

방사선 유도 학습기억 장애에 대한 diethyldithiocarbamate의 효과

장종식*, 김종춘†, 문창중†, 정우희‡, 조성기‡, 김성호†

*경북대학교 축산 BT학부, †전남대학교 수의과대학, ‡정읍방사선과학연구소

2012년 8월 7일 접수 / 2012년 8월 24일 1차 수정 / 2012년 9월 5일 2차 수정 / 2012년 9월 6일 채택

방사선 노출은 해마 기능이상으로 인한 인지장애와 기억력 감퇴가 나타난다. 본 연구에서는 마우스에 방사선 노출(감마선 0.5 또는 2 Gy) 후 passive avoidance 및 object recognition test를 적용한 행동이상, apoptosis 측정 및 신경발생 관찰지표로서 Kiel 67 (Ki-67) 및 doublecortin (DCX)에 대한 면역염색 방법을 적용하여 diethyldithiocarbamate (DDC)의 학습기억 장애 경감효과를 관찰하였다. DDC는 방사선 조사 30분 전에 1회(체중 kg당 1,000 mg) 복강 내 주사하였다. Passive avoidance 및 object recognition test 결과, 정상대조군에 비해 방사선 단독조사군(2 Gy)에서 유의성 있는 학습기억 장애를 나타냈으며, 방사선 조사 후 12시간에 치아이랑 부위의 apoptosis 발생세포의 수가 증가하였고, Ki-67 및 DCX 양성세포의 수는 현저히 감소하였다. 방사선 노출 전 DDC 처리군에서는 유의성 있는 행동장애 완화, apoptosis 발생 감소가 관찰되었고, 평균치를 기준으로 Ki-67 및 DCX 양성세포의 수도 약간 증가하였다. DDC는 성숙마우스에서 방사선에 의한 해마 신경세포발생 및 학습기억 장애 개선효과가 있는 것으로 사료된다.

중심어: Diethyldithiocarbamate, 방사선, 학습기억장애, 신경발생

1. 서론

원자력 기술의 산업적 및 의료적 적용 확대로 인해 작업종사자, 의료적 방사선 적용 환자 및 일반대중의 방사선 노출 가능성이 증대 되고 있다. 인체 및 동물실험에서 방사선 노출은 각종 장기에 영향을 미치며, 특히 세포 분열과 같은 세포 변화가 활발한 부위에 더욱 강한 반응을 나타낸다[1,2]. 과거 오랫동안 중추신경계는 방사선에 저항성을 나타내는 장기로 알려져 왔으나 최근 치아이랑(dentate gyrus) 및 뇌실하층과 같은 부위는 저선량의 방사선에도 민감한 반응을 나타낸다고 보고되고 있다[3].

두부 방사선 치료(cranial radiation therapy)는 원발성 뇌종양, 전이성 종양, 혈액종양 및 두경부종양 등에 필수적인 치료방법이나, 방사선에 노출된 수개월에서 수년 후에 단기 기억, 공간 지각, 주의력의 감퇴 등이 나타난다. 해마 기능 부전이 이러한 신경정신과적 현상과 밀접한 관계가 있으며 측두엽에 대한 방사선 피폭 용량에 의존적인 현상으로 보고되었다[4,5].

기존보고에서 방사선에 의한 중추신경계의 장애는 뇌혈관의 손상과 아교세포 변성괴사의 두 가지 가설로 알려져 있으나 이러한 병변이 없이도 나타나는 인지 장애에 대한 설명으로는 부적절하였다. 해마의 생리적 기능에 대한 연구가 진행되면서 방사선 조사에 의한 인지장애와

연관하여 신경발생에 대한 방사선의 영향이 관심의 대상이 되고 있다[5,6]. 성숙 뇌조직이 방사선에 노출된 경우, 조직학적 손상이 적었음에도 불구하고 다양한 정도의 인지장애를 나타낸다[7,8]. 방사선에 의한 인지장애는 성숙 동물에서 해마 신경발생(hippocampal neurogenesis)의 억제와 관련이 있다[8,9]. 해마 신경발생은 구조적으로 평생 일어나고 새로운 신경세포는 치아이랑의 hilus와 granular cells layer 사이에 위치한 subgranular zone에서 유래되며, 신경발생의 정도는 나이, 유전적 영향, 화학물질, 방사선과 같은 요인에 의해 영향을 받는다[9-11].

본 연구에서는 마우스에서 방사선 유도 학습기억장애 및 신경발생세포의 변화에 대해, 방사선 장애 경감효과가 있는 금속이온붕쇄제(metal chelating agent)로 알려진 [12] diethyldithiocarbamate (DDC)의 효과를 평가하였다.

2. 재료와 방법

2.1 실험동물

7 주령의 수컷 ICR 마우스(오리엔트바이오, 성남, 한국)를 사용하였다. 동물의 사육은 온도 22±2℃, 상대습도 50±10%, 조명시간은 12시간(오전 8시 점등-오후 8시 소등) 및 조도 200-300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육상자에 4마리씩 수용하였고 실험동물용 고형사료(삼양사료, 원주)와 정수장치를 통과한 수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 모든

책임저자 : 김성호, shokim@chonnam.ac.kr
광주광역시 북구 용봉동 300 번지, 전남대학교 수의학과

실험동물은 Institute of Laboratory Animal Resources의 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animal'에 준하여 취급하였으며 동물실험은 전남대학교 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인 하에 수행되었다.

2.2 방사선 조사 및 DDC 투여

방사선조사는 실험용 방사선 조사기(Gamma-cell Elan 3000, Nordion International, Ottawa, Canada)를 사용하여 ^{60}Co 감마선(선량을 : $2 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$)을 1회 전신조사 하였다. DDC (Sigma chemicals, St. Louis, Mo, USA)는 마우스 체중 kg당 1,000 mg의 양으로 방사선 조사 전 30분에 1회 복강 내 주사하였다.

2.3 기능행동학적 평가

대조군, 방사선 조사군 및 DDC병행투여군으로 각 군당 8마리를 공시하여 2.0 Gy의 방사선을 조사한 후 passive avoidance test와 object recognition test를 실시하였다. 간단히 설명하면, passive avoidance test는 마우스의 밝은 곳을 싫어하는 습성을 이용한 행동학 실험이다. 어두운 방과 밝은 방으로 나누어진 구조물에 방 사이의 문이 설치되어 있는데, 마우스를 밝은 방에 두어 일정한 시간(1분) 후 방사이의 문을 개방하면, 어두운 곳으로 들어가는 시간(cross-over latency)을 측정하고, 어두운 방의 바닥의 grid에 0.7 mA의 전류를 2초간 흐르게 하여, 들어간 마우스에 전기충격을 주게 하였다(training). 이후 마우스를 꺼내고 24시간이 지난 후 다시 밝은 방에 두고(1분), 다시 방 사이 문을 개방하였을 때, 어두운 방으로 들어가는 시간(cross-over latency)을 측정하여 (Testing), 학습·기억의 능력을 평가하였다. Object recognition test는 마우스의 새로운 물체에 대한 호기심을 표시하는 습성을 이용한 행동학 실험이다. 마우스케이지에 서로 다른 모양을 가진 물체를 넣고 마우스를 넣게 되면, 마우스는 새로운 두 물체에 같은 비율의 호기심(sniffing, approaching)을 나타낸다. 10분 동안의 training 과정을 거친 후, 다시 마우스를 꺼내고 24시간 후에 두 물체 중 하나를 바꾸고 마우스를 동일 케이지에 넣게 되면, 일반적인 학습·기억의 능력을 지닌 마우스는 새로운 물체에 더 많은 호기심을 표시한다. 이러한 호기심의 표시의 차이를 측정하여 학습과 기억의 능력을 평가하였다.

2.4 신경줄기세포 변화의 조직형태학적 평가

대조군, 방사선 조사군(0.5 및 2 Gy) 및 DDC병행 투여군으로 나누고, 각 군은 4마리로 하였다. 방사선 조사 후 12시간에 마우스를 희생시키고, terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP Nick End-labeling (TUNEL) 방법과 면역염색법으로 각각 해마 신경세포의 apoptosis 발생과 doublecortin (DCX), Ki-67 양성세포의 변화를 확인하였다. 각 마우스의 뇌는 정확히 정수리점 뒤 2.12 mm에서 시료를 채취하여 통상적 방법에 따라 조직을 고정하고 파라핀 포매 후 절편을 제작하였다. 세포사멸은 apoptosis 발생, 내인성 증식인자는 Ki-

67, 미성숙 신경줄기세포 변화는 DCX를 관찰하였다. 마우스 뇌의 정수리점 뒤 2.12 mm에서 5 μm 두께의 절편을 시작으로 연속된 절편의 10개 중 각각 3개의 절편에서 apoptosis 발생, Ki-67과 DCX 양성 세포수를 측정하였다. 양성세포수 측정은 치아이랑 칼모양면의 위쪽과 아래쪽 subgranular zone에 존재하는 모든 양성반응세포를 정량하였다. 각각의 마우스 3개의 절편에서 얻어진 양성세포의 수에 대한 평균값을 $n=1$ 로 결정하였다. Apoptosis 검사는 TUNEL 기법과 hematoxylin-eosin (H&E)염색으로 확인한다. Intergen (NY, USA)사의 TUNEL kit를 이용하고, 그들이 제안한 방법으로 실시하였다. 면역조직화학 염색은 avidin-biotin-complex-horseradish conjugation (ABC-HRP) 방법(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 따라 실시하였다. 내재성 peroxidase를 제거하기위해 0.3% 과산화수소수가 포함된 3차 증류수에 20분간 반응시켰다. 단클론 토끼 anti-Ki-67항체(DRM004; Acris Antibodies GmbH, Hiddenhausen, Germany)를 1:500으로 희석한 것과 다클론 토끼 anti-DCX 항체(Cell signaling Technology, Beverly, MA, USA)를 1:400으로 희석하여 반응시켰다. 면역반응은 avidin-biotin peroxidase complex (Elite kit; Vector, Burlingame, CA, USA)를 사용하였으며, diaminobenzidine substrate kit (Vector)를 사용하여 발색하였다.

2.5 자료통계 및 분석

모든 실험에서 얻어진 자료는 one-way ANOVA (the post-hoc Student-Newman-Keuls)의 방법으로 유의성 검사하였고, 그들의 수치는 평균 \pm 표준오차의 값으로 나타났다. 또한 유의성은 p 값이 0.05보다 작을 때 그 값을 유의성이 있는 값으로 하였다.

3. 결과와 논의

Passive avoidance test에서 training 동안 모든 마우스가 비슷한 정도의 짧은 시간(cross-over latency, 비조사 대조군 36.40 ± 4.83 , 방사선 단독조사군 36.42 ± 3.52 , DDC병행 투여군 41.85 ± 6.92 초)내에 어두운 방으로 들어가 전기쇼크 받았다. 기억력 test를 위해 24시간 후 다시 밝은 방에 노출되었을 때 비조사 대조군은 어두운 방으로 들어가는 시간(cross-over latency, 368.05 ± 41.28)이 오래 걸린 반면, 방사선 단독조사군은 유의성 있는 감소를 나타냈다(223.78 ± 27.11). 그러나 DDC병행 투여군에서는 방사선 단독 조사군에 비해 유의성 있는 기억 결손 경감효과가 관찰되었다(367.33 ± 43.92 , Fig. 1). Object recognition test에서 비조사 대조군, 방사선 단독조사군 및 DDC병행 투여군 모두에서 training 중 두개의 물체(object A와 object B)에 같은 선호도를 보였다. 비교 가능한 주의력(attention), 동기부여(motivation), 시각적 인식(visual perception) 정도는 모든 실험군에서 차이가 없었다(Fig. 2A). Test에서(training 24시간 후), 새로운 물건(object C)에 대한 선호도는 비조사 대조군에서

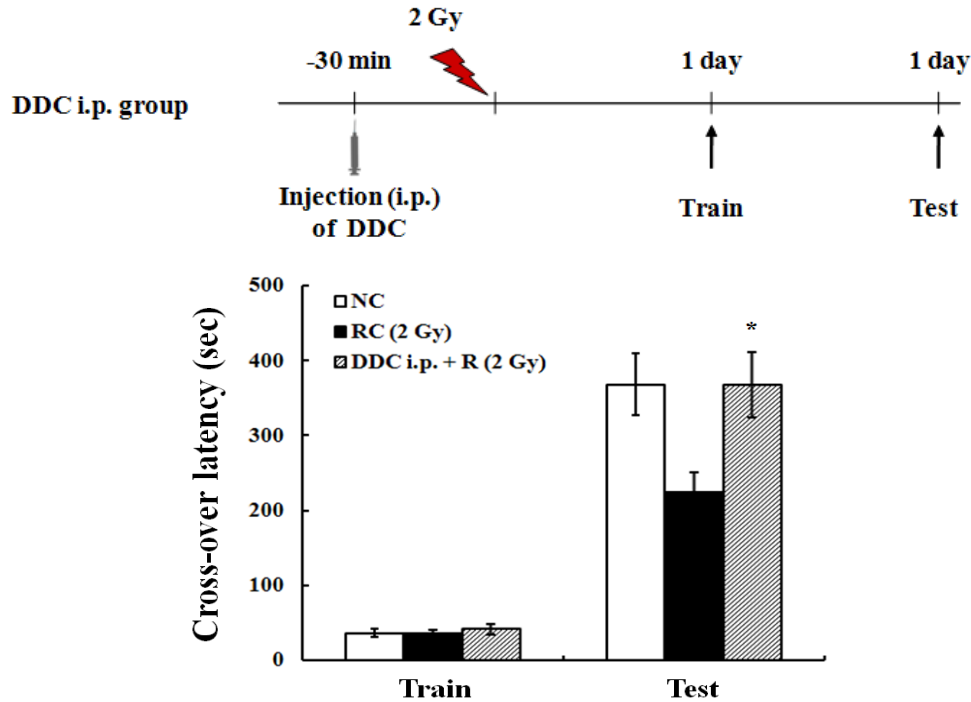


Fig. 1. Effect of pre-treatment of diethyldithiocarbamate (DDC) on avoidance learning-related memory. Sham controls (1 day after sham irradiation, NC) and mice 1 day after 2 Gy of gamma-irradiation with (DDC+R) or without DDC treatment (RC) were trained by passive avoidance, respectively (n=8 for each group). The trained mice were tested 1 day after training. The cross-over latency was recorded. Values are expressed as mean \pm SE. *Indicates a significant difference at $p < 0.05$ compared with the radiation control group.

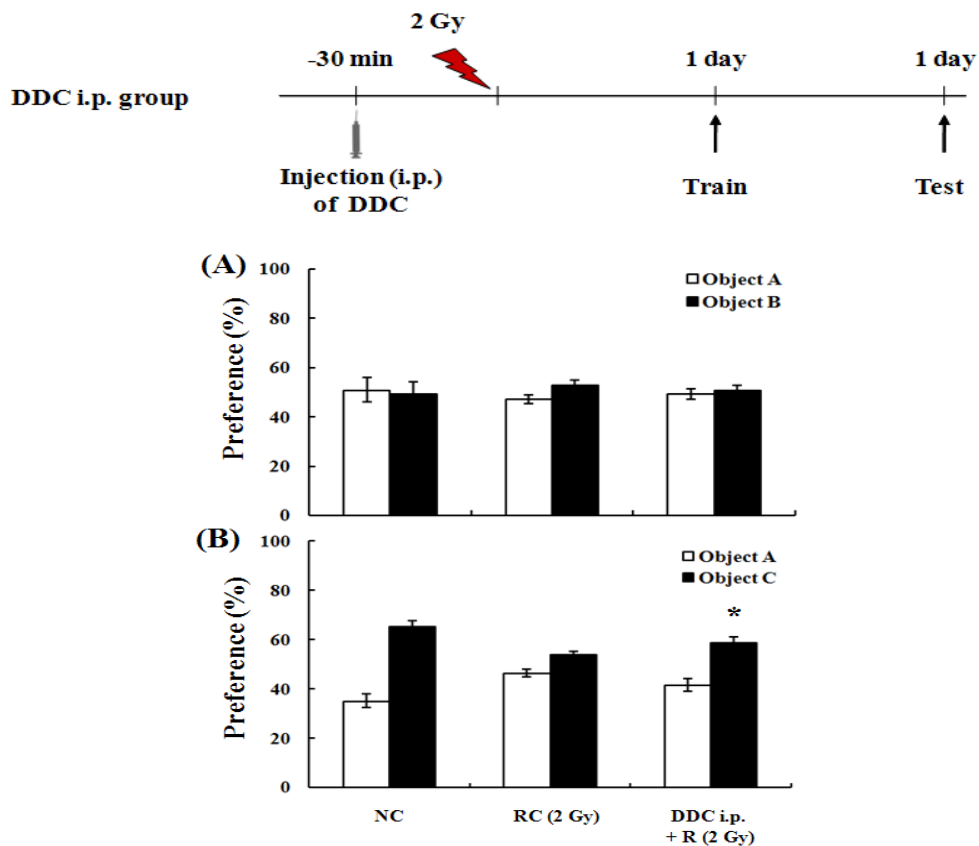


Fig. 2. Effect of pre-treatment of diethyldithiocarbamate (DDC) on object recognition learning-related memory. Sham controls (1 day after sham irradiation, NC) and mice 1 day after 2 Gy of gamma-irradiation with (DDC+R) or without DDC treatment (RC) were examined (n=8 for each group). During training, two objects were presented to each mouse for 15 min. After 24 h, one of the old object was replaced with a novel object

(testing). If the mouse remembered the old object, it would spend more time with the novel object during testing, as indicated by higher percentage of object preference. (A) The mice of each group showed equal preference to the two objects during training. (B) During testing, sham control and irradiated mice treated with DDC showed significant preference to the novel object, but there is no significant preference for the novel object in the mice trained 1 day after irradiation without DDC treatment. Values are expressed as mean±SE. *Indicates a significant difference at p<0.01 compared with the preference of object B in corresponding group and significant difference at p<0.05 compared with the preference of object C in the radiation control group.

65.01±2.67%로 새로운 물체에 대해 높은 호기심을 나타내는 정상적 행동을 보였으나, 방사선 단독조사군에서는 53.64±1.48%로 새로운 물체에 대한 유의성 있는 호기심 차이를 나타내지 않는, 기억 결손을 보였다. DDC병행 투여군의 경우 58.50±1.54%의 선호도를 보여 유의성 있는 기억 결손 경감효과가 관찰되었다(Fig. 2B).

Apoptosis 발생 세포는 H&E 염색상에서 핵염색결과 세포질의 농축 및 산호성 세포질의 특성을 나타내었으며, TUNEL 염색에서 양성의 세포 및 apoptotic body가 관찰되었다. 비조사 대조군에서는 양성세포가 관찰되지 않았으며 방사선 단독조사군에서는 0.5 Gy 조사군은 평균 5.36개, 2 Gy 조사군은 18.50개로 그 수가 증가하였다. 0.5 Gy 조사와 DDC병행 투여군에서 평균을 기준으로 apoptosis의 발생은 44% 감소, 2 Gy 조사와 DDC병행 투여군에서는 34%의 유의성 있는 감소를 나타냈다(Table 1). Ki-67은 세포의 유사분열시기에 발현되는 반감기가 짧은 단백질로서, 성숙동물 뇌의 신경신생(neurogenesis)에서 나타나는 증식하는 신경세포의 표지자로 활용되고 있으며, DCX는 중추신경계에서 신경세포의 이주와 분화에 관여하는 미세소관 관련 인산화 단백질이며, 신경신생에 의해 생성된 새로운 신경세포의 초기분화시기에 발현되는 단백질로서, 미성숙신경줄기세포의 표지자로 활용되고 있다[13]. 본 연구에서 Ki-67과 DCX 양성 세포는 비조사 대조군에서 각각 평균 9.57개 및 46.86개가 관찰되었으며, 0.5 Gy 및 2 Gy 방사선 단독 조사군에서 현저히 감소하였다. DDC병행 투여군의 경우 방사선 단독조사군에 비하여 평균치를 기준으로 증가의 경향을 보였으나 개체차로 인해 유의성은 없었다(Table 1).

Table 1. Effect of Diethyldithiocarbamate (DDC) Pre-treatment against Gamma-radiation-induced Histological Changes of Dentate Gyrus.

Groups	TUNEL	Ki-67	Dcx
NC	0	9.57 ± 0.64	46.86 ± 3.04
RC (0.5Gy)	5.36 ± 0.63	4.25 ± 0.63	31.71 ± 2.87
DDC* + R (0.5 Gy)	3.00 ± 0.41 [†]	5.25 ± 0.48	33.25 ± 1.61
RC (2.0Gy)	18.50 ± 1.60	2.86 ± 0.61	19.57 ± 2.10
DDC* + R (2.0 Gy)	12.13 ± 1.90 [†]	4.33 ± 1.16	19.75 ± 1.32

The ICR mice (n=4) were irradiated with gamma-rays (0.5 or 2.0 Gy) and were autopsied 12 hours later. Values are expressed as mean ± SE.

*DDC (1000 mg/kg of body weight) was given single i.p. at 30 minutes before irradiation.

[†]Indicates a significant difference at p<0.05 compared with corresponding radiation control group.

방사선 장애 경감제로 개발된 몇 가지 물질이 알려져 있으나 포유동물에서 강한 급성독성이 보고되어 실제 적용에는 한계가 있다. Diethyldithiocarbamate (DDC)는 thiol-기를 가지는 금속이온봉쇄제(metal chelating agent)로서 항산화, 자유라디칼 소거, 항돌연변이, 항발암 및 면역조절 효과를 나타내는 물질로 알려져 있다[12, 14-16]. DDC의 방사선장애 경감 효과 결과는 세균 및 포유류 세포에서 알려졌으며, 방사선 민감제와 동시 적용 실험에서 골수세포에 대한 방사선 장애 보호 효과가 보고되었다[17,18].

방사선에 의한 생체손상은 일부 물리적 작용을 포함한 활성산소에 의한 DNA 및 세포막 손상이 주원인[19]으로 작용한다. 방사선에 의한 뇌손상은 해마 신경발생세포의 급성세포사와 생존세포의 증식력 저하 등의 직접적 원인과 미세아교세포 염증, 미세혈관손상 등의 이차성 변화가 원인으로 알려져 있다[5,6]. 따라서 방사선 손상에 대한 경감개선은 신경줄기세포에 대한 직접적 장애 경감제 처치와 미세환경의 회복을 위한 항염증 치료가 병행되어야 한다.

본 연구에서 DDC는 방사선에 의한 신경발생세포의 apoptosis를 효과적으로 억제하였다. 이와 같은 결과는 DDC가 신경발생세포의 세포사멸에 의한 직접적 수적 감소를 억제하는 효과를 나타내고, 이로 인한 인지장애의 행동학적 결손을 개선시킨 것으로 사료된다. DDC의 apoptosis 억제 결과는 Nobel 등[20]과 Dumay 등[21]의 연구결과와 일치하였다. DDC의 항산화효과에 대한 연구에서 방사선에 의한 지질과산화를 억제하고, comet assay에서 방사선 유도 DNA 손상을 억제한다고 하였다[22]. 본 연구에서 확인된 DDC의 학습기억 장애 개선효과는 방사선 조사에 의해 생성되는 자유라디칼에 대하여 DDC의 항산화 작용에 의한 소거 효과 및 신경발생세포의 세포사멸 억제 효과가 관여된 것으로 사료되며 이에 대한 기전적 추가 연구가 요구된다.

4. 결론

마우스에 방사선 노출(감마선 0.5 또는 2 Gy) 후 passive avoidance 및 object recognition test를 적용한 행동이상, apoptosis 측정 및 신경발생 관찰지표로서 Ki-67 및 DCX에 대한 면역염색 방법을 적용하여 diethyldithiocarbamate (DDC)의 학습기억 장애 경감효과를 관찰하였다. DDC는 방사선에 의한 신경발생세포의 apoptosis를 효과적으로 억제하였다. 이와 같은 결과는 DDC가 신경발생세포의 세포사멸에 의한 직접적 수적 감소를 억제하는 효과를 나타내고, 이로 인한 인지장애의

행동학적 결손을 개선시킨 것으로 사료된다. DDC의 학습기억 장애 개선효과는 방사선 조사에 의해 생성되는 자유라디칼에 대하여 DDC의 항산화 작용에 의한 소거 효과 및 신경발생세포의 세포사멸 억제 효과가 관여된 것으로 판단되며 이에 대한 기전적 연구가 요구된다.

감사의 글

이 논문은 2012학년도 경북대학교 학술연구비 및 교육과학기술부의 재원으로 시행하는 한국과학재단의 원자력 기술개발사업에 의하여 연구되었으며 동물실험은 전남대학교 동물의학연구소의 지원협조를 받았고 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Rubin P, Gash DM, Hansen JT, Nelson DF, Williams JP. Disruption of the blood-brain barrier as the primary effect of CNS irradiation. *Radiation Oncol.* 1994;31:51-60.
- Schultheiss TE, Stephens LC. Invited review: permanent radiation myelopathy. *Br. J. Radiol.* 1992;65:737-753.
- Manda K, Reiter RJ. Melatonin maintains adult hippocampal neurogenesis and cognitive functions after irradiation. *Prog. Neurobiol.* 2010;90:60-68.
- Crossen JR, Garwood D, Glatstein E, Neuwelt EA. Neurobehavioral sequelae of cranial irradiation in adults: a review of radiation-induced encephalopathy. *J. Clin. Oncol.* 1994;12:627-642.
- Monje ML, Palmer T. Radiation injury and neurogenesis. *Curr. Opin. Neurol.* 2003;16:129-134.
- Strother DR, Pollack IF, Fisher PG, Hunter JV, Woo SY, Pomeroy SL, Rorke LB. Tumors of the central nervous system. In: Pizzo PA, Pollack IF, eds. *Principles and practice of pediatric oncology.* Philadelphia; Lippincott Williams and Wilkins. 2002:751-824.
- Tada E, Parent JM, Lowenstein DH, Fike JR. X-irradiation causes a prolonged reduction in cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats. *Neuroscience.* 2000;99:33-41.
- Raber J, Rola R, LeFevour A, Morhardt D, Curley J, Mizumatsu S, VandenBerg SR, Fike JR. Radiation-induced cognitive impairments are associated with changes in indicators of hippocampal neurogenesis. *Radiat. Res.* 2004;162:39-47.
- Kim JS, Lee HJ, Kim JC, Kang SS, Bae CS, Shin T, Jin JK, Kim SH, Wang H, Moon C. Transient impairment of hippocampus-dependent learning and memory in relatively low-dose of acute radiation syndrome is associated with inhibition of hippocampal neurogenesis. *J. Radiat. Res.* 2008; 49:517-526.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 94:10409-10414.
- Kim JS, Jung J, Lee HJ, Kim JC, Wang H, Kim SH, Shin T, Moon C. Differences in immunoreactivities of Ki-67 and doublecortin in the adult hippocampus in three strains of mice. *Acta. Histochem.* 2009;111:150-156.
- O'Callaghan JP, Miller DB. Diethyldithiocarbamate increases distribution of cadmium to brain but prevents cadmium-induced neurotoxicity. *Brain Res.* 1986;370:354-358.
- Kim JS, Jung J, Lee HJ, Kim JC, Wang H, Kim SH, Shin T, Moon C. Differences in immunoreactivities of Ki-67 and doublecortin in the adult hippocampus in three strains of mice. *Acta Histochem.* 2009;111:150-156.
- Zanocco AL, Pavez R, Videla LA, Lissi EA. Antioxidant capacity of diethyldithiocarbamate in a metal independent lipid peroxidative process. *Free Radic. Biol. Med.* 1989;7:151-156.
- Gopalaswamy UV, Frei E, Frank N, Kliem HC, Wiessler M, Bertram B, Bhattacharya RK. Chemopreventive effects of dithiocarbamates on aflatoxin B1 metabolism and formation of AFB1 adducts with glutathione. *Anticancer Res.* 1998;18:1827-1832.
- Obmińska-Domoradzka B. The effect of DTC on mitogen-induced proliferation of thymocytes in restrained mice. Comparison with calf thymus extract. *Int. J. Immunopharmacol.* 1997;19:235-241.
- Fuentes JL, Capetillo N, Ferrer M, Padrón E, Altanés S, Llagostera M. Radioprotective effect of sodium diethyldithiocarbamate (DDC) and S-2-aminoethyl-isothioronicadenosin-5-triphosphate (adeturon) in gamma-irradiated *Escherichia coli* cells. *Mutat. Res.* 1998;422:339-345.
- Evans RG. Tumor radiosensitization with concomitant bone marrow radioprotection: a study in mice using diethyldithiocarbamate (DDC) under oxygenated and hypoxic conditions. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1985;11:1163-1169.
- Zhao W, Robbins ME. Inflammation and chronic oxidative stress in radiation-induced late normal tissue injury: therapeutic implications. *Curr. Med. Chem.* 2009;16:130-143.
- Nobel CS, Burgess DH, Zhivotovsky B, Burkitt MJ, Orrenius S, Slater AF. Mechanism of dithiocarbamate inhibition of apoptosis: thiol oxidation by dithiocarbamate disulfides directly inhibits processing of the caspase-3 proenzyme. *Chem. Res.*

- Toxicol. 1997;10:636-643.
21. Dumay A, Rincheval V, Trotot P, Mignotte B, Vayssière JL. The superoxide dismutase inhibitor diethyldithiocarbamate has antagonistic effects on apoptosis by triggering both cytochrome c release and caspase inhibition. *Free Radic. Biol. Med.* 2006;40:1377-1390.
22. Gandhi NM, Nair CK. Radiation protection by diethyldithiocarbamate: protection of membrane and DNA in vitro and in vivo against gamma-radiation. *J. Radiat. Res.* 2004;45:175-180.

Effect of Diethyldithiocarbamate on Radiation-induced Learning and Memory Impairment in Mouse

Jong Sik Jang^{*}, Jong-Choon Kim[†], Changjong Moon[†], Uhee Jung[‡], Sung-Kee Jo,[†] and Sung-Ho Kim[†]

^{*}Faculty of Animal Science & Biotechnology, Kyungpook National University,

[†]College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Animal Medical Center, Chonnam National University,

[‡]Advanced Radiation Technology Institute

Abstract - Evidence suggests that even low-dose irradiation can lead to progressive cognitive decline and memory deficits, which implicates, in part, hippocampal dysfunction in both humans and experimental animals. This study examined whether diethyldithiocarbamate (DDC) could attenuate memory impairment, using passive avoidance and object recognition test, and suppression of hippocampal neurogenesis, using the TUNEL assay and immunohistochemical detection with markers of neurogenesis (Kiel 67 (Ki-67) and doublecortin (DCX)) in adult mice treated with gamma radiation (0.5 or 2 Gy). DDC was administered intraperitoneally at a dosage of 1,000 mg · kg⁻¹ of body weight at 30 min. before irradiation. In passive avoidance and object recognition memory test, the mice, trained for 1 day after acute irradiation (2 Gy) showed significant memory deficits compared with the sham controls. The number of TUNEL-positive apoptotic nuclei in the dentate gyrus (DG) was increased 12 h after irradiation. In addition, the number of Ki-67- and DCX-positive cells were significantly decreased. DDC treatment prior to irradiation attenuated the memory defect, and blocked the apoptotic death. DDC may attenuate memory defect in a relatively low-dose exposure of radiation in adult mice, possibly by inhibiting a detrimental effect of irradiation on hippocampal neurogenesis.

Keywords : Diethyldithiocarbamate, Radiation, Memory impairment, Neurogenesis