

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 574.24

НЕЙРОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРОВ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ НА ОРГАНИЗМ ПОЧВЕННОЙ НЕМАТОДЫ *CAENORHABDITIS ELEGANS* MAURAS

А. В. Егорова¹, Т. Б. Калининкова¹, Д. М. Хакимова²,
Р. Р. Шагидуллин¹

¹ Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан,
Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия

Проведено экспериментальное исследование влияния ингибиторов ацетилхолинэстеразы алдикарба и неостигмина на синусоидальные локомоторные движения почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*, индуцированные механическим стимулом. Кратковременная (15 минут) экспозиция нематод к алдикарбу (10–40 мкМ) и неостигмину (4–12 мМ) вызывала дозозависимые нарушения движения, но не приводила к полной потере двигательной активности. Эти результаты свидетельствуют о том, что частичное ингибирование ацетилхолинэстеразы в организме *C. elegans* нарушает регуляцию сокращения и расслабления мышц, необходимую для синусоидальных локомоторных движений тела. При этом сохраняется холинергическая синаптическая передача в нервно-мышечных синапсах. Октопамин, функциональный аналог норадреналина в организмах беспозвоночных, и нейротрансмиттер дофамин усиливали негативное влияние алдикарба на локомоцию нематод. Известно, что октопамин и дофамин в организме *C. elegans* не оказывают прямого действия на локомоторные мышцы, а их влияние на нарушенное алдикарбом поведение являлось результатом модуляции межнейронных, а не нервно-мышечных синапсов. Выявленные в работе нарушения локомоции *C. elegans* являются следствием аномального повышения уровня ацетилхолина в нервной системе, а не в нервно-мышечных синапсах. Наиболее вероятным механизмом нарушения функций нервной системы *C. elegans* частичным ингибированием ацетилхолинэстеразы была гиперактивация нейрональных никотиновых рецепторов ацетилхолина. Результаты работы показывают, что самой чувствительной мишенью токсического действия эндогенного ацетилхолина при превышении его оптимального уровня в организме *C. elegans* является нервная система.

Ключевые слова: *Caenorhabditis elegans*; ингибиторы ацетилхолинэстеразы; алдикарб; неостигмин; дофамин; октопамин.

**A. V. Egorova, T. B. Kalinnikova, D. M. Khakimova, R. R. Shagidullin.
NEUROTOXIC EFFECT OF ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS ON THE
ORGANISM OF THE FREE-LIVING SOIL NEMATODE *CAENORHABDITIS
ELEGANS* MAUPAS**

The effect of acetylcholinesterase inhibitors aldicarb and neostigmine on sinusoidal locomotion of the soil nematode *Caenorhabditis elegans* induced by mechanical stimulus was experimentally studied. Short-term (15 min) exposure to aldicarb (10–40 µM) or neostigmine (4–12 mM) caused dose-dependent dysfunction of *C. elegans* locomotion in all nematodes but without a complete loss of motor activity. These results indicate that partial acetylcholinesterase inhibition in *C. elegans* disturbs the muscle contraction-relaxation balance necessary for sinusoidal body movements during locomotion, but cholinergic synaptic transmission in neuro-muscular junctions is retained. Octopamine, a functional analogue of norepinephrine in invertebrate organisms, and neurotransmitter dopamine heightened the toxic effect of aldicarb on locomotion in nematodes. A known fact is that octopamine and dopamine in *C. elegans* organism have not direct effect on locomotor muscles, and their influence on behavioral sensitivity to aldicarb may be a consequence of the modulation of transneuronal synapses rather than neuromuscular junctions. The disruption of *C. elegans* locomotion observed in this study was caused by an anomalous rise of the acetylcholine level in the nervous system, not in neuromuscular junctions. The most likely mechanism of the disturbance of *C. elegans* nervous system function by partial acetylcholinesterase inhibition is hyperactivation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. Our results show that the most sensitive target for endogenous acetylcholine at above-optimal levels in *C. elegans* organism is the nervous system.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*; acetylcholinesterase inhibitors; aldicarb; neostigmine; dopamine; octopamine.

Введение

Одной из задач экотоксикологии животных является выяснение механизмов нарушения функций организма токсикантами. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы токсичны для организмов человека и животных, но по-прежнему широко используются не только в качестве инсектицидов и нематоцидов в сельском хозяйстве [Sikora, Hartwig, 1991; Baron, 1994; Assis et al., 2012; Čolović et al., 2013; Silva et al., 2013; Metcalf, Horowitz, 2014], но и как лекарственные средства при лечении заболеваний, вызванных дефицитом ацетилхолина в организме человека [Giacobini, 2004; Lane et al., 2006; Farlow et al., 2010; Tayeb et al., 2012; Čolović et al., 2013]. Универсальным механизмом токсического действия ингибиторов ацетилхолинэстеразы на организмы человека и животных является аномальное повышение концентрации эндогенного ацетилхолина, которое нарушает поведение, физиологическое состояние организма и может вызывать его гибель [Sikora, Hartwig, 1991; Baron, 1994; Assis et al., 2012; Tayeb et al., 2012; Čolović et al., 2013; Silva et al., 2013; Metcalf, Horowitz, 2014]. Известно также, что при ингибировании аце-

тилхолинэстеразы в организме человека, позвоночных животных и насекомых критическим является аномально высокий уровень ацетилхолина в нервной системе, а не в мышцах и внутренних органах [Baron, 1994; Savolainen, 2001; Gupta, 2006; Assis et al., 2012; Čolović et al., 2013; Silva et al., 2013; Metcalf, Horowitz, 2014]. В то же время в качестве причины токсического действия нематоцидов – ингибиторов ацетилхолинэстеразы на организмы как паразитических, так и свободноживущих почвенных нематод традиционно рассматривается аномально высокий уровень ацетилхолина не в нервной системе, а в нервно-мышечных синапсах [Charlie et al., 2006; Mahoney et al., 2006; Jospin et al., 2009; Petrash et al., 2013]. Поэтому целью работы была проверка гипотезы, предполагающей, что самой чувствительной мишенью токсического действия аномально высокого уровня ацетилхолина в организмах Metazoa независимо от сложности строения является нервная система. Для проверки этой гипотезы проведены эксперименты, в которых исследовалось токсическое действие ингибиторов ацетилхолинэстеразы на поведение свободноживущей почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*.

Материалы и методы

Эксперименты проводили в феврале–марте 2019 года с *C. elegans* линии дикого типа N2, предоставленной Caenorhabditis Genetics Center. Нематод выращивали при 22 °С в чашках Петри со стандартной средой выращивания нематод и *E. coli* OP50 для кормления [Brenner, 1974]. Эксперименты проводили с нематодами двухдневного возраста, инкубированными индивидуально в 1 мл NG буфера (0,3% NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MgSO₄, 25 mM калийфосфатного буфера (pH 7,0)) [Brenner, 1974]. Для определения чувствительности поведения к ингибиторам ацетилхолинэстеразы алдикарбу и неостигмину нематод двухдневного возраста трижды отмывали от среды выращивания, бактерий и метаболитов 10 мл NG буфера и переносили индивидуально в пробирки с 1 мл NG буфера с добавлением алдикарба или неостигмина. Нарушения двигательной активности червей, индуцированной механическим стимулом (встряхивание пробирки), вызванные действием алдикарба или неостигмина, наблюдали через 15 минут при температуре 22 °С с использованием стереоскопического микроскопа SMZ-05. Эти нарушения проявлялись в потере координации мышц, необходимой для синусоидальных движений, и в невозможности поддерживать способность к локомоции в течение 10 секунд после стимула. Концентрации алдикарба (10–40 мкМ) и неостигмина (4–12 мМ) подбирали таким образом, чтобы нормальная локомоция, индуцированная механическим стимулом, сохранялась не менее чем у 50% нематод после 15-минутной экспозиции к токсикантам. Для изучения возможности сенситизации локомоции *C. elegans* к ингибиторам ацетилхолинэсте-

разы нейрофармакологическими воздействиями проведены эксперименты, в которых исследовалось влияние биогенных аминов дофамина и октопамина на чувствительность поведения нематод к алдикарбу. В этих экспериментах в среду инкубации нематод помимо алдикарба добавляли дофамин или октопамин в концентрации 5 мМ, не оказывающей негативного влияния на локомоцию нематод. В контрольных экспериментах наблюдали поведение нематод, инкубированных в NG буфере. В каждом варианте эксперимента, проведенного в трех повторностях, использовано 30 животных. Статистическую обработку результатов проводили с использованием углового преобразования Фишера ϕ^* .

Результаты исследования

В обычных условиях *C. elegans*, помещенная в водную среду, после механического встряхивания пробирки начинает плавать, совершая синусоидальные движения тела. В наших экспериментах кратковременная (15 минут) экспозиция *C. elegans* к алдикарбу не вызвала паралич нематод при его концентрации 40 мкМ и ниже. В то же время эта экспозиция нематод к алдикарбу в диапазоне концентраций 10–40 мкМ вызывала дозозависимые нарушения типичных синусоидальных движений *C. elegans*, индуцированных механическим стимулом (табл.). Нематоды с такими нарушениями поведения полностью сохраняют способность к плаванию. Неостигмин в концентрации 4–12 мМ, так же как и алдикарб, вызывал нарушения синусоидальных движений тела нематод, индуцированных механическим стимулом, с сохранением способности к локомоции у всех особей (табл.).

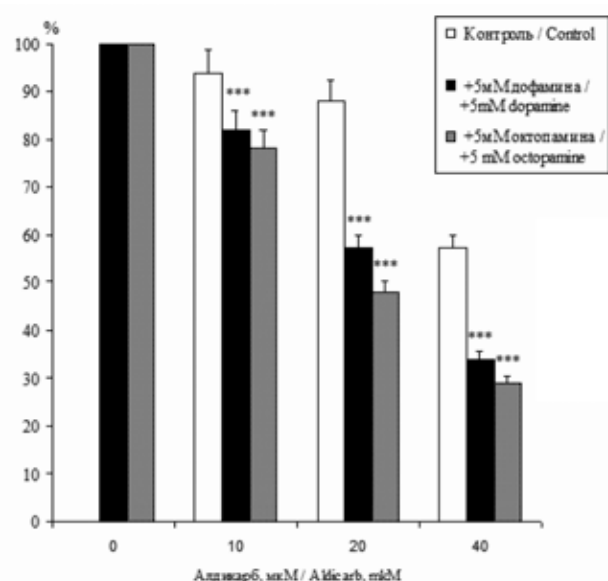
Влияние ингибиторов ацетилхолинэстеразы на локомоцию *Caenorhabditis elegans*

Acetylcholinesterase inhibitors impact on the locomotion of *Caenorhabditis elegans*

Алдикарб, мкМ Aldicarb, μM	Доля нематод без нарушений локомоции после 15-минутной экспозиции к алдикарбу, % Percentage of nematodes with unimpaired locomotion after 15-minute exposition to aldicarb, %	Неостигмин, мМ Neostigmine, mM	Доля нематод без нарушений локомоции после 15-минутной экспозиции к неостигмину, % Percentage of nematodes with unimpaired locomotion after 15-minute exposition to neostigmine, %
0	100	0	100
10	100	4	100
20	88 ± 3 ***	8	92 ± 3 ***
40	64 ± 4 ***	12	78 ± 4 ***

Примечание. *** – достоверность разницы между контролем (среда без алдикарба или неостигмина) и опытом (среда с алдикарбом или неостигмином) $p < 0,001$.

Note. *** – difference between the control (medium without aldicarb or neostigmine) and the experiment (medium with aldicarb or neostigmine) is significant at $p < 0.001$.



Результаты экспериментов, в которых исследовалось влияние дофамина и октопамина на чувствительность поведения нематод к токсическому действию алдикарба, представлены на рисунке. Октопамин и дофамин *per se* не оказывали негативного влияния на движение нематод, но повышали чувствительность локомоции *C. elegans* к действию алдикарба. Это проявлялось в достоверном снижении доли нематод, сохранивших координацию движений в среде с алдикарбом и дофамином или октопамином по сравнению со средой, не содержащей биогенных аминов.

Обсуждение результатов

Локомоция *C. elegans* осуществляется регуляцией мышц тела сетью нейронов, состоящей из холинергических и ГАМК-ергических моторных нейронов [Leung et al., 2008]. Холинергические моторные нейроны иннервируют не только мышцы тела, но и ГАМК-ергические моторные нейроны [Pereira et al., 2015], поэтому действие ингибиторов ацетилхолинэстеразы на локомоцию может происходить в результате аномального увеличения уровня ацетилхолина не только в нервно-мышечных синапсах, но и в нескольких типах межнейрональных синапсов. Известным последствием действия аномально высокого уровня ацетилхолина на мышцы тела является их гиперсокращение, которое *in vivo* проявляется в параличе нематоды (полной потере способности как к спонтанной, так и к индуцированной локомоции). Из-за низкой проницаемости кутикулы *C. elegans* для токсикантов для паралича

Влияние дофамина и октопамина на чувствительность плавательного поведения *Caenorhabditis elegans* к алдикарбу ($M \pm SD$).

По оси ординат – доля нематод, сохранивших нормальное поведение после 15-минутной экспозиции к алдикарбу, %. По оси абсцисс – концентрация алдикарба, мкМ.

*** – достоверность разницы между контролем (среда без дофамина или октопамина) и опытом (среда с дофамином или октопамином) $p < 0,001$

Dopamine and octopamine impact on *Caenorhabditis elegans* swimming behavior sensitivity to aldicarb.

The ordinate shows the percentage of nematodes that retained normal behavior after 15-minute exposition to aldicarb, %. The abscissa shows aldicarb concentration, µM.

*** – difference between the control (medium without dopamine or octopamine) and the experiment (medium with dopamine or octopamine) is significant at $p < 0.001$

необходима экспозиция нематод к высоким концентрациям алдикарба (0,5–1,0 мМ) в течение нескольких десятков минут [Fleming et al., 1997; Nurrish et al., 1999; Andreson et al., 2004; Gottschalk et al., 2005].

В отличие от алдикарба, который является пестицидом, токсичным для человека и грызунов [Baron, 1994], неостигмин используется для лечения заболеваний человека, обусловленных дефицитом ацетилхолина в организме [Colović et al., 2013]. Различия концентраций алдикарба и неостигмина, эффективных для нарушения поведения *C. elegans* (табл.), могут быть следствием более низкой, по сравнению с алдикарбом, проницаемости кутикулы для неостигмина. Результаты наших экспериментов (табл.) свидетельствуют о том, что частичное ингибирование ацетилхолинэстеразы в организме *C. elegans*, подпороговое для нарушения функций нервно-мышечных синапсов, проявляющегося в параличе, нарушает сложную регуляцию сокращения и расслабления мышц, необходимую для синусоидальных движений тела.

Большие различия концентраций алдикарба и неостигмина, эффективных для нарушения локомоции *C. elegans* (табл.) и для паралича нематод [Charlie et al., 2006; Mahoney et al., 2006; Jospin et al., 2009; Petrash et al., 2013], могут объясняться тем, что превышение оптимального уровня ацетилхолина в межнейрональных синапсах нарушает поведение *C. elegans* при концентрациях ингибиторов ацетилхолинэстеразы, подпороговых для нарушения холинергической синаптической трансмиссии в нервно-мышечных синапсах. В пользу

этого объяснения свидетельствуют и результаты экспериментов, в которых исследовалось влияние дофамина и октопамина на чувствительность поведения к токсическому действию алдикарба (рис.). Высокие действующие концентрации биогенных аминов в этих экспериментах обусловлены низкой проницаемостью кутикулы для них [Chase et al., 2004] и соответствуют концентрациям дофамина и октопамина, неэффективным для изменения поведения *C. elegans* при отсутствии алдикарба [Chase et al., 2004]. Дофамин является одним из модуляторов синаптических связей в нервной системе [Vidal-Gadea et al., 2011], поэтому возможно его участие как в нарушениях синаптической передачи токсическими воздействиями, так и в компенсации этих нарушений. Октопамин осуществляет в организмах беспозвоночных функции, сходные с функциями норадреналина в организмах позвоночных животных. В организме *C. elegans* дофамин и октопамин являются нейротрансмиттерами и нейромодуляторами, которые не оказывают прямого действия на локомоторные мышцы [Chase et al., 2004]. Поэтому сенситизация дофамином и октопamiном чувствительности поведения *C. elegans* к токсическому действию алдикарба объяснима модуляцией ими межнейрональных, а не нервно-мышечных синапсов. В связи с тем, что в условиях частичного ингибирования ацетилхолинэстеразы аномально высокий уровень ацетилхолина в синапсах определяется не только концентрацией ингибитора, но и скоростью секреции ацетилхолина пресинаптическими нейронами [Charlie et al., 2006], очевидно, что дофамин и октопамин могут увеличивать чувствительность поведения к алдикарбу модуляцией холинергической синаптической передачи на пресинаптическом уровне.

Несмотря на то что алдикарб широко используется в мутантном анализе функций нервно-мышечных синапсов *C. elegans* [Charlie et al., 2006; Mahoney et al., 2006; Jospin et al., 2009; Petrash et al., 2013], в этих исследованиях не рассматривались нарушения поведения, вызванные подпороговыми для индукции паралича *C. elegans* концентрациями алдикарба. Очевидно, что выявленные нами нарушения локомоции *C. elegans*, индуцированной механическим стимулом, являются следствием аномального повышения уровня ацетилхолина в нервной системе *C. elegans*, а не в нервно-мышечных синапсах. В нервной системе *C. elegans* имеется два типа рецепторов ацетилхолина: никотиновые рецепторы ацетилхолина (н-холинорецепторы) – ионные каналы, формируемые пятью белковыми

субъединицами [Conti-Tronconi, Raftery, 1982], и метаболитные мускариновые рецепторы ацетилхолина (м-холинорецепторы), сопряженные с G-белками [Lanzafame et al., 2003]. Поэтому превышение оптимального уровня ацетилхолина в нервной системе *C. elegans*, вызванное частичным ингибированием ацетилхолинэстеразы, может вызывать нарушения поведения гиперактивацией обоих типов нейрональных рецепторов ацетилхолина. Токсическое действие аномально высокого ацетилхолина на нервную систему человека и насекомых, как правило, рассматривается в связи с гиперактивацией н-холинорецепторов [Sattelle, 2009]. Поэтому наиболее вероятным механизмом нарушения функций нервной системы *C. elegans* частичным ингибированием ацетилхолинэстеразы является гиперактивация именно этих нейрональных рецепторов. В нервной системе *C. elegans* экспрессируются 29 генов н-холинорецепторов [Chatzigeorgiou et al., 2010; Liu et al., 2012]. В связи с тем, что н-холинорецептор состоит из пяти субъединиц, существует огромное количество потенциально возможных вариантов н-холинорецепторов в нейронах *C. elegans* [Arneric et al., 2007]. Одним из основных методических подходов для идентификации н-холинорецепторов не только человека, но и *C. elegans* является эктопическая экспрессия композиций генов н-холинорецепторов в ооцитах шпорцевой лягушки с последующим фармакологическим анализом н-холинорецепторов с использованием электрофизиологических методов [Tomizawa, Casida, 2003; Sattelle, 2009; Lansdell et al., 2012]. Одним из немногих известных нейрональных н-холинорецепторов *C. elegans* является рецептор ACR-2R, состоящий из трех α -субъединиц (UNC-38, UNC-63 и ACR-12) и из двух субъединиц (ACR-2 и ACR-3), которые не относятся к α -субъединицам, необходимым для связывания ацетилхолина и других агонистов н-холинорецепторов [Richmond, Jorgensen, 1999; Jospin et al., 2009]. Гены субъединиц ACR-2R экспрессируются в холинергических моторных нейронах, иннервирующих не только мышцы тела, но и ГАМК-ергические моторные нейроны [Tayeb et al., 2012]. Долгое время из-за методических сложностей не удавалось показать, что командные нейроны *C. elegans* являются холинергическими. Поэтому ACR-2R рассматривался как рецептор в холинергических моторных нейронах, с помощью которого осуществляется ауторегуляция секреции ацетилхолина [Richmond, Jorgensen, 1999]. В то же время в 2017 году были опубликованы результаты исследований,

свидетельствующих о том, что все командные нейроны *C. elegans* являются холинергическими [Belova et al., 2017]. Следовательно, аномальное повышение уровня ацетилхолина частичным ингибированием ацетилхолинэстераз происходит в синапсах между командными и моторными нейронами и, как следствие, может вызывать гипервозбуждение моторных нейронов гиперактивацией рецептора ACR-2R и других неидентифицированных н-холинорецепторов в этих нейронах.

В связи с тем, что ацетилхолин, секретруемый холинергическими мотонейронами, не только вызывает сокращение мышц, но и возбуждает ГАМК-ергические мотонейроны, сигналы из которых расслабляют мышцы тела [Rand, 2007], очевидно, что аномальное возбуждение ГАМК-ергических нейронов повышением уровня ацетилхолина может нарушать координацию процессов возбуждения и расслабления мышц тела, необходимую для синусоидальных движений при плавании.

Заключение

Результаты работы впервые показывают, что причиной токсического действия ингибиторов ацетилхолинэстеразы на организмы нематод *C. elegans* является нарушение интегративных функций нервной системы. В организмах Metazoa разных таксономических групп, от самых простых до высокоорганизованных, потенциальной причиной токсического действия ингибиторов ацетилхолинэстераз является аномально высокий уровень ацетилхолина в межнейрональных или нервно-мышечных синапсах. В то же время известно, что причиной токсического действия этих ингибиторов на организмы человека и грызунов являются нарушения функций нервной системы, а не блокада нервно-мышечных синапсов [Baron, 1994; Savolainen, 2001; Gupta, 2006; Assis et al., 2012; Čolović et al., 2013; Silva et al., 2013; Metcalf, Horowitz, 2014]. У насекомых токсическое действие ингибиторов ацетилхолинэстеразы на организм также является следствием нарушения интегративных функций нервной системы. Механизмы токсического действия аномально высокого уровня ацетилхолина на организм эволюционно высококонсервативны, и самой чувствительной мишенью токсического действия эндогенного ацетилхолина при превышении его оптимального уровня не только в организмах человека, позвоночных и высших беспозвоночных, но и в простых организмах нематод является нервная система.

Литература

- Anderson G. L., Cole R. D., Williams P. L. Assessing behavioral toxicity with *Caenorhabditis elegans* // Environ. Toxicol. Chem. 2004. Vol. 23. P. 1235–1240. doi: 10.1897/03-264
- Americ S. P., Holladay M., Williams M. Neuronal nicotinic receptors: a perspective on two decades of drug discovery research // Biochem. Pharmacol. 2007. Vol. 74. P. 1092–1101. doi: 10.1016/j.bcp.2007.06.033
- Assis C. R. D., Linhares A. G., Oliveira V. M., França R. C. P., Carvalho E. V. M. M., Bezerra R. S., de Carvalho L. B. Jr. Comparative effect of pesticides on brain acetylcholinesterase in tropical fish // Sci. Total Environ. 2012. Vol. 441. P. 141–150. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.09.058
- Baron R. L. A carbamate insecticide: a case study of aldicarb // Environ. Health. Perspect. 1994. Vol. 102. P. 23–27. doi: 10.1289/ehp.94102s1123
- Belova E. B., Kolsanova R. R., Kalinnikova T. B., Khakimova D. M., Shagidullin R. R., Gainutdinov M. Kh. Serotonin-induced sensitization of nicotinic acetylcholine receptors in the soil nematode *Caenorhabditis elegans* // J. Evol. Biochem. Physiol. 2017. Vol. 53. P. 153–155. doi: 10.1134/s1234567817020082
- Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 1974. Vol. 77. P. 71–94.
- Charlie N. K., Schade M. A., Thomure A. M., Miller K. G. Presynaptic UNC-31 (CAPS) is required to activate the G alpha (s) pathway of the *Caenorhabditis elegans* synaptic signaling network // Genetics. 2006. Vol. 172. P. 943–961. doi: 10.1534/genetics.105.049577
- Chase D. L., Pepper J. S., Koelle M. R. Mechanism of extrasynaptic dopamine signaling in *Caenorhabditis elegans* // Nature Neurosci. 2004. Vol. 7. P. 1096–1103. doi: 10.1038/nn1316
- Chatzigeorgiou M., Yoo S., Watson J. D., Lee W.-H., Spencer W. C., Kindt K. S., Hwang S. W., Miller D. M., Treinin M., Driscoll M., Schafer W. R. Specific roles for DEG/ENaC and TRP channels in touch and thermosensation in *Caenorhabditis elegans* nociceptors // Nat. Neurosci. 2010. Vol. 13. P. 861–868. doi: 10.1038/nn.2581
- Čolović M. B., Krstić D. Z., Lazarević-Pašti T. D., Bondžić A. M., Vasić V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology // Curr. Neuropharmacol. 2013. Vol. 11. P. 315–335. doi: 10.2174/1570159x11311030006
- Conti-Tronconi B. M., Raftery M. A. The nicotinic cholinergic receptor: correlation of molecular structure with functional properties // Annu. Rev. Biochem. 1982. Vol. 51. P. 491–530. doi: 10.1146/annurev.bi.51.070182.002423
- Farlow M. R., Salloway S., Tariot P. N., Yardley J., Moline M. L., Wang Q., Brand-Shieber E., Zou H., Hsu T., Satlin A. Effectiveness and tolerability of high-dose (23 mg/d) versus standard-dose (10 mg/d) donepezil in moderate to severe Alzheimer's disease: a 24-week, randomized, double-blind study // Clin. Ther. 2010. Vol. 32. P. 1234–1251. doi: 10.1016/j.clinthera.2010.06.019
- Fleming J. T., Squire M. D., Barnes T. M., Tornoe C., Matsuda K., Ahnn J., Fire A., Sulston J. E., Barnard E. A., Sattelle D. B., Lewis J. A. *Caenorhabditis elegans* levamisole resistance genes *lev-1*, *unc-29* and *unc-38* encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits

- // J. Neurosci. 1997. Vol. 17. P. 5843–5857. doi: 10.1523/jneurosci.17-15-05843.1997
- Giacobini E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives // Pharmacol. Res. 2004. Vol. 50. P. 433–440. doi: 10.1016/s1043-6618(04)00085-4
- Gottschalk A., Almedom R. B., Schedletzky T., Anderson S. D., Yates III J. R., Schafer W. R. Identification and characterization of novel nicotinic receptor associated proteins in *Caenorhabditis elegans* // The EMBO J. 2005. Vol. 24. P. 2566–2578. doi: 10.1038/sj.emboj.7600741
- Gupta R. C. Classification and uses of organophosphates and carbamates // Toxicology of organophosphate and carbamate compounds. Amsterdam: Academic Press; Elsevier, 2006. P. 5–24. doi: 10.1016/b978-012088523-7/50003-x
- Jospin M., Qi Y. B., Stawicki T. M., Boulin T., Schuske K. R., Horvitz R., Bessereau J.-L., Jorgensen E. M., Jin Y. A neuronal acetylcholine receptor regulates the balance of muscle excitation and inhibition in *Caenorhabditis elegans* // PLoS Biology. 2009. Vol. 7. e1000265. doi: 10.1371/journal.pbio.1000265
- Lansdell S. J., Collins T., Goodchild J., Millar N. S. The *Drosophila* nicotinic acetylcholine receptor subunits Dα5 and Dα7 form functional homomeric and heteromeric ion channels // BMC Neurosci. 2012. Vol. 13. e73. doi: 10.1186/1471-2202-13-73
- Lane R. M., Potkin S. G., Enz A. Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia // Int. J. Neuropsychoph. 2006. Vol. 9. P. 101–124. doi: 10.1017/s1461145705005833
- Lanzafame A. A., Christopoulos A., Mitchelson F. Cellular signaling mechanism for muscarinic acetylcholine receptors // Receptors and Channels. 2003. Vol. 9. P. 241–260. doi: 10.1080/10606820308263
- Leung M. C. K., Williams P. L., Benedetto A., Au K., Helmcke K. J., Aschner M., Meyer J. N *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology // Toxicol. Sci. 2008. Vol. 106. P. 5–28. doi: 10.1093/toxsci/kfn121
- Liu S., Schulze E., Baumeister R. Temperature- and touch-sensitive neurons couple CNG and TRPV channel activities to control heat avoidance in *Caenorhabditis elegans* // PLoS ONE. 2012. Vol. 7. e32360. doi: 10.1371/journal.pone.0032360
- Mahoney T. R., Luo S., Nonet M. L. Analysis of synaptic transmission in *Caenorhabditis elegans* using an aldicarb-sensitivity assay // Nat. Protoc. 2006. Vol. 1. P. 1772–1777. doi: 10.1038/nprot.2006.281
- Metcalf R. L., Horowitz A. R. Insect control // Ullmann's Encyclopedia of industrial chemistry. Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, 2014. doi: 10.1002/14356007.s14_s01
- Nurrish S., Ségalat L., Kaplan J. M. Serotonin inhibition of synaptic transmission: $G\alpha_o$ decreases the abundance of UNC-13 at release site // Neuron. 1999. Vol. 24. P. 231–242. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80835-1
- Pereira L., Kratsios P., Serrano-Saiz E., Sheftel H., Mayo A. E., Hall D. H., White J. G., LeBoeuf B., Garcia L. R., Alon U., Hobert O. A cellular and regulatory map of the cholinergic nervous system of *C. elegans* // eLIFE. 2015. Vol. 4. e12432. doi: 10.7554/elife.12432
- Petrash H. A., Philbrook A., Haburcak M., Barbaggio B., Francis M. M. ACR-12 ionotropic acetylcholine receptor complexes regulate inhibitory motor neuron activity in *Caenorhabditis elegans* // J. Neurosci. 2013. Vol. 33. P. 5524–5532. doi: 10.1523/jneurosci.4384-12.2013
- Rand J. B. Acetylcholine // WormBook, ed. The C. elegans Research Community. 2007. doi: 10.1895/wormbook.1.131.1
- Richmond J. E., Jorgensen E. M. One GABA and two acetylcholine receptors function at the *C. elegans* neuromuscular junction // Nat. Neurosci. 1999. Vol. 2. P. 791–797. doi: 10.1038/12160
- Sattelle D. B. Invertebrate nicotinic acetylcholine receptors – targets for chemicals and drugs important in agriculture, veterinary medicine and human health // J. Pestic. Sci. 2009. Vol. 34. P. 233–240. doi: 10.1584/jpestics.r09-02
- Savolainen K. Understanding the toxic action of organophosphates. In: Handbook of pesticide toxicology / Eds. R. I. Krieger and W. C. Krieger. Academic Press, 2001. P. 1013–1043. doi: 10.1016/b978-012426260-7.50053-7
- Sikora R. A., Hartwig J. Mode-of-action of the carbamate nematocides cloethocarb, aldicarb and carbofuran on *Heterodera schachtii*. 2. Systemic activity // Revue Nématol. 1991. Vol. 14. P. 531–536.
- Silva K. C. C., Assis C. R. D., Oliveira V. M., Carvalho L. B. Jr., Bezerra R. S. Kinetic and physicochemical properties of brain acetylcholinesterase from the peacock bass (*Cichla ocellaris*) and in vitro effect of pesticides and metal ions // Aquat. Toxicol. 2013. Vol. 126. P. 191–197. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.11.001
- Tayeb H. O., Yang H. D., Price B. H., Tarazi F. I. Pharmacotherapies for Alzheimer's disease: beyond cholinesterase inhibitors // Pharmacol. Therap. 2012. Vol. 134. P. 8–25. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.12.002
- Tomizawa M., Casida J. E. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors // Annu. Rev. Entomol. 2003. Vol. 48. P. 339–364. doi: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731
- Vidal-Gadea A., Topper S., Young L., Crisp A., Kressin L., Elbel E., Maples T., Brauner M., Erbguth K., Axelrod A., Gottschalk A., Siegel D., Pierce-Shimomura T. *Caenorhabditis elegans* selects distinct crawling and swimming gaits via dopamine and serotonin // PNAS. 2011. Vol. 108. P. 17504–17509. doi: 10.1073/pnas.1108673108

Поступила в редакцию 07.04.2021

References

Anderson G. L., Cole R. D., Williams P. L. Assessing behavioral toxicity with *Caenorhabditis elegans*. *Environ. Toxicol. Chem.* 2004. Vol. 23. P. 1235–1240. doi: 10.1897/03-264

Arneric S. P., Holladay M., Williams M. Neuronal nicotinic receptors: a perspective on two decades of drug discovery research. *Biochem. Pharmacol.* 2007. Vol. 74. P. 1092–1101. doi: 10.1016/j.bcp.2007.06.033

- Assis C. R. D., Linhares A. G., Oliveira V. M., França R. C. P., Carvalho E. V. M. M., Bezerra R. S., de Carvalho L. B. Jr. Comparative effect of pesticides on brain acetylcholinesterase in tropical fish. *Sci. Total Environ.* 2012. Vol. 441. P. 141–150. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.09.058
- Baron R. L. A carbamate insecticide: a case study of aldicarb. *Environ. Health. Perspect.* 1994. Vol. 102. P. 23–27. doi: 10.1289/ehp.94102s1123
- Belova E. B., Kolsanova R. R., Kalinnikova T. B., Khakimova D. M., Shagidullin R. R., Gainutdinov M. Kh. Serotonin-induced sensitization of nicotinic acetylcholine receptors in the soil nematode *Caenorhabditis elegans*. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2017. Vol. 53. P. 153–155. doi: 10.1134/s1234567817020082
- Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics.* 1974. Vol. 77. P. 71–94.
- Charlie N. K., Schade M. A., Thomure A. M., Miller K. G. Presynaptic UNC-31 (CAPS) is required to activate the G alpha (s) pathway of the *Caenorhabditis elegans* synaptic signaling network. *Genetics.* 2006. Vol. 172. P. 943–961. doi: 10.1534/genetics.105.049577
- Chase D. L., Pepper J. S., Koelle M. R. Mechanism of extrasynaptic dopamine signaling in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Neurosci.* 2004. Vol. 7. P. 1096–1103. doi: 10.1038/nn1316
- Chatzigeorgiou M., Yoo S., Watson J. D., Lee W.-H., Spencer W. C., Kindt K. S., Hwang S. W., Miller D. M., Treinin M., Driscoll M., Schafer W. R. Specific roles for DEG/ENaC and TRP channels in touch and thermosensation in *Caenorhabditis elegans* nociceptors. *Nat. Neurosci.* 2010. Vol. 13. P. 861–868. doi: 10.1038/nn.2581
- Čolović M. B., Krstić D. Z., Lazarević-Pašti T. D., Bondžić A. M., Vasić V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr. Neuropharmacol.* 2013. Vol. 11. P. 315–335. doi: 10.2174/1570159x11311030006
- Conti-Tronconi B. M., Raftery M. A. The nicotinic cholinergic receptor: correlation of molecular structure with functional properties. *Annu. Rev. Biochem.* 1982. Vol. 51. P. 491–530. doi: 10.1146/annurev.bi.51.070182.002423
- Farlow M. R., Salloway S., Tariot P. N., Yardley J., Moline M. L., Wang Q., Brand-Shieber E., Zou H., Hsu T., Satlin A. Effectiveness and tolerability of high-dose (23 mg/d) versus standard-dose (10 mg/d) donepezil in moderate to severe Alzheimer's disease: a 24-week, randomized, double-blind study. *Clin. Ther.* 2010. Vol. 32. P. 1234–1251. doi: 10.1016/j.clinthera.2010.06.019
- Fleming J. T., Squire M. D., Barnes T. M., Tornoe C., Matsuda K., Ahnn J., Fire A., Sulston J. E., Barnard E. A., Sattelle D. B., Lewis J. A. *Caenorhabditis elegans* levamisole resistance genes *lev-1*, *unc-29* and *unc-38* encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits. *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17. P. 5843–5857. doi: 10.1523/jneurosci.17-15-05843.1997
- Giacobini E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. *Pharmacol. Res.* 2004. Vol. 50. P. 433–440. doi: 10.1016/s1043-6618(04)00085-4
- Gottschalk A., Almedom R. B., Schedletzky T., Anderson S. D., Yates III J. R., Schafer W. R. Identification and characterization of novel nicotinic receptor associated proteins in *Caenorhabditis elegans*. *The EMBO J.* 2005. Vol. 24. P. 2566–2578. doi: 10.1038/sj.emboj.7600741
- Gupta R. C. Classification and uses of organophosphates and carbamates. In: Toxicology of organophosphate and carbamate compounds. Amsterdam: Academic Press; Elsevier, 2006. P. 5–24. doi: 10.1016/b978-012088523-7/50003-x
- Jospin M., Qi Y. B., Stawicki T. M., Boulin T., Schuske K. R., Horvitz R., Bessereau J.-L., Jorgensen E. M., Jin Y. A neuronal acetylcholine receptor regulates the balance of muscle excitation and inhibition in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biology.* 2009. Vol. 7. e1000265. doi: 10.1371/journal.pbio.1000265
- Lansdell S. J., Collins T., Goodchild J., Millar N. S. The Drosophila nicotinic acetylcholine receptor subunits Dα5 and Dα7 form functional homomeric and heteromeric ion channels. *BMC Neurosci.* 2012. Vol. 13. e73. doi: 10.1186/1471-2202-13-73
- Lane R. M., Potkin S. G., Enz A. Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *Int. J. Neuropsychoph.* 2006. Vol. 9. P. 101–124. doi: 10.1017/s1461145705005833
- Lanzafame A. A., Christopoulos A., Mitchelson F. Cellular signaling mechanism for muscarinic acetylcholine receptors. *Receptors and Channels.* 2003. Vol. 9. P. 241–260. doi: 10.1080/10606820308263
- Leung M. C. K., Williams P. L., Benedetto A., Au K., Helmcke K. J., Aschner M., Meyer J. N. *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology. *Toxicol. Sci.* 2008. Vol. 106. P. 5–28. doi: 10.1093/toxsci/kfn121
- Liu S., Schulze E., Baumeister R. Temperature- and touch-sensitive neurons couple CNG and TRPV channel activities to control heat avoidance in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7. e32360. doi: 10.1371/journal.pone.0032360
- Mahoney T. R., Luo S., Nonet M. L. Analysis of synaptic transmission in *Caenorhabditis elegans* using an aldicarb-sensitivity assay. *Nat. Protoc.* 2006. Vol. 1. P. 1772–1777. doi: 10.1038/nprot.2006.281
- Metcalfe R. L., Horowitz A. R. Insect control. *Ullmann's Encyclopedia of industrial chemistry.* Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, 2014. doi: 10.1002/14356007.s14_s01
- Nurrish S., Ségalat L., Kaplan J. M. Serotonin inhibition of synaptic transmission: Gα_o decreases the abundance of UNC-13 at release site. *Neuron.* 1999. Vol. 24. P. 231–242. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80835-1
- Pereira L., Kratsios P., Serrano-Saiz E., Sheftel H., Mayo A. E., Hall D. H., White J. G., LeBoeuf B., Garcia L. R., Alon U., Hobert O. A cellular and regulatory map of the cholinergic nervous system of *C. elegans*. *eLIFE.* 2015. Vol. 4. e12432. doi: 10.7554/elife.12432
- Petrash H. A., Philbrook A., Haburcak M., Barbagallo B., Francis M. M. ACR-12 ionotropic acetylcholine receptor complexes regulate inhibitory motor neuron activity in *Caenorhabditis elegans*. *J. Neurosci.* 2013. Vol. 33. P. 5524–5532. doi: 10.1523/jneurosci.4384-12.2013
- Rand J. B. Acetylcholine. *Wormbook*, ed. The *C. elegans* Research Community. 2007. doi: 10.1895/wormbook.1.131.1
- Richmond J. E., Jorgensen E. M. One GABA and two acetylcholine receptors function at the *C. elegans* neu-

romuscular junction. *Nat. Neurosci.* 1999. Vol. 2. P. 791–797. doi: 10.1038/12160

Sattelle D. B. Invertebrate nicotinic acetylcholine receptors – targets for chemicals and drugs important in agriculture, veterinary medicine and human health. *J. Pestic. Sci.* 2009. Vol. 34. P. 233–240. doi: 10.1584/jpestics.r09-02

Savolainen K. Understanding the toxic action of organophosphates. In: *Handbook of pesticide toxicology*. Eds. R. I. Krieger and W. C. Krieger. Academic Press, 2001. P. 1013–1043. doi: 10.1016/b978-012426260-7.50053-7

Sikora R. A., Hartwig J. Mode-of-action of the carbamate nematocides cloethocarb, aldicarb and carbofuran on *Heterodera schachtii*. 2. Systemic activity. *Revue Nématol.* 1991. Vol. 14. P. 531–536.

Silva K. C. C., Assis C. R. D., Oliveira V. M., Carvalho L. B. Jr., Bezerra R. S. Kinetic and physicochemical properties of brain acetylcholinesterase from the peacock bass (*Cichla ocellaris*) and in vitro effect of pes-

ticides and metal ions. *Aquat. Toxicol.* 2013. Vol. 126. P. 191–197. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.11.001

Tayeb H. O., Yang H. D., Price B. H., Tarazi F. I. Pharmacotherapies for Alzheimer's disease: beyond cholinesterase inhibitors. *Pharmacol. Therap.* 2012. Vol. 134. P. 8–25. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.12.002

Tomizawa M., Casida J. E. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu. Rev. Entomol.* 2003. Vol. 48. P. 339–364. doi: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731

Vidal-Gadea A., Topper S., Young L., Crisp A., Kresin L., Elbel E., Maples T., Brauner M., Erbguth K., Axelrod A., Gottschalk A., Siegel D., Pierce-Shimomura T. *Caenorhabditis elegans* selects distinct crawling and swimming gaits via dopamine and serotonin. *PNAS.* 2011. Vol. 108. P. 17504–17509. doi: 10.1073/pnas.1108673108

Received April 07, 2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Егорова Анастасия Васильевна

младший научный сотрудник
лаб. экспериментальной экологии
Институт проблем экологии и недропользования
Академии наук Республики Татарстан
ул. Даурская, 28, Казань, Республика Татарстан,
Россия, 420087
эл. почта: egorovanastassia@gmail.com

Калинникова Татьяна Борисовна

заведующая лаб. экспериментальной экологии, к. б. н.
Институт проблем экологии и недропользования
Академии наук Республики Татарстан
ул. Даурская, 28, Казань, Республика Татарстан,
Россия, 420087
эл. почта: tbcalinnikova@gmail.com

Хакимова Диляра Махмутриевна

доцент, к. м. н.
Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, 18, Казань, Республика Татарстан,
Россия, 420008
эл. почта: diazkzn@mail.ru

Шагидуллин Рифгат Роальдович

директор, чл.-корр. АН РТ, д. х. н.
Институт проблем экологии и недропользования
Академии наук Республики Татарстан
ул. Даурская, 28, Казань, Республика Татарстан,
Россия, 420087
эл. почта: shagidullin_@mail.ru

CONTRIBUTORS:

Egorova, Anastasia

Research Institute for Problems of Ecology
and Mineral Wealth Use,
Tatarstan Academy of Sciences
28 Daur'skaya St., 420087 Kazan, Republic of Tatarstan, Russia
e-mail: egorovanastassia@gmail.com

Kalinnikova, Tatyana

Research Institute for Problems of Ecology
and Mineral Wealth Use,
Tatarstan Academy of Sciences
28 Daur'skaya St., 420087 Kazan, Republic of Tatarstan, Russia
e-mail: tbcalinnikova@gmail.com

Khakimova, Dilyara

Kazan Federal University
18 Kremlyovskaya St., 420008 Kazan, Republic of Tatarstan,
Russia
e-mail: diazkzn@mail.ru

Shagidullin, Rifgat

Research Institute for Problems of Ecology
and Mineral Wealth Use,
Tatarstan Academy of Sciences
28 Daur'skaya St., 420087 Kazan, Republic of Tatarstan, Russia
e-mail: shagidullin_@mail.ru