УДК 612.826.4.615.9 Original research

# *АКТИВАЦІЯ C-FOS ГЕНА У НЕЙРОНАХ ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ ПРИ ДОВГОТРИВАЛІЙ АЛКОГОЛЬНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ*

***Чайковська В.Р., Довгань О.В.***

*Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, Україна*

***Ключові слова:*** *гіпоталамус, c-Fos, етанол, нейрон.*

*Буковинський медичний вісник. 2026. Т. 30, № 2 (118). С. 47-55.*

***DOI:*** *10.24061/2413-0737.30.2.118.2026.8*

***E-mail:*** *a000147@vnmu.edu.ua*

***Мета дослідження*** *– виявити особливості експресії гена c-fos та щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів у ядрах гіпоталамуса щурів під час алкогольної інтоксикації для з'ясування нейробіологічних механізмів дії алкоголю.*

***Матеріал і методи.*** *Експериментальне дослідження проведено на 24 гризунах чистої лінії Wistar 270-300 г, віком 3-4 місяці, під час гострої алкогольної інтоксикації та на тлі алкогольної залежності. Аналізували зрізи головного мозку, що відповідали координатам АР: [-1,3 до -2,8] мм від лінії брегми. У дослідженні застосували патофізіологічний аналіз для моделювання гострої алкогольної інтоксикації та хронічної алкогольної залежності в щурів. Гістологічний метод використано для вивчення структур гіпоталамуса на світлооптичному бінокулярному мікроскопі. Імуногістохімічний підхід дозволив визначити експресію гена c-fos за допомогою поліклональних антитіл проти білка c-Fos у гістологічних зрізах головного мозку.*

***Результати.*** *Використано метод імуногістохімічного виявлення c-fos експресії генів за допомогою поліклональних антитіл проти c-Fos-протеїну в зрізах головного мозку. Це дало можливість встановити особливості змін кількості й щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів ядер гіпоталамуса в різних експериментальних групах тварин. Найбільш виражені зміни кількісних показників c-Fos-імунопозитивних нейронів у групі щурів із гострою алкогольною інтоксикацією (ГАІ) виявлено на рівнях -1,3/-2,8 мм у паравентрикулярному ядрах (PaAP/PaMP) та латеральному ядрах (LHD/LHV), де їхня кількість зростала на 44-68 %, а показники супраоптичного ядра (SO) зросли на 16%. У ядрах дорсомедіальне гіпоталамічне (DMD) та вентромедіальних гіпоталамічних (VMHD/VMHV) гіпоталамуса відзначено підвищення на 30 – 49 %. Натомість, у групі хронічної алкогольної залежності (ХАЗ) спостерігалося зниження кількості таких нейронів на рівнях -1,3/-2,8 мм у ядрах PaAP/PaMP, SO, LHD/LHV та DMD на 39 – 68 %. Водночас, у VMHD/VMHV ядрах гіпоталамуса показники становили лише 5 – 7 % порівняно з контрольною групою. У групі щурів із гострою алкогольною інтоксикацією (ГАІ) на рівнях -1,3 до -2,8 мм відзначено підвищену щільність c-Fos-імунопозитивних нейронів у паравентрикулярному ядрах (PaAP/PaMP), передньому гіпоталамічному ядрі (АН), латеральних гіпоталамічних ядрах (LHD/LHV), супраоптичному ядрі (SO), медіальному преоптичному ядрі (MPO), вентромедіальних гіпоталамічних ядрах (VMHD/VMHV), дорсомедіальному гіпоталамічному ядрі (DMD) та сірому горбу (ТС). Найвищі середні значення щільності зареєстровано в PaAP – (4,5 ± 0,8) одиниць та PaMP – (18,6 ± 2,5) мічених нейронів у тестовій ділянці на рівні –1,3 мм. У VMHD показник становив (15,2 ± 0,7) одиниць, у VMHV – (16,3 ± 0,7) одиниць. У вентральній частині латерального гіпоталамічного ядра (LHV) зафіксовано (11,4 ± 1,4) одиниць, тоді як у дорсальній частині (LHD) – (8,0 ± 1,3) мічених нейронів у тестовій ділянці на рівні -2,8 мм. Встановлений коефіцієнт кореляції був статистично значущим ($p < 0,05$), тоді, як у SO – (4,4 ± 1,4) клітин на рівнях -1,3 до -1,8 мм від лінії брегми показники істотно не відрізнялися від контрольних значень ($p > 0,05$). У групі щурів із хронічною алкогольною залежністю (ХАЗ) найбільш виражене зниження щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів зафіксовано в ядрах PaAP – (1,4 ± 0,5) одиниць, SO – (2,3 ± 7,4) одиниць, PaMP –( 6,1 ± 0,6) клітин, LHD – (1,1 ± 0,6) нейронів, LHV – (1,4 ± 0,5) клітин та DMD – (4,8 ± 0,9) на рівнях – (1,8 до –2,8) мм від лінії брегми.*

*Встановлений коефіцієнт кореляції був статистично значущим (p < 0,05). Водночас, у ядрах VMHD (11,1 ± 2,2) клітин та VMHV (11,6 ± 1,6) нейронів на рівнях -2,3 до -2,8 мм від лінії брегми показники істотно не відрізнялися від контрольних значень (p > 0,05).*

***Висновки.*** *Отже, за результатами дослідження можна стверджувати, що імуногістохімічний аналіз із використанням поліклональних антитіл проти c-Fos-протеїну підтвердив свою ефективність для виявлення змін експресії гена c-fos у нейронах гіпоталамуса при різних моделях алкогольного впливу. Встановлено достовірне підвищення кількості та щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів при гострій алкогольній інтоксикації в більшості досліджених ядер гіпоталамуса. Найбільш виражені зміни спостерігалися в PaAP/PaMP та LHD/LHV (зростання на 44–68 %), а також у DMD та VMHD/VMHV відповідно на 30–49 %, (p < 0,05). У SO показники залишалися близькими до контрольних значень (p > 0,05). Однак через можливу хвилеподібну динаміку експресії c-Fos, ймовірно, зафіксовано саме фазу початкового зростання. Це дозволяє розглядати SO як "пізній" центр відповіді, та може бути цікавим для подальшого вивчення короткочасних і швидкоплинних механізмів регуляції нейрональної активності. Виявлено значне зниження щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів при хронічній алкогольній залежності у PaAP/PaMP, LHD/LHV та DMD (на 39–68 %) (p < 0,05). У VMHD та VMHV показники залишалися близькими до контрольних значень (p > 0,05), що може свідчити про часткове збереження функціональної активності цих ядер.*

## *ACTIVATION OF THE C-FOS GENE IN HYPOTHALAMIC NEURONS OF RATS DURING ALCOHOL INTOXICATION*

***Chaikovska V.R., Dovgan O.V.***

***Key words:*** *hypothalamus, c-Fos, ethanol, neuron.*

*Bukovinian Medical Herald. 2026. V. 30, № 2 (118). P. 47-55.*

***Objective*** *– to identify the features of c-fos gene expression and the density of c-Fos-immunopositive neurons in the hypothalamic nuclei of rats during alcohol intoxication to elucidate the neurobiological mechanisms of alcohol action.*

***Materials and methods.*** *The experimental study was conducted on 24 pure Wistar rodents 270-300 g, aged 3-4 months during acute alcohol intoxication, and on the background of alcohol dependence. Brain slices were analyzed, corresponding to the AP coordinates: [-1.3 to -2.8] mm from the bregma line. The study used pathophysiological analysis to model acute alcohol intoxication and chronic alcohol dependence in rats. The histological method was used to study the structures of the hypothalamus on a light-optical binocular microscope. The immunohistochemical approach allowed us to determine the expression of the c-fos gene using polyclonal antibodies against the c-Fos protein in histological brain sections.*

***Results.*** *The method of immunohistochemical detection of c-fos gene expression using polyclonal antibodies against c-Fos protein in brain slices was used. This made it possible to establish the features of changes in the number and density of c-Fos-immunopositive neurons of the hypothalamic nuclei in different experimental groups of animals. The most pronounced changes in the quantitative indicators of c-Fos-immunopositive neurons in the group of rats with acute alcohol intoxication (AAI) were detected at the levels of -1.3/-2.8 mm in the paraventricular nuclei (PaAP/PaMP) and lateral nuclei (LHD/LHV), where their number increased by 44-68%, and the indicators of the supraoptic nucleus (SO) increased by 16%. In the dorsomedial hypothalamic (DMD) and ventromedial hypothalamic (VMHD/VMHV) nuclei of the hypothalamus, an increase of 30–49% was observed. In contrast, in the chronic alcohol dependence (CAD) group, a decrease in the number of such neurons at the levels of -1.3/-2.8 mm in the PaAP/PaMP, SO, LHD/LHV and DMD nuclei by 39–68% was observed. At the same time, in the VMHD/VMHV nuclei of the hypothalamus, the indicators were only 5–7% compared to the control group. In the group of rats with acute alcohol*

*intoxication (AAI) at levels of -1.3 to -2.8 mm, an increased density of c-Fos-immunopositive neurons was observed in the paraventricular nucleus (PaAP/PaMP), anterior hypothalamic nucleus (AH), lateral hypothalamic nuclei (LHD/LHV), supraoptic nucleus (SO), medial preoptic nucleus (MPO), ventromedial hypothalamic nuclei (VMHD/VMHV), dorsomedial hypothalamic nucleus (DMD), and truncus striatum (TC). The highest average density values were recorded in PaAP – 4.5 ± 0.8 units and PaMP – 18.6 ± 2.5 labeled neurons in the test area at the level of –1.3 mm. In VMHD the indicator was 15.2 ± 0.7 units, in VMHV – 16.3 ± 0.7 units. In the ventral part of the lateral hypothalamic nucleus (LHV) 11.4 ± 1.4 units were recorded, while in the dorsal part (LHD) – 8.0 ± 1.3 labeled neurons in the test area at the level of –2.8 mm. The established correlation coefficient was statistically significant (p < 0.05). While in SO – 4.4 ± 1.4 cells at the levels of –1.3 to –1.8 mm from the bregma line, the indicators did not differ significantly from the control values (p > 0.05). In the group of rats with chronic alcohol dependence (CAD), the most pronounced decrease in the density of c-Fos-immunopositive neurons was recorded in the nuclei PaAP – 1.4 ± 0.5 units, SO – 2.3 ± 7.4 units, PaMP – 6.1 ± 0.6 cells, LHD – 1.1 ± 0.6 neurons, LHV – 1.4 ± 0.5 cells and DMD – 4.8 ± 0.9 at the levels of –1.8 to –2.8 mm from the bregma line. The established correlation coefficient was statistically significant (p < 0.05). At the same time, in the nuclei VMHD (11.1 ± 2.2 cells) and VMHV (11.6 ± 1.6 neurons) at the levels of –2.3 to –2.8 mm from the bregma line, the indicators did not differ significantly from the control values (p > 0.05).*
***Conclusions.** Thus, the results of our study show that immunohistochemical analysis using polyclonal antibodies against c-Fos protein has confirmed its effectiveness for detecting changes in c-fos gene expression in hypothalamic neurons in various models of alcohol exposure. A significant increase in the number and density of c-Fos-immunopositive neurons was established in acute alcohol intoxication in most of the hypothalamic nuclei studied. The most pronounced changes were observed in PaAP/PaMP and LHD/LHV (increase by 44–68%), as well as in DMD and VMHD/VMHV by 30–49%, respectively, (p < 0.05). In SO, the indicators remained close to the control values (p > 0.05). However, due to the possible wave-like dynamics of c-Fos expression, we probably recorded the initial growth phase. This allows us to consider SO as an "late" response center, and may be interesting for further study of short-term and transient mechanisms of regulation of neuronal activity. A significant decrease in the density of c-Fos-immunopositive neurons was found in chronic alcohol dependence in PaAP/PaMP, LHD/LHV and DMD (by 39–68%) (p < 0.05). In VMHD and VMHV, the indicators remained close to the control values (p > 0.05), which may indicate partial preservation of the functional activity of these nuclei.*

**Вступ.** Алкоголь є одним із найбільш поширених нейротропних речовин, здатних чинити як гострий, так і хронічний вплив на функціонування центральної нервової системи [1,2,3]. Відомо, що навіть одноразове введення етанолу може призводити до значних змін у нейрональній збудливості, тоді як тривале вживання формує стійкі нейробіологічні перебудови, що є основою толерантності, залежності та порушень поведінки [4, 5, 6]. Особливу увагу привертає гіпоталамус – філогенетично старий відділ проміжного мозку, який відіграє важливу роль у підтриманні сталості внутрішнього середовища й забезпеченні інтеграції функцій вегетативної, ендокринної та соматичної систем. Його ядра (паравентрикулярне, супраоптичне, вентромедіальне, дорсомедіальне та ін.) беруть участь у контролі гомеостатичних процесів, включно з регуляцією стресових реакцій, когнітивних поведінкових змін, харчової поведінки та водно-сольового балансу [7-11]. Для оцінки функціональної активності нейронів широко застосовується маркер c-Fos, продукт експресії негайно-раннього гена c-fos, який індукується у відповідь на різноманітні фізіологічні та фармакологічні стимули (стрес, біль, алкоголь, нікотин). Виявлення c-Fos-імунопозитивних клітин дозволяє простежити активацію окремих гіпоталамічних ядер під впливом алкоголю та визначити відмінності між гострим і хронічним впливом [12-16]. Таким чином, аналіз експресії гена c-fos та щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів у гіпоталамусі є важливим інструментом для розуміння нейробіологічних механізмів дії алкоголю та його ролі у формуванні патологічних змін у центральній нервовій системі.

**Мета дослідження –** виявити особливості експресії гена c-fos та щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів в ядрах гіпоталамуса щурів під час алкогольної інтоксикації для з'ясування нейробіологічних механізмів дії алкоголю.

**Матеріал і методи.** У дослідженні використано щурів чистої лінії Wistar масою 270-300 г, віком 3-4 місяці. Тварин утримували в лабораторних умовах для адаптації зі сталими показниками температури, вологості та з вільним доступом до води та їжі. Експерименти проведено з дотриманням положень Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом МОЗ України № 755 від 12.08.1997 р., «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург,1986), та Директиви Ради Європи 2010/63 EU щодо експериментів на тваринах. Усіх положень вище перелічених документів було дотримано, а також використано якомога меншу кількість тварин для отримання достовірних результатів. Тварин розподілили на три експериментальні групи по вісім щурів у клітці. Перша група – контрольна група тварин, які отримували ін'єкції фізіологічного розчину інтраперитонеально (n=8), друга група – моделювання гострої алкогольної інтоксикації (n=8), тварини отримували ін'єкції інтраперитонеально етанолу у дозі 2 г/кг 15 % розчину, та третя група – моделювання хронічної алкогольної залежності (n=8), тварини отримували розчин етилового спирту у вільному доступі протягом 30 діб. Перший тиждень – 5% розчин етанолу , 2-й тиждень – 10 %, 3-й тиждень – 15 %, 4-7 тижні – 20 %. У дослідженні застосовували фізіологічний аналіз для моделювання гострої алкогольної інтоксикації та хронічної алкогольної залежності в щурів. Гістологічний метод використано для вивчення структур гіпоталамуса на світлооптичному бінокулярному мікроскопі, оснащеного камерою. Імуногістохімічний метод із використанням поліклональних антитіл проти білка c-Fos та стандартної авідин-біотин-пероксидазної системи (ABC) дозволив виявити c-Fos-імунопозитивні ядра нейронів. Додавання діамінобензидину, як субстрату пероксидази, забезпечило темне забарвлення ядер, де накопичувався білок c-Fos. Межі аналізованих структур визначалися відповідно до атласу [17]. Аналізували зрізи, що відповідали координатам АР: [-1,3 до -2,8] мм від лінії брегми.

Щільність c-Fos-імунопозитивних нейронів (кількість мічених клітин на тест-площах зрізів мозку 200 × 200 мкм$^2$) підраховували в ядрах гіпоталамуса: паравентрикулярному (PaAP/PaMP), передньому (AH), латеральних (LHV/LHD), супраоптичному (SO), медіальному преоптичному (MPO), вентромедіальних (VMHD/VMHV), дорсомедіальному (DMD), сірому горбу (TC) на рівнях від –1.3 до –2.8 мм від брегми за атласом. Середня щільність c-Fos-імунопозитивних нейронів у зрізі мозку товщиною 40 мкм на тест-площах розраховувалася по сім-вісім зрізів, отриманих від кожної тварини всіх трьох груп. Для кожної структури підраховували до 112 значень щільності мічених нейронів. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою двофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA), а також додатково застосовували post hoc-аналіз та критерій Манна–Уїтні U. Міжгрупові відмінності вважали статистично значущими при ($p < 0,05$).

**Результати дослідження та їх обговорення.** У контрольній групі тварин спостерігали середню щільність c-Fos-імунопозитивних нейронів (2-16 кл/зріз) у ядрах PaAP/PaMP, LHD/LHV, SO, DMD, VMHD/VMHV (рис. 1, 2). Найбільш виражені зміни кількісних показників c-Fos-імунопозитивних нейронів у групі щурів із гострою алкогольною інтоксикацією (ГАІ) виявлено на рівнях -1,3/-2,8 мм у ядрах PaAP – (4,5 ± 0,8) одиниць, F(1,14)=14,91, p=0, (ANOVA), по U=5,0, p=0 (Манна – Уітні), ($p < 0.001$). SO – (4,4 ± 1,4) одиниць, F (1,14) = 31,02, p=0,3, (ANOVA), по U=22,5, p=0,3 (Манна – Уітні), ($p > 0,05$). Зазвичай SO характеризується швидкою відповіддю на гострі подразники, такі як стрес, біль, гіпертензія, навчання їжодобувних рухів [18-22]. За даними літератури, пік експресії c-Fos мРНК у супраоптичному ядрі (SON, PAV) зазвичай спостерігається у проміжку між 20 хв та 1 год після гострого подразника [23, 24]. У нашому дослідженні забір матеріалу проведено через 20–30 хв після введення етанолу, тобто у фазі набору піку, коли експресія ще не досягла максимального рівня, а лише розпочинала свій підйом. Це пояснює відносно нижчий відсоток активації, зафіксований у SON, який становив 16 %. Важливо підкреслити, що такий показник не свідчить про слабку реакцію, а відображає ранню фазу поступового зростання експресії, яка, ймовірно, досягла б значно вищих значень при пізнішій реєстрації. Білок c-Fos є раннім маркером нейрональної активації, який характеризується швидкою та транзиторною відповіддю на гострі подразники. У роботах Sanada, K. експресія c-Fos може досягати піку протягом перших хвилин після стимуляції, але вже через 10 хв рівень значно знижувався [25]. Таким чином, у нашій роботі, на момент відбору матеріалу, фаза пікової індукції c-Fos могла бути завершена, і ми могли реєструвати переважно залишковий рівень активації. Такий часовий зсув може пояснювати відносно нижчі показники індукції, порівняно з іншими дослідженнями, де фіксація проводилася ближче до моменту піку. Активація Fos у різних ділянках мозку може мати хвилеподібний характер і не відбувається одночасно у всіх структурах [26]. У PaMP – (18,6 ± 2,5) мічених нейронів (у тестовій ділянці на рівні –1,3 мм), F (1,14) = 72,2, p=0, (ANOVA), по U=0, p=0 (Манна – Уітні), ($p < 0.001$). VMHD – (15,2 ± 0,7) од., F (1,14) = 62,36, p=0, (ANOVA), по U=0, p=0 (Манна – Уітні), ($p < 0.001$). VMHV – (16,3 ± 0,7) од., F (1,14) = 58,3, p=0, (ANOVA), по U=0, p=0 (Манна – Уітні), ($p < 0.001$). DMD – (15,7 ± 1,3) клітин, F(1,14)=46,1, p=0, (ANOVA), по U=0,5, p=0 (Манна – Уітні), ($p < 0.001$). LHD – (8,0 ± 1,3) мічених нейронів, F(1,14)=23,9, p=0, (ANOVA), по U=3, p=0 (Манна – Уітні), ($p < 0.001$). LHV – (11,4 ± 1,4) одиниць (у тестовій ділянці на рівні

-2,8 мм), F(1,14) = 60,48, p=0, (ANOVA), по U=0, p=0 (Манна – Уітні), (p < 0.001). У роботах Clark C. D., (2023) при повторному впливі стресу щури демонстрували посилене добровільне споживання алкоголю, що супроводжувалося активацією експресії c-Fos у вентромедіальному ядрі гіпоталамуса (VMHD/VMHV) та паравентрикулярному ядрі (PVH). Ця активація була більш вираженою у чутливих тварин, ніж у стійких, які зменшували споживання алкоголю після стресових впливів [27, 28, 29, 30]. У групі щурів із хронічною алкогольною залежністю (ХАЗ), порівняно з контролем, найбільш виражене зниження щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів зафіксовано в ядрах PaAP – (1,4 ± 0,5) одиниць, F(1,14)=11,29, p=0, (ANOVA), по U=8,5, p=0,01 (Манна – Уітні), (p < 0,005). Показники SO – (2,3 ± 7,4) одиниць, F(1,14)=9,3, p=0, (ANOVA), по U=9,5, p=0,02 (Манна – Уітні), (p < 0,005). PaMP – (6,1 ± 0,6) клітин, F(1,14)=143,1, p=0, (ANOVA), по U=0, p=0 (Манна – Уітні), (p < 0,001). LHD – (1,1 ± 0,6) нейронів, F(1,14)=6,83, p=0,02 (ANOVA), по U=12, p=0,03 (Манна – Уітні), (p < 0,005), на рівні -2,12 мм. LHV – (1,4 ± 0,5) клітин, F(1,14)=36,6, p=0,0, (ANOVA), по U=1,5, p=0 (Манна – Уітні), (p < 0,001), на рівні -2,12 мм. DMD – (4,8 ± 0,9) одиниць, F(1,14)=61,36, p=0, (ANOVA), по U=0, p=0 (Манна – Уітні), (p < 0,005) (на рівнях –1,8 до –2,8 мм від лінії брегми). Встановлений коефіцієнт кореляції був статистично значущим (p < 0,05). При хронічній залежності встановлено пригнічення активації у вищеперерахованих гіпоталамічних ядрах, що відображає процеси нейрональної адаптації. Зниження показників у гіпоталамічних структурах узгоджується з даними літератури, які описують подібні зміни при повторних епізодах гіпоглікемії [31]. Це свідчить про універсальні механізми адаптації мозку до тривалого патологічного впливу. Водночас, у ядрах VMHD – (11,1 ± 2,2) клітин, F(1,14)=11,29, p=0, (ANOVA), по U=24, p=0,4 (Манна – Уітні), та у VMHV – (11,6 ± 1,6) нейронів, F(1,14)=1,53, p=0,2 (ANOVA), по U=21,5, p=0,5 (Манна – Уітні), (p > 0,005) (на рівнях -2,3 до -2,8 мм від лінії). При тривалому впливі алкоголю в нашій роботі незначне зниження експресії c-Fos у ядрах VMHD/V самців може свідчити про наявність стійких

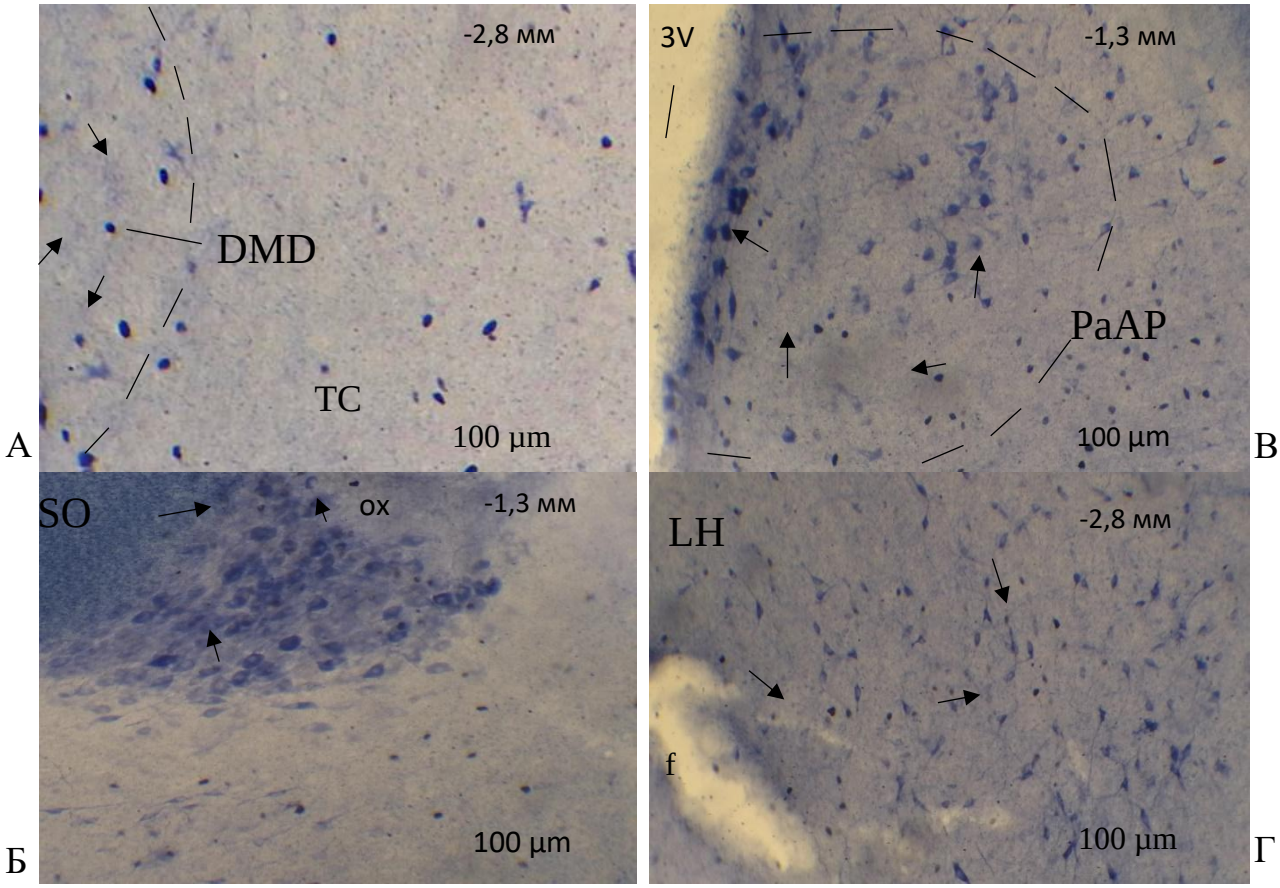


*Рис.1. Мікрофотографії c-Fos-імунореактивних нейронів у різних структурах гіпоталамуса мозку щурів при різній алкогольній експозиції: фронтальні рівні -1,3 (А-Г) від брегми. Чорними стрілочками позначені c-Fos-імунопозитивні ядра мічених нейронів. Позначення структур: f – склепіння; DMD – дорсомедіальне гіпоталамічне ядро, задня частина; LHD/LHV – дорсальна й вентральна частини латерального гіпоталамічного ядра; ox – оптичний перехрест; PaAP – передня частина паравентрикулярного гіпоталамічного ядра; SO – супраоптичне ядро; TC – сірий горб; 3V – 3-й шлуночок. Масштаб 100 мкм у рис. А–Г*

Оригінальні дослідження

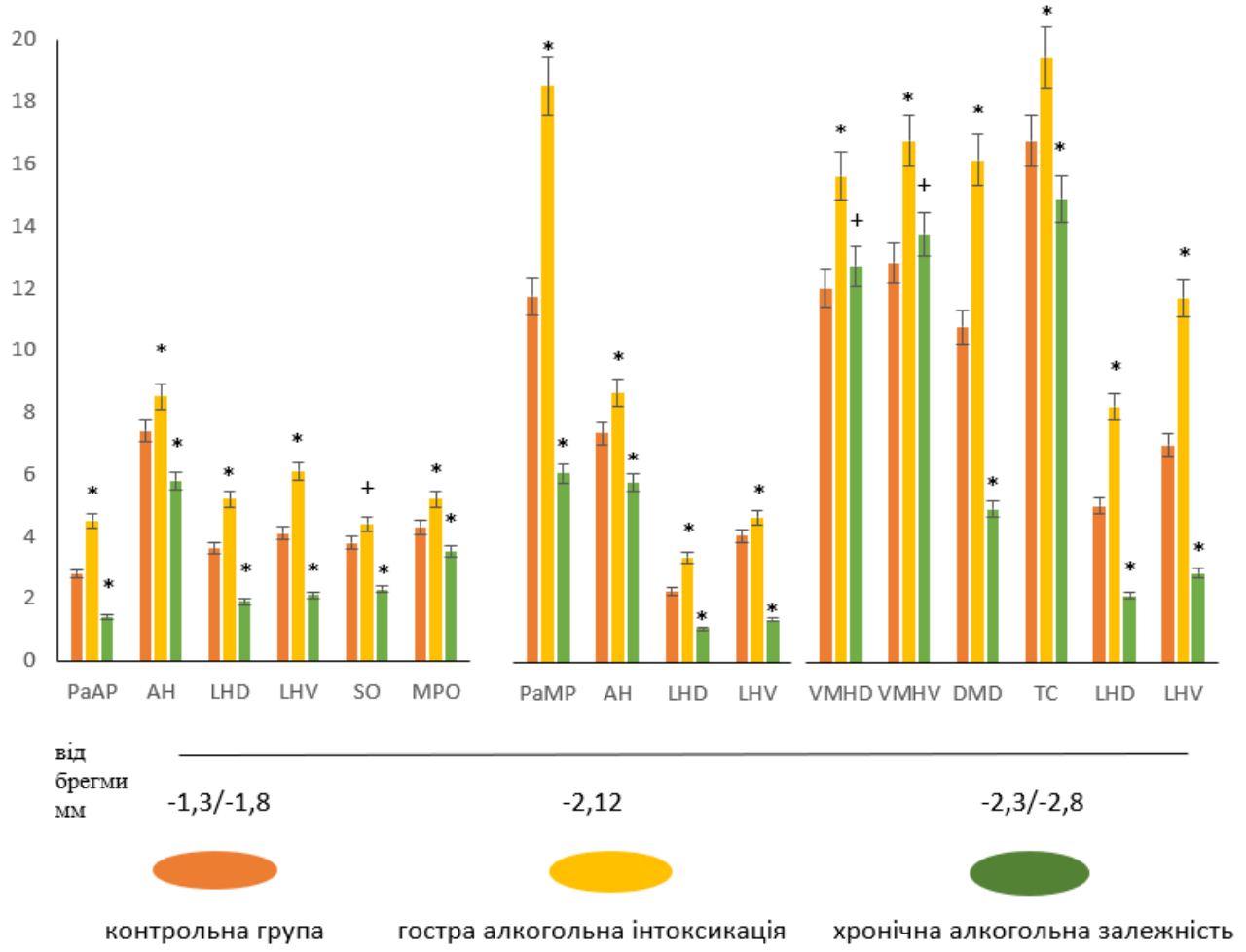


*Рис. 2. Діаграми показників середньої щільності c-Fos-імунореактивних нейронів у різних структурах гіпоталамуса.*

*Помаранчеві, жовті, та зелені стовпчики – середня щільність, ± похибка середнього c-Fos-імунопозитивних нейронів у різних структурах гіпоталамуса (на різних фронтальних рівнях від -1,3 мм до -2,8 мм від брегми, за атласом мозку щура на площі зрізів 200 × 200 мкм$^2$) у контрольної групи, групи гострої алкогольної інтоксикації, та групи хронічної алкогольної залежності. Зірочками над стовпчиками вказані випадки вірогідних різниць ($p < 0,05$) середньої щільності мічених нейронів у структурах гіпоталамуса групи гострої алкогольної інтоксикації та групи щурів хронічної алкогольної залежності порівняно з контролем. Позначками (+) – випадки відмінностей ($p > 0,05$) показників у групи щурів гострої алкогольної інтоксикації та групи щурів хронічної алкогольної залежності від контрольних значень. Примітка: PaAP/PaMP – передня/медіальна частини паравентрикулярного ядра, AH – переднє ядро, LHD/LHV - дорсальна й вентральна частини латерального гіпоталамічного ядра; ox – оптичний перехрест; SO – супраоптичне ядро; MPO – медіальне преоптичне ядро; VMHD/VMHV – вентромедіальне гіпоталамічне ядро, задня/вентральна частини; TC – сірий горб DMD – дорсомедіальне гіпоталамічне ядро, задня частина.*

компенсаторних механізмів, які запобігають різкому пригніченню нейрональної активності. Хронічне вживання алкоголю формує толерантність, що проявляється у компенсаторному зниженні активності або виснаженні нейронних тканин головного мозку. При хронічному впливі алкоголю процеси експресії c-Fos у ядрах VMHD/V можуть адаптуватися, знижуючи реактивність, або їх активація не є ключовою у підтриманні залежності.

**Висновки.** Імуногістохімічний аналіз із використанням антитіл проти c-Fos підтвердив свою ефективність як інструмент для оцінки нейрональної активації гіпоталамуса при різних моделях алкогольного впливу. Гостра алкогольна інтоксикація (ГАІ) супроводжується значним підвищенням кількості та щільності c-Fos-імунопозитивних нейронів у більшості досліджених ядер: PaAP/PaMP та LHD/LHV зростання на 44–68 %, та DMD, VMHD/VMHV на 30–49 % відповідно, ($p < 0,05$), що свідчить про гіперреактивність нейрональних мереж, залучених до регуляції стресових, мотиваційних та поведінкових реакцій. Відсутність суттєвих змін у супраоптичному ядрі (SO), що не досяг рівня статистичної значущості ($p > 0,05$). При хронічній

алкогольній залежності (ХАЗ) встановлено зниження експресії c-Fos у найбільш чутливих гіпоталамічних ядрах PaAP, PaMP, SO, LHD/LHV та DMD на 39–68 %, ($p < 0,05$), що відображає адаптаційне пригнічення нейрональної активності та може свідчити про формування толерантності до тривалого алкогольного впливу. Відсутність суттєвих змін у вентромедіальних ядрах (VMHD/V) ($p > 0,05$). Отримані дані підтверджують, що білок c-Fos є чутливим маркером нейрональної активації, а характер його експресії відображає протилежні ефекти гострої та хронічної дії алкоголю – від активації до пригнічення. Вибірковість змін (відсутність реакції у SO при гострій інтоксикації та у VMH при хронічній залежності) демонструє, що алкоголь не рівномірно впливає на всі структури мозку, а формує специфічні патерни нейронної активності, які лежать в основі розвитку алкогольної поведінки та залежності.

**Перспективи подальших досліджень.** Пошук фармакологічних або нейромодуляційних стратегій, які можуть нормалізувати дисбаланс активації/пригнічення в гіпоталамусі. Створення препаратів, що впливають на гіпоталамічні мережі, з метою зменшення тяги до алкоголю. Вдосконалення діагностики та персоналізованих підходів до лікування алкогольної залежності. Отримані результати демонструють вибірковість змін у різних ядрах – це може стати основою для створення "мапи алкогольної активаційної зміни" мозку. Така мапа була б надзвичайно корисною як у фундаментальних дослідженнях, так і в клінічній практиці.

**Конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність конфлікту інтересів, зокрема фінансових, особистісних чи інших, що могли би вплинути на представлене дослідження і його результати.

**Фінансування.** Дослідження проводилося без фінансової підтримки.

**Список літератури**

1. Hardiany NS, Dewi PKK, Dewi S, Tejo BA. Exploration of neuroprotective effect from Coriandrum sativum L. ethanolic seeds extracts on brain of obese rats. Sci Rep. 2024;14(1):603. https://doi.org/10.1038/s41598-024-51221-5

2. Huang J, Xiao L, Wei JX, Shu YH, Fang SQ, Wang YT, et al. Protective effect of arctigenin on ethanol-induced neurotoxicity in PC12 cells. Mol Med Rep. 2017;15(4):2235-40. https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6222

3. West RK, Rodgers SP, Leasure JL. Neural Perturbations Associated With Recurrent Binge Alcohol in Male and Female Rats. Alcohol Clin Exp Res. 2021;45(2):365-74. https://doi.org/10.1111/acer.14529

4. O'Herron P, Summers PM, Shi AY, Kara P, Woodward JJ. In vivo two-photon imaging of neuronal and brain vascular responses in mice chronically exposed to ethanol. Alcohol. 2019;85:41-7. https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2019.12.001

5. Licheri V, Jacquez BJ, Valenzuela CF, Brigman JL. Electrophysiological data showing the acute alcohol effect on neuronal excitability in the murine posterior parietal cortex. Data Brief. 2025;63:112160. https://doi.org/10.1016/j.dib.2025.112160

6. Thompson SM, Fabian CB, Ferranti AS, Joffe ME. Acute alcohol and chronic drinking bidirectionally regulate the excitability of prefrontal cortex vasoactive intestinal peptide interneurons. Neuropharmacology. 2023;238:109638. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109638

7. Savić B, Murphy D, Japundžić-Žigon N. The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus in Control of Blood Pressure and Blood Pressure Variability. Front Physiol. 2022;13:858941. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.858941

8. Nakamura K. Central Mechanisms of Thermoregulation and Fever in Mammals. Advances in Experimental Medicine and Biology. 2024;1461:141-59. https://doi.org/10.1007/978-981-97-4584-5_10

9. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. Compr Physiol. 2016;6(2):603-21. https://doi.org/10.1002/cphy.c150015

10. Knezevic E, Nenic K, Milanovic V, Knezevic NN. The Role of Cortisol in Chronic Stress, Neurodegenerative Diseases, and Psychological Disorders. Cells. 2023;12(23):2726. https://doi.org/10.3390/cells12232726

11. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. Dis Model Mech. 2017;10(6):679-89. https://doi.org/10.1242/dmm.026609

12. Bazovkina DV, Fursenko DV, Naumenko VS, Kulikov AV. The Role of C1473G Polymorphism in Mouse Triptophan Hydroxylase 2 Gene in the Acute Effects of Ethanol on the c-fos Gene Expression and Metabolism of Biogenic Amines in the Brain. Biochemistry. 2023;88(3):291-302. https://doi.org/10.1134/S000629792303001X

13. Ariyasiri K, Choi TI, Gerlai R, Kim CH. Acute ethanol induces behavioral changes and alters c-fos expression in specific brain regions, including the mammillary body, in zebrafish. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2021;109:110264. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110264

14. Genders SG, O'Shea R, Brunner S, Kofler B, Hale MW, van den Buuse M, et al. Altered c-Fos expression following alcohol intake in discrete brain regions of galanin 3 receptor knockout mice. Behav Brain Res. 2025;490:115640. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2025.115640

15. Li Y, Du S, Sun J, Guo , Zhang Q, Fan P, et al. C-Fos protein expression in the mouse brain: effects of nicotine aerosol. Toxicology and Applied Pharmacology. 2025;505:117588. https://doi.org/10.1016/j.taap.2025.117588

16. Dehkordi O, Rose JE, Millis RM, Mirzaei SA, Manaye KF, Jayam Trouth A, et al. Neuroanatomical Relationships between Orexin/Hypocretin-Containing Neurons/Nerve Fibers and Nicotine-Induced c-Fos-Activated Cells of the Reward-Addiction Neurocircuitry. J Alcohol Drug Depend. 2017;5(4):273. https://doi.org/10.4172/2329-6488.1000273

17. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates | ScienceDirect. (n.d.). Retrieved July 12, 2025. Available from: https://www.sciencedirect.com/book/9780125476201/the-rat-brain-in-stereotaxic-coordinates

18. Cunningham JT, Grindstaff RJ, Grindstaff RR, Sullivan MJ. Fos immunoreactivity in the diagonal band and the perinuclear zone of the supraoptic nucleus after hypertension and hypervolaemia in unanaesthetized rats. J Neuroendocrinol. 2002;14(3):219-27. https://doi.org/10.1046/j.0007-1331.2001.00765.x

19. Ueta Y, Yamashita H, Kawata M, Koizumi K. Water deprivation induces regional expression of c-fos protein in the brain of

inbred polydipsic mice. Brain Res. 1995;677(2):221-28. https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00142-D

20. Мороз ВМ, Йолтухівський МВ, Власенко ОВ. Латеральний гіпоталамус і префронтальна кора в організації довільних рухів. Вінниця-Київ: ЦНІТ ВДМУ; 1998. 181 с.

21. Yoltukhovskii MV. Fast ballistic food-procuring movements in rats: Phenomenology and probable controlling mechanisms. Neurophysiology. 1997;29(3):137-44.

22. Власенко ОВ, Довгань ОВ, Пілявський ОІ, Майський ВО, Мазніченко АВ. Зміни експресії c-fos та НАДФН-діафоразної активності в структурах гіпоталамуса щурів, пов'язані з харчовою депривацією та реалізацією оперантних їжодобувних рухів. НЕЙРОФІЗІОЛОГІЯ. 2009;41(2):173-82.

23. Spencer CM, Houpt TA. Dynamics of c-fos and ICER mRNA expression in rat forebrain following lithium chloride injection. Brain Res Mol Brain Res. 2001;93(2):113-26. https://doi.org/10.1016/S0169-328X(01)00173-5

24. Barros VN, Mundim M, Galindo LT, Bittencourt S, Porcionatto M, Mello LE. The pattern of c-Fos expression and its refractory period in the brain of rats and monkeys. Front Cell Neurosci. 2015;9:72. https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00072

25. Sanada K, Ueno H, Miyamoto T, Baba K, Tanaka K, Nishimura H, et al. AVP-eGFP was significantly upregulated by hypovolemia in the parvocellular division of the paraventricular nucleus in the transgenic rats. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2021;322(3):R161-R69. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00107.2021

26. Morgan JI, Cohen DR, Hempstead JL, Curran T. Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure. Science. 1987;237(4811):192-97. https://doi.org/10.1126/science.3037702

27. Clark CD, Li J, Nipper MA, Helms ML, Finn DA, Ryabinin AE. Differential c-Fos Response in Neurocircuits Activated by Repeated Predator Stress in Male and Female C57BL/6J Mice with Stress Sensitive or Resilient Alcohol Intake Phenotypes. Neuroscience. 2023;535:168-83. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2023.11.001

28. Robinson SL, Dornellas APS, Burnham NW, Houck CA, Luhn KL, Bendrath SC, et al. Distinct and Overlapping Patterns of Acute Ethanol-Induced C-Fos Activation in Two Inbred Replicate Lines of Mice Selected for Drinking to High Blood Ethanol Concentrations. Brain Sci. 2020;10(12):988. https://doi.org/10.3390/brainsci10120988

29. Brunke OR, Bonauto SM, Boshak EM, Rauch MJ, Weera MM. Effects of predator odor stress on alcohol-induced conditioned taste aversion and lateral habenula cFos expression in rats. Neuropharmacology. 2026;284:110780. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2025.110780

30. Briski KP, Mandal SK. Hindbrain lactoprivic regulation of hypothalamic neuron transactivation and gluco-regulatory neurotransmitter expression: Impact of antecedent insulin-induced hypoglycemia. Neuropeptides. 2019;77:101962. https://doi.org/10.1016/j.npep.2019.101962

**References**

1. Hardiany NS, Dewi PKK, Dewi S, Tejo BA. Exploration of neuroprotective effect from Coriandrum sativum L. ethanolic seeds extracts on brain of obese rats. Sci Rep. 2024;14(1):603. https://doi.org/10.1038/s41598-024-51221-5

2. Huang J, Xiao L, Wei JX, Shu YH, Fang SQ, Wang YT, et al. Protective effect of arctigenin on ethanol-induced neurotoxicity in PC12 cells. Mol Med Rep. 2017;15(4):2235-40. https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6222

3. West RK, Rodgers SP, Leasure JL. Neural Perturbations Associated With Recurrent Binge Alcohol in Male and Female Rats. Alcohol Clin Exp Res. 2021;45(2):365-74. https://doi.org/10.1111/acer.14529

4. O'Herron P, Summers PM, Shih AY, Kara P, Woodward JJ. In vivo two-photon imaging of neuronal and brain vascular responses in mice chronically exposed to ethanol. Alcohol. 2019;85:41-7. https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2019.12.001

5. Licheri V, Jacquez BJ, Valenzuel CF, Brigman JL. Electrophysiological data showing the acute alcohol effect on neuronal excitability in the murine posterior parietal cortex. Data Brief. 2025;63:112160. https://doi.org/10.1016/j.dib.2025.112160

6. Thompson SM, Fabian CB, Ferranti AS, Joffe ME. Acute alcohol and chronic drinking bidirectionally regulate the excitability of prefrontal cortex vasoactive intestinal peptide interneurons. Neuropharmacology. 2023;238:109638. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109638

7. Savić B, Murphy D, Japundžić-Žigon N. The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus in Control of Blood Pressure and Blood Pressure Variability. Front Physiol. 2022;13:858941. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.858941

8. Nakamura K. Central Mechanisms of Thermoregulation and Fever in Mammals. Advances in Experimental Medicine and Biology. 2024;1461:141-59. https://doi.org/10.1007/978-981-97-4584-5_10

9. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. Compr Physiol. 2016;6(2):603-21. https://doi.org/10.1002/cphy.c150015

10. Knezevic E, Nenic K, Milanovic V, Knezevic NN. The Role of Cortisol in Chronic Stress, Neurodegenerative Diseases, and Psychological Disorders. Cells. 2023;12(23):2726. https://doi.org/10.3390/cells12232726

11. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. Dis Model Mech. 2017;10(6):679-89. https://doi.org/10.1242/dmm.026609

12. Bazovkina DV, Fursenko DV, Naumenko VS, Kulikov AV. The Role of C1473G Polymorphism in Mouse Triptophan Hydroxylase 2 Gene in the Acute Effects of Ethanol on the c-fos Gene Expression and Metabolism of Biogenic Amines in the Brain. Biochemistry. 2023;88(3):291-302. https://doi.org/10.1134/S000629792303001X

13. Ariyasiri K, Choi TI, Gerlai R, Kim CH. Acute ethanol induces behavioral changes and alters c-fos expression in specific brain regions, including the mammillary body, in zebrafish. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2021;109:110264. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110264

14. Genders SG, O'Shea R, Brunner S, Kofler B, Hale MW, van den Buuse M, et al. Altered c-Fos expression following alcohol intake in discrete brain regions of galanin 3 receptor knockout mice. Behav Brain Res. 2025;490:115640. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2025.115640

15. Li Y, Du S, Sun J, Guo X, Zhang Q, Fan P, et al. C-Fos protein expression in the mouse brain: effects of nicotine aerosol. Toxicology and Applied Pharmacology. 2025;505:117588. https://doi.org/10.1016/j.taap.2025.117588

16. Dehkordi O, Rose JE, Millis RM, Mirzaei SA, Manaye KF, Jayam Trouth A, et al. Neuroanatomical Relationships between Orexin/Hypocretin-Containing Neurons/Nerve Fibers and Nicotine-Induced c-Fos-Activated Cells of the Reward-Addiction

Neurocircuitry. J Alcohol Drug Depend. 2017;5(4):273. https://doi.org/10.4172/2329-6488.1000273

17. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates | ScienceDirect. (n.d.). Retrieved July 12, 2025. Available from: https://www.sciencedirect.com/book/9780125476201/the-rat-brain-in-stereotaxic-coordinates

18. Cunningham JT, Grindstaff RJ, Grindstaff RR, Sullivan MJ. Fos immunoreactivity in the diagonal band and the perinuclear zone of the supraoptic nucleus after hypertension and hypervolaemia in unanaesthetized rats. J Neuroendocrinol. 2002;14(3):219-27. https://doi.org/10.1046/j.0007-1331.2001.00765.x

19. Ueta Y, Yamashita H, Kawata M, Koizumi K. Water deprivation induces regional expression of c-fos protein in the brain of inbred polydipsic mice. Brain Res. 1995;677(2):221-28. https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00142-D

20. Moroz VM, Yoltukhivs'kyi MV, Vlasenko OV. Lateral'nyi hipotalamus i prefrontal'na kora v orhanizatsii dovil'nykh rukhiv [Lateral hypothalamus and prefrontal cortex in the organization of voluntary movements]. Vinnytsia-Kyiv: TsNIT VDMU; 1998. 181 p. (in Ukrainian).

21. Yoltukhovskii MV. Fast ballistic food-procuring movements in rats: Phenomenology and probable controlling mechanisms. Neurophysiology. 1997;29(3):137-44.

22. Vlasenko OV, Dovhan' OV, Piliavs'kyi OI, Mais'kyi VO, Maznichenko AV. Zminy ekspresii s-fos ta NADFN-diaforaznoi aktyvnosti v strukturakh hipotalamusa schuriv, pov'iazani z kharchovoiu depryvatsiieiu ta realizatsiieiu operantnykh yizhodobuvnykh rukhiv [Changes in c-fos expression and NADPH-diaphorase activity in rat hypothalamic structures associated with food deprivation and the implementation of operant food-seeking movements]. NEIROFIZIOLOHIIA. 2009;41(2):173-82. (in Ukrainian).

23. Spencer CM, Houpt TA. Dynamics of c-fos and ICER mRNA expression in rat forebrain following lithium chloride injection. Brain Res Mol Brain Res. 2001;93(2):113-26. https://doi.org/10.1016/S0169-328X(01)00173-5

24. Barros VN, Mundim M, Galindo LT, Bittencourt S, Porcionatto M, Mello LE. The pattern of c-Fos expression and its refractory period in the brain of rats and monkeys. Front Cell Neurosci. 2015;9:72. https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00072

25. Sanada K, Ueno H, Miyamoto T, Baba K, Tanaka K, Nishimura H, et al. AVP-eGFP was significantly upregulated by hypovolemia in the parvocellular division of the paraventricular nucleus in the transgenic rats. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2022;322(3):R161-R69. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00107.2021

26. Morgan JI, Cohen D, Hempstead JL, Curran T. Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure. Science. 1987;237(4811):192-97. https://doi.org/10.1126/science.3037702

27. Clark CD, Li J, Nipper MA, Helms ML, Finn DA, Ryabinin AE. Differential c-Fos Response in Neurocircuits Activated by Repeated Predator Stress in Male and Female C57BL/6J Mice with Stress Sensitive or Resilient Alcohol Intake Phenotypes. Neuroscience. 2023;535:168-83. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2023.11.001

28. Robinson SL, Dornellas APS, Burnham NW, Houck CA, Luhn KL, Bendrat SC, et al. Distinct and Overlapping Patterns of Acute Ethanol-Induced C-Fos Activation in Two Inbred Replicate Lines of Mice Selected for Drinking to High Blood Ethanol Concentrations. Brain Sci. 2020;10(12):988. https://doi.org/10.3390/brainsci10120988

29. Brunke OR, Bonauto SM, Boshak EM, Rauch MJ, Weera MM. Effects of predator odor stress on alcohol-induced conditioned taste aversion and lateral habenula cFos expression in rats. Neuropharmacology. 2026;284:110780. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2025.110780

30. Briski KP, Mandal SK. Hindbrain lactoprivic regulation of hypothalamic neuron transactivation and gluco-regulatory neurotransmitter expression: Impact of antecedent insulin-induced hypoglycemia. Neuropeptides. 2019;77:101962. https://doi.org/10.1016/j.npep.2019.101962

**Відомості про авторів**

**Чайковська В.Р.** – аспірант кафедри нормальної фізіології, ВНМУ ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, Україна. a000147@vnmu.edu.ua, https://orcid.org/0009-0004-7148-2948

**Довгань О.В. –** канд. мед. наук, доцент кафедри нормальної фізіології, декан факультету підготовки іноземних громадян, ВНМУ ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця. Україна. https://orcid.org/0000-0002-8740-0650

**Information about the authors**

**Chaikovska Viktoria** – Postgraduate student of the Department of Normal Physiology, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

**Dovgan Oleksandr –** Doctor of Medical Sciences, associate Professor, Dean of the Faculty of Foreign Citizens, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

***Дата першого надходження рукопису до видання: 23.03.2026 р.***
***Дата прийнятого до друку рукопису після рецензування: 06.04.2026 р.***
***Дата публікації: 26.05.2026 р.***