

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

## BIOLOGICAL SCIENCES

DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-51-69

УДК 581.143.6: 595.132: 577.24

**ОЦЕНКА ГЕРОПРОТЕКТОРНОГО  
ПОТЕНЦИАЛА СКВАЛЕНА НА МОДЕЛИ  
CAENORHABDITIS ELEGANS**

*А.Д. Веснина, В.Ф. Долганюк, А.И. Дмитриева,  
А.И. Лосева, И.С. Миленьева*

**Обоснование.** Увеличение здоровой продолжительности жизни является приоритетным направлением в современном здравоохранении. Сквален – три-терпен, проявляющий антиоксидантные, противовоспалительные и прочие свойства, является перспективным кандидатом в геропротекторы.

**Цель.** Оценить активность сквалена, то есть возможность его дальнейшего использования в качестве геропротектора.

**Материалы и методы.** Сквален приобретен в Sigma-Aldrich (США). Для исследования готовили растворы сквалена концентрацией 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 мкмоль/л (растворитель диметилсульфоксид – ДМСО). Работа реализовывалась на базе Лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков (ФГБОУ ВО «КемГУ», Россия). Антиоксидантную активность оценивали по улавливанию АВТС катион-радикалов в сравнении с активностью аскорбиновой кислоты. Модельный организм *Caenorhabditis elegans* N2 Bristol приобретен в Лаборатории разработки инновационных лекарственных средств и агробιο-технологий ФГАОУ ВО «МФТИ». Для оценки стрессоустойчивости нематод при культивировании создавали условия теплового (33°C) и окислительного (добавление 15 мкл 1 М параквата, 20°C) стресса в течение 24 и 48 ч. Для оценки продолжительности жизни культивирование осуществляли (при добавлении растворов сквалена) в нормальных условиях (20°C) в течение 61 дня. Статистическая значимость результатов оценивалась с помощью *t*-критерии Стьюдента (в программе Microsoft Office Excel 2007). Данные по продолжительности жизни оценивались с помощью графика выживания Каплана-Мейера в сочетании с критерием логарифмического ранга (Мантела-Кокса). Обработку данных осуществляли с помощью онлайн-приложения OASIS (<https://sbi.postech.ac.kr/oasis/>).

**Результаты.** Результаты показали, что растворы сквалена не проявляли антиоксидантные свойства, т.е. не улавливали ABTS катион-радикалы. Раствор сквалена концентрацией 10 мкМ способствовал увеличению стрессоустойчивости нематод. В условиях окислительного стресса выживаемость нематод при культивировании в течение 24 ч на 3,1 % выше, чем в контроле. В условиях теплового стресса при культивировании в течение 48 ч выживаемость выше на 11,3 %. На продолжительность жизни нематод растворы сквалена влияние не оказывали.

**Заключение.** Предположительно антиоксидантная активность сквалена выражается не в улавливании свободных радикалов, а в способности воздействовать на биомолекулы, приводящие к окислительному стрессу. Раствор сквалена концентрацией (10 мкМ) способен уменьшить негативное воздействие одного из факторов возникновения преждевременного старения. Для того чтобы оценить возможность использования сквалена в качестве геропротектора, не опираясь на улавливание катион-радикалов, необходимы дальнейшие исследования, изучающие воздействие вещества на прочие мишени, механизмы действия, связанные с возникновением возраст-ассоциированных заболеваний. Например, анализ влияния растворов сквалена на экспрессию генов (*daf-2*, *daf-16*, *age-1*, *hsf-1* и т.д.), на наличие противовоспалительных, нейродегенеративных и прочих свойств.

**Ключевые слова:** сквален; геропротектор; *Caenorhabditis elegans*; стрессоустойчивость; продолжительность жизни; антиоксидантная активность

**Для цитирования.** Веснина А.Д., Долганюк В.Ф., Дмитриева А.И., Лосева А.И., Милентьева И.С. Оценка геропротекторного потенциала сквалена на модели *Caenorhabditis elegans* // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2022. Т. 14, №6. С. 51-69. DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-51-69

## EVALUATION OF THE GEROPROTECTIVE EFFECT OF SQUALENE ON THE CAENORHABDITIS ELEGANS MODEL

*A.D. Vesnina, V.F. Dolganyuk, A.I. Dmitrieva,  
A.I. Loseva, I.S. Milentyeva*

**Background.** Increasing healthy life expectancy is a priority in modern health-care. Squalene, a triterpene exhibiting antioxidant, anti-inflammatory and other properties, is a promising candidate for geroprotectors.

**Purpose.** Assess the activity of squalene, that is, the possibility of its further use as a geroprotector.

**Materials and methods.** Squalene was purchased from Sigma-Aldrich (USA) for research. Squalene solutions were prepared with concentrations of 10, 50, 100, 200, 400, 800, and 1600  $\mu\text{mol/L}$  (solvent dimethyl sulfoxide—DMSO). The work was carried out on the basis of the Laboratory for Biotesting of Natural Nutra-ceuticals (KemGU, Russia). Antioxidant activity was assessed by capturing ABTS radical cations in comparison with the activity of ascorbic acid. The model organism *Caenorhabditis elegans* N2 Bristol was purchased from the Laboratory for the Development of Innovative Medicines and Agrobiotechnologies of the Moscow Institute of Physics and Technology. To assess the stress resistance of nematodes during cultivation, conditions of thermal (33°C) and oxidative (adding 15  $\mu\text{l}$  of 1 M paraquat, 20°C) stress were created for 24 and 48 h. conditions (20 °C) for 61 days. The statistical significance of the results was assessed using Student's t-test (in Microsoft Office Excel 2007). Lifespan data were assessed using a Kaplan-Meier survival plot combined with a log-rank test (Mantel-Cox). Data processing was carried out using the OASIS online application (<https://sbi.postech.ac.kr/oasis/>).

**Results.** The results showed that squalene solutions did not exhibit antioxidant properties; did not trap radical cations with ABTS. A solution of squalene at a concentration of 10  $\mu\text{M}$  contributed to an increase in the stress resistance of nematodes. Under conditions of oxidative stress, the survival of nematodes during cultivation for 24 hours is 3.1% higher than in the control. Under conditions of heat stress during cultivation for 48 hours, the survival rate is higher by 11.3%. Squalene solutions did not affect the lifespan of nematodes.

**Conclusion.** Presumably, the antioxidant activity of squalene is expressed not in the capture of free radicals, but in the ability to act on biomolecules that lead to oxidative stress. A squalene solution with a concentration of 10  $\mu\text{M}$  can reduce the negative impact of one of the factors causing premature aging. In order to assess the possibility of using squalene as a geroprotector without relying on cation-radical capture, further studies are needed to study the impact of the substance on other targets, mechanisms of action related to the occurrence of age-associated diseases. For example, analysis of the effect of squalene solutions on the growth rate of *C. elegans* larvae, the ability to influence the expression of antioxidant defense genes, the presence of anti-inflammatory and other properties.

**Keywords:** squalene; geroprotector; *Caenorhabditis elegans*; stress tolerance; life expectancy; antioxidant activity

**For citation.** Vesnina A.D., Dolganyuk V.F., Dmitrieva A.I., Loseva A.I., Milent'yeva I.S. Evaluation of the Geroprotective Potential of Squalene using the *Caenorhabditis elegans* Model. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2022, vol. 14, no. 6, pp. 51-69. DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-51-69

## Введение

Старение – это физиологический процесс, при котором происходят различные химические, биохимические реакции, приводящие к снижению функциональных возможностей организма [15, 30]. Увеличение здоровой продолжительности жизни тесно связано с поздним возникновением хронических заболеваний. Ученые предполагают, что одной из причин, стимулирующей процессы старения, а именно развитие рака, атеросклероза, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний и т.п., является окислительный стресс (свободнорадикальная теория старения) [3, 11]. Следовательно, профилактика старения возможна за счет приема препаратов, подавляющих/уменьшающих негативное воздействие хронических заболеваний, подавляющих развитие окислительного стресса.

Известно, что сквален – это углеводород тритерпеновой природы, который является промежуточным продуктом биосинтеза фитостерина или холестерина. Данное вещество занимает важную роль в косметической, пищевой и фармацевтической промышленности [33]. Сквален относят к нутрицевтикам, пищевым добавкам способным проявлять профилактические и лечебные свойства по отношению к ряду хронических заболеваний [14]. Известно, что сквален оказывает положительное воздействие на сердечно-сосудистую систему, за счет антиоксидантной активности и способности снижать уровень холестерина в крови [8]. Также есть работы, в которых доказано, что сквален проявляет и противораковые, иммуномодулирующие, противовоспалительные свойства [7, 8, 20, 24], благодаря которым данное вещество может является перспективным геропротектором [8, 13, 14].

Сквален можно получать из различных животных и растительных объектов. Изначально сквален выделялся из печени и других органов акулы *Centrophorus squamosus* [20]. Но из-за ухудшения экологического состояния (уменьшения видового разнообразия акул, извлечение сквалена, содержащего загрязняющие вещества: тяжелые металлы, диоксин, полихлорированный бифенил и т.д.) и этических проблем актуален альтернативный способ получения данного углеводорода, например, с использованием биотехнологических методов *in vitro* [1, 20, 29]. В ранее опубликованной работе авторов установлено, что экстракт корневой культуры *in vitro* окопника лекарственного (*Symphytum officinale*) содержит значительное количество сквалена [10]. В работе S. Potijun [21] в качестве продуцента сквалена использовалась микроводоросль *Chlamydomonas reinhardtii*. В работе Y. Song [26] в качестве продуцента использовали

*Bacillus subtilis*. Также богатыми источниками сквалена являются растения: оливковое, соевое масло, рис, амарант и т.д. [8].

**Цель исследования** заключается в оценке возможности использовать сквален в качестве геропротектора.

Для реализации цели сформулированы следующие задачи:

1. Оценить антиоксидантную активность растворов сквалена различной концентрации.
2. Оценить способность растворов сквалена влиять на продолжительность жизни нематод.
3. Оценить способность растворов сквалена влиять на стрессоустойчивость нематод.

В данном исследовании в качестве модельного организма для оценки геропротекторных свойств сквалена выбран *Caenorhabditis elegans*. Данный многоклеточный организм (свободноживущий безвредный круглый червь – нематода) обладает рядом преимуществ: полностью расшифрованный геном, в котором обнаружена генетическая основа старения; схожие с человеком изменения в поведении и физиологических показателях здоровья (стрессоустойчивость, дегенерация нервной системы, изменения в структуре мышечной ткани); небольшой размер (около 1 мм) и прозрачное тело; простота культивирования и размножения; короткий жизненный цикл (около 3 недель) [2, 16, 19]. Иными словами, *C. elegans* – модельный организм, с помощью которого измеряют качественные аспекты старения, например, продолжительность жизни и стрессоустойчивость [2, 5].

Проведенный систематический обзор показал, что среди исследуемой литературы нет исследований, посвященных изучению воздействия растворов сквалена на *C. elegans*. Но были найдены научные работы, оценивающие влияние экстракта из семян фиников [9], экстракта розмарина [35], экстракта черники [31], можжевельника [18], малины [25], хлорогеновой кислоты [37], гомогенной фракции полисахаридов, выделенных из *Panax notogensing* [6], сапаниона *A* [36], рутина [4], кверцетина [27] и прочих флавоноидов на нематоды [17].

### **Материалы и методы исследования**

Объектом исследования являлся сквален, приобретенный в Sigma-Aldrich (США). Использовали стоковый раствор сквалена в диметилсульфоксиде (ДМСО) концентрацией 10мМ. Стоковый раствор разводили дистиллированной стерильной водой, получая растворы концентрацией 2000 мкМ, 1000 мкМ, 500 мкМ и 100 мкМ (хранили при температуре 4 °С).

Данные растворы в количестве 15 мкл добавляли в лунки планшета, тем самым получая растворы сквалена концентрацией 200 мкМ, 100 мкМ, 50 мкМ и 10 мкМ (т.е. тестируемые растворы в исследовании на нематодах).

Антиоксидантную активность определяли по улавливанию ABTS катион-радикалов [22]. Метод приготовления необходимых реактивов, проведения анализа, расчетов отражен в работе А. Trifan [29]. Анализ проводили на приборе Shimadzu UV-1800 (Япония) при длине волны 734 нм. В качестве стандарта использовали растворы аскорбиновой кислоты (АО «Лен-Реактив», Россия) аналогичной концентраций.

В исследовании использовали штамм *C. elegans* N2 Bristol, предоставленный Лабораторией разработки инновационных лекарственных средств и агробиотехнологий ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (Россия). Штамм *Escherichia coli* OP50, который использовался в качестве пищи для нематод, предоставлен институтом молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН (Москва, Россия). Количество червей *C. elegans*, используемых в экспериментах, составило 100 особей. Контрольными образцами являлись, нематоды, подвергшиеся окислительному и тепловому стрессу, участвующие в оценке продолжительности жизни без добавления растворов сквалена различной концентрации.

Оценка влияния сквалена на стрессоустойчивость особей (к окислительному и тепловому стрессу) и продолжительность жизни нематод проводилась в жидкой питательной среде – S-среде. Эксперименты ставили в 96-луночных планшетах с плоским прозрачным дном (TPP, Швейцария), в которые вносили 150 мкл суспензии из нематод и *E. coli* OP50 (концентрация бактерий в суспензии 0.5 мг/мл). Планшет с суспензией ставили в камеру KBF-S ECO Solid.Line (Binder GmbH, Германия), где происходил процесс культивирования при 20 °С. После истечения 48 часов культивирования (нематоды достигали стадию развития L4) в лунки планшета добавляли по 15 мкл 1,2 мМ 5-Fluoro-2\_-deoxyuridine (FUDR) – вещества, подавляющего репродуктивную функцию нематод. Добавление FUDR устраняло возможность получения смешанной популяции червей. После истечения 24 часов (с момента добавления FUDR) в лунки вносили 15 мкл раствора сквалена различной концентрации. Затем планшеты ставили на культивирование при 20 °С в течение 5 дней. Затем:

- для оценки влияния растворов сквалена на стрессоустойчивость *C. elegans* к окислительному стрессу в каждую лунку планшета добавляли 15 мкл 1М параквата (вещества, моделирующего окислитель-

ный стресс) и продолжали культивирование при 20 °С в течение 24 и 48 ч;

- для оценки влияния растворов сквалена на стрессоустойчивость *C. elegans* к температурному стрессу планшет ставили на культивирование при 33 °С в течение 24 и 48 ч;
- для оценки влияния растворов сквалена на продолжительность жизни *C. elegans* планшеты ставили на культивирование при 20 °С в течение 61 дня. Каждые 4–7 дней вели подсчет живых и мертвых нематод. Эксперимент считался законченным, когда среди контрольных нематод не осталось живых особей.

После истечения вышеуказанного времени делали подсчеты живых и мертвых нематод. Оценка осуществлялась с помощью микроскопа Axio Observer Z1 (Karl Zeiss, Германия). Для чего живые и мертвые особи фиксировали в каждой лунке планшета. Критерием наступления смерти нематод считали полное отсутствие двигательной активности при воздействии на них ярким светом пучка света микроскопа. Эксперименты проводили в стерильных условиях бокса UVC/T-AR (ООО «BioSan», Латвия). Более подробно методика оценки продолжительности жизни и стрессоустойчивости, состав питательных сред и т.п. представлены в работе F.R. Amrit [2].

Все результаты выражали в виде среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Для оценки статистической значимости результатов, полученных в ходе оценки стрессоустойчивости нематод, использовали t-критерии Стьюдента. Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для анализа статистических данных использовали программу Microsoft Office Excel 2007. Для обработки данных по оценке продолжительности жизни использовали график выживания Каплана-Мейера в сочетании с критерием логарифмического ранга (Мантела-Кокса) (для получения статистики среднего времени выживания). Обработку данных осуществляли с помощью онлайн-приложения OASIS (<https://sbi.postech.ac.kr/oasis/>) [2, 34].

Работа реализовывалась на базе Лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» (ФГБОУ ВО «КемГУ», Россия).

### **Результаты исследования**

Антиоксидантная активность раствора аскорбиновой кислоты (стандарта) и водной эмульсии сквалена представлена на Рисунке 1.

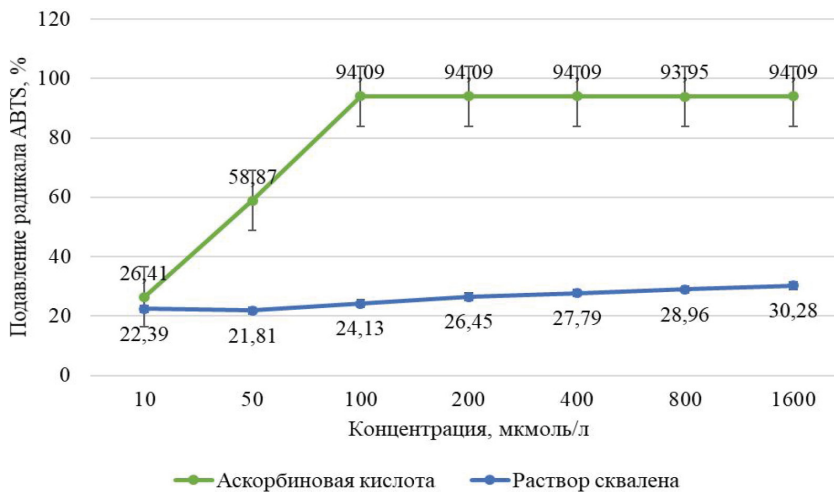


Рис. 1. Антиоксидантная активность исследуемых растворов

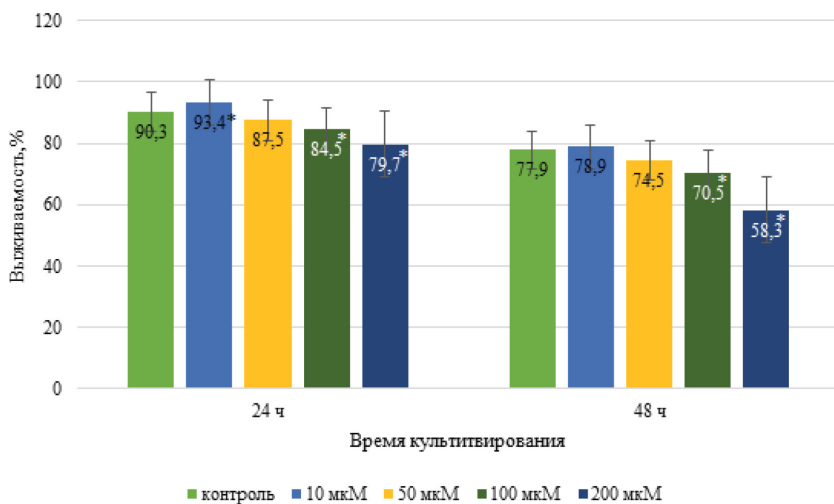


Рис. 2. Влияние растворов сквалена различной концентрации на стрессоустойчивость нематод при окислительном стрессе (\* отмечены статистически значимые результаты)

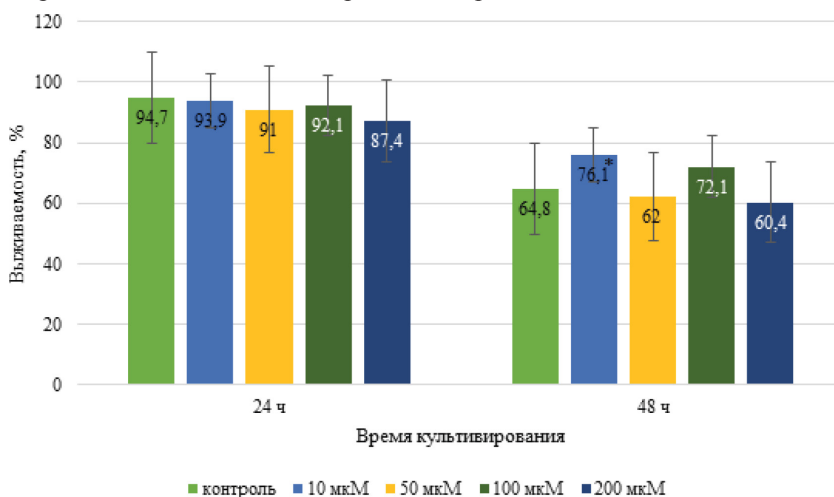
Результаты показывают, что исследуемая эмульсия сквалена (во всех рассматриваемых растворах) проявляла низкую антиоксидантную актив-



ности по отношению к радикалу ABTS в сравнении с активностью аскорбиновой кислоты. По результатам антиоксидантной активности было принято решение исследовать воздействие растворов сквалена концентрацией 10, 50, 100 и 200 мкМ, на нематоды.

Результаты влияния растворов сквалена на стрессоустойчивость отражены на рисунке 2 и рисунке 3.

Результаты показали, что наблюдается обратная зависимость между концентрацией сквалена в растворе и выживаемостью нематод. Следовательно, добавление раствора сквалена приводит к ухудшению выживаемости нематод при окислительном стрессе. Исключение составляет добавление раствора сквалена с концентрацией 10 мкМ при культивировании в течение 24 ч. Выживаемость особей была примерно на 3,1 % выше в сравнении с особями в контрольных образцах.



**Рис. 3.** Влияние растворов сквалена различной концентрации на стрессоустойчивость нематод при тепловом стрессе (\* отмечены статистически значимые результаты)

Результаты показали, что наблюдается обратная зависимость между концентрацией сквалена и выживаемостью нематод. Следовательно, добавление раствора сквалена приводит к уменьшению выживаемости нематод при тепловом стрессе. Исключение составляет добавление сквалена с концентрацией 10 мкМ при культивировании в течение 48 ч. Выживаемость особей была примерно на 11,3 % выше чем у особей в контрольных образцах.

Результаты показывают, что для увеличения выживаемости нематод в стрессовых условиях целесообразно использовать 10 мкМ раствор сквалена. Что данная концентрация раствора способна уменьшать негативное воздействие окислителя (одного из факторов риска преждевременного старения).

Результаты по оценке влияния растворов сквалена различной концентрации на продолжительность жизни *C. elegans* представлены на рисунке 4 и рисунке 5.

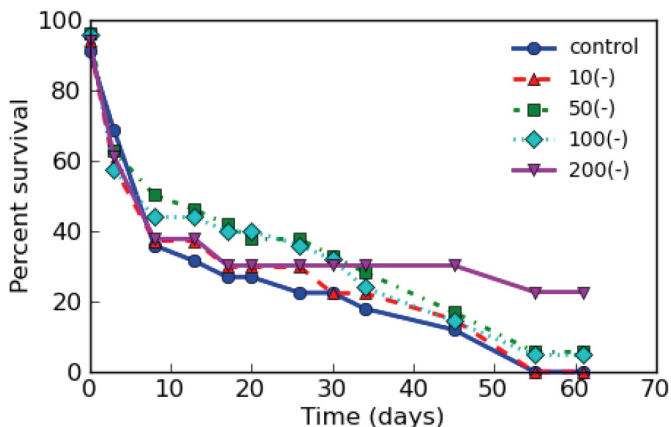


Рис. 4. График выживаемости (по оси y – выживаемость (%), по оси x – время (дни))

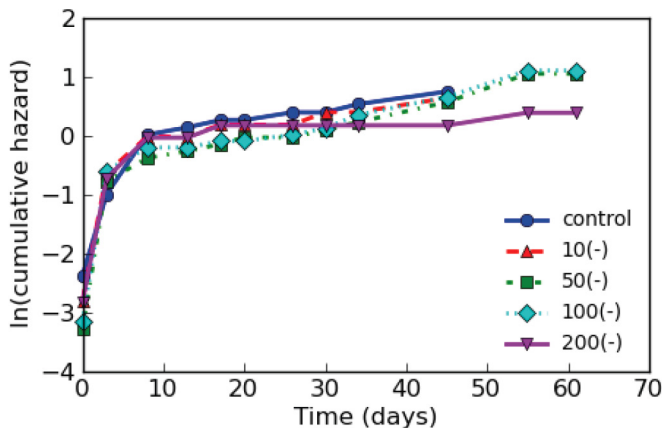


Рис. 5. График критерия логарифмического ранга (по оси y – логарифм, по оси x – время (дни))

В ходе исследования установлено, что средняя продолжительность жизни нематод в ходе эксперимента составила: для контрольного образца –  $16,64 \pm 3,30$  дня; для образцов с 10 мкМ раствора сквалена –  $17,83 \pm 4,14$  дня; для образцов с 50 мкМ раствора сквалена –  $21,56 \pm 3,64$  дня; для образцов со 100 мкМ раствора сквалена –  $20,10 \pm 3,37$  дня; для образцов с 200 мкМ раствора сквалена –  $22,16 \pm 5,10$  дня. Следовательно, при добавлении раствора сквалена концентрацией 200 мкМ продолжительность жизни нематод увеличивается примерно в 1,33 раза. Но, полученные данные статистически незначимы (табл.1).

Таблица 1.

**Результаты теста на значимость полученных данных между экспериментальной и контрольной группами**

Сравниваемые данные	Исследуемые показатели		
	Chi2	P-value	Bonferroni P-value
control с образцами с 10 мкМ сквалена	0,05	0,8172	1,0000
control с образцами с 50 мкМ сквалена	0,48	0,4878	1,0000
control с образцами с 100 мкМ сквалена	0,11	0,7392	1,0000
control с образцами с 200 мкМ сквалена	0,41	0,5214	1,0000

Следовательно, добавление сквалена различной концентрации при культивировании нематод в течение 61 дня не оказывает существенного влияния (не увеличивает и не уменьшает) на продолжительность жизни в сравнении с контрольными образцами.

### Обсуждение

Результаты исследования показали, что растворы сквалена не обладают способностью улавливать ABTS катион-радикалы. Неспособность подавлять радикалы скваленом также описывается и в результатах F. Warleta [32]. Предположительно, неспособность сквалена улавливать катион-радикалы связана с его строением: отсутствием гидроксильных групп. Однозначно оценить антиоксидантную активность данного БАВ методами улавливания радикалов невозможно, так как сквален имеет другие механизмы воздействия. В исследовании A. Sakul представлены результаты, доказывающие способность сквалена предотвращать развитие окислительного стресса в модельных организмах счет ингибирования экспрессии *IFN- $\gamma$*  в клетках эффект [23]. А в работе N. Ibrahim [8] показано, что сквален у крыс стимулирует экспрессию генов, связанных с антиоксидантной системой защиты организма (*GPx* и *GST*, *CAT* и *SOD*).

Результаты данного исследования показали, что часть растворов сквалена способен положительно влиять на жизнедеятельность нематод, то есть увеличивать их выживаемость в стрессовых условиях:

- при 24 ч культивировании нематод в условиях окислительного стресса выживаемость особей была примерно на 3,1 % выше при добавлении в питательную среду раствора сквалена, растворенного в ДМСО в концентрации 10 мкМ, в сравнении с контрольным образцом. Следовательно, 10 мкМ раствор сквалена способен замедлять один из рисков возникновения старения;
- при 48 ч культивировании нематод в условиях теплового стресса выживаемость особей была примерно на 11,3 % выше при добавлении в питательную среду раствора сквалена, растворенного в ДМСО в концентрации 10 мкМ, в сравнении с контрольным образцом в сравнении с контрольным образцом.

Получены данные, показывающие, что раствор сквалена концентрации 200 мкМ в 1,33 раза увеличивает продолжительность жизни нематод при культивировании в течении 61 дня (в сравнении с контролем). Но так как представленные результаты не подкреплены статистической значимостью, невозможно утверждать, что раствор сквалена увеличивает продолжительность жизни нематод.

### **Заключение или выводы**

На сегодняшний день актуальны исследования, посвященные поиску БАВ, проявляющих геропротекторный потенциал. Данная работа посвящена анализу активности сквалена – тритерпена, по литературным данным подходящим на роль геропротектора. Несмотря на полученные данные, однозначно ответить на вопрос «относится ли сквален к геропротекторам» невозможно. Необходимо дополнительно изучить противовоспалительные, нейропротекторные и прочие свойства сквалена (т.е. другие мишени развития возраст-ассоциированных заболеваний), используя различные штаммы нематод (например, штамма *C. elegans* CL4176, применяемого для изучения болезни Альцгеймера [12]). Оценить влияние растворов сквалена на экспрессию ряда генов, регулирующих старение (*daf-2*, *daf-16*, *age-1*, *hsf-1* и т.д.). Данные исследования для оценки сквалена, как кандидата в геропротекторы, ранее не проводились.

**Информация о конфликте интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Информация о спонсорстве.** Работа выполнена в рамках государственного задания FZSR-2020-0006 «Скрининг биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих геропротекторными свойствами, и разработка технологии получения нутрицевтиков, замедляющих старение».

### *Список литературы / References*

1. Решетников В., Спиридович Е., Фоменко Т., Носов А. Растительная биотехнология – способ рационального использования биосинтетического потенциала // Наука и инновации. 2014. № 5(135). С. 21–25 (Reshetnikov V., Spiridovich E., Fomenko T., Nosov A. Rastitel'naja biotehnologija – sposob racional'nogo ispol'zovanija biosinteticheskogo potenciala [Plant biotechnology - a way of natural use of biosynthetic sides]. *Nauka i innovacii* [Science and innovation], 2014, no. 5(135), pp. 21–25).
2. Amrit F.R., Ratnappan R., Keith S.A. et al. The *C. elegans* lifespan assay toolkit. *Methods (San Diego, Calif.)*, 2014, vol. 68(3), pp. 465–475. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.04.002>
3. Campisi J., Kapahi P., Lithgow G. J. et al. From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing. *Nature*, 2019, vol. 571(7764), pp. 183–192. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1365-2>
4. Cordeiro L.M., Machado M.L., da Silva A. F. et al. Rutin protects Huntington's disease through the insulin/IGF1 (IIS) signaling pathway and autophagy activity: Study in *Caenorhabditis elegans* model. *Food and chemical toxicology : an inter-national journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2020, vol. 141, 111323. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111323>
5. Dyshlyuk L.S., Dmitrieva A.I., Drozdova M.Y. et al. Relevance of bioassay of biologically active substances (BAS) with geroprotective properties in the model of the nematode *Caenorhabditis elegans* in experiments in vivo. *Current aging science*, 2021, <https://doi.org/10.2174/1874609814666211202144911>
6. Feng S., Cheng H., Xu Z. et al. Panax notoginseng polysaccharide increases stress resistance and extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Functional Foods*, 2018, vol. 45, pp. 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.03.034>
7. Gohil N., Bhattacharjee G., Khambhati K. et al. Corrigendum: Engineering Strategies in Microorganisms for the Enhanced Production of Squalene: Advances, Challenges and Opportunities. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 2019, vol. 7, 114. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00114>
8. Ibrahim N., Mohamed I. N. Interdependence of Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Squalene-Implication for Cardiovascular Health. *Life (Basel, Switzerland)*, 2021, vol. 11(2), 103. <https://doi.org/10.3390/life11020103>

9. Jabeen A., Parween N., Sayrav K. et al. Date (*Phoenix dactylifera*) seed and syringic acid exhibits antioxidative effect and lifespan extending properties in *Caenorhabditis elegans*. *Arabian Journal of Chemistry*, 2020, vol. 13(12), pp. 9058–9067. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.10.028>
10. Le V., Dolganyuk V., Sukhikh A. et al. Phytochemical Analysis of *Symphytum officinale* Root Culture Extract. *Applied Sciences*, 2021, vol. 11(10), pp. 4478. <https://doi.org/10.3390/app11104478>
11. Leite N.R., Araújo L., da Rocha P.D.S. et al. Baru Pulp (*Dipteryx alata* Vogel): Fruit from the Brazilian Savanna Protects against Oxidative Stress and Increases the Life Expectancy of *Caenorhabditis elegans* via SOD-3 and DAF-16. *Biomolecules*, 2020, vol. 10(8), 1106. <https://doi.org/10.3390/biom10081106>
12. Luo Y, Wu Y, Brown M, et al. *Caenorhabditis elegans* Model for Initial Screening and Mechanistic Evaluation of Potential New Drugs for Aging and Alzheimer's Disease. In: Buccafusco JJ, editor. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2009. Chapter 16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5226/>
13. Mastralexi A., Tsimidou M.Z. On the Squalene Content of CV Chondrolia Chalkidikis and Chalkidiki (Greece) Virgin Olive Oil. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2021, vol. 26(19), 6007. <https://doi.org/10.3390/molecules26196007>
14. Micera M., Botto A., Geddo F. et al. Squalene: More than a Step toward Sterols. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2020, vol. 9(8), 688. <https://doi.org/10.3390/antiox9080688>
15. Myers A., Lithgow G.J. Drugs that target aging: how do we discover them?. *Expert opinion on drug discovery*, 2019, vol. 14(6), pp. 541–548. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1597049>
16. Nigon V.M., Félix M.A. History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms. *WormBook: the online review of C. elegans biology*, 2017, 2017, pp. 1–84. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.181.1>
17. Pallauf K., Duckstein N., Rimbach G. A literature review of flavonoids and lifespan in model organisms. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 2017, vol. 76(2), 145–162. <https://doi.org/10.1017/S0029665116000720>
18. Pandey S., Tiwari S., Kumar A. et al. Antioxidant and anti-aging potential of Juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil in *Caenorhabditis elegans* model system. *Industrial Crops and Products*, 2018, vol. 120, pp. 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.066>
19. Park H.H., Jung Y., Lee S.V. Survival assays using *Caenorhabditis elegans*. *Molecules and cells*, 2017, vol. 40(2), pp. 90–99. <https://doi.org/10.14348/molcells.2017.0017>

20. Popa O., Băbeanu N.E., Popa I. et al. Methods for obtaining and determination of squalene from natural sources. *BioMed research international*, 2015, 2015, pp. 367202. <https://doi.org/10.1155/2015/367202>
21. Potijun S., Jaingam S., Sanevas N. et al. Green Microalgae Strain Improvement for the Production of Sterols and Squalene. *Plants (Basel, Switzerland)*, 2021, vol. 10(8), 1673. <https://doi.org/10.3390/plants10081673>
22. Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, 26, pp.1231–1237.
23. Sakul A., Ozansoy M., Elibol B. et al. Squalene attenuates the oxidative stress and activates AKT/mTOR pathway against cisplatin-induced kidney damage in mice. *Turkish Journal of Biology*, 2019, vol. 43(3), pp. 179–188. <https://doi.org/10.3906/biy-1902-77>
24. Sheng Y.Y., Xiang J., Wang K.R. et al. Extraction of Squalene From Tea Leaves (*Camellia sinensis*) and Its Variations With Leaf Maturity and Tea Cultivar. *Frontiers in nutrition.*, 2022, vol. 9, 755514. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.755514>
25. Song B., Zheng B., Li T. et al. Raspberry extract promoted longevity and stress tolerance via the insulin/IGF signaling pathway and DAF-16 in *Caenorhabditis elegans*. *Food & function*, 2020, vol. 11(4), pp. 3598–3609. <https://doi.org/10.1039/c9fo02845e>
26. Song Y., Guan Z., van Merkerk R. et al. Production of Squalene in *Bacillus subtilis* by Squalene Synthase Screening and Metabolic Engineering. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2020, vol. 68(15), pp. 4447–4455. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00375>
27. Sugawara T., Sakamoto K. Quercetin enhances motility in aged and heat-stressed *Caenorhabditis elegans* nematodes by modulating both HSF-1 activity, and insulin-like and p38-MAPK signalling. *PloS one*, 2020, vol. 15(9), e0238528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238528>
28. Trifan A., Opitz S.E.W., Josuran R. et al. Evelyn Wolfram. Is comfrey root more than toxic pyrrolizidine alkaloids? Salvianolic acids among antioxidant polyphenols in comfrey (*Symphytum officinale* L.) roots. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, vol. 112, pp. 178–187. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.12.051>
29. Valachovič M., Hapala I. Biosynthetic Approaches to Squalene Production: The Case of Yeast. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2017, 1494, pp. 95–106. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6445-1\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6445-1_7)
30. Vesnina A.D., Dmitrieva A.I., Asyakina L.K. et al. Relevance of the use of plant extracts in the creation of functional products that have a geroprotective

- effect. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 2020, vol. 12(3), pp. 1865–1879. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.261>
31. Wang H., Liu J., Li, T. et al. Blueberry extract promotes longevity and stress tolerance via DAF-16 in *Caenorhabditis elegans*. *Food & function*, 2018, vol. 9(10), pp. 5273–5282. <https://doi.org/10.1039/c8fo01680a>
  32. Warleta F., Campos M., Allouche Y. et al. Squalene protects against oxidative DNA damage in MCF10A human mammary epithelial cells but not in MCF7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, vol. 48(4), pp. 1092–1100. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.01.031>
  33. Xie Y., Sen B., Wang G. Mining terpenoids production and biosynthetic pathway in thraustochytrids. *Bioresource technology*, 2017, vol. 244(2), pp. 1269–1280. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.002>
  34. Yang J.S., Nam H.J., Seo M. et al. OASIS: Online Application for the Survival Analysis of Lifespan Assays Performed in Aging Research. *Plos one*, 2011, vol. 6(8), e23525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023525>
  35. Zamberlan D.C., Amaral G.P., Arantes L.P. et al. Rosmarinus officinalis L. increases *Caenorhabditis elegans* stress resistance and longevity in a DAF-16, HSF-1 and SKN-1-dependent manner. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 2016, vol. 49(9), e5235. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20165235>
  36. Zhao J., Zhu A., Sun Y. et al. Beneficial effects of sappanone A on lifespan and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*. *European journal of pharmacology*, 2020, vol. 888, 173558. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173558>
  37. Zheng S.Q., Huang X.B., Xing T.K. et al. Chlorogenic Acid Extends the Lifespan of *Caenorhabditis elegans* via In-sulin/IGF-1 Signaling Pathway. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 2017, vol. 72(4), pp. 464–472. <https://doi.org/10.1093/gerona/glw105>

### ВКЛАД АВТОРОВ

**Веснина А.Д.:** разработка концепции научной работы, сбор и анализ данных, составление черновика рукописи, написание рукописи.

**Долганик В.Ф.:** разработка концепции научной работы, редактирование черновика рукописи, написание рукописи.

**Дмитриева А.И.:** разработка концепции научной работы, сбор и анализ данных, составление черновика рукописи.

**Лосева А.И.:** редактирование черновика рукописи.

**Милентьева И.С.:** сбор и анализ данных.



**AUTHOR CONTRIBUTIONS**

**Anna D. Vesnina:** study conception and design, data collection and analysis, drafting of the manuscript, writing of the manuscript.

**Vyacheslav F. Dolganyuk:** study conception and design, editing of the draft of the manuscript, writing of the manuscript.

**Anastasia I. Dmitrieva:** study conception and design, data collection and analysis, editing of the draft of the manuscript.

**Anna I. Loseva:** editing of the draft of the manuscript.

**Irina S. Milentyeva:** data collection and analysis.

**ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ**

**Веснина Анна Дмитриевна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков  
*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет»*  
ул. Красная, 6., г. Кемерово, 650000, Российская Федерация  
*koledockop1@mail.ru*

**Долганюк Вячеслав Федорович**, к.т.н., старший научный сотрудник лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков  
*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет»*  
ул. Красная, 6., г. Кемерово, 650000, Российская Федерация  
*dolganuk\_vf@mail.ru*

**Дмитриева Анастасия Игоревна**, к.т.н., научный сотрудник лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков  
*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет»*  
ул. Красная, 6., г. Кемерово, 650000, Российская Федерация  
*a\_piskaeva@mail.ru*

**Лосева Анна Ивановна**, к.т.н., начальник управления научно-издательской деятельности  
*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет»*

*ул. Красная, 6., г. Кемерово, 650000, Российская Федерация  
losevaa@mail.ru*

**Милентьева Ирина Сергеевна**, д.т.н., старший научный сотрудник,  
доцент,  
*Федеральное государственное бюджетное образовательное уч-  
реждение высшего образования «Кемеровский государственный  
университет»  
ул. Красная, 6., г. Кемерово, 650000, Российская Федерация  
irazutnikova@mail.ru*

#### **DATA ABOUT THE AUTHORS**

**Anna D. Vesnina**, Postgraduate Student, Junior Researcher Laboratory of Natural Nutraceuticals Biotesting of Research  
*Kemerovo State University  
6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation  
koledockop1@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4552-7418>  
ResearcherID: G-7155-2019  
Scopus Author ID: 57216174778*

**Vyacheslav F. Dolganyuk**, Candidate of Engineering Science, Senior Researcher, Researcher Laboratory of Natural Nutraceuticals Biotesting of Research  
*Kemerovo State University  
6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation  
dolganuk\_vf@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0603-7456>  
ResearcherID: E-8701-2014  
Scopus Author ID: 57131091500*

**Anastasia I. Dmitrieva**, Candidate of Engineering Science, Researcher, Researcher Laboratory of Natural Nutraceuticals Biotesting of Research  
*Kemerovo State University  
6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation  
a\_piskaeva@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8764-4049>  
Scopus Author ID: 57190975414*

**Anna I. Loseva**, Candidate of Engineering Science, Head of the Scientific and Publishing Department

*Kemerovo State University*

*6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation*

*losevaa@mail.ru*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4037-2653>*

*Scopus Author ID: 57223964858*

**Irina S. Milentyeva**, Doctor of Engineering Science, Senior Researcher, Asc. Prof.

*Kemerovo State University*

*6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation*

*irazumnikova@mail.ru*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3536-562X>*

*ResearcherID: C-3328-2014*

*Scopus Author ID: 57041280000*

Поступила 28.05.2022

После рецензирования 10.06.2022

Принята 05.07.2022

Received 28.05.2022

Revised 10.06.2022

Accepted 05.07.2022