

А.В. Егорова, А.Ф. Гатиятуллина, Т.Б. Калининкова

Институт проблем экологии и недропользования АН РТ, tbkalinnikova@gmail.com

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ ДОФАМИНА DOP-1, DOP-2 И DOP-3 В МОДУЛЯЦИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПОЧВЕННОЙ НЕМАТОДЫ *Caenorhabditis elegans* К ТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ИОНОВ СВИНЦА

Проведено изучение возможной роли рецепторов дофамина DOP-1, DOP-2 и DOP-3 в модуляции чувствительности почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans* к токсическому действию нитрата свинца. Эксперименты проводили с нематодами четырех линий: линия дикого типа N2 и мутантные линии LX636 (*dop-1(vs101)X*), LX702 (*dop-2(vs105)I*), LX703 (*dop-3(vs106)X*) с нуль-мутациями одного из генов рецепторов дофамина (*dop-1*, *dop-2* и *dop-3* соответственно). Нуль-мутации генов рецепторов дофамина DOP-2 и DOP-3 не вызывали достоверных изменений устойчивости поведения *C. elegans* к действию $Pb(NO_3)_2$ в концентрации 0.25–1.0 мМ. Нуль-мутация гена рецептора DOP-1 повышала чувствительность поведения *C. elegans* к ионам Pb^{2+} в течение 30–120-минутной экспозиции к токсиканту. Введение в среду инкубации дофамина в концентрации 8 мМ не оказывало существенного влияния на поведение *C. elegans*, но снижало чувствительность нематод линий с мутациями генов *dop-1* и *dop-3* к $Pb(NO_3)_2$. Дофамин в концентрации 4 мМ не оказывал достоверного влияния на локомоцию *C. elegans* всех четырех линий как сам по себе, так и при добавлении в среду с нитратом свинца. Нарушения моторной программы плавания у *dop-1* мутантов могут быть следствием пониженного содержания эндогенного ацетилхолина в моторных нейронах в результате недостаточной DOP-1 дофаминергической трансмиссии. Снижение чувствительности *dop-1* и *dop-3* мутантов к $Pb(NO_3)_2$ при введении в среду инкубации 8 мМ дофамина свидетельствует о том, что у *C. elegans* этих линий чувствительность к дофамину сохраняется.

Ключевые слова: *Caenorhabditis elegans*; ионы свинца; рецепторы дофамина.

DOI: <https://doi.org/10.24852/2411-7374.2023.1.69.75>

Введение

Свинец является загрязнителем окружающей среды, оказывающим негативное влияние на организмы человека и животных. В отличие от других тяжелых металлов, свинец не принимает участия в биологических процессах. Негативное действие свинца на организм определяется его способностью замещать двухвалентные катионы, в первую очередь Ca^{2+} и Zn^{2+} , в биологических молекулах (Akinyemi et al., 2019; Lidsky, Schneider, 2003; Jaishankar et al., 2014). Одним из механизмов токсического действия свинца на организмы животных является нарушение функций нервной системы. Действие свинца на нервную систему приводит к повреждению и гибели нейронов, изменению секреции нейромедиаторов и чувствительности рецепторов. Свинец подавляет Ca^{2+} -зависимое высвобождение ацетилхолина и дофамина (Sabbar et al., 2018; Sanders et al., 2009; Valko et al., 2005). Известно негативное действие свинца на дофаминергическую систему, которое проявляется в гибели дофаминергических нейро-

нов и изменении чувствительности рецепторов дофамина (Lidsky, Schneider, 2003; Sabbar et al., 2018). Хронические инъекции свинца снижают уровень эндогенного дофамина в головном мозге крыс. При этом у крыс наблюдались нарушения локомоции и координации движений (Sanders et al., 2009). В культуре дофаминергических нейронов свинец вызывал некроз клеток и, в меньшей степени, апоптоз. У крысят, питавшихся молоком матерей, которых поили водой, содержащей ацетат свинца, нарушались функции рецепторов дофамина (Lidsky, Schneider, 2003).

Сложность организации нервной системы человека и животных затрудняет интерпретацию результатов токсикологических исследований. Удобным модельным организмом для изучения действия токсикантов на организмы Metazoa является свободноживущая почвенная нематода *Caenorhabditis elegans*. У этой нематоды отсутствуют орган внешнего дыхания и циркуляторная система, что позволяет изучать действие токсических веществ и лекарственных препаратов не-

посредственно на нервную систему, состоящую всего из 302 нейронов. В эксперименте можно использовать большое количество нематод одного возраста благодаря простоте выращивания *C. elegans* в лаборатории, высокой плодовитости и короткому жизненному циклу (Brenner, 1974; Chen et al., 2013). Проводившиеся ранее исследования действия ионов Pb^{2+} на организм *C. elegans* выявили высокую чувствительность нематод к этому токсиканту. Ацетат свинца вызывал снижение уровня эндогенного дофамина у *C. elegans* линии дикого типа N2 и гибель дофаминергических нейронов (Akinyemi et al., 2019; Wang, Xing, 2008). Действие ионов Pb^{2+} на *C. elegans* проявляется в нарушении функции AFD сенсорных нейронов, контролирующих термотаксис (Chen et al., 2013). Нитрат свинца оказывает негативное влияние на локомоцию нематод и их способность к ассоциативному обучению (Akinyemi et al., 2019; Wang, Xing, 2008; Zhang et al., 2010). У нематод линии CB1112 (*cat-2(e1112)II*), у которых нарушен синтез дофамина (Akinyemi et al., 2019), понижена, по сравнению с нематодами линии дикого типа N2, чувствительность к действию $Pb(NO_3)_2$ (Егорова и др., 2022). В организме *C. elegans* выявлено четыре типа рецепторов дофамина (Chase et al., 2004; Pandey, Harbinder, 2012; Pandey et al., 2012; Vidal-Gadea, Pierce-Shimomura, 2012).

Целью настоящей работы явилось изучение участия рецепторов DOP-1, DOP-2 и DOP-3 в регуляции чувствительности локомоции *C. elegans* к действию нитрата свинца.

Объекты и методы исследования

Эксперименты проводили с молодыми половозрелыми нематодами. В работе использовали четыре линии *Caenorhabditis elegans*: линия дикого типа N2 и мутантные линии LX636 (*dop-1(vs101)X*), LX702 (*dop-2(vs105)V*), LX703 (*dop-3(vs106)X*) с нуль-мутациями одного из генов рецепторов дофамина (*dop-1*, *dop-2* и *dop-3* соответственно). Все линии были получены из *Caenorhabditis Genetics Center*.

C. elegans выращивали при 22°C в чашках Петри со стандартной средой выращивания нематод, содержащей 3 г/л NaCl, 17 г/л бактоагар, 2.5 г/л бактопептон, 5 мг/л холестерин, 1 мМ $CaCl_2$, 1 мМ $MgSO_4$, 25 мМ калийфосфатный буфер (pH 6.0) (Brenner, 1974). На среду выращивания высевали *E. coli* OP50 для питания нематод (Brenner, 1974). Эксперименты проводили в NG буфере (3 г/л NaCl, 1 мМ $CaCl_2$, 1 мМ $MgSO_4$, 25 мМ калийфосфатный буфер (pH 7.0)) (Brenner, 1974). Для каждого эксперимента нематод смывали с поверхности агара, переносили в стеклянную цен-

трифужную пробирку объемом 10 мл и отмывали от среды выращивания, бактерий и экзометаболитов. Для этого в пробирку добавляли 10 мл NG буфера. После оседания нематод на дно пробирки супернатант удаляли и вновь добавляли 10 мл NG буфера. В третий раз нематод отмывали 85 мМ NaCl.

Эксперименты проводили при 22°C. Нематод, подготовленных для эксперимента, рассаживали по одной особи в стеклянные стаканчики с нитратом свинца, дофамином и NG буфером. Конечный объем среды инкубации – 1 мл. В экспериментах фиксировали нарушения моторной программы плавания *C. elegans*, индуцированного механическим стимулом. Эти нарушения проявлялись в отсутствии способности поддерживать плавание в течение 10 секунд после стимула. Нарушения локомоции фиксировали через 30, 60, 90 и 120 минут при помощи стереоскопического микроскопа SMZ-05. Эксперименты проводили в четырех повторностях, для каждой концентрации свинца и в контрольном варианте использовали 30 нематод.

Статистическую обработку проводили с использованием углового преобразования Фишера ϕ^* .

Результаты и их обсуждение

Для проверки предположения о возможности регуляции устойчивости организма *C. elegans* к негативному действию ионов Pb^{2+} активацией рецепторов дофамина DOP-1, DOP-2 и DOP-3 были проведены эксперименты с нематодами линии дикого типа N2 и мутантных линий LX636 (*dop-1(vs101)X*), LX702 (*dop-2(vs105)V*) и LX703 (*dop-3(vs106)X*) с нуль-мутациями генов рецепторов дофамина DOP-1, DOP-2 и DOP-3 соответственно. В этих экспериментах сравнивалась устойчивость поведения к токсическому действию нитрата свинца у нематод линии N2 и мутантных линий в контрольных экспериментах и при введении в среду экзогенного дофамина.

Двухчасовая инкубация нематод в NG буфере без нитрата свинца и/или дофамина при 22°C не вызывала нарушений моторной программы плавания. В таблице приведены результаты экспериментов, в которых сравнивалась устойчивость поведения к токсическому действию нитрата свинца нематод линии дикого типа N2 и трех мутантных линий. Эти результаты показывают, что нуль-мутации генов рецепторов дофамина DOP-2 и DOP-3 не вызывают достоверных изменений устойчивости поведения *C. elegans* к действию $Pb(NO_3)_2$ в концентрации 0.25–1.0 мМ. В то же время следствием нуль-мутации гена рецептора DOP-1 является значительное повышение чув-

Таблица. Чувствительность линий *C. elegans* N2, *dop-1*, *dop-2* и *dop-3* к $Pb(NO_3)_2$
 Table. The sensitivity of *C. elegans* strains N2, *dop-1*, *dop-2* and *dop-3* to $Pb(NO_3)_2$

Условия эксперимента Experimental conditions	Доля нематод с нормальным поведением The percentage of nematodes with coordinated swimming, %%			
	30 мин 30 min	60 мин 60 min	90 мин 90 min	120 мин 120 min
	Линия N2 / N2 strain			
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	100	96.9±3.1	90.6±3.1
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	96.9±3.1	84.4±3.1	81.3±3.6
1 мМ $Pb(NO_3)_2$	96.9±3.1	78.1±3.1	75.0±5.1	68.7±3.6
дофамин 8 мМ / dopamine 8 mM	96.9±3.1	96.9±3.1	93.8±3.6	81.3±3.6
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	100	100	87.5±5.8
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	100	93.8±3.6	81.3±3.6
1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	100	78.1±3.1	65.6±3.1
Линия <i>dop-1</i> / <i>dop-1</i> strain				
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$	78.1±6.0	68.8±8.9	65.6±8.4	59.4±8.9
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$	62.5±8.5	59.4±8.7	50.0±8.8	46.9±8.8
1 мМ $Pb(NO_3)_2$	59.4±8.7	63.1±8.5	43.8±8.7	40.6±8.7
дофамин 8 мМ / dopamine 8 mM	100	96.9±3.1	90.6±6.0	90.6±6.0
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	96.9±3.1	93.8±3.6	81.3±3.6	81.3±3.6
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	90.6±3.1	84.4±6.0	75±5.1	75±5.1
1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	84.4±6.0	81.3±6.8	68.8±3.6	68.8±3.6
Линия <i>dop-2</i> / <i>dop-2</i> strain				
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	100	90.6±3.1	87.5±5.1
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	96.9±3.1	84.4±3.1	78.1±3.1
1 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	90.6±6.0	78.1±7.9	71.9±3.1
дофамин 8 мМ / dopamine 8 mM	100	100	96.9±3.1	93.8±3.6
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	100	93.8±3.6	90.6±3.1
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	96.9±3.1	84.4±3.1	78.1±3.1
1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	96.9±3.1	81.3±3.6	75±5.1
Линия <i>dop-3</i> / <i>dop-3</i> strain				
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	93.8±3.6	93.8±3.6	90.6±3.1
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	87.5±5.8	78.1±6.0	75.0±5.1
1 мМ $Pb(NO_3)_2$	100	78.1±7.9	62.5±8.8	56.3±6.3
дофамин 8 мМ / dopamine 8 mM	100	100	96.9±3.1	96.9±3.1
0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.25 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	100	100	100
0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 0.5 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	100	100	87.5±5.8
1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + дофамин 8 мМ / 1 мМ $Pb(NO_3)_2$ + dopamine 8 mM	100	100	93.8±3.6	75.0±5.1

ствительности поведения *C. elegans* к ионам Pb^{2+} , проявляющееся в уменьшении доли особей с нормальным поведением в течение 30–120-минутной экспозиции к токсиканту.

Введение в среду инкубации дофамина в концентрации 8 мМ не оказывало существенного влияния на поведение *C. elegans*, но снижало чувствительность нематод линий с мутациями генов *dop-1* и *dop-3* к $Pb(NO_3)_2$ (табл.). Дофамин в кон-

центрации 4 мМ не оказывал достоверного влияния на локомоцию *C. elegans* всех четырех линий как сам по себе, так и при добавлении в среду с нитратом свинца (данные не показаны).

В организме *C. elegans* дофамин принимает участие в регуляции нейрональных функций и таких форм поведения, как локомоция, восприятие информации о пище, откладка яиц, дефекация, обучение и память (Chase et al., 2004; Pandey, Nar-

binder, 2012; Pandey et al., 2012; Sawin et al., 2000; Schafer, Kenyon, 1995; Xu et al., 2021). Действие дофамина на поведение и физиологическое состояние организма *C. elegans* осуществляется активацией нескольких типов рецепторов, которые являются трансмембранными белками, сопряженными с G-белками. У *C. elegans* выявлено четыре типа рецепторов дофамина. DOP-1 и DOP-4 относятся к D1 рецепторам, а DOP-2 и DOP-3 являются D2 рецепторами. D1 рецепторы экспрессируются не только в нейронах, но и в других клетках (мышцы, клетки глии и др.). D2 рецепторы экспрессируются только в нервных клетках и выполняют роль нейрорегуляторов. У нематод рецептор DOP-2 является ауторецептором, функционирующим в цепи отрицательной обратной связи (Chase et al., 2004; Vidal-Gadea, Pierce-Shimomura, 2012; Pandey, Harbinder, 2012; Pandey et al., 2012; Xu et al., 2021). Известно, что активация D1 и D2 рецепторов дофамина вызывает антагонистические эффекты на клеточном уровне. Связывание дофамина с D1 рецепторами усиливает активность аденилатциклазы и, как следствие, повышает уровень цАМФ. Активация D2 рецепторов, напротив, приводит к ингибированию аденилатциклазы и снижению уровня цАМФ. Таким образом, D1 и D2 рецепторы конкурентно регулируют уровень цАМФ в организме, что позволяет использовать дофамин для эффективного контроля поведения. Это особенно важно для модификации поведения при резком изменении окружающей среды (Chase et al., 2004; Pandey, Harbinder, 2012; Pandey et al., 2012).

Одна из главных функций дофамина у беспозвоночных заключается в регуляции локомоции. Дофамин замедляет скорость движения у улиток; у пиявок и моллюсков дофамин подавляет плавание в воде и индуцирует ползание по твердому субстрату; дофамин снижает локомоторные ритмы у миног, крабов и *Danio rerio* (Sawin et al., 2000; Vidal-Gadea, Pierce-Shimomura, 2012). D1 рецепторы регулируют частоту и амплитуду изгибов тела при движении *C. elegans* в средах с разной вязкостью (Vidal-Gadea, Pierce-Shimomura, 2012). Известно участие дофамина в замедлении и полном прекращении движения нематод при их контакте с пищей (так называемый *basal slowing response*) (Chase et al., 2004; Pandey et al., 2012; Vidal-Gadea, Pierce-Shimomura, 2012). У мутантов *dop-3* замедление движения при контакте с пищей отсутствует, в то время как у мутантов *dop-1* и *dop-2* эта форма поведения не отличалась от поведения нематод линии дикого типа N2. У *C. elegans* дикого типа, *dop-1* и *dop-2* мутантов дофамин в концентрации 30 мМ вызывал полный паралич.

При этой же концентрации дофамина 65% мутантов *dop-3* сохраняли способность к локомоции (Chase et al., 2004). DOP-1 участвует в подавлении локомоции в период линьки модулируя секрецию нейропептида сна FLP-11 интернейроном RIS (Xu et al., 2021).

Помимо контроля локомоции дофамин участвует в модуляции чувствительности нематод к внешним воздействиям. D1 и D2 рецепторы модулируют избегание аверсивных и аттрактивных химических стимулов в противоположных направлениях (Wang et al., 2014). Рецептор DOP-3 необходим для избегания растворимых репеллентов (Pandey et al., 2012). У мутантов *dop-3* снижена скорость избегания 2-нонанона по сравнению с мутантами *dop-1* и *dop-2* (Kimura et al., 2010). Показано, что нейролептики могут модулировать локомоторный ответ *C. elegans* на тактильный стимул. У мутантов *dop-1*, *dop-2* и *dop-3* этот ответ слабее, чем у нематод линии N2. В присутствии рисперидона ослабление ответа на тактильный стимул отмечалось только у *dop-3* мутантов. Арипипразол ослаблял локомоторный ответ у мутантов *dop-1* и *dop-2*, но не у *dop-3* (Osuna-Luque et al., 2018). Дофамин в концентрациях 0.5–1.0 мМ повышает теплоустойчивость поведения *C. elegans* линии дикого типа N2, а в концентрациях 7.5–15.0 мМ, напротив, вызывает ее снижение. У мутантов *dop-1* повышена, по сравнению с нематодами линии дикого типа N2 и мутантами *dop-3*, устойчивость локомоции к действию температуры 36°C (Калинникова и др., 2018).

Приведенные в этой работе результаты показывают, что мутация гена *dop-1* повышает чувствительность плавания нематод, индуцированного механическим стимулом, к действию $Pb(NO_3)_2$ в концентрации 0.25–1.0 мМ. Коэкспрессия генов *dop-1* и *dop-3* происходит во многих нейронах *C. elegans*, включая холинергические моторные нейроны (Chase et al., 2004; Vidal-Gadea, Pierce-Shimomura, 2012). Рецептор DOP-3 необходим для начальной фазы движения, его действие кратковременно. Рецептор DOP-1 модулирует ритм плавания на протяжении длительного времени (Xu et al., 2021). В организмах нематод линии дикого типа N2 свинец может подавлять активность тирозингидроксилазы – ключевого фермента синтеза дофамина и, как следствие, нарушать синтез дофамина дофаминергическими нейронами (Akinyemi et al., 2019). Известно, что дофамин может модулировать скорость секреции ацетилхолина холинергическими моторными нейронами AVA, AVB, AVD и PVC, входящими в нейронную сеть, осуществляющую локомоцию нематод (Chase et al., 2004; Han et al., 2015; Jospin

et al., 2009). Нарушения моторной программы плавания у *dop-1* мутантов в наших экспериментах могут быть следствием пониженного содержания эндогенного ацетилхолина в моторных нейронах в результате недостаточной DOP-1 дофаминергической трансмиссии. Снижение чувствительности *dop-1* и *dop-3* мутантов к $Pb(NO_3)_2$ при введении в среду инкубации 8мМ дофамина свидетельствует о том, что у *C. elegans* этих линий чувствительность к дофамину сохраняется. В этом случае экзогенный дофамин повышает скорость секреции ацетилхолина моторными нейронами, что приводит к уменьшению ошибок моторной программы плавания. Следует иметь в виду, что дофамин регулирует функции нервной системы *C. elegans* как сравнительно быстрыми изменениями состояния нейронов, так и экспрессией генов. В последнем случае поведение нематод изменяется в течение нескольких часов после введения дофамина в организм (Suo, Ishiura, 2013). Продолжительность наших экспериментов (до 120 минут) недостаточна для выявления эффектов экзогенного дофамина, связанных с экспрессией генов в нейронах. Для выяснения возможной роли индукции дофамином экспрессии генов в модуляции чувствительности *C. elegans* к токсическому действию $Pb(NO_3)_2$ необходимы дополнительные исследования.

Список литературы

1. Егорова А.В., Гагитяуллина А.Ф., Калининкова Т.Б. Токсическое действие нитрата свинца на дофаминергическую систему *Caenorhabditis elegans* линий N2 и CB1112 // Тенденции развития науки и образования. 2022. №91, ч. 6. С. 148–154. doi: 10.18411/trnio-11-2022-318.
2. Калининкова Т.Б., Колсанова Р.Р., Белова Е.Б., Хакимова Д.М., Гайнутдинов М.Х., Шагидуллин Р.Р. О возможной роли рецепторов дофамина DOP-1 и DOP-3 в регуляции теплоустойчивости поведения *Caenorhabditis elegans* Маурас // Самарский научный вестник. 2018. Т. 7, № 2. С. 63–68. doi:10.17816/snv201872112.
3. Akinyemi A J., Miah M.R., Ijomone O.M., Tsatsakisc A., Soares F.A.A., Tinkov A.A., Skalny A.V., Venkataramani V., Aschner M. Lead (Pb) exposure induced neurotoxicity in *Caenorhabditis elegans*: involvement of the dopamine transporter // Toxicology reports. 2019. Vol. 6. P. 833–840. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.08.001>.
4. Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 1974. Vol. 77. P. 71–94. <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>.
5. Chase D.L., Pepper J.S., Koelle M.R. Mechanism of extrasynaptic dopamine signaling in *Caenorhabditis elegans* // Nature Neuroscience. 2004. Vol. 7. P. 1096–1103. doi: 10.1038/nn1316.
6. Chen P., Martinez-Finley E.J., Bomhorst J., Chakraborty S., Aschner M. Metal-induced neurodegeneration in *C. elegans* // Frontiers in aging neuroscience. 2013. Vol. 5. P. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00018>.
7. Han B., Bellemer A., Koelle M.R. An evolutionary conserved switch in response to GABA affects development and behavior of the locomotor circuit of *Caenorhabditis elegans* //

- Genetics. 2015. V. 199. P. 1159–1172. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.173963>.
8. Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals // Interdisciplinary toxicology. 2014. Vol. 7. P. 60–72. doi: 10.2478/intox-2014-0009.
9. Jospin M., Qi Y.B., Stawicki T.M., Boulin T., Schuske K R., Horvitz H.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. P. e1000265. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000265>.
10. Kimura K.D., Fujita K., Katsura I. Enhancement of odor avoidance regulated by dopamine signaling in *Caenorhabditis elegans* // The Journal of neuroscience. 2010. Vol. 30. P. 16365–16375. doi:10.1523/JNEUROSCI.6023-09.2010.
11. Lidsky T.I., Schneider J.S. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates // Brain. 2003. Vol. 126. P. 5–19. doi: 10.1093/brain/awg014.
12. Osuna-Luque J., Rodríguez-Ramos Á., Gámez-del-Estal M. del Mar, Ruiz-Rubio M. Behavioral mechanisms that depend on dopamine and serotonin in *Caenorhabditis elegans* interact with the antipsychotics risperidone and aripiprazole // Journal of experimental neuroscience. 2018. Vol. 12. P. 1–11. doi: 10.1177/1179069518798628.
13. Pandey P., Harbinder S. The *Caenorhabditis elegans* D2-like dopamine receptor DOP-2 physically interacts with GPA-14, a $G\alpha$ subunit // Journal of molecular signaling. 2012. Vol. 7. P. 1–10. doi: 10.1186/1750-2187-7-3.
14. Pandey P., Mersha M.D., Dhillon H.S. A synergistic approach towards understanding the functional significance of dopamine receptor interactions // Journal of molecular signaling. 2012. V. 7. P. 1–8. doi: 10.1186/1750-2187-8-13.
15. Sabbar M., Delaville C., De Deurwaerdère P., Lakhadar-Ghazal N., Benazzouz A. Lead-induced atypical Parkinsonism in rats: behavioral, electrophysiological, and neurochemical evidence for a role of noradrenaline depletion // Frontiers in neuroscience. 2018. Vol. 12. Article 173. doi: 10.3389/fnins.2018.00173.
16. Sanders T., Liu Y., Buchner V., Tchounwou P.B. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: A review // Reviews on environmental health. 2009. Vol. 24. P. 15–45. <https://doi.org/10.1515/revh.2009.24.1.15>.
17. Sawin E.R., Ranganathan, R., Horvitz. H.R. *C.elegans* locomotory rate is modulated by the environment through a dopaminergic pathway and by experience through a serotonergic pathway // Neuron. 2000. Vol. 26. P. 619–631. doi: 10.1016/s0896-6273(00)81199-x.
18. Schafer W.R., Kenyon S. A calcium-channel homologue required for adaptation to dopamine and serotonin in *Caenorhabditis elegans* // Nature. 1995. Vol. 375. P. 73–78. doi: 10.1038/375073a0.
19. Suo S., Ishiura S. Dopamine modulates acetylcholine release via octopamine and CREB signaling in *Caenorhabditis elegans* // PLoS ONE. 2013. Vol. 8. P. e72578. doi: 10.1371/journal.pone.0072578.
20. Valko M., Morris H., Cronin M.T.D. Metals, toxicity and oxidative stress // Current medicinal chemistry. 2005. Vol. 12. P. 1161–1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>.
21. Vidal-Gadea A.G., Pierce-Shimomura J.T. Conserved role of dopamine in the modulation of behavior // Communicative & integrative biology. 2012. Vol. 5. P. 440–447. doi: 10.4161/cib.20978
22. Wang D., Xing X. Assessment of locomotion behavioral defects induced by acute toxicity from heavy metal exposure in nematode *Caenorhabditis elegans* // Journal of environmental sciences. 2008. Vol. 20. P. 1132–1137. doi: 10.1016/s1001-

0742(08)62160-9.

23. Wang D., Yu Y., Li Y., Wang Y., Wang D. Dopamine receptors antagonistically regulate behavioral choice between conflicting alternatives in *C. elegans* // PLoS ONE. 2014. Vol. 9. P. e115985. doi: 10.1371/journal.pone.0115985.

24. Xu Y., Zhang L., Liu Y., Topalidou I., Hassinan C., Ailion M., Zhao Z., Wang T., Chen Z., Bai J. Dopamine receptor DOP-1 engages a sleep pathway to modulate swimming in *C. elegans* // iScience. 2021. Vol. 24. P. 102247. doi: 10.1016/j.isci.2021.102247.

25. Zhang Y., Ye B., Wang D. Effects of metal exposure on associative learning behavior in nematode *Caenorhabditis elegans* // Archives of environmental contamination and toxicology. 2010. Vol. 59. P. 129–136. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9456-y>.

References

1. Egorova A.V., Gatiyatullina A.F., Kalinnikova T.B. Toksicheskoe deistvie nitrata svintsa na dophaminergicheskuyu sistemu *Caenorhabditis elegans* linij N2 i CB1112 [Toxic action of lead nitrate on dopaminergic system of *Caenorhabditis elegans* strains N2 and CB1112] // Tendentsii Razvitiya nauki i Obrazovaniya [Trends in Development of Science and Education]. 2022. No 91, p. 6. P. 148–154. doi: 10.18411/trnio-11-2022-318.

2. Kalinnikova T.B., Kolsanova R.R., Belova E.B., Khakimova D.M., Gainutdinov M.Kh., Shagidullin R.R. O vozmozhnoi roli receptorov dopamina DOP-1 i DOP-3 v regulyatsii teploustoichivosti povedeniya *Caenorhabditis elegans* Maupas [The possible role of dopamine receptors DOP-1 and DOP-3 in regulation of behavior thermotolerance of *Caenorhabditis elegans* Maupas] // Samarskij Nauchnyi Vestnik [Samara Scientific Bulletin]. 2018. Vol. 7, No 2. P. 63–68. doi:10.17816/snv201872112

3. Akinyemi A J., Miah M.R., Ijomone O.M., Tsatsakisc A., Soares F.A.A., Tinkov A.A., Skalny A.V., Venkataramani V., Aschner M. Lead (Pb) exposure induced neurotoxicity in *Caenorhabditis elegans*: involvement of the dopamine transporter // Toxicology reports. 2019. Vol. 6. P. 833–840. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.08.001>.

4. Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 1974. Vol. 77. P. 71–94. <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>.

5. Chase D.L., Pepper J.S., Koelle M.R. Mechanism of extrasynaptic dopamine signaling in *Caenorhabditis elegans* // Nature Neuroscience. 2004. Vol. 7. P. 1096–1103. doi: 10.1038/nn1316.

6. Chen P., Martinez-Finley E.J., Bomhorst J., Chakraborty S., Aschner M. Metal-induced neurodegeneration in *C. elegans* // Frontiers in aging neuroscience. 2013. Vol. 5. P. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00018>.

7. Han B., Bellemer A., Koelle M.R. An evolutionary conserved switch in response to GABA affects development and behavior of the locomotor circuit of *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 2015. Vol. 199. P. 1159–1172. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.173963>.

8. Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals // Interdisciplinary toxicology. 2014. Vol. 7. P. 60–72. doi: 10.2478/intox-2014-0009.

9. Jospin M., Qi Y.B., Stawicki T.M., Boulin T., Schuske K R., Horvitz H.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. P. e1000265. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000265>.

10. Kimura K.D., Fujita K., Katsura I. Enhancement of odor avoidance regulated by dopamine signaling in *Caenorhabditis*

elegans // The Journal of neuroscience. 2010. Vol. 30. P. 16365–16375. doi:10.1523/JNEUROSCI.6023-09.2010.

11. Lidsky T.I., Schneider J.S. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates // Brain. 2003. Vol. 126. P. 5–19. doi: 10.1093/brain/awg014.

12. Osuna-Luque J., Rodríguez-Ramos Á., Gámez-del-Estal M. del Mar, Ruiz-Rubio M. Behavioral mechanisms that depend on dopamine and serotonin in *Caenorhabditis elegans* interact with the antipsychotics risperidone and aripiprazole // Journal of experimental neuroscience. 2018. Vol. 12. P. 1–11. doi: 10.1177/1179069518798628.

13. Pandey P., Harbinder S. The *Caenorhabditis elegans* D2-like dopamine receptor DOP-2 physically interacts with GPA-14, a $G\alpha$ subunit // Journal of molecular signaling. 2012. Vol. 7. P. 1–10. doi: 10.1186/1750-2187-7-3.

14. Pandey P., Mersha M.D., Dhillon H.S. A synergistic approach towards understanding the functional significance of dopamine receptor interactions // Journal of molecular signaling. 2012. V. 7. P. 1–8. doi: 10.1186/1750-2187-8-13.

15. Sabbar M., Delaville C., De Deurwaerdère P., Lakhdar-Ghazal N., Benazzouz A. Lead-induced atypical Parkinsonism in rats: behavioral, electrophysiological, and neurochemical evidence for a role of noradrenaline depletion // Frontiers in neuroscience. 2018. Vol. 12. Article 173. doi: 10.3389/fnins.2018.00173.

16. Sanders T., Liu Y., Buchner V., Tchounwou P.B. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: A review // Reviews on environmental health. 2009. Vol. 24. P. 15–45. <https://doi.org/10.1515/reveh.2009.24.1.15>.

17. Sawin E.R., Ranganathan, R., Horvitz. H.R. *C.elegans* locomotory rate is modulated by the environment through a dopaminergic pathway and by experience through a serotonergic pathway // Neuron. 2000. Vol. 26. P. 619–631. doi: 10.1016/s0896-6273(00)81199-x.

18. Schafer W.R., Kenyon S. A calcium-channel homologue required for adaptation to dopamine and serotonin in *Caenorhabditis elegans* // Nature. 1995. Vol. 375. P. 73–78. doi: 10.1038/375073a0.

19. Suo S., Ishiura S. Dopamine modulates acetylcholine release via octopamine and CREB signaling in *Caenorhabditis elegans* // PLoS ONE. 2013. Vol. 8. e72578. doi: 10.1371/journal.pone.0072578.

20. Valko M., Morris H., Cronin M.T.D. Metals, toxicity and oxidative stress // Current medicinal chemistry. 2005. Vol. 12. P. 1161–1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>.

21. Vidal-Gadea A.G., Pierce-Shimomura J.T. Conserved role of dopamine in the modulation of behavior // Communicative & integrative biology. 2012. Vol. 5. P. 440–447. doi: 10.4161/cib.20978

22. Wang D., Xing X. Assessment of locomotion behavioral defects induced by acute toxicity from heavy metal exposure in nematode *Caenorhabditis elegans* // Journal of environmental sciences. 2008. Vol. 20. P. 1132–1137. doi: 10.1016/s1001-0742(08)62160-9.

23. Wang D., Yu Y., Li Y., Wang Y., Wang D. Dopamine receptors antagonistically regulate behavioral choice between conflicting alternatives in *C. elegans* // PLoS ONE. 2014. Vol. 9. P. e115985. doi: 10.1371/journal.pone.0115985.

24. Xu Y., Zhang L., Liu Y., Topalidou I., Hassinan C., Ailion M., Zhao Z., Wang T., Chen Z., Bai J. Dopamine receptor DOP-1 engages a sleep pathway to modulate swimming in *C. elegans* // iScience. 2021. Vol. 24. P. 102247. doi: 10.1016/j.isci.2021.102247.

25. Zhang Y., Ye B., Wang D. Effects of metal exposure on associative learning behavior in nematode *Caenorhabditis elegans* // Archives of environmental contamination and toxicology. 2010. Vol. 59. P. 129–136. <https://doi.org/10.1007>

s00244-009-9456-y.

Egorova A.V., Gatiyatullina A.F., Kalinnikova T.B. **The possible role of dopamine receptors DOP-1, DOP-2 and DOP-3 in modulation of soil nematode *Caenorhabditis elegans* sensitivity to toxic action of lead ions.**

The possible role of dopamine receptors DOP-1, DOP-2 and DOP-3 in modulation of sensitivity of soil nematode *Caenorhabditis elegans* to toxic action of lead nitrate was carried out. Experiments were performed with four nematodes strains, namely N2 wild type strain and mutant strains LX636 (*dop-1(vs101)X*), LX702 (*dop-2(vs105)I*), LX703 (*dop-3(vs106)X*) with null-mutations of single dopamine receptor gene (*dop-1*, *dop-2* and *dop-3* respectively). Null-mutations of dopamine receptors DOP-2 and DOP-3 genes did not cause any significant changes in *C. elegans* behavior tolerance to $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ action in concentration range 0.25–1.0 mM. Null-mutation

of dopamine DOP-1 receptor gene increased the sensitivity of *C. elegans* behavior to Pb^{2+} ions during 30–120-minutes exposition to this toxicant. The addition of dopamine in concentration of 8 mM to incubation medium did not result in significant effects in *C. elegans* behavior but decreased the sensitivity of nematodes with mutations in *dop-1* and *dop-3* genes to $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Dopamine in concentration of 4 mM had not any significant effects on locomotion of *C. elegans* of all investigated strains either *per se* or along with lead nitrate. Disturbances in swimming motor program of *dop-1* mutants may be a consequence of reduced endogenous acetylcholine content in motor neurons due to nonsufficient DOP-1 dopaminergic synaptic transmission. The decrease in *dop-1* and *dop-3* mutants sensitivity to $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ action in the incubation medium with 8 mM of dopamine indicates that *C. elegans* of these strains retain the sensitivity to dopamine.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*; lead ions; dopamine receptors.

Раскрытие информации о конфликте интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов / Disclosure of conflict of interest information: The author claims no conflict of interest

Информация о статье / Information about the article

Поступила в редакцию / Entered the editorial office: 29.08.2022

Одобрено рецензентами / Approved by reviewers: 12.09.2022

Принята к публикации / Accepted for publication: 26.09.2022

Сведения об авторах

Егорова Анастасия Васильевна, младший научный сотрудник, Институт проблем экологии и недропользования АН РТ, 420087, Россия, г. Казань, ул. Даурская, 28, E-mail: egorovanastassia@gmail.com.

Гатиятуллина Алсу Фоатовна, младший научный сотрудник, Институт проблем экологии и недропользования АН РТ, 420087, Россия, г. Казань, ул. Даурская, 28, E-mail: gaf9212@gmail.com.

Калинникова Татьяна Борисовна, кандидат биологических наук, зав. лабораторией, Институт проблем экологии и недропользования АН РТ, 420087, Россия, г. Казань, ул. Даурская, 28, E-mail: tbkalinnikova@gmail.com.

Information about the authors

Anastasia V. Egorova, Junior Researcher, Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use of Tatarstan Academy of Sciences, 28, Daur'skaya st., Kazan, 420087, Russia, E-mail: egorovanastassia@gmail.com.

Alsu F. Gatiyatullina, Junior Researcher, Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use of Tatarstan Academy of Sciences, 28, Daur'skaya st., Kazan, 420087, Russia, E-mail: gaf9212@gmail.com.

Tatiana B. Kalinnikova, Head of the Laboratory, Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use of Tatarstan Academy of Sciences, 28, Daur'skaya st., Kazan, 420087, Russia, E-mail: tbkalinnikova@gmail.com.

