

**К.В. Белокопытова^{1,2}, О.В. Белов¹, В.Н. Гаевский¹, В.Б. Наркевич³, В.С. Кудрин³,
Е.А. Красавин¹, А.С. Базян⁴**

ДИНАМИКА НЕЙРОМЕДИАТОРНОГО ОБМЕНА У КРЫС В ПОЗДНИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ γ -КВАНТАМИ ^{60}Co

1. Объединенный институт ядерных исследований, Дубна. E-mail: dem@jinr.ru; 2. Институт генетики и физиологии Академии наук Молдавии, Кишинёв, Молдавия; 3. Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова, Москва; 4. Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

К.В. Белокопытова – м.н.с.; О.В. Белов – к.б.н., нач. сектора; В.Н. Гаевский – вед. инж.; В.Б. Наркевич – к.м.н., с.н.с.; В.С. Кудрин – к.м.н., зав. лаб.; Е.А. Красавин – чл.-корр. РАН, д.б.н., директор лаборатории; А.С. Базян – проф., д.б.н., зав. лаб.

Реферат

Цель: Оценка воздействия γ -квантов ^{60}Co на динамику обмена нейромедиаторов в головном мозге крыс разных возрастных категорий.

Материал и методы: В эксперименте использовано 20 самцов крыс линии Спрег-Дули с массой тела 190–210 г. В двухмесячном возрасте животные подвергались однократному тотальному облучению γ -квантами ^{60}Co . Через 30 и 90 суток после облучения в дозе 1 Гр крысы забивались методом декапитации. Возраст крыс, в котором проводились тесты, составлял три и пять месяцев. Динамика нейромедиаторного обмена исследовалась путём определения концентрации моноаминов (дофамина, норадреналина, серотонина) и их метаболитов в четырёх структурах головного мозга животных: префронтальная кора, гипоталамус, гиппокамп и стриатум. Содержание веществ оценивалось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Результаты измерений подвергались статистической обработке с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

Результаты: Наиболее существенная модификация динамики нейромедиаторного обмена наблюдалась в префронтальной коре, гипоталамусе и гиппокампе, что свидетельствует о чувствительности этих структур к γ -облучению в дозах порядка 1 Гр. Обнаружено, что в исследованных отделах мозга воздействие γ -квантов слабо влияет на общую направленность изменений после облучения, однако в возрастном аспекте характер метаболизма нейромедиаторов меняется по многим параметрам. Сравнение полученных результатов с данными наших ранее проведённых экспериментов по исследованию воздействия ускоренных ионов углерода показывает, что влияние γ -излучения на временную динамику нейромедиаторного обмена менее существенно по сравнению с воздействием тяжёлых ядер. Выводы: На основании проведённых исследований сделано предположение о том, что более существенные нарушения в работе медиаторных систем в результате воздействия тяжёлых ионов приводят к более интенсивной реализации компенсаторно-восстановительных процессов, что может быть причиной модификации нормальной динамики нейромедиаторного обмена в исследованном пострadiационном периоде.

Ключевые слова: центральная нервная система, ионизирующие излучения, поздние эффекты, моноамины, метаболиты

Поступила: 08.02.2016. Принята к публикации: 29.02.2017

Введение

В последние годы накапливаются данные, свидетельствующие о высокой чувствительности отдельных элементов центральной нервной системы (ЦНС) к повреждающему действию ионизирующей радиации [1]. Актуальность изучения разнообразных нейрорадиобиологических эффектов определяется рядом научно-практических задач, среди которых важное место занимает планирование сеансов радиотерапии и радиохирургии, обеспечение радиационной безопасности персонала, работающего в полях излучений физических установок, подготовка межпланетных пилотируемых полётов.

К настоящему времени получен значительный объём данных об эффектах, вызываемых в ЦНС редкоионизирующими излучениями, главным образом γ -квантами и рентгеновским излучением. Так, у мышей облучение головного мозга γ -квантами вызывает нарушение экспрессии 1,5 тыс. генов [2]. У половины из них отклонения наблюдаются более чем в 1,5 раза. У 30 % генов эти изменения носят дозово-зависимый характер, включая гены, экспрессия которых изменяется уже при дозе 0,1 Гр. Для 60 % генов наблюдается зависимость эффекта от времени после облучения. При этом ранние изменения в мозге, связанные с нарушением экспрессии генов, включают модификацию ионной регуляции, передачи сигналов и синаптического взаимодействия. Более поздние периоды после облучения характеризуются нарушением метаболиче-

ских функций, связанных с синтезом белка и миелина [2].

Со стороны нейромедиаторных систем имеются сведения об изменении захвата глутамата и функций глутаматных транспортёров в нейронах и астроцитах при облучении γ -квантами в сравнительно низких дозах (0,1–2 Гр) [3]. При воздействии рентгеновского излучения у крыс отмечается нарушение пространственной памяти, ассоциированной с функциями гиппокампа. Однако эти изменения наблюдаются при значительно больших дозах облучения порядка 13 Гр [4]. Ряд свидетельств указывает на снижение пролиферации и дифференциации нейрональных клеток-предшественников после облучения рентгеновскими и γ -квантами в дозах 2–13 Гр [5–7]. При действии редкоионизирующих излучений в дозах свыше 2 Гр отмечено увеличение апоптотической гибели клеток в субгранулярной зоне гиппокампа [8]. В диапазоне доз 5–35 Гр наблюдается индукция факторов нейровоспалительных процессов [9–12].

Параллельно с наблюдениями о действии электромагнитных излучений продолжается накопление данных о влиянии тяжёлых заряженных частиц на различные нейрофизиологические показатели [8, 13, 14]. Как правило, эффекты от воздействия таких излучений носят более выраженный характер и проявляются при облучении существенно меньшими дозами, начиная с 0,2–0,5 Гр.

Несомненный интерес представляет выявление отличий в действии тяжёлых заряженных частиц и

электромагнитных видов излучений на функции ЦНС, где особое место занимает исследование поздних эффектов после облучения. В настоящее время имеются лишь отдельные факты, свидетельствующие об ускорении нейродегенеративных процессов у облучённых лабораторных животных [15–18]. За исключением наших работ [19, 20] имеется крайне ограниченный объём сведений, касающихся радиационно-индуцированных модификаций метаболизма моноаминов с возрастом, где обнаружены нарушения оборота дофамина в стриатуме [17, 21, 22]. Однако комплексные исследования моноаминергических систем одновременно в нескольких структурах мозга в этих работах не проводились.

В связи с этим целью настоящей работы является изучение динамики изменений нейромедиаторного обмена у крыс в поздний период после облучения γ -квантами и сравнение этих данных с результатами, полученными нами ранее [19, 20] относительно воздействия ионов углерода (^{12}C).

Материал и методы

Животные

В эксперименте использовано 20 самцов крыс линии Спрег-Дуули категории SPF. Возраст животных составлял 7–8 нед, масса тела – 190–210 г. До облучения крысы, полученные из Питомника лабораторных животных “Пушино” (г. Пушкино), прошли адаптацию к условиям вивария в течение 1 нед, где содержались по 5 в клетке при естественных условиях освещения (день приблизительно 8 ч) со свободным доступом к воде и пище. На момент облучения возраст животных составлял 2 мес. Через 30 и 90 сут после облучения животные в количестве по 5 облучённых и 5 контрольных на каждый временной период забивались методом декапитации. Возраст, в котором проводились тесты, составлял в среднем 3 и 5 мес, промежуток времени между двумя экспериментами – 2 месяца. Все процедуры с животными осуществлялись в соответствии с правилами работы, утверждёнными биоэтическими комиссиями Института медико-биологических проблем РАН и Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН.

Процедура облучения

Облучение животных γ -квантами выполнялось на базе медико-технического комплекса Объединенного института ядерных исследований (г. Дубна) с использованием установки «РОКУС-М» (АО «Равенство», г. Санкт-Петербург) с источником излучения ^{60}Co [23, 24]. Доза облучения составляла 1 Гр, мощность дозы в области облучения – 1,02 Гр/мин. Дозиметрия осуществлялась с использованием дозиметра PTW UNIDOS-E (PTW-Freiburg, Германия) с ионизационной камерой ТМ30013-03378 при полностью открытом коллиматоре (размеры коллиматора – 26×22 см). Суммарная погрешность определения поглощённой дозы не превышала $\pm 3\%$. Крысы в количестве 10 животных под-

вергались однократному тотальному облучению. Животные, помещённые в клетки-фиксаторы, располагались горизонтально под источником γ -квантов и облучались поочерёдно по 2 крысы. Расстояние до поверхности, на которой устанавливались клетки-фиксаторы, составляло 75 см. 10 животных были использованы в качестве необлучённого контроля. При этом крысы контрольной группы были подвергнуты ложному облучению путём выдерживания животных в сходных условиях, но без воздействия радиации.

Определение уровней нейромедиаторов

Извлекались четыре структуры мозга: префронтальная кора, гипоталамус, гиппокамп и стриатум. Структуры выделялись на льду, замораживались в жидком азоте и взвешивались. Хранение образцов до использования осуществлялось в рефрижераторе при -80°C .

Полученные навески тканей гомогенизировались при температуре $+4^\circ\text{C}$ в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (0,2 мм) при скорости вращения 3000 об/мин. В качестве среды при гомогенизации и выделении использовался 0,1 N HClO₄ с добавлением 0,5 нмоль/мл внутреннего стандарта ДОБА (3,4-диоксисбензиламин) – вещества катехоламиновой природы, но не встречающегося в нативной ткани. Структуры мозга гомогенизировались в 20-кратных объёмах среды выделения. Центрифугирование проб проводилось в течение 15 мин при $+4^\circ\text{C}$ и 10000 g. Супернатант использовался в дальнейшем для определения концентрации моноаминов и их метаболитов.

Содержание моноаминов и их метаболитов определялось с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионопарная хроматография) с электрохимической детекцией на хроматографе LC304T (BAS, West Lafayette, США) с инжектором Rheodyne 7125, петля для нанесения образцов – 20 мкл [19, 20, 25]. Исследуемые вещества разделялись на обращеннофазной колонке ReproSil Pur, ODS 3, 4×100 мм, 3 мкм (Dr.Majsch GMBH, “Элсико”, Москва). Насос PM80 (BAS, США), скорость элюции подвижной фазы 1,0 мл/мин при давлении 200 атм. Мобильная фаза – 0,1 M цитратнофосфатный буфер, содержащий 1,1 mM октансульфоновой кислоты, 0,1 mM ЭДТА и 9 % ацетонитрила (pH 3,0). Скорость потока 1 мл/мин. Измерение проводилось с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS, США) на стеклоугольном электроде ($+0,85\text{ V}$) против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрация образцов выполнялась с применением аппаратно-программного комплекса МУЛЬТИХРОМ 1.5 (АМПЕРСЕНД). Для калибровки хроматографа использовались смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Величины концентраций моноаминов в опытных образцах рассчитывались методом внутреннего стандарта, исходя из отношений площади пиков в стандартной смеси и в образце.

Методом хроматографии определялись концентрации норадреналина (НА), дофамина (ДА) и его метаболитов.

литов – 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), гомованилиновой кислоты (ГВК), 3-метокситирамина (3-МТ), а также серотонина (5-ОТ) и его метаболита – 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК). Дополнительно оценивались соотношения концентраций ДОФУК/ДА, ГВК/ДА и 5-ОИУК/5-ОТ, характеризующие оборот нейромедиаторов.

Результаты подвергались статистической обработке с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Апостериорные сравнения средних осуществ-

лялись по критерию наименьшей значимой разности – LSD (ANOVA). Для проведения статистического анализа были введены следующие обозначения групп животных. Контрольные животные, подвергавшиеся анализу через 30 и 90 сут после облучения, были обозначены как группы 1 и 2 соответственно. Для облучённых крыс, проанализированных спустя 30 и 90 сут после воздействия, введены номера групп 3 и 4 соответственно. Влияние радиации на динамику нейромедиаторного обмена оценивалось путём сравнения

Таблица

Концентрация моноаминов и их метаболитов в различных структурах мозга крыс (нмоль/мг ткани $\pm$ SEM) через 30 и 90 сут после облучения γ -квантами ^{60}Co в дозе 1 Гр. В скобках указан возраст животных на момент исследования

Группы	Контроль		Облучение γ -квантами		<i>p</i> -значение			
	30 сут (3 месяца) 1	90 сут (5 месяцев) 2	30 сут (3 месяца) 3	90 сут (5 месяцев) 4	<i>p</i> 2 к 1	<i>p</i> 3 к 1	<i>p</i> 4 к 3	<i>p</i> 4 к 2
Префронтальная кора								
НА	1,10 $\pm$ 0,08	1,36 $\pm$ 0,04	1,09 $\pm$ 0,05	1,52 $\pm$ 0,10	0,03	0,98	0,01	0,24
ДА	0,34 $\pm$ 0,03	0,58 $\pm$ 0,11	0,86 $\pm$ 0,43	0,47 $\pm$ 0,04	0,11	0,32	0,40	0,41
ДОФУК	0,43 $\pm$ 0,09	0,29 $\pm$ 0,15	0,44 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,01	0,48	0,97	10⁻⁴	0,48
ГВК	0,38 $\pm$ 0,07	0,19 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,04	0,19 $\pm$ 0,03	0,04	0,22	0,28	0,90
3-МТ	0,09 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,00	0,08 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,01	0,21	0,83	0,92	0,16
5-ОТ	3,01 $\pm$ 0,20	3,75 $\pm$ 0,16	2,76 $\pm$ 0,14	3,90 $\pm$ 0,25	0,03	0,38	0,01	0,68
5-ОИУК	1,66 $\pm$ 0,09	2,10 $\pm$ 0,14	1,62 $\pm$ 0,09	1,95 $\pm$ 0,15	0,04	0,80	0,15	0,53
ДОФУК/ДА	1,30 $\pm$ 0,27	0,94 $\pm$ 0,66	1,22 $\pm$ 0,32	0,40 $\pm$ 0,05	0,67	0,86	0,04	0,44
ГВК/ДА	1,15 $\pm$ 0,22	0,37 $\pm$ 0,08	0,74 $\pm$ 0,24	0,46 $\pm$ 0,11	0,02	0,30	0,33	0,59
5-ОИУК/5-ОТ	0,56 $\pm$ 0,03	0,56 $\pm$ 0,02	0,59 $\pm$ 0,04	0,50 $\pm$ 0,02	1,00	0,58	0,09	0,06
Гиппокамп								
НА	2,05 $\pm$ 0,25	1,57 $\pm$ 0,15	1,55 $\pm$ 0,17	2,11 $\pm$ 0,52	0,18	0,17	0,38	0,39
ДА	0,79 $\pm$ 0,24	1,11 $\pm$ 0,57	0,49 $\pm$ 0,10	0,68 $\pm$ 0,18	0,66	0,33	0,43	0,54
ДОФУК	0,37 $\pm$ 0,13	0,30 $\pm$ 0,08	0,22 $\pm$ 0,05	0,25 $\pm$ 0,04	0,70	0,37	0,62	0,68
ГВК	0,59 $\pm$ 0,26	0,34 $\pm$ 0,13	0,34 $\pm$ 0,13	0,45 $\pm$ 0,14	0,48	0,47	0,63	0,64
3-МТ	0,28 $\pm$ 0,14	0,19 $\pm$ 0,05	0,15 $\pm$ 0,04	0,23 $\pm$ 0,10	0,60	0,46	0,54	0,75
5-ОТ	2,69 $\pm$ 0,36	2,59 $\pm$ 0,13	2,25 $\pm$ 0,14	2,62 $\pm$ 0,59	0,82	0,34	0,60	0,96
5-ОИУК	2,77 $\pm$ 0,19	3,80 $\pm$ 0,46	2,47 $\pm$ 0,27	3,14 $\pm$ 0,63	0,10	0,45	0,40	0,48
ДОФУК/ДА	0,54 $\pm$ 0,14	0,52 $\pm$ 0,23	0,43 $\pm$ 0,02	0,68 $\pm$ 0,28	0,96	0,52	0,46	0,71
ГВК/ДА	0,72 $\pm$ 0,15	0,83 $\pm$ 0,42	0,59 $\pm$ 0,12	0,99 $\pm$ 0,33	0,83	0,56	0,34	0,79
5-ОИУК/5-ОТ	1,08 $\pm$ 0,09	1,47 $\pm$ 0,17	1,09 $\pm$ 0,07	1,22 $\pm$ 0,08	0,10	0,96	0,29	0,26
Гипоталамус								
НА	7,97 $\pm$ 0,69	4,48 $\pm$ 0,16	9,47 $\pm$ 0,56	4,96 $\pm$ 0,61	0,002	0,17	0,001	0,54
ДА	3,19 $\pm$ 0,45	1,42 $\pm$ 0,20	2,96 $\pm$ 0,58	1,22 $\pm$ 0,12	0,01	0,79	0,02	0,44
ДОФУК	0,92 $\pm$ 0,18	0,23 $\pm$ 0,07	0,88 $\pm$ 0,13	0,17 $\pm$ 0,02	0,01	0,86	0,001	0,41
ГВК	1,05 $\pm$ 0,28	0,20 $\pm$ 0,04	1,07 $\pm$ 0,29	0,14 $\pm$ 0,03	0,03	0,97	0,01	0,27
3-МТ	0,38 $\pm$ 0,10	0,13 $\pm$ 0,03	0,56 $\pm$ 0,13	0,10 $\pm$ 0,02	0,07	0,36	0,01	0,37
5-ОТ	5,34 $\pm$ 0,58	4,73 $\pm$ 0,32	6,18 $\pm$ 0,48	4,45 $\pm$ 0,27	0,43	0,35	0,02	0,55
5-ОИУК	3,19 $\pm$ 0,37	3,60 $\pm$ 0,37	3,97 $\pm$ 0,56	2,97 $\pm$ 0,20	0,51	0,33	0,13	0,19
ДОФУК/ДА	0,33 $\pm$ 0,11	0,15 $\pm$ 0,03	0,38 $\pm$ 0,10	0,14 $\pm$ 0,01	0,18	0,78	0,05	0,73
ГВК/ДА	0,31 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,02	0,49 $\pm$ 0,23	0,12 $\pm$ 0,02	0,07	0,54	0,15	0,45
5-ОИУК/5-ОТ	0,60 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,06	0,63 $\pm$ 0,04	0,67 $\pm$ 0,03	0,06	0,59	0,46	0,22
Стриатум								
НА	1,27 $\pm$ 0,64	0,60 $\pm$ 0,11	0,64 $\pm$ 0,12	0,53 $\pm$ 0,05	0,38	0,41	0,51	0,64
ДА	44,73 $\pm$ 3,93	44,56 $\pm$ 3,85	43,06 $\pm$ 4,16	54,30 $\pm$ 4,19	0,98	0,80	0,14	0,18
ДОФУК	2,94 $\pm$ 0,23	2,93 $\pm$ 0,16	2,84 $\pm$ 0,25	3,72 $\pm$ 0,46	0,97	0,80	0,16	0,16
ГВК	2,31 $\pm$ 0,26	2,00 $\pm$ 0,20	2,25 $\pm$ 0,21	2,54 $\pm$ 0,37	0,44	0,88	0,54	0,27
3-МТ	0,51 $\pm$ 0,07	0,40 $\pm$ 0,03	0,45 $\pm$ 0,04	0,53 $\pm$ 0,04	0,20	0,47	0,27	0,06
5-ОТ	3,54 $\pm$ 0,51	4,00 $\pm$ 0,22	3,60 $\pm$ 0,14	4,37 $\pm$ 0,47	0,48	0,92	0,17	0,52
5-ОИУК	3,15 $\pm$ 0,18	3,61 $\pm$ 0,18	2,92 $\pm$ 0,17	3,97 $\pm$ 0,56	0,15	0,44	0,13	0,59
ДОФУК/ДА	0,07 $\pm$ 0,002	0,07 $\pm$ 0,003	0,07 $\pm$ 0,004	0,07 $\pm$ 0,003	0,89	0,84	0,97	0,90
ГВК/ДА	0,05 $\pm$ 0,003	0,05 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,005	0,05 $\pm$ 0,004	0,45	0,70	0,30	1,00
5-ОИУК/5-ОТ	0,94 $\pm$ 0,08	0,91 $\pm$ 0,03	0,81 $\pm$ 0,04	0,90 $\pm$ 0,05	0,73	0,21	0,28	0,86

Примечание: Жирным курсивом (*Italic*) отмечена выраженная тенденция при $0,05 \leq p \leq 0,1$; жирным подчеркнутым шрифтом отмечена статистическая значимость при $p < 0,05$. Знаком * обозначена статистическая значимость одностороннего снижения показателей по критерию Z-знаков при $p < 0,05$. Знаком ** отмечена статистическая значимость одностороннего снижения показателей по критерию Z-знаков при $p < 0,01$

результатов 90-х сут по отношению к 30-м: в контроле сравнивались группы 2 к 1, при облучении – 4 к 3. Для оценки эффекта γ -облучения в каждой из двух временных точек сравнивались группы 3 к 1 (30-е сут) и 4 к 2 (90-е сут). Выявление общего направления сдвига в концентрациях веществ после облучения осуществлялось с использованием непараметрического критерия Z-знаков. Статистически значимыми считались различия на уровне $p < 0,05$. Значения p от 0,05 до 0,1 рассматривались в качестве выраженной тенденции. Конечные результаты измерений выражались в виде средних величин концентраций веществ $\pm$ стандартная ошибка среднего.

Результаты

Результаты измерений, характеризующие динамику обмена нейромедиаторов, представлены в таблице. Полученные данные свидетельствуют о различиях в характере временных изменений, оценённых на двухмесячном промежутке у контрольных (группы 1 и 2) и облучённых (группы 3 и 4) крыс. Наибольшие отличия наблюдались в префронтальной коре, гиппокампе и гипоталамусе.

В частности, в префронтальной коре облучённых животных к возрасту 5 месяцев (90 сут после облучения) концентрация ДОФУК статистически значимо снижалась до 40,8 % по сравнению с 3-месячным возрастом (30 сут после облучения), в то время как в контроле этот показатель уменьшался незначительно – до 67,0 %. Уровень ГВК, наоборот, значимо снижался только в контроле (до 48,4 %); у облучённых животных с возрастом наблюдалось лишь незначительное понижение (до 73,9 %). Концентрация ДА при этом повышалась в контроле и понижалась у облучённых животных до 168,5 и 54,6 % соответственно, однако статистическая значимость по этим изменениям не достигалась. Облучение γ -квантами вызывало существенное уменьшение индекса ДОФУК/ДА со временем – до 33,0 %. У ложнооблучённых животных этот показатель незначительно снижался с возрастом до 72,6 %. Соотношение ГВК/ДА значимо уменьшалось только в контроле (до 32,6 %). В то же время у крыс, подвергавшихся воздействию радиации, этот индекс понижался незначительно (до 61,9 %). Концентрация 5-ОИУК существенно возрастала со временем только у контрольных крыс (до 126,8 %). Воздействие радиации приводило к увеличению уровня 5-ОИУК до 120,3 %, но значимость различий при этом не выявлялась. У облучённых животных отмечалась выраженная тенденция к возрастному снижению оборота 5-ОТ, оценённого по соотношению 5-ОИУК/5-ОТ, которое уменьшалось до 84,0 %. В контроле индекс 5-ОИУК/5-ОТ не изменялся на двухмесячном временном промежутке. Остальные показатели имели сходный характер возрастных изменений в контроле и после облучения: концентрации НА и 5-ОТ статистически значимо повышались в обоих случаях, уровень 3-МТ практически не изменялся.

В гиппокампе у контрольных животных отмечалась выраженная тенденция к возрастному повышению концентрации 5-ОИУК и соотношения 5-ОИУК/5-ОТ до 137,2 и 136,0 % соответственно. У крыс, подвергнутых воздействию радиации, эти показатели увеличивались до 127,3 и 112,4 %, однако статистическая значимость при этом не достигалась. Несмотря на отсутствие других значимых изменений по отдельным показателям, для гиппокампа облучённых животных существенно отличался общий характер результатов. По сравнению с контролем, где большинство показателей понижалось с возрастом, в группе облучения отмечалось однонаправленное увеличение всех исследованных индексов. Анализ парных сравнений по критерию Z-знаков выявил значимость таких результатов на уровне 1 % ($p < 0,01$). К числу показателей, для которых в контроле отмечалось снижение, относились концентрации НА (76,4 %), ДОФУК (81,1 %), ГВК (58,5 %), 3-МТ (66,6 %), 5-ОТ (96,2 %) и соотношение ДОФУК/ДА (97,3 %). Остальные индексы были незначительно повышены.

В гипоталамусе к 5-месячному возрасту концентрации НА, ДА, ДОФУК, ГВК и 3-МТ существенно снижались как у контрольных (до 56,1, 44,6, 25,4, 19,2, 35,1 % соответственно), так и у облучённых животных (до 52,4, 41,1, 19,3, 13,2 и 17,2 %). При этом изменение содержания 3-МТ у контрольных крыс было значимым на уровне выраженной тенденции. Соотношение ДОФУК/ДА понижалось на уровне тенденции лишь в группе облучения (до 37,1 %), тогда как в контроле уменьшение этого показателя до 46,0 % было незначительным. Индекс ГВК/ДА, наоборот, снижался существенно только у животных, не подвергавшихся воздействию γ -квантов (до 45,6 %). При этом снижение было значимым на уровне выраженной тенденции. У облучённых крыс уменьшение ГВК/ДА до 23,9 % было незначительным. Воздействие радиации приводило к существенному снижению концентрации 5-ОТ с возрастом до 71,9 %, в то время как в контроле содержание 5-ОТ уменьшалось незначительно (до 88,6 %). Уровень 5-ОИУК менялся незначительно в обеих группах: у ложнооблучённых крыс повышался до 112,8 %, после облучения γ -квантами снижался до 74,7 %. В 5-месячном возрасте у контрольных животных наблюдалась выраженная тенденция к повышению оборота 5-ОТ, оценённого по индексу 5-ОИУК/5-ОТ, величина которого возрастала до 127,6 % по отношению к 3-месячному показателю. Воздействие радиации не приводило к повышению оборота 5-ОТ на этом временном промежутке: соотношение 5-ОИУК/5-ОТ почти не изменялось и к 5-месяцам составляло 106,5 %. Сравнение общего характера динамики обмена в гипоталамусе выявило значимые различия между группами контроля и облучения: действие γ -квантов вызывало однонаправленное снижение 9 из 10 исследованных показателей. Эти изменения были статистически значимыми по критерию Z-знаков на уровне 5 % ($p < 0,05$). В кон-

троле столь существенной однонаправленности не отмечалось.

В стриатуме контрольных и облучённых крыс не было обнаружено статистически достоверных изменений с возрастом. Различия между группами животных касались лишь общего характера полученных результатов: после облучения большее количество показателей демонстрировало повышение (7 из 10) по сравнению с контролем (2 из 10). Однако необходимый уровень значимости по критерию Z-знаков в этом случае не достигался.

Кроме динамики нейромедиаторного обмена в работе исследованы изменения, наблюдаемые в первой и второй временной точке в отдельности. Для этой цели между собой сравнивались данные контроля и облучения 30-х (группы 3 и 1) и 90-х (группы 4 и 2) сут. Через 30 сут после облучения существенные различия между контрольными и облучёнными животными были зафиксированы лишь в гиппокампе, где в группе, подвергавшейся воздействию радиации, наблюдалось однонаправленное снижение 9 из 10 показателей. Эти результаты были статистически значимы по критерию Z-знаков ($p < 0,05$). К 90-м сут такая однонаправленность в гиппокампе не сохранялась. Во второй временной точке существенные изменения отмечались в гипоталамусе и, менее значимые, – в префронтальной коре и стриатуме. В гипоталамусе к 90-м суткам однонаправленно снизились 9 из 10 показателей обмена. Статистический анализ по критерию Z-знаков подтвердил неслучайный характер таких изменений ($p < 0,05$). В префронтальной коре наблюдалась лишь тенденция к снижению оборота 5-ОТ, оценённого по показателю 5-ОИУК/5-ОТ. В стриатуме было зафиксировано некоторое повышение уровня 3-МТ, изменение которого было значимо на уровне выраженной тенденции.

Обсуждение

При оценке поздних эффектов облучения важным является учёт суперпозиции возрастного и радиационного факторов. Возрастные изменения обмена нейромедиаторов проявляются на различных уровнях организации мозга. При этом меняются многие физиологические показатели, связанные с работой медиаторных систем: происходит потеря нейронов [26], развивается общая атрофия [27, 28], нарушаются механизмы синаптической передачи [29], функции поведения, памяти, обучения и др. [30–33]. В нашей работе исследовалось влияние радиационного фактора, представленного γ -квантами ^{60}Co , на динамику изменений в работе одновременно трёх нейромедиаторных систем крыс – НА, ДА и 5-ОТ. Обмен моноаминов и их метаболитов определялся в четырёх структурах мозга (префронтальная кора, гипоталамус, стриатум, гиппокамп), принимающих активное участие в управлении различными поведенческими реакциями животных.

Показано, что в префронтальной коре воздействие γ -квантов ускоряет снижение уровня ДОФУК, которое в норме наблюдается после достижения животными трёхмесячного возраста [34]. Достоверное уменьшение концентрации ДОФУК к 5-месячному возрасту указывает на ускоренное снижение активности ДА системы у облучённых крыс по сравнению с контрольными. Характер ДА-ергической медиации в группе облучения отличался и по другим показателям: у контрольных животных со временем существенно снижалась концентрация ГВК, однако после воздействия γ -квантов не было выявлено существенных отклонений. Величины отношений метаболитов к медиатору тоже различались: в группе контрольных животных снижался показатель ГВК/ДА, у облучённых крыс – ДОФУК/ДА.

С учётом того, что в норме с возрастом происходит увеличение активности катехоламин-разрушающих ферментов, в особенности моноаминоксидаз (МАО) и катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ), полученные результаты могут свидетельствовать об угнетении активности МАО-А после воздействия радиации, что приводит к изменению баланса в метаболизме ДА в пользу путей ДА $\rightarrow$ 3-МТ и ДОФУК $\rightarrow$ ГВК, которые зависят от работы КОМТ. Существенное понижение уровня 5-ОИУК, наблюдаемое в контроле к 5 месяцам, и отсутствие таких изменений у облучённых животных на фоне одинакового увеличения концентрации 5-ОТ в обеих группах может свидетельствовать о снижении активности МАО-В после воздействия γ -квантов. Сравнение полученных при γ -облучении данных с результатами наших предыдущих работ по воздействию ядер углерода (^{12}C , энергия – 500 МэВ/нуклон, доза – 1 Гр) [19, 20] указывает на определённые различия в динамике метаболизма. В частности, после воздействия ионов ^{12}C дополнительно нарушалось нормальное возрастное снижение уровня НА и соотношения 5-ОИУК/5-ОТ, что указывает на более выраженный эффект от воздействия тяжёлых заряженных частиц.

В гиппокампе обмен нейромедиаторов у γ -облучённых и контрольных животных различался по показателям, характеризующим работу 5-ОТ системы. В группе контроля уровни 5-ОИУК и 5-ОИУК/5-ОТ увеличивались к 5-месячному возрасту по сравнению с 3-месячным, что согласуется с результатами других авторов [34]. У облучённых крыс обмен 5-ОТ замедлялся, что выражалось в отсутствии существенных изменений по показателям 5-ОИУК и 5-ОИУК/5-ОТ со временем. Найденные различия могут указывать на ингибирование активности МАО-В с возрастом после воздействия γ -квантов. Отмеченное нами однонаправленное увеличение всех исследованных показателей после облучения, вероятно, связано с избыточной активацией НА, ДА и 5-ОТ систем в гиппокампе в ответ на действие радиации. Такой характер изменений может быть обусловлен повышенным выбросом исследуемых веществ в связи с реализацией компенсаторно-восстановитель-

ных механизмов в ответ на нарушения, возникшие под влиянием γ -квантов. Анализ различий между воздействием ионов ^{12}C и γ -квантов и показывает, что при воздействии последних отсутствует сколь либо значимое замедление метаболизма 5-ОТ, оценённое по показателю 5-ОИУК/5-ОТ и наблюдавшееся при облучении тяжёлыми заряженными частицами.

В гипоталамусе временные изменения уровней НА, ДА, ДОФУК, ГВК и 3-МТ имели схожий характер в контроле и после воздействия γ -квантов: концентрации названных веществ существенно снижались у 5-месячных крыс по сравнению с 3-месячными. При этом оборот ДА, измеренный по показателям ДОФУК/ДА и ГВК/ДА, отличался в разных группах и изменялся таким же образом, как и в префронтальной коре: ДОФУК/ДА значительно снижался после облучения, ГВК/ДА – только в контроле. Полученные результаты свидетельствуют о вероятном смещении баланса в метаболизме ДА в пользу КОМТ-зависимых путей при угнетении активности МАО-А.

Кроме того, γ -облучение приводило к изменению динамики обмена 5-ОТ: в группе контроля его концентрация снижалась к 5 мес несущественно, в то время как у облучённых животных она значимо понижалась. Выявленные различия могут указывать на более существенное подавление синтеза 5-ОТ с возрастом у крыс, подвергавшихся воздействию γ -квантов. При этом изменение оборота 5-ОТ, который существенно повышался со временем в контроле и практически не изменялся после γ -облучения, вероятно, свидетельствует об усилении у облучённых животных захвата внеклеточного серотонина и его утилизации путём окислительного дезаминирования. Анализ по критерию Z-знаков выявил однонаправленное снижение большинства исследованных показателей у облучённых животных в отличие от контрольных. Эти результаты свидетельствуют об ускорении возрастных изменений в НА, ДА и 5-ОТ системах после воздействия радиации. Сравнение абсолютных значений показателей в гипоталамусе указывает на более интенсивное снижение метаболизма моноаминов у облучённых крыс, что может свидетельствовать одновременно об угнетении синтеза НА и ДА, а также об уменьшении активности катехоламин-разрушающих ферментов. В гипоталамусе основным отличием от воздействия ионов ^{12}C было наличие у γ -облучённых животных изменений по показателям 5-ОТ и ДОФУК/ДА, что, вероятно, является следствием активной работы компенсаторно-восстановительных механизмов, не подавленных облучением, как в случае воздействия тяжёлых заряженных частиц.

Отсутствие значимых временных изменений в стриатуме контрольных животных согласуется с экспериментальными данными других авторов, показавших, что концентрации НА, ДА и 5-ОТ нарастают к трехмесячному возрасту и сохраняются на прежнем уровне до 12 мес [34]. При этом облучение γ -квантами не вызывало значимых отклонений от нормы, что сви-

детельствует об устойчивости метаболических путей стриатума к воздействию редкоионизирующих излучений в дозах порядка 1 Гр. Однако при облучении ионами ^{12}C была выявлена выраженная тенденция к возрастному увеличению концентрации 5-ОТ вместе с некоторым повышением уровней ДА и ДОФУК. Учитывая, что в нормальных условиях повышение концентрации 5-ОТ приводит к усилению высвобождения ДА в стриатуме [35], полученные результаты могут свидетельствовать о возрастной активации 5-ОТ рецепторов в ответ на воздействие ионов ^{12}C . При этом степень выраженности таких изменений стриатуме, по-видимому, зависит от ЛПЭ частиц, и при больших значениях не исключено более выраженное проявление таких эффектов, связанных с 5-ОТ-зависимым изменением уровня ДА и его метаболитов в стриатуме.

При исследовании изменений, наблюдаемых в первой и второй временной точке в отдельности, обнаруженные факты свидетельствуют о различном характере воздействия γ -излучения на разные структуры. Так, в гиппокампе однонаправленное снижение показателей метаболизма на 30-е сут и отсутствие таких изменений в 90-суточный период указывает на проявление эффекта в более ранние сроки после облучения. Позднее возникшие в гиппокампе нарушения нивелируются. При этом вероятно участие некоторых компенсаторно-восстановительных механизмов. Не исключено, что восстановление в гиппокампе может происходить за счёт наличия в нём участков нейрогенеза, позволяющих заместить пул потерянных или повреждённых радиацией нейронов.

В гипоталамусе, где процессы нейрогенеза не реализуются, наблюдается обратная ситуация, и нарушения усиливаются со временем. Об этом свидетельствует значимое однонаправленное снижение показателей метаболизма на 90-е сут при отсутствии таких изменений в 30-суточный период. В префронтальной коре и стриатуме γ -облучённых животных общий характер нейромедиаторного обмена слабо отличался от контроля в обеих временных точках. Различия на уровне выраженной тенденции наблюдались только на 90-е сутки после облучения и затрагивали лишь по одному показателю в каждой из этих структур: в префронтальной коре – оборот 5-ОТ, в стриатуме – уровень 3-МТ. Сопоставление полученных результатов с данными о динамике обмена позволяет заключить, что в префронтальной коре, гипоталамусе и гиппокампе воздействие γ -квантов слабо влияет на общую направленность изменений после облучения, однако в возрастном аспекте характер метаболизма нейромедиаторов меняется по многим параметрам.

Сравнение полученных данных с результатами наших предыдущих работ [19, 20], где нейромедиаторный обмен исследовался после облучения ускоренными ионами углерода, показывает, что влияние γ -квантов на динамику метаболизма менее существенно по сравнению с тяжёлыми ядрами. Во всех исследованных структурах отличия от контроля были существеннее

у животных, облучённых ионами ^{12}C . У крыс, подвергавшихся воздействию γ -квантов, общее количество показателей, значимо менявшихся с возрастом, было сопоставимо с контролем; различался лишь характер наблюдаемых изменений. При оценке изменений в первой и второй временной точке в отдельности, общее число статистически значимых различий также было выше в случае облучения ионами ^{12}C . Такие результаты согласуются с наблюдениями других авторов, указывающих на более выраженные радиационные эффекты в ЦНС при действии тяжёлых заряженных частиц в сравнении с электромагнитными видами излучений в тех же дозах [8, 13, 14].

После облучения ядрами ^{12}C многие показатели метаболизма моноаминов не снижались с возрастом в той мере, в которой это происходило в контроле или после γ -облучения. Вероятно, в случае воздействия ионов углерода в отдельных структурах идёт более интенсивный выброс некоторых медиаторов в пострadiационный период, что может быть обусловлено активной реализацией компенсаторно-восстановительных механизмов. Это приводит к отсутствию нормального снижения концентраций веществ с возрастом, по крайней мере, в исследованный временной период. Не исключено, что на более длительных временных интервалах по завершении восстановительных процессов, запускаемых ядрами ^{12}C , будет наблюдаться усиленное снижение уровней медиаторов, т.е. в целом действие ионов углерода может усугублять дегенеративные возрастные процессы в мозге.

В целом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что облучение γ -квантами в дозах порядка 1 Гр приводит к некоторой модификации динамики нейромедиаторного обмена у молодых крыс по крайней мере в течение двухмесячного периода, однако эти изменения носят менее выраженный характер, чем при воздействии ускоренных тяжёлых ионов в той же дозе.

Заключение

Результаты сравнения эффектов от облучения ионами ^{12}C и γ -квантами имеют значение для ряда научно-практических задач, к числу которых следует отнести, прежде всего, вопросы лучевой терапии опухолей головного мозга. С одной стороны, применение тяжёлых ионов позволяет выполнять более эффективное и точное облучение локального объёма опухоли, снижая при этом вероятность повреждения соседних структур мозга. Однако в областях, подвергающихся воздействию тяжёлых ядер, более вероятно развитие нейродегенеративных процессов, что может привести к более серьёзным нарушениям функций облучённых структур. Таким образом, различия в характере воздействия ионов ^{12}C и γ -квантов на разные отделы мозга могут иметь значение при выборе метода лучевой терапии и прогнозировании возможных последующих осложнений со стороны ЦНС, ассоциированных с функциями конкретных структур.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Красавин Е.А. и соавт. Космическая радиобиология за 55 лет (к 50-летию ГНЦ РФ-ИМБП РАН). – М.: Экономика. 2013. 303 с.
2. Yin E., Nelson D.O., Coleman M.A. et al. Gene expression changes in mouse brain after exposure to low-dose ionizing radiation // *Int. J. Radiat. Biol.* 2003. Vol. 79. P. 759–775.
3. Sanchez M.C., Benitez A., Orloff L., Green L.M. Alterations in glutamate uptake in NT2-derived neurons and astrocytes after exposure to gamma radiation // *Radiat. Res.* 2009. Vol. 171. P. 41–52.
4. Britten R.A., Davis L.K., Johnson A.M., et al. Low (20 cGy) doses of 1 GeV/u (56)Fe-particle radiation lead to a persistent reduction in the spatial learning ability of rats // *Radiat. Res.* 2012. Vol. 177. P. 146–151.
5. Monje M.L., Mizumatsu S., Fike J.R., Palmer T.D. Irradiation induces neural precursor-cell dysfunction // *Nat. Med.* 2002. Vol. 8. P. 955–962.
6. Mizumatsu S., Monje M.L., Morhardt D.R. et al. Extreme sensitivity of adult neurogenesis to low doses of x-irradiation // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63. P. 4021–4027.
7. Acharya M.M., Christie L.A., Lan M.L. et al. Human neural stem cell transplantation ameliorates radiation-induced cognitive dysfunction // *Cancer Res.* 2011. Vol. 71. P. 4834–4845.
8. Cucinotta F.A., Alp M., Sulzman F.M., Wang M. Space radiation risks to the central nervous system // *Life Sci. Space Res.* 2014. Vol. 2. P. 54–69.
9. Ballesteros-Zebadúa P., Chavarria A., Celis M.A. et al. Radiation-induced neuroinflammation and radiation somnolence syndrome // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2012. Vol. 11. P. 937–949.
10. Kyrkanides S., Moore A.H., Olschowka J.A. et al. Cyclooxygenase-2 modulates brain inflammation-related gene expression in central nervous system radiation injury // *Mol. Brain Res.* 2002. Vol. 104. P. 159–169.
11. Moore A.H., Olschowka J.A., Williams J.P. et al. Regulation of prostaglandin E2 synthesis after brain irradiation // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005. Vol. 62. P. 267–272.
12. Hwang S.Y., Jung J.S., Kim T.H. et al. Ionizing radiation induces astrocyte gliosis through microglia activation // *Neurobiol. Dis.* 2006. Vol. 3. P. 457–467.
13. Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А. К оценке риска биологического действия галактических тяжёлых ионов в условиях межпланетного полёта // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2013. Т. 99. № 3. С. 273–280.
14. Parihar V.K., Allen B., Tran K.K. et al. What happens to your brain on the way to Mars // *Sci. Adv.* 2015. Vol. 1. № 4. e1400256. P. 1–6.
15. Schindler M.K., Forbes M.E., Robbins M.E. et al. Aging-dependent changes in the radiation response of the adult rat brain // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008. Vol. 70. P. 826–834.
16. Casadesu G., Shukitt-Hale B., Stellwagen H.M. et al. Hippocampal neurogenesis and PSA-NCAM expression following exposure to 56Fe particles mimics that seen during aging in rats // *Exp. Geront.* 2005. Vol. 40. P. 249–254.
17. Joseph J.A., Hunt W.A., Rabin B.M., Dalton T.K. Possible “accelerated striatal aging” induced by 56Fe heavy particle irradiation: Implications for manned space flights // *Radiat. Res.* 1992. Vol. 130. P. 88–93.
18. Forbes M.E., Paitsel M., Bourland J.D., Riddle D.R. Early-delayed, radiation-induced cognitive deficits in adult rats are heterogeneous and age-dependent // *Radiat. Res.* 2014. Vol. 182. P. 60–71.
19. Белокопытова К.В., Белов О.В., Кудрин В.С. и соавт. Распределение моноаминов и их метаболитов в структурах головного мозга крыс в поздние сроки после облучения ионами ^{12}C // *Нейрохимия.* 2015. Т. 32. № 3. С. 243–251.
20. Белокопытова К.В., Белов О.В., Кудрин В.С. и соавт. Динамика обмена моноаминов в структурах головного мозга крыс в поздние сроки после облучения ускоренными ионами углерода // *Нейрохимия.* 2016. Т. 33. № 2. С. 147–155.
21. Rabin B.M., Joseph J.A., Shukitt-Hale B., McEwen J. Effects of exposure to heavy particles on a behavior mediated by the dopaminergic system // *Adv. Space Res.* 2000. Vol. 25. P. 2065–2074.
22. Hunt W.A., Joseph J.A., Rabin B.M. Behavioral and neurochemical abnormalities after exposure to low doses of high-energy iron particles // *Adv. Space Res.* 1989. Vol. 9. P. 333–336.
23. Savchenko O.V. Status and prospects of new clinical methods of cancer diagnostics and treatment based on particle and ion beams

- available at JINR. Сообщ. Объед. ин-та ядер. исслед. – Дубна: ОИЯИ. 1996. 40 с.
24. Вагнер Р., Зорин В.П., Йироушек П. и соавт. Физико-дозиметрические измерения на гамма-аппарате РОКУС-М. Сообщ. Объед. ин-та ядер. исслед. – Дубна: ОИЯИ. 1987. 13 с.
 25. Матвеева М.И., Штемберг А.С., Тимошенко Г.Н. и соавт. Влияние облучения ионами углерода ^{12}C на обмен моноаминов в некоторых структурах мозга крыс // Нейрохимия. 2013. Т. 30. № 4. С. 343–348.
 26. Burke S.N., Barnes C.A. Neural plasticity in the ageing brain // Nat. Rev. Neurosci. 2006. Vol. 7. P. 30–40.
 27. Enzinger C., Fazekas F., Matthews P.M. et al. Risk factors for progression of brain atrophy in aging // Neurology. 2005. Vol. 64. P. 1704–1711.
 28. Olesen P.J., Guo X., Gustafson D. et al. A population-based study on the influence of brain atrophy on 20-year survival after age 85 // Neurology. 2011. Vol. 76. P. 879–886.
 29. Barnes C.A. Normal aging: regionally specific changes in hippocampal synaptic transmission // Trends Neurosci. 1994. Vol. 17. P. 13–18.
 30. McEntee W.J., Crook T.M. Cholinergic function in the aged brain: implications for the treatment of memory impairments associated with aging // Behav. Pharmacol. 1992. Vol. 3. P. 327–336.
 31. Lamberty Y., Gower A.J. Age-related changes in spontaneous behavior and learning in NMRI mice from middle to old age // Physiol. Behav. 1992. Vol. 51. P. 81–88.
 32. Rasmussen T., Schliemann T., Sorenson J.C. et al. Memory impaired aged rats: No loss of principal hippocampal and subicular neurons // Neurobiol. Aging. 1996. Vol. 17. P. 143–147.
 33. Miyagawa H., Hasegawa M., Fukuta T. et al. Dissociation of impairment between spatial memory, and motor function and emotional behavior in aged rats // Behav. Brain. Res. 1998. Vol. 91. P. 73–81.
 34. Miguez J.M., Aldegunde M., Paz-Valinas L. et al. Selective changes in the contents of noradrenaline, dopamine and serotonin in rat brain areas during aging // J. Neural Transm. 1999. Vol. 106. P. 1089–1098.
 35. Darbin O., Risso J.-J., Rostain J.-C. Pressure induces striatal serotonin and dopamine increases: a simultaneous analysis in free moving microdialysed rats // Neuroscience Lett. 1997. Vol. 238. P. 69–72.

Medical Radiology and Radiation Safety. 2017. Vol. 62. № 2

Radiation Biology

DOI 10.12737/article_58f0b9572d7131.31568909

Neuromediator Exchange Dynamics in Rats at Late Periods after Exposure to ^{60}Co γ -Rays

K.V. Belokopytova^{1,2}, O.V. Belov¹, V.N. Gaevsky¹, V.B. Narkevich³, V.S. Kudrin³,
E.A. Krasavin¹, A.S. Bazyan⁴

1. Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia. E-mail: dem@jinr.ru; 2. Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Moldovan Academy of Sciences, Chisinau, Moldova; 3. FSBI Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia;
4. Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia

K.V. Belokopytova – Junior Researcher; O.V. Belov – PhD in Biology, Head of Sector; V.N. Gaevsky – Leading Engineer;

V.B. Narkevich – PhD in Medicine, Researcher; V.S. Kudrin – PhD in medicine, Head of Laboratory;

E.A. Krasavin – Corr. Member RAS, Acad., D. Sc. Biol., Director of Laboratory; A.S. Bazyan – Prof., D. Sc. Biol., Head of Laboratory

Abstract

Purpose: Estimation of the ^{60}Co γ -ray effect on the neuromediator exchange dynamics in the brain of rats of different age groups.

Material and methods: 20 male Sprague-Dawley rats with the weight of 190–210 g were used in the experiment. At the age of two months, animals were exposed to a single whole-body irradiation with ^{60}Co γ -rays at the dose of 1 Gy. In 30 and 90 days after exposure, rats were killed by decapitation. The animals were tested at three and five months of age, respectively. The neuromediator exchange dynamics was estimated by measuring the concentrations of monoamines (dopamine, noradrenaline, and serotonin) and their metabolites in four brain regions including prefrontal cortex, hypothalamus, hippocampus, and striatum. The levels of substances were assessed using the high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. The results of measurements were statistically analyzed with the one-way analysis of variance (ANOVA).

Results: Although the direct measurements seeking for changes at the same time points revealed a little effect of γ -rays on the monoamine metabolism, age-related dynamics of the neuromediator exchange was affected in many aspects. The most pronounced in alterations in the two-month monoamine exchange dynamics were observed in the prefrontal cortex, hypothalamus and hippocampus. It indicates the sensitivity of these brain structures to the action of γ -rays at doses about 1 Gy. In the prefrontal cortex, hippocampus and hypothalamus, radiation exposure affected dopamine and serotonin regulations in the manner that may indicate suppression of catecholamine degrading pathways dependent on monoamine oxidases A and B against the activation of metabolic processes associated with catechol-O-methyltransferase. The prefrontal cortex and hypothalamus additionally exhibited an accelerated decrease in levels of some neuromediators, as compared to the dynamics normally observed beyond the age of three months. At the same time, our study identified a resistance of striatal metabolic pathways to irradiation with γ -rays at the stated dose. A comparison of the obtained data with results of our previous experiments investigating the action of accelerated carbon ions confirmed our expectations that the effect of γ -rays on the dynamics of the neuromediator exchange is less pronounced than from heavy nuclei.

Conclusion: Made a hypothesis that, in the case of heavy ion exposure, more pronounced alterations in brain mediator systems lead to more intensive compensatory and regenerative processes in them. Consequently, it may change the normal dynamics of neuromediator exchange in the investigated post-irradiation periods and serve a reason not only for decrease but also for an abnormal increase in levels of monoamines and their metabolites after exposure. In general, results of the performed study contribute to understanding the neurotoxic effect of γ -rays in comparison with other radiation modalities that can potentially be useful for predicting late outcomes of cranial radiation therapy.

Key words: central nervous system, ionizing radiations, late effects, monoamines, metabolites

REFERENCES

1. Grigor'ev Yu.G., Ushakov I.B., Krasavin E.A. i soavt. Kosmicheskaya radiobiologiya za 55 let (k 50-letiyu GNC RF-IMBP RAN). – M.: Ekonomika. 2013. 303 s. Pp. 2–12 see P. 11.
13. Grigor'ev A.I., Krasavin E.A., Ostrovskij M.A. K ocenke riska biologicheskogo dejstviya galakticheskikh tyazhyolykh ionov v usloviyakh mezhlplanetnogo polyota // Ros. fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova. 2013. T. 99. № 3. P. 273–280. Pp. 14–18 see P. 11.
19. Belokopytova K.V., Belov O.V., Kudrin V.S. i soavt. Raspreделение monoaminov i ih metabolitov v strukturah golovnogogo mozga krysa v pozdnie sroki posle oblucheniya ionami ^{12}C // Nejrohimiya. 2015. T. 32. № 3. P. 243–251.
20. Belokopytova K.V., Belov O.V., Kudrin V.S. i soavt. Dinamika obmena monoaminov v strukturah golovnogogo mozga krysa v pozdnie sroki posle oblucheniya uskorennyimi ionami ugljeroda // Nejrohimiya. 2016. T. 33. № 2. P. 147–155. Pp. 21–23 see P. 11.
24. Vagner R., Zorin V.P., Jiroushek P. i soavt. Fiziko-dozimetricheskie izmereniya na gamma-apparate ROKUS-M. Soobshch. Ob"ed. in-ta yader. issled. – Dubna: OIYAI. 1987. 13 s.
25. Matveeva M.I., Shtemberg A.S., Timoshenko G.N. i soavt. Vliyanie oblucheniya ionami ugljeroda ^{12}S na obmen monoaminov v nekotorykh strukturah mozga krysa // Nejrohimiya. 2013. T. 30. № 4. P. 343–348. Pp. 26–35 see P. 11.