N-кінцевих регіонах молекул цього протеїну. Результатом кальпаїноспосередкованого протеолізу ГФКП є поява низки деградованих поліпептидів, молекулярна маса яких варіює в діапазоні 38–44 кДа. Такі поліпептиди виявлено в умовах культивування астроцитів *in vitro*, а також у тканинах головного мозку та цереброспінальній рідині свавців при різних експериментальних патологіях, у спінальних структурах пацієнтів з аміотрофічним латеральним склерозом та в спинному мозку тварин після його травматизації [1, 68]. Специфічний сайт розщеплення ГФКП кальпаїнами знаходиться в положенні Thr-383–Phe-384, хоча деякі дослідники не виключають можливості протеолізу даного протеїну в інших місцях його первинної послідовності. Головний продукт деградації ГФКП кальпаїнами – це фрагмент з Мм ~38 кДа, який складається з інтактного год-домену та вкорочених N- та С-кінцевих доменів. З огляду на провідну роль останніх у процесах збирання та організації фібрил зроблено припущення, що така структура не дозволяє цьому деградованому поліпептиду брати участь у формуванні філаментів [69].

Вагому роль у протеолізі ГФКП відіграють також каспази-3 і -9, які забезпечують деградацію протеїну в умовах проапоптотичного стану клітини. Фрагмент ГФКП із Мм ~20 кДа та вкороченим N-кінцем, виділений з головного мозку пацієнтів із хворобою Альцгеймера, було ідентифіковано як продукт неповного розщеплення ГФКП каспазами [70]. Нещодавно була продемонстрована можливість розщеплення ГФКП цистеїновою протеїназою каспазою-6, внаслідок чого утворюються два фрагменти з Мм 24 і 26 кДа. При цьому С-кінцевий фрагмент ГФКП (С-ГФКП, 24 кДа) виявився нездатним до полімеризації, тоді як довший ланцюг (N-ГФКП) міг формувати філаментоподібні структури. Останнім, проте, не була притаманна здатність до утворення складніших агрегатів [71].

## ФУНКЦІ ГФКП

Можливість отримання трансгенних тварин, нокаутованих за геном ГФКП, та використання антизмістових РНК відкрили широкі перспективи для вивчення функцій цього цитоскелетного протеїну в ЦНС [1, 2, 12, 13].

*Функціонування ГФКП у складі цитоскелета астроцитів.* Згідно з класичними уявленнями, філаментні структури, сформовані з ГФКП, відіграють ключову роль у підтримці морфології астроцитів і стабілізації їх численних відростків, а також беруть участь у подіях, пов'язаних із міграцією клітин. Однак вказівки на те, що ГФКП може мати сайти зв'язування низки кіназ, свідчать про можливість істотного залучення даного протеїну до процесів клітинного сигналіngu. На користь цього вказують також дані про те, що ПФ астроглії здатні формувати динамічний континуум з іншими цитоскелетними структурами, а також (через інтегринові рецептори) з компонентами екстрацелюлярного матриксу [72].

Тривають активні дослідження ролі ГФКП у фізіологічних процесах, які реалізуються за участі астроцитів, проте результати таких робіт та їх інтерпретація поки є досить неоднозначними. В одному з перших досліджень у даному напрямку [73] було продемонстровано, що повна відсутність ГФКП, починаючи з ембріонального періоду, практично не відбивається на розвитку та морфології ЦНС у мишей. До певної міри ці результати можна пояснити тим, що відсутність ГФКП частково компенсується експресією гомологічного протеїну – віментину. Дані інших авторів, проте, не підтверджують цього спостереження та вказують на істотні віддалені наслідки у тварин із недостатньою функцією ГФКП. Результати експериментів, проведених на мутантних мишах, продемонстрували важливе значення ГФКП для формування архітектури білої речовини та забезпечення цілісності гемато-енцефалічного бар'єра (ГЕБ). Показано, що у ГФКП-дефіцитних мишей є можливим розвиток гідроцефалії, що супроводжується втратою білої речовини у мозку [74]. У ГФКП(-/-)-мишей з експериментальним аутоімунним енцефаломієлітом (моделлю множинного склерозу) за відсутності ГФКП в астроцитах формувалися аберантно організовані віментинвімісні ПФ; у таких тварин спостерігався більш високий рівень демієлінізації порівняно з таким у мишей дикого типу [75]. Дефіцит ГФКП позначався на транспорті деяких важливих метаболітів до астроцитів [76]. Результати дослідів Гарді та співавт. [77] доводять ключову роль ГФКП та процесу його фосфорилування в мітозі астроцитів. Особливу увагу привертають дані, отримані декількома незалежними групами. Було встановлено значення ГФКП для процесів астроцитарно-нейронної комунікації. У ГФКП-нокаутованих мишей спосте-



рігалися порушення у формуванні довготривалих форм синаптичної пластичності (депресії та потенціації) у структурах гіпокампа і мозочка [78]. При цьому астроцити нокаутованих мишей втрачали здатність формувати клітинні відростки в умовах сумісного культивування з нейронами [79]. Отримані дані надають усі підстави стверджувати, що нормальна організація ГФКП-вмісних філаментних структур цитоскелета астроцитів визначає адекватність міжклітинних взаємодій у ЦНС та відповідає за модуляцію астроцитами процесів синаптичної передачі.

*Роль ГФКП у реактивному астроцитозі.* Пошкодження нервової тканини індукує інтенсивну проліферацію та гіпертрофію астроцитів; ці зрушення супроводжуються прискореним синтезом ГФКП і фібрилогенезом. Дане явище, відоме як астроцитоз, є головною ланкою в розвитку реактивного гліозу як сукупної гліальної відповіді ЦНС на пошкодження [80]. ГФКП бере безпосередню участь у реактивації астроцитів та підтримці морфології їх відростків. Локалізація та масштаби гліальної реактивації в умовах патології ЦНС залежать від ступеня пошкодження та можуть мати різні наслідки для нейронного оточення. Добре відомо, що, з одного боку, гліоз виконує певну нейропротекторну функцію завдяки синтезу та секреції реактивними гліоцитами низки нейротропних речовин. З іншого боку, надмірний гліоз та формування щільного гліального рубця можуть мати значні негативні наслідки для структурного та функціонального відновлення нервової тканини, передусім через надекспресію прозапальних факторів та розвиток ішемії [11, 81]. Про провідну роль ГФКП у формуванні гліального рубця повідомлялось у роботі Пекни та співавт. [81]. Гірнікар та співавт. [82] показали, що у мишей – подвійних мутантів з відсутністю здатності синтезувати як ГФКП, так і віментин міг формуватися гліальний рубець після пошкодження тканини мозку, але щільність такого рубця виявилася недостатньою для підтримки цілісності ГЕБ. Ці дані вказують на те, що адекватна структурна організація ПФ астроцитів є важливою умовою для забезпечення повноцінної астроцитарної відповіді на пошкодження ЦНС. Було також показано, що при пошкодженні периферичного нерва у ГФКП(-/-)-мишей порушувалася диференціація шванівських клітин та спостерігалася затримка регенеративних процесів [83]. В експериментах, які проводилися на клітинах феохромоцитоми лінії РС-12, трансфікованих геном ГФКП, було доведено важливість ГФКП

для забезпечення виживання клітин в умовах стресу: клітини РС-12 з надекспресією ГФКП демонстрували підвищену стійкість до теплового шоку [84]. Антиапоптотичні ефекти, які нібито спостерігаються за посилення синтезу ГФКП, потребують подальших досліджень, оскільки регуляція експресії цього протеїну істотною мірою визначає нейропротекторні властивості астрогліальних клітин у разі ушкодження нервової тканини та нейродегенеративних розладів.

Розвиток астрогліальної реакції на пошкодження, швидкість формування такої відповіді та еволюційний консерватизм реактивного астрогліозу свідчать про важливість функціонування реактивної астроглії в ЦНС. Окрім фібрилогенезу та реекспресії віментину, гліоз часто супроводжується реконструкцією філаментного апарату астроцитів, зумовленою активацією кальційзалежної системи протеїназ [85]. Таким чином, протеоліз є одним із механізмів перебудови ПФ у перебігу клітинної відповіді астроцитів. Іншим шляхом контролю стану цитоскелета є RhoA-опосередкована сигналізація між клітинними мембранами та протеїнами цитоскелета [86].

*Функції ГФКП у неастроцитарних клітинах.* Локалізація ГФКП у складі клітин, що формують бар'єр між організмом та оточуючим середовищем, вказує на можливість виконання цим протеїном принципово інших функцій, не притаманних йому в нервовій тканині. Зокрема, залучення ГФКП до формування та підтримки механічного або імунологічного бар'єра потребує ретельного дослідження.

Відносно докладно вивчена роль ГФКП у клітинах ентероглії. ГФКП-імунопозитивні клітини ентероглії, що локалізовані в підслизовому та м'язовому шарах кишківника, виконують нейромодуляторну функцію; вони відповідають за підтримку функціонування нейронів, їх комунікацію з епітеліальними клітинами, беруть участь у регуляції кишкової перистальтики та утворенні слизу [87]. На інтенсивність синтезу ГФКП ентеричними гліальними клітинами впливають прозапальні регулятори (інтерлейкін-6, бактеріальний ендотоксин LPS та ін.). Посилення синтезу ГФКП клітинами ентероглії у відповідь на розвиток виразкових хвороб кишківника, ентероколітів та хвороби Крону може слугувати чутливим діагностичним критерієм перебігу цих патологій. ГФКП у складі ентерогліоцитів бере участь у репаративних процесах, пов'язаних із пошкодженнями кишківника [88]. Встановлено, що у мишей клітини ентероглії

можуть виступати як попередники нейронів у разі таких пошкоджень [89]. На функціональну гомологію ГФКП-синтезуючих клітин ЦНС і ЕНС вказують дані, які свідчать про зростання вмісту ентеричного ГФКП та рівня його фосфорилування в кишківнику пацієнтів із хворобою Паркінсона [21].

## ГФКП – МАРКЕР ПОШКОДЖЕННЯ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ

Зміни вмісту ГФКП при пошкодженні ЦНС визначають цінність результатів його кількісного аналізу для оцінки ступеня пошкодження нервової тканини, а визначення цього протеїну в біологічних рідинах дозволяє робити висновки про перебіг деяких нейродегенеративних хвороб, що супроводжуються порушенням цілісності ГЕБ [6, 11]. Кількісне визначення ГФКП входить до переліку обов'язкових тестів на нейротоксичність при проведенні доклінічних випробувань лікарських засобів у США [90].

*ГФКП в умовах нейродегенеративних станів.* Реактивація та надлишкова експресія протеїну ПФ астроцитів викликаються широкою низкою чинників та патологічних станів. Це деякі вірусні інфекції, енцефалопатії, пов'язані з пріоновим інфікуванням, хвороби, що супроводжуються запаленням та демієлінізацією (зокрема, алергічний енцефаломієліт), гостра травматизація мозку, ішемія/гіпоксія, кріогенне ураження мозку, вплив хімічних токсикантів. До числа останніх входять іони алюмінію, свинцю та ртуті, акриламід, етанол,  $\beta, \beta$ -імінодипропіонітрил, ді- та трихлоретан, ксилол, триетилолово, колхіцин, каїнати, 6-гідроксидофамін та ін. Посилену експресію ГФКП викликають дія іонізуючої радіації, опромінення мозку електромагнітними хвилями надвисокої частоти (450–2100 МГц), метаболічні розлади (цукровий діабет, гіпертиреоз, гіперфенілаланінемія, ацерулоплазмінемія) та ін. Посилення проліферації астроцитів та фібрилогенез спостерігаються в різних ділянках мозку при розвитку низки нейродегенеративних хвороб – аміотрофічного бічного склерозу, синдрому Гершманна–Штраусслера, хворобах Гантінгтона, Вілсона, Піка та Паркінсона [1, 11, 91–99]. Астроцитарний гліоз є характерною нейропатологічною ознакою хвороби Альцгеймера. Численні експериментальні дані вказують на те, що реактивні астроцити в мозку пацієнтів із хворобою Альцгеймера асоційовані з нейритними та амілоїд-

ними бляшками. У пацієнтів із проявами цієї хвороби ГФКП часто підлягає цитрулінізації та окисненню. Наразі роль реактивної глії у формуванні  $\beta$ -амілоїдних агрегатів точно не визначена [98–100].

Результати дослідження здатності астроцитів синтезувати ГФКП надають інформацію про дію речовин або станів, які можуть пригнічувати метаболічну активність даних клітин. Пригнічення синтезу ГФКП як прояв супресії метаболічної активності астроцитів спостерігається при гострих вірусних інфекціях та хронічній нейродегенерації. Показано, що інфікування HIV-1 викликає зменшення вмісту протеїну ПФ астроцитів, причому глікопротеїн вірусного капсиду gp120 безпосередньо інгібує фосфорилування ГФКП [101]. Хронічні інфекції, викликані вірусом вітряної віспи (*varicella zoster*) та герпесвірусом – збудником хвороби Ауескі (так званого псевдосказу, що супроводжується розвитком енцефаломієліту), пригнічують синтез ГФКП [102, 103]. Аномально низька експресія ГФКП відзначається у взятих *post mortem* зразках тканин головного мозку пацієнтів із синдромом Дауна, шизофренією, біполярним афективним розладом [104].

Потенційно високу діагностичну цінність становить визначення ГФКП у різних біологічних рідинах, насамперед крові та спинномозковій рідині (СМР). Накопичено значний фактичний матеріал щодо істотного зростання циркулюючого та/або лікворного пулу ГФКП у пацієнтів із нейромієлітом зорового нерва (хворобою Дейвіка), розсіяним склерозом, ішемічним інсультом, субарахноїдальними крововиливами, васкулітом церебральних судин, хворобою Альцгеймера, гідроцефалією та в осіб, що страждають на нарколепсію [13]. Появу ГФКП в амніотичній рідині описано в умовах експериментальних моделей вади розвитку головного мозку (менінгомієлоцеле) та дефектів формування нервової трубки [105]. Порушення цілісності бар'єрних структур є головною причиною вивільнення ГФКП та його надходження до крові та СМР під час травм головного та спинного мозку. Описані випадки зростання концентрації ГФКП у сироватці крові як наслідка вторинного ушкодження головного мозку, викликаного субарахноїдальним крововиливом та підвищенням внутрішньочерепного тиску [106]. Цікаво, що пацієнти із шизофренією не відрізняються за вмістом ГФКП у сироватці та СМР від здорових людей; дані щодо наявності

цього протеїну у вказаних рідинах у пацієнтів із хворобою Паркінсона є суперечливими [13, 107]. Визначення концентрації циркулюючого ГФКП використовується як діагностичний критерій для оцінки ступеня розвитку гліом [108]. Питання, пов'язані з ізоформним складом ГФКП, що виявляється в крові та СМР, а також можливістю посттрансляційних модифікацій цього протеїну, включаючи протеолітичну деградацію, залишаються недостатньо дослідженими.

У низці робіт запропоновано використання визначення титрів аутоантитіл до ГФКП як біомаркера ступеня тяжкості різних нейродегенеративних станів та впливу нейротоксичних речовин. Синтез антиГФКП-IgG відбувається протягом перших чотирьох днів після травми головного мозку [109]. Встановлено, що поява аутоантитіл до ГФКП може бути проявом розвитку аутоімунних астроцитопатій, а також спостерігатися в перебігу розвитку гліоми [110]. Крім клініко-діагностичних аспектів, актуальними є подальші дослідження, спрямовані на з'ясування низки питань щодо значення посттрансляційних модифікацій ГФКП (особливо його цитрулінільованої форми) для розпізнавання цього білка клітинами власної імунної системи, особливостей кліренсу таких аутоантитіл та їх ролі в патогенезі нейропатій [111].

*ГФКП в умовах алкогольної енцефалопатії та дефіциту тіаміну.* Енцефалопатія, індукована хронічною алкогольною інтоксикацією, є вельми поширеним нейродегенеративним станом (етиловий спирт – найбільш широко вживаний нейротоксин у світі) [112]. Добре відомо, що астрогліальні клітини відіграють головну роль у процесах детоксикації як самого етанолу, так і продуктів його метаболізму в головному мозку. Вплив етанолу на стан клітин астроглії досліджено вельми детально, проте отримані дані є досить суперечливими [113]. Це пов'язано передусім із тим, що характер та напрямки змін вмісту ГФКП залежать від дози та тривалості споживання вказаного токсиканта. У відповідь на споживання 10 %-вого розчину етанолу в експерименті протягом чотирьох тижнів астроцити активувалися, внаслідок чого кількість ГФКП-позитивних клітин у зрізах мозку піддослідних тварин зростала [114]. Триваліша ж експозиція тварин до впливу етанолу викликала в клітинах астроглії деструктивні зміни. Такі зміни супроводжувалися деградацією протеїнів цитоскелета та патологічними змінами морфології даних клітин, яка не поверталася до норми навіть після тривалої реабі-

літації [115]. Результати вивчення впливів споживання етанолу вагітними самицями щурів у період лактації на стан астроглії потомства показали, що рівень ГФКП у гіпокампі та корі мозочка таких щурів у ранній постнатальний період є істотно зниженим [116]. Вплив етанолу в перебігу ембріогенезу викликає зменшення вмісту як мРНК ГФКП, так і даного протеїну *per se*. Це відбувається не тільки в мозку новонароджених щурів, але й у культивованих гліальних клітинах, отриманих із церебральної тканини (первинна культура). Встановлено, що етанол здатен безпосередньо порушувати процеси регуляції експресії гена ГФКП через гіперметилування відповідної ділянки ДНК [117]. Затримка експресії ГФКП, індукована етанолом у мозку плодів щурів, відбувається також за рахунок пригнічення диференціації клітин радіальної глії – попередників астроцитів. Як можна припустити згідно з існуючими даними, спричинені ранньою алкоголізацією зміни профілю специфічних протеїнів в астроцитах зумовлюють істотні віддалені наслідки, які негативно відбиваються на проліферації та міграції попередників нейронів, морфогенезі нейронів та процесах проростання аксонів, синтезу трофічних факторів і мієлінізації [118]. Отже, кількісний дефіцит астроцитів та руйнування ГФКП-вмісних цитоскелетних структур – феномени, що спостерігаються при хронічному впливі етилового спирту, особливо в пренатальний період, – є ключовими ланками в патогенезі алкогольної енцефалопатії та асоційованих з нею нейропсихологічних розладів [119–121].

Відомо, що однією з ознак алкогольної енцефалопатії є дефіцит тіаміну (вітаміну В<sub>1</sub>). Такий дефіцит є основним патогенетичним чинником розвитку синдрому Верніке – Корсакова у людей, які страждають на хронічний алкоголізм [122, 123]. Довготривале споживання етанолу призводить до інгібування тіамініпрофосфокінази – ензиму, який забезпечує фосфорилування внутрішньоклітинного пулу тіаміну з утворенням його коферментної форми – ТДФ. Зниження швидкості утворення ТДФ у разі хронічного алкоголізму спричинює гальмування активності мітохондріальних дегідрогеназ та транскетолаз у мозку пацієнтів із діагнозом «синдром Верніке – Корсакова». Це, в свою чергу, призводить до дисфункції мітохондрій у нервових клітинах та розвитку оксидативного стресу [124]. Слід мати на увазі, що дефіцит тіаміну супроводжує більшість нейродегенеративних патологій, не пов'язаних із вживанням алкоголю, а для де-

яких із них може бути ініціюючим фактором [125]. Добре відомо, що астроцити є клітинами нервової тканини, найбільш чутливими до нестачі тіаміну, а їх дисфункція за умов В1-дефіциту відіграє провідну роль у патофізіологічних процесах, що супроводжують розвиток авітамінозу [126]. На симптоматичних стадіях тіамінового дефіциту (дев'ять–14 днів) рівень ГФКП залишається незмінним [127] або демонструє тенденцію до зростання [128]. Надмірно посилена експресія ГФКП спостерігалася на тлі значного зниження кількості нейронів, яке оцінювали за визначенням маркера нейронів NeuN. У той же час у разі розвитку більш глибокого дефіциту вітаміну В1 (як і у випадку впливу етанолової інтоксикації) кількість ГФКП-позитивних клітин значно знижується [129]. Узагальнюючи згадані вище дані літератури, можна дійти висновку, що початкові стадії алкогольної енцефалопатії та тіамінового дефіциту характеризуються активною проліферацією астроцитів. Така проліферація може розглядатись як компенсаторна відповідь ЦНС, спрямована на протидію метаболічним порушенням, що розвиваються. Глибокі ж розлади обмінних процесів, котрі супроводжуються загибеллю церебральних клітин, призводять до пригнічення функцій глії та незворотних змін цитоскелетних структур у гліоцитах.

*ГФКП та старіння мозку.* Старіння вважається фактором ризику щодо багатьох патологічних порушень, включаючи нейродегенеративні розлади [130]. Тривалий час у питанні участі ГФКП у процесах, асоційованих зі старінням мозку, домінувала парадигма, згідно з якою старіння нервової тканини супроводжується акумуляцією ГФКП в астроцитах. Вперше збільшення вмісту ГФКП як один із проявів старіння мозку людини було показано в структурах гіпокампа, а згодом і в корі великих півкуль [131]. Накопичення ГФКП не було пов'язано з гальмуванням катаболізму цього протеїну. Результати імуноблотингу свідчили про те, що зростання рівня інтактної субодиниці ПФ відбувається паралельно зі збільшенням вмісту продуктів його деградації в усіх досліджених зразках старіючого мозку. Більш того, було встановлено, що розчинний пул ГФКП збільшується з віком [132]. Значні відмінності експресії ГФКП у різних за чутливістю до старіння клонах мишей були продемонстровані із застосуванням методик імуногістохімії, імуноблотингу і полімеразної ланцюгової реакції. Рівень ГФКП у мозку виявився значно вищим у мишей схильного до форсованого старіння клону порівняно з аналогічним показником

у стійкому клоні, що свідчить про важливу роль стану гліальних ПФ у процесах старіння [133].

Всупереч поширеному уявленню щодо зростання експресії ГФКП і реактивації астроцитів у перебігу старіння [134] з'являється все більше доказів на користь того, що збільшення вмісту ГФКП в умовах «нормального» старіння не пов'язано з нейродегенерацією, а є самостійним процесом та адаптивною відповіддю астроцитів на вікові зміни в нервовій тканині [135, 136]. Зокрема, в корі великих півкуль і субкортикальній білій речовині старіючих приматів спостерігалася зростання кількості ГФКП-позитивних клітин, але астроцити при цьому не демонстрували ознак гіпертрофії [132]. У мозку людей похилого віку рівень гліозу є відносно помірним [137]. Існують певні відмінності вікового профілю експресії ГФКП у різних відділах головного мозку. Зокрема, при порівнянні 20–30-річних обстежених із 90-річними не було виявлено значних вікових змін цього показника в кохлеарних ядрах мозку людини [138]. Особливий інтерес становлять дані про модуляцію експресії ГФКП в окремих ділянках гіпокампа протягом онтогенезу, оскільки вказана структура відповідає за комутацію сигналів від більшості відділів мозку та забезпечує процеси, пов'язані з навчанням та пам'яттю. Показано, що гіпокампальні астроцити надзвичайно швидко трансформуються в дорослі форми протягом першого місяця постнатального розвитку. Протягом наступних двох місяців відбувається повільне об'єднання астроцитів гіпокампа в стабільні ансамблі, проте здатність цих клітин до швидкої реактивації та морфологічних перебудов зберігається навіть у похилому віці [139]. Зростання числа ГФКП-позитивних клітин у мозку щурів в інтервалі від 12 до 24 місяців життя було визначено у фронтальній корі та зоні CA1 гіпокампа. В перебігу старіння кількість астроцитів у гіпокампі зростає істотніше, ніж у корі; натомість гіпертрофія астроцитів є більш вираженою саме в корі великих півкуль [140]. У мозку старих мишей (вік 59 тижнів) найбільш значне зростання рівня ГФКП було показано в ділянці CA1 гіпокампа [141]. В усіх шарах даної ділянки гіпокампа старих собак спостерігалася значно більша імунореактивність ГФКП порівняно з такою у молодших дорослих тварин [142]. З урахуванням провідної ролі гіпокампа в реалізації процесів навчання та пам'яті було висунуто припущення, що гліальна активація та підвищення експресії ГФКП можуть бути одними з істотних патогенетичних факторів, котрі зумовлюють погір-

шення нейронної пластичності в окремих регіонах головного мозку з подальшим розвитком когнітивного дефіциту [143].

У перебігу старіння мозку ціла низка факторів може модулювати синтетичну активність астроцитів, у тому числі й здатність цих клітин експресувати ГФКП. Зокрема, недостатня кількість докозагексаєнової кислоти (ДНА) відбивається на здатності астроцитів до реактивації. В умовах дефіциту ДНА реактивність астроцитів та інтенсивність метаболічних процесів у мозку старих щурів були вдвічі нижчими за такі у молодих тварин [144]. Встановлено, що введення тестостерону щурам запобігає віковому підвищенню рівня ГФКП у мозочку, тобто у відділі мозку, вельми чутливому до дії стероїдних гормонів [145]. Авторами цитованої роботи було висунуто припущення, що зниження рівня циркулюючого тестостерону з віком може бути однією з причин зростання вмісту ГФКП у згаданому відділі мозку. Разом з тим Андерсон та співавт. [146] продемонстрували, що поступове зростання вмісту мРНК ГФКП у різних відділах мозку не пов'язане зі статеву диференціацією.

Підсумовуючи наведений у нашому огляді матеріал, слід підкреслити, що ПФ цитоскелета астроцитів є універсальними внутрішньоклітинними структурами. Високий еволюційний консерватизм ГФКП вказує на гомологічність функцій, які виконує цей протеїн в астроцитах та деяких інших типах клітин різних філогенетичних груп організмів. ГФКП у складі цитоскелетних структур бере участь у реалізації цілої низки процесів, забезпечуючи адекватне функціонування астроцитів та регулюючи гліально-нейронні взаємодії в нормі та в умовах розвитку реактивного гліозу, індукованого різними нейротоксичними чинниками та нейропатологічними станами. Зважаючи на те, що функціонування гліальних ПФ задіяне в широке коло процесів, ГФКП може бути перспективною мішенню для модуляції функцій даних клітин. Унікальні особливості функціонування ГФКП як структурно-інтегративного компонента внутрішньоклітинного простору, а також як компонента клітинної сигнальної системи потребують подальших міждисциплінарних досліджень.

Дана публікація є оглядом, вона не була пов'язана з будь-якими дослідженнями на людях або тваринах, і тому формальне констатування відповідності до існуючих етичних норм не є потрібним.

Автори (А. О. Тихомиров, О. С. Павлова та В. С. Недзвецький) декларують відсутність будь-яких конфліктів, що стосуються комерційних або фінансових відносин, відносин з організаціями або особами, будь-яким чином пов'язаними з проведенням роботи, а також взаємовідносин співавторів статті.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. L. F. Eng, R. S. Ghirnikar, and Y. L. Lee, "Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000)," *Neurochem. Res.*, **25**, Nos. 9/10, 1439-1451 (2000).
2. Z. Yang and K. K. Wang, "Glial fibrillary acidic protein: from intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker," *Trends Neurosci.*, **38**, No. 6, 364-374 (2015).
3. L. F. Eng, J. J. Vanderhaeghen, A. Bignami, and B. Gerstl, "An acidic protein isolated from fibrous astrocytes," *Brain Res.*, **28**, No. 2, 351-354 (1971).
4. C. T. Uyeda, L. F. Eng, and A. Bignami, "Immunological study of the glial fibrillary acidic protein," *Brain Res.*, **37**, No. 1, 81-89 (1972).
5. A. Bignami, L. F. Eng, D. Dahl, and C. T. Uyeda, "Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence," *Brain Res.*, **43**, No. 2, 429-435 (1972).
6. J. Middeldorp and E. M. Hol, "GFAP in health and disease," *Prog. Neurobiol.*, **93**, No. 3, 421-443 (2011).
7. H. Deka, R. Sarmah, A. Sharma, and S. Biswas, "Modelling and characterization of glial fibrillary acidic protein," *Bioinformatics*, **11**, No. 8, 393-400 (2015).
8. S. A. Lewis and N. J. Cowan, "Temporal expression of mouse glial fibrillary acidic protein mRNA studied by a rapid *in situ* hybridization procedure," *J. Neurochem.*, **45**, 913-919 (1985).
9. M. V. Sofroniew and H. V. Vinters, "Astrocytes: biology and pathology," *Acta Neuropathol.*, **119**, No. 1, 7-35 (2010).
10. L. Ben Haim, M. A. Carrillo-de Sauvage, K. Ceyzériat, and C. Escartin, "Elusive roles for reactive astrocytes in neurodegenerative diseases," *Front. Cell Neurosci.*, **9**, 278 (2015).
11. L. F. Eng and R. S. Ghirnikar, "GFAP and astrogliosis," *Brain Pathol.*, **4**, No. 3, 229-237 (1994).
12. E. M. Hol and M. Pekny, "Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system," *Current Opin. Cell Biol.*, **32**, 121-130 (2015).
13. A. Petzold, "Glial fibrillary acidic protein is a body fluid biomarker for glial pathology in human disease," *Brain Res.*, **1600**, 17-31 (2015).
14. C. M. Jacques, C. Vinner, M. Kujas, et al., "Determination of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in human brain tumors," *J. Neurol. Sci.*, **35**, No. 1, 147-155 (1978).
15. L. Schiff, N. Hadker, S. Weiser, and C. Rausch, "A literature review of the feasibility of glial fibrillary acidic protein as a biomarker for stroke and traumatic brain injury," *Mol. Diagn. Ther.*, **16**, No. 2, 79-92 (2012).
16. L. F. Eng, B. Gerstl, and J. J. Vanderhaeghen, "A study of proteins in old multiple sclerosis plaques," *Trans. Am. Soc. Neurochem.*, **1**, 42 (1970).
17. K. A. Wunderlich, N. Tanimoto, A. Grosche, et al., "Retinal functional alterations in mice lacking intermediate filament

- proteins glial fibrillary acidic protein and vimentin," *FASEB J.*, **29**, No. 12, 4815-4828 (2015).
18. K. R. Jessen, R. Thorpe, and R. Mirsky, "Molecular identity, distribution and heterogeneity of glial fibrillary acidic protein: an immunoblotting and immunohistochemical study of Schwann cells, satellite cells, enteric glia and astrocytes," *J. Neurocytol.*, **13**, No. 2, 187-200 (1984).
  19. D. Dahl, N. H. Chi, L. E. Miles, et al., "Glial fibrillary acidic (GFA) protein in Schwann cells: fact or artifact?" *J. Histochem. Cytochem.*, **30**, No. 9, 912-918 (1982).
  20. G. B. Suarez-Mier and M. S. Buckwalter, "Glial fibrillary acidic protein-expressing glia in the mouse lung," *ASN Neuro*, **7**, No. 5, pii: 1759091415601636 (2015).
  21. T. Clairembault, W. Kamphuis, L. Leclair-Visonneau, et al., "Enteric GFAP expression and phosphorylation in Parkinson's disease," *J. Neurochem.*, **130**, No. 6, 805-815 (2014).
  22. S. Hassan, S. Syed, and S. I. Kehar, "Glial fibrillary acidic protein (GFAP) as a mesenchymal marker of early hepatic stellate cells activation in liver fibrosis in chronic hepatitis C infection," *Pak. J. Med. Sci.*, **30**, No. 5, 1027-1032 (2014).
  23. L. Danielyan, S. Zellmer, S. Sickinger, et al., "Keratinocytes as depository of ammonium-inducible glutamine synthetase: age- and anatomy-dependent distribution in human and rat skin," *PLoS One*, **4**, No. 2, e4416 (2009).
  24. M. Murray, S. D. Wang, M. E. Goldberger, and P. Levitt, "Modification of astrocytes in the spinal cord following dorsal root or peripheral nerve lesions," *Exp. Neurol.*, **110**, No. 3, 248-257 (1990).
  25. S. S. Shah, V. S. Chandan, D. C. Wilbur, and K. K. Khurana, "Glial fibrillary acidic protein and CD57 immunolocalization in cell block preparations is a useful adjunct in the diagnosis of pleomorphic adenoma," *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **131**, No. 9, 1373-1377 (2007).
  26. P. Redecker and J. Fechner, "Immunohistochemical study of cells positive for glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the human pituitary gland, with special reference to folliculostellate cells," *Histochemistry*, **91**, No. 3, 227-234 (1989).
  27. S. A. Reeves, L. J. Helman, A. Allison, and M. A. Israel, "Molecular cloning and primary structure of human glial fibrillary acidic protein," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, No. 13, 5178-5182 (1989).
  28. D. F. Condorelli, V. G. Nicoletti, V. Barresi, et al., "Structural features of the rat GFAP gene and identification of a novel alternative transcript," *J. Neurosci. Res.*, **56**, No. 3, 219-228 (1999).
  29. R. Thomsen, T. F. Dugaard, I. E. Holm, and A. L. Nielsen, "Alternative mRNA splicing from the glial fibrillary acidic protein (GFAP) gene generates isoforms with distinct subcellular mRNA localization patterns in astrocytes," *PLoS One*, **8**, No. 8, e72110 (2013).
  30. D. F. Condorelli, V. G. Nicoletti, P. Dell'Albani, et al., "GFAPbeta mRNA expression in the normal rat brain and after neuronal injury," *Neurochem. Res.*, **24**, No. 5, 709-714 (1999).
  31. J. Blechingberg, I. E. Holm, K. B. Nielsen, et al., "Identification and characterization of GFAPkappa, a novel glial fibrillary acidic protein isoform," *Glia*, **55**, No. 5, 497-507 (2007).
  32. W. Kamphuis, C. Mamber, M. Moeton, et al., "GFAP isoforms in adult mouse brain with a focus on neurogenic astrocytes and reactive astrogliosis in mouse models of Alzheimer disease," *PLoS One*, **7**, No. 8, e42823 (2012).
  33. E. M. Hol, R. F. Roelofs, E. Moraal, et al., "Neuronal expression of GFAP in patients with Alzheimer pathology and identification of novel GFAP splice forms," *Mol. Psychiat.*, **8**, No. 9, 786-796 (2003).
  34. M. Prust, J. Wang, H. Morizono, et al., "GFAP mutations, age at onset, and clinical subtypes in Alexander disease," *Neurology*, **77**, No. 13, 1287-1294 (2011).
  35. R. A. Quinlan, M. Brenner, J. E. Goldman, and A. Messing, "GFAP and its role in Alexander disease," *Exp. Cell Res.*, **313**, No. 10, 2077-2087 (2007).
  36. J. E. Goldman, H. H. Schaumburg, and W. T. Norton, "Isolation and characterization of glial filaments from human brain," *J. Cell Biol.*, **78**, No. 2, 426-440 (1978).
  37. D. Dahl, "Isolation and initial characterization of glial fibrillary acidic protein from chicken, turtle, frog and fish central nervous systems," *Biochim. Biophys. Acta*, **446**, No. 1, 41-50 (1976).
  38. M. Sancho Tello, S. Valles, C. Montoliu, et al., "Developmental pattern of GFAP and vimentin gene expression in rat brain and in radial glial cultures," *Glia*, **15**, No. 2, 156-166 (1995).
  39. C. F. Landry, G. O. Ivy, and I. R. Brown, "Developmental expression of glial fibrillary acidic protein mRNA in the rat brain analyzed by *in situ* hybridization," *J. Neurosci. Res.*, **25**, No. 2, 194-203 (1990).
  40. F. C. Gomes, D. Paulin, and V. Moura Neto, "Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation," *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **32**, No. 5, 619-631 (1999).
  41. U. Wilhelmsson, C. Eliasson, R. Bjerkvig, and M. Pekny, "Loss of GFAP expression in high-grade astrocytomas does not contribute to tumor development or progression," *Oncogene*, **22**, 3407-3411 (2003).
  42. A. Zamoner, C. Funchal, M. C. Jacques-Silva, et al., "Thyroid hormones reorganize the cytoskeleton of glial cells through Gfap phosphorylation and Rhoa-dependent mechanisms," *Cell Mol. Neurobiol.*, **27**, No. 7, 845-865 (2007).
  43. S. Brahmachari, Y. K. Fung, and K. Pahan, "Induction of glial fibrillary acidic protein expression in astrocytes by nitric oxide," *J. Neurosci.*, **26**, No. 18, 4930-4939 (2006).
  44. J. Guo, D. Jia, and B. Jin, "Effects of glial cell line-derived neurotrophic factor intrathecal injection on spinal dorsal horn glial fibrillary acidic protein expression in a rat model of neuropathic pain," *Int. J. Neurosci.*, **122**, No. 7, 388-394 (2012).
  45. N. J. Laping, B. Teter, N. R. Nichols, et al., "Glial fibrillary acidic protein: regulation by hormones, cytokines, and growth factors," *Brain Pathol.*, **4**, No. 3, 259-275 (1994).
  46. I. S. Shimada, M. D. LeComte, J. C. Granger, et al., "Self-renewal and differentiation of reactive astrocyte-derived neural stem/progenitor cells isolated from the cortical peri-infarct area after stroke," *J. Neurosci.*, **32**, No. 23, 7926-7940 (2012).
  47. A. L. Nielsen and A. L. Jørgensen, "Self-assembly of the cytoskeletal glial fibrillary acidic protein is inhibited by an isoform-specific C terminus," *J. Biol. Chem.*, **279**, No. 40, 41537-41545 (2004).
  48. M. Kornreich, R. Avinery, E. Malka-Gibor, et al., "Order and disorder in intermediate filament proteins," *FEBS Lett.*, **589**, 19 Part A, 2464-2476 (2015).
  49. R. L. Shoeman and P. Traub, "Assembly of intermediate filaments," *BioEssay*, **15**, No. 9, 605-611 (1993).

50. M. Inagaki, Y. Nakamura, M. Takeda, et al., "Glial fibrillary acidic protein: dynamic property and regulation by phosphorylation," *Brain Pathol.*, **4**, No. 3, 239-243 (1994).
51. M. Garbuglia, M. Verzini, and R. Donato, "Annexin VI binds S100A1 and S100B and blocks the ability of S100A1 and S100B to inhibit desmin and GFAP assemblies into intermediate filaments," *Cell Calcium*, **24**, No. 3, 177-191 (1998).
52. D. G. Graham, "Neurotoxicants and the cytoskeleton," *Current Opin. Neurol.*, **12**, No. 6, 733-737 (1999).
53. V. S. Nedzvetskii, G. A. Ushakova, S. G. Busygina, et al., "The effect of low doses of ionizing radiation on the intermediate filaments and the Ca<sup>2+</sup>-activated proteolysis system in the rat brain," *Radiobiologiya*, **31**, No. 3, 333-339 (1991).
54. T. T. Rohn, L. W. Catlin, and W. W. Poon, "Caspase-cleaved glial fibrillary acidic protein within cerebellar white matter of the Alzheimer's disease brain," *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, **6**, No. 1, 41-48 (2013).
55. G. Baydas, R. J. Reiter, V. S. Nedzvetskii, et al., "Altered glial fibrillary acidic protein content and its degradation in the hippocampus, cortex and cerebellum of rats exposed to constant light: reversal by melatonin," *J. Pineal Res.*, **33**, No. 3, 134-139 (2002).
56. V. S. Nedzvetskii, S. G. Busygina, V. A. Berezin, and A. I. Dvoretiskii, "The CNS syndrome. The characteristics of the intermediate filaments of the rat brain," *Radiobiologiya*, **30**, No. 2, 243-246 (1990).
57. H. Zetterberg, D. H. Smith, and K. Blennow, "Biomarkers of mild traumatic brain injury in cerebrospinal fluid and blood," *Nat. Rev. Neurol.*, **9**, No. 4, 201-210 (2013).
58. A. M. Boutté, Y. Deng-Bryant, D. Johnson, et al., "Serum glial fibrillary acidic protein predicts tissue glial fibrillary acidic protein break-down products and therapeutic efficacy after penetrating ballistic-like brain injury," *J. Neurotrauma*, **33**, No. 1, 147-156 (2016).
59. J. W. Bigbee, D. D. Bigner, C. Pegram, and L. F. Eng, "Study of glial fibrillary acidic protein in a human glioma cell line grown in culture and as a solid tumor," *J. Neurochem.*, **40**, No. 2, 460-467 (1983).
60. M. Takemura, H. Gomi, E. Colucci-Guyon, and S. Itohara, "Protective role of phosphorylation in turnover of glial fibrillary acidic protein in mice," *J. Neurosci.*, **22**, No. 16, 6972-6979 (2002).
61. N. T. Snider and M. B. Omary, "Assays for posttranslational modifications of intermediate filament proteins," *Methods Enzymol.*, **568**, 113-138 (2016).
62. J. H. Herskowitz, N. T. Seyfried, and D. M. Duong, "Phosphoproteomic analysis reveals site-specific changes in GFAP and NDRG2 phosphorylation in frontotemporal lobar degeneration," *J. Proteome Res.*, **9**, No. 12, 6368-6379 (2010).
63. R. Rodnight, C. A. Gonçalves, S. T. Wofchuk, and R. Leal, "Control of the phosphorylation of the astrocyte marker glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the immature rat hippocampus by glutamate and calcium ions: possible key factor in astrocytic plasticity," *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **30**, No. 3, 325-338 (1997).
64. N. T. Snider and M. B. Omary, "Post-translational modifications of intermediate filament proteins: mechanisms and functions," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **15**, No. 3, 163-177 (2014).
65. S. M. Sullivan, R. K. Sullivan, S. M. Miller, et al., "Phosphorylation of GFAP is associated with injury in the neonatal pig hypoxic-ischemic brain," *Neurochem. Res.*, **37**, No. 11, 2364-2378 (2012).
66. Z. Jin, Z. Fu, J. Yang, et al., "Identification and characterization of citrulline-modified brain proteins by combining HCD and CID fragmentation," *Proteomics*, **13**, No. 17, 2682-2691 (2013).
67. D. Liu, C. Liu, J. Li, et al., "Proteomic analysis reveals differentially regulated protein acetylation in human amyotrophic lateral sclerosis spinal cord," *PLoS One*, **8**, No. 12, e80779 (2013).
68. S. J. DeArmond, M. Fajardo, S. A. Naughton, and L. F. Eng, "Degradation of glial fibrillary acidic protein by a calcium dependent proteinase: an electroblot study," *Brain Res.*, **262**, No. 2, 275-282 (1983).
69. Y. B. Lee, S. Du, H. Rhim, et al., "Rapid increase in immunoreactivity to GFAP in astrocytes *in vitro* induced by acidic pH is mediated by calcium influx and calpain I," *Brain Res.*, **864**, No. 2, 220-229 (2000).
70. P. E. Mouser, E. Head, K. H. Ha, et al., "Caspase-mediated cleavage of glial fibrillary acidic protein within degenerating astrocytes of the Alzheimer's disease brain," *Am. J. Pathol.*, **168**, No. 3, 936-946 (2006).
71. M. H. Chen, T. L. Hagemann, R. A. Quinlan, et al., "Caspase cleavage of GFAP produces an assembly-compromised proteolytic fragment that promotes filament aggregation," *ASN Neuro*, **5**, No. 5, e00125 (2013).
72. L. Li, J. V. Welsler, P. Dore-Duffy, et al., "In the hypoxic central nervous system, endothelial cell proliferation is followed by astrocyte activation, proliferation, and increased expression of the alpha 6 beta 4 integrin and dystroglycan," *Glia*, **58**, No. 10, 1157-1167 (2010).
73. M. Pekny, P. Levéen, M. Pekna, et al., "Mice lacking glial fibrillary acidic protein display astrocytes devoid of intermediate filaments but develop and reproduce normally," *EMBO J.*, **14**, No. 8, 1590-1598.
74. W. Liedtke, W. Edelmann, P. L. Bieri, et al., "GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination," *Neuron*, **17**, No. 4, 607-615 (1996).
75. W. Liedtke, W. Edelmann, F. C. Chiu, et al., "Experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking glial fibrillary acidic protein is characterized by a more severe clinical course and an infiltrative central nervous system lesion," *Am. J. Pathol.*, **152**, No. 1, 251-259 (1998).
76. R. Tian, X. Wu, T. L. Hagemann, et al., "Alexander disease mutant glial fibrillary acidic protein compromises glutamate transport in astrocytes," *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **69**, No. 4, 335-345 (2010).
77. M. Tardy, C. Fages, G. Le Prince, et al., "Regulation of the glial fibrillary acidic protein (GFAP) and of its encoding mRNA in the developing brain and in cultured astrocytes," *Adv. Exp. Med. Biol.*, **265**, 41-52 (1990).
78. M. A. McCall, R. G. Gregg, R. R. Behringer, et al., "Targeted deletion in astrocyte intermediate filament (GFAP) alters neuronal physiology," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, No. 13, 6361-6366 (1996).
79. M. Pekny, C. Eliasson, and C. L. Chien, "GFAP-deficient astrocytes are capable of stellation *in vitro* when cocultured with neurons and exhibit a reduced amount of intermediate

- filaments and an increased cell saturation density," *Exp. Cell Res.*, **239**, No. 2, 332-343 (1998).
80. M. V. Sofroniew, "Astrogliosis," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **7**, No. 2, a020420 (2014).
  81. M. Pekny, U. Wilhelmsson, and M. Pekna, "The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis," *Neurosci. Lett.*, **565**, 30-38 (2014).
  82. R. S. Ghirnikar, A. C. Yu, and L. F. Eng, "Astrogliosis in culture: III. Effect of recombinant retrovirus expressing antisense glial fibrillary acidic protein RNA," *J. Neurosci. Res.*, **38**, No. 4, 376-385 (1994).
  83. D. Triolo, G. Dina, I. Lorenzetti, et al., "Loss of glial fibrillary acidic protein (GFAP) impairs Schwann cell proliferation and delays nerve regeneration after damage," *J. Cell Sci.*, **119**, Part 19, 3981-3993 (2006).
  84. M. Sugaya-Fukasawa, T. Watanabe, M. Tamura, et al., "Glial fibrillary acidic protein is one of the key factors underlying neuron-like elongation in PC12 cells," *Exp. Ther. Med.*, **2**, No. 1, 85-87 (2011).
  85. J. H. Kim, S. J. Kwon, M. C. Stankewich, et al., "Reactive protoplasmic and fibrous astrocytes contain high levels of calpain-cleaved alpha 2 spectrin," *Exp. Mol. Pathol.*, **100**, No. 1, 1-7 (2016).
  86. S. Safavi-Abbasi, J. R. Wolff, and M. Missler, "Rapid morphological changes in astrocytes are accompanied by redistribution but not by quantitative changes of cytoskeletal proteins," *Glia*, **36**, No. 1, 102-115 (2001).
  87. B. D. Gulbransen and K. A. Sharkey, "Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract," *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **9**, No. 11, 625-632 (2012).
  88. G. B. von Boyen, M. Steinkamp, M. Reinshagen, et al., "Proinflammatory cytokines increase glial fibrillary acidic protein expression in enteric glia," *Gut*, **53**, No. 2, 222-228 (2004).
  89. C. Laranjeira, K. Sandgren, N. Kessaris, et al., "Glial cells in the mouse enteric nervous system can undergo neurogenesis in response to injury," *J. Clin. Invest.*, **121**, No. 9, 3412-3424 (2011).
  90. EPA/630/R-95/001, "Guidelines for neurotoxicity risk assessment," *Fed. Register*, **63**, 26926-26954 (1998).
  91. G. Baydas, V. S. Nedzvetskii, M. Tuzcu, et al., "Increase of glial fibrillary acidic protein and S-100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effects of vitamin E," *Eur. J. Pharmacol.*, **462**, Nos. 1/3, 67-71 (2003).
  92. V. S. Nedzvetsky, M. Tuzcu, A. Yasar, et al., "Effects of vitamin E against aluminum neurotoxicity in rats," *Biochemistry*, **71**, No. 3, 239-244 (2006).
  93. K. Kaneko, A. Nakamura, K. Yoshida, et al., "Glial fibrillary acidic protein is greatly modified by oxidative stress in aceruloplasminemia brain," *Free Radical Res.*, **36**, No. 3, 303-306 (2002).
  94. C. S. Chiang, W. H. McBride, and H. R. Withers, "Radiation-induced astrocytic and microglial responses in mouse brain," *Radiother. Oncol.*, **29**, No. 1, 60-68 (1993).
  95. M. Carballo-Quintás, I. Martínez-Silva, C. Cadarso-Suárez, et al., "A study of neurotoxic biomarkers, c-fos and GFAP after acute exposure to GSM radiation at 900 MHz in the picrotoxin model of rat brains," *Neurotoxicology*, **32**, No. 4, 478-494 (2011).
  96. D. Schiffer and V. Fiano, "Astrogliosis in ALS: possible interpretations according to pathogenetic hypotheses," *Amyotroph. Lateral. Scler. Other Motor Neuron. Disord.*, **5**, No. 1, 22-25 (2004).
  97. E. C. Hirsch, T. Breidert, E. Rousset, et al., "The role of glial reaction and inflammation in Parkinson's disease," *Ann. New York Acad. Sci.*, **991**, 214-228 (2003).
  98. K. L. Goodison, I. M. Parhad, C. L. White, et al., "Neuronal and glial gene expression in neocortex of Down's syndrome and Alzheimer's disease," *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **52**, No. 3, 192-198 (1993).
  99. G. W. Ross, J. P. O'Callaghan, and D. S. Sharp, "Quantification of regional glial fibrillary acidic protein levels in Alzheimer's disease," *Acta Neurol. Scand.*, **107**, No. 5, 318-323 (2003).
  100. S. S. Panter, J. D. McSwigan, and I. R. Sheppard, "Glial fibrillary acidic protein and Alzheimer's disease," *Neurochem. Res.*, **10**, No. 12, 1567-1576 (1985).
  101. G. Levi, M. Patrizio, A. Bernardo, et al., "Human immunodeficiency virus coat protein gp120 inhibits the beta-adrenergic regulation of astroglial and microglial functions," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, No. 4, 1541-1545 (1993).
  102. P. G. Kennedy, E. O. Major, R. K. Williams, and S. E. Straus, "Down-regulation of glial fibrillary acidic protein expression during acute lytic varicella-zoster virus infection of cultured human astrocytes," *Virology*, **205**, No. 2, 558-562 (1994).
  103. L. Rinaman, J. P. Card, and L. W. Enquist, "Spatiotemporal responses of astrocytes, ramified microglia, and brain macrophages to central neuronal infection with pseudorabies virus," *J. Neurosci.*, **13**, No. 2, 685-702 (1993).
  104. S. E. Arnold, B. R. Franz, J. Q. Trojanowski, et al., "Glial fibrillary acidic protein-immunoreactive astrocytosis in elderly patients with schizophrenia and dementia," *Acta Neuropathol.*, **91**, No. 3, 269-277 (1996).
  105. E. Danzer, L. Zhang, A. Radu, et al., "Amniotic fluid levels of glial fibrillary acidic protein in fetal rats with retinoic acid induced myelomeningocele: a potential marker for spinal cord injury," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **204**, No. 2, 178, e1-11 (2011).
  106. P. E. Vos, M. van Gils, T. Beems, et al., "Increased GFAP and S100beta but not NSE serum levels after subarachnoid haemorrhage are associated with clinical severity," *Eur. J. Neurol.*, **13**, No. 6, 632-638 (2006).
  107. J. Steiner, H. Bielau, H. G. Bernstein, et al., "Increased cerebrospinal fluid and serum levels of S100B in first-onset schizophrenia are not related to a degenerative release of glial fibrillary acidic protein, myelin basic protein and neurone-specific enolase from glia or neurons," *J. Neurol., Neurosurg., Psychiat.*, **77**, No. 11, 1284-1287 (2006).
  108. P. Wei, W. Zhang, L. S. Yang, et al., "Serum GFAP autoantibody as an ELISA-detectable glioma marker," *Tumour Biol.*, **34**, No. 4, 2283-2292 (2013).
  109. Z. Zhang, J. S. Zoltewicz, S. Mondello, et al., "Human traumatic brain injury induces autoantibody response against glial fibrillary acidic protein and its breakdown products," *PLoS One*, **9**, No. 3, e92698 (2014).
  110. C. F. Lucchinetti, Y. Guo, B. F. Popescu, et al., "The pathology of an autoimmune astrocytopathy: lessons learned from neuromyelitis optica," *Brain Pathol.*, **24**, No. 1, 83-97 (2014).
  111. A. Ishigami, H. Masutomi, S. Handa, et al., "Mass spectrometric identification of citrullination sites and immunohistochemical detection of citrullinated glial fibril-



- lary acidic protein in Alzheimer's disease brains," *J. Neurosci. Res.*, **93**, No. 11, 1664-1674 (2015).
112. A. J. Mehta, "Alcoholism and critical illness: a review," *World J. Crit. Care Med.*, **5**, No. 1, 27-35 (2016).
113. C. J. Wilhelm, J. G. Hashimoto, and M. L. Roberts, et al., "Astrocyte dysfunction induced by alcohol in females but not males," *Brain Pathol.*, **19**, doi: 10.1111/bpa (2015).
114. H. Franke, H. Kittner, P. Berger, et al., "The reaction of astrocytes and neurons in the hippocampus of adult rats during chronic ethanol treatment and correlations to behavioral impairments," *Alcohol*, **14**, No. 5, 445-454 (1997).
115. C. Bull, W. A. Syed, S. C. Minter, and M. S. Bowers, "Differential response of glial fibrillary acidic protein-positive astrocytes in the rat prefrontal cortex following ethanol self-administration," *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **39**, No. 4, 650-658 (2015).
116. K. P. Reis, L. Heimfarth, P. Pierozan, et al., "High postnatal susceptibility of hippocampal cytoskeleton in response to ethanol exposure during pregnancy and lactation," *Alcohol*, **49**, No. 7, 665-674 (2015).
117. S. Vallés, J. Pitarch, J. Renau-Piqueras, and C. Guerri, "Ethanol exposure affects glial fibrillary acidic protein gene expression and transcription during rat brain development," *J. Neurochem.*, **69**, No. 6, 2484-2493 (1997).
118. C. Guerri and J. Renau-Piqueras, "Alcohol, astroglia, and brain development," *Mol. Neurobiol.*, **15**, No. 1, 65-81 (1997).
119. A. O. Тихомиров, В. С. Недзвецкий, М. В. Ліпка та ін., "Ушкодження астролії та перекисне окиснення ліпідів у головному мозку щурів в умовах хронічної алкоголізації: протекторний вплив гідратованих форм фулерену C<sub>60</sub>", *Neurophysiology/Нейрофізіологія*, **39**, № 2, 119-125 (2007).
120. A. A. Tykomyrov, V. S. Nedzvetsky, V. K. Klochkov, and G. V. Andrievsky, "Nanostructures of hydrated C60 fullerene (C60HyFn) protect rat brain against alcohol impact and attenuate behavioral impairments of alcoholized animals," *Toxicology*, **246**, Nos. 2/3, 158-165 (2008).
121. A. A. Tikhomirov, G. V. Andrievsky, and V. S. Nedzvetsky, "Disorders in the cytoskeleton of astroglia and neurons in the rat brain induced by long-lasting exposure to ethanol and correction of these shifts by hydrated fullerene C<sub>60</sub>", *Neurophysiology*, **40**, No. 4, 279-287 (2008).
122. A. D. Thomson, "Mechanisms of vitamin deficiency in chronic alcohol misusers and the development of the Wernicke-Korsakoff syndrome," *Alcohol Alcohol. Suppl.*, **35**, No. 1, 2-7 (2000).
123. Y. M. Parkhomenko, P. A. Kudryavtsev, S. Y. Pylypchuk, et al., "Chronic alcoholism in rats induces a compensatory response, preserving brain thiamine diphosphate, but the brain 2-oxo acid dehydrogenases are inactivated despite unchanged coenzyme levels," *J. Neurochem.*, **117**, No. 6, 1055-1065 (2011).
124. A. Sharma, R. Bist, and P. Bubber, "Thiamine deficiency induces oxidative stress in brain mitochondria of *Mus musculus*," *J. Physiol. Biochem.*, **69**, No. 3, 539-546 (2013).
125. S. S. Karuppagounder, H. Xu, Q. Shi, et al., "Thiamine deficiency induces oxidative stress and exacerbates the plaque pathology in Alzheimer's mouse model," *Neurobiol. Aging*, **30**, No. 10, 1587-1600 (2009).
126. A. S. Hazell, "Astrocytes are a major target in thiamine deficiency and Wernicke's encephalopathy," *Neurochem. Int.*, **55**, Nos. 1/3, 129-135 (2009).
127. A. S. Hazell, K. V. Rao, N. C. Danbolt, et al., "Selective down-regulation of the astrocyte glutamate transporters GLT-1 and GLAST within the medial thalamus in experimental Wernicke's encephalopathy," *J. Neurochem.*, **78**, No. 3, 560-568 (2001).
128. P. Desjardins, K. G. Todd, A. S. Hazell, and R. F. Butterworth, "Increased "peripheral-type" benzodiazepine receptor sites and mRNA in thalamus of thiamine-deficient rats," *Neurochem. Int.*, **35**, No. 5, 363-369 (1999).
129. S. Afadlal, R. Labetoulle, and A. S. Hazell, "Role of astrocytes in thiamine deficiency," *Met. Brain Dis.*, **29**, No. 4, 1061-1068 (2014).
130. R. Peters, "Ageing and the brain," *Postgrad. Med. J.*, **82**, No. 964, 84-88 (2006).
131. J. P. David, F. Ghazali, C. Fallet-Bianco, et al., "Glial reaction in the hippocampal formation is highly correlated with aging in human brain," *Neurosci. Lett.*, **235**, Nos. 1/2, 53-56 (1997).
132. J. A. Sloane, W. Hollander, D. L. Rosene, et al., "Astrocytic hypertrophy and altered GFAP degradation with age in subcortical white matter of the rhesus monkey," *Brain Res.*, **862**, Nos. 1/2, 1-10 (2000).
133. Y. Wu, A. Q. Zhang, and D. T. Yew, "Age related changes of various markers of astrocytes in senescence-accelerated mice hippocampus," *Neurochem. Int.*, **46**, No. 7, 565-574 (2005).
134. M. Sabbatini, P. Barili, E. Bronzetti, et al., "Age-related changes of glial fibrillary acidic protein immunoreactive astrocytes in the rat cerebellar cortex," *Mech. Ageing Dev.*, **108**, No. 2, 165-172 (1999).
135. I. Jalenques, A. Burette, E. Albuissou, and R. Romand, "Age-related changes in GFAP-immunoreactive astrocytes in the rat ventral cochlear nucleus," *Hear. Res.*, **107**, Nos. 1/2, 113-124 (1997).
136. M. T. Berciano, M. A. Andres, E. Calle, and M. Lafarga, "Age-induced hypertrophy of astrocytes in rat supraoptic nucleus: a cytological, morphometric, and immunocytochemical study," *Anat. Rec.*, **243**, No. 1, 129-144 (1995).
137. H. J. Jyothi, D. J. Vidyadhara, A. Mahadevan, et al., "Aging causes morphological alterations in astrocytes and microglia in human substantia nigra pars compacta," *Neurobiol. Aging*, **36**, No. 12, 3321-3333 (2015).
138. S. Sharma, T. C. Nag, A. Thakar, et al., "The aging human cochlear nucleus: changes in the glial fibrillary acidic protein, intracellular calcium regulatory proteins, GABA neurotransmitter and cholinergic receptor," *J. Chem. Neuroanat.*, **56**, 1-12 (2014).
139. A. Catalani, M. Sabbatini, C. Consoli, et al., "Glial fibrillary acidic protein immunoreactive astrocytes in developing rat hippocampus," *Mech. Ageing Dev.*, **123**, No. 5, 481-490 (2002).
140. F. Amenta, E. Bronzetti, M. Sabbatini, and J. A. Vega, "Astrocyte changes in aging cerebral cortex and hippocampus: a quantitative immunohistochemical study," *J. Microscop. Res. Tech.*, **43**, No. 1, 29-33 (1998).
141. N. Hayakawa, H. Kato, and T. Araki, "Age-related changes of astrocytes, oligodendrocytes and microglia in the mouse hippocampal CA1 sector," *Mech. Ageing Dev.*, **128**, No. 4, 311-316 (2007).

142. I. K. Hwang, J. H. Choi, H. Li, et al., "Changes in glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in the dentate gyrus and hippocampus proper of adult and aged dogs," *J. Vet. Med. Sci.*, **70**, No. 9, 965-969 (2008).
143. C. E. Finch, "Neurons, glia, and plasticity in normal brain aging," *Adv. Gerontol.*, **10**, 35-39 (2002).
144. A. Latour, B. Grinvald, G. Champeil-Potokar, et al., "Omega-3 fatty acids deficiency aggravates glutamatergic synapse and astroglial aging in the rat hippocampal CA1," *Aging Cell.*, **12**, No. 1, 76-84 (2013).
145. J. R. Day, A. T. Frank, J. P. O'Callaghan, et al., "The effect of age and testosterone on the expression of glial fibrillary acidic protein in the rat cerebellum," *Exp. Neurol.*, **151**, No. 2, 343-346 (1998).
146. C. P. Anderson, I. Rozovsky, D. J. Stone, et al., "Aging and increased hypothalamic glial fibrillary acid protein (GFAP) mRNA in F344 female rats. Dissociation of GFAP inducibility from the luteinizing hormone surge," *Neuroendocrinology*, **76**, No. 2, 121-130 (2002).