

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-58-60>



СКРИНИНГ АГОНИСТОВ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ *DAPHNIA MAGNA STRAUS*

А.А. Бондаренко^{1,2}

¹ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

Проведена оценка острой токсичности и способности агонистов холинорецепторов вызывать у зоо-гидробионтов *Daphnia magna Straus* атипичную двигательную гиперактивность, эквивалентную выраженному судорожному состоянию у теплокровных животных. Определение данной тест-функции может быть полезно при скрининговой оценке фармакологической активности холинергических веществ.

Ключевые слова: холинергические вещества, агонисты холинорецепторов, первичный скрининг, *Daphnia magna Straus*

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бондаренко А.А. Скрининг агонистов холинорецепторов на экспериментальной модели *Daphnia magna Straus*. *Биомедицина*. 2024;20(3):58–60. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-58-60>

Поступила 04.04.2024

Принята после доработки 21.05.2024

Опубликована 10.09.2024

SCREENING OF CHOLINORECEPTOR AGONISTS IN EXPERIMENTAL MODEL ON *DAPHNIA MAGNA STRAUS*

Anastasiya A. Bondarenko^{1,2}

¹ Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva Str., 1

² Institute of Experimental Medicine
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Akademika Pavlova Str., 12

The acute toxicity and the ability of cholinoreceptor agonists to induce atypical motor hyperactivity in zoohydrobionts *Daphnia magna Straus*, equivalent to a significant seizure state in warm-blooded animals, were evaluated. Determination of this test function may be useful in screening assessment of pharmacological activity of cholinergic substances.

Keywords: cholinergic substances, cholinoreceptor agonists, primary screening, *Daphnia magna Straus*

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

For citation: Bondarenko A.A. Screening of Cholinoreceptor Agonists in Experimental Model on *Daphnia magna Straus*. *Journal Biomed*. 2024;20(3):58–60. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-58-60>

Submitted 04.04.2024

Revised 21.05.2024

Published 10.09.2024

Введение

Дафнии являются многоклеточными организмами, которые повсеместно используются в биотестировании по определению токсичности различных химических веществ. Они имеют целый ряд медиаторных и ферментных систем, в частности холинергическую медиаторную систему, аналогичную млекопитающим [2, 4, 5]. Поскольку эта медиаторная система у дафний достаточно хорошо изучена, представляется возможным проведение первичного скрининга холинергических веществ [2, 4]. Преимуществом проведения скрининга на дафниях является их удобство разведения в лабораторных условиях, небольшой размер особей, а также генетическая однородность синхронизированной культуры.

Добавление в водную среду агонистов холинорецепторов вызывает атипичную двигательную гиперактивность (АДГА) у дафний, что эквивалентно выраженному судорожному состоянию у теплокровных животных [1]. Данная тест-функция позволяет в дальнейшем проводить отбор эффективных противосудорожных препаратов по критерию предотвращения наступления АДГА у *Daphnia magna Straus*, тем самым сокращая использование млекопитающих в экспериментальных исследованиях.

Материалы и методы

Исследование выполнено на синхронизированной культуре зоогибрионтов *Daphnia magna Straus* в возрасте 7 сут, выращенных в лабораторных условиях в соответствии с требованиями международного стандарта по биотестированию воды [3]. Тестирование проводили в климатостате Р-2 (ООО «СФУ-Система», Россия) при температуре $20 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

Объекты исследования: М-холиномиметик ареколин и антихолинэстеразные вещества физостигмин, галантамин и аминостигмин; содержание основного вещества составляло не менее 95%.

Среднелетальную концентрацию ($ЛК_{50}$) и минимальную концентрацию вызывающую АДГА у дафний ($ЭК_{99}$) определяли так, как описано в работе [1]. Концентрации определяли методом пробит-анализа. Каждый эксперимент повторяли трижды.

Результаты исследований

В таблице представлены результаты определения острой токсичности исследуемых веществ при экспозиции 24 ч, оценена способность препаратов вызывать у дафний АДГА.

Согласно полученным экспериментальным данным, галантамин обладает наименьшей токсичностью. Токсичность физостигмина и аминостигмина сопоставима

Таблица. Результаты определения $ЛК_{50}$ и $ЭК_{99}$ при экспозиции 24 ч

Table. The results of the determination of LC_{50} and EC_{99} in 24-hours exposure

Препарат	$ЛК_{50}$, мг/л ($M \pm m$)	$ЭК_{99}$, мг/л	$ЛК_{50}/ЭК_{99}$
Ареколин	26,8 \pm 4,5	16,0	1,7
Галантамин	135,2 \pm 57,5	0,13	1040
Аминостигмин	96,3 \pm 34,9	0,06	1605
Физостигмин	106,8 \pm 32,3	0,06	1780

Примечание: $ЛК_{50}$ — среднелетальная концентрация; $ЭК_{99}$ — минимальная концентрация, вызывающая АДГА; $ЛК_{50}/ЭК_{99}$ — отношение среднелетальной концентрации к минимальной концентрации, вызывающей АДГА. Концентрации определяли методом пробит-анализа.

Note: LC_{50} — median lethal concentration; EC_{99} — minimum concentration of inducing atypical motor hyperactivity; LC_{50}/EC_{99} — the ratio of the median lethal concentration to the minimum concentration inducing atypical motor hyperactivity. Concentrations were determined by the probit analysis method.

с галантамином, а наиболее токсичным воздействием на дафний обладает ареколин. При этом минимальная концентрация, вызывающая АДГА у дафний, для ареколина составила 16,0 мг/л, что всего в 1,7 раза ниже его среднелетальной концентрации. ЭК₉₉ физостигмина и аминостигмина в 1780 и 1605 раз меньше, чем их ЛК₅₀ соответственно, а галантамина — в 1040 раз меньше.

Выводы

Таким образом, по результатам скрининга агонистов холинорецепторов определена острая токсичность и способность вызывать АДГА у дафний, что позволяет в дальнейшем использовать их для первичного отбора противосудорожных веществ в экспериментальных моделях на *Daphnia magna* Straus.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Подосиновикова Н.П., Александрова М.Л., Бондаренко А.А., Горчакова Т.Л., Беспалов А.Я., Ватаева А.А., Мастерова К.В., Журкович И.К. Скрининг холинэргических фармакологических веществ на биологических тест-объектах — зоогидробионтах *Daphnia magna* Straus. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(5):3–9. [Podosinovicova N.P., Aleksandrova M.L., Bondarenko A.A., Gorchakova T.L., Bepalov A.Ja., Vataeva A.A., Masterova K.V., Zhurkovich I.K. Screening kholinergicheskikh farmakologicheskikh veshchestv na biologicheskikh test-ob"ektakh — zoogidrobiontakh *Daphnia magna* Straus [Screening of cholinergic drugs using *Daphnia magna* Straus hydrobionts as biological test objects]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2022;85(5):3–9. (In Russian)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-5-3-9
2. Подосиновикова Н.П., Космачев А.Б., Тонко-пий В.Д., Загребин А.О., Евдокимова Е.А., Малов А.М., Петров В.В., Долго-Сабуров В.Б. *Daphnia magna* Straus как объект при исследовании препаратов холинэргического типа действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;65(1):73–74. [Podosinovicova N.P., Aleksandrova M.L., Bondarenko A.A., Gorchakova T.L., Bepalov A.Ja., Vataeva A.A., Masterova K.V., Zhurkovich I.K. *Daphnia magna* Straus kak ob"ekt pri issledovanii preparatov kholinergicheskogo tipa deystviya [*Daphnia magna* Straus as an object for the study of preparations possessing cholinergic activity]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2002;65(1):73–74. (In Russian)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2002-65-1-73-74
3. ФР.1.39.2007.003222. *Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний*. М.: АКВАРОС, 2007. [FR.1.39.2007.003222. *Metodika opredeleniya toksichnosti vody i vodnykh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti dafniy* [Methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, waste by mortality and changes in the fertility of *Daphnia*]. Moscow: AKVAROS Publ., 2007. (In Russian)].
4. Ren Z., Zhang X., Wang X., Qi P., Zhang B., Zeng Y., Fu R., Miao M. AChE inhibition: One dominant factor for swimming behavior changes of *Daphnia magna* under DDVP exposure. *Chemosphere*. 2015;120:252–257. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.06.081
5. Tkaczyk A., Bownik A., Dudka J., Kowal K., Ślaska B. *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Science of the Total Environment*. 2021;763:143038. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143038

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Бондаренко Анастасия Александровна, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России», ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;
e-mail: bondarenko-nastua@yandex.ru

Anastasiya A. Bondarenko, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Institute of Experimental Medicine;
e-mail: bondarenko-nastua@yandex.ru