

ПОЧВЕННЫЕ ЧЕРВИ КАК ИСТОЧНИК НОВЫХ ПОДХОДОВ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

А. Н. Хохлова^{1,2}, М. В. Вавилов^{1,2}, Т. В. Чепурных¹, Н. С. Родионова³, В. Н. Петушки³, И. В. Ямпольский^{1,4}, М. А. Дубинный¹✉¹ Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия² Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия³ Институт биофизики Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской Академии наук», Красноярск⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Применение почвенных червей в традиционной медицине имеет многовековую историю и охватывает широкий спектр патологических состояний. Современные исследования сосредоточены в основном на выделении и изучении биологически активных соединений. Среди значимых примеров можно выделить гликопротеин G90 с тромболитическими и противоопухолевыми свойствами, комплекс ферментов люмброкиназу, а также внеклеточный кислородтранспортный белок эритрокруорин, рассматриваемый как основа для разработки заменителей крови. Важную роль играют и модельные организмы, такие как *Caenorhabditis elegans*, используемые для изучения механизмов старения, нейродегенеративных заболеваний и оценки эффективности лекарственных средств. Особый интерес представляют биолюминесцентные системы кольчатых червей, продемонстрировавшие разнообразие химических механизмов свечения и наличие уникальных кофакторов, перспективные для развития практических приложений биомедицины. Совокупность этих направлений подчеркивает значимость червей как источника ферментов, белков, метаболитов и модельных систем, способных решать как фундаментальные, так и прикладные задачи в биомедицине.

Ключевые слова: биолюминесценция, биомедицинские исследования, почвенные черви, *Henlea*, С-маннозил триптофан

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-14-00421, <https://rscf.ru/project/24-14-00421/>.

Благодарности: авторы благодарят З. М. Осипову из Института биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова за ценные критические замечания к рукописи.

Вклад авторов: А. Н. Хохлова, М. В. Вавилов, Т. В. Чепурных — анализ литературы, написание рукописи; Н. С. Родионова, В. Н. Петушки — анализ литературы; И. В. Ямпольский — финансирование и руководство проектом; М. А. Дубинный — финансирование и руководство проектом, редактирование рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Максим Анатольевич Дубинный
ул. Миклухо-Маклая, 16/10, г. Москва, 117997, Россия; dumkas@yandex.ru

Статья получена: 21.10.2025 **Статья принята к печати:** 29.11.2025 **Опубликована онлайн:** 10.12.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.067

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

EARTHWORMS AS A SOURCE OF NEW APPROACHES IN BIOMEDICAL RESEARCH

Khokhlova AN^{1,2}, Vavilov MV^{1,2}, Chepurnykh TV¹, Rodionova NS³, Petushkov VN³, Yampolsky IV^{1,4}, Dubinny MA¹✉¹ Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia² HSE University, Moscow, Russia³ Institute of Biophysics, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences⁴ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Traditional medicine has been using earthworms to treat a wide range of pathological conditions for many centuries. Current research focuses primarily on the isolation and characterization of biologically active compounds, including notable examples such as glycoprotein G90, which exhibits thrombolytic and antitumor properties; the enzyme complex lumbrokinase; and the extracellular oxygen transport protein erythrocytochrome, regarded as a potential basis for blood substitute development. Model organisms such as *Caenorhabditis elegans*, which are used to study the mechanisms of aging, neurodegenerative diseases, and evaluate the effectiveness of medicines, also play an important role. Bioluminescent systems of annelids are of particular interest because they exhibit a variety of chemical mechanisms of luminescence and unique cofactors that hold promise for applications in biomedicine. The combination of these properties and abilities underscores the importance of worms as a source of enzymes, proteins, and metabolites, as well as model systems for finding solutions to both fundamental and applied biomedical problems.

Keywords: bioluminescence, biomedical research, earthworms, *Henlea*, C-mannosyl tryptophan

Funding: the work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-14-00421, <https://rscf.ru/project/24-14-00421/>.

Acknowledgements: the authors would like to thank Z.M. Osipova from Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry and Yu.A. Ovchinnikov for their valuable critical comments on the manuscript.

Author contribution: Khokhlova AN, Vavilov MV, Chepurnykh TV — literature analysis, manuscript authoring; Rodionova NS, Petushkov VN — literature analysis; Yampolsky IV — financing and project management; Dubinny MA — financing and project management, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Maxim A. Dubinny
Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, 117997, Russia; dumkas@yandex.ru

Received: 21.10.2025 **Accepted:** 29.11.2025 **Published online:** 10.12.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.067

Copyright: © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Использование почвенных червей в лечебной практике с целью терапии различных заболеваний имеет давнюю историю и было широко распространено в традиционной медицине. Экстракты из червей различных видов применяли при аллергических и астматических состояниях, для снижения артериального давления и детоксикации организма, а также в качестве средств с анти тромботической, жаропонижающей, диуретической и спазмолитической активностью [1]. Развитие современных методов биохимического и фармакологического анализа позволило перевести эти эмпирические наблюдения в плоскость систематических исследований и целенаправленно выделять биологически активные соединения животного происхождения. Например, в 1992 г. из гомогената тканей дождевых червей был выделен гликопротеин G90, который обладает тромболитическими и противоопухолевыми свойствами. Комплекс фибринолитических ферментов люмброкиназа, источником которого служат также дождевые черви, применяют в качестве пищевой добавки для поддержания работы сердечно-сосудистой системы, поскольку он способен улучшать кровообращение и рассасывать тромбы [1]. Помимо ферментных комплексов, перспективным направлением является разработка заменителей крови на основе эритрокуорина — внеклеточного молекулярного комплекса, являющегося функциональным аналогом гемоглобина, выделенного из кольчатых червей [2]. Эритрокуорин рассматривают как потенциальный переносчик кислорода нового поколения ввиду ряда преимуществ: внеклеточной организации белка, высокой стабильности и низкой подверженности окислительным процессам, широкого температурного диапазона устойчивости, а также способности связывать и переносить монооксид азота, что снижает риск вазоконстрикции и др. [3].

В современных исследованиях червей рассматривают не только как источник биологически активных соединений и белковых комплексов, но и в качестве модельных организмов, например, почвенная нематода *Caenorhabditis elegans*. Короткий жизненный цикл, прозрачное тело, полностью секвенированный геном, низкие требования к условиям культивирования, а также способность за короткое время производить многочисленное потомство посредством самооплодотворения привели к популярности этой модели в качестве инструмента при изучении процессов старения, патогенеза нейродегенеративных заболеваний (например, болезни Альцгеймера), а также при тестировании противоопухолевых и противомикробных препаратов [4].

Развитие биотехнологий сделало возможным применение в биомедицине другого уникального биологического явления, характерного для кольчатых червей, — биолюминесценции, или излучения света живыми организмами. Из двух десятков светящихся кольчатых червей большинство обитает в тропических регионах, однако некоторые встречаются и в Сибири, где их свечение можно наблюдать невооруженным глазом в темное время суток. Практическая значимость изучения биолюминесцентных систем заключается в создании новых аналитических инструментов и совершенствовании методов молекулярной визуализации. Биолюминесцентный биоимиджинг обладает рядом преимуществ перед флуоресцентными методами, в частности, отсутствие необходимости во внешнем источнике возбуждения исключает автофлуоресценцию, снижает фоновый сигнал, а также обеспечивает высокую чувствительность и возможность детекции излучения на уровне отдельных

клеток [5]. В настоящее время применяют лишь несколько люциферинов насекомых и морских организмов, включая D-люциферин, целентеразин и его синтетический аналог фуримазин [6]. Однако активно обсуждается расширение набора люциферин-люциферазных пар для мультицветной визуализации, позволяющей одновременно отслеживать различные молекулярные процессы [7].

Долгое время считалось, что у всех почвенных червей биолюминесценция основана на едином перекисно-зависимом механизме *Diplocardia longa* ($\lambda_{\max} = 490$ нм) (рис. 1А) [8]. В случае *D. longa* свечение представляет собой результат окисления низкомолекулярного субстрата люциферина — N-изовалерил-3-аминопропаналя — в присутствии белка люциферазы. Однако открытие в Сибири трех новых видов — *Fridericia heliota*, *Henlea petushkovi* и *Henlea rodionovae* — показало, что у кольчатых червей существует еще как минимум два отличных механизма свечения [9]. Люциферин *F. heliota* ($\lambda_{\max} = 478$ нм) представляет собой тетрапептид, окисляемый кислородом в присутствии АТФ, Mg^{2+} и люциферазы (рис. 1Б). В *Henlea* sp. ($\lambda_{\max} = 464$ нм) люциферин имеет триптофановую природу и окисляется кислородом в присутствии Ca^{2+} и люциферазы [8] (рис. 1В), а дополнительным усилителем свечения является кофактор F0 (ActH) (структурный аналог рибофлавина), который принимает энергию от возбужденного оксилюциферина и переизлучает ее с 33-кратным усилением и спектральным сдвигом от 410 до 464 нм посредством механизма Ферсторовского резонансного переноса энергии (FRET) [10, 11]. Благодаря высокой стабильности люциферина и наличию кофактора-усилителя, именно биолюминесцентная система *Henlea* sp. представляет особый интерес для разработки новых платформ биолюминесцентного биоимиджинга и многоцветного мониторинга внутриклеточных событий.

Дополнительно при анализе метаболитов *Henlea* sp. было обнаружено значительное количество нового для биолюминесцентных систем соединения — α -С-маннозилтриптофана (ManTrp). Спектры поглощения и флуоресценции ManTrp совпадают с таковыми для люциферина *Henlea*, поэтому ManTrp считается его вероятным метаболическим предшественником. Маннозилтриптофан встречается в природе либо в виде свободного мономера ManTrp, либо в составе полипептидной цепи белка как результат необычного С-гликозилирования по второму положению индолинового остатка. Механизм С-гликозилирования в составе полипептидной цепи был открыт в 1994 г. на примере РНКазы человека. Мономерный ManTrp был найден в крови и моче человека и других млекопитающих, в том числе мышей и крыс, а также некоторых морских губок [12]. Установлено, что концентрация ManTrp в плазме крови повышается при ряде патологий, включая миелофиброз, сахарный диабет 2-го типа, хронические заболевания почек, рак яичников и нарушения регуляции тромбоцитарного роста. В связи с этими данными можно предположить, что ManTrp станет перспективным биомаркером для диагностики онкологических заболеваний.

В качестве одного из возможных применений люциферин-люциферазной системы *Henlea* sp. можно предложить разработку биолюминесцентной тест-системы для диагностики рака яичников на основе специфического распознавания ManTrp. Изменение BRET-индекса при связывании ManTrp может быть использовано в качестве высокочувствительного диагностического сигнала, а кофактор ActH/F0 обеспечит усиление свечения. Подобные стратегии нашли практическое воплощение

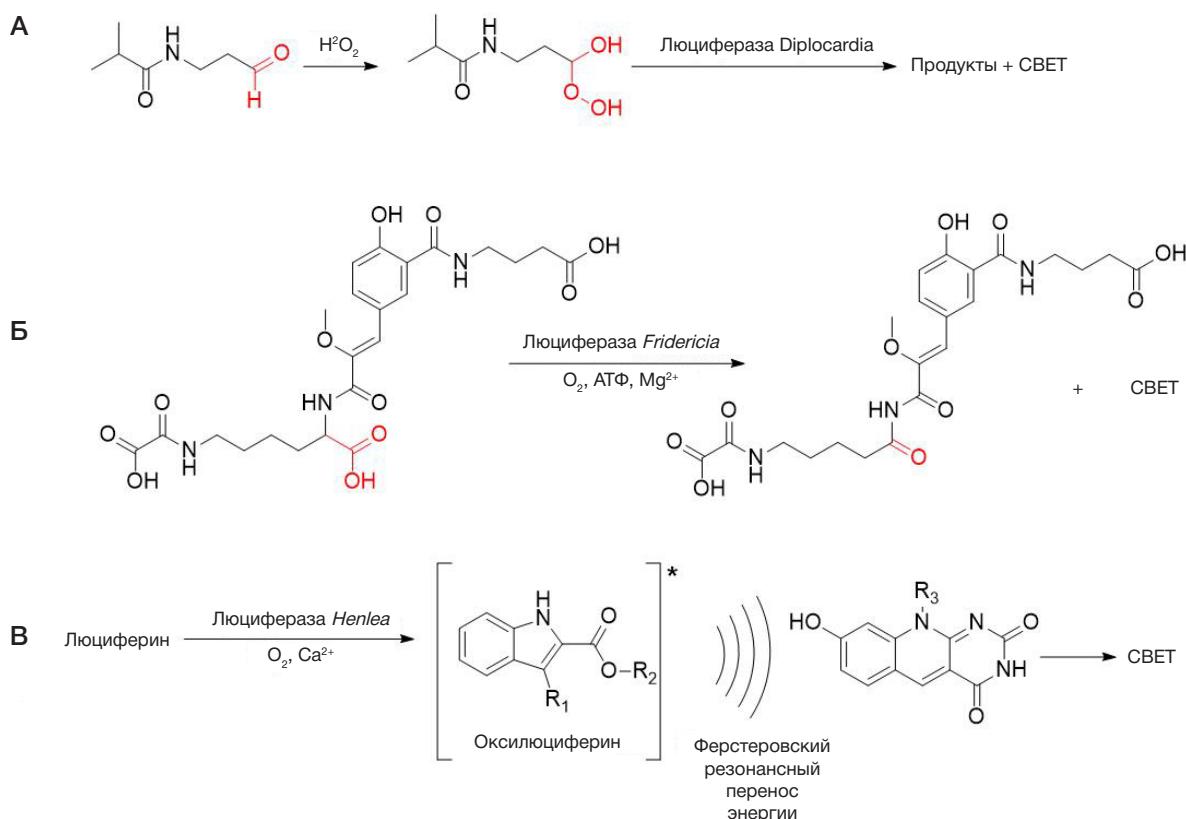


Рис. 1. Схемы биолюминесцентной реакции *D. longa* (A), *F. heliota* (B), *Henlea* sp. (B)

в системах «люцифераза–наночастица» в BRET-активируемой фотодинамической терапии [13]. Кроме того, были успешно созданы устойчивые гибридные конструкции, объединяющие наночастицы на основе золота, фермент люциферазу (включая *Phrixotrix hirtus*) и фотосенсибилизатор. Эти биоконьюгаты демонстрируют стабильный биолюминесцентный сигнал и сохраняют функциональную активность в клеточных условиях [14]. Результаты показывают, что люциферазные системы могут быть интегрированы в наноплатформы для совмещения визуализации и активации терапевтических процессов [15]. В перспективе это открывает возможность создания систем молекулярной тераностики на основе *ManTrp* как диагностического маркера и одновременно триггера свечения активации биолюминесцентной системы.

Таким образом, разработка сенсоров на основе биолюминесцентной системы *Henlea* sp. и специфического распознавания *ManTrp* может стать основой новых платформ для ранней диагностики и мониторинга рака яичников и других метаболических нарушений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современное применение почвенных червей в медицине вышло за рамки традиционных практик: их использование

эволюционировало от приготовления народных снадобий до целенаправленного скрининга биологически активных соединений с применением современных научных методов. В настоящее время дождевые черви и нематоды рассматриваются как источники ферментов и белковых комплексов, а также как модельные организмы, используемые для решения фундаментальных и прикладных задач биомедицины.

Особый интерес представляют биолюминесцентные системы кольчатых червей, отличающиеся разнообразием химических механизмов и уникальными кофакторами. Их изучение не только углубляет понимание эволюции и биохимии свечения, но и открывает путь к созданию новых инструментов молекулярной визуализации [16]. В частности, сочетание люциферин-люциферазных систем с механизмами переноса энергии (например, BRET) делает такие системы потенциально применимыми в фотодинамической терапии (PDT), особенно в случаях, когда требуется генерация света непосредственно внутри клеток организма. Исследование биолюминесцентных систем червей остается важным и перспективным полем современной биологии, объединяющим эволюционные и биохимические аспекты с инновационными приложениями в диагностике, терапии, целевой доставке лекарств и биолюминесцентной визуализации.

Литература

- Zhu Z, Deng X, Xie W, Li H, Li Y, Deng Z. Pharmacological effects of bioactive agents in earthworm extract: A comprehensive review. *Anim Models Exp Med.* 2024; 7: 653–72. Available from: <https://doi.org/10.1002/ame2.12465>.
- Elmer J, Palmer AF. Biophysical Properties of *Lumbricus terrestris* Erythrocyruorin and Its Potential Use as a Red Blood Cell Substitute. *J Funct Biomater.* 2012; 3: 49–60. Available from: <https://doi.org/10.3390/jfb3010049>.
- Zimmerman D, Dilusto M, Dienes J, Abdulmalik O, Elmer JJ. Direct comparison of oligochaete erythrocyruorins as potential

blood substitutes. *Bioeng Transl Med.* 2017; 2: 212–21. Available from: <https://doi.org/10.1002/btm2.10067>.

4. Meneely PM, Dahlberg CL, Rose JK. Working with Worms: *Caenorhabditis elegans* as a Model Organism. *Curr Protoc Essent Lab Tech.* 2019; 19: e35. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpet.35>.
5. Yeh H-W, Ai H-W. Development and Applications of Bioluminescent and Chemiluminescent Reporters and Biosensors. *Annu Rev Anal Chem Palo Alto Calif.* 2019; 12: 129–50. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061318-115027>.
6. Close DM, Patterson SS, Ripp S, Baek SJ, Sanseverino J, Sayler GS. Autonomous bioluminescent expression of the bacterial luciferase gene cassette (*lux*) in a mammalian cell line. *PLoS One.* 2010; 5: e12441. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012441>.
7. Navarro MX, Brennan CK, Love AC, Prescher JA. Caged luciferins enable rapid multicomponent bioluminescence imaging. *Photochem Photobiol.* 2023; 100: 67–74. Available from: <https://doi.org/10.1111/php.13814>.
8. Rodionova NS, Rota E, Tsarkova AS, Petushkov VN. Progress in the Study of Bioluminescent Earthworms. *Photochem Photobiol.* 2017; 93: 416–28. Available from: <https://doi.org/10.1111/php.12709>.
9. Kaskova ZM, Tsarkova AS, Yampolsky IV. 1001 lights: luciferins, luciferases, their mechanisms of action and applications in chemical analysis, biology and medicine. *Chem Soc Rev.* 2016; 45: 6048–77. Available from: <https://doi.org/10.1039/C6CS00296J>.
10. Petushkov VN, Vavilov MV, Khokhlova AN, Zagitova RI, Belozerova OA, Shcheglov AS, et al. Henlea earthworm bioluminescence comprises violet-blue BRET from tryptophan 2-carboxylate to deazaflavin cofactor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2024; 708: 149787. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.149787>.
11. Dubinnyi MA, Ivanov IA, Rodionova NS, Kovalchuk SI, Kaskova ZM, Petushkov VN. α -C-Mannosyltryptophan is a Structural Analog of the Luciferin from Bioluminescent Siberian Earthworm *Henlea* sp. *Chemistry Select.* 2020; 5: 13155–9. Available from: <https://doi.org/10.1002/slct.202003075>.
12. Minakata S, Inai Y, Manabe S, Nishitsuji K, Ito Y, Ihara Y. Monomeric C-mannosyl tryptophan is a degradation product of autophagy in cultured cells. *Glycoconj J.* 2020; 37: 635–45. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10719-020-09938-8>.
13. Blum NT, Zhang Y, Qu J, Lin J, Huang P. Recent Advances in Self-Exciting Photodynamic Therapy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020; 8: 594491. Available from: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.594491>.
14. Belletti E, Bevilacqua VR, Brito AMM, Modesto DA, Lanfredi AJC, Viviani VR, et al. Synthesis of bioluminescent gold nanoparticle-luciferase hybrid systems for technological applications. *Photochem Photobiol Sci Off J Eur Photochem Assoc Eur Soc Photobiol.* 2021; 20: 1439–53. Available from: <https://doi.org/10.1007/s43630-021-00111-0>.
15. Kim Y-P, Daniel WL, Xia Z, Xie H, Mirkin CA, Rao J. Bioluminescent nanosensors for protease detection based upon gold nanoparticle-luciferase conjugates. *Chem Commun Camb Engl.* 2010; 46: 76–8. Available from: <https://doi.org/10.1039/b915612g>.
16. Dunuweera AN, Dunuweera SP, Ranganathan K. A Comprehensive Exploration of Bioluminescence Systems, Mechanisms, and Advanced Assays for Versatile Applications. *Biochem Res Int.* 2024; 2024: 8273237. Available from: <https://doi.org/10.1155/2024/8273237>.

References

1. Zhu Z, Deng X, Xie W, Li H, Li Y, Deng Z. Pharmacological effects of bioactive agents in earthworm extract: A comprehensive review. *Anim Models Exp Med.* 2024; 7: 653–72. Available from: <https://doi.org/10.1002/ame2.12465>.
2. Elmer J, Palmer AF. Biophysical Properties of *Lumbricus terrestris* Erythrocyruorin and Its Potential Use as a Red Blood Cell Substitute. *J Funct Biomater.* 2012; 3: 49–60. Available from: <https://doi.org/10.3390/jfb3010049>.
3. Zimmerman D, Dilusto M, Dienes J, Abdulmalik O, Elmer JJ. Direct comparison of oligochaete erythrocyruorins as potential blood substitutes. *Bioeng Transl Med.* 2017; 2: 212–21. Available from: <https://doi.org/10.1002/btm2.10067>.
4. Meneely PM, Dahlberg CL, Rose JK. Working with Worms: *Caenorhabditis elegans* as a Model Organism. *Curr Protoc Essent Lab Tech.* 2019; 19: e35. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpet.35>.
5. Yeh H-W, Ai H-W. Development and Applications of Bioluminescent and Chemiluminescent Reporters and Biosensors. *Annu Rev Anal Chem Palo Alto Calif.* 2019; 12: 129–50. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061318-115027>.
6. Close DM, Patterson SS, Ripp S, Baek SJ, Sanseverino J, Sayler GS. Autonomous bioluminescent expression of the bacterial luciferase gene cassette (*lux*) in a mammalian cell line. *PLoS One.* 2010; 5: e12441. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012441>.
7. Navarro MX, Brennan CK, Love AC, Prescher JA. Caged luciferins enable rapid multicomponent bioluminescence imaging. *Photochem Photobiol.* 2023; 100: 67–74. Available from: <https://doi.org/10.1111/php.13814>.
8. Rodionova NS, Rota E, Tsarkova AS, Petushkov VN. Progress in the Study of Bioluminescent Earthworms. *Photochem Photobiol.* 2017; 93: 416–28. Available from: <https://doi.org/10.1111/php.12709>.
9. Kaskova ZM, Tsarkova AS, Yampolsky IV. 1001 lights: luciferins, luciferases, their mechanisms of action and applications in chemical analysis, biology and medicine. *Chem Soc Rev.* 2016; 45: 6048–77. Available from: <https://doi.org/10.1039/C6CS00296J>.
10. Petushkov VN, Vavilov MV, Khokhlova AN, Zagitova RI, Belozerova OA, Shcheglov AS, et al. Henlea earthworm bioluminescence comprises violet-blue BRET from tryptophan 2-carboxylate to deazaflavin cofactor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2024; 708: 149787. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.149787>.
11. Dubinnyi MA, Ivanov IA, Rodionova NS, Kovalchuk SI, Kaskova ZM, Petushkov VN. α -C-Mannosyltryptophan is a Structural Analog of the Luciferin from Bioluminescent Siberian Earthworm *Henlea* sp. *Chemistry Select.* 2020; 5: 13155–9. Available from: <https://doi.org/10.1002/slct.202003075>.
12. Minakata S, Inai Y, Manabe S, Nishitsuji K, Ito Y, Ihara Y. Monomeric C-mannosyl tryptophan is a degradation product of autophagy in cultured cells. *Glycoconj J.* 2020; 37: 635–45. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10719-020-09938-8>.
13. Blum NT, Zhang Y, Qu J, Lin J, Huang P. Recent Advances in Self-Exciting Photodynamic Therapy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020; 8: 594491. Available from: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.594491>.
14. Belletti E, Bevilacqua VR, Brito AMM, Modesto DA, Lanfredi AJC, Viviani VR, et al. Synthesis of bioluminescent gold nanoparticle-luciferase hybrid systems for technological applications. *Photochem Photobiol Sci Off J Eur Photochem Assoc Eur Soc Photobiol.* 2021; 20: 1439–53. Available from: <https://doi.org/10.1007/s43630-021-00111-0>.
15. Kim Y-P, Daniel WL, Xia Z, Xie H, Mirkin CA, Rao J. Bioluminescent nanosensors for protease detection based upon gold nanoparticle-luciferase conjugates. *Chem Commun Camb Engl.* 2010; 46: 76–8. Available from: <https://doi.org/10.1039/b915612g>.
16. Dunuweera AN, Dunuweera SP, Ranganathan K. A Comprehensive Exploration of Bioluminescence Systems, Mechanisms, and Advanced Assays for Versatile Applications. *Biochem Res Int.* 2024; 2024: 8273237. Available from: <https://doi.org/10.1155/2024/8273237>.