

Почвенная нематода *Caenorhabditis elegans* как модель для изучения паразитических нематод

Т.Б. Калинникова

Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан, г. Казань, Россия
E-mail: tbkalinnikova@gmail.com

Резюме. Свободноживущая почвенная нематода *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) используется в качестве модельного организма в биологических исследованиях с середины 1960-х годов. Преимущества *C. elegans* как экспериментальной модели для изучения биологии Metazoa являются короткий жизненный цикл, маленькие размеры тела, высокая плодовитость, простота и дешевизна выращивания в лаборатории и безопасность для исследователей. Дискуссия о возможности использования *C. elegans* как модели паразитических нематод ведется с первых упоминаний этой нематоды в научной литературе. В этой статье приведен обзор экспериментальных исследований, показывающих, что во многих случаях вещества, токсичные для *C. elegans*, токсичны для паразитических нематод, и наоборот. Это позволяет сделать вывод о перспективности использования *C. elegans* для первичного скрининга веществ с нематоцидной активностью с последующим их тестированием на паразитических нематодах. Не вызывает сомнения и возможность использования *C. elegans* для понимания механизмов действия нематоцидов. В целом, можно сделать вывод, что *C. elegans* является полезной моделью как для поиска новых веществ с антигельминтной активностью, так и для решения проблемы преодоления лекарственной устойчивости гельминтов.

Ключевые слова: *Caenorhabditis elegans*, паразитические Nematoda, нематоциды

Благодарности. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Калинникова Т.Б. Почвенная нематода *Caenorhabditis elegans* как модель для изучения паразитических нематод. Лабораторные животные для научных исследований. 2024; 1. 61–68. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-01-07>.

Review

Soil nematode *Caenorhabditis elegans* as a model to study parasitic Nematoda

T.B. Kalinnikova

Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use of Tatarstan Academy of Sciences, Kazan, Russia
E-mail: tbkalinnikova@gmail.com

Abstract. The free-living soil nematode *Caenorhabditis elegans* has been used as model organism in biological researches since middle of the 1960th. The short lifecycle, small body size, high fecundity, simplicity and cheapness of cultivation in laboratory, and safety for researchers are advantages of *C. elegans* as experimental model to study biology of Metazoa. The discussion about the possibility to use *C. elegans* as the model for parasitic nematodes started with the first mention of this nematode in scientific literature. The present article is the review of experimental studies demonstrating that in many cases substances toxic for *C. elegans* are also toxic for parasitic nematodes, and vice versa. This allows making a conclusion about the prospectivity to use *C. elegans* for initial screening for substances with nematicidal activity followed by their testing in experiments with parasitic nematodes. The possibility to use *C. elegans* for understanding mechanisms of nematicides action is also indisputable. On the whole one may conclude that *C. elegans* is a useful model both for searching new substances with anthelmintic activity and solution of the problem to overcome drug resistance of helminths.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*, parasitic Nematoda, nematicides

Acknowledgements. The study was performed without external funding.

For citation: Kalinnikova T.B. Soil nematode *Caenorhabditis elegans* as a model to study parasitic Nematoda. Laboratory Animals for Science. 2024; 1. 61–68. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-01-07>.

© Калинникова Т.Б., 2024

Введение

Свободноживущая почвенная нематода *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) была предложена в качестве модельного организма Сиднеем Бреннером в середине 1960-х годов [1]. Преимуществами *C. elegans* как экспериментальной модели для изучения биологии Metazoa являются короткий жизненный цикл, маленькие размеры тела, высокая плодовитость (около 300 потомков у одной особи), простота и дешевизна выращивания в лаборатории и безопасность для исследователей (в отличие от паразитических нематод *C. elegans* не может размножаться и развиваться при температуре тела человека) [1–3].

Возможность культивирования *C. elegans* в лаборатории в стандартных условиях на искусственной среде сделала эту нематоду удобным объектом для изучения антигельминтной активности химических соединений. Сторонники таких исследований опираются на сходство общего плана строения тела и физиологии *C. elegans* и паразитических нематод, а также на особенности строения и функций нервной системы, характерные для всех нематод. Между тем вопрос о корректности экстраполяции данных, полученных в экспериментах с *C. elegans*, на всех представителей типа Nematoda остается открытым.

Цель настоящей работы — проведение анализа научной литературы, подтверждающей возможность использования *C. elegans* для оценки эффективности антигельминтных препаратов.

Материал и методы

Представленный обзор обобщает научные публикации об использовании *C. elegans* в качестве модели для изучения паразитических Nematoda. Поиск публикаций проводили в базах данных PubMed и Google Scholar. В обзор включали публикации, доступные для поиска на 28.11.23. Поиск информации осуществляли на основе ключевых слов. Ключевые слова были определены на русском и английском языках: «*Caenorhabditis elegans* + parasitic nematodes + anthelmintic researches + nematocides + anthelmintic drugs» и «*Caenorhabditis elegans* + паразитические нематоды + антигельминтные препараты + нематоциды».

Особенности *Caenorhabditis elegans* как модельного организма для изучения антигельминтных препаратов

Поиск новых веществ для борьбы с паразитическими нематодами осложняется многими факторами, к которым относятся особенности жизненного цикла, невозможность культивирования многих паразитических нематод вне

организма хозяина, трудности получения в лаборатории удобных для исследования *in vitro* стадий развития нематод, недостаток знаний о генетике, нейрхимии и молекулярной биологии паразитических нематод, высокая стоимость экспериментов. Обойти большинство этих ограничений позволяет использование в качестве модельного организма свободноживущей почвенной нематоды *C. elegans*. При этом открытым остается вопрос о возможности экстраполяции данных, полученных при исследовании *C. elegans*, на всех представителей типа Nematoda как свободноживущих, так и паразитических. Обсуждению этого вопроса посвящено несколько обзоров [2, 4–8]. Несмотря на большие различия жизненного цикла и среды обитания свободноживущих и паразитических нематод, сходство общего плана строения тела и физиологии делает *C. elegans* удобной моделью для изучения антигельминтных препаратов. Строение и функции нервно-мышечной системы нематод высококонсервативны в эволюции. Одной из особенностей строения нервной системы многих нематод является ее простота. Например, нервная система *C. elegans* состоит всего из 302 нейронов, родословная, расположение, морфология и функции каждого строго фиксированы. То же самое можно сказать и про нервную систему *Ascaris suum* (*A. suum*), состоящую из 298 нейронов. Брюшная нервная цепочка *C. elegans* и *A. suum* состоит соответственно из 57 и 55 моторных нейронов, относящихся к семи подтипам, и каждому нейрону *C. elegans* соответствует гомологичный нейрон *A. suum* [9]. Все нематоды используют ацетилхолин, γ -аминомасляную кислоту (ГАМК) и глутамат в качестве нейротрансмиттеров. Особенностью фармакологии нервной системы всех нематод, включая *C. elegans*, является использование большого количества нейропептидов наряду с классическими нейротрансмиттерами [6, 8, 10]. В целом, можно говорить, что *C. elegans* отличается от других видов нематод не более чем разные виды нематод различаются между собой [6].

Несмотря на явные преимущества *C. elegans* в качестве модельного организма, эта модель, как и многие другие, имеет определенные ограничения. Известно большое количество видоспецифических генов паразитических нематод, не имеющих гомологов в геноме *C. elegans*, и наоборот. Примерно 25% генов уникальны для каждого из видов Nematoda. Все это определяет необходимость проведения параллельных исследований *C. elegans* и паразитических нематод [2, 11]. Наличие у *C. elegans* кутикулы, защищающей ее от внешних воздействий как физических, так и химических, предъявляет особые требования к дизайну экспериментов. Сюда относятся повышение концентрации исследуемых веществ, использование добавок, облегчающих проникновение веществ через кутикулу, и применение мутант-

ных линий с повышенной проницаемостью кутикулы.

Результаты исследований, в которых изучается действие токсикантов одновременно на *C. elegans* и паразитических нематод, позволяют использовать *C. elegans* в качестве первичного фильтра при скрининге для выявления потенциальных нематоцидов с последующим их изучением на паразитических нематодах [4, 6–7, 12–15]. Помимо поиска эффективных антигельминтных средств, исследования *C. elegans* благодаря наличию большого количества мутантных линий позволяют идентифицировать молекулярные мишени и механизмы действия нематоцидов [6, 7]. Это в свою очередь имеет большое значение для решения проблемы лекарственной устойчивости гельминтов.

***Caenorhabditis elegans* как модель для изучения метаболизма нематод**

C. elegans является удобной моделью для изучения биохимических процессов в организмах нематод на всех уровнях организации (клетки, ткани, органы, целый организм). У нематод имеется несколько особенностей метаболизма, отличающих их от других животных. Особенностью всех нематод является использование альтернативной электрон-транспортной цепи, в которой конечным акцептором электронов является не кислород, а фумарат; в качестве переносчика электронов вместо убихинона используется родохинон [2, 16]. Еще одной особенностью метаболизма *C. elegans* и других нематод, отличающей их от млекопитающих, является глиоксилатный цикл, представляющий собой видоизмененный цикл трикарбонных кислот. Глиоксилатный цикл характерен для всех нематод на стадии эмбриогенеза и покоящихся форм [17]. Другой особенностью, характерной для нематод, является трегалозный цикл, в результате которого синтезируется трегалоза — дисахарид, необходимый для защиты организма от неблагоприятных воздействий окружающей среды, таких как высыхание, осмотический стресс, аноксия, замораживание, высокая и низкая температура среды [17]. Помимо этого, трегалозный цикл является ключевым метаболическим путем глюконеогенеза у нематод [18, 19].

Необходимо упомянуть и отсутствие у нематод, включая *C. elegans*, ферментов, необходимых для синтеза гема; нематоды получают гем из экзогенных ресурсов [20]. Гены переносчиков гема были выявлены не только у *C. elegans*, но и у паразитической нематоды *Brugia malayi* [21]. В отличие от позвоночных животных нематоды не способны синтезировать *de novo* стеролы, в частности, холестерин [22]. В качестве сигнальных молекул нематоды используют такие вещества, как аскарозиды, немамиды, дафххроновая кислота и др. [23, 24].

Молекулярные мишени и механизмы действия антигельминтных препаратов у *Caenorhabditis elegans* и паразитических нематод

Бензимидазолы (альбендазол, мебендазол, беномил и др.) используют с 1960-х годов для лечения животных и человека при гельминтозах [6–7, 25]. Антигельминтное действие бензимидазолов основано на их взаимодействии с β -тубулином. Устойчивость *C. elegans* к бензимидазолам определяется мутацией гена *ben-1*, кодирующего β -тубулин. Устойчивость *Haemonchus contortus* к бензимидазолам также связана с наличием специфических аллелей гена β -тубулина [6, 7].

Мишенью действия многих пестицидов и лекарственных препаратов является холинергическая синаптическая трансмиссия. Одним из первых инсектицидов был никотин, агонист никотиновых рецепторов ацетилхолина (н-холинорецепторов). Многие препараты, которые применяют для лечения гельминтозов у человека и животных, являются агонистами (леваamisол, пирантел, оксантел, монепантел и др.) либо антагонистами (спироиндолы) н-холинорецепторов [6, 7, 26–34].

Первые мутантные линии *C. elegans* были описаны в работе S. Brenner [1]. Среди этих мутантов были нематоды, способные передвигаться по агару, содержащему 10^{-4} М левамизола, быстрее, чем нематоды линии дикого типа. У устойчивых к левамизолу мутантов наблюдались изменения поведения, сходные с теми, которые вызывал ингибитор ацетилхолинэстеразы ланнат, и это позволило S. Brenner [1] сделать вывод, что левамизол является агонистом ацетилхолина. Позднее были описаны гены всех пяти белковых субъединиц рецептора левамизола [35–37]. Электрофизиологические исследования паразитической нематоды *Oesophagostomum dentatum* показали, что изменения свойств н-холинорецепторов определяют устойчивость не только к левамизолу, но и к другому агонисту ацетилхолина пирантелу [35].

Как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных н-холинорецепторы являются лигандзависимыми ионными каналами, состоящими из пяти белковых субъединиц. Идентифицированные рецепторы ацетилхолина различаются между собой как по селективности формируемых ими ионных каналов, так и по чувствительности к агонистам и антагонистам [26, 38, 39]. Семейство генов н-холинорецепторов у *C. elegans* состоит из 29 генов, которые объединяют в 5 групп. Наибольший интерес для исследователей представляет группа ACR-16, состоящая из 11 субъединиц, соответствующих $\alpha 7$ -субъединицам н-холинорецепторов человека. У *C. elegans* ACR-16 формирует гомомерный н-холинорецептор N-субтипа, чувствитель-

ный к никотину. Для формирования рецептора, чувствительного к левамизолу (рецептор L-субтипа), необходима коэкспрессия пяти различных субъединиц н-холинорецепторов: двух α -субъединиц (UNC-38 и UNC-63) и трех не- α -субъединиц (UNC-29, LEV-1 и LEV-8).

Изученные к настоящему времени семейства генов н-холинорецепторов у других беспозвоночных существенно меньше, чем у *C. elegans*. У нематоды *Brugia malayi* (*B. malayi*), поражающей лимфатическую систему человека, и у *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) — паразита плотоядных млекопитающих, включая человека, выявлено по 8 субъединиц н-холинорецепторов. Как и у *C. elegans*, эти субъединицы объединяются в 5 групп. Отсутствие у *B. malayi* и *T. spiralis* ортологов LEV-1 и LEV-8 может свидетельствовать о более простой структуре н-холинорецептора L-субтипа у паразитических нематод. Этот вывод подтверждается исследованием паразитической нематоды *Ascaris suum* (*A. suum*), у которой для формирования н-холинорецепторов достаточно двух субъединиц: UNC-38 и UNC-29. Формирование рецептора L- или N-субтипа зависит от соотношения UNC-38:UNC-29 соответственно 1:5 или 5:1. Преобладание UNC-29 приводит к формированию рецептора L-субтипа, а UNC-38 формирует рецептор N-субтипа [40]. В отличие от *C. elegans* рецептор левамизола у *A. suum* может активироваться высокими концентрациями никотина [41,42]. Помимо рецепторов L- и N-субтипа, у *A. suum* выявлен чувствительный к бэфениуму н-холинорецептор В-субтипа [6, 28, 43].

В работе R. Kaminsky и соавт. [15] описана устойчивость *C. elegans* и паразитических нематод (*Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia oncophora*, *Ostertagia ostertagi*, *Nematodirus spathiger*, *Teladorsagia circumcincta* и *Chabertia ovina*) к производным аминоацетонитрила (AADs). В экспериментах с *C. elegans* показано, что мишенью действия этих соединений является н-холинорецептор, отличный от рецепторов L- и N-субтипа. Устойчивость *C. elegans* к AADs определяется мутациями в генах *acr-17* и *acr-23*, относящихся к семейству DEG-3 н-холинорецепторов. У *C. elegans* и *Haemonchus contortus* (*H. contortus*) были идентифицированы гены *des-2*, также относящиеся к семейству DEG-3. У *H. contortus*, устойчивых к AADs, функции гена *des-2* были нарушены частично или полностью, в то время как у *C. elegans* мутации этого гена не вызывали устойчивости к AADs. Устойчивость к AADs была выявлена и у *H. contortus* с мутациями в гене, гомологичном гену *acr-23* *C. elegans* [6, 15].

Макроциклические лактоны в качестве антигельминтных препаратов используются с 1980-х годов. Первыми препаратами этой группы были авермектин, выделенный из *Streptomyces avermitilis*, и его полусинтетический аналог ивермектин [6, 7, 44, 45]. Показано,

что ивермектин взаимодействует со многими лигандзависимыми ионными каналами с наибольшим сродством к глутаматзависимым Cl⁻-каналам (GluCl_s), что и определяет его высокую антигельминтную активность. У *C. elegans* устойчивость к ивермектину определяется тремя генами (*avr-15*, *avr-14* и *glc-1*), кодирующими α -субъединицы GluCl_s [6, 7, 45]. Мишенями действия макроциклических лактонов в организмах паразитических нематод также являются GluCl_s. Гены, кодирующие GluCl-подобные каналы, были обнаружены у *H. contortus*, *A. suum*, *Dirofilaria immitis* и *Onchocerca volvulus* [6, 7, 45].

Изучение кинема *C. elegans* позволило выявить в организме этой нематоды 17 киназ, которые могут быть потенциальными мишенями действия лекарственных препаратов. По мнению авторов исследования [46], 3 из этих киназ (EGFR/LET-23, MEK1/MEK-2 и PLK1/PLK-1) можно рассматривать как потенциальные мишени при разработке новых антигельминтиков. Ранее [47–49] было показано, что EGFR/ERK- и MEK/ERK-киназы являются терапевтически мишенями в организме *Echinococcus multilocularis*. Мишенями действия нематоцидов в организме *Schistosoma mansoni* являются EGFR/ERK- и PLK1-киназы [50–52].

Токсическое действие химических соединений на *Caenorhabditis elegans* и паразитических нематод

В настоящее время *C. elegans* является одной из наиболее привлекательных моделей как для изучения механизмов и молекулярных мишеней токсического действия существующих нематоцидов, так и для поиска новых веществ с нематоцидной активностью. Первые результаты таких исследований были опубликованы в 1970-е годы, и с тех пор их количество ежегодно возрастает [1, 6–8, 12, 29–31, 34, 35, 42, 45, 53]. Регулярное применение лекарств для профилактики гельминтозов у сельскохозяйственных животных привело к появлению устойчивых к антигельминтикам форм паразитов и, как следствие, стимулировало поиск новых веществ с нематоцидной активностью и изучение механизмов и мишеней их действия на паразитических нематод [25, 53, 54]. При этом возможности проведения экспериментов с паразитическими нематодами *in vitro* ограничиваются их высокой стоимостью, сложностью жизненного цикла паразитов, невозможностью их культивирования вне организма хозяина, недостатком знаний о молекулярной генетике и ограниченным набором молекулярных методов исследования. Поэтому наиболее перспективными являются исследования, в которых оценивается нематоцидная активность одних и тех же препаратов одновременно в экспериментах с паразитическими нематодами и *C. elegans*.

В работе А. Burns и соавт. [13] описаны результаты скрининга 67 012 соединений на нематоцидную активность с использованием *C. elegans* в качестве тест-объекта. Среди всех исследованных веществ 275 вызывали гибель *C. elegans* в концентрации 60 мкМ и менее. Из этих 275 веществ 129 и 116 вызывали гибель не менее 90% *Cooperia onchophora* и *H. contortus* соответственно, а 103 обладали нематоцидной активностью в отношении всех трех видов нематод [13]. Скрининг более 26 000 химических соединений позволил выявить 14 веществ, оказывающих негативное влияние на развитие и плодовитость *C. elegans*. Эти вещества были токсичны для близкородственного *C. elegans* вида свободноживущих почвенных нематод *Caenorhabditis briggsae* и *Meloidogyne hapla*, паразитирующих на растениях [12]. В экспериментах с *C. elegans* показана нематоцидная активность толфенпирада, который используется в качестве контактного инсектицида [55]. Нематоцидная активность толфенпирада была выявлена и в отношении *H. contortus* [56]. Нематоцидная активность перекиси была подтверждена в экспериментах с *C. elegans*, *H. contortus* и *Onchocerca lienalis* (*O. lienalis*). Перекисин снижал двигательную активность *C. elegans* и *H. contortus* и вызывал паралич *O. lienalis*. Кроме этого, перекисин снижал уровень потребления кислорода *C. elegans* [14]. Содержащийся в корнях бархатцев *Tagetes* spp. α -тертиенил в концентрации 1, 2,5 и 5 мкМ вызывал гибель покоящихся личинок *C. elegans* и *Meloidogyne incognita* (*M. incognita*). Полулетальная концентрация (LC_{50}) без фотоактивации составила $0,72 \pm 0,06$ мкМ для *C. elegans* и $0,84 \pm 0,06$ мкМ для *M. incognita*, а с фотоактивацией — соответственно $0,28 \pm 0,02$ и $0,37 \pm 0,03$ мкМ [57].

Токсическое действие микроорганизмов на *Caenorhabditis elegans* и паразитических нематод

Одним из методов борьбы с фитопаразитическими нематодами является использование бактерий. В работе S. Montalvão и соавт. [58] показано, что штаммы *Bacillus thuringiensis*, токсичные для *M. incognita* в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, вызывают гибель *C. elegans in vitro*. Таким образом, *C. elegans* можно использовать для предсказания токсичности бактериальных штаммов для *M. incognita* и других нематод, паразитирующих на растениях.

Выращивание *C. elegans* на среде, содержащей бактерии *Xenorhabdus budapestensis*, *X. szentirmaii*, *X. doucetiae* и *X. nematophila* в качестве источника питания, приводило к гибели нематод в течение 2–3 дней. Свободные от клеток супернатанты *X. budapestensis*, *X. szentirmaii* и *X. doucetiae* вызывали гибель соответственно 91,0; 90,3 и 77,0% *C. elegans* в течение 48 ч.

Супернатанты *X. szentirmaii* и *X. nematophila* были токсичны для фитопаразитической нематоды *Meloidogyne javanica*, вызывая гибель соответственно 93,3% и 86,6% особей за 48 ч. Наиболее токсичными для нематод оказались выделенные из *Xenorhabdus* spp. фабклавины, рабдопептиды и ксенокумацины, которые вызывали за 48 ч гибель 95,3; 74,6 и 72,6% *C. elegans* и 82,0; 90,0 и 85,3% *M. javanica* соответственно [59].

Streptomyces spp. продуцируют большое количество биологически активных вторичных метаболитов. Многие из этих метаболитов обладают нематоцидной активностью. В качестве примера можно привести авермектин, продуцируемый *S. avermitilis*. Его полусинтетический аналог ивермектин вызывает паралич *C. elegans* и нарушает работу мышц глотки. Ивермектин подавляет пищевое поведение у паразитических нематод *H. contortus*, *B. malayi*, *Trichostrongylus colubriformis* и некоторых других [6, 7, 45]. Экстракт штамма *Streptomyces* sp. DT10 вызывал 100% летальность *C. elegans*. Выделенный из этого экстракта спектинабилин приводил к гибели личинок *C. elegans* первого возраста и нарушал двигательную активность личинок четвертого возраста. Нематоцидная активность спектинабилина была выявлена и в отношении личинок *M. incognita* [60].

Заключение

Свободноживущая почвенная нематода *C. elegans* используется в качестве модельного организма в биологических исследованиях с середины 1960-х годов. Изучение *C. elegans* позволило разработать новые методы исследования различных биологических процессов. Кроме того, *C. elegans* оказалась привлекательной моделью для паразитологов. Эксперименты с *C. elegans* позволяют *in vitro* проводить поиск веществ с нематоцидной активностью, выявлять молекулярные мишени действия нематоцидов и изучать механизмы лекарственной устойчивости гельминтов. Справедливости ради следует отметить, что к настоящему времени на рынке антигельминтиков нет ни одного препарата, разработанного по результатам скрининга с использованием *C. elegans*. При этом надо иметь в виду, что поиск новых антигельминтных препаратов — это сфера деятельности, успех в которой достигается не часто. Это связано с особыми требованиями к таким лекарствам. Антигельминтные препараты должны обладать высокой эффективностью против паразитов, но быть нетоксичными для организма хозяина. Необходимо учитывать возможность накопления нематоцидов в тканях сельскохозяйственных животных и растений, используемых для питания человека. Нематоциды, используемые для обработки растений против фитопаразитических нематод, должны обладать высокой избирательностью,

чтобы не причинять вред беспозвоночным, не являющимся мишенями их действия.

Дискуссия о возможности использования *C. elegans* как модели паразитических нематод ведется с первых упоминаний этой нематоды в научной литературе. Приведенные в настоящей статье данные показывают, что во многих случаях вещества, токсичные для *C. elegans*, токсичны для паразитических нематод, и наоборот. Вещества, вызывавшие гибель *C. elegans*, в 15 раз чаще приводили к гибели паразитических нематод, чем случайно выбранные. Кроме того, 40% веществ, летальных для *C. elegans*, были летальны для *C. oncophora* и *H. contortus*. Это и ряд других исследований позволяет сделать вывод о перспективности использования *C. elegans* в качестве альтернативной тест-системы в доклинических исследованиях для первичного скрининга антигельминтных препаратов с последующим их тестированием на паразитических нематодах. Такой подход позволит уменьшить количество позвоночных животных, требующихся для тестирования, снизить стоимость и сократить сроки исследования. Не вызывает сомнения и возможность использования *C. elegans* для понимания механизмов действия нематоцидов. В целом, можно сделать вывод, что *C. elegans* является полезной моделью как для поиска новых веществ с антигельминтной активностью, так и для решения проблемы преодоления лекарственной устойчивости гельминтов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 1974. Vol. 77. P. 71–94. DOI: 10.1093/genetics/77.1.71.
2. Salinas G., Risi G. *Caenorhabditis elegans*: nature and nurture gift to nematode parasitologists // Parasitology. 2018. Vol. 145. P. 979–987. DOI: 10.1017/S0031182017002165.
3. Corsi A.K., Wightman B., Chalfie M. A transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans* // Genetics. 2015. Vol. 200. P. 387–407. DOI: 10.1534/genetics.115.176099.
4. Bürglin T.R., Lobos E., Blaxter M.L. *Caenorhabditis elegans* as a model for parasitic nematodes // International Journal for Parasitology. 1998. Vol. 28. P. 395–411. DOI: 10.1016/s0020-7519(97)00208-7.
5. Geary T.G., Thompson D.P. *Caenorhabditis elegans*: how good a model for veterinary parasites? // Veterinary parasitology. 2001. Vol. 101. P. 371–386. DOI: 10.1016/s0304-4017(01)00562-3.
6. Holden-Dye L., Walker R.J. Anthelmintic drugs and nematocides: studies in *Caenorhabditis elegans* // Wormbook. 2014. N. 16. P. 1–29. DOI: 10.1895/wormbook.1.143.2.
7. Dent J.A. What can *Caenorhabditis elegans* tell us about nematocides and parasites? // Biotechnology and Bioprocess Engineering. 2001. Vol. 6. P. 252–263. DOI: 10.1007/bf02931986.
8. Hahnel S.R., Dilks C.M., Heisler I., Andersen E.C., Kulke D. *Caenorhabditis elegans* in anthelmintic research — Old model, new perspectives // International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2020. Vol. 14. P. 237–248. DOI: 10.1016/j.ijpddr.2020.09.005.
9. Schafer W. Nematode nervous system // Current Biology. 2016. Vol. 26. P. R955–R959. DOI: 10.1016/j.cub.2016.07.044.
10. Li C., Kim K. Neuropeptides // WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community. 2008. DOI: 10.1895/wormbook.1.142.1.
11. Parkinson J., Mitreva M., Whitton C. et al. A transcriptomic analysis of the phylum Nematoda // Nature Genetics. 2004. Vol. 36. P. 1259–1267. DOI: 10.1038/ng1472.
12. Mathew M.D., Mathew N. D., Miller A. et al. Using *C. elegans* forward and reverse genetics to identify new compounds with anthelmintic activity // PLoS Neglected Tropical Diseases. 2016. Vol. 10. P. e0005058. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005058.
13. Burns A.R., Luciani G.M., Musso G. et al. *Caenorhabditis elegans* is a useful model for anthelmintic discovery // Nature Communications. 2015. Vol. 6. Article 7485. DOI: 10.1038/ncomms8485.
14. Taylor C.M., Wang Q., Rosa B.A. et al. Discovery of anthelmintic drug targets and drugs using chokepoints in nematode metabolic pathways // PLoS Pathogens. 2013. Vol. 9. P. e1003505. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003505.
15. Kaminsky R., Ducray P., Jung M. et al. A new class of anthelmintic effective against drug-resistant nematodes // Nature. 2008. Vol. 452. P. 176–181. DOI: 10.1038/nature06722.
16. Kita K., Takamiya S. Electron-transfer complexes in *Ascaris mitochondria* // Advances in Parasitology. 2002. Vol. 51. P. 95–131. DOI: 10.1016/s0065-308x(02)51004-6.
17. Braeckman B.P., Houthoofd K., Vanfleteren J.R. Intermediary metabolism // Wormbook, ed. The *C. elegans* Research Community. 2009. DOI: 10.1895/wormbook.1.146.1.
18. Farelli J.D., Galvin B.D., Li Z. et al. Structure of the trehalose-6-phosphate phosphatase from *Brugia malayi* reveals key design principles for anthelmintic drugs // PLoS Pathogens. 2014. Vol. 10. P. e1004245. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004245.
19. Erkut C., Gade V.R., Laxman S., Kurzchalia T.V. The glyoxylate shunt is essential for desiccation tolerance in *C. elegans* and budding yeast // eLife. 2016. Vol. 5. P. e13614. DOI: 10.7554/eLife.13614.
20. Rao A., Carta L.K., Lesuisse E., Hamza I. Lack of heme synthesis in a free-living eukaryote // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2005. Vol. 102. P. 4270–4275. DOI: 10.1073/pnas.0500877102.
21. Luck A.N., Yuan X., Voronin D. et al. Heme acquisition in the parasitic filarial nematode *Brugia malayi* // The FASEB Journal. 2016. Vol. 30. P. 3501–3514. DOI: 10.1096/fj.201600603R.
22. Chitwood D.J. Biochemistry and function of nematode steroids // Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 1999. Vol. 34. P. 273–284. DOI: 10.1080/10409239991209309.
23. Butcher R.A. Small-molecule pheromones and hormones controlling nematode development // Na-

- ture Chemical Biology. 2017. Vol. 13. P. 577–586. DOI: 10.1038/nchembio.2356.
24. Ludewig A.H., Schroeder F.C. Ascarioside signaling in *C. elegans* // Wormbook, ed. The *C. elegans* Research Community. 2013. DOI: 10.1895/wormbook.1.155.1.
 25. Kaplan R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report // Trends in Parasitology. 2004. Vol. 20. P. 477–481. DOI: 10.1016/j.pt.2004.08.001.
 26. Sattelle D.B. Invertebrate nicotinic acetylcholine receptors — targets for chemicals and drugs important in agriculture, veterinary medicine and human health // Journal of Pesticide Science. 2009. Vol. 34. P. 233–240. DOI: 10.1584/jpestics.r09-02.
 27. Sleight J.N. Functional analysis of nematode nicotinic receptors // Bioscience Horizons. 2010. Vol. 3. P. 29–39. DOI: 10.1093/biohorizons/hzq005.
 28. Qian H., Martin R.J., Robertson A.P. Pharmacology of N-, L-, and B-subtypes of nematode nAChR resolved at the single-channel level in *Ascaris suum* // The FASEB Journal. 2006. Vol. 20. P. E2108–E2116. DOI: 10.1096/fj.06-6264fje.
 29. Fleming J.T., Squire M.D., Barnes T.M. et al. *Caenorhabditis elegans* levamisole resistance genes *lev-1*, *unc-29* and *unc-38* encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits // Journal of Neuroscience. 1997. Vol. 17. P. 5843–5857. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.17-15-05843.1997.
 30. Culetto E., Baylis H.A., Richmond J.E. et al. The *Caenorhabditis elegans* *unc-63* gene encodes a levamisole-sensitive nicotinic acetylcholine receptor α subunit // The Journal of Biological Chemistry. 2004. Vol. 279. P. 42476–42483. DOI: 10.1074/jbc.M404370200.
 31. Gottschalk A., Almedom R.B., Schedletzky T. et al. Identification and characterization of novel nicotinic receptor associated proteins in *Caenorhabditis elegans* // The EMBO Journal. 2005. Vol. 24. P. 2566–2578. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600741.
 32. Harrow I.D., Gratton K.A. Mode of action of the anthelmintics morantel, pyrantel and levamisole in the muscle cell membrane of the nematode *Ascaris suum* // Pesticide Science. 1985. Vol. 16. P. 662–672. DOI: 10.1002/ps.2780160612.
 33. Martin R.J., Clark C.L., Trailovic S.M., Robertson A.P. Oxantel is an N-type (methyridine and nicotine) agonist not an L-type (levamisole and pyrantel) agonist // International Journal for Parasitology. 2004. Vol. 34. P. 1083–1090. DOI: 10.1016/j.ijpara.2004.04.014.
 34. Touroutine D., Fox R.M., Von Stetina S.E. et al. *acr-16* encodes an essential subunit of the levamisole-resistant nicotinic receptor at the *Caenorhabditis elegans* neuromuscular junction // Journal of Biological Chemistry. 2005. Vol. 280. P. 27013–27021. DOI: 10.1074/jbc.M502818200.
 35. Jones A.K., Buckingham S.D., Sattelle D. Chemistry-to-gene screens in *Caenorhabditis elegans* // Nature Reviews Drug Discovery. 2005. Vol. 4. P. 321–330. DOI: 10.1038/nrd1692.
 36. Schafer W.R. Genetic analysis of nicotinic signaling in worms and flies // Journal of Neurobiology. 2002. Vol. 53. P. 535–541. DOI: 10.1002/neu.10154.
 37. Pereira L., Kratsios P., Serrano-Saiz E. et al. A cellular and regulatory map of the cholinergic nervous system of *C. elegans* // eLIFE. 2015. Vol. 4. P. e12432. DOI: 10.7554/eLife.12432.
 38. Tomizawa M., Casida J.E. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors // Annual Review of Entomology. 2003. Vol. 48. P. 339–364. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731.
 39. Lansdell S.J., Collins T., Goodchild J., Millar N.S. The *Drosophila* nicotinic acetylcholine receptor subunits $\text{D}\alpha 5$ and $\text{D}\alpha 7$ form functional homomeric and heteromeric ion channels // BMC Neuroscience. 2012. Vol. 13. P. e73. DOI: 10.1186/1471-2202-13-73.
 40. Williamson S.M., Robertson A.P., Brown L. et al. The nicotinic acetylcholine receptors of the parasitic nematode *Ascaris suum*: formation of two distinct drug targets by varying the relative expression levels of two subunits // PLoS Pathogens. 2009. Vol. 5. P. e1000517. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000517.
 41. Levandovsky M.M., Robertson A.P., Kuiper S. et al. Single-channel properties of N- and L-subtypes of acetylcholine receptor in *Ascaris suum* // International Journal for Parasitology. 2005. Vol. 35. P. 925–934. DOI: 10.1016/j.ijpara.2005.03.007.
 42. Qian H., Robertson A.P., Powell-Coffman J.A., Martin R.J. Levamisole resistance resolved at the single-channel level in *Caenorhabditis elegans* // The FASEB Journal. 2008. Vol. 22. P. 3247–3254. DOI: 10.1096/fj.08-110502.
 43. Robertson A.P., Martin R.J. Ion-channels on parasite muscle: pharmacology and physiology // Invertebrate Neuroscience. 2007. Vol. 4. P. 209–217. DOI: 10.1007/s10158-007-0059-x.
 44. Campbell W.C., Fisher M.H., Stapley E.O. et al. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent // Science. 1983. Vol. 221. P. 823–828. DOI: 10.1126/science.6308762.
 45. Dent J.A., Smith M.M., Vassilatis D.K., Avery L. The genetics of ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans* // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2000. Vol. 97. P. 2674–2679. DOI: 10.1073/pnas.97.6.2674.
 46. Knox J., Joly N., Linossi E.M. et al. A survey of the kinome pharmacopeia reveals multiple scaffolds and targets for the development of novel anthelmintics // Scientific Reports. 2021. Vol. 11. Article 9161. DOI: 10.1038/s41598-021-88150-6.
 47. Cheng Z., Liu F., Li X. et al. EGF-mediated EGFR/ERK signaling pathway promotes germinative cell proliferation in *Echinococcus multilocularis* that contributes to larval growth and development // PLoS Neglected Tropical Diseases. 2017. Vol. 11. P. e0005418. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005418.
 48. Gelmedin V., Spiliotis M., Brehm K. Molecular characterization of MER1/2- and MKK3/6-like mitogen-activated protein kinase kinases (MAPKK) from the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis* // International Journal for Parasitology. 2010. Vol. 40 P. 555–567. DOI: 10.1016/j.ijpara.2009.10.009.
 49. Schubert A., Koziol U., Cailliau K. et al. Targeting *Echinococcus multilocularis* stem cells by inhibition of the Polo-like kinase *EmPlk1* // PLoS Neglected Tropical Diseases. 2014. Vol. 8. P. e2870. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002870.
 50. de Andrade L.F., Mourão M.M., Geraldo J.A. et al. Regulation of *Schistosoma mansoni* development and repro-

- duction by the mitogen-activated protein kinase signaling pathway // PLoS Neglected Tropical Diseases. 2014. Vol. 8. P. e2949. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002949.
51. Cowan N., Keiser J. Repurposing of anticancer drugs: *In vitro* and *in vivo* activities against *Schistosoma mansoni* // Parasites & Vectors. 2015. Vol. 13. Article 417. DOI: 10.1186/s13071-015-1023-y.
52. Long T., Neitz R.J., Beasley R. et al. Structure-bioactivity relationship for benzimidazole thiophene inhibitors of Polo-Like Kinase 1 (PLK1), a potential drug target in *Schistosoma mansoni* // PLoS Neglected Tropical Diseases. 2016. Vol. 10. P. e0004356. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004356.
53. Boulin T., Gielen M., Richmond J.E. et al. Eight genes are required for functional reconstitution of the *Caenorhabditis elegans* levamisole-sensitive acetylcholine receptor // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2008. Vol. 105. P. 18590–18595. DOI: 10.1073/pnas.0806933105.
54. Lalchandama K. Anthelmintic resistance: the song remains the same // Science Vision. 2010. Vol. 10. P. 111–122.
55. Risi G., Aguilera E., Ladós E. et al. *Caenorhabditis elegans* infrared-based motility assay identified new hits for nematicide drug development // Veterinary Sciences. 2019. Vol. 6. Article 29. DOI: 10.3390/vetsci6010029.
56. Preston S., Jiao Y., Jabbar A. et al. Screening of the “Pathogen Box” identifies an approved pesticide with major anthelmintic activity against the barber’s pole worm // International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 2016. Vol. 6. P. 329–334. DOI: 10.1016/j.ijpddr.2016.07.004.
57. Hamaguchi T., Sato K., Vicente C.S. L., Hasegawa K. Nematicidal action of the marigold exudate α -terthienyl: oxidative stress-inducing compound penetrates nematode hypodermis // Biology Open. 2019. Article bio038646. DOI: 10.1242/bio.038646.
58. Montalvão S.C.L., de Castro M.T., Soares C.M.S. et al. *Caenorhabditis elegans* as an indicator of toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains to *Meloidogyne incognita* race 3 // Ciência Rural. 2018. Vol. 48. P. e20170712. DOI: 10.1590/0103-8478cr20170712.
59. Abebew D., Sayedain F.S., Bode E., Bode B.B. Uncovering nematicidal natural products from *Xenorhabdus bacteria* // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2022. Vol. 70 P. 498–506. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c05454.
60. Sun Y., Xie J., Tang L. et al. Isolation, identification and molecular mechanisms analysis of the nematicidal compound spectinabilin from newly isolated *Streptomyces* sp. DT10 // Molecules. 2023. Vol. 28. Article 4365. DOI: 10.3390/molecules28114365.

Информация об авторе

Т.Б. Калининкова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, tbkalinnikova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8849-3425>
Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан, 420089, Россия, г. Казань, ул. Даурская, 28.

Information about the authors

T.B. Kalinnikova, PhD in Biology, Leading researcher, tbkalinnikova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8849-3425>
Research Institute for Problems of Ecology and Mineral Wealth Use of Tatarstan Academy of Sciences, 420089, Russia, Kazan, Daurskaya str., 28.

Сведения о конфликте интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

Дата поступления рукописи в редакцию: 15.01.2024

Дата рецензии статьи: 01.02.2024

Дата принятия статьи к публикации: 15.02.2024

Received: 15.01.2024

Reviewed: 01.02.2024

Accepted for publication: 15.02.2024