

**В. Д. Бовт, В. А. Єщенко, М. М. Малько,  
О. М. Кучковський, Н. В. Григорова**

## **Вивчення зв'язку алкогольної мотивації зі змінами вмісту цинку в гіпокампі**

*Развитие алкогольной зависимости сопровождается снижением содержания цинка в гиппокампе. Молодой возраст, многократная физическая нагрузка и иммобилизация являются факторами, которые способствуют развитию таких изменений в более выраженной степени.*

### **Вступ**

Підвищений інтерес до вивчення ролі гіпокампа в розвитку алкогольної залежності пояснюється його участю в мотивуючій діяльності людини та тварин [3]. Порівняно з іншими утвореннями головного мозку гіпокамп відрізняється здатністю акумулювати цинк [6, 8]. За допомогою електронно-цитохімічних методів показано наявність цинку в синаптичних пухирцях нейронів гіпокампа та його відсутність у гліальних клітинах [9 - 11]. Між вмістом цинку та функціональним станом клітин існує зв'язок, що доведено на прикладі панкреатичних острівців [2, 5, 7, 12]. Такий зв'язок можна припустити і відносно гіпокампа. Враховуючи викладене, нами було проведено порівняльне дослідження вмісту цинку в гіпокампі та кількості добового споживання етанолу хронічно алкоголізованими щурами, що є показником міри вираженості алкогольної залежності. Для цитохімічного визначення цинку використовували метод, заснований на застосуванні високочутливої селективної реакції 8-(п-толуолсульфоніламіно)-хіноліну (8-ТСХ) [2]. У роботі порівнювалися результати дослідження алкоголізації молодих і дорослих тварин, а також дорослих щурів, які піддавалися багатократним фізичним навантаженням та іммобілізації.

### **Методика**

Дослідження проведено на 75 безпородних білих щурах. Тварин алкоголізували введенням у шлунок через зонд 20%-го розчину етанолу з розрахунку 10 мл/кг. Цю процедуру повторювали дев'ятикратно з інтервалами в три доби між введеннями етанолу. Доказом алкогольної залежності дослідних тварин було добровільне вживання ними 15%-го розчину етанолу за умов вільного доступу до води (добровільна алкоголізація). Кількісна оцінка спожитого розчину алкоголю визначалася за об'ємом рідини, що зник з поїлки протягом трьох діб після припинення примусової алкоголізації. На підставі отриманих цифрових результатів розраховували середню кількість добового споживання етанолу.

Для вивчення вікових особливостей формування алкогольної залежності брали молодих (1 - 3 міс) і дорослих (5 - 6 міс) щурів. У дослідях з

фізичним навантаженням щури плавали в акваріумах з температурою води 32°C протягом 2 год. Для іммобілізації тварин прив'язували за допомогою м'яких пов'язок до станка в положенні "на спині" на 8 год. Дослідних тварин піддавали такому впливу щодобово протягом усього періоду алкоголізації.

Через 3 доби після останньої алкоголізації щурів декапітували. З головного мозку контрольних та дослідних тварин за допомогою заморожуючого мікротома готували зрізи товщиною 30 - 60 мкм.

Для цитохімічного визначення цинку зрізи обробляли протягом 1 хв 0,01%-м ацетоновим розчином 8-ТСХ, промивали дистильованою водою, поміщали в гліцерин і досліджували під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції застосовували світлофільтр ФС-1, а в ролі окулярного (захисного, замикаючого) був світлофільтр зі скла ЖС-18. На препаратах цинк визначали за жовто-зеленим світінням гіпокампа.

Інтенсивність цитохімічної люмінесцентної реакції, яка є показником вмісту цинку в гіпокампі, визначали в умовних одиницях за бальною системою [11]. В один бал оцінювали слабопозитивну, в два - помірну, і в три бали - виражену за інтенсивністю реакцію.

Одержаний фактичний матеріал обробляли методом кореляційного аналізу. Визначали середню арифметичну та похибку. Достовірність різниць оцінювали за критерієм *t* Стьюдента.

## **Результати та їх обговорення**

На заморожених зрізах головного мозку, що були флюорохромовані 8-ТСХ, значна кількість цинку виявлялася в зубчатій фасції та полях СА3, СА4 амонового рогу.

У дорослих інтактних щурів ( $n=13$ ) вміст цинку в гіпокампі становив  $2,0$  ум. од.  $\pm 0,11$  ум. од., а у молодих тварин ( $n=14$ ) він був значно нижчим -  $1,2$  ум. од.  $\pm 0,09$  ум. од. ( $P<0,001$ ). Хронічна алкоголізація викликала зниження вмісту цинку в гіпокампі дорослих ( $n=11$ ) і молодих ( $n=12$ ) тварин. Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ у гіпокампі при цьому була  $1,1\pm 0,06$  ( $P<0,001$ ) і  $0,5\pm 0,06$  ( $P<0,01$ ) відповідно. Якщо у молодих неалкоголізованих щурів цинку в гіпокампі було на 40% менше ніж у дорослих, то після хронічної алкоголізації ця різниця становила 55%. Виражений дефіцит цинку в гіпокампі спостерігався також у дорослих алкоголізованих тварин, які піддавалися впливу фізичних навантажень ( $n=13$ ) та іммобілізації ( $n=12$ ). Інтенсивність цитохімічної реакції 8-ТСХ у гіпокампі при цьому була  $0,6\pm 0,07$  та  $0,7\pm 0,06$  відповідно ( $P<0,001$ ).

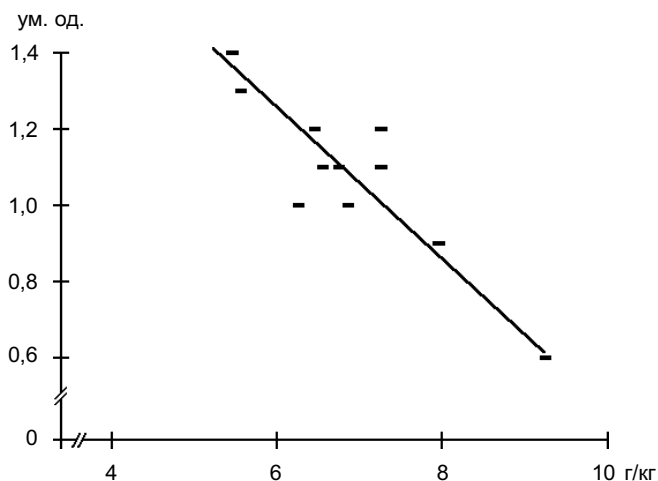
Дорослі алкоголізовані щури добровільно споживали  $7,1$  г/кг  $\pm 0,38$  г/кг етанолу за добу. Більше етанолу споживали молоді алкоголізовані щури ( $10,2$  г/кг  $\pm 0,38$  г/кг), а також дорослі тварини, стресовані фізичним навантаженням ( $9,5$  г/кг  $\pm 0,58$  г/кг) та іммобілізацією ( $9,3$  г/кг  $\pm 0,36$  г/кг) ( $P<0,001$ ).

Застосування методу кореляційного аналізу при дослідженні показників інтенсивності цитохімічної реакції 8-ТСХ і добового споживання етанолу показало наявність негативної кореляції між вмістом цинку в гіпокампі та вмістом добровільно спожитого розчину алкоголю дорослими

алкоголізованими щурами (рисунок). Аналогічні результати отримані при аналізі результатів дослідження у алкоголізованих молодих ( $r = -0,840$ ;  $P < 0,001$ ), а також дорослих тварин, які отримували багатократні фізичні навантаження ( $r = -0,816$ ;  $P < 0,001$ ) та іммобілізацію ( $r = -0,815$ ;  $P < 0,01$ ).

Таким чином, схильність до алкоголю підвищена в молодому віці, а також при дії на організм стресових факторів, що збігається з

Залежність кількості спожитого етанолу та інтенсивності цитохімічної реакції 8-ТСХ у гіпокампі дорослих хронічно алкоголізованих щурів ( $r = -0,886$ ;  $P < 0,001$ ).



літературними даними [1]. Результати досліджень дозволяють припустити, що розвиток дефіциту цинку в гіпокампі є однією з провідних ланок у формуванні алкогольної мотивації.

Дослідження вмісту цинку в гіпокампі хронічно алкоголізованих тварин представляють інтерес з точки зору з'ясування ролі цього металу в функції гіпокампа, механізму розвитку алкогольної мотивації, а також розробки засобів профілактики та коригуючої терапії алкоголізму.

## Висновки

1. У молодих тварин гіпокамп містить менше цинку, ніж у дорослих.
2. Алкоголізація викликає зниження вмісту цинку в гіпокампі. У молодих тварин ці зміни більш виражені, ніж у дорослих.
3. Стресування організму фізичним навантаженням та іммобілізацією посилюють дефіцит цинку в гіпокампі, що викликається хронічною алкоголізацією тварин.
4. Зниження вмісту цинку в гіпокампі хронічно алкоголізованих тварин супроводжується відповідним збільшенням добровільного споживання етанолу.

**V.D. Bovt, V.A. Eshchenko, M.N. Malko, O.N. Kuchkovsky, N.V. Grigorova**

## STUDY THE CONNECTION OF ALCOHOLIC MOTIVATION WITH ZINC CONTENT CHANGES IN THE HIPPOCAMPUS

Alcohol dependence development is accompanied by zinc content decrease in the hippocampus. Young age, repeated physical loads and immobilization are factors, that promote such changes development in more expressed degree.

Zaporozhye State University  
Ministry Education of Ukraine

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. - М.: Медицина, 1985.
2. Ещенко В. А. Гистохимическое исследование цинка // Цитология. - 1978. - № 8. - С. 927 - 933.
3. Симонов П.В. Мотивационный мозг. - М.: Наука, 1987.
4. Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: Пер. с англ. - М.: Медицина, 1983.
5. Aspinwall C.A., Brooks S.A., Kennedy R.T., Lakey J.R. Effects of intravesicular H<sup>+</sup> and extracellular H<sup>+</sup> and Zn<sup>2+</sup> on insulin secretion in pancreatic beta cells // J. Biol. Chem. - 1997. - **272**. - P. 31308 - 31314.
6. Barili P., Fringuelli C., Ricci A. et al. Age-related changes of sulphide-silver staining in the rat hippocampus // Mech. Aging Dev. - 1997. - **99**. - P. 89 - 94.
7. Chausmer A.B. Zinc, insulin and diabetes // J. Amer. Coll. Nutr. - 1998. - **17**. - P. 109 - 115.
8. Danscher G., Juhl S., Stoltenberg M. et al. Autometallographic silver enhancement of zinc sulfide crystals created in cryostat sections from human brain biopsies: a new technique that makes it feasible to demonstrate zinc ions in tissue sections from biopsies and early autopsy material // J. Histochem. Cytochem. - 1997. - **45**. - P. 1503 - 1510.
9. De Biasi S., Bendotti C. A simplified procedure for the physical development of the sulphide silver method to reveal synaptic zinc in combination with immunocytochemistry at light and electron microscopy // J. Neurosci. Methods. - 1998. - **79**. - P. 87 - 96.
10. Haug F.-M.S. On the normal histochemistry of trace metals in the brain // G. Hirnforsch. - 1975. - **16**. - P. 151-162.
11. Sanchez-Andres J.V., Palop J.J., Ramirez C. et al. Zinc-positive presynaptic boutons of the rabbit hippocampus during early postnatal development // Brain Res. Dev. Brain Res. - 1997. - **103**. - P. 171-183.
12. Rahuel-Clermont S., French C.A., Kaarsholm N.C., Dunn M.F., Chou C.I. Mechanisms of stabilization of the insulin hexamer through allosteric ligand interactions // Biochemistry. - 1997. - **36**. - P. 5837 - 5845.

*Запорізь. ун-т  
М-ва освіти України*

*Матеріал надійшов  
до редакції 20.05.99*