



## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ ГАММА-ЛУЧАМИ И ЯДРАМИ УГЛЕРОДА ( $^{12}\text{C}$ ) НА СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ МОЗГА КРЫС

В.С. Кохан

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий  
Федерального медико-биологического агентства России»  
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, владение 1

Поток атомных ядер галактического происхождения, обладающих высокой кинетической энергией, несёт существенную угрозу живым организмам за пределами магнитного поля Земли. Удивительно, но ряд наземных исследований с использованием прогрессивных моделей комбинированного облучения выявил позитивные эффекты последнего в отношении функций центральной нервной системы (ЦНС). Молекулярный механизм этого феномена остаётся нераскрытым. Ранее нами была предложена гипотеза о том, что серотонинергическая система может быть вовлечена в реализацию этих эффектов. Настоящее исследование посвящено изучению содержания ряда биомолекул — участников серотонинергической нейромедиации в избранных морфологических структурах мозга крыс, подвергнутых комбинированному ( $\gamma$ -лучи и  $^{12}\text{C}^{6+}$ ) облучению. Повышение содержания кортикального 5-НТ<sub>2а</sub>, выявленное в ходе исследования, может являться ключевым звеном механизмов, ответственных за прокогнитивный эффект умеренных доз ионизирующего излучения.

**Ключевые слова:** галактические космические лучи, углерод, префронтальная кора, 5-НТ<sub>2а</sub>-рецептор, прокогнитивный эффект

**Конфликт интересов:** автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Кохан В.С. Некоторые аспекты влияния комбинированного облучения гамма-лучами и ядрами углерода ( $^{12}\text{C}$ ) на серотонинергическую систему мозга крыс. *Биомедицина*. 2020;16(3):68–72. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-68-72>

Поступила 30.06.2020

Принята после доработки 08.07.2020

Опубликована 10.09.2020

## SOME ASPECTS OF THE EFFECT OF COMBINED IRRADIATION BY GAMMA-RAYS AND CARBON NUCLEI ( $^{12}\text{C}$ ) ON THE SEROTONERGIC SYSTEM IN RAT BRAIN

Viktor S. Kokhan

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
143442, Russian Federation, Moscow region, Krasnogorsk district, Svetlye gory village, building 1

The atomic nuclei of cosmic rays possessing a high kinetic energy pose a significant threat to living organisms outside the Earth's magnetic field. However, surprisingly, a series of ground-based studies using progressive models of combined irradiation revealed positive effects of such rays in relation to the functions of the central nervous system. The molecular mechanism of this phenomenon remains unknown. We have previously proposed a hypothesis that the serotonergic system may be involved in the realization of these effects. This research investigates the content of a number of biomolecules participating in serotonergic neurotransmission in selected morphological brain structures of rats under combined ( $\gamma$ -rays and  $^{12}\text{C}^{6+}$ )

irradiation. The revealed increase in 5-HT<sub>2a</sub> in the prefrontal cortex may be a key link in the mechanism responsible for enhancing cognitive functions under moderate doses of ionizing radiation.

**Keywords:** galactic cosmic rays, carbon, prefrontal cortex, 5-HT<sub>2a</sub> receptor, cognitive enhancement

**Conflict of interest:** the author declares no conflict of interest.

**For citation:** Kokhan V.S. Some Aspects of the Effect of Combined Irradiation by Gamma-Rays and Carbon Nuclei ( $^{12}\text{C}$ ) on the Serotonergic System in Rat Brain. *Journal Biomed.* 2020;16(3):68–72. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-68-72>

Submitted 30.06.2020

Revised 08.07.2020

Published 10.09.2020

## Введение

Ионизирующее излучение, представленное прежде всего потоком тяжёлых заряженных частиц с высокой кинетической энергией, является одним из критических факторов космического полёта [3]. Несмотря на господствующую парадигму о негативном воздействии ионизирующего излучения на ЦНС [1], ряд работ выявил позитивные эффекты облучения в умеренных дозах, релевантных 860-дневной Марсианской миссии. Так, облучение  $^{56}\text{Fe}$  (фракционированно  $3 \times 67$  мГр или остро 0,2 Гр, 174 кэВ/мкм) улучшало производительность в задачах распознавания паттернов [12]. Также были обнаружены улучшения показателей контекстуальной памяти и пространственного обучения при нескольких сценариях облучения (0,4 Гр  $\gamma$ -кванты и 0,14 Гр  $^{12}\text{C}$ , 10,3 кэВ/мкм в комбинации; 0,4 или 0,8 Гр  $^{16}\text{O}$ , 25 кэВ/мкм) [5, 9]. Результаты анализа метаболизма моноаминов и экспрессии ряда генов позволили предположить широкое участие серотонинергической системы в реализации эффектов облучения, включая прокогнитивное действие [6].

**Целью** настоящего исследования был анализ эффектов умеренных доз ионизирующего излучения (в наземной модели комбинированного облучения  $\gamma$ -квантами и ядрами  $^{12}\text{C}$ ;  $\sim 0,8$  Зв) на содержание ключевых участников серотонинергической нейромедиации в избранных морфологических структурах мозга крысы.

## Материалы и методы

**Животные.** В работе использовали самцов крыс Wistar возрастом 3 мес. и массой 270–300 г. Животные имели свободный доступ к еде и воде и содержались в условиях конвенционального вивария при температуре 19–22°C, 55% влажности и 12-часовом световом дне. Крысы были разделены на 2 группы: подвергнутых облучению ( $n=7$ ) и контрольных животных ( $n=7$ ).

**Комбинированное радиационное облучение.** Крысы были подвергнуты фракционированному 12-часовому  $\gamma$ -облучению ( $^{137}\text{Cs}$ ; 661,7 кэВ; 8,3 мГр/ч) каждые 4-е сут на протяжении 12-ти дней в суммарной поглощённой дозе  $400 \pm 20$  мГр. Через сутки после финального  $\gamma$ -облучения голова экспериментальных животных была подвергнута однократному облучению ядрами  $^{12}\text{C}$  (450 МэВ/нуклон; 10,3 кэВ/мкм) в поглощённой дозе  $140 \pm 25$  мГр; облучение было осуществлено на ускорителе У-70 (ФГБУ ГНЦ ИФВЭ, г. Протвино). Контрольная группа животных была подвергнута аналогичным манипуляциям (транспортировка, иммобилизация в контейнерах) без фактического облучения.

**Забор биологического материала.** Крыс из экспериментальной и контрольной группы умерщвляли путём декапитации. Префронтальная кора, миндалевидное тело (тотально правое и левое) и гипоталамус были препарированы на термоэлектрической охлаждающей поверхности (+2°C)

и немедленно заморожены в жидком азоте до момента анализа.

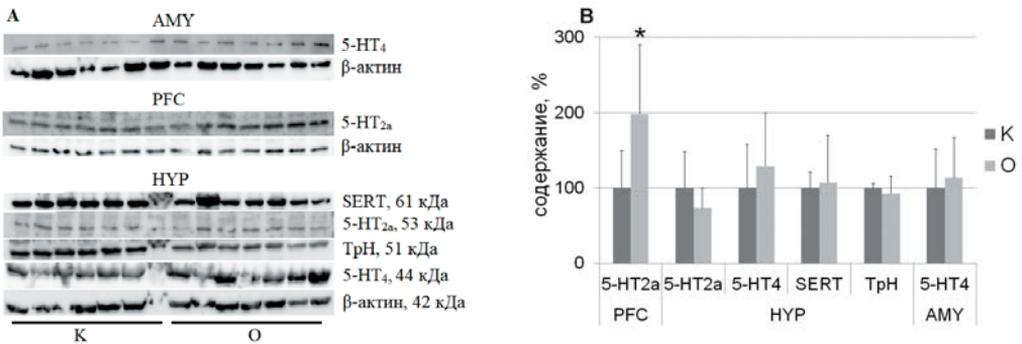
**Электрофорез в ПААГ и иммуноблоттинг.** Ткань была механически гомогенизирована на льду в стандартном Тритон-Х буфере (1:20 V/V) с добавлением коктейля ингибиторов протеаз (ab271308, «Abcam», США); полученный лизат центрифугировали при +3°C 10 000 g 20 мин. К супернатанту был добавлен эквивалентный объём двукратного буфера Леммли, смесь была термостатирована при 95°C 5 мин, и 10 мкл наносили на гель. Электрофорез проводили в градиентном геле, содержащем 4–20% акриламида («Biorad», США). Полусухой электрофоретический перенос осуществляли на PVDF мембрану. Для блокирования мембраны использовали 4% обезжиренное молоко. Антитела разводили в стандартном буфере ФСБ-Т с добавлением 4% сухого молока. Хемилюминесцентную визуализацию производили с помощью набора Optiblot ECL Detect Kit («Abcam», США) на установке ChemiDoc MP («Biorad», США). В работе использовали антитела производства «Abcam» (США) к следующим мише-

ням:  $\beta$ -актин (1:5000, ab8226), 5-HT<sub>2a</sub> (1:100, ab66049), 5-HT<sub>4</sub> (1:1000, ab60359), серотониновый транспортер (1  $\mu$ g/ml, ab172884), триптофангидроксилаза (1  $\mu$ g/ml, ab130212). Следующие вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена, были использованы: козы к кроличьим IgG (1:10 000, ab205718) и козы к мышинным IgG (1:10 000, ab205719).

**Статистическая обработка результатов.** Данные представлялись как среднее  $\pm$  стандартное отклонение (SD). Обработку данных проводили с помощью программы Statistica 12 («StatSoft Inc.», США). Тест Шапиро — Уилка был использован в качестве критерия нормальности; в случае  $p > 0,05$  применяли методы параметрического анализа. Сравнение средних в группах проводили с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок.

## Результаты исследований

В префронтальной коре облучённых крыс было обнаружено повышенное содержание 5-HT<sub>2a</sub>-рецептора — на 98,4% ( $t=2,5$ ;  $p=0,28$ ) в сравнении с контрольной группой



**Рис.** Иммуноблоттинг. А — результаты хемилюминесцентной визуализации гелей: К — контрольная группа животных ( $n=7$ ), О — группа облучённых животных ( $n=7$ ). В — относительное содержание белков. Данные представлены как среднее значение (% от контроля) + SD (%). АМУ — миндалевидное тело; PFC — префронтальная кора; HYP — гипоталамус; 5-HT<sub>2a</sub>, 5-HT<sub>4</sub> — рецепторы серотонина; SERT — транспортер серотонина; TrH — триптофангидроксилаза.

**Fig.** Immunoblotting. А — gel chemiluminescent visualization: К — the control group of animals ( $n=7$ ), О — the group of irradiated animals ( $n=7$ ). В — relative content of proteins. Data are presented as mean (% of control) + SD (%). АМУ — amygdala; PFC — prefrontal cortex; HYP — hypothalamus; 5-HT<sub>2a</sub>, 5-HT<sub>4</sub> — serotonin receptors; SERT — serotonin transporter; TrH — tryptophan hydroxylase.

крыс (рис.). В то же время не было обнаружено значительных изменений содержания  $5\text{-HT}_{2a}$ ,  $5\text{-HT}_{4}$ , серотонинового транспортера и триптофангидроксилазы-2 в гипоталамусе, а также  $5\text{-HT}_{4}$  в миндалевидном теле под действием облучения.

Литературные данные [6] позволяют полагать, что рост содержания  $5\text{-HT}_{2a}$  обусловлен на уровне транскрипции. Повышение уровня кортикального  $5\text{-HT}_{2a}$  может быть ответственно за растормаживание ЦНС [7] и прокогнитивное действие умеренных доз ионизирующего излучения. Действительно,  $5\text{-HT}_{2a}$  — единственный рецептор, посредством которого серотонин действует возбуждающе в неокортексе; баланс  $5\text{-HT}_{1a}/5\text{-HT}_{2a}$  вовлечён в тонкую настройку паттернов кортикальной нейроактивности в ходе решения когнитивных задач [8]. Было показано, что активация  $5\text{-HT}_{2a}$  приводит к выбросу глутамата аксонами таламических нейронов, проецирующихся на префронтальную кору, а также к модуляции NMDA-зависимой синаптической пластичности в префронтальной коре [10]. В то же время активация глутаматер-

гической нейромедиации в префронтальной коре ассоциирована с прокогнитивным эффектом [2, 13]. Примечательно, что прокогнитивный эффект факторов космического полёта был выявлен и в орбитальных экспериментах. В ходе 340-дневного полёта было отмечено усиление когнитивных способностей космонавта — участника «Twins study» (NASA) [4]. В ходе 16-дневного орбитального полёта крыс не было выявлено когнитивных нарушений, однако отмечалось изменение ориентировочно-исследовательского поведения. Более того, в течение нескольких дней после полёта животные использовали нетипичные стратегии в решении когнитивных задач [11]. Этот эффект также может быть объяснён через активацию  $5\text{-HT}_{2a}$ . Действительно, активация  $5\text{-HT}_{2a}$  существенно влияет на зрительно-вызванные корковые реакции [14], что может модулировать поведение в поведенческих тестах, требующих активности зрительной сенсорной системы. Вывод о прокогнитивной роли повышения содержания  $5\text{-HT}_{2a}$  требует фармакологической валидации в будущих исследованиях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Cekanaviciute E., Rosi S., Costes S.V. Central Nervous System Responses to Simulated Galactic Cosmic Rays. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(11). DOI: 10.3390/ijms19113669.
2. Collingridge G.L., Volianskis A., Bannister N., France G., Hanna L., Mercier M., et al. The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement. *Neuropharmacology*. 2013;64:13–26. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2012.06.051.
3. Cucinotta F.A., Kim M.H., Chappell L.J., Huff J.L. How safe is safe enough? Radiation risk for a human mission to Mars. *PLoS One*. 2013;8(10):e74988. DOI: 10.1371/journal.pone.0074988.
4. Garrett-Bakelman F.E., Darshi M., Green S.J., Gur R.C., Lin L., Macias B.R., et al. The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight. *Science*. 2019;364(6436). DOI: 10.1126/science.aau8650.
5. Kokhan V.S., Anokhin P.K., Belov O.V., Gulyaev M.V. Cortical Glutamate/GABA Imbalance after Combined Radiation Exposure: Relevance to Human Deep-Space Missions. *Neuroscience*. 2019;416:295–308. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2019.08.009.
6. Kokhan V.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Kudrin V.S., Bazyan A.S., Maltsev A.V., Shtemberg A.S. An investigation of the single and combined effects of hypogravity and ionizing radiation on brain monoamine metabolism and rats' behavior. *Life Sciences in Space Research*. 2019;20:12–19. DOI: 10.1016/j.lssr.2018.11.003.
7. Letzkus J.J., Wolff S.B., Luthi A. Disinhibition, a Circuit Mechanism for Associative Learning and Memory. *Neuron*. 2015;88(2):264–276. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.09.024.
8. Puig M.V., Gullledge A.T. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Molecular Neurobiology*. 2011;44(3):449–464. DOI: 10.1007/s12035-011-8214-0.
9. Raber J., Marzulla T., Kronenberg A., Turker M.S. (16)Oxygen irradiation enhances cued fear memory in B6D2F1 mice. *Life Sci. Space Res. (Amst)*. 2015;7:61–65. DOI: 10.1016/j.lssr.2015.10.004.

10. Sargin D., Jeoung H.S., Goodfellow N.M., Lambe E.K. Serotonin Regulation of the Prefrontal Cortex: Cognitive Relevance and the Impact of Developmental Perturbation. *ACS Chem. Neurosci.* 2019;10(7):3078–3093. DOI: 10.1021/acscemneuro.9b00073.
11. Temple M.D., Kosik K.S., Steward O. Spatial learning and memory is preserved in rats after early development in a microgravity environment. *Neurobiology of Learning and Memory.* 2002;78(2):199–216. DOI: 10.1006/nlme.2001.4049.
12. Whoolery C.W., Yun S., Reynolds R.P., Lucero M.J., Soler I., Tran F.H., et al. Multi-domain cognitive assessment of male mice shows space radiation is not harmful to high-level cognition and actually improves pattern separation. *Scientific Reports.* 2020;10(1):2737. DOI: 10.1038/s41598-020-59419-z.
13. Woodcock E.A., Anand C., Khatib D., Diwadkar V.A., Stanley J.A. Working Memory Modulates Glutamate Levels in the Dorsolateral Prefrontal Cortex during (1)H fMRS. *Frontiers in Psychiatry / Frontiers Research Foundation.* 2018;9:66. DOI: 10.3389/fpsy.2018.00066.
14. Zhang G., Stackman R.W. Jr. The role of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors in memory and cognition. *Frontiers in Pharmacology.* 2015;6:225. DOI: 10.3389/fphar.2015.00225.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

---

**Кохан Виктор Сергеевич**, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России»;  
e-mail: [viktor\\_kohan@hotmail.com](mailto:viktor_kohan@hotmail.com)

**Viktor S. Kokhan**, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [viktor\\_kohan@hotmail.com](mailto:viktor_kohan@hotmail.com)