

 pismavavilov.ru

DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-22

Обзор

Macrostomum lignano как модельный объект в современных исследованиях

А.М. Дмитриева¹, Г.Ю. Чепурнов ², К.О. Плотников ¹, А.Г. Блинов ¹, М.Ю. Бирюков ^{1, 3} ✉

Аннотация: В последние годы в список модельных организмов внесен свободноживущий плоский червь *Macrostomum lignano*, нашедший широкое применение в ряде областей научных изысканий. Его ключевая особенность, высокий потенциал к регенерации, предоставляет ему устойчивость к токсичным соединениям и онкогенам, высокую адаптивность к резким изменениям факторов окружающей среды, а также длительный срок жизни, граничащий с условным бессмертием. С другой стороны, особенности хромосомного состава генома *M. lignano*, выраженные в ряде геномных нестабильностей, вкпе с регенерацией, не переходящей в опухолевый генез, открывает широкие возможности для фундаментальных исследований противораковых терапий. Обзор посвящен разбору направлений биологических наук, где применяется или мог бы применяться *M. lignano*.

Ключевые слова: регенерация; нейрогенез; полиплоидия; геномная нестабильность; старение; *Macrostomum*; плоские черви.

Для цитирования: Дмитриева А.М., Чепурнов Г.Ю., Плотников К.О., Блинов А.Г., Бирюков М.Ю. *Macrostomum lignano* как модельный объект в современных исследованиях. *Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;10(4):187-198. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-22

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке государственного бюджетного проекта FWNR-2022-0016.

Review

Macrostomum lignano as a model object for modern researches

A.M. Dmitrieva¹, G.Yu. Chepurnov ², K.O. Plotnikov ¹, A.G. Blinov ¹, M.Yu. Biryukov ^{1, 3} ✉

Abstract: In recent years, the free-living flatworm *Macrostomum lignano* has been added to the list of model organisms, which has proven itself applicable in a number of research areas. Its key feature – a high potential for regeneration – provides it with resistance to toxic compounds and oncogenes, high adaptability to sudden changes in environmental factors, as well as a long life span bordering on conditional immortality. On the other hand, the peculiarities of the chromosomal composition of the *M. lignano* genome, expressed in a number of genomic instabilities, coupled with regeneration that does not turn into tumor genesis, opens up wide opportunities for fundamental research of anti-cancer therapies. This review is devoted to the analysis of the areas of biological sciences where *M. lignano* is used or could be used.

Key words: regeneration; neurogenesis; polyploidy; genome instability; aging; flatworms; *Macrostomum*.

For citation: Dmitrieva A.M., Chepurnov G.Yu., Plotnikov K.O., Blinov A.G., Biryukov M.Yu. *Macrostomum lignano* as a model object for modern researches. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;10(4):187-198. DOI 10.18699/letvjgb-2024-10-22 (in Russian)

Funding: The study was carried out with the financial support of the state budget project FWNR-2022-0016.

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, р.п. Краснообск, Новосибирская область, Россия
Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

 biryukov@bionet.nsc.ru

© Дмитриева А.М., Чепурнов Г.Ю., Плотников К.О., Блинов А.Г., Бирюков М.Ю., 2024

Введение

В истории становления современной биологии не счесть случаев, когда отдельно взятое открытие не было бы таковым без воспроизведения на объекте, отличном от человека. Все современные стандарты фармакологии предписывают тестировать препараты на лабораторных животных, а изыскания, определяющие мишени для таких препаратов, и вовсе проводятся на различных модельных объектах. В ходе многочисленных исследований организмов-долгожителей, организмов, резистентных к различным формам онкологий, а также организмов с высокой способностью к восстановлению тканей, стало ясно, что между регенерацией и онкогенезом проходит тонкая грань равновесия, различающаяся от вида к виду. А старение в этом уравнении является точкой выхода из этого противостояния. И все же возможность сдвигать подобное равновесие в целях регенеративной медицины, продления жизни и лечения онкологий остается крайне привлекательным направлением в науке.

Способность отдельных когорт плоских червей к частичной или полной регенерации в истинном ее выражении всегда вызывала особый интерес. *Macrostomum lignano* Ladurner, Schärer, Salvenmoser, & Rieger (Ladurner et al., 2005) – представитель клады *Macrostomorpha* Doe (филогения группы на рис. 1) – один из наиболее древних таксонов плоских червей (Wudarski et al., 2020), хотя и заметно отличается от их наиболее известных представителей – планарий (*Tricladida* Lang) (Martín-Durán, Egger, 2012). Одно из основных отличий представителей рода *Macrostomum* Schmidt в целом состоит в ограниченной способности к абсолютной регенерации: в нормальных условиях они не способны восстановить голову выше середины глотки, что, с другой стороны, приводит к точной регенерации остальных тканей (Simanov et al., 2012). Организм с ограниченной способностью к регенерации, у которого получилось добиться регенерации нетипичной для всех ткани, становится весьма удачным претендентом для проведения регенеративных изысканий и регуляции тканевого генеза на уровне генома. Благодаря этим особенностям на *M. lignano* было проведено немало исследований, внесших вклад в системное знание об упомянутых выше процессах.

В обзорных статьях *M. lignano* рассматривался как потенциальный модельный объект (Mouton et al., 2009); разбирались его внешние признаки и степень консервативности *Macrostomum*-специфичных генов по отношению к генам ближайших родственных паразитических плоских червей, а также к генам человека (Устьянцев и др., 2021); демонстрировались инструменты, адаптированные для работы *M. lignano*, включая различные технологии трансгенеза (Wudarski et al., 2020), и проводилось сравнение преимуществ применения технологий трансгенеза на *M. lignano* по сравнению с другими модельными червями (Sukhikh et al., 2022). В настоящем обзоре обсуждаются актуальные исследования, выполняемые на *M. lignano*, и перспективы их будущих направлений.

Особенности рода *Macrostomum* и вида *Macrostomum lignano*

Экологическая справка

Ареал *Macrostomorpha* представляет собой прибрежные участки соленых водоемов, преимущественно океанов и морей (Ladurner et al., 2005). В отличие от своих родственников планарий, род *Macrostomum* обитает в приливной зоне, иногда переживая в мокром песке период отлива (Wudarski et al., 2020). Таким образом, в определенном плане их можно назвать экстремофилами, поскольку в подобных условиях они адаптировались к высоким дозам солнечной радиации, в частности, проводились исследования по выживанию *M. lignano* после облучения высокими дозами ультрафиолета С, и перепадам солености среды (Wudarski et al., 2017).

Анатомические и поведенческие особенности *Macrostomum lignano*

Особи *M. lignano* обладают небольшими размерами, достигая длины до 2 мм и варьируют в диапазоне 100–200 мкм в ширину в состоянии релаксации. Строение червя *M. lignano*, отражающее наиболее заметные анатомические структуры, представлено на рис. 2.

В естественных условиях *Macrostomorpha* – хищники. Они способны проводить как активный поиск пищи, так и проявлять засадническое поведение, прикрепляясь адгезивными органами хвостовой пластины к поверхностям, захватывая проплывающую мимо взвесь водорослей и микроорганизмов. Проходя глотку, пища попадает в карманы кишечника, замкнутого слепо (Ladurner et al., 2005). Будучи первичноротыми, они опорожняют содержимое кишечника обратно через глотку, из-за чего среди остатков перевариваемой ими пищи всегда имеется фракция непереваренных организмов. В результате на выращиваемых в лабораторных условиях червях часто наблюдается употребление продуктов их пищеварения повторно.

Нервная система *M. lignano* соответствует общим представлениям о плоских червях – устроена по лестничному типу. От фронтального скопления ганглиев (так называемого мозга) отходят продольные нервные тяжи, которые связываются друг с другом вентральными тяжами. Нейронная ткань иннервирует все тело, включая пару глазков, мускульный мешок и хвостовую пластину с расположенными в ней органами, регулирует сокращения глотки и тканей кишечника. В ходе наблюдений за *M. lignano* в лабораторных условиях описан ряд поведенческих реакций. Таковыми могут считаться: круговые движения при стрессе или ином угнетении нервной системы; выбрасывание наружу верхней части глотки с кишкой при отравлении; прикрепление к поверхностям при увеличении скорости потока; а также известный для отдельных представителей пример посткоитального поведения, в ходе которого червь ртом собирает впрыскиваемую партнером сперму, избегая тем самым оплодотворения и соответствующей траты ресурсов на откладку яиц (Brand, 2023).

Половое поведение представителей рода определяется особенностями каждого отдельно взятого вида. Так, *M. lignano* представляет собой организм, имеющий обе пары гонад, однако не способный к самооплодотворению,

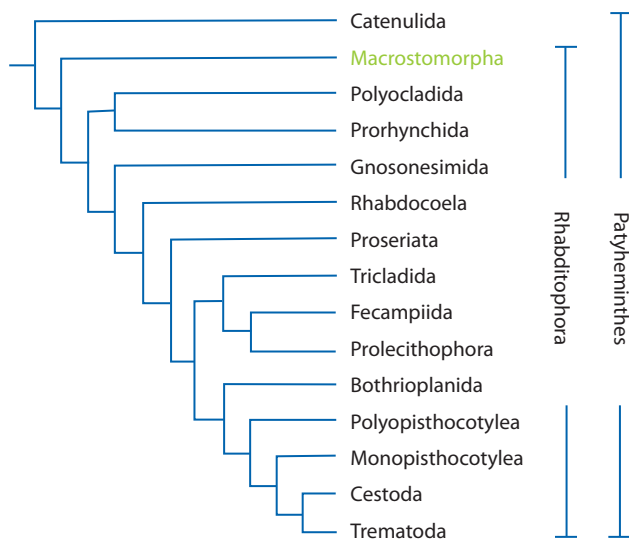


Рис. 1. Филогенетическое древо плоских червей (Platyhelminthes Gegenbaur). Клада Macrostomorpha (выделена зеленым) является базальной ветвью Rhabditophora и, соответственно, одной из наиболее древних групп плоских червей (Wudarski et al., 2020)

Fig. 1. Phylogenetic tree of flatworms (Platyhelminthes Gegenbaur). The Macrostomorpha clade (green) is a basal branch of Rhabditophora and therefore one of the most ancient flatworm group (Wudarski et al., 2020)

из-за чего половой процесс у них проходит перекрестно. В то время как другие представители рода, такие как черви *Macrostomum hystricinum* Beklemishev ssp. *marinum* Rieger, обладают более жестким стилетом и способны проткнуть не только партнера в любую часть тела, но и дотягиваются до собственной головы, делая самооплодотворение возможным (Ramm et al., 2015). После внутреннего оплодотворения, чаще всего перекрестного для обоих партнеров, яйцо непродолжительное время формируется в полости, после чего откладывается в окружающую среду. Из яйца в зависимости от температуры, которая ускоряет или замедляет метаболизм червей и их яиц, через несколько дней, обычно через 3–7 дней при ~20 °C или через 2–3 дня при ~25–30 °C (Wudarski et al., 2019), вылупляется личиночная стадия. В дальнейшем червь вырастает, отрачивая себе все органы половозрелой стадии в течение двух недель, не претерпевая линьки и иных форм метаморфоза (Martín-Durán, Egger, 2012).

Способностью к регенерации *M. lignano* обязан популяции практически плюрипотентных стволовых клеток – неопластов, большую часть клетки которых занимает ядро. Численность неопластов при гомеостазе поддерживается на едином уровне, однако при утрате частей тела, как, например, при ампутациях, организму требуется небольшая минимальная численность – несколько сотен неопластов, которых обычно бывает достаточно для восстановления сначала их популяции, а затем и утраченных тканей. Считается, что немалую роль в определении недостающих тканей и клеточной судьбы дифференцирующихся неопластов определяется положением клеток и клеточными контактами, как-то подающими сигнал о клеточном окружении

(Mouton et al., 2018). В пользу этого заключения говорит системность расположения неопластов двумя тяжами вдоль всего тела и скоплениями у наиболее часто делящихся и обновляющихся тканей. Неопласты потенциально способны восстановить любую постнатальную ткань червя, однако по неокончательно выясненным причинам не способны восстанавливать голову от верхней части глотки до мозга. Причины такой неспособности остаются темой для дискуссий.

Особенности генома *Macrostomum lignano*

Размер генома оценивается приблизительно в 700 млн оснований, из которых, согласно аннотации, примерно 10 % приходится на регионы с потенциальными генными структурами, а около 50 % приходится на повторенные последовательности (Wasik et al., 2015), среди которых обнаруживаются специфичные для данного вида ретротранспозоны с длинными концевыми повторами (ДКП, или LTR ретротранспозоны) (Biryukov et al., 2020). С цитологической позиции было реконструировано, что у общего предка рода *Macrostomum* геном был представлен тремя парами малых хромосом. Затем у ряда видов произошла полногеномная дупликация, в ходе которой от слияния трех пар малых хромосом сформировалась одна большая пара. Сообщалось, что эти пары могут быть не совсем сестринскими. Возможно, именно их присутствие привело к имеющейся геномной нестабильности, в ходе которой набор хромосом меняется от восьми до десяти, а, по некоторым данным, и более десяти. Эта нестабильность числа хромосом приводит к тому, что линия, произошедшая от двух кариотипированных как $2n = 8$ червей, способна через несколько поколений породить потомство с иным кариотипом (сообщалось даже об $2n = 16$ индивидах) (Zadesenets et al., 2016, 2017, 2023). При этом черви *M. lignano* с разным числом хромосом в геномах по-прежнему свободно скрещиваются между собой давая плодовитое потомство. Однако сборка геномов, где вместо ожидаемой псевдотетраплоидности ($2n = 4x = 8$) может оказаться псевдогексаплоидный ($2n = 10$) набор хромосом или более сложным образом нарушенная его кратность, остается вызовом для каждой группы, изучающей данный вид.

Что можно моделировать на *Macrostomum lignano*?

Старение и долгожительство

На данный момент продолжают дискуссии о статусе процессов старения. В общем виде старение организма может быть сведено к совокупности нарушений, объясняемых старением отдельных тканей и/или клеток в большей степени, чем остальной организм (d'Adda di Fagagna, 2008). Когда какая-либо жизненно важная ткань, утратившая способность к поддержанию гомеостаза, не способна в достаточной мере выполнять свою функцию, в клетках такой состарившейся ткани обычно наблюдаются изменения по содержанию веществ, возведенных в ранг факторов старения. К таким факторам относят ряд соединений, неестественных или побочных продуктов работы генов, эпигенетические метки, не свойственные здоровым организмам и пр. (Jorm et al., 1998; Acosta et al., 2008; Kuilman et al., 2008; Hannum et al., 2013; Horvath, 2013; Rufini et al., 2013; McKee, Schüz, 2015). Над ролью одних спорят, может ли возникновение подобных мар-

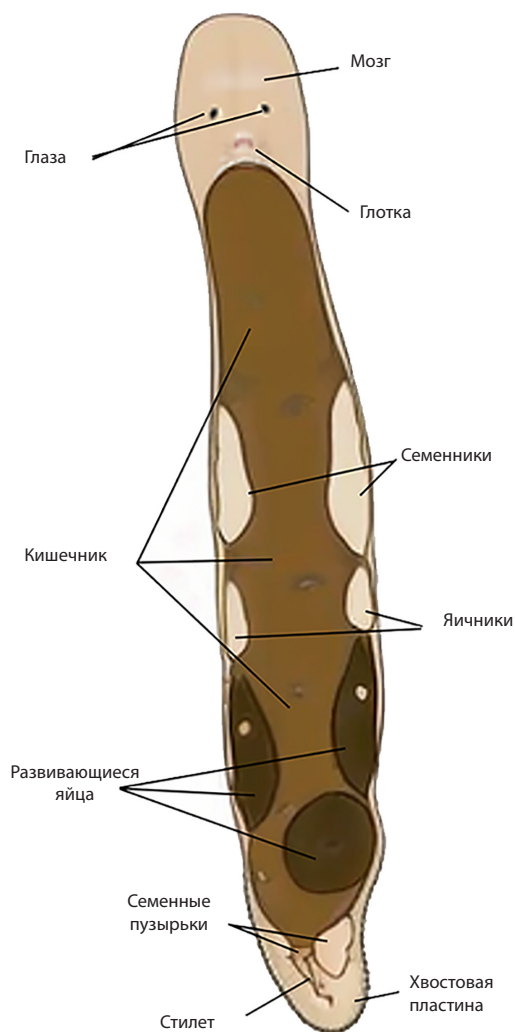


Рис. 2. Схематичное изображение наиболее крупных анатомических структур свободноживущего плоского червя *M. lignano*. Представлены: пищеварительная система (глотка и кишечник), половая (две пары гонад – семенники и яичники, развивающиеся яйца, семенные пузырьки и копулятивный орган – стилет) и частично – нервная система (глаза и мозг). Адаптировано из: (Lengerer et al., 2014)

Fig. 2. Schematic representation of the largest anatomical structures of the free-living flatworm *M. lignano*. In addition to the presented structures of the digestive (pharynx and intestines), sexual (two pairs of gonads – testes and ovaries, developing eggs, seminal vesicles and a copulatory organ – stylet), and partially represented nervous system (eyes and brain). Adapted from Lengerer et al. (2014)

кером быть причиной или следствием клеточного старения. В других случаях, таких как укорачивание теломер (Palm, de Lange, 2008), маркеры служат вполне естественным фактором клеточного старения. Так, малочисленные теломерные повторы отражают приближение клетки или клеточной популяции к пределу Хейфлика (Hayflick, Moorhead, 1961), а, следовательно, приближение к запрограммированной клеточной смерти как естественному процессу, в определенном смысле выполняющему роль противодействия старению организма и снижающему риск клеточного перерождения. И хотя был произведен ряд экспериментов по

состариванию и омоложению клеток *in vitro*, статус многих факторов старения остается не до конца понятным и, вероятно, некоторые факторы до сих пор не открыты.

Помимо отдельно выбранных маркеров не менее интересны целые сигнальные пути и баланс механизмов обратной связи, также приводящих к устойчивости к перерождению, высокой регенерации и долгожительству (Williamson et al., 2003; Kennedy et al., 2011; Tu et al., 2011; Zoncu et al., 2011; Johnson et al., 2013; Fabian et al., 2021). Поиск конкретного сигнального пути, ответственного за старение, вероятнее всего, лишен смысла, поскольку для большинства маркеров предполагается, что их роль скорее вторична, а каждый из них участвует и в других важных для клетки процессах.

Организмы, достигшие некоторых успехов в противодействии процессам старения, представляют интерес на предмет потенциальных особенностей активности у них маркеров старения. Среди наиболее примечательных групп подобных организмов, науке известен ряд условно-бессмертных организмов, таких как голые землекопы, тихоходки и некоторые другие (Buffenstein, 2005; Mouton et al., 2009; Guidetti et al., 2012; Tomczyk et al., 2015), добившиеся длительной продолжительности жизни различными путями. Где-то основная роль возлагается на работу конкретных генов и их продуктов, приводящих к более мягкой переносимости основных стрессорных факторов. Так, особая форма гиалуроновой кислоты помогает голым землекопам справляться с канцерогенами (Buffenstein, 2005). На нематод *Caenorhabditis elegans* (Maupas) Dougherty были выявлены отдельные мутации, приводящие к увеличению продолжительности жизни (Pinkston et al., 2006). Среди интересных наблюдений на этом же организме было показано, что интерференция активных мобильных элементов также увеличивала продолжительность жизни (Bessereau, 2006). Подобные случаи описаны и в работах, выполненных на других организмах.

M. lignano косвенно относится к условно-бессмертным организмам, поскольку для него в лабораторных условиях была показана продолжительность жизни более двух лет, что при двухнедельном сроке между оплодотворением яйцеклетки и до первого отложенного червем яйца говорит о весьма продолжительном пребывании во взрослом состоянии (Wudarski et al., 2020). При этом практически не наблюдалось снижение фертильности организмов, а единственными несистематическими внешними проявлениями старения были образования у отдельных особей разного рода цист, которые, однако, не выказывали агрессивной природы и зачастую не очень мешали червям питаться и размножаться. В той же работе было показано, что с возрастом в организмах *M. lignano* все же происходят регуляторные изменения, выраженные в изменении уровня экспрессии генов, которые, по всей видимости, компенсируют стандартные проявления старения. Означает ли это, что геномы могут иметь потенциальные механизмы, которые компенсируют накопительный эффект от старения или сдерживать его в достаточной мере, значительно продлевая срок жизни организма. Определенные предпосылки к этому показаны при изучении сигнальных путей, активирующих апоптоз в состаренных клетках (Kennedy et al., 2011). Но многое еще предстоит выяснить и

M. lignano может оказаться весьма удачным объектом для решения этой задачи.

Как только будет разрешена геномная нестабильность и завершена аннотация структуры генома *M. lignano*, его регуляция, можно будет моделировать взаимосвязь регуляторных процессов, чтобы определить мишени для нокадауна. Для этого уже предпринимались неоднократные попытки разделить субгеномы на цитологическом (Zadesenets et al., 2023) и биоинформатическом уровне (Wudarski et al., 2020; Zadesenets et al., 2023). Однако процесс изучения еще не завершен. После решения проблемы полиплоидии, вероятно, станут применимыми подходы, связанные с потоковыми моделями, разрабатываемыми в настоящее время преимущественно для прокариотических организмов. Они отражают процессы саморегуляции на уровне генома и его продуктов, и внесли бы неоценимый вклад в понимание того, как работают процессы, прямо или косвенно касающиеся старения и его противодействию у *M. lignano*. Как только удастся обнаружить гены-мишени, радикально меняющие продолжительность жизни подобного объекта-долгожителя, станет возможным получить червей со значительно укороченным сроком жизни после проведения нокадауна. Затем, если результаты будут воспроизведены на геномодифицированной нокаутной линии, можно будет говорить о том, что найдены гены условной бессмертности или долгожительства. За этим последует углубленное изучение каскадов, связанных с первично обнаруженными мишенями.

Таким образом, генетические и физиологические особенности *M. lignano* при должном подходе могут дать почву для новых направлений в исследовании старения человека и того, как этот процесс можно было бы сдерживать терапевтически или иными подходами.

Почему полиплоидный геном не разваливается?

Только возникшая автополиплоидизация создает перед вновьявленным организмом ряд задач, решение которых эссенциально для дальнейшего существования. Основная проблема, возникающая при полиплоидизации, – доза генов, копияность которых кратно возрастает (Qian, Zhang, 2008). Отсутствие механизмов регуляции по принципу обратной связи известно на многих примерах заболеваний, возникающих от различных форм трисомий и моносомий у человека, таких как синдром Дауна (трисомия по 21 хромосоме (Petersen, Mikkelsen, 2001)), и различные синдромы, связанные с отсутствующей (Bondy, Cheng, 2009) или избыточной (Leggett et al., 2010) половой хромосомой. Даже если предположить, что в первое время после дупликации все элементы нового субгенома сохранили свои старые механизмы регуляции, доза каждого гена в ходе его экспрессии возрастает пропорционально копияности локусов. Для некоторых генов даже такие изменения становятся критичными (Deng et al., 2004; Cahill et al., 2007; Parker, Mattos, 2018). Более того, присутствие лишней пары хромосом комплементарных друг другу может сказываться и на процессах расхождения хромосом в ходе клеточного деления, будь то митоз или каждое из делений мейоза. За нарушениями в процессе мейоза обычно следуют проблемы с созреванием гамет, и, как в следствие – снижение фертильности вплоть до абсолютной стерильности или нежизнеспособности потом-

ства как в эмбриональном, так и в раннем постнатальном периоде. Неменьшим вызовом для стабильности клетки будут и правильно настроенные эпигенетические метки – их паттерн должен сильно отличаться у ди- и тетраплоидного организмов для того, чтобы хотя бы внешне они сохраняли гомеостаз на приблизительно одном и том же уровне. Следовательно, необходимость смены паттерна эпигенетических меток становится направляющим фактором постполиплоидизационного периода адаптации генома.

Очевидно, что во всех исследованиях на *M. lignano* приходится делать поправку на сложности генома, связанные с полиплоидией. Поскольку эти черви способны сохранять гомеостаз при абсолютно немыслимой для более сложных организмов геномной нестабильности, задействованные компенсаторные механизмы могут также оказывать некоторое влияние на конкретный изучаемый процесс. Однако это может быть интересно исследователям различных видов растений, некогда тоже ставших полиплоидными (Родионов, 2013). Ключевым вопросом может стать то, что неоплоидизация у представителей рода *Macrostomum* случилась по эволюционным меркам относительно недавно, а имеющаяся геномная нестабильность все еще приводит к формированию добавочных В-хромосом и немэнделевскому наследованию больших хромосом, представляющих собой отдельную гаплоидную копию генома (Zadesenets, Rubtsov, 2021). Наблюдение за тем, как адаптация и регуляция копияности происходила и происходит в настоящее время, могут помочь понять, как процесс полиплоидизации протекал у ряда сельскохозяйственно важных культур, таких как пшеница, рожь, картофель и др. (Udall, Wendel, 2006; Renny-Bufield, Wendel, 2014). И, хотя такой полиплоидный геном уже в каком-то смысле ведет себя практически как диплоидный, этот статус по-прежнему может быть оспорен или пересмотрен.

Немалым подспорьем в этих изысканиях может послужить CRISPR/Cas9 и подобные ей технологии геномной инженерии, позволяющие весьма точно редактировать генетическую структуру и окружение потенциальных участников стабилизирующих геномную нестабильность процессов (Cui et al., 2018). С ее помощью можно нокаутировать потенциальные мишени (такowymi могут быть факторы сегрегации хромосом, регуляторы клеточного цикла или системы для эпигенетических модификаций) для создания дополнительной нестабильности. Задачей такой дестабилизации будет пронаблюдать за тем, как на это отреагирует геном, и без того вынужденный поддерживать свою стабильность на и без того сложном уровне. Установление предельных возможностей компенсации геномной нестабильности могло бы сузить область поиска ключевых особенностей, используемых червем для собственного существования.

Также остро стоит ряд вопросов о взаимосвязи между геномной нестабильностью и широкой способностью *M. lignano* к регенерации. Была ли одна следствием другой или, наоборот, нестабильность играет ключевую роль в ограниченных возможностях к регенерации головы? Известно, что некоторые организмы специально индуцируют полиплоидность для более активной реализации процессов жизнедеятельности. Может ли быть так, что нестабиль-

ность стандартного хромосомного набора ($2n = 8$), смещаемая в пользу иного числа хромосом в ядре (Zadesevets et al., 2016), возникает для лучшей работоспособности неопластов, их вариативности и, соответственно, возможности эффективно регенерировать утраченные ткани? Или же изменение числа хромосом – лишь следствие недостаточно эффективных механизмов их сегрегации при клеточном делении, возникающее как раз из-за активности постоянно делящихся неопластов? Почему при всех этих нарушениях, какова бы ни была их первичная природа, в популяциях клеток *M. lignano* не происходит перерождения и последующего канцерогенеза? Самое очевидное предположение состоит в том, что стабилизирующие геномную регуляцию *Macrostomum*-специфичные механизмы не имели необходимости эволюционировать в каком-либо дополнительном направлении, чтобы выполнять функции противодействия онкогенезу, а способствовали этому изначально. О взаимосвязи и в некотором смысле противоборстве процессов регенерации и клеточной пролиферации неоднократно сообщалось ранее на ряде организмов (Kung et al., 2010; Sugimoto et al., 2011; Alvarado, Yamanaka, 2014; Parey et al., 2024). Быть может, утрата способности к регенерации головы, известная у других групп плоских червей, в частности, планарий (Egger et al., 2006; Martín-Durán, Egger, 2012; Rink, 2013; Bertemes et al., 2020; Grosbusch et al., 2022), была ценой стабилизации геномных нестабильностей внутри популяций, геномы представителей которых не поддерживают постоянного хромосомного набора. Ответы на эти вопросы мог бы дать анализ эволюционного развития *M. lignano*, его ближайших родственников – представителей рода *Macrostomum*, и более удаленных организмов из других групп свободноживущих плоских червей.

Возможен ли более совершенный органоогенез *in vitro*?

Помимо долгожительства и механизмов, стабилизирующих геном, *M. lignano* привлекает перспективами при исследовании направления регенеративной активности. Способность вырастить практически любую утраченную ткань, как считается, определяется в организме червя клеточным окружением неопластов (Mouton et al., 2018). Теоретически эту способность можно было бы отчасти воссоздать с использованием в качестве окружения модифицированных клеточных культур *in vitro* (Llames et al., 2015). Возможность культивировать клеточные популяции отдельных тканей *M. lignano* на данный момент еще не достигнута, но могла бы сильно упростить современные исследования по поиску транскрипционных факторов, ответственных за дифференциацию неопластов в конкретную ткань. На данный момент подобные работы вынужденно проводятся на целых взрослых червях, из-за чего в эксперимент вносится погрешность на общее состояние и поведение модельного организма – ритмы питания, спаривания, а также иные поведенческие аспекты, способны привести к задержке эффектов нокдауна или его менее очевидным проявлением (Sekii et al., 2009; Grudniewska et al., 2016, 2018; Mouton et al., 2021; Biryukov et al., 2022). Если когда-нибудь удастся получить культивируемую популяцию неопластов *M. lignano*, ее свойства можно будет сопоставить с уже существующими линиями индуци-

рованных плюрипотентных стволовых клеток и некоторых бессмертных (преимущественно, переродившихся) линий. В дальнейшем, проводя параллели, возможно появятся идеи, что конкретно можно модифицировать в уже существующих линиях, чтобы достичь аналогичного уровня регенеративных возможностей на клетках позвоночных. Конечно, особенности регенеративных способностей *M. lignano* вряд ли позволят в полной мере воспроизвести регенеративный потенциал неопластов на других организмах, но все еще могут помочь решить сложности, с которым сталкиваются исследователи на данный момент. Так, если бы любые клетки-предшественники человеческого организма можно было бы ввести в подобное неопластам плюрипотентное состояние, это могло бы привести к научному прорыву в клонировании тканей и органов. Конечно, на данный момент уже существует серия линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) (Abraham, Weiss, 2004; Adey et al., 2013). Из них уже получается выращивать миниатюрные копии органов (Shnaider, Pristysznyuk, 2021). На данный момент предел возможностей выращивания органических структур ограничен размером выращиваемой ткани и, следовательно, ее структурой, оксигенацией, питанием, иннервацией, то есть, сопутствующими тканями, без которых выживает лишь часть клеток на периферии. Именно с этой проблемой столкнулись подходы, основанные на идее использования 3D-принтеров, печатающих каркасы для будущих органов, которые затем заселяются делящейся тканью. Если, при должном стимуле и окружении, стволовые клетки, заселяемые в подобные каркасы, смогут, подобно неопластам *M. lignano*, формировать не только целевую ткань, но и структуры клеточного окружения, включая соответствующее ткани межклеточное пространство, регенеративная медицина и трансплантология смогут перешагнуть через очередную ограничивающую область проблему.

Однако для полного понимания того, как регенерировать ту или иную ткань, необходимо использовать подходы синтетической биологии по аналогии с работами по потоковому моделированию (Kulyashov et al., 2020). Разработка рабочей геномной модели регуляторных процессов в клетках *M. lignano* необходима для более точного предсказания генов, играющих роль клеточного сигналинга и факторов дифференциации, таких как транскрипционные факторы. Конечно, не обладающие кровеносной системой организмы вряд ли смогут способствовать решению проблемы прорастания сосудов в паренхиму органов, выращенных из ИПСК, однако, вероятнее всего, дополнят представления научного сообщества о сигналинге между клеткой и ее окружением, какими триггерными сигналами они обмениваются при гомеостазе и при необходимости восполнения утраченных тканей.

Триггеры и механизмы регенерации

Известен целый ряд организмов с разным уровнем способности к регенерации – черви, аксолотли и саламандры, оболочники и морские звезды (Kung et al., 2010; Katiki et al., 2011; McCusker, Gardiner, 2011; Sugimoto et al., 2011; Wu et al., 2012; Alvarado, Yamanaka, 2014; Parey et al., 2024). Так, даже про отдельные ткани человека имелся ряд утверждений о расширенных способностях к восстановлению. В одних случаях

под этим подразумевалось способность клеток печени наращивать объем для компенсации утраченных клеток (Kung et al., 2010; Choi et al., 2013). Однако регенерацией в прямом смысле данного термина этот процесс назвать сложно. В других случаях – под регенерацией могут понимать несистемные отклонения, приводящие к восстановлению некоторых тканей у отдельно взятых особей. Например, в ходе ряда работ была показана потенциальная возможность индуцирования и формирования у млекопитающих третьего поколения зубов. Такие события сначала считались единичными исключениями, или зубы вовсе вырастали из тератом, однако после рассмотрения отдельно взятых факторов (*Usag-1*, *Cebpb*, *Runx2*) удалось стимулировать закладку листка, из которого у лабораторных мышей сформировались неполноценные зубы, напоминающие большие осколки (Takahashi et al., 2013, 2020; Mishima et al., 2021). Изучение факторов, контролируемо запускающих в норме не функционирующие процессы, сложно переоценить.

Проводить подобные работы сразу на грызунах времязатратно, а также требует больших экспериментальных выборок. Эта проблема неплохо решается небольшими более простыми в содержании организмами. Постоянно регенерирующий объект, которому не требуется слишком много времени на восстановление, отлично подходит для изучения процессов, определяющих клеточную судьбу плюрипотентной клетки, а также выявления потенциальных механизмов, обуславливающих разный уровень способностей организмов к регенерации. Сначала, несомненно, необходимо понять, какой вклад в запуск и управление регенеративными процессами вносят стандартные сигнальные пути клетки, исследованные ранее на более сложных организмах, а что привносится в процесс неизученными *Macrostomum*-специфическими сигнальными путями. Можно предположить, что в основные процессы регуляции, имеющиеся у *M. lignano*, должны хотя бы отчасти соответствовать найденным уже у более сложных представителей животного мира организмов. Воспроизведение исследований на уже изученных сигнальных путях: MAPK/ERK, mTORC1/2, PI3CA/AKT и других (Williamson et al., 2003; Kennedy et al., 2011; Schulten et al., 2011; Zoncu et al., 2011; Johnson et al., 2013) – конечно, способно показать, какие отличия в них возникли у *M. lignano*, в особенности в свете недавнего раунда полногеномной дупликации. Однако многочисленные попытки провести эксперименты, отслеживающие изменения уровней экспрессии при различных процессах, показали активность многих ранее не исследованных генов, для части которых даже не определяется какой-либо гомологии по базам геномной онтологии (Gene Ontology, GO (The Gene Ontology Consortium et al., 2023), KEGG (Kanehisa et al., 2016) и пр.). Предполагается, что эти гены могут выполнять функции от мелких регуляторов, для новых структур, перехватывающих функциональную роль у стандартных для соответствующих процессов генов. Их изучение является отдельным вызовом, в первую очередь для морских биологов, занимающихся плоскими червями, а затем и для исследователей в области клеточной дифференциации. Как и в любом отдельно взятом организме, изучение сигнальных путей можно было бы начать с нокдауна отдельных участников

пути, например, сигнальных белков – G-ассоциированных белков, киназ и факторов транскрипции, чтобы затем наблюдать за смещением клеточного равновесия. Однако слепое отключение случайно выбранных участников пути маловероятно приведет к новым наблюдениям, в силу механизмов саморегуляции посредством обратной связи. Вместо этого, имеет смысл определить, какие из киназ или других участников пути экспрессируются на более высоком или низком уровне по сравнению с неспособными к регенерации организмами и приобрели ли они какие-либо дополнительные мишени. Подобных работ пока что не производилось, поскольку неохотно принято рассматривать не как популяцию обычных стволовых клеток, а таксон-специфичный тканевый комплекс. Изменения в сигнальных путях, которые, как предполагается, более активно задействованы у *M. lignano*, должны быть представлены в первую очередь генами, являющимися либо комплексами, воспринимающими раздражитель с поверхности или через клеточный контакты неопластов (получение стимула к регенерации) или факторами транскрипции (реакция на стимул к регенерации, приводящая к клеточной дифференциации). По результатам различных экспериментов по секвенированию РНК уже был проведен ряд исследований, определявших по уровням дифференциальной экспрессии гены, которые либо были предположительными участниками целевых процессов, либо предсказывались как косвенно вовлеченные в них. Среди опубликованных данных имеются эксперименты по возрастным категориям, регенерационному процессу, облучению жесткими дозами ультрафиолета и др (Pfister et al., 2007, 2008; De Mulder et al., 2009; Sekii et al., 2009; Zhou et al., 2015; Grudniewska et al., 2016, 2018; Wudarski et al., 2020; Brand et al., 2020; Biryukov et al., 2022).

Эволюция потенциала к регенерации

Регенерация среди плоских червей очень сильно различается между таксонами. Еще исследователи прошлых столетий показали невероятный разброс в способностях плоских червей регенерировать свое тело после повреждения (Brøndsted, 1955). Так, известны примеры практически полной неспособности регенерировать утраченные ткани, и, в противопоставление тому, ряд планарий, способных не просто восстановить каждую поврежденную или утраченную ткань, но и продолжить процесс с избыточным восстановлением, формируя различные уродства, такие как присутствие более чем одной головы на теле (Egger et al., 2006). Однако слишком широкий разброс генетических особенностей удаленных видов модельных червей не позволяет полноценно сравнивать их потенциал к регенерации, в силу сложности сделать поправки на все различия на генетическом, геномном и эпигенетическом уровнях вкуче с особенностями эволюционного развития и различиями при эмбриогенезе. Исходя из вышеописанных сложностей, первые шаги в этом направлении было бы разумно сделать на ряде близкородственных организмов в силу их лучшей сопоставимости.

Род *Macrostomum* представлен на данный момент не менее чем 145 видами, значительно варьирующими между собой по ряду признаков (Brand et al., 2022). Множественные морфологические различия в размерах и форме боль-

шинства анатомических структур, разница в хромосомном составе и ploидности, особенности брачного поведения и другие варьирующие признаки, как допускается, могли бы в своей совокупности внести погрешность в потенциалах к регенерации в пределах рода *Macrostomum*, что, однако, не было достоверно рассмотрено. В случае выявления даже незначительных отличий в регенерационном потенциале, понимание того, как незначительные изменения внутри генома и хромосомного состава могли приводить к сдвигам в процессах, возникших у общего предка, и, наиболее вероятно, регулирующихся одним и тем же набором генов, может стать отправной точкой в управлении данным процессом *in vitro*. В дальнейшем подобные результаты потенциально могли бы быть применены к трансгенным позвоночным, с перспективой применения в медицинских целях.

Регенерация у видов рода *Macrostomum* в настоящий момент исследуется преимущественно на наиболее проработанном модельном объекте – виде *M. lignano*. На нем было показано, что у этого вида, как и у большинства червей *Macrostomum*, имеется выработавшийся эволюционно предел регенеративных способностей: они не способны регенерировать большую часть головы выше верхней части глотки. Считается, что неспособность к регенерации органов головы объясняется практически полным отсутствием в ней популяции неопластов, в то время как у ряда модельных планарий показана способность регенерировать голову и даже не одну (Rink, 2013). С точки зрения сравнительного анализа адаптаций это свойство можно считать полезным, поскольку предупреждает риск избыточной активации регенерационного процесса, способного формировать опухоли различного генеза. С одной стороны, это ограничение служит своего рода гарантией, что рассмотрение разброса в уровне регенерационных возможностей в пределах рода *Macrostomum* не создаст сложностей из-за каких-либо лишённых системности наблюдений. С другой же стороны, остается не менее интересным вопрос о том, как вообще черви *Macrostomorpha* в большинстве своем утратили потенциал к восстановлению нервной системы. Понимание тех отличий, что были приобретены или, наоборот, утрачены у представителей *Macrostomorpha*, которые привели к неспособности, или, наоборот, отказу от возможности регенерировать центральные нервные узлы и прилегающие к ним ткани, могли бы оказаться схожими с невысокой восстановительной активностью нейронов у позвоночных.

Предполагается, что *Macrostomorpha* все же способны хотя бы отчасти восстановить регенерационный потенциал своих родственников-планарий. Так, сообщалось, что в лабораторных условиях удалось заставить *M. lignano* восстанавливать голову (Simanov et al., 2012). Достижение подобного результата уже сыграло бы немалую роль в дальнейших исследованиях дифференциативного и регенеративного потенциалов.

Регенерация нейронов: возможно ли это?

Вопрос регенерации нервной ткани остро стоит для человечества, поскольку нейроны – наиболее сложные в восстановлении клетки, при повреждении которых необходимо не только восстановить численность, но и воспроизвести исходный порядок ветвящихся связей дендритов и аксонов в

исходном состоянии. При невозможности достичь исходного состояния, даже при полном восстановлении клеточной популяции исходные свойства, связанные с механическими движениями, памятью и иными когнитивными функциями в лучшем случае потребует повторного обучения, а в худшем, исходный функционал будет утрачен. Именно поэтому научные сотрудники столетиями бьются над рядом нейродегенеративных заболеваний.

Конечно, на таком организме, как *M. lignano*, не способном к высшим когнитивным реакциям, невозможно в полной мере воспроизвести всю сложность мозга позвоночных, однако он все еще может быть использован для исследований регенерации нервной ткани. Описан ряд поведенческих реакций червей *M. lignano* на стресс, разные формы пищевого поведения и другие (Rivera-Ingraham et al., 2013; Brand, 2023). По аналогии с человеком *M. lignano* способен восстанавливать нервные отростки поврежденных при ампутации ганглиев, и восстановлению периферических клеток нервной системы, но не ганглии, также выполняющие у данного организма функцию мозга. Конечно, с имеющейся популяцией неопластов, *M. lignano* очевидно превосходит человека в силу простоты его анатомического устройства. Это, однако, не отменяет возможности наблюдать на данном модельном объекте процессы роста отростков и изменения, происходящие в них, на молекулярном уровне.

Потенциал к трансгенной модификации *M. lignano* неоднократно был продемонстрирован серией публикаций ряда исследовательских групп (Wudarski et al., 2017; Ustyantsev et al., 2021; Sukhikh et al., 2022). Ряд генетических конструкций, экспрессирующих не свойственные червю белки уже первое десятилетие используется в различных целях (от работ с генами, продукты которых выполняют сигнальные функции до эссенциально важных для реализации отдельных процессов, работы целых систем органов, поддержания численности популяции неопластов и др.). Нейродегенеративные заболевания, одним из промежуточных симптомов которых становится избыточное накопление в клеточной матриксе и межклетнике различных веществ неадекватной изоформы (такие как тау-белки и бета-амилоиды при болезни Альцгеймера (Fändrich et al., 2011; Kolarova et al., 2012), белки семейства синуклеинов и другие при болезни Паркинсона (Bloem et al., 2021)), в теории, могли бы быть смоделированы на *M. lignano*, после введения, например, трансгенной конструкции, конститутивно производящей модифицированный тау-белок. Любой исход подобной модели может быть интересен научному сообществу: либо черви полученной линии, действительно, станут организмами, страдающими частичным проявлением болезни Альцгеймера; либо, если адаптивные особенности *M. lignano* позволяют ему как-либо справляться с накоплением вредоносной патологией, у исследователей может возникнуть потенциальное решение аналогичной проблемы на человеке. Таким образом, *M. lignano* может стать ценным инструментом для моделирования нейродегенеративных процессов или противодействию таковым, если адаптировать на нем ряд методик, используемых преимущественно при работе с нервной системой позвоночных.

Репродуктивная система: что может пойти не так?

Достоверно известно, что будучи носителями двух наборов гонад, черви *M. lignano* способны не только полностью регенерировать ампутированные органы полового размножения, но и способны самостоятельно их переваривать в условиях недостатка пищи (Mouton et al., 2018). Таким образом, можно считать, что репродуктивная система – наиболее часто регенерируемая в естественных условиях система. Хотя *M. lignano* является гермафродитом и принципы формирования гонад и гаплоидных половых клеток в целом регулируются общими процессами, изучение данного объекта на молекулярном, а также органном и гормональном уровнях вряд ли окажется достаточно интересными для их последующей аппроксимации на более сложно организованные организмы. Однако интересные наблюдения все еще вероятны. Так, в недавнем исследовании, имевшем цель выявить гены, активно участвующие в делении неопластов, неожиданно получены результаты, свидетельствующие о роли гена *Mlig-SKP1*, гомолога человеческого *SKP1*, при нокадауне которого черви становились временно стерильными по мужским гаметам, поскольку без участия гена сперматогенез останавливался на стадии первого редукционного деления (Biryukov et al., 2022). Параллельно гомолог человеческого *SKP1* изучался более углубленно другой группой на мышах, где было показано, что ген, помимо известной по данным GO функции в формировании комплексов центровых и SCF (комплекс из следующих основных элементов: *Skp1*, *Cullin*, *F-box protein* (Zheng et al., 2002)), также играл роль в репарации двухцепочечных разрывов, происходящих по мере созревания спермиев 1 порядка (Guan et al., 2020, 2022). В своей совокупности, эти данные говорят об *SKP1* как о потенциальном таргете для разработки мужских контрацептивов, препаратов, на данный момент не имеющих зарегистрированной на рынке марки. Подобный пример консервативности функций отдельно выбранного гена говорит в пользу возможности обнаружения иных интересных закономерностей, происходящих в репродуктивной системе червей, которые, возможно в несколько измененном виде, могут быть применимы на человеке.

Регенерация как противодействие опухолевому генезу и токсическим эффектам

Особи *M. lignano* существуют преимущественно на той точке баланса между регенерацией и бесконтрольным ростом клеточной популяции, переходящим в перерождение как отдельно выбранных клеток, так и всей разрастающейся ткани. При этом, согласно утверждениям ряда исследователей, черви *M. lignano* в естественных условиях никогда не страдают от каких-либо форм онкогенеза, за исключением искусственно индуцированного (Mouton et al., 2009; Simanov et al., 2012; Willems et al., 2015). Особая устойчивость к веществам с токсическим воздействием отмечалась ранее для многих модельных планарий, отражая связь регенеративного потенциала и общей резистентности. В экспериментах с целенаправленной индукцией процессов, приводящих к гибели червей или фенотипам, содержащим неестественные выросты и прочие проявления нарушения тканевого гомеостаза, производимых как на *M. lignano*, так и на других

регенерирующих червях, значения LD50 при пересчете на массу тела выходила значительно выше, чем таковая у экспериментальных мышей (Katiki et al., 2011; Wu et al., 2012; Rink, 2013; Ribeiro, Umbuzeiro, 2014; Stevens et al., 2017; Voura et al., 2017; Van Roten et al., 2018). Токсикологические исследования на *M. lignano* могут показаться недостаточно перспективными, однако понимание, насколько избыточная по сравнению с привычной высшим эукариотам регенерация способна аккумулировать ресурсы организма против тотальных доз вредоносных агентов, все еще может дать пищу для размышлений медицинского толка. Например, остается неясным, как червь выводит относительно летальные дозы, сохраняя и восстанавливая при этом целостность тканевой и органной структур. Также до сих пор не удалось отследить, как в клетки червей доставляется двухцепочечная РНК, в растворах которой их вымачивают для проведения нокадауна целевых генов. Как именно при такой регенерации работают механизмы, не позволяющие популяции червей страдать от онкогенеза, – пока неизвестно.

Вызывают интерес и защитные свойства червя, предположительно зависящие от регуляции неопластов на молекулярном уровне, позволяющие *M. lignano* переживать высокие дозы жесткого ультрафиолета (УФ С, 210Гр) (Wudarski et al., 2017). Механизмы подобной защиты остаются неизученными. Очевидно, что из-за особенностей своего места обитания, особи рода *Macrostomum* также приспособились к временной засухе, изменению солености среды, резкому перепаду температур (даже имеют мобильные элементы, активируемые по принципу аналогичному белкам теплового шока (Wudarski et al., 2019)) и прочим варьирующим условиям окружающей среды (Egger et al., 2006; Mouton et al., 2009). Все вышеперечисленные факторы способны вызвать серьезный стресс у многих морских организмов, отчего жизнеспособность червей *M. lignano* представляет особый интерес в процессах противодействия стрессу, делая его потенциальным объектом для исследования влияния активных форм кислорода, поскольку, как известно, оксидативный стресс – один из путей клеточного ответа на стрессорные факторы.

Все перечисленные проблемы лежат в одной плоскости с вопросом о геномной стабильности *M. lignano* и особенностях механизмов, регулирующих у данных организмов репарацию ДНК, клеточный арест, своевременный апоптоз, и других.

Заключение

Баланс между геномной нестабильностью и высоким регенеративным потенциалом, наблюдаемый у *M. lignano*, приближает исследователей к пониманию тонкостей между регенерацией и клеточным перерождением. Адаптации, возникшие у данного объекта, представляют интерес для исследований в области старения, токсикологического ответа на клеточном уровне, сигналинга клетки с ее окружением, потенциала моделировать нейродегенеративные заболевания человека на упрощенной модели нервной системы, а также в разработке новых подходов к культивации клеточных культур. Таким образом, *M. lignano*, а также его ближайшие (род *Macrostomum*) и более удаленные родственники

(планарии), изучаемые как по отдельности, так и в общей совокупности, могут быть перспективным инструментом в ряде исследований в качестве модельных объектов.

Список литературы / References

- Родионов А.В. Полиплоидия и межвидовая гибридизация в эволюции цветковых растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):916-929
[Rodionov A.V. Polyploidy and interspecific hybridization in the evolution of flowering plants. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):916-929 (in Russian)]
- Устьянцев К.В., Вавилова В.Ю., Блинов А.Г., Березиков Е.В. *Macrostomum lignano* как модельный объект для исследования генетики и геномики паразитических плоских червей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(1):108-116. doi 10.18699/VJ21.013
[Ustyantsev K.V., Vavilova V.Y., Blinov A.G., Berezikov E.V. *Macrostomum lignano* as a model to study the genetics and genomics of parasitic flatworms. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(1):108-116. doi 10.18699/VJ21.013 (in Russian)]
- Abraham R.T., Weiss A. Jurkat T cells and development of the T-cell receptor signalling paradigm. *Nat. Rev. Immunol.* 2004;4(4):301-308. doi 10.1038/nri1330
- Acosta J.C., O'Loughlin A., Banito A., Guijarro M.V., Augert A., Raguz S., Fumagalli M., Da Costa M., Brown C., Popov N., Takatsu Y., Melamed J., d'Adda di Fagagna F., Bernard D., Hernandez E., Gil J. Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell*. 2008;133(6):1006-1018. doi 10.1016/j.cell.2008.03.038
- Adey A., Burton J.N., Kitzman J.O., Hiatt J.B., Lewis A.P., Martin B.K., Qiu R., Lee C., Shendure J. The haplotype-resolved genome and epigenome of the aneuploid HeLa cancer cell line. *Nature*. 2013;500(7461):207-211. doi 10.1038/nature12064
- Alvarado A.S., Yamanaka S. Rethinking differentiation: stem cells, regeneration, and Plasticity. *Cell*. 2014;157(1):110-119. doi 10.1016/j.cell.2014.02.041
- Bertemes P., Grosbusch A.L., Egger B. No head regeneration here: regeneration capacity and stem cell dynamics of *Theama mediterranea* (Polycladida, Platyhelminthes). *Cell Tissue Res*. 2020;379(2):301-321. doi 10.1007/s00441-019-03094-8
- Bessereau J.-L. Transposons in *C. elegans*. In: The *C. elegans* research community. WormBook, 2006;1-13. doi 10.1895/wormbook.1.70.1
- Biryukov M., Berezikov E., Ustyantsev K. Classification of LTR retrotransposons in the flatworm *Macrostomum lignano*. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;6(2):54-59. doi 10.18699/Letters2020-6-12
- Biryukov M., Dmitrieva A., Vavilova V., Ustyantsev K., Bazarova E., Sukhikh I., Berezikov E., Blinov A. Mlig-SKP1 gene is required for spermatogenesis in the flatworm *Macrostomum lignano*. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(23):15110. doi 10.3390/ijms232315110
- Bloem B.R., Okun M.S., Klein C. Parkinson's disease. *Lancet*. 2021;397(10291):2284-2303. doi 10.1016/S0140-6736(21)00218-X
- Bondy C.A., Cheng C. Monosomy for the X chromosome. *Chromosome Res*. 2009;17(5):649-658. doi 10.1007/s10577-009-9052-z
- Brand J.N. Support for a radiation of free-living flatworms in the African Great Lakes region and the description of five new *Macrostomum* species. *Front. Zool.* 2023;20(1):31. doi 10.1186/s12983-023-00509-9
- Brand J.N., Wiberg R.A.W., Pjeta R., Bertemes P., Beisel C., Ladurner P., Schärer L. RNA-Seq of three free-living flatworm species suggests rapid evolution of reproduction-related genes. *BMC Genomics*. 2020;21(1):462. doi 10.1186/s12864-020-06862-x
- Brand J.N., Viktorin G., Wiberg R.A.W., Beisel C., Schärer L. Large-scale phylogenomics of the genus *Macrostomum* (Platyhelminthes) reveals cryptic diversity and novel sexual traits. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2022;166:107296. doi 10.1016/j.ympev.2021.107296
- Brøndsted H.V. Planarian regeneration. *Biol. Rev.* 1955;30(1):65-126. doi 10.1111/j.1469-185X.1955.tb00649.x
- Buffenstein R. The naked mole-rat: A new long-living model for human aging research. *J. Gerontol. Ser. A*. 2005;60(11):1369-1377. doi 10.1093/gerona/60.11.1369
- Cahill S., Smyth P., Denning K., Flavin R., Li J., Potratz A., Guenther S.M., Henfrey R., O'Leary J.J., Sheils O. Effect of BRAFV600E mutation on transcription and post-transcriptional regulation in a papillary thyroid carcinoma model. *Mol. Cancer*. 2007;6:21. doi 10.1186/1476-4598-6-21
- Choi S.M., Kim Y., Shim J.S., Park J.T., Wang R.-H., Leach S.D., Liu J.O., Deng C., Ye Z., Jang Y.-Y. Efficient drug screening and gene correction for treating liver disease using patient-specific stem cells. *Hepatology*. 2013;57(6):2458-2468. doi 10.1002/hep.26237
- Cui Y., Xu J., Cheng M., Liao X., Peng S. Review of CRISPR/Cas9 sgRNA design tools. *Interdiscip. Sci. Comput. Life Sci.* 2018;10(2):455-465. doi 10.1007/s12539-018-0298-z
- d'Adda di Fagagna F. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat. Rev. Cancer*. 2008;8(7):512-522. doi 10.1038/nrc2440
- De Mulder K., Pfister D., Kualess G., Egger B., Salvenmoser W., Willems M., Steger J., Fauster K., Micura R., Borgonie G., Ladurner P. Stem cells are differentially regulated during development, regeneration and homeostasis in flatworms. *Dev. Biol.* 2009;334(1):198-212. doi 10.1016/j.ydbio.2009.07.019
- Deng Q., Liao R., Wu B.-L., Sun P. High intensity ras signaling induces premature senescence by activating p38 pathway in primary human fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 2004;279(2):1050-1059. doi 10.1074/jbc.M308644200
- Egger B., Ladurner P., Nimeth K., Gschwentner R., Rieger R. The regeneration capacity of the flatworm *Macrostomum lignano* – on repeated regeneration, rejuvenation, and the minimal size needed for regeneration. *Dev. Genes Evol.* 2006;216(10):565-577. doi 10.1007/s00427-006-0069-4
- Fabian D.K., Fuentelba M., Dönertaş H.M., Partridge L., Thornton J.M. Functional conservation in genes and pathways linking ageing and immunity. *Immun. Ageing*. 2021;18(1):23. doi 10.1186/s12979-021-00232-1
- Fändrich M., Schmidt M., Grigorieff N. Recent progress in understanding Alzheimer's β -amyloid structures. *Trends Biochem. Sci.* 2011;36(6):338-345. doi 10.1016/j.tibs.2011.02.002
- Grosbusch A.L., Bertemes P., Kauffmann B., Gotsis C., Egger B. Do not lose your head over the unequal regeneration capacity in proleciophoran flatworms. *Biology*. 2022;11(11):1588. doi 10.3390/biology11111588
- Grudniewska M., Mouton S., Simanov D., Beltman F., Grelling M., de Mulder K., Arindarto W., Weissert P.M., van der Elst S., Berezikov E. Transcriptional signatures of somatic neoblasts and germline cells in *Macrostomum lignano*. *eLife*. 2016;5:e20607. doi 10.7554/eLife.20607
- Grudniewska M., Mouton S., Grelling M., Wolters A.H.G., Kuipers J., Giepmans B.N.G., Berezikov E. A novel flatworm-specific gene implicated in reproduction in *Macrostomum lignano*. *Sci. Rep.* 2018;8(1):3192. doi 10.1038/s41598-018-21107-4
- Guan Y., Leu N.A., Ma J., Chmátal L., Ruthel G., Bloom J.C., Lampson M.A., Schimenti J.C., Luo M., Wang P.J. SKP1 drives the prophase I to metaphase I transition during male meiosis. *Sci. Adv.* 2020;6(13):eaaz2129. doi 10.1126/sciadv.aaz2129
- Guan Y., Lin H., Leu N.A., Ruthel G., Fuchs S.Y., Busino L., Luo M., Wang P.J. SCF ubiquitin E3 ligase regulates DNA double-strand breaks in early meiotic recombination. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(9):5129-5144. doi 10.1093/nar/gkac304
- Guidetti R., Rizzo A.M., Altiero T., Rebecchi L. What can we learn from the toughest animals of the Earth? Water bears (tardigrades) as multicellular model organisms in order to perform scientific preparations for lunar exploration. *Planet. Space Sci.* 2012;74(1):97-102. doi 10.1016/j.pss.2012.05.021
- Hannum G., Guinney J., Zhao L., Zhang L., Hughes G., Sadda S., Klotzle B., Bibikova M., Fan J.-B., Gao Y., Deconde R., Chen M., Rajapakse I., Friend S., Ideker T., Zhang K. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Mol. Cell*. 2013;49(2):359-367. doi 10.1016/j.molcel.2012.10.016
- Hayflick L., Moorhead P.S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 1961;25(3):585-621. doi 10.1016/0014-4827(61)90192-6
- Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol.* 2013;14(10):3156. doi 10.1186/gb-2013-14-10-r115
- Johnson S.C., Rabinovitch P.S., Kaeberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature*. 2013;493(7432):338-345. doi 10.1038/nature11861

- Jorm A.F., Christensen H., Henderson A.S., Jacomb P.A., Korten A.E., Mackinnon A. Factors associated with successful ageing. *Australas. J. Ageing*. 1998;17(1):31-37. doi 10.1111/j.1741-6612.1998.tb00222.x
- Kanehisa M., Sato Y., Kawashima M., Furumichi M., Tanabe M. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(D1):D457-D462. doi 10.1093/nar/gkv1070
- Katiki L.M., Ferreira J.F.S., Zajac A.M., Masler C., Lindsay D.S., Chagas A.C.S., Amarante A.F.T. *Caenorhabditis elegans* as a model to screen plant extracts and compounds as natural anthelmintics for veterinary use. *Vet. Parasitol.* 2011;182(2-4):264-268. doi 10.1016/j.vetpar.2011.05.020
- Kennedy A.L., Morton J.P., Manoharan I., Nelson D.M., Jamieson N.B., Pawlikowski J.S., McBryan T., Doyle B., McKay C., Oien K.A., Enders G.H., Zhang R., Sanson O.J., Adams P.D. Activation of the PIK3CA/AKT pathway suppresses senescence induced by an activated RAS oncogene to promote tumorigenesis. *Mol. Cell*. 2011;42(1):36-49. doi 10.1016/j.molcel.2011.02.020
- Kolarova M., García-Sierra F., Bartos A., Ricny J., Ripova D. Structure and pathology of tau protein in Alzheimer disease. *Int. J. Alzheimers Dis*. 2012;2012:731526. doi 10.1155/2012/731526
- Kuilman T., Michaloglou C., Vredevelde L.C.W., Douma S., van Doorn R., Desmet C.J., Aarden L.A., Mooi W.J., Peepers D.S. Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell*. 2008;133(6):1019-1031. doi 10.1016/j.cell.2008.03.039
- Kulyashov M., Peltek S.E., Akberdin I.R. A genome-scale metabolic model of 2,3-butanediol production by thermophilic bacteria *Geobacillus icigianus*. *Microorganisms*. 2020;8(7):1002. doi 10.3390/microorganisms8071002
- Kung J.W.C., Currie I.S., Forbes S.J., Ross J.A. Liver development, regeneration, and carcinogenesis. *BioMed Res. Int*. 2010;2010(1):984248. doi 10.1155/2010/984248
- Ladurner P., Schärer L., Salvenmoser W., Rieger R.M. A new model organism among the lower Bilateria and the use of digital microscopy in taxonomy of meiobenthic Platyhelminthes: *Macrostomum lignano*, n. sp. (Rhabditophora, Macrostromorpha). *J. Zool. Syst. Evol. Res*. 2005;43(2):114-126. doi 10.1111/j.1439-0469.2005.00299.x
- Leggett V., Jacobs P., Nation K., Scerif G., Bishop D.V.M. Neurocognitive outcomes of individuals with a sex chromosome trisomy: XXX, XYY, or XXY: a systematic review. *Dev. Med. Child Neurol*. 2010;52(2):119-129. doi 10.1111/j.1469-8749.2009.03545.x
- Lengerer B., Pjeta R., Wunderer J., Rodrigues M., Arbore R., Schärer L., Berezikov E., Hess M.W., Pfaller K., Egger B., Obwegeser S., Salvenmoser W., Ladurner P. Biological adhesion of the flatworm *Macrostomum lignano* relies on a duo-gland system and is mediated by a cell type-specific intermediate filament protein. *Front. Zool*. 2014;11(1):12. doi 10.1186/1742-9994-11-12
- Llames S., García-Pérez E., Meana Á., Larcher F., del Río M. Feeder layer cell actions and applications. *Tissue Eng. Part B Rev*. 2015;21(4):345-353. doi 10.1089/ten.teb.2014.0547
- Martín-Durán J.M., Egger B. Developmental diversity in free-living flatworms. *EvoDevo*. 2012;3(1):7. doi 10.1186/2041-9139-3-7
- McCusker C., Gardiner D.M. The axolotl model for regeneration and aging research: A mini-review. *Gerontology*. 2011;57(6):565-571. doi 10.1159/000323761
- McKee K.J., Schüz B. Psychosocial factors in healthy ageing. *Psychol. Health*. 2015;30(6):607-626. doi 10.1080/08870446.2015.1026905
- Mishima S., Takahashi K., Kiso H., Murashima-Suginami A., Tokita Y., Jo J.-I., Uozumi R., Nambu Y., Huang B., Harada H., Komori T., Sugai M., Tabata Y., Bessho K. Local application of Usag-1 siRNA can promote tooth regeneration in Runx2-deficient mice. *Sci. Rep*. 2021;11(1):13674. doi 10.1038/s41598-021-93256-y
- Mouton S., Willems M., Braeckman B.P., Egger B., Ladurner P., Schärer L., Borgonie G. The free-living flatworm *Macrostomum lignano*: A new model organism for ageing research. *Exp. Gerontol*. 2009;44(4):243-249. doi 10.1016/j.exger.2008.11.007
- Mouton S., Wudarski J., Grudniewska M., Berezikov E. The regenerative flatworm *Macrostomum lignano*, a model organism with high experimental potential. *Int. J. Dev. Biol*. 2018;62(6-7-8):551-558. doi 10.1387/ijdb.180077eb
- Mouton S., Ustyantsev K., Beltman F., Glazenburg L., Berezikov E. TIM29 is required for enhanced stem cell activity during regeneration in the flatworm *Macrostomum lignano*. *Sci. Rep*. 2021;11(1):1166. doi 10.1038/s41598-020-80682-7
- Palm W., de Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres. *Ann. Rev. Genet*. 2008;42:301-334. doi 10.1146/annurev.genet.41.110306.130350
- Parey E., Ortega-Martinez O., Delroisse J., Piovani L., Czarkwiani A., Dylus D., Arya S., Dupont S., Thorndyke M., Larsson T., Johannesson K., Buckley K.M., Martinez P., Oliveri P., Marlétaz F. The brittle star genome illuminates the genetic basis of animal appendage regeneration. *Nat. Ecol. Evol*. 2024;8(8):1505-1521. doi 10.1038/s41559-024-02456-y
- Parker J.A., Mattos C. The K-Ras, N-Ras, and H-Ras isoforms: unique conformational preferences and implications for targeting oncogenic mutants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2018;8(8):a031427. doi 10.1101/cshperspect.a031427
- Petersen M.B., Mikkelsen M. Nondisjunction in trisomy 21: Origin and mechanisms. *Cytogenet. Cell Genet*. 2001;91(1-4):199-203. doi 10.1159/000056844
- Pfister D., De Mulder K., Philipp I., Kualess G., Hrouda M., Eichberger P., Borgonie G., Hartenstein V., Ladurner P. The exceptional stem cell system of *Macrostomum lignano*: Screening for gene expression and studying cell proliferation by hydroxyurea treatment and irradiation. *Front. Zool*. 2007;4(1):9. doi 10.1186/1742-9994-4-9
- Pfister D., De Mulder K., Hartenstein V., Kualess G., Borgonie G., Marx F., Morris J., Ladurner P. Flatworm stem cells and the germ line: developmental and evolutionary implications of macvsa expression in *Macrostomum lignano*. *Dev. Biol*. 2008;319(1):146-159. doi 10.1016/j.ydbio.2008.02.045
- Pinkston J.M., Garigan D., Kenyon C. Mutations that increase the life span of *C. elegans* inhibit tumor growth. *Science*. 2006;313(5789):971-975. doi 10.1126/science.1121908
- Qian W., Zhang J. Gene dosage and gene duplicability. *Genetics*. 2008;179(4):2319-2324. doi 10.1534/genetics.108.090936
- Ramm S.A., Schlatter A., Poirier M., Schärer L. Hypodermic self-insemination as a reproductive assurance strategy. *Proc. Biol. Sci*. 2015;282(1811):20150660. doi 10.1098/rspb.2015.0660
- Renny-Byfield S., Wendel J.F. Doubling down on genomes: Polyploidy and crop plants. *Am. J. Bot*. 2014;101(10):1711-1725. doi 10.3732/ajb.1400119
- Ribeiro A.R., Umbuzeiro G.D.A. Effects of a textile azo dye on mortality, regeneration, and reproductive performance of the planarian, *Girardia tigrina*. *Environ. Sci. Eur*. 2014;26(1):22. doi 10.1186/s12302-014-0022-5
- Rink J.C. Stem cell systems and regeneration in planaria. *Dev. Genes Evol*. 2013;223(1):67-84. doi 10.1007/s00427-012-0426-4
- Rivera-Ingraham G.A., Bickmeyer U., Abele D. The physiological response of the marine platyhelminth *Macrostomum lignano* to different environmental oxygen concentrations. *J. Exp. Biol*. 2013;216(14):2741-2751. doi 10.1242/jeb.081984
- Rufini A., Tucci P., Celardo I., Melino G. Senescence and aging: the critical roles of p53. *Oncogene*. 2013;32(43):5129-5143. doi 10.1038/onc.2012.640
- Schulten H.J., Al-Maghrabi J., Al-Ghamdi K., Salama S., Al-Muhayawi S., Chaudhary A., Hamour O., Abuzenadah A., Gari M., Al-Qahtani M. Mutational screening of *RET*, *HRAS*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *AKT1*, and *CTNNB1* in medullary thyroid carcinoma. *Anticancer Res*. 2011;31(12):4179-4183
- Sekii K., Salvenmoser W., De Mulder K., Schärer L., Ladurner P. *Melav2*, an *elav*-like gene, is essential for spermatid differentiation in the flatworm *Macrostomum lignano*. *BMC Dev. Biol*. 2009;9(1):62. doi 10.1186/1471-213X-9-62
- Shnaider T.A., Pristysznyuk I.E. CLARITY and Light-Sheet microscopy sample preparation in application to human cerebral organoids. *Vavilov J. Genet. Breed*. 2021;25(8):889-895. doi 10.18699/VJ21.103
- Simanov D., Mellaart-Straver I., Sormacheva I., Berezikov E. The flatworm *Macrostomum lignano* is a powerful model organism for ion channel and stem cell research. *Stem Cells Int*. 2012;2012(1):167265. doi 10.1155/2012/167265
- Stevens A.-S., Willems M., Plusquin M., Ploem J.-P., Winkelmanns E., Artois T., Smeets K. Stem cell proliferation patterns as an alternative for in vivo prediction and discrimination of carcinogenic compounds. *Sci. Rep*. 2017;7(1):45616. doi 10.1038/srep45616
- Sugimoto K., Gordon S.P., Meyerowitz E.M. Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just dif-

- ferentiation? *Trends Cell Biol.* 2011;21(4):212-218. doi 10.1016/j.tcb.2010.12.004
- Sukhikh I.S., Biryukov M.Y., Blinov A.G. Transgenesis in worms: candidates for an ideal model. *Mol. Biol. (Mosk.)*. 2022;56(6):983-989. doi 10.31857/S0026898422060210
- Takahashi K., Kiso H., Saito K., Togo Y., Tsukamoto H., Huang B., Bessho K. Feasibility of gene therapy for tooth regeneration by stimulation of a third dentition. In: Molina F.M. (Ed.). *Gene Therapy*. In-Tech, 2013;727-744. doi 10.5772/52529
- Takahashi K., Kiso H., Murashima-Suginami A., Tokita Y., Sugai M., Tabata Y., Bessho K. Development of tooth regenerative medicine strategies by controlling the number of teeth using targeted molecular therapy. *Inflamm. Regen.* 2020;40(1):21. doi 10.1186/s41232-020-00130-x
- The Gene Ontology Consortium; Aleksander S.A., Balhoff J., Carbon S., Cherry J.M., Drabkin H.J., Ebert D., Feuermann M., Gaudet P., Harris N.L., Hill D.P., Lee R., Mi H., Moxon S., Mungall C.J., Muruganugan A., Mushayahama T., Sternberg P.W., Thomas P.D., Van Auken K., Ramsey J., Siegele D.A., Chisholm R.L., Fey P., Aspromonte M.C., Nugnes M.V., Quaglia F., Tosatto S., Giglio M., Nadendla S., Antonazzo G., Attrill H., dos Santos G., Marygold S., Strelets V., Tabone C.J., Thurmond J., Zhou P., Ahmed S.H., Asanithong P., Luna Buitrago D., Erdol M.N., Gage M.C., Ali Kadhum M., Li K.Y.C., Long M., Michalak A., Pesala A., Pritazahra A., Saverimuttu S.C.C., Su R., Thurlow K.E., Lovering R.C., Logie C., Oliferenko S., Blake J., Christie K., Corbani L., Dolan M.E., Drabkin H.J., Hill D.P., Ni L., Sitnikov D., Smith C., Cuzick A., Seager J., Cooper L., Elser J., Jaiswal P., Gupta P., Jaiswal P., Naithani S., Lera-Ramirez M., Rutherford K., Wood V., De Pons J.L., Dwinell M.R., Hayman G.T., Kaldunski M.L., Kwitek A.E., Lauderkind S.J.F., Tutaj M.A., Vedi M., Wang S.-J., D'Eustachio P., Aimo L., Axelsen K., Bridge A., Hyka-Nouspikel N., Morgat A., Aleksander S.A., Cherry J.M., Engel S.R., Karra K., ..., Gos A., Gruaz-Gumowski N., Hulo C., Hyka-Nouspikel N., Raciti D., Jungo F., Le Mercier P., Lieberherr D., Masson P., Morgat A., Pedruzzi I., Pourcel L., Poux S., Rivoire C., Sundaram S., Bateman A., Bowler-Barnett E., Bye-A-Jee H., Denny P., Ignatchenko A., Ishtiaq R., Lock A., Lussi Y., Magrane M., Martin M.J., Orchard S., Raposo P., Speretta E., Tyagi N., Warner K., Zaru R., Diehl A.D., Lee R., Chan J., Diamantakis S., Raciti D., Zarowiecki M., Fisher M., James-Zorn C., Ponferrada V., Zorn A., Ramachandran S., Ruzicka L., Westerfield M. The Gene Ontology knowledge base in 2023. *Genetics*. 2023;224(1):iyad031. doi 10.1093/genetics/iyad031
- Tomczyk S., Fischer K., Austad S., Galliot B. Hydra, a powerful model for aging studies. *Invertebr. Reprod. Dev.* 2015;59(Suppl. 1):11-16. doi 10.1080/07924259.2014.927805
- Tu Z., Aird K.M., Bitler B.G., Nicodemus J.P., Beeharry N., Xia B., Yen T.J., Zhang R. Oncogenic Ras regulates BRIP1 expression to induce dissociation of BRCA1 from chromatin, inhibit DNA repair, and promote senescence. *Dev. Cell.* 2011;21(6):1077-1091. doi 10.1016/j.devcel.2011.10.010
- Udall J.A., Wendel J.F. Polyploidy and crop improvement. *Crop Sci.* 2006;46(51):S3-S14. doi 10.2135/cropsci2006.07.0489tpg
- Ustyantsev K., Wudarski J., Sukhikh I., Reinoite F., Mouton S., Berezikov E. Proof of principle for piggyBac-mediated transgenesis in the flatworm *Macrostomum lignano*. *Genetics*. 2021;218(3):iyab076. doi 10.1093/genetics/iyab076
- Van Roten A., Barakat A.Z.A.-Z., Wouters A., Tran T.A., Mouton S., Noben J.-P., Gentile L., Smeets K. A carcinogenic trigger to study the function of tumor suppressor genes in *Schmidtea mediterranea*. *Dis. Model. Mech.* 2018;11(9):dmm032573. doi 10.1242/dmm.032573
- Voura E.B., Montalvo M.J., Dela Roca K.T., Fisher J.M., Defamie V., Narala S.R., Khokha R., Mulligan M.E., Evans C.A. Planarians as models of cadmium-induced neoplasia provide measurable benchmarks for mechanistic studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2017;142:544-554. doi 10.1016/j.ecoenv.2017.04.044
- Wasik K., Gurtowski J., Zhou X., Ramos O.M., Delás M.J., Battistoni G., El Demerdash O., Falcatori I., Vizoso D.B., Smith A.D., Ladurner P., Schärer L., McCombie W.R., Hannon G.J., Schatz M.C. Genome and transcriptome of the regeneration-competent flatworm, *Macrostomum lignano*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015;112(40):12462-12467. doi 10.1073/pnas.1516718112
- Willems M., Stevens A.-S., Adriaens E., Plusquin M., Smeets K., Van Goethem F., Vanparys P., Janssen C., Remon J.-P. An adult stem cell proliferation assay in the flatworm model *Macrostomum lignano* to predict the carcinogenicity of compounds. *Appl. Vitro Toxicol.* 2015;1(3):213-219. doi 10.1089/avt.2015.0011
- Williamson D., Gallagher P., Harber M., Hollon C., Trappe S. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway activation: effects of age and acute exercise on human skeletal muscle. *J. Physiol.* 2003;547(3):977-987. doi 10.1113/jphysiol.2002.036673
- Wu J.-P., Li M.-H., Chen J.-S., Lee H.-L. *In vivo* and *in vitro* metabolism of tobacco-specific nitrosamine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), by the freshwater planarian, *Dugesia japonica*. *Chemosphere*. 2012;87(11):1341-1347. doi 10.1016/j.chemosphere.2012.02.024
- Wudarski J., Simanov D., Ustyantsev K., de Mulder K., Grelling M., Grudniewska M., Beltman F., Glazenburg L., Demircan T., Wunderer J., Qi W., Vizoso D.B., Weissert P.M., Olivieri D., Mouton S., Guryev V., Aboobaker A., Schärer L., Ladurner P., Berezikov E. Efficient transgenesis and annotated genome sequence of the regenerative flatworm model *Macrostomum lignano*. *Nat. Commun.* 2017;8(1):2120. doi 10.1038/s41467-017-02214-8
- Wudarski J., Ustyantsev K., Glazenburg L., Berezikov E. Influence of temperature on development, reproduction and regeneration in the flatworm model organism, *Macrostomum lignano*. *Zool. Lett.* 2019;5(1):7. doi 10.1186/s40851-019-0122-6
- Wudarski J., Egger B., Ramm S.A., Schärer L., Ladurner P., Zadesenets K.S., Rubtsov N.B., Mouton S., Berezikov E. The free-living flatworm *Macrostomum lignano*. *EvoDevo*. 2020;11(1):5. doi 10.1186/s13227-020-00150-1
- Zadesenets K.S., Rubtsov N.B. B chromosomes in free-living flatworms of the genus *Macrostomum* (Platyhelminthes, Macrostomorpha). *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(24):13617. doi 10.3390/ijms222413617
- Zadesenets K.S., Vizoso D.B., Schlatter A., Konopatskaia I.D., Berezikov E., Schärer L., Rubtsov N.B. Evidence for karyotype polymorphism in the free-living flatworm, *Macrostomum lignano*, a model organism for evolutionary and developmental biology. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164915. doi 10.1371/journal.pone.0164915
- Zadesenets K.S., Schärer L., Rubtsov N.B. New insights into the karyotype evolution of the free-living flatworm *Macrostomum lignano* (Platyhelminthes, Turbellaria). *Sci. Rep.* 2017;7(1):6066. doi 10.1038/s41598-017-06498-0
- Zadesenets K.S., Ershov N.I., Bondar N.P., Rubtsov N.B. Unraveling the unusual subgenomic organization in the neopolyploid free-living flatworm *Macrostomum lignano*. *Mol. Biol. Evol.* 2023;40(12):msad250. doi 10.1093/molbev/msad250
- Zheng N., Schulman B.A., Song L., Miller J.J., Jeffrey P.D., Wang P., Chu C., Koepp D.M., Elledge S.J., Pagano M., Conaway R.C., Conaway J.W., Harper J.W., Pavletich N.P. Structure of the Cul1-Rbx1-Skp1-F-box^{SKP2} SCF ubiquitin ligase complex. *Nature*. 2002;416(6882):703-709. doi 10.1038/416703a
- Zhou X., Battistoni G., El Demerdash O., Gurtowski J., Wunderer J., Falcatori I., Ladurner P., Schatz M.C., Hannon G.J., Wasik K.A. Dual functions of *Macpiwi1* in transposon silencing and stem cell maintenance in the flatworm *Macrostomum lignano*. *RNA*. 2015;21(11):1885-1897. doi 10.1261/rna.052456.115
- Zoncu R., Efeyan A., Sabatini D.M. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2011;12(1):21-35. doi 10.1038/nrm3025

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 02.12.2024. После доработки 20.12.2024. Принята к публикации 20.12.2024.