УДК 577.3

DOI: 10.21779/2542-0321-2018-33-2-81-94

Д.М. Алибекова, М.Б. Саидов, М.Р. Абдулханов

Современные представления о структуре и функциях ацетилхолинэстеразы

Дагестанский государственный университет; Россия, 367001, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43а; smagras@mail.ru

Холинэстеразы (ХЭ) – семейство ферментов из класса гидролаз, природными субстратами которых являются сложные эфиры холина с уксусной, пропионовой или масляной кислотами. В тканях человека различают два типа ХЭ: ацетилхолинэстераза (АХЭ) и бутирилхолинэстераза (БуХЭ). В последние годы наблюдается повышенный интерес к исследованию ХЭ у специалистов разных отраслей науки. Это связано с тем, что трехмерная структура АХЭ имеет множество специфических средств. Одной из важных функциональных особенностей устройства АХЭ является расположение ее активного центра. Интересен и тот факт, что АХЭ и БуХЭ присутствуют как в холинэргических, так и нехолинэргических нейронах, где не обнаружены другие маркеры холинэргической нейротрансмиссии (ацетилхолинэстераза, система захвата холина и др.) и фермент может выполнять функции, не связанные с его каталитической активностью. Известно, что классической функцией АХЭ является обеспечение передачи нервного импульса путем гидролиза ацетилхолина (АХ) на постсинаптической мембране холинэргических тканей, а БуХЭ выполняет роль молекулярного экрана, защищающего АХЭ от действия собственных ингибиторов. Эта функция АХЭ хорошо изучена, но ее различная локализация в нехолинэргических и ненейронных клетках и тканях, а также разнообразие ее молекулярных форм свидетельствуют о наличии дополнительных, «неклассических» функций у этого фермента.

Ключевые слова: *ацетилхолинэстераза, молекулярная структура, активный центр, адгезия, пролиферация клеток, апоптоз.*

Введение

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) является высококонсервативным белком, хорошо изученным по его существенной ферментативной роли в деградации нейромедиатора ацетилхолина в нервных синапсах [1, 2]. Альтернативу этому ферменту составляет псевдохоллинэстераза, которая гидролизует ацетилхолин в плазме крови и внутренних органах [3, 4]. На сегодняшний день различные холинэстеразы, а также ацетилхолин и рецепторы к нему, обнаружены практически во всех типах клеток и показана ключевая роль холинэргической системы в регуляции основных функций клеток. В головном мозге АХ действует одновременно и как нейромедиатор, и как сигнальная молекула.

Доказано, что АХЭ имеет значительное сходство с неферментативными белками, многие из которых участвуют в клеточной адгезии и сигнализации. К ним относятся нейротактин, глутактин, глиотактин, нейролиггин и тиреоглобулин. Также имеются сведения об АХЭ-подобных белках в водорослях [5] и у одноклеточных организмов (на примере инфузории туфельки) (*Paramecium*) [6], где они способствуют агрегации [7].

АХЭ найдена в сыворотке и плазме крови, в белом веществе головного мозга, клетках спинного мозга, в сердце, полосатых мышцах, поджелудочной железе, кишеч-

нике, плаценте. Кроме того, эритроциты экспрессируют на внешней поверхности мембраны димерной АХЭ [8].

Активность АХЭ довольно высока в таких областях мозга, как черная субстанция, мозжечок, бледный шар, гипоталамус, а также во многих невозбудимых тканях, лишенных холинергической иннервации. К ним относятся семенники [9], эндотелиальные клетки [10], гемопоэтические [11] и остеогенные клетки [12], различные опухоли [13].

Ряд морфологических и иммунохимических исследований привел к описанию шести холинергических ядер в структурах головного мозга Ch1–Ch6 [14–17] (рис. 1). Диффузная иннервация этими различными холинергическими волокнами затрагивает многие физиологические функции, включая познание, дыхание, локомоцию и другие. Более того, некоторые области мозга (особенно полосатые) содержат множественные сети холинергических интернейронов [18, 19]. Поскольку АХЭ в ЦНС может влиять на чрезвычайно широкий спектр функций, она может стать терапевтической мишенью в лечении различных нейродегенеративных заболеваний, в частности, болезни Альцгеймера (разрушительное нейродегенеративное заболевание, общемировая заболеваемость примерно 35 миллионов человек) [20]. Болезнь Альцгеймера приводит к большой потере холинергических ядер, особенно ядра базалиса – Ch4 и к существенному снижению холинергических маркеров [21–25]. Все это привело к созданию холинергической гипотезы деменции [26, 27]. Эта гипотеза позволила исследовать потенциальные терапевтические преимущества ингибиторов ХЭ [28, 29]. С этого времени многие природные и синтетические ингибиторы ХЭ, которые способны избирательно связываться с ферментом, были использованы для лечения деменции альцгеймеровского типа (рис. 1).

Рис 1. Холинергические ядра и их локализация в мозге крысы (Carey N. Pope, Stephen Brimijoin, 2018)

Ch1 – медиальное септальное ядро (msn); Ch2 – ядро вертикальной конечности диагональной полосы (nvl); Ch3 – боковая часть ядра горизонтальной конечности диагональной полосы (nhl); Ch4 – ядро базалиса (nb), дорзальный паллидум (gp); Ch5 – ядро педанкулопонта (ppn); Ch6 – латеро-дорзальное тегментарное ядро (ltm).

Другие структуры: nc – неокортекс; ob – обонятельная луковица; th – таламус; h – гиппокамп; cbl – мозжечок.

Молекулярная структура и активный центр АХЭ

Успехом в установлении структуры АХЭ стал рентгеноструктурный анализ фермента из электрического органа ската *Torpedo californica* [30]. На данный момент наряду с АХЭ *Torpedo californica* хорошо изученными являются АХЭ человека [31], мышцы [32] и электрического угря [33]. АХЭ человека имеет консервативную часть, состоящую из 534 аминокислотных остатков, и вариабельную часть, расположенную ближе к С-концу, длиной 14, 26 и 40 аминокислотных остатков [34]. Альтернативные промоторные участки позволяют все эти варианты удлинить на 60–66 аминокислотных остатков с N-конца [68].

АХЭ *Torpedo californica* – это гомодимер, мономер которого представлен α/β -белком, состоящим из 537 аминокислот. Мономеры имеют молекулярную массу 60 000 и часто образуют агрегаты, которые обладают каталитической активностью [35]. Молекула фермента имеет эллипсоидную форму размером $\sim 45\text{\AA} \times 60\text{\AA} \times 65\text{\AA}$ и состоит из 12 перекрывающихся β -складчатых структур, окруженных 14 α -спиралями [35]. Из 14 α -спиралей 2 наиболее длинные, названные αF и αH , наклонены близко к своим внутриспиральным дисульфидным мостикам. При этом α -спирали занимают 30 % общей массы, а β – 15 % [36]. У млекопитающих АХЭ кодируется одним геном, однако из-за альтернативного сплайсинга на С-конце мРНК АХЭ, она имеет три различных изоформы [37]. АХЭ_T (синаптическая изоформа), АХЭ_H (эритроцитная изоформа) и АХЭ_R (readthrough) [38].

Одной из важных функциональных особенностей устройства АХЭ является расположение ее активного центра (АЦ). Как выяснено в результате кристаллографического изучения молекулы АХЭ, АЦ расположен в глубоком довольно узком каталитическом «ущелье». Глубина «ущелья» составляет 20 $\text{\AA}$, ширина его наиболее узкого участка – 4,4 $\text{\AA}$, а ширина входа – 0,8 $\text{\AA}$ [39]. Условно «ущелье» можно поделить на верхнюю и нижнюю части с помощью суженной части, образованной тирозином 121 и фенилаланином 330 [33]. Методом моделирования молекулярной динамики было показано, что «ущелье» – это мобильная структура, для которой характерны флуктуации, напоминающие «легочное дыхание», при которых каждые несколько пикосекунд «ущелье» открывается, что способствует прохождению субстрата [40]. Но в начале своего пути к активному центру субстрат сталкивается с серьезным препятствием – «узким горлом» («bottleneck») «ущелья». В соответствии с радиусом узкого горла различают два состояния фермента:

- 1) открытое, когда активный центр связан с основной массой фермента и имеет максимальный радиус «узкого горла» 2,4 $\text{\AA}$;
- 2) закрытое, когда активный центр отделен от фермента и имеет минимальный радиус «узкого горла» 0,8 $\text{\AA}$.

В АЦ АХЭ различают следующие функционально значимые участки (рис. 2):

- «карман», служащий для связывания ацильного остатка молекулы субстрата за счет гидрофобного взаимодействия с валином;
- эстеразный центр, включающий «каталитическую триаду»: серин, гистидин, глутамин;
- анионный центр, в состав которого входит остаток триптофана. Он связывает часть субстрата, содержащую четвертичный азот (рис. 2).

Рис 2. Схематическое изображение активного центра АХЭ (Старостина, Дегтярева, 2008)

Особенностью АХЭ является наличие еще одного анионного сайта, ответственного за ориентацию субстрата в направлении активного центра и, вероятно, за ингибирование ХЭ высокими концентрациями субстрата. Этот сайт находится у входа в «ущелье» и назван периферическим анионным сайтом (ПАС) [41]. ПАС состоит из 5 остатков (Тур 70 (72), Asp 72 (74), Тур 121 (124), Тур 279 (286) и Тур 334 (341), сгруппированных вокруг входа в ущелье АЦ [42–44]. Ряд поверхностных петель связан с ПАС и включает в себя несколько его остатков, например, большая омега-петля Cys 69 – Cys 96 включает Тур 70 (72) и Asp 72 (74). Последний участок этой петли образует часть внешней стенки ущелья и включает в себя Тур 84 (86), основной компонент анионного сайта [30]. Было предположено, что поверхностная петля 275–305 периферического участка лежит на противоположной стороне «ущелья» и включает в себя Тур 279 (286), способствуя повышению концентрации АХ перед АЦ, а также облегчению прохождения молекул субстрата через узкий проход по направлению ко дну АЦ [45–48]. Это обусловлено тем, что у этого сайта сродство к субстрату (и к четвертичным ингибиторам) немного выше, чем у глубоколежащего АЦ [41].

Имеются доказательства включения периферического участка в функционирование, отличное от катализа. Обнаружено, что периферическое место АХЭ принимает участие в процессах регенерации и роста нейритов, а также роста и дифференцировки моторных нейронов [49].

Неклассические роли АХЭ

В настоящее время известны нейрональная и ненейрональная холинергические системы, где АХ выступает в роли нейротрансмиттера, либо регулирует ауто- и паракринно адгезивные свойства клеток, деление и апоптоз, а также другие клеточные функции [3, 4, 37, 50].

Классическая роль АХЭ заключается в прекращении холинергической нейротрансмиссии путем гидролиза АХ. Однако биологическая роль АХЭ не ограничивается холинергической передачей: доказательства, подтверждающие существование неклассических функций АХЭ. Первым доказательством наличия дополнительных функций является высокий уровень АХЭ, обнаруженный в ненейрональных клетках и тканях,

например, в эритроцитах и мегакариocyтах [51–54], в клетках хрящевой ткани, ооцитах и сперматозоидах, в которых потенциальную роль АХЭ трудно себе представить [12].

Кроме того, есть основания предполагать, что АХЭ способствует реализации различных физиологических процессов за счет участия в регуляции клеточной пролиферации и дифференцировки [37]. Кроме вышеперечисленного АХЭ была рассмотрена в качестве регулятора апоптоза [55]. Многие исследования показали, что уровень экспрессии АХЭ возрастает в процессе апоптоза в различных типах клеток [56].

АХЭ по своей структуре и первичному строению также имеет высокую степень гомологии с группой нейрональных белков адгезии, которые соответственно называли CLAM (холинэстеразаподобные молекулы адгезии) [57], что позволяет предположить роль АХЭ в качестве белка адгезии. Было обнаружено взаимодействие АХЭ с базальным мембранным белком ламинином [58]. Это представляет особый интерес, поскольку было показано, что мутации в генах белков адгезии связаны с аутизмом, синдромом Аспергера и умственной отсталостью [59, 60]. Также есть предположение, что АХЭ может выступать в качестве белка костной матрицы [61].

Ацетилхолинэстераза и адгезия

Существует объективное доказательство того, что АХЭ играет «неклассическую» роль в качестве белка адгезии. Основанием для этого является обнаружение нового класса белков – холинэстеразаподобных молекул адгезии [62, 63]. Это семейство белков включает нейротактины, глиотактины, глутактины, тиреоглобулины и нейролигины млекопитающих. Эти белки каталитически неактивны, но их холинэстеразаподобный домен имеет большое сходство с ацетилхолинэстеразной последовательностью. Во всех членах семьи эти домены находятся во внеклеточном пространстве и могут способствовать образованию клеточных контактов путем связывания с другими внеклеточными лигандами. Существование этих белков позволяет предположить, что АХЭ сама может участвовать в белок-белковых взаимодействиях.

Оказалось, что все эти холинэстеразаподобные молекулы обладают сходными электростатическими характеристиками [62], причем один из участков, ответственных за адгезию, гомологичен периферическому анионному центру АХЭ. Биологическое значение электростатического потенциала на поверхности АХЭ оспаривается [43]. Все эти факты свидетельствуют о возможной реализации еще одной некаталитической функции АХЭ в качестве белка адгезии, а также привлекают внимание к периферическому анионному центру как важному участнику процессов межклеточной коммуникации.

Ацетилхолинэстераза и рост нейритов

Оказалось, что клеточная адгезия является основным механизмом для направленного роста нейритов [64]. Было обнаружено, что экспрессия АХЭ является очень ранней стадией в постмитотических нейронах [65], участвующих в возникновении нервных процессов в тканях мозга [66, 67], и холинергических нейронах в таламусе крыс [68].

Рис 3. Влияние ацетилхолинэстеразы на рост нейритов. Схематический рисунок показывает, как АХЭ соединяет два независимых механизма регулирования роста нейритов и аксонов (Laura E. Paraoanu and Paul G. Layer, 2008)

В культурах нервных клеток цыпят АХЭ способствовала росту нейритов. Этот эффект не зависел от ферментативной активности, поскольку ингибиторам активного сайта АХЭ не удалось его снизить [69]. Более того, сверхэкспрессия АХЭ показала нейритогенную активность белка в клетках нейробластомы [64], клетках феохромоцитомы (PC12) [70] и первичных нейронах ганглиозного нерва [71]. Предполагают, что роль АХЭ в развитии нейритов может быть связана с взаимодействием со структурными белками, такими, как ламинин-1. Если это предположение действительно, то оно объясняет, как такой белок, как АХЭ, может регулировать рост нейритов неферментативным способом. Но в то же время, оставаясь активным ферментом, АХЭ может одновременно поддерживать два независимых молекулярных механизма, поскольку АХ может высвобождаться из растущих нейритов [72], АХЭ, локализованная в отдаленной клетке-мишени, может путем связывания АХ сначала действовать как молекул-аттрактант нейрита, а затем во время контакта ее с клеткой-мишенью, функционировать в качестве адгезивной молекулы (рис. 3).

Ацетилхолинэстераза и пролиферация клеток

АХЭ участвует в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза посредством гидролиза АХ. Эффекты АХЭ на пролиферацию клеток являются результатом каталитического и некаталитического действия. Модельной системой, в которой АХЭ играет антипролиферативную роль, благодаря её АХ-гидролизующей активности, является гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК). Избыточная экспрессия АХЭ ингибирует проли-

ферацию гепатоцеллюлярных раковых клеток *in vitro* и уменьшает размер опухолей, тогда как ингибирование АХЭ имеет противоположный эффект. Аналогично добавление экзогенной АХЭ уменьшало рост клеток, а ингибирование АХЭ неостигмином улучшало рост клеток. Было доказано, что клетки ГЦК синтезируют и высвобождают АХ, уровень которой повышается неостигмином. Добавление АХ усиливало их пролиферацию, тогда как ингибиторы синтеза или транспорта АХ и антагонистов mAHP и nAHP (мускариновые и никотиновые ацетилхолиновые рецепторы) уменьшают рост клеток, предотвращая действие эндогенного АХ. Поэтому АХЭ действует как супрессор роста опухоли в ГЦК, используя свою ферментативную активность [73].

Другие данные указывают на некаталитическую функцию АХЭ в процессе пролиферации. Добавление С-концевого пептида из АХЭ_R (readthrough) варианта АХЭ усиливает пролиферацию CD34⁺ гематопозитических клеток-предшественников. Этот эффект не воспроизводится С-терминалом пептида синаптического варианта [11].

Ацетилхолинэстераза и апоптоз

АХЭ участвует в регуляции роста клеток посредством действий на процессы пролиферации и апоптоза. Увеличение количества АХЭ, индуцированной апоптозом, показано в клетках головного мозга, почек, в лимфоцитах, эндотелиальных клетках, миоблестах, остеоблестах, хондроцитах, панкреатических β -клетках и других клетках, в которых в качестве апоптотических стимулов выступали голодание, старение, ишемия, химиотерапевтические препараты, увеличение или рост цитозольного кальция [74–76]. Таким образом, АХЭ может использоваться как апоптотический маркер.

Появление ядерного АХЭ в клетках, подвергающихся апоптозу, было показано методом иммунофлуоресценции [74, 77–79] и Вестерн-блоттинга [74, 77], а также цитохимическими методами. В апоптотических ядерных клетках наблюдается фрагмент АХЭ, который является следствием расщепления полноразмерного 68 кДа АХЭ [74].

Предполагают, что АХЭ выполняет роль в интенсификации процесса апоптоза. Многие работы показали, что апоптотические стимулы становятся менее эффективными, если количество или активность АХЭ снижается [74, 80]. Возможно, что АХЭ не инициирует апоптоз, а только облегчает действие апоптотических стимулов [76]. По факту холинергические нейроны, мышцы и клетки крови могут иметь высокое содержание АХЭ и не влиять на апоптоз, а чрезмерная экспрессия фермента сама по себе не обязательно вызывает апоптоз [80].

Как АХЭ может участвовать в регуляции апоптоза? Учитывая вышеупомянутую роль АХ и АХР на пролиферацию и апоптоз, АХЭ может регулировать апоптоз посредством гидролиза АХ и уменьшения активации АХР. Гиперэкспрессия каталитически неактивных АХЭ [79] или С-концевых пептидов АХЭ [81] может производить апоптоз. Следовательно, гидролиз АХ не является необходимым для стимулирующей апоптоз роли АХЭ, хотя он может, как предложил и Парк С.Е. и др., играть ключевую роль в формировании апоптозома [82].

Имеются данные, свидетельствующие о том, что АХЭ проявляет дезоксирибонуклеазную активность. Полипептиды АХЭ способны расщеплять хромосомную ДНК, но данная активность АХЭ очень низкая и не сопоставима с основной ДНКазой, которая действует на ранних стадиях апоптоза до разрушения ДНК. Это подтверждает роль АХЭ в апоптозе через ее дезоксирибонуклеазную активность [77].

Влияние АХЭ на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов

Кроме нервной и мышечной тканей, АХЭ также обнаружена на эритроцитах, они экспрессируют фермент на внешней поверхности мембраны. Особое внимание привлекает вопрос о функциональной значимости АХЭ мембран эритроцитов. В эритроцитах крыс АХЭ представлена димерами, «заякоренными» во внешней листке мембраны фосфатидилинозитолом, в количестве 700–800 молекул на клетку [83, 84]. Эта форма весьма схожа по кинетическим характеристикам с АХЭ из мозга млекопитающих. В связи с этим на активность АХЭ оказывает существенное влияние липидное микроокружение [85]. При этом имеется ряд исследований зависимости активности синаптической АХЭ от липидного микроокружения. Так, Цакирис [86] обнаружил, что добавление фосфатидилсериновых липосом к синаптическим мембранам из мозга собаки способствует 40 % увеличению скорости гидролиза АХ.

Имеются многочисленные данные, свидетельствующие о том, что АХ в зависимости от концентрации может способствовать мобилизации оксида азота (NO) в эритроците, образованию в эритроците метаболитов NO, связанных с гемоглобином, и принимать участие в переносе кислорода эритроцитом [87, 88]. При этом АХЭ может играть важную роль в сигналтрансдуцирующих механизмах ответа на АХ. Предполагают, что АХЭ эритроцитов необходима для регуляции уровня, циркулирующего в крови АХ, хотя это маловероятно, поскольку тканевые АХЭ и циркулирующие в плазме крови ХЭ более чем достаточны для деградации свободного АХ.

В последнее время появляются новые данные о роли АХЭ в эритроцитах. Обнаружено, что АХЭ может связываться с субъединицами $G_{\alpha 1/2}$ и $G\beta\gamma$ -белка эритроцитов и тем самым влиять на степень фосфорилирования С-конца белка полосы 3, что может привести к модуляции процессов оксигенации эритроцита и метаболизма в нем оксида азота [89]. Белок полосы 3 (бикарбонат/хлорид-обменник) – один из наиболее распространенных мембранных белков эритроцитов, который наряду с его транспортной функцией выполняет важную роль в поддержании структурной целостности эритроцитов и является мембранным «якорем», связывающим цитоскелет с липидным бислоем мембраны. Кроме того, фосфорилирование белка полосы 3 может оказать эффект на степень деформируемости эритроцитов. Известно, что белок полосы 3 связан с гликолитическими ферментами, образующими единый надмолекулярный комплекс – метаболон [89].

Образование тионитрозилированного гемоглобина в эритроците при взаимодействии с NO с остатками цистеина, гемоглобина и его мобилизация определяются степенью фосфорилирования белка полосы 3 эритроцитарной мембраны. Показано, что комплекс АХЭ–АХ опосредованно через G-белок и протеинкиназу влияет на степень фосфорилирования белка полосы 3, который непосредственно участвует в метаболизме NO в эритроците [87].

Заключение

Имеющиеся доказательства подтверждают, что основная биологическая роль АХЭ заключается в прекращении передачи нервного импульса в холинэргических синапсах, где сигналы передаются с помощью нейротрансмиттера – АХ. Поэтому АХЭ сосредоточена, главным образом, в области синаптических контактов. Однако АХЭ участвует также в регуляции концентрации АХ в межклеточной жидкости. В соответствии с этим АХЭ обладает такими качествами, как узкая специфичность и чрезвычай-

но высокая удельная активность, что позволяет ферменту работать со скоростью, близкой к скорости диффузии, помимо этого АХЭ играет нехолинэргическую роль в процессах стресс-реакции, клеточной пролиферации и адгезии, а также в механизмах апоптоза, являясь наглядным примером многофункционального белка. Также была доказана некаталитическая роль АХЭ в нейроразвитии, возможно, благодаря её «морфогенной» роли в системах позвоночных.

Литература

1. *Silman I., Sussman J.L.* Acetylcholinesterase: 'classical' and non classical functions and pharmacology // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2005. – Vol 5. – P. 293–302.
2. *Soreq H., Seidman S.* Acetylcholinesterase – new roles for an old actor. *Nature // Rev. Neurosci.* – 2001. – Vol. 2. – P. 294–302.
3. *Campoy F.J.* Cholinergic system and cell proliferation // *Chem. Biol. Interact.* – 2016. – Vol. 259. – P. 257–265.
4. *Wessler I., Kirkpatrick C.J.* Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans // *Brit. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 154. – P. 1558–1571.
5. *Raineri M., Modenisi P.* Preliminary evidence for a cholinergic-like system in lichen morphogenesis. – 1986. – Vol. 18. – P. 647–657.
6. *Delmonte C.* Evidence for the presence of a mammalian-like cholinesterase in *Paramecium primaurelia* (Protista, Ciliophora) developmental cycle // *J. Exp. Zool.* – 1999. – Vol. 283. – P. 102–105.
7. *Rubino S.* Molecular analysis of a developmentally regulated gene required for *Dicystostelium* aggregation // *Dev. Biol.* – 1989. – Vol. 131. – P. 27–36.
8. *Saldanha C.* Non-neuronal cholinergic mechanisms in red blood cell // *Actas Bioq.* – 2008. – Vol. 9. – P. 49–58.
9. *Mor I.* Modified testicular expression of stress-associated “readthrough” acetylcholinesterase predicts male infertility // *FASEB J.* – 2001. – Vol. 15. – P. 2039–2041.
10. *Deutsch V.R.* The stress-associated acetylcholinesterase variant AChE-R is expressed in human CD34 (+) hematopoietic progenitors and its C-terminal peptide ARP promotes their proliferation // *Exp. Hematol.* – 2002. – Vol. 30. – P. 1153–1161.
11. *Grisaru D.* A peptide derived from the stress-associated acetylcholinesterase variant, has hematopoietic growth promoting activities // *Mol. Med.* – 2001. – Vol. 7. – P. 93–105.
12. *Grisaru D.* Structural roles of acetylcholinesterase variants in biology and pathology // *Eur. Biochem.* – 1999. – Vol. 264. – P. 672–686.
13. *Perry C.* Complex regulation of acetylcholinesterase gene expression in human brain tumors // *Oncogene.* – 2002. – Vol. 21. – P. 8428–8441.
14. *Butcher L.L., Woolf N.J.* Central cholinergic systems: synopsis of anatomy and overview of physiology and pathology // *The Biological Substrates of Alzheimer's Disease* (AB Scheibel, AF Wechsler, eds). – New York: Academic Press, 1986. – P. 73–86.
15. *Mesulam M.M.* Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6) // *Neuroscience.* – 1983. – Vol. 10. – P. 1185–1201.
16. *Lucas-Meunier E.* Cholinergic modulation of the cortical neuronal network // *Pflügers Arch.* – 2003. – Vol. 446. – P. 17–29.
17. *Woolf N.J.* Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord // *Prog. Neurobiol.* – 1991. – Vol. 37. – P. 475–524.

18. *Gonzales K.K., Smith Y.* Cholinergic interneurons in the dorsal and ventral striatum: anatomical and functional considerations in normal and diseased conditions // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2015. – Vol. 1349. – P. 1–45.
19. *Zhou F.M., Wilson C.J., Dani J.A.* Cholinergic interneuron characteristics and nicotinic properties in the striatum // *J. Neurobiol.* – 2002. – Vol. 53. – P. 590–605.
20. World Health Organization. The epidemiology and impact of dementia: current state and future trends, 2015. – URL: http://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/dementiathematicbriefepidemiology.pdf.
21. *Bowen D.M.* Accelerated ageing or selective neuronal loss as an important cause of dementia? // *Lancet.* – 1979. – Vol. 313. – P. 11–14.
22. *Divac I.* Magnocellular nuclei of the basal forebrain project to neocortex, brain stem, and olfactory bulb. Review of some functional correlates // *Brain Res.* – 1975. – Vol. 93. – P. 385–398.
23. *Drachman D.A.* Memory dementia and cholinergic system // *Neurology.* – 1978. – P. 141–171.
24. *Kievit J., Kuypers H.G.* Subcortical afferents to the frontal lobe in the rhesus monkey studied by means of retrograde horseradish peroxidase transport // *Brain Res.* – 1975. – Vol. 85. – P. 261–266.
25. *Perry E.K.* Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia // *Brit. Med. J.* – № 2. – 1978. – P. 1457–1459.
26. *Bartus R.T.* The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction // *Science.* – 1982. – Vol. 217. – P. 408–414.
27. *Contestabile A.* The history of the cholinergic hypothesis // *Behav. Brain Res.* – 2011. – Vol. 221. – P. 334–340.
28. *Comfort A.* Cholinesterase inhibition in treatment of Alzheimer's dementia // *Lancet.* – 1978. – Vol. 311. – P. 659–660.
29. *Giacobini E.* Modulation of brain acetylcholine levels with cholinesterase inhibitors as a treatment of Alzheimer disease // *Keio. J. Med.* – 1987. – Vol. 36. – P. 381–391.
30. *Sussman J.L., Harel M., Frolow F.* Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototype acetylcholine-binding protein // *Science.* – 1991. – Vol. 253. – P. 872–879.
31. *Kryger G.* Structure of acetylcholinesterase complexed with E202Q. Implication for the design of new anti-Alzheimer drugs // *Structure.* – 1999. – Vol. 7. – P. 297–307.
32. *Bourne Y., Taylor P., Marchot P.* AChE inhibition by fasciculin. Crystal structure of the complex // *Cell.* – 1995. – Vol. 83. – P. 503–512.
33. *Bourne Y.* Crystal structure of mouse acetylcholinesterase. A peripheral site occluding loop in a tetrameric assembly // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P. 2963–2970.
34. *Meshorer E., Soreq H.* Virtues and woes of AChE alternative splicing in stress-related neuropathologies // *Trends Neurosci.* – 2006. – Vol. 29. – P. 216–224.
35. *Glaves R. A.* molecular dynamics study of proton transfer in acetylcholinesterase // Bachelor Thesis. – 2004. – № 110. – P. 38.
36. *Ollis D.L., Cheah E., Cygler M. et al.* The α/β hydrolase fold // *Protein Eng.* – 1992. – Vol. 5. – P. 197–211.
37. *Jiang H., Zhang X.J.* Acetylcholinesterase and apoptosis. A novel perspective for an old enzyme // *FEBS.* – 2008. – Vol. 275, № 4. – P. 612–617.

38. Ye W. AChE deficiency or inhibition decreases apoptosis and p53 expression and protects renal function after ischemia/reperfusion // Springer Science+Business Media. – 2010. – Vol. 15. – P. 474–487.
39. Massoulie J., Pezzementi L., Bon S. et al. Molecular and cellular biology of cholinesterases // Prog. neurobiol. – 1993. – V. 41. – P. 31–91.
40. Taylor P. Acetylcholinesterase. In pharmacological basis of therapeutics // McCraw. – New York. – 1996. – № 214. – P. 161–176.
41. Simon S. The binding sites of inhibitory monoclonal antibodies on acetylcholinesterase: identification of a novel regulatory site at the putative “back door” // Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274, № 39. – P. 27740–27746.
42. Ordentlich A. Dissection of the human acetylcholinesterase active center determinants of substrate specificity. Identification of residues constituting the active site, the hydrophobic site and the acyl pocket // Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268. – P. 17083–17095.
43. Shafferman A. Electrostatic attraction by surface charge does not contribute to the catalytic efficiency of acetylcholinesterase // EMBO. – 1994. – Vol. 13. – P. 3448–3455.
44. Weise C. Anionic subsites of the acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: affinity labelling with the cationic reagent N, N-dimethyl-2-phenylaziridinium // EMBO. – 1990. – Vol. 9. – P. 3885–3888.
45. Bui J.M., Tai K., McCammon J.A. Acetylcholinesterase: enhanced fluctuations and alternative routes to the active site in the complex with fasciculin-2 // Am. Chem. Soc. – 2004. – Vol. 126. – P. 7198–7205.
46. Faerman C. Site-directed mutants designed to test back-door hypotheses of acetylcholinesterase function // FEBS Lett. – 1996. – Vol. 386. – P. 65–71.
47. Shi J. Nanosecond dynamics of the mouse acetylcholinesterase cys69-cys 96 omega loop // Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278. – P. 30905–30911.
48. Velan B. Structural modifications of the omega loop in human acetylcholinesterase // FEBS Lett. – 1996. – Vol. 395. – P. 22–28.
49. Bui J.M., Henchman R.H., McCammon J.A. The Dynamics of Ligand Barrier Crossing inside the Acetylcholinesterase // Biophys. – 2003. – Vol. 85. – P. 2267–2272.
50. Paraoanu L.E., Layer P.G. Acetylcholinesterase in cell adhesion, neurite growth and network formation // FEBS. – 2008. – Vol. 275, № 4. – P. 618–624.
51. Lapidot-Lifson Y. Cloning and antisense oligodeoxynucleotide inhibition of a human homolog of *ofdc2* required in hematopoiesis // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1992. – Vol. 89. – P. 579–583.
52. Lev-Lehman E. Immature human megakaryocytes produce nuclear-associated acetylcholinesterase // Blood. – 1997. – Vol. 89. – P. 3644–3653.
53. Paulus J.M., Maigne J., Keyhani E. Mouse megakaryocytes secrete acetylcholinesterase // Blood. – 1981. – Vol 58. – P. 1100–1106.
54. Soreq H. Antisense oligonucleotide inhibition of acetylcholinesterase gene expression induces progenitor cell expansion and suppresses hematopoietic apoptosis ex vivo // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1994. – Vol. 91. – P. 7907–7911.
55. Gao W. Calcium signaling-induced Smad3 nuclear accumulation induces acetylcholinesterase transcription in apoptotic HeLa cells // Cell. Mol. Life Sci. – 2009. – Vol. 66. – P. 2181–2193.
56. Xi H.-J. Role of acetylcholinesterase in lung cancer // Thoracic Cancer – 2015. – Vol. 6. – P. 390–398.

57. Zeev-Ben-Mordehai T. The intracellular domain of the Drosophilacholinesterase-like neural adhesion protein, gliotactin, is natively unfolded // *Proteins*. – 2003. – Vol. 53. – P. 758–767.
58. Paraoanu L.E., Layer P.G. Mouse acetylcholinesterase interacts in yeast with the extracellular matrix component laminin-1beta. Suggests a possible partner for AChE in the synaptic basement membrane // *FEBS Lett.* – 2004. – Vol. 576. – P. 161–164.
59. Jamain S. Paris Autism Research International Sibpair Study: Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. Implicates mutated forms of the AChE-like domains of neuroligins in autism // *Nat. Genet.* – 2003. – Vol. 34. – P. 27–29.
60. Laumonnier F. X-linked mental retardation and autism are associated with a mutation in the NLGN4 gene, a member of the neuroligin family. Implicates mutated forms of the AChE-like domains of neuroligins in both autism and mental retardation // *Am. J. Hum. Genet.* – 2004. – Vol. 74. – P. 552–557.
61. Genever P.G. Osteoblast-derived acetylcholinesterase: a novel mediator of cell-matrix interactions in bone? // *Bone*. – 1999. – Vol. 24. – P. 297–303.
62. Botti S.A. Electrotactins: a class of adhesion proteins with conserved electrostatic and structural motifs // *Protein Eng.* – 1998. – Vol. 11. – P. 415–420.
63. Scholl F.G., Scheiffele P. Making connections: cholinesterase-domain proteins in the CNS // *Trends Neurosci.* – 2003. – Vol. 26. – P. 618–624.
64. Koenigsberger C., Chiappa S., Brimijoin S. Neurite differentiation is modulated in neuroblastoma cells engineered for altered acetylcholinesterase expression // *Neurochem.* – 1997. – Vol. 69. – P. 1389–1397.
65. Layer P.G., Sporns O. Spatiotemporal relationship of embryonic cholinesterases with cell proliferation in chick retina and eye // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1987. – Vol. 84. – P. 284–288.
66. Layer P.G., Alber R., Rathjen F.G. Sequential activation of butyrylcholinesterase in rostral half somites and acetylcholinesterase in motoneurons and myotomes preceding growth of motor axons // *Development*. – 1988. – Vol. 102. – P. 387–396.
67. Weikert T., Rathjen F.G., Layer P.G. Developmental maps of acetylcholinesterase and G4-antigen of the early chicken brain: long-distance tracts originate from AChE-producing cell bodies // *Neurobiol.* – 1990. – Vol. 21. – P. 482–498.
68. Kristt D.A. Acetylcholinesterase in immature thalamic neurons: relation to afferentation, development, regulation and cellular distribution // *Neuroscience*. – 1989. – Vol. 29. – P. 27–43.
69. Layer P.G., Weikert T., Alber R. Cholinesterases regulate neurite growth of chick nerve cells in vitro by means of a non-enzymatic mechanism // *Cell Tissue Res.* – 1993. – Vol. 273. – P. 219–226.
70. Grifman M. Functional redundancy of acetylcholinesterase and neuroligin in mammalian neuritogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1998. – Vol. 95. – P. 13935–13940.
71. Bigbee J.W. Evidence for the direct role of acetylcholinesterase in neurite outgrowth in primary dorsal root ganglion neurons // *Brain Res.* – 2000. – Vol. 861. – P. 354–362.
72. Lipton S.A., Kater S.B. Neurotransmitter regulation of neuronal outgrowth, plasticity and survival // *Trends Neurosci.* – 1989. – Vol. 12. – P. 265–270.

73. Zhao Y. Acetylcholinesterase, a key prognostic predictor for hepatocellular carcinoma, suppresses cell growth and induces chemosensitization // *Hepatology*. – 2011. – Vol. 53. – P. 493–503.
74. Xie J. Induction of a 55 kDa acetylcholinesterase protein during apoptosis and its negative regulation by the Akt pathway // *Mol. Cell Biol.* – 2011. – Vol. 3. – P. 250–259.
75. Zhang X.J. Induction of acetylcholinesterase expression during apoptosis in various cell types // *Cell Death Differ.* – 2002. – Vol. 9. – P. 790–800.
76. Zhang X.J., Greenberg D.S. Acetylcholinesterase involvement in apoptosis // *Front. Mol. Neurosci.* – 2012. – Vol. 5. – P. 1–4.
77. Du A., Xie J. A novel role for synaptic acetylcholinesterase as an apoptotic deoxyribonuclease // *Cell Discovery*. – 2015. – Vol. 1. – P. 1–11.
78. Jin Q.H. Isolation of acetylcholinesterase from apoptotic human lung fibroblast cells by antibody affinity chromatography // *Biotechniques Suppl.* – 2002. – № 5. – P. 96–97.
79. Jin Q.H. Overexpression of acetylcholinesterase inhibited cell proliferation and promoted apoptosis in NRK // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2004. – Vol. 25. – P. 1013–1021.
80. Lu L. Synaptic acetylcholinesterase targeted by microRNA-212 functions as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer // *Biochem. Cell. Biol.* – 2013. – Vol. 45. – P. 2530–2540.
81. Day T., S.A. Greenfield S.A. Bioactivity of a peptide derived from acetylcholinesterase in hippocampal organotypic cultures // *Exp. Brain Res.* – 2004. – Vol. 155. – P. 500–508.
82. Park S.E. Acetylcholinesterase plays a pivotal role in apoptosome formation // *Cancer Res.* – 2004. – Vol. 64. – P. 2652–2655.
83. Dvir H. Acetylcholinesterase: From 3D structure to function // *Chemico-Biol. Interact.* – 2010. – P. 10–22.
84. Ott P. Acetylcholinesterase from human erythrocyte membranes: dimers as functional units // *FEBS Letters*. – 1982. – Vol. 138. – P. 187–189.
85. Arsov Z. The membrane lateral domain approach in the studies of lipid–protein interaction of GPI-anchored bovine erythrocyte acetylcholinesterase // *Eur. Biophys. J.* – 2004. – Vol. 33. – P. 715–725.
86. Tsakiris S. Control of the activity of the brain synaptosome-associated acetylcholinesterase by acidic phospholipids // *Z. Naturforsch C.* – 1985. – Vol. 40. – P. 97–101.
87. Carvalho F.A. Non-neuronal cholinergic system and signal transduction pathways mediated by band 3 in red blood cells // *Clin. Hemorheol. Microcirculation*. – 2008. – Vol. 40. – P. 207–227.
88. Carvalho F.A., Mesquita R., Martins-Silva J. Acetylcholine and choline effects on erythrocyte nitrite and nitrate levels // *J. Appl. Toxicol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 419–427.
89. Carvalho F.A. Modulation of erythrocyte acetylcholinesterase activity and its association with G protein-band 3 interactions // *J. Membrane Biol.* – 2009. – Vol. 228. – P. 89–97.

Поступила в редакцию 15 февраля 2018 г.

UDC 577.3

DOI: 10.21779/2542-0321-2018-33-2-81-94

Modern concepts of the structure and functions of acetylcholinesterase

D.M. Alibekova, M.B. Saidov, M.R. Abdulkhanov

Dagestan State University; Russia, 367001, Makhachkala, M. Gadzhiev st., 43a; smagras@mail.ru

Cholinesterase (ChE) is a family of enzymes from the hydrolase class, natural substrates of which are choline esters with acetic, propionic or butyric acids. In human tissues, there are two types of ChE: acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE). In recent years, there has been an increased interest in research of ChE among specialists in different branches of science. This is due to the establishment of the fact that the three-dimensional structure of AChE has many specific means. One of the important functional features of AChE device is the location of its active center. It is also interesting that AChE and BuChE are present in both cholinergic and non-cholinergic neurons, where other markers of cholinergic neurotransmission (acetylcholinesterase, choline capture system, etc.) are not found, and the enzyme can perform functions not related to its catalytic activity. It is known that the classical function of AChE is to ensure the transmission of a nerve impulse through the hydrolysis of acetylcholine (ACh) on the postsynaptic membrane of cholinergic tissues, and BuChE is a molecular screen that protects AChE from the action of its own inhibitors. This function of AChE is well studied, but its different localization in non-cholinergic and non-neuronal cells and tissues, as well as the diversity of its molecular forms, attest to the presence of additional "nonclassical" functions in this enzyme.

Keywords: *acetylcholinesterase, molecular structure, active site, adhesion, cell proliferation, apoptosis.*

Received 15 February, 2018