

УДК: 612.82.084:575.113:[616.831-005.4-06:616.34-008.87
DOI: 10.24061/2413-4260.XVI.1.59.2026.27

С. С. Ткачук, С. О. Кисилиця, О. В. Ткачук

Буковинський державний медичний університет
(м. Чернівці, Україна)

**РЕАКЦІЯ ГЕНА РАННЬОЇ
ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ
C-FOS У ПРЕФРОНТАЛЬНІЙ КОРИ ТА
ПОЛІ ГІПОКАМПА СА1 НА НЕПОВНУ
ГЛОБАЛЬНУ ІШЕМІЮ-РЕПЕРФУЗІЮ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ У ЩУРІВ ІЗ
КИШЕЧНИМ ДИСБАКТЕРІОЗОМ**

Резюме.

На сьогодні як в експерименті, так і в клініці, накопичено достатньо фактів щодо композиційних змін мікробіому кишкового тракту при інсультах. Водночас, порушення кишкового мікробіому та його метаболітів є частиною патогенезу нейродегенеративних розладів при інсультах. Отже, вісь «мікробіота кишкового тракту-мозок» є двобічною комунікаційною мережею, однак досі залишається багато невизначених механізмів взаємодії її складових. Дослідження *in vivo* та *in vitro* показала, що ген *c-fos*, який кодує ядерний білок *c-Fos*, відіграє важливу роль у регуляції запрограмованої загибелі нейронів при інсультах. Однак його реакція у структурах мозку на порушення функціонального стану осі «мікробіота кишкового тракту-мозок» при порушенні церебрального кровотоку на тлі дисбактеріозу залишається майже недослідженою.

Мета роботи – з'ясувати вплив неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку на активність гена *c-Fos* (за вмістом продукту його кодування – білка *c-Fos*) у префронтальній корі та полі гіпокампа СА1 щурів із кишечним дисбактеріозом.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведені на 40 статевозрілих щурах-самцях, розподілених на 4 групи: I – контроль; II – каротидна ішемія-реперфузія головного мозку; III – дисбактеріоз; IV – каротидна ішемія-реперфузія на тлі дисбактеріозу. Дисбактеріоз моделювали введенням цефтріаксону (АЦС Добфар СПА, Італія) раз на добу 14 днів, 300 мг/кг внутрішньом'язово. Неповну глобальну ішемію-реперфузію головного мозку моделювали двобічною оклюзією загальних сонних артерій протягом 20 хв. із подальшою одногодинною реперфузією, що дозволяє оцінити реакцію мозку у межах терапевтичного вікна при інсультах. Після цього під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг) здійснювали декапітацію тварин, головний мозок швидко вилучали на холоді, згідно з координатами стереотаксичного атласу забирали префронтальну кору та гіпокамп і занурювали їх у розчин Буена. Використовуючи ротарійний мікромом робили серійні зрізи завтовшки 5 мкм, депарафінували їх у ксилолі, здійснювали регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100%, 96%, 70%), відмивали у 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) і обробляли моноклональними антитілами до *c-Fos* антигенних детермінант. Ідентифікацію *c-Fos* у гістологічних зрізах досліджуваних структур мозку здійснювали методом непрямой імунофлуоресценції, застосовуючи комп'ютерну систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 («Kontron Elektronik», Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі. Зображення за допомогою високочутливої відеокамери COHU-4722 (COHU Inc., США) вводили в комп'ютерну систему цифрового аналізу VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) і оцифровували за денситометричною шкалою. Експериментальні втручання та етаназію тварин здійснювали згідно з основними положеннями Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.; Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Комісією з біоетики Буковинського державного медичного університету порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 5 від 16.12.2024). Отримані результати опрацьовані пакетом прикладних і статистичних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина), EXCEL з пакета MS Office 2007 (Microsoft Corp., США). Розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності відмінностей між показниками визначали коефіцієнт Стьюдента (t), ймовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05. Дослідження виконане у межах НДР «Механізми нейроімуноендокринної взаємодії, фактори ризику їх дизрегуляції та можливості фармакологічної корекції», реєстраційний номер 0124U002609. Термін виконання 12.2024-12.2028 рр.

Результати дослідження. Каротидна ішемія-реперфузія призводила до достовірного зростання усіх вивчених показників, що характеризують реакцію *c-Fos*-імунопозитивних нейронів префронтальної кори: щільність розташування *c-Fos*-імунопозитивних нейронів зросла на 25%, сумарна площа флуоресценції (СПФ), площа флуоресценції, пов'язана з дифузною імунореактивністю (ПФДІ) у 64 та 9,5 рази відповідно. Характерно, що у цій зоні кори площа флуоресценції, пов'язана з клітинною імунореактивністю (ПФКІ) у тварин групи контролю не визначалася, що засвідчує відсутність активності гена *c-fos* у клітинах у стані функціонального спокою. Однак ішемія-реперфузія призвела до активації цього показника, який сягав значень $2,959 \pm 0,601$. Зросли також у цій структурі загальна концентрація білка *cFos* ($Kc-Fos$) і концентрація, пов'язана з дифузною імунореактивністю ($Kc-FosDI$), у 93,8 та 10,8 рази відповідно. Водночас концентрація *c-FOS* білка, пов'язана з клітинною імунореактивністю ($Kc-FosKI$), як і слід було очікувати, зважаючи на нульові значення ПФКІ, не визначалася, однак у постішемичному періоді вона становила $9,463 \pm 2,186$ ОІФ. За цих же експериментальних умов у полі гіпокампа СА1 усі досліджені показники, що характеризують реакцію *c-Fos*-імунопозитивних нейронів, також перевищували контрольні: щільність розташування *cFos*-імунопозитивних нейронів на 25%, СПФ, ПФДІ та ПФКІ – у 22,8, 22 та 23 рази, $KcFos$, $Kc-FosDI$ та $Kc-FosKI$ у 36,4, 12,5 та 54,33 рази відповідно.

У префронтальній корі та гіпокампі щурів із дисбактеріозом порівняно з показниками у групі контролю щільність розташування *cFos*-імунопозитивних нейронів була вищою на 14 та 35% відповідно, значення СПФ і ПФДІ – у 24 та 9,9 рази та 18,3 і 26,6 рази відповідно; у корі визначена також ПФКІ, значення якої становило $0,751 \pm 0,258$, у гіпокампі ж цей показник зріс у 14,8 рази щодо показника у тварин контролю. У корі встановлено також зростання $Kc-Fos$ і $Kc-FosDI$ у 32,7 та 12,6 рази відповідно, а значення $Kc-FosKI$ становило $(2,296 \pm 0,827)$; у гіпокампі параметри $Kc-Fos$, $Kc-FosDI$ та $Kc-FosKI$ стали вищими в 11,7, 8,9 та 13,9 рази.

Реакція *c-Fos*-реактивних нейронів на ішемію-реперфузію у щурів із дисбактеріозом була суттєвішою як порівняно з показниками після ішемії-реперфузії у щурів групи контролю, так і стосовно показників при дисбактеріозі: у префронтальній корі та гіпокампі щільність розташування *c-Fos*-імунопозитивних нейронів перевищувала на 21 та 11% показники при дисбактеріозі та на 10 і 20% – постішемичні значення у тварин без дисбактеріозу. СПФ, ПФДІ, ПФКІ, *Kc-Fos*, *Kc-Fos*ДІ та *Kc-Fos*КІ у корі були вищими у 7,5, 2,9, 10,9, 8,38, 2,85 та 11,82 рази стосовно дисбактеріозу та у 2,8, 3,0, 2,8, 2,9, 3,3 та 2,9 рази відповідно щодо постішемичних показників без дисбактеріозу. У гіпокампі СПФ, ПФДІ, ПФКІ, *Kc-Fos*, *Kc-Fos*ДІ та *Kc-Fos*КІ перевищували відповідні показники при дисбактеріозі у 4,2, 1,7, 6,2, 9,7, 5,8, 11,6 рази та показники при ішемії-реперфузії у контрольних тварин у 3,4, 2,1, 3,9, 3,1, 3,9 та 3,0 рази.

Висновки. 1. Гостре порушення церебрального кровотоку в басейні сонних артерій та кишечний дисбактеріоз мають односпрямований вплив на зміни *c-Fos* імунореактивності у префронтальній корі та полі гіпокампа СА1, збільшуючи як щільність розташування *c-Fos* нейронів, так і площу імунореактивності, однак при цьому спостерігаються кількісні відмінності, що залежать як від досліджуваної структури, так і експериментальної моделі. 2. Найсуттєвіше зростання вмісту білка *c-Fos* встановлено при моделюванні ішемії-реперфузії головного мозку на тлі дисбактеріозу. 3. При всіх експериментальних моделях зростання білка *c-Fos* відбувається переважно за рахунок підвищення його концентрації, а не збільшення кількості *c-Fos*-позитивних клітин.

Ключові слова: неповна глобальна ішемія-реперфузія; кишечний дисбактеріоз; префронтальна кора; гіпокамп; ген *c-fos*; білок *c-FOS*.

Вступ

Двобічні причинно-наслідкові зв'язки між дисбактеріозом кишечної мікробіоти та нейродегенеративними захворюваннями, зокрема інсультами, на сьогодні вважаються доведеним фактом [1-3]. З одного боку, шлунково-кишкові ускладнення інсульту значною мірою зумовлені дисбактеріозом кишечника, що формується за цих умов. Клінічно це підтверджено змінами таксономічного складу мікробіоти у зразках фекалій пацієнтів не лише з інсультами, а навіть із транзиторними ішемічними атаками, що засвідчує високу чутливість кишкового мікробіому до ішемічних станів мозку [4]. Такі ускладнення поглиблюють неврологічний дефіцит, збільшують смертність та погіршують результати постінсультної реабілітації [2, 5]. Якщо клінічні спостереження дають змогу констатувати факт формування дисбактеріозу, то експериментальними дослідженнями встановлені деякі механізми формування постішемічного дисбалансу мікробіому, зокрема пригнічення системного імунітету [6, 7], індукція церебральної прозапальної реакції через підвищену експресію прозапальних цитокінів Th17 (IL-17+) і Th1 (IFN- γ +) клітин [7, 8], активація симпатичної нервової системи та індукція стрес-реакції, порушення моторики кишечника [9, 10]. Характерно, що в експерименті значні зміни складу мікробіоти слизової на всіх таксономічних рівнях відбуваються вже через добу, а починаються з 3-ї години ішемії мозку [11]. Отже, на сьогодні накопичена достатня кількість фактів, що засвідчують композиційні зміни мікробіому кишечника під впливом інсультів порівняно зі здоровими особами як в експерименті, так і в клініці. Мозок також впливає на кишковий мікробіом через рецептори до нейромедіаторів на бактеріях. Він регулює моторику кишечника, секрецію, утворення слизу, проникність та імунну функцію [2, 4, 8].

Зі свого боку порушення кишкового мікробіому та його метаболітів беруть участь у патогенезі нейродегенеративних розладів, зокрема, при інсультах [12, 13]. Більшість існуючих досліджень демонструють залежність між ступенем дисбіозу та тяжкістю перебігу і наслідками інсульту. Окрім метаболітів, мікро-

біом має здатність впливати на вісь «кишечник-мозок», продукуючи різноманітні нейромедіатори (ацетилхолін, гістамін, норадреналін, дофамін, гамма-аміномасляну кислоту та серотонін, [14, 15], які змінюють морфофункціональний стан кишкового бар'єра, модулюють активність сенсорних аферентів, здійснюють імунну активацію в слизовій оболонці. Отже, вісь «мікробіота кишечника-мозок» є двобічною комунікаційною мережею, однак досі залишається багато невизначених механізмів взаємодії її складових.

Одним із найбільш ранніх маркерів клітинної активності мозку, що виникає у відповідь на широкий спектр подразників, у тому числі – ішемію мозку – є ген *c-fos*, який кодує ядерний білок *c-Fos* [16, 17]. Велика кількість досліджень *in vivo* та *in vitro* показала, що цей транскрипційний фактор відіграє важливу роль у регуляції запрограмованої загибелі нейронів при інсультах [17-21]. Однак його реакція у структурах мозку на порушення функціонального стану осі «мікробіота кишечника-мозок» при дисбактеріозі та порушенні церебрального кровотоку на тлі дисбактеріозу залишається майже недослідженою.

Мета роботи – з'ясувати вплив неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку на активність гена *c-Fos* (за вмістом продукту його кодування – білка *c-Fos*) у префронтальній корі та полі гіпокампа СА1 щурів із кишечним дисбактеріозом.

Матеріал та методи дослідження

Дослідження проведені на 40 шестимісячних щурах-самцях, розподілених на 4 групи: I – контроль; II – каротидна ішемія-реперфузія головного мозку; III – дисбактеріоз; IV – каротидна ішемія-реперфузія на тлі дисбактеріозу. Тварин утримували відповідно до санітарно-гігієнічних вимог догляду за тваринами, в умовах звичайного світлового і температурного режимів віварію.

Дисбактеріоз моделювали введенням цефтріаксону (АЦС Добфар СПА, Італія) раз на добу впродовж 14 днів у дозі 300 мг/кг внутрішньом'язово [22]. Протягом експериментів контролювали масу тіла, споживання їжі та води.

Неповну глобальну ішемію-реперфузію головного мозку моделювали двобічною оклюзією загальних сонних артерій протягом 20 хв. із подальшою одногодинною реперфузією, що дає змогу оцінити ранню реакцію мозку на втручання, яка знаходиться у межах терапевтичного вікна при інсультах [23]. Така двосудинна оклюзія забезпечує дифузне зниження кровотоку в усьому мозку з найбільш суттєвим падінням напруги кисню (до 4–8 мм рт. ст.) у великих півкулях та є тригером основних патогенетичних ланок ішемічного каскаду та реперфузійного пошкодження, характерних для зони пенумбри [23].

По завершенні терміну спостереження під каліп-соловим наркозом (75 мг/кг) здійснювали декапітацію тварин, головний мозок швидко вилучали на холоді і користуючись координатами стереотаксичного атласу [24] забирали відділи мозку, що містять префронтальну кору та гіпокамп та відразу занурювали їх у розчин Буена. За допомогою ротаційного мікротома робили серійні зрізи завтовшки 5 мкм, депарафінували їх у ксилолі, здійснювали регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100%, 96%, 70%), у 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) і обробляли моноклональними антитілами до *c-Fos* антигенних детермінант.

Визначення *c-Fos* у гістологічних зрізах досліджуваних структур мозку здійснювали методом непрямі імунофлуоресценції. Протеїн *c-Fos* у нейронах досліджуваних структур ідентифікували, застосовуючи комп'ютерну систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 («Kontron Elektronik», Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі. Зображення, що отримували на мікроскопі AXIOSKOP, за допомогою високочутливої відеокамери COHU-4722 (COHU Inc., США) вводили в комп'ютерну систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) і оцифровували за денситометричною шкалою з 256 градаціями сірого кольору. У скануючому режимі вивчили всі поля зору у структурах, що вивчалися.

Експериментальні втручання та евантазію тварин здійснювали, дотримуючись основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.; Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Комісією з біоетики Буковинського державного медичного університету порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 5 від 16.12.2024).

При виборі структур для дослідження керувалися даними літератури щодо впливу кишечного мікробіому на регуляцію у центральній нервовій системі нейрогенезу та когнітивних функцій [16, 17]. Авторами встановлено, що у тварин дисбактеріоз ініціює нейрозапалення та погіршує пам'ять, підвищуючи активацію транскрипційного фактора NF- κ B та експресію TNF, а відновлення складу мікробіоти зменшує нейрозапалення в гіпокампі та корі, покращуючи відповідні симптоми. Серед багатьох досліджених ділянок мозку експресія *c-Fos* при дії різних несприятливих чинників була найінтенсивнішою в полі гіпокампа CA1, яке є критично важливим для формування довготривалої просторової пам'яті, а також у префронтальній корі, яка відповідає за вищі когнітивні функції, робочу

пам'ять та прийняття рішень [26–28], тобто, функції, які страждають у постінсультному періоді.

Отримані результати опрацьовані пакетом прикладних і статистичних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина), EXCEL з пакета MS Office 2007 (Microsoft Corp., США). Розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності відмінностей між показниками визначали коефіцієнт Стьюдента (t), ймовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

Дослідження виконане у межах НДР «Механізми нейроімуноендокринної взаємодії, фактори ризику їх дизрегуляції та можливості фармакологічної корекції», реєстраційний номер 0124U002609. Термін виконання – 12.2024-12.2028.

Результати та їх обговорення

Як бачимо з даних, представлених у табл. 1, оклюзія сонних артерій із подальшою реперфузією призводила до достовірного перевищення порівняно з контролем усіх вивчених показників, що характеризують реакцію *c-Fos*-імунопозитивних нейронів префронтальної кори на ішемію-реперфузію. Зокрема, щільність розташування *c-Fos*-імунопозитивних нейронів виявилася вищою на 25%, відносна площа флуоресценції (СПФ), площа флуоресценції, пов'язана з дифузною імунореактивністю (ПФДІ) – у 64 та 9,5 раза відповідно. Характерно, що у цій зоні кори площа флуоресценції, пов'язана з клітинною імунореактивністю (ПФКІ) у тварин групи контролю не визначалася, що засвідчує відсутність активності гена *c-fos* у клітинах у стані функціонального спокою. Однак ішемія-реперфузія призвела до активації цього показника, який сягав значень $2,959 \pm 0,601$.

Перевищували контрольні значення у цій структурі також загальна концентрація білка *c-Fos* (Кс-*Fos*) і концентрація, пов'язана з дифузною імунореактивністю (Кс-*Fos*ДІ), – у 93,8 та 10,8 раза відповідно. Незважаючи на те, що концентрація *c-FOS* білка у тварин групи контролю, пов'язана з клітинною імунореактивністю (Кс-*Fos*КІ), як і слід було очікувати з огляду на нульові значення ПФКІ не визначалася, однак у постішемічному періоді вона становила $9,463 \pm 2,186 O_{\text{ф}}$.

За цих же експериментальних умов у полі гіпокампа CA1 усі досліджені показники, що характеризують реакцію *c-Fos*-імунопозитивних нейронів, також зазнали достовірного зростання (табл. 2), хоча і з іншими кількісними характеристиками. Щільність розташування *c-Fos*-імунопозитивних нейронів зросла на 25%, СПФ, ПФДІ та ПФКІ – у 22,8, 22 та 23 рази відповідно. На відміну від префронтальної кори, у гіпокампі ПФКІ у тварин групи контролю визначалася. Можливо, це пов'язано з важливими функціями цього поля гіпокампа у процесах орієнтації у просторі та консолидації слідів пам'яті, внаслідок чого у його нейронах відбувається постійна обробка даних [26, 27]. У цьому полі гіпокампа встановлено також підвищення Кс-*Fos*, Кс-*Fos*ДІ та Кс-*Fos*КІ у 36,4, 12,5 та 54,3 раза відповідно. Загалом, незважаючи на більш низькі базальні значення досліджених показників експресії *c-Fos* у полі CA1 порівняно з корою, ступінь їх активації за умов ішемії-реперфузії достатньо високий.

Таблиця 1

Реакція c-Fos-імунопозитивних нейронів префронтальної кори на ішемію-реперфузію у щурів групи контролю та на тлі кишечного дисбактеріозу ($M \pm m$)

Показник	Групи спостереження			
	Контроль	Ішемія-реперфузія	Дисбактеріоз	Дисбактеріоз та ішемія-реперфузія
Щільність розташування c-Fos-імунопозитивних нейронів / мм^2	237,115 \pm 2,646	296,151 \pm 2,148 P<0,005	271,261 \pm 1,939 P<0,005	327,218 \pm 2,748 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Сумарна площа флуоресценції (мм^2)	0,054 \pm 0,015	3,470 \pm 0,642 P<0,005	1,293 \pm 0,331 P<0,01	9,765 \pm 0,721 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Площа флуоресценції, – дифузна імуноре-активність (мм^2)	0,054 \pm 0,015	0,511 \pm 0,122 P<0,005	0,539 \pm 0,141 P<0,005	1,547 \pm 0,207 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Площа флуоресценції – клітинна імуноре-активність (мм^2)	0 \pm 0	2,959 \pm 0,601	0,751 \pm 0,258	8,217 \pm 0,732 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Концентрація c-FOS білка, $O_{\text{ю}}$	0,114 \pm 0,032	10,700 \pm 2,278 P<0,005	3,727 \pm 0,567 P<0,005	31,229 \pm 2,625 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Концентрація c-FOS білка – дифузна імунореактивність $O_{\text{ф}}$	0,114 \pm 0,032	1,237 \pm 0,312 P<0,01	1,431 \pm 0,089 P<0,01	4,078 \pm 0,383 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Концентрація c-FOS білка – клітинна імунореактивність $O_{\text{ф}}$	0 \pm 0	9,463 \pm 2,186	2,296 \pm 0,827	27,151 \pm 2,646 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005

Примітки: вірогідність змін щодо показників: P – у контрольних тварин; P₁ – у тварин з ішемією-реперфузією головного мозку без дисбактеріозу; P₂ – у тварин із дисбактеріозом.

Таблиця 2

Реакція c-Fos-імунопозитивних нейронів поля гіпокампа CA1 на ішемію-реперфузію у щурів групи контролю та на тлі кишечного дисбактеріозу ($M \pm m$)

Показник	Групи спостереження			
	Контроль	Ішемія-реперфузія	Дисбактеріоз	Дисбактеріоз та ішемія-реперфузія
Щільність розташування c-Fos-імунопозитивних нейронів / мм^2	197,919 \pm 1,639	248,151 \pm 2,219 P<0,005	267,164 \pm 2,628 P<0,005	297,113 \pm 2,251 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Сумарна площа флуоресценції (мм^2)	0,096 \pm 0,011	2,186 \pm 0,442 P<0,01	1,761 \pm 0,201 P<0,005	7,425 \pm 0,511 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Площа флуоресценції, – дифузна імуноре-активність (мм^2)	0,029 \pm 0,009	0,638 \pm 0,172 P<0,01	0,772 \pm 0,211 P<0,01	1,309 \pm 0,116 P ₁ <0,01 P ₂ <0,025
Площа флуоресценції – клітинна імуноре-активність (мм^2)	0,067 \pm 0,012	1,548 \pm 0,546 P<0,05	0,989 \pm 0,086 P<0,005	6,116 \pm 0,248 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Концентрація c-FOS білка, $O_{\text{ю}}$	0,229 \pm 0,012	8,344 \pm 1,216 P<0,005	2,689 \pm 0,063 P<0,005	26,109 \pm 2,063 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Концентрація c-FOS білка – дифузна імунореактивність $O_{\text{ф}}$	0,098 \pm 0,012	1,226 \pm 0,092 P<0,005	0,870 \pm 0,089 P<0,005	5,004 \pm 0,362 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005
Концентрація c-FOS білка – клітинна імунореактивність $O_{\text{ф}}$	0,131 \pm 0,024	7,118 \pm 1,106 P<0,005	1,819 \pm 0,211 P<0,005	21,105 \pm 2,039 P ₁ <0,005 P ₂ <0,005

Примітки: вірогідність змін щодо показників: P – у контрольних тварин; P₁ – у тварин з ішемією-реперфузією головного мозку без дисбактеріозу; P₂ – у тварин із дисбактеріозом.

У префронтальній корі та гіпокампі щурів з експериментальним дисбактеріозом також виявлено суттєві зміни *c-Fos*-імунореактивності (див. таблиці 1, 2). Порівняно з аналогічними показниками у тварин групи контролю у префронтальній корі та гіпокампі щільність розташування *c-Fos*-імунопозитивних нейронів була вищою на 14 та 35% відповідно, значення СПФ та ПФДІ – у 24 та 18, 9,5 та 26,6 раза відповідно. У дослідженій зоні кори визначена також ПФКІ, значення якої становило $0,751 \pm 0,258$, у гіпокампі ж цей показник виявився вищим в 14,8 раза щодо його величини у тварин групи контролю. У корі встановлено також перевищення контрольних показників *Kc-Fos* і *Kc-FosДІ* у 32,7 та 12,6 раза відповідно, а також визначено *Kc-FosКІ* ($2,296 \pm 0,827$) – показник, який мав нульове значення у щурів групи контролю; у гіпокампі параметри *Kc-Fos*, *Kc-FosДІ* та *Kc-FosКІ* були вищими в 11,7, 8,9 та 13,9 раза порівняно з контрольними.

Отже, як ішемія-реперфузія головного мозку, так і дисбактеріоз мають односпрямований вплив на реакцію гена *c-fos* і, відповідно, продукту його активації білка *c-Fos*. Це узгоджується з даними літератури про неспецифічність реакції *c-Fos* стосовно тих чинників, які призводять до активації *c-Fos*-реактивних нейронів та глії [20, 21].

При аналізі результатів впливу ішемії-реперфузії та дисбактеріозу привертає увагу невідповідність між ступенем зростання щільності розташування *c-Fos*-імунопозитивних нейронів та площі імунофлуоресценції і вмістом білка *c-Fos*, що засвідчує на користь переважаючого зростання активації цих нейронів над їх кількістю. Така залежність характерна як для нової, так і старої кори. Як відомо, граничний рівень мозкового кровотоку для підтримання білкового синтезу становить не менше 50-60 мл/100 г за 1 хв., тоді як критичним рівнем кровотоку для синтезу мРНК гена раннього реагування *c-fos* при ішемії є 25-30 мл/100 г в 1 хв, а для накопичення *c-Fos*-білка – 35-40 мл/100 г в 1 хв, що підтверджує залежність вираженості транскрипційної активності від енергетичного метаболізму [24].

Якщо участь гена *c-fos* у відповіді на гіпоксичні стани мозку, у тому числі ішемічної природи, описана в літературі, то механізми впливу дисбактеріозу на функціональний стан осі «мікробіота кишочки-мозок» при ішемії мозку не досліджені. Є вказівки на те, що у мишей, позбавлених кишечної мікробіоти на ранніх стадіях розвитку, порушується церебральний метаболізм та експресія *c-fos* через нейрозапальні механізми та зміни нейропластичності [28], що засвідчує зв'язок дисбіозу зі змінами активності цього гена. Оскільки ішемія мозку, як і дисбіоз, асоціюється з суттєвими змінами нейрометаболізму, логічно очікувати на сумачію цих порушень.

Аналіз функціональної відповіді *c-Fos*-реактивних нейронів на ішемію-реперфузію у щурів із дисбактеріозом продемонстрував поглиблення змін як порівняно з показниками після ішемії-реперфузії у щурів групи контролю (без дисбактеріозу), так і стосовно показників при дисбактеріозі (див. таблиці 1, 2). Зокрема, у префронтальній корі та гіпокампі щільність розташування *c-Fos*-імунопозитивних нейронів перевищувала на 21 та 11% відповідно показники при дисбактеріозі та

на 10 і 20% – значення у тварин без дисбактеріозу після ішемії-реперфузії. Параметри СПФ, ПФДІ та ПФКІ у корі були вищими у 7,5, 2,9, 10,9 стосовно дисбактеріозу та у 2,8, 3,0 та 2,8 раза відповідно щодо показників при ішемії-реперфузії без дисбактеріозу. У гіпокампі СПФ, ПФДІ та ПФКІ перевищували відповідні показники при дисбактеріозі у 4,2, 1,7, 6,2 раза та показники при ішемії-реперфузії у тварин групи контролю – у 3,4, 2,1, 3,9 раза. У корі встановлено також вищі показники *Kc-Fos*, *Kc-FosДІ* та *Kc-FosКІ* у 8,38, 2,85 та 11,82 раза, ніж при дисбактеріозі, та у 2,9, 3,3 та 2,9 раза порівняно з показниками після ішемії-реперфузії у щурів групи контролю. У гіпокампі показники *Kc-Fos*, *Kc-FosДІ* та *Kc-FosКІ* були вищими, ніж при дисбактеріозі, у 9,7, 5,8, 11,6 раза та порівняно з відповідними значеннями при ішемії-реперфузії у щурів групи контролю – у 3,1, 3,9, 3,9 та 3 рази відповідно. Такі результати засвідчують коморбідність дисбактеріозу та ішемічних інсультів. Слід зазначити, що поглиблення реакції *c-Fos* на ішемію-реперфузію на тлі дисбактеріозу не мало простого адитивного характеру змін постішемічних та тих, що притаманні дисбактеріозу. Можна думати, що це посилення є результатом залучення до процесу різних посередників, адже відомо, що активація гена *c-fos* може відбуватися через різні сигнальні шляхи [25, 28]. Їх роль можуть виконувати фактори росту, інтерферони, інтерлейкіни, кальцій та ліганди G-білків. Ключовими компонентами цих шляхів є білки фосфорилування Як 1-2, тирозинкіназа 2, кальмодулінкінази та протеїнкіназа А, а основними медіаторами визнані вторинні месенджери цАМФ, ГТФ та Ca^{2+} . Вважають, що модифікація сигнальних комплексів або білків, які впливають на цАМФ, а також регуляторів транскрипційних факторів, що входять до сигнальної карти *c-fos*, можуть спрямовувати його експресію як у бік посилення, так і послаблення [16, 17]. На сьогодні в літературі не існує єдиної думки щодо оцінки підвищеної експресії гена *c-fos*. Більшість дослідників вважають, що при інсультах та інших нейродегенеративних станах підвищення експресії білка *c-Fos* можна розцінювати як сприятливий прогностичний фактор, оскільки цей білок зменшує рівень оксидативного стресу та пригнічує апоптоз і клітинну загибель [20, 21, 30]. Однак за даними інших авторів при гіперекспресії *c-Fos* може посилювати апоптоз через ATF3 (активуючий транскрипційний фактор 3), що додатково пригнічує активність промотора кінази 1 та спричиняє загибель клітин [28, 30]. Тому на підставі проведених досліджень нам важко оцінити позитивні чи негативні наслідки для досліджених ділянок мозку має встановлене зростання *c-Fos*. Сподіваємось, що подальші пошуки, спрямовані на оцінку проокисно-антиоксидантного гомеостазу та апоптозу нейронів досліджених структур мозку допоможуть дати належну оцінку представленим результатам.

Висновки

1. Гостре порушення церебрального кровотоку в басейні сонних артерій та кишечний дисбактеріоз мають односпрямований вплив на зміни *c-Fos* імунореактивності у префронтальній корі та полі гіпокампа СА1, збільшуючи як щільність розташування *c-Fos* нейронів,

так і площу імунореактивності, однак при цьому спостерігаються кількісні відмінності, що залежать як від досліджуваної структури, так і експериментальної моделі.

2. Найсуттєвіше зростання вмісту білка c-Fos встановлено при моделюванні ішемії-реперфузії головного мозку на тлі дисбактеріозу.

3. При всіх експериментальних моделях зростання білка c-Fos відбувається переважно за рахунок підвищення його концентрації, а не збільшення кількості c-Fos-позитивних клітин.

Перспективи подальших досліджень

Планується дослідити активність апоптозу нейронів префронтальної кори та поля гіпокампа CA1 за умов ішемії-реперфузії головного мозку, кишечного дисбактеріозу та поєднання цих експериментальних моделей.

Внесок співавторів у підготовку матеріалів наукової статті. Ткачук С. С. – створення концепції та дизайну дослідження; фінальне схвалення версії

Література:

1. Yuan B, Lu XJ, Wu Q. Gut Microbiota and Acute Central Nervous System Injury: A New Target for Therapeutic Intervention. *Front Immunol* [Internet]. 2021[cited 2026 Jan 23];12:800796. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8740048/pdf/fimmu-12-800796.pdf> DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.800796>
2. Mehmood Qadri H, Dar SA, Bashir RA, Khan M, Ali S, Zahid AS, et al. Gastrointestinal Dysbiosis in Neuro-Critically Ill Patients: A Systematic Review of Case-Control Studies. *Cureus* [Internet]. 2023[cited 2026 Jan 29];15(12):e50923. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10803107/pdf/cureus-0015-00000050923.pdf> DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.50923>
3. Wayan Suryanata I, Wayan Widyantara I. Gut-Brain Axis Microbiota in Stroke Pathogenesis. *Int J Res Rev.* 2024;11(12):25-45. DOI: <https://doi.org/10.52403/ijrr.20241204>
4. Xu K, Ren Z, Zhao S, Ren Y, Wang J, Wu W, et al. Fecal metabolites as early-phase biomarkers and prediction panel for ischemic stroke. *BMC Microbiol.* 2025;25(1):525. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04217-8>
5. Delgado Jiménez R, Benakis C. The Gut Ecosystem: A Critical Player in Stroke. *Neuromolecular Med.* 2021;23(2):236-41. doi: <https://doi.org/10.1007/s12017-020-08633-z>
6. Singh V, Roth S, Llovera G, Sadler R, Garzetti D, Stecher B, et al. Microbiota Dysbiosis Controls the Neuroinflammatory Response after Stroke. *J Neurosci.* 2016;36(28):7428-40. DOI: <https://doi.org/10.1523/jneurosci.1114-16.2016>
7. Piepke M, Jander A, Gagliani N, Gelderblom M. IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells: A novel target in stroke immunotherapy. *Eur J Immunol* [Internet]. 2024[cited 2026 Jan 29];54(12):e2451067. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11628885/pdf/EJI-54-2451067.pdf> DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.202451067>
8. Benakis C, Brea D, Caballero S, Faraco G, Moore J, Murphy M, et al. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal $\gamma\delta$ T cells. *Nat Med.* 2016;22(5):516-23. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.4068>
9. Tiedt S, Buchan AM, Dichgans M, Lizasoain I, Moro MA, Lo EH. The neurovascular unit and systemic biology in stroke - implications for translation and treatment. *Nat Rev Neurol.* 2022;18(10):597-612. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00703-z>
10. Chaudhry TS, Senapati SG, Gadam S, Mannam HPSS, Voruganti HV, Abbasi Z, et al. The Impact of Microbiota on the Gut-Brain Axis: Examining the Complex Interplay and Implications. *J Clin Med* [Internet]. 2023[cited 2026 Jan 27];12(16):5231. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10455396/pdf/jcm-12-05231.pdf> DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12165231>
11. Camara-Lemarrooy CR, Ibarra-Yruegas BE, Gongora-Rivera F. Gastrointestinal complications after ischemic stroke. *J Neurol Sci.* 2014;346(1-2):20-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2014.08.027>
12. Mu Q, Zhang Y, Gu L, Gerner ST, Qiu X, Tao Q, et al. Transcriptomic Profiling Reveals the Antiapoptosis and Antioxidant Stress Effects of Fos in Ischemic Stroke. *Front Neurol.* 2021;12:728984. DOI: <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.728984>
13. Zeng X, Gao X, Peng Y, Wu Q, Zhu J, Tan C, et al. Higher Risk of Stroke Is Correlated With Increased Opportunistic Pathogen Load and Reduced Levels of Butyrate-Producing Bacteria in the Gut. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:4. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00004>
14. Ojeda J, Ávila A, Vidal PM. Gut Microbiota Interaction with the Central Nervous System throughout Life. *J Clin Med.* 2021;10(6):1299. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10061299>
15. Lee SH, Han C, Shin C. IUPHAR review: Microbiota-gut-brain axis and its role in neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Res* [Internet]. 2025[cited 2026 Jan 23];216:107749. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661825001744?via%3Dihub> DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2025.107749>
16. Babaei P, Faraji N, Eyyvani K. c-Fos Expression Differentially Acts in the Healthy Brain Compared with Alzheimer's Disease. *Gene Expression.* 2025;24(3):209-18. DOI: <http://dx.doi.org/10.14218/GE.2024.00080>
17. Lara Aparicio SY, Laureani Fierro AJ, Aranda Abreu GE, Toledo Cárdenas R, García Hernández LI, Coria Ávila GA, et al. Current Opinion on the Use of c-Fos in Neuroscience. *NeuroSci.* 2022;3(4):687-702. DOI: <https://doi.org/10.3390/neurosci3040050>
18. Yan M, Ni F, Xie X, Zhang C, Zhu J. The Role of Formononetin in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury: A New Mediator of c-Fos/IL-10/STAT3 Signaling Pathway. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2025;30(5):26274. DOI: <https://doi.org/10.31083/FBL26274>
19. Qi L, Wu C, Sun H, Liao H. The Role of Glutamate Receptors in Ischemic Stroke Author links open overlay panel. *Biocell.* 2025;49(2):167-80. DOI: <https://doi.org/10.32604/biocell.2025.059159>

статті, що подається до публікації; участь у критичному редагуванні рукопису з інтелектуальним внеском; готовність нести відповідальність за роботу та її добросовісність; Кисилиця С. О. – виконання експериментальної частини роботи; участь у написанні; фінальне схвалення версії статті, що подається до публікації; готовність нести відповідальність за роботу та її добросовісність; Ткачук О. В. – інтерперетація отриманих результатів, участь у критичному редагуванні рукопису з інтелектуальним внеском; фінальне схвалення версії статті, що подається до публікації; готовність нести відповідальність за роботу та її добросовісність.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Використання штучного інтелекту. При виконанні роботи штучний інтелект не використовувався.

Джерела фінансування. Самофінансування.

20. Hua W, Zhang X, Tang H, Li C, Han N, Li H, et al. AKG Attenuates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury through c-Fos/IL-10/Stat3 Signaling Pathway. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2022[cited 2026 Jan 27];2022:6839385. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9113869/pdf/OMCL2022-6839385.pdf> DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/6839385>
21. Cruz-Mendoza F, Jauregui-Huerta F, Aguilar-Delgado A, García-Estrada J, Luquin S. Immediate Early Gene c-fos in the Brain: Focus on Glial Cells. *Brain Sci.* 2022;12(6):687. DOI: <https://doi.org/10.3390/brainsci12060687>
22. Stetska VO, Holota YuV, Gonchar SYu, Korbush MYu, Dovbynchuk TV, Serhiychuk TM, et al. Comparison of long-term effect of twodysbiosis models in WISTAR rats. *Microbiology and Biotechnology.* 2019;2:6-15. DOI: [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2\(46\).163699](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2(46).163699)
23. Kaya AH, Erdogan H, Tasdemiroglu E. Searching Evidences of Stroke in Animal Models: A Review of Discrepancies. *Turk Neurosurg.* 2017;27(2):167-73. DOI: <https://doi.org/10.5137/1019-5149.jtn.15373-15.2>
24. König JF, Klippel PA. The rat brain. A Stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem. Hardcover: The Williams and Wilkins Company; 1963. 162 p.
25. Köylü A, Altunkaynak BZ, Delibaş B. Effects of tacrolimus on c-fos in hippocampus and memory performances in streptozotocin model of Alzheimer's disease of rats. *Turk J Med Sci.* 2021;51(4):2159-66. DOI: <https://doi.org/10.3906/sag-2008-291>
26. Liu G, Yu Q, Tan B, Ke X, Zhang C, Li H, et al. Gut dysbiosis impairs hippocampal plasticity and behaviors by remodeling serum metabolome. *Gut Microbes* [Internet]. 2022[cited 2026 Jan 23];14(1):2104089. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9327780/pdf/KGMI_14_2104089.pdf DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2104089>
27. Xu Q, Sun L, Chen Q, Jiao C, Wang Y, Li H, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to depression-like behaviors via hippocampal NLRP3-mediated neuroinflammation in a postpartum depression mouse model. *Brain Behav Immun.* 2024;119:220-35. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2024.04.002>
28. Pate T, Anthony DC, Radford-Smith DE. cFOS expression in the prefrontal cortex correlates with altered cerebral metabolism in developing germ-free mice. *Front Mol Neurosci* [Internet]. 2023[cited 2026 Jan 27];16:1155620. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10157641/pdf/fnmol-16-1155620.pdf> DOI: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1155620>
29. Chidambaram SB, Rathipriya AG, Mahalakshmi AM, Sharma S, Hediya TA, Ray B, et al. The Influence of Gut Dysbiosis in the Pathogenesis and Management of Ischemic Stroke. *Cells.* 2022;11(7):1239. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11071239>
30. Meng Q, Ye C, Lu Y. miR-181c regulates ischemia/reperfusion injury-induced neuronal cell death by regulating c-Fos signaling. *Pharmazie.* 2020;75(2-3):90-3. DOI: <https://doi.org/10.1691/ph.2020.9856>

EARLY IMMEDIATE GENE C-FOS EXPRESSION IN THE PREFRONTAL CORTEX AND HIPPOCAMPAL CA1 AREA IN RESPONSE TO INCOMPLETE GLOBAL CEREBRAL ISCHEMIA-REPERFUSION IN RATS WITH INTESTINAL DYSBIOSIS

S. Tkachuk, S. Kyslytsia, O. Tkachuk

Bukovinian State Medical University
(Chernivtsi, Ukraine)

Summary.

Substantial evidence has accumulated, in both experimental and clinical settings, regarding compositional alterations of the microbiome along the gut–brain axis in stroke. Disruption of the gut microbiome and its metabolites has been implicated in the pathogenesis of neurodegenerative sequelae of stroke. The gut–brain microbiota axis constitutes a bidirectional communication network; however, many of the mechanisms governing interactions among its components remain poorly understood. Studies conducted in vivo and in vitro have demonstrated that the *c-fos* gene, which encodes the nuclear protein c-Fos, is critically involved in the regulation of programmed neuronal death in stroke. Nevertheless, the response of this gene in discrete brain structures to disruption of gut–brain microbiota axis function in the context of impaired cerebral blood flow associated with dysbiosis has received little investigation.

The aim of the present study was to determine the effect of incomplete global cerebral ischemia-reperfusion on *c-fos* gene activity, as assessed by the expression of its coding product c-Fos, in the prefrontal cortex and hippocampal CA1 area of rats with intestinal dysbiosis.

Material and methods. The study was conducted on 40 sexually mature male rats divided into 4 groups: Group I – control; Group II – carotid ischemia-reperfusion of the brain; Group III – dysbiosis; Group IV – carotid ischemia-reperfusion in the setting of dysbiosis. Dysbiosis was modelled by intramuscular administration of ceftriaxone (ACS Dobfar SPA, Italy) at a dose of 300 mg/kg once daily for 14 days. Incomplete global cerebral ischemia-reperfusion was modelled by bilateral occlusion of the common carotid arteries for 20 min, followed by one-hour reperfusion, which permits assessment of the cerebral response within the therapeutic window for stroke. Following this procedure, animals were decapitated while under calypsol anaesthesia (75 mg/kg); the brain was rapidly extracted under cold conditions and, in accordance with a stereotaxic atlas, the prefrontal cortex and hippocampus were immersed in Bouin's solution. Serial sections of 5 µm thickness were prepared using a rotary microtome, deparaffinised in xylene, rehydrated through a descending ethanol series (100%, 96%, 70%), washed in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4), and treated with monoclonal antibodies against c-Fos antigenic determinants. Identification of c-Fos in histological sections of the examined brain structures was performed by indirect immunofluorescence using the VIDAS-386 computer digital image analysis system (Kontron Elektronik, Germany) in the ultraviolet spectrum. Images were acquired via a COHU-4722 high-sensitivity video camera (COHU Inc., USA), introduced into the VIDAS-386 digital analysis system (Kontron Elektronik, Germany), and digitised using a densitometric scale. All experimental interventions and euthanasia of animals were performed in accordance with the principal provisions of the Council of Europe Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments and Other Scientific Purposes (18 March 1986), EEC Directive No. 609 (24 November 1986), and Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 (23 September 2009). The Bioethics Commission of the Bukovinian State Medical University identified no violations of moral and ethical standards in the conduct of this research (Protocol No. 5, 16 December 2024). The data obtained were processed using the VIDAS-2.5 application and statistical software package (Kontron Elektronik, Germany) and the EXCEL module of the MS Office 2007 package (Microsoft Corp., USA). The arithmetic mean (M), variance, and standard error of the mean (m) were calculated for each sample. To evaluate the significance of inter-group differences, Student's t-coefficient, the probability of difference between samples (p), and the confidence interval of the mean were determined. The critical significance

level for statistical hypothesis testing was set at 0.05. The present study was conducted as part of the research project «Mechanisms of Neuroimmune-Endocrine Interaction, Risk Factors of Their Dysregulation, and Possibilities of Pharmacological Correction» (registration No. 0124U002609), with a project period of December 2024–December 2028.

Results of the study. Carotid ischemia-reperfusion produced a significant increase in all indices characterising the response of c-Fos-immunopositive neurons in the prefrontal cortex: the density of c-Fos-immunopositive neurons increased by 25%, while the total fluorescence area (TFA) and the area of fluorescence associated with diffuse immunoreactivity (AFDI) increased by 64- and 9.5-fold, respectively. In this cortical zone, the area of fluorescence associated with cellular immunoreactivity (AFCI) was not detected in control animals, indicating the absence of *c-fos* gene activity in cells at functional rest. Ischemia-reperfusion, however, activated this parameter, with a recorded value of 2.959 ± 0.601 . The total concentration of c-Fos protein (C c-Fos) and the concentration associated with diffuse immunoreactivity (C c-Fos DI) also increased in this structure by 93.8- and 10.8-fold, respectively. The c-Fos protein concentration associated with cellular immunoreactivity (C c-Fos CI) was likewise undetectable at baseline, consistent with the zero values of APCI; however, in the post-ischaemic period it reached a value of 9.463 ± 2.186 . In the hippocampal CA1 area, the same experimental conditions produced a significant increase in all indices characterising the response of c-Fos-immunopositive neurons, which likewise exceeded control values: the density of c-Fos-immunopositive neurons increased by 25%; TFA, AFDI, and APCI increased by 22.8-, 22-, and 23-fold; and C c-Fos, C c-Fos DI, and C c-Fos CI increased by 36.4-, 12.5-, and 54.33-fold, respectively. In the prefrontal cortex and hippocampus of rats with dysbiosis, compared with control group values, the density of c-Fos-immunopositive neurons was higher by 14% and 35%, respectively; TFA and AFDI values were elevated by 24- and 9.9-fold and by 18.3- and 26.6-fold, respectively. In the cortex, APCI was also detected, with a value of 0.751 ± 0.258 , whereas in the hippocampus this index increased by 14.8-fold relative to control animals. In the cortex, C c-Fos and C c-Fos DI increased by 32.7- and 12.6-fold, respectively, and C c-Fos CI reached a value of 2.296 ± 0.827 ; in the hippocampus, C c-Fos, C c-Fos DI, and C c-Fos CI increased by 11.7-, 8.9-, and 13.9-fold, respectively. The response of c-Fos-reactive neurons to ischemia-reperfusion in rats with dysbiosis was more pronounced both relative to post-ischaemic values in control rats and relative to values recorded in dysbiosis alone: in the prefrontal cortex and hippocampus, the density of c-Fos-immunopositive neurons exceeded dysbiosis values by 21% and 11%, respectively, and post-ischaemic values in animals without dysbiosis by 10% and 20%, respectively. In the cortex, TFA, AFDI, APCI, C c-Fos, C c-Fos DI, and C c-Fos CI were 7.5-, 2.9-, 10.9-, 8.38-, 2.85-, and 11.82-fold higher relative to the dysbiosis group, and 2.8-, 3.0-, 2.8-, 2.9-, 3.3-, and 2.9-fold higher, respectively, relative to post-ischaemic values in animals without dysbiosis. In the hippocampus, TFA, AFDI, APCI, C c-Fos, C c-Fos DI, and C c-Fos CI exceeded the corresponding dysbiosis values by 4.2-, 1.7-, 6.2-, 9.7-, 5.8-, and 11.6-fold, and the corresponding ischemia-reperfusion values in control animals by 3.4-, 2.1-, 3.9-, 3.1-, 3.9-, and 3.0-fold, respectively.

Conclusions. 1 Acute cerebral blood flow disturbance in the carotid artery territory and intestinal dysbiosis exert a unidirectional effect on c-Fos immunoreactivity in the prefrontal cortex and hippocampal CA1 area, increasing both the density of c-Fos-immunopositive neurons and the area of immunoreactivity quantitative differences are observed that depend on the brain structure examined and the experimental model employed. 2. The most pronounced increase in c-Fos protein expression was recorded in the model of cerebral ischemia-reperfusion combined with dysbiosis. 3. Across all experimental models, the elevation of c-Fos protein levels is attributable primarily to an increase in its concentration rather than to an increase in the number of c-Fos-immunopositive cells.

Keywords: Incomplete Global Schemia-Reperfusion; Gut Dysbiosis; Prefrontal Cortex; Hippocampus; C-FOS Gene; C-FOS Protein.

Контактна інформація:

Ткачук Світлана Сергіївна – д.мед.н., професор, завідувач кафедри фізіології ім. Я. Д. Кіршенבלата, Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна).

e-mail: tkachuk.svitlana14@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4237-1902>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/>

Кисилиця Сергій Олександрович – аспірант кафедри фізіології ім. Я. Д. Кіршенבלата, Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна).

e-mail: kysylytsia.s@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2857-9742>

Ткачук Олексій Володимирович – д.мед.н., доцент кафедри анестезіології та реаніматології, Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна).

e-mail: tkachuk.oleksij@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4046-5561>

Contact Information:

Svitlana Tkachuk – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Ya. D. Kirshenblat Department of Physiology, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: tkachuk.svitlana14@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4237-1902>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/>

Serhii Kysylytsia – Postgraduate student of the Ya. D. Kirshenblat Department of Physiology, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: hryniuk.m.i@gmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2857-9742>

Oleksij Tkachuk – Doctor of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Anesthesiology and Reanimatology, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: tkachuk.oleksij@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4046-5561>

Поступило до редакції: 29 грудня 2025 р.

Затверджено до друку: 23 лютого 2026 р.

Опубліковано: 27 березня 2026 р.

