

© 2025 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 28: 1-13, 2025.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2025.750>

Caenorhabditis elegans un modelo alternativo para la investigación en toxicología

Ludwig Che Trejo¹, Víctor Monteón² y Miguel Chin Chan^{1*}

¹Laboratorio de Epigenética ambiental y Salud mental, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Campeche. Colonia Buenavista, 24039, San Francisco de Campeche, Campeche, México. ²Laboratorio de Inmunoparasitología. Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Autónoma de Campeche. Colonia Buenavista, 24039, San Francisco de Campeche, Campeche, México. E-mail: *joshmchin@uacam.mx

RESUMEN

Caenorhabditis elegans es un nematodo con una longitud aproximada de 1 mm, que en la década de 1970 fue introducido como modelo experimental y se ha consolidado como una valiosa herramienta en diversos campos del conocimiento: la biología del desarrollo, la bioquímica y la neurobiología; sin embargo, su uso es en particular prominente en la farmacología y en la investigación para el desarrollo de fármacos. Debido a sus numerosas ventajas también se utiliza con amplitud en la investigación del envejecimiento y la toxicología. En esta revisión, se describe su anatomía, ciclo de vida, y las características que lo posicionan como un modelo alternativo y significativo en la investigación toxicológica. Se detalla su aplicación como bioindicador en ecotoxicología, las ventajas de su sistema nervioso simplificado para elucidar el impacto de diversos neurotóxicos y su potencial para investigar la contribución de tóxicos ambientales en la etiología de enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas. Se discute su uso en estudios relacionados con la teoría del origen del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD), e investigaciones en epigenética transgeneracional asociada a la exposición a contaminantes ambientales. Finalmente, se reflexiona sobre las ventajas y limitaciones de *C. elegans* en las investigaciones toxicológicas.

Palabras clave: *C. elegans*, toxicología, contaminación ambiental, modelo alternativo.

Caenorhabditis elegans an alternative model for toxicology research

ABSTRACT

Caenorhabditis elegans is a nematode approximately 1 mm in length that was introduced as an experimental model in the 1970s and has become a valuable tool in various fields of knowledge, including developmental biology, biochemistry, and neurobiology. However, its use is particularly prominent in pharmacology and drug development research. Due to its numerous advantages, it is also widely used in aging research and toxicology. In this review, we describe its anatomy, life cycle and the features that position it as an alternative and significant model in toxicological research. We detailed its application as a bioindicator in ecotoxicology and the advantages of its simplified nervous system for elucidating the impact of various neurotoxins and its potential to investigate the contribution of environmental toxins to the etiology of neurodegenerative and psychiatric disorders. We also discussed its use in studies related to the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) theory and in transgenerational epigenetic research associated with exposure to environmental pollutants. Finally, we reflect on the advantages and limitations of *C. elegans* in toxicological research.

Keywords: *C. elegans*, toxicology, environmental pollution, alternative model.

INTRODUCCIÓN

C*aenorhabditis elegans* (*C. elegans*) es un nematodo de escasos milímetros, de vida libre y con una distribución ubicua (Corsi, Wightman & Chalfie, 2015). Su aceptación en general como modelo de estudio se debe a Sydney Brenner, quien en 1974, lo propuso para las investigaciones en biología del desarrollo y la neurobiología, al considerar que un modelo simple facilitaría la comprensión de los procesos biológicos complejos (Brenner, 1974). Actualmente, *C. elegans* se emplea como modelo *in vivo* en varios campos del conocimiento: farmacología, bioquímica, biología del desarrollo, neurobiología, investigación del envejecimiento y toxicología. Su amplia utilización se debe a: la simplicidad estructural que lo caracteriza, la facilidad de manejo y cultivo, un ciclo de vida corto, un genoma completamente secuenciado y la disponibilidad de extensos repositorios y herramientas para la manipulación genética (Consortium, 1998; Leung *et al.*, 2008; Rogers *et al.*, 2008; Stiernagle, 2006). Varios laboratorios en el mundo emplean a *C. elegans* como modelo experimental, lo que genera anualmente alrededor de 1,200 artículos científicos (Corsi *et al.*, 2015). Su relevancia se reconoce por haber sido utilizado en las investigaciones de cuatro premios nobel (Rosenbluth, 2024), incluido el más reciente de medicina y fisiología otorgado a los científicos Victor Ambros y Kary Ruvkun por el descubrimiento de los micro ARNs y su papel en la regulación génica postranscripcional (Thenobelprize.org, 2024).

En toxicología se ha dispuesto de modelos animales que incluyen: ratones, ratas, hámsteres, cobayos, pollos, mini cerdos, perros y monos (Sachana & Hargreaves, 2018); Sin embargo, existe un creciente y genuino interés por parte de los comités de ética institucionales en promover la sustitución o reducción del número de animales utilizados en estudios de toxicidad, con el objetivo de minimizar el sufrimiento y los sacrificios innecesarios (Khabib, Sivasanku, Lee, Kumar & Kue, 2022; Stresser *et al.*, 2024). Si bien los estudios en sistemas *in vitro*, *ex vivo* o *in silico* aportan información relevante a la toxicología, presentan limitaciones inherentes a la toxicocinética, la interacción entre tejidos y los mecanismos compensatorios de organismos completos (Wittkowski *et al.*, 2019). Ante este panorama, existe la necesidad de modelos *in vivo* alternativos que ofrezcan ventajas sobre los modelos tradicionales: costos de mantenimiento reducidos, tiempos de ejecución experimental más breves, la posibilidad de operar con tecnologías menos onerosas y, en el contexto de la ética animal, normativas menos rigurosas. En este sentido, el nematodo *Caenorhabditis elegans* emerge como una prometedora alternativa *in vivo* para investigaciones en múltiples ramas de la toxicología (Khabib *et al.*, 2022).

El uso de *C. elegans* como modelo, *in vivo*, alternativo para las investigaciones en toxicología se debe a que permite estudiar los efectos de variados compuestos, es el caso de los

fármacos, metales, plaguicidas, nanopartículas y microplásticos, entre otros. Los parámetros de toxicidad se estudian con facilidad a través de la cepa de referencia N2 (wild type), (Dengg & van Meel, 2004). Además, se han creado cepas transgénicas que expresan genes reporteros como la proteína verde fluorescente (GFP) regulados por secuencias de genes asociados al estrés oxidante, choque térmico, sistema de citocromos y metalotioneínas, entre otros, lo que le confiere gran utilidad como bioindicador de contaminación (Tejeda-Benitez & Olivero-Verbel, 2016). Este nematodo ha permitido el modelado de diversas enfermedades humanas con cepas modificadas genéticamente; por ejemplo, se han generado cepas para replicar las enfermedades de Alzheimer y Parkinson (Ma *et al.*, 2022; Wu & Luo, 2005). También ha emergido como modelo de estudio en epigenética ambiental, con alternativas para evaluar el efecto tardío de exposiciones tempranas o incluso efectos multi y transgeneracionales asociados a la exposición a contaminantes ambientales (Weinhouse, Truong, Meyer & Allard, 2018), provocando grandes expectativas en estos campos del conocimiento.

En este trabajo hacemos una revisión extensa de las características de *C. elegans* y su utilidad en las investigaciones en el campo de la toxicología, en particular en la ecotoxicología, neurotoxicología y la epigenética transgeneracional. Finalmente, discutimos las ventajas y limitaciones del modelo experimental.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

C. elegans es un nematodo clasificado en el filo Nematoda, clado Ecdysozoa, clase Chromadorea, subclase Chromadoria, orden Rhabditida, familia Rhabditidae y género *Caenorhabditis* (Corsi *et al.*, 2015; Riddle, Blumenthal, Meyer & Priess, 1997). Este organismo es saprofito y se encuentra por lo general en suelos húmedos, hojarasca y ambientes con alta materia orgánica en descomposición. El nombre científico proviene del griego y latín, donde “*caeno*” significa “nuevo”, “*rhabditis*” se refiere a “bastón” y “*elegans*” denota “elegante” (Riddle *et al.*, 1997). La clasificación taxonómica resalta su posición dentro del grupo de los nematodos, conocido por su gran diversidad y relevancia en la ecología del suelo (Barriere & Felix, 2005).

El genoma de *C. elegans* fue el primero en secuenciarse por completo en un organismo multicelular, comprende alrededor de 97-MB de ADN genómico con una predicción de alrededor de 19,900 genes codificantes de proteínas. Se estima que al menos el 83 % del proteoma del nematodo tiene genes homólogos en el humano (Consortium, 1998; Lai, Chou, Chang, Liu & Lin, 2000).

C. elegans tiene dos sexos, el autofertilizable hermafrodita (XX) y el macho (XO), este último es menos frecuente (0.1 % por no presentar disyunción espontánea en la línea germinal hermafrodita). La naturaleza germinal hermafrodita permite la generación de nematodos homocigotos y por

tanto una progenie genéticamente idéntica. Al igual que otros nematodos *C. elegans* posee un cuerpo cilíndrico no segmentado con extremos cónicos. Consta de un tubo externo y otro interno, separados por un pseudoceloma. El tubo externo (pared corporal) consiste en la cutícula, hipodermis, sistema secretor, sistema nervioso y sistema muscular; en cuanto al tubo interior lo forma la faringe, el intestino y en el adulto las gónadas (Altun & Hall, 2009). Su sistema nervioso consiste en 302 neuronas y está dividido en el sistema nervioso somático largo (282 neuronas) y el sistema nervioso faríngeo de 20 neuronas, lo que lo convierte en un modelo valioso para estudiar enfermedades neurodegenerativas (Altun & Hall, 2009; Roussos, Kitopoulou, Borbolis & Palikaras, 2023). En la Figura 1 se presenta la anatomía de un organismo adulto hermafrodita.

Ciclo de vida

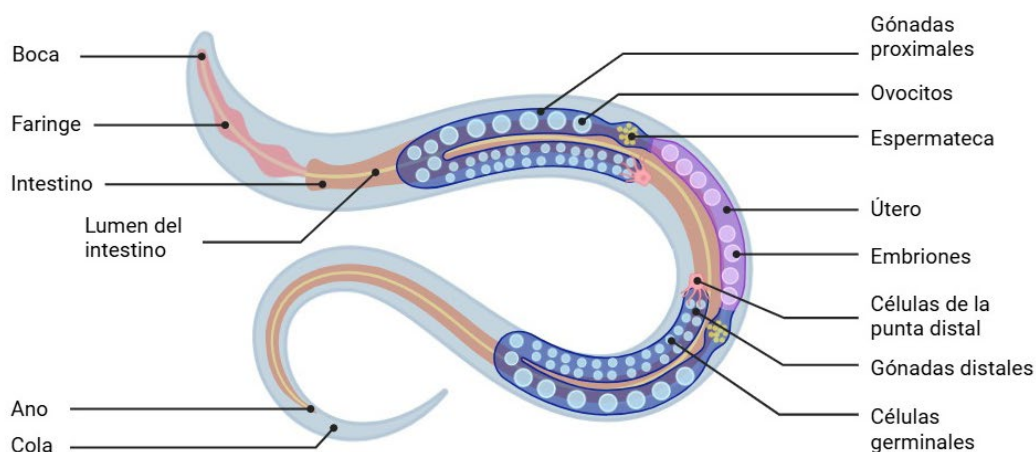
El ciclo de vida de *C. elegans* se completa de 3 a 4 días a una temperatura de 20 °C, lo que permite obtener resultados experimentales relativamente rápido (Riddle *et al.*, 1997). El ciclo incluye una fase embrionaria, cuatro estadios larvales (L1 a L4) y la etapa adulta (Figura 2). Cada estadio larval está marcado por una muda, proceso en que el nematodo reemplaza su cutícula externa. En condiciones adversas o de precariedad ambiental, como la falta de alimento o la alteración de su entorno, el nematodo ingresa del estado L1-L2 a un estado

de diapausa conocido como *dauer*. En este estado latente, su desarrollo se detiene y es capaz de sobrevivir durante varios meses sin alimento y sin reproducirse. Cuando las condiciones ambientales mejoran regresa a su desarrollo normal (Altun & Hall, 2009; Riddle *et al.*, 1997).

MODELO DE ESTUDIO EN TOXICOLOGÍA

El uso de *C. elegans* como modelo en estudios de toxicidad ha ganado popularidad debido a sus características distintivas que facilitan la investigación en toxicología, entre ellos, y como antes se mencionó, su fácil cultivo en el laboratorio, transparencia corporal y un ciclo de vida corto (Leung *et al.*, 2008). Diversos estudios han demostrado que los ensayos de toxicidad en este nematodo microscópico son consistentes con los resultados obtenidos en mamíferos. Por ejemplo, se ha observado una correlación significativa en la letalidad aguda (LC50) de sales metálicas (metales pesados) en el nematodo y los valores reportados de LD50 por vía oral en mamíferos (Williams & Dusenbery, 1988). Los ensayos de toxicidad en *C. elegans* se llevan a cabo con métodos de bajo costo como la incubación y evaluación de la letalidad por observación microscópica, o a través de sistemas automatizados de alto rendimiento (evaluación de múltiples dosis/tóxicos) como el COPAS BioSorter que permite contar el número de nematodos de forma rápida y a gran escala (Hunt, Olejnik & Sprando, 2012; Pulak, 2006).

Anatomía de *Caenorhabditis elegans*



Created in BioRender.com bio

Figura 1. Esquema de las características anatómicas de *C. elegans*. Modificado de Corsi *et al.* (2015), BioRender.

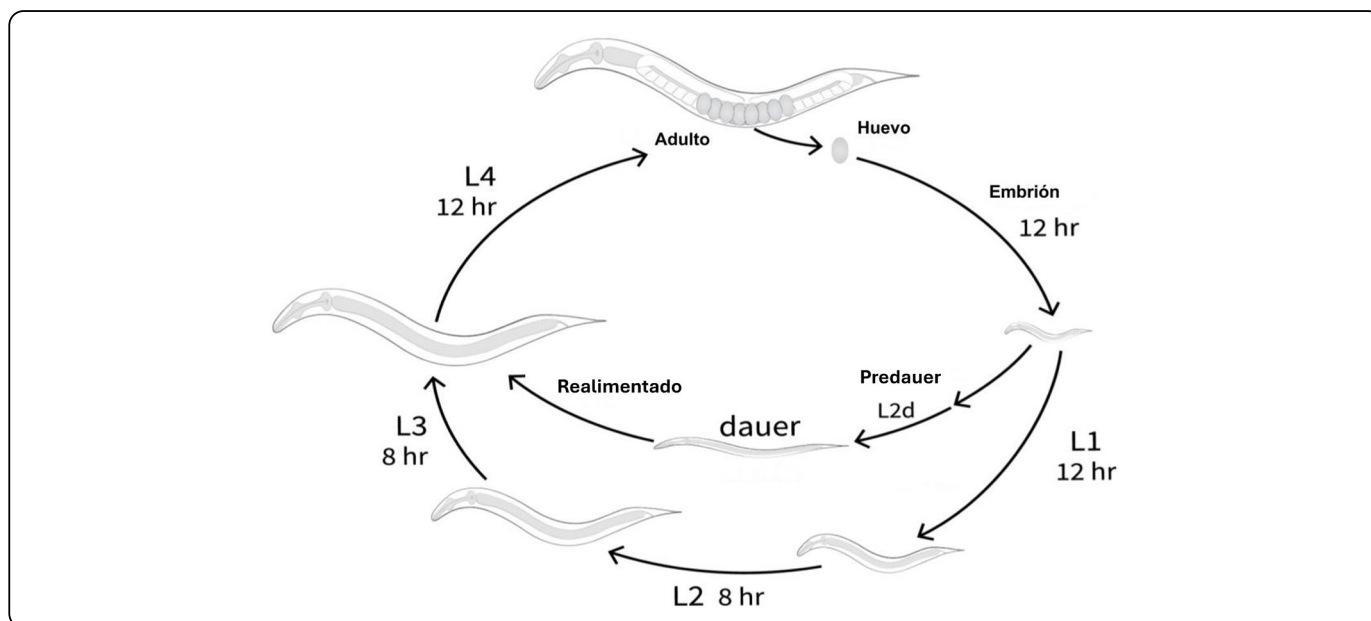


Figura 2. Ciclo de vida de *C. elegans*. Se aprecian las etapas de desarrollo del nematodo, desde huevo hasta adulto. Modificado de Kimble & Nüslein-Volhard (2022).

El centro genético de *Caenorhabditis* (Caenorhabditis Genetics Center, CGC, por sus siglas en inglés) está localizado en la Universidad de Minnesota y alberga alrededor de 20, 700 cepas genéticamente distintas, muchas de ellas son modelo de enfermedades como el Cáncer, Alzheimer y Parkinson, entre otras (Daul, Andersen & Rougvie, 2019). Estas cepas son cruciales para realizar investigaciones toxicológicas y determinar los mecanismos de acción de tóxicos ambientales relacionadas con enfermedades humanas. Es posible estudiar procesos específicos del desarrollo; por ejemplo, la toxicidad durante el neurodesarrollo de un amplio grupo de sustancias neurotóxicas: mercurio, manganeso, flúor y pesticidas organofosforados (Ruszkiewicz *et al.*, 2018), que muestra la versatilidad de este modelo para estudiar los mecanismos de toxicidad (Sammi, Jameson, Conrow, Leung & Cannon, 2022).

La introducción de un ARN de doble cadena (dsRNA, por sus siglas en inglés) en *C. elegans* evita la expresión de un gen endógeno blanco, un proceso conocido como ARN de interferencia, una herramienta esencial en las investigaciones con este nematodo. La inserción del dsRNA es mediante microinyección en el nematodo hermafrodita o mediante alimentación con una bacteria que expresa el dsRNA específico (Conte, MacNeil, Walhout & Mello, 2015). Actualmente, existen librerías bacterianas que poseen dsRNA para prácticamente el 86 % de los genes codificantes del genoma de *C. elegans* (Kamath & Ahringer, 2003). La disponibilidad de estas herramientas es esencial para el análisis de la función génica, pero también para investigar los blancos moleculares subyacentes a la exposición de agentes tóxicos.

Además, el nematodo ha mostrado sensibilidad a los contaminantes emergentes como los microplásticos y nanopartículas, con capacidad de manifestar respuestas fisiológicas y conductuales utilizadas como indicadores de contaminación (Hu, Li, Lei, Cao, Wang & He, 2020; Tejeda-Benitez & Olivero-Verbel, 2016). También representa una oportunidad para evaluar la bioseguridad del creciente campo de los nanomateriales (Wu, Xu, Liang & Tang, 2019).

Bioindicador ambiental

La ecotoxicología es una rama de la toxicología encargada del estudio del impacto de los contaminantes sobre los ecosistemas. En ese sentido, los bioindicadores son los organismos vivos: plantas, plancton, animales y microbios utilizados para evaluar la salud ambiental y el impacto de la actividad antropogénica (Parmar, Rawtani & Agrawal, 2016). *C. elegans* ha sido propuesto como bioindicador ambiental por su sensibilidad a los contaminantes. Su uso ha ganado relevancia en la evaluación de la calidad de diferentes matrices ambientales, incluidos, el agua, el suelo y los sedimentos, debido a su capacidad para detectar una amplia gama de contaminantes: metales pesados, plaguicidas y compuestos orgánicos (Clavijo *et al.*, 2016; Queiros, Pereira, Goncalves, Pacheco, Aschner & Pereira, 2019).

La inclusión de este modelo en programas de monitoreo es valiosa por proporcionar alertas tempranas sobre posibles riesgos ambientales, en especial en ambientes donde existen mezclas complejas de contaminantes, pues se han obtenido resultados comparables con estudios tradicionales de toxicidad

en roedores (Wittkowski *et al.*, 2019). La respuesta biológica de *C. elegans* a la exposición a diferentes contaminantes está bien documentada, abarca efectos tanto agudos como crónicos. En la cepa de referencia N2 se han observado cambios en la locomoción, reproducción y expresión génica tras la exposición a metales pesados (Jiang, Chen, Wu, Wang & Li, 2016).

A diferencia de otros organismos comúnmente utilizados, *C. elegans* cuenta con una base de datos extensa de conocimientos genéticos y fisiológicos: la wormbase.org (Rogers *et al.*, 2008) y el CGC (Daul *et al.*, 2019). Estas herramientas son esenciales para conocer la funcionalidad de los genes y mediante ingeniería genética hacer construcciones moleculares que permitan usar a los genes reporteros (ej. GFP) que se encuentren bajo el control transcripcional de unidades de regulación sensibles a contaminantes, como los elementos de respuesta a metales u hormonas, de tal forma que cuando el contaminante entra al sistema del nematodo se emite una señal detectable y medible (Figura 3).

Estas cepas transgénicas han permitido determinar la presencia de metales pesados en sitios contaminados (suelo, sedimento y agua), mediante evaluación simple de la activación de la expresión de genes reporteros bajo el control transcripcional de genes asociados a choque térmico, estrés oxidante, metalotioneínas y el sistema de citocromos (Anbalagan *et al.*, 2012). Repositorios como el CGC son de utilidad para la

elección de cepas transgénicas disponibles que ayuden a estudiar o monitorear la presencia de tóxicos ambientales en sitios con actividad antropogénica y sospecha de polución

Llevar a cabo estudios de toxicidad en diferentes matrices ambientales (agua, suelo y sedimentos) refuerza la idoneidad de *C. elegans* como bioindicador. Es capaz de sobrevivir y reproducirse tanto en un medio sólido como en uno acuoso, lo que permite su uso en una variedad de configuraciones experimentales, esto es en la simulación de suelos contaminados con agar de crecimiento de nematodos con concentraciones conocidas de contaminantes, o un medio líquido como el buffer M9 o basal S para exponerlos a concentraciones específicas que simulen matrices acuosas contaminadas (Queiros *et al.*, 2019).

APLICACIONES EN NEUROTOXICOLOGÍA

La neurotoxicología se encarga de estudiar el impacto de los agentes químicos, biológicos y físicos en el sistema nervioso. El uso de *C. elegans* para estudios de neurotoxicología se fundamenta en la simplicidad y organización de su sistema nervioso (Figura 4), que fue descrito inicialmente por White y Brenner mediante microfotografía electrónica (White, Southgate, Thomson & Brenner, 1986). Aunque su sistema nervioso es menos complejo que el de los mamíferos, presenta características importantes. Este consiste en células organizadas en ganglios, que están localizados de la cabeza a la cola. La mayoría de las neuronas se encuentran alrededor de la faringe,

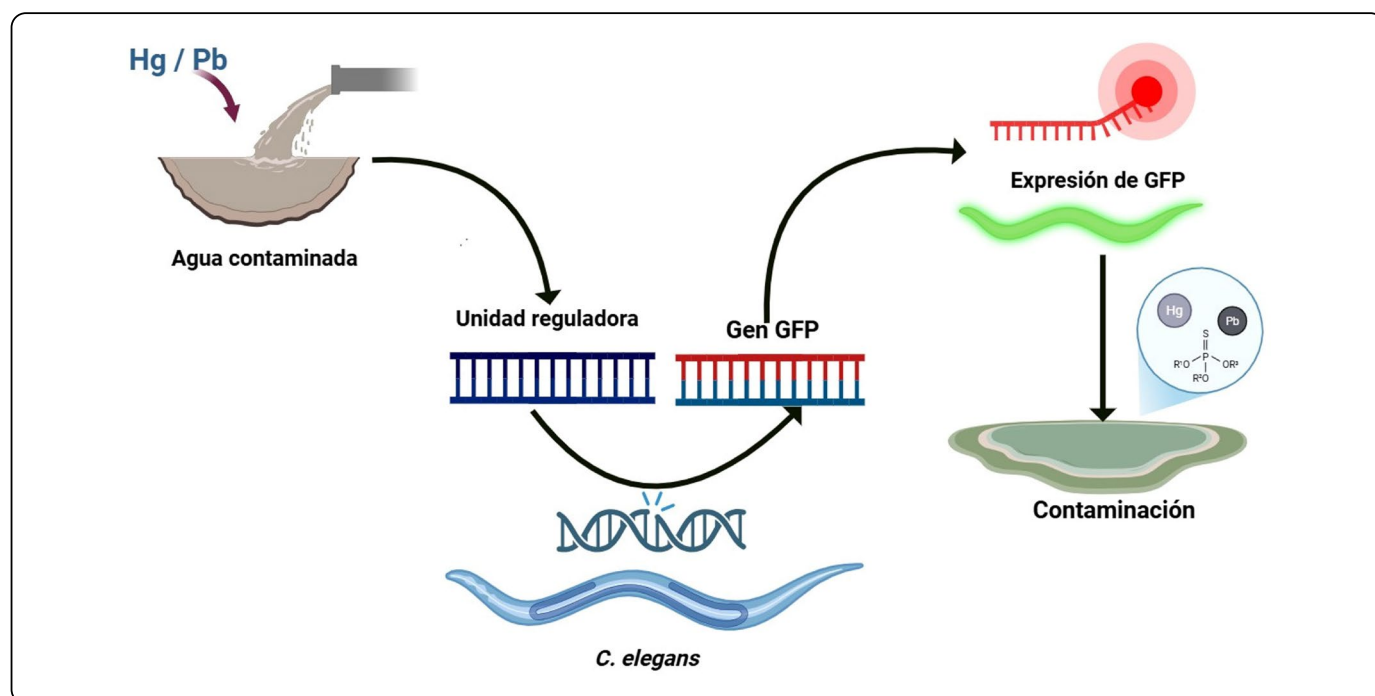


Figura 3. Esquema del uso de *Caenorhabditis elegans* como biosensor ambiental. La exposición a metales pesados (Hg= mercurio y Pb= plomo) activa una unidad reguladora, e induce la expresión del gen reportero proteína verde fluorescente (GFP). La fluorescencia resultante permite detectar contaminantes en el entorno. Edición propia en BioRender.

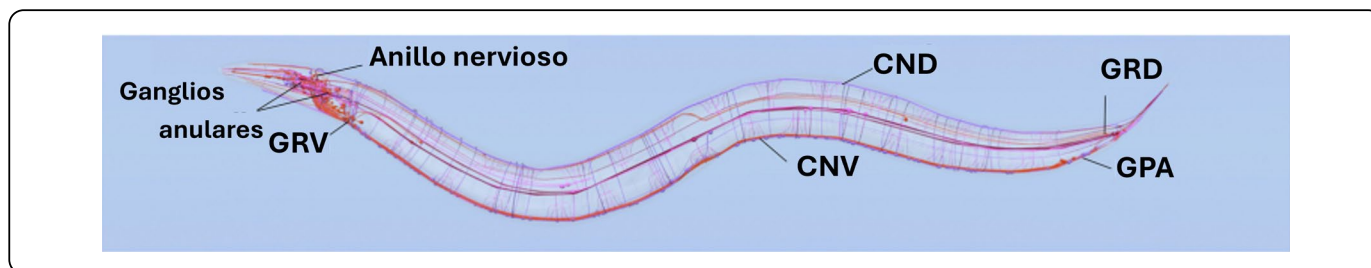


Figura 4. Anatomía del sistema nervioso de *C. elegans*. Entre los tractos nerviosos se encuentran el cordón nervioso ventral (CNV), el dorsal (CND) y el anillo nervioso. Los ganglios principales incluyen el anular, retrovesicular (GRV), preanal (GPA) y de la raíz dorsal (GDR). Imagen adaptada de Corsi *et al.*, 2015.

formando un anillo nervioso que constituye el cerebro del organismo. El sistema nervioso del hermafrodita consta de 302 neuronas, a diferencia del macho que tiene 383. (Emmons, 2015; Gjorgjieva, Biron & Haspel, 2014). Un hermafrodita adulto tiene dos sistemas nerviosos, el sistema nervioso grande somático y el pequeño sistema nervioso faríngeo, que se comunican a través de interneuronas (Byrd & Jin, 2021). Con un circuito neural que incluye más de 6,000 sinapsis químicas, 900 uniones estrechas y 1,500 uniones neuromusculares lo que permite la integración y coordinación de las funciones esenciales: desarrollo, alimentación, movimiento y reproducción (Altun & Hall, 2009).

C. elegans consta de tres tipos de neuronas funcionales: motoneuronas, neuronas sensoriales e interneuronas. Tiene un aproximado de 113 motoneuronas que son responsables del arrastre en una superficie sólida o del nado en un medio acuoso, estas incluyen motoneuronas tipo A y B que son colinérgicas y el tipo D que liberan el neurotransmisor GABA. Las neuronas sensoriales le permiten conocer los estímulos ambientales (temperatura, osmolaridad, químicos volátiles, niveles de oxígeno, pH y luz) a través de la quimiotaxis o termotaxis. En cuanto a las interneuronas funcionan como procesadores de información, reciben señales de unas neuronas y las envían a otras (Melnikov, Kucharikova, Bardyova, Botek & Kaiglova, 2023).

La neurotoxicidad de múltiples agentes ha sido estudiada en este nematodo demostrando efectos adversos comparables a los observados en mamíferos (Melnikov *et al.*, 2023). Entre ellos con los metales pesados (aluminio, arsénico, bario, cadmio, cobre, plomo, manganeso, mercurio, níquel, uranio y zinc) producen efectos tóxicos: letalidad, alteraciones en la reproducción, la longevidad, y en la expresión génica. También se han documentado alteraciones conductuales, alteración en la expresión de reporteros o cambio de la morfología neuronal (Leung *et al.*, 2008). Los neurotransmisores como la acetilcolina (ACh), la serotonina y el ácido gamma-aminobutírico (GABA) están implicados en la regulación de diversos comportamientos de *C. elegans*, de tal forma que sus alteraciones servirían como marcadores de neurotoxicidad (Sammi *et al.*, 2022).

En este contexto, el uso de genes reporteros en neuronas dopaminérgicas ha resultado útil para evaluar la neurotoxicidad de los metales pesados o combinaciones binarias y terciarias. Esto permite analizar los efectos tóxicos a nivel neuronal de forma sencilla y rápida (Tang, Tong, Xue, Williams, Wang & Tang, 2019). También es remarcable que este organismo con un sistema nervioso simple, lleva a cabo tareas de aprendizaje asociativo (Rahmani, McMillen, Allen, Minervini & Chew, 2024), por lo que ofrece una importante herramienta para estudiar alteraciones conductuales o alteraciones de aprendizaje y memoria producidas por exposición a tóxicos ambientales (Zhang, Ye & Wang, 2010).

En toxicología es fundamental la evaluación del impacto de los agentes tóxicos en el cerebro en desarrollo durante la vida perinatal, puesto que es más sensible que el adulto. En la actualidad, se han identificado agentes tóxicos del neurodesarrollo: el metilmercurio, el arsénico, el plomo, el manganeso, el fluoruro, el etanol, el tolueno, el tetracloroetileno, los bifenilos polibromados, los plaguicidas clorpirifos y el DDT (Grandjean & Landrigan, 2014). Estos compuestos alteran procesos clave del neurodesarrollo: la proliferación, la migración, la sinaptogénesis y la mielinización, pero también el sistema neuroendocrino e inmunológico, con consecuencias cognitivas y conductuales (Rock & Patisaul, 2018). Estudios en *C. elegans* sugieren que los efectos en el neurodesarrollo de múltiples tóxicos son comparables con los observados en mamíferos (Ruszkiewicz *et al.*, 2018).

El diseño de cepas transgénicas de *C. elegans* que expresan genes asociados a enfermedades neurodegenerativas, como el péptido beta-amiloide y la proteína tau, ha permitido investigar mecanismos asociados a la patogénesis de estos desórdenes (Wu & Luo, 2005). La exposición a contaminantes ambientales se ha asociado con el desarrollo de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson (Chin-Chan, Cobos-Puc, Alvarado-Cruz, Bayar & Ermolaeva, 2019; Chin-Chan, Navarro-Yepes & Quintanilla-Vega, 2015), por lo que el uso de nematodos modificados genéticamente ayudaría a comprender los mecanismos de toxicidad de estos

neurotóxicos; pero también serían de gran relevancia para evaluar e identificar sustancias con potencial terapéutico (Paul, Chipurupalli, Justin, Raja & Mohankumar, 2020).

Los neurotransmisores como las aminas biogénicas (dopamina y serotonina) han sido estudiados en *C. elegans* (Chase & Koelle, 2007); a través de cepas mutantes deficientes de estas moléculas (Loer & Kenyon, 1993). Esto ofrece la oportunidad de emplear a *C. elegans* como un modelo sencillo pero informativo para estudiar el rol de tóxicos ambientales relevantes en la etiología de las enfermedades psiquiátricas caracterizadas por la desregulación neuroquímica (Dwyer, 2018), lo que refuerza su valor en el campo de la neurotoxicología (Melnikov *et al.*, 2023; Sammi *et al.*, 2022)

APLICACIONES EN EPIGENÉTICA AMBIENTAL Y TRANSGENERACIONAL

La epigenética estudia los cambios heredables en la expresión génica que ocurren sin alteración de la secuencia de ADN. Dentro de los cambios están la metilación del ADN, la modificación de histonas y la expresión de micro ARNs (miRNAs). Estas modificaciones epigenéticas se alteran por influencia exógena de exposición a los contaminantes ambientales, un campo de estudio creciente conocido como epigenética ambiental (Bollati & Baccarelli, 2010). Actualmente, es aceptado que hay enfermedades causadas por la exposición a los contaminantes ambientales, sin producir mutaciones, pero sí alteración en la expresión génica mediada por cambios epigenéticos que persisten a pesar del cese a la exposición (He, Liu & Li, 2023).

En el campo de la epigenética ambiental existe un gran interés en conocer los mecanismos epigenéticos asociados a la exposición temprana a contaminantes ambientales, que conducen a enfermedades en la edad adulta, un fenómeno conocido como teoría de los Orígenes en el Desarrollo de la Salud y la Enfermedad (DOHaD, por sus siglas en inglés), (Charles, Delpierre & Breant, 2016; Heindel *et al.*, 2015). Las investigaciones en modelos animales han contribuido al entendimiento de los cambios epigenéticos debido a exposiciones tempranas y los subsecuentes efectos tardíos (Dickinson *et al.*, 2016); sin embargo, debido a los tiempos de ejecución llevar a cabo estas investigaciones es todavía un desafío. En *C. elegans* una exposición temprana a un tóxico ambiental toma 48 h, el tiempo que tarda en transitar de la etapa larval 1 a la 4, y la evaluación del individuo adulto sería a partir del tercer día a temperatura constante de 20 °C (Figura 2). Las exposiciones tempranas también se realizan durante la etapa embrionaria de huevo; los estudios han reportado que la exposición embrionaria a contaminantes ambientales (por ejemplo bisfenol A y bisfenol S) producen efectos tóxicos que persisten en el nematodo adulto (Mersha, Sanchez, Temburni & Dhillon, 2018).

Por otro lado, la toxicología generacional se avoca al estudio de la capacidad de los tóxicos ambientales para inducir la herencia

epigenética transgeneracional de las enfermedades (Nilsson, Ben Maamar & Skinner, 2022). Este fenómeno implica que la exposición a los agentes tóxicos aumenta la incidencia de enfermedades en generaciones subsecuentes, incluso en ausencia de una exposición directa (Nilsson, Sadler-Riggelman & Skinner, 2018). Para que esto ocurra, la exposición debe provocar modificaciones epigenéticas en las células germinales (óvulos o espermatozoides) del organismo expuesto, las cuales se transmiten a la descendencia y alteran la expresión génica en las células somáticas (Nilsson *et al.*, 2022). Así, la herencia epigenética transgeneracional se define como la transmisión, a través de la línea germinal, de información epigenética entre generaciones en ausencia de una exposición ambiental directa, lo que da lugar a variaciones fenotípicas (Skinner, 2011). En mamíferos, se considera que los efectos multigeneracionales abarcan a la generación P0 (organismo directamente expuesto) y F1 (células germinales en desarrollo), mientras que los efectos transgeneracionales comienzan a manifestarse a partir de la generación F2. En el caso de una hembra gestante, las generaciones P0 (madre), F1 (feto) y F2 (células germinales del feto) están todas directamente expuestas, por lo que los efectos transgeneracionales propiamente dichos se observan a partir de la F3 (Skinner, 2008). El primer estudio que demostró efectos epigenéticos transgeneracionales fue realizado con el fungicida vinclozolina, que provocó alteraciones reproductivas en la descendencia de ratas tras una exposición parental (Anway, Cupp, Uzumcu & Skinner, 2005). Desde entonces, ha surgido un creciente interés en la comunidad científica por explorar el potencial transgeneracional de diversos contaminantes, debido a sus implicaciones significativas en la salud y en la enfermedad.

Los estudios transgeneracionales en modelos animales convencionales suelen requerir periodos prolongados de ejecución, lo que limita su aplicación en investigaciones con alta demanda de tiempo y recursos. En este contexto, *C. elegans* representa una alternativa altamente eficiente, gracias a su corto ciclo de vida —de apenas 3 a 4 días— y su longevidad limitada, lo que permite realizar estudios multigeneracionales y transgeneracionales en tiempos relativamente breves. La exposición de gusanos adultos grávidos (generación P0) a un agente tóxico resulta de una acción directa a los embriones en desarrollo (F1) y a las células germinales de estos embriones (F2), lo que permite evaluar efectos multigeneracionales. La evaluación de la generación F3 y de las siguientes posibilita la identificación de los efectos transgeneracionales heredados sin exposición directa (Weinhouse *et al.*, 2018). Diversos estudios han empleado este modelo para documentar los efectos tóxicos transgeneracionales causados por los contaminantes ambientales: metales pesados, micro y nanoplásticos, y compuestos orgánicos. Por ejemplo, se ha demostrado toxicidad transgeneracional a nivel metabólico, nervioso y reproductivo (Li *et al.*, 2022; Zhao, Chen, Wang, Pu & Wang, 2023). Un estudio en particular evidenció alteraciones conductuales

transgeneracionales (F1 y F2) en *C. elegans* tras la exposición parental (P0) a arsenito de sodio en concentraciones de 0, 0.2, 1 y 5 mM (Zhang *et al.*, 2020). Otro trabajo evaluó los efectos multigeneracionales de diversos metales pesados —plomo, cadmio, cobre y zinc— en el crecimiento y comportamiento, el resultado mostró que el cadmio generó los efectos más pronunciados en la progenie (F1), (Yu, Chen, Zhang, Wang & Yin, 2013). Los contaminantes emergentes, como los microplásticos, también producen efectos transgeneracionales en este modelo. Un estudio investigó el impacto del poliestireno, poliestireno parcialmente carboxilado y poliestireno amino modificado (en concentraciones de 0.1 a 100 µg/L), detectando alteraciones en el número de crías, huevos fertilizados e índice de puesta de huevos en las generaciones F1 a F4 no expuestas directamente (Chen *et al.*, 2024). Asimismo, se han reportado efectos neurotóxicos (alteraciones en el movimiento del cuerpo y la cabeza) y de estrés oxidativo en las generaciones F1 a F4 tras la exposición parental a microplásticos de poliestireno (Chen *et al.*, 2021). Estos hallazgos subrayan el potencial de *C. elegans* como modelo para evaluar los efectos, heredados por vía epigenética, de los contaminantes emergentes, y advierten que

la contaminación por microplásticos podría tener repercusiones significativas para la salud de las futuras generaciones.

VENTAJAS

C. elegans ha demostrado ser un organismo modelo versátil en diversos campos de la investigación científica, en particular en este trabajo se han destacado sus fortalezas en los estudios toxicológicos. A continuación, se describen las principales ventajas (Tabla I).

El mantenimiento de *C. elegans* en el laboratorio es un procedimiento relativamente simple y económico, ya que puede cultivarse en medios de crecimiento específicos con una dieta básica de *Escherichia coli* OP50 (Stiernagle, 2006). Es, por tanto, una opción atractiva para estudios de toxicología a gran escala, donde se requiere el uso de múltiples condiciones experimentales (dosis, tiempos de exposición). Además, su ciclo de vida corto, que dura aproximadamente tres días a 25 °C, permite una generación rápida de los datos experimentales y la evaluación de respuestas en múltiples generaciones en un tiempo relativamente corto, lo que permite hacer predicciones

Tabla I. Ventajas y limitaciones del modelo *C. elegans* en toxicología. Elaboración propia.

Ventajas	Limitaciones
Procesos sencillos y económicos de cultivo y mantenimiento en laboratorio.	Carece de órganos especializados: hígado, pulmones, sistema circulatorio, entre otros. No cuenta con mecanismos de detoxificación equivalentes al metabolismo hepático en mamíferos.
Tiempo de generación (3 a 4 días) y esperanza de vida (28 días) cortos, convirtiéndolo en un modelo de utilidad en toxicología generacional y en estudios de envejecimiento.	El no tener un sistema circulatorio, limita los estudios de toxicidad sistémica.
Transparencia del cuerpo permite observación en tiempo real de los efectos toxicológicos (activación de genes reporteros).	La distancia evolutiva con los mamíferos afecta la relevancia de algunas rutas metabólicas y genes conservados. Limitaciones en estudios de toxicogenómica.
Alta homología genética con humanos (60-80%) facilita la extrapolación de resultados.	Las células somáticas postmitóticas, limitan los estudios de proliferación celular y tumorigenicidad.
Repositorios y herramientas genéticas. Técnicas avanzadas de manipulación genética, como RNAi y CRISPR/Cas9.	Ausencia de sistema inmune adaptativo y de mecanismos de metilación del ADN conservados.
Colección de cepas transgénicas diversas (ej. modelado de enfermedades)	La impermeabilidad de la cutícula dificulta las evaluaciones por vías distintas a la oral.
Adecuado para ensayos de alto rendimiento por su pequeño tamaño.	La rápida generación de la progenie limita las investigaciones en los nematodos adultos y envejecidos, por contaminación con la progenie.
Evaluación de múltiples parámetros (letalidad, crecimiento, reproducción, motilidad).	La ausencia de un cerebro y una barrera hematoencefálica limita las interpretaciones en neurotoxicología.
La propagación en grandes poblaciones facilita los experimentos masivos.	
Relevante para estudios de neurotoxicidad por lo simple del sistema nervioso.	

de efectos multi y transgeneracionales en la progenie de los progenitores expuestos a sustancias de relevancia ambiental (Corsi *et al.*, 2015; Weinhouse *et al.*, 2018).

La transparencia de *C. elegans* lo hace especialmente útil para estudios toxicológicos, ya que permite la observación de los procesos biológicos en tiempo real, así como la respuesta a sustancias tóxicas en tejidos específicos. Esta propiedad facilita la visualización de los cambios morfológicos y las respuestas celulares, como la inducción de proteínas de choque térmico o la expresión de genes reporteros en respuesta a tóxicos ambientales como bioindicadores de sitios contaminados (Tejeda-Benitez & Olivero-Verbel, 2016). Esto es muy útil en los estudios de neurotoxicidad, donde es posible visualizar los efectos en el sistema nervioso (Ruszkiewicz *et al.*, 2018).

Alrededor del 60-80% de los genes de *C. elegans* son homólogos con los genes humanos, lo que permite extrapolar los resultados de estudios toxicológicos hacia la fisiología humana con mayor relevancia, y reforzar su aplicación en la evaluación de riesgos (Consortium, 1998; Kaletta & Hengartner, 2006). Esta homología es en especial importante en la investigación de la contribución de los tóxicos ambientales en la etiología y la exacerbación de las enfermedades humanas.

El uso de técnicas genéticas avanzadas, como el ARN de interferencia y la edición génica mediante CRISPR/Cas9 (Farboud, 2017) han facilitado la investigación toxicológica en *C. elegans*, al permitir la manipulación precisa de genes específicos para estudiar sus roles en la respuesta a sustancias tóxicas (Weinhouse *et al.*, 2018). La generación de cepas mutantes transgénicas facilita la investigación a profundidad de los mecanismos subyacentes a la toxicidad y a su relación con la etiología de enfermedades diversas (Daul *et al.*, 2019; Leung *et al.*, 2008).

Por su tamaño *C. elegans* es adecuado para los ensayos de alto rendimiento (HTS, por sus siglas en inglés), ya sea por observación microscópica o por medios automatizados como el COPAS BioSorter (Pulak, 2006), lo que facilita la identificación rápida de los compuestos con actividad biológica significativa o aquellos con efectos tóxicos (Boyd, Smith, Kissling & Freedman, 2010; Lublin & Link, 2013).

Finalmente, la evaluación de los parámetros de letalidad, crecimiento, reproducción y motilidad en *C. elegans* proporciona una comprensión integral de los efectos tóxicos de diversas sustancias, para inferir datos sobre la acción de los compuestos químicos en un sistema de organización complejo como el de los humanos (Gao *et al.*, 2018).

LIMITACIONES

A pesar de que *C. elegans* es un modelo valioso en la investigación toxicológica, también presenta limitaciones que

deben tomarse en consideración al interpretar los resultados (Tabla I).

Una de las limitaciones más significativas es la falta de complejidad fisiológica en *C. elegans* en comparación con los mamíferos. Este nematodo carece de órganos especializados, como hígado, pulmones o sistema circulatorio, lo cual restringe su capacidad para medir el grado de intoxicación de algunos órganos y, en consecuencia, limita la extrapolación de resultados hacia humanos (Tejeda-Benitez & Olivero-Verbel, 2016). Además, la ausencia de mecanismos especializados de detoxificación en el nematodo implica que algunos compuestos tóxicos son metabolizados de forma diferente o llegan a acumularse, dado que no cuenta con procesos equivalentes al metabolismo hepático en mamíferos (Gao *et al.*, 2018). En neurotoxicología es importante tener en consideración que el nematodo no tiene propiamente un cerebro y por tanto no posee una barrera hematoencefálica como la de los mamíferos (Figura 4), esto limita la interpretación de los resultados.

A pesar de la alta homología genética de *C. elegans* con los humanos, la organización y regulación de sus genes presentan diferencias importantes que influyen en la respuesta del organismo frente a algunos compuestos tóxicos (Kaletta & Hengartner, 2006). Esto limita la aplicación de los hallazgos en estudios de toxicogenómica, ya que la regulación génica en el nematodo no siempre refleja los procesos de los organismos superiores.

Otro desafío importante es la considerable distancia evolutiva entre *C. elegans* y los mamíferos, que afecta la relevancia de sus rutas metabólicas y de señalización en los estudios toxicológicos. Aunque ciertos mecanismos biológicos están conservados, algunas rutas metabólicas no tienen equivalentes exactos en humanos, lo que dificulta la extrapolación directa de los resultados obtenidos en este modelo (Tejeda-Benitez & Olivero-Verbel, 2016).

A pesar de las fortalezas de *C. elegans* en la neurotoxicología y la investigación del envejecimiento, presenta limitaciones en estudios complejos como el cáncer. Sus células somáticas adultas son postmitóticas, y lo hace inapropiado para las investigaciones sobre proliferación celular, carece de sistema circulatorio, limitando su uso en estudios de cardiotoxicidad y otros efectos en órganos complejos de mamíferos (Hunt, Camacho & Sprando, 2020). Además, la falta de un sistema inmune adaptativo y de metilación del ADN limita la utilidad de *C. elegans* en estudios de inmunotoxicidad y de mecanismos epigenéticos en humanos. Aunque el nematodo posee mecanismos básicos de defensa, como la respuesta de proteínas de choque térmico y la producción de péptidos antimicrobianos, carece de un sistema inmune complejo como el de los vertebrados, lo que impide una evaluación completa de la respuesta inmune ante compuestos de relevancia ambiental (Kaletta & Hengartner, 2006).

Una dificultad importante en este modelo es hacer estudios en poblaciones envejecidas, pues la contaminación con la progenie resulta ser un desafío significativo, por lo que se requiere la transferencia continua de los nemátodos envejecidos por métodos manuales (picking), (Johnson, 2003). Se han generado cepas mutantes con baja fertilidad, pero estas alteraciones genéticas podrían modificar los parámetros de medición (Fabian & Johnson, 1994). Además, la propagación sistemática de cepas en laboratorio ha generado mutaciones adaptativas que alteran fenotipos como la longevidad, lo que introduce sesgos en los estudios de toxicología genética y afecta la reproducción de los resultados (Johnson, 2003).

Otro desafío radica en la impermeabilidad de la cutícula de *C. elegans*, lo que implica el uso de concentraciones diferentes a las de relevancia ambiental. Esta impermeabilidad también dificulta la exposición a agentes tóxicos por vías diferentes a la oral (ej. dérmica). Algunos métodos que aumentan la permeabilidad de la cutícula no siempre son confiables ni adecuados para ciertos estudios toxicológicos, lo que limita su aplicación en investigaciones que requieren evaluar la toxicidad por vías diferentes de exposición (Hunt, Camacho & Sprando, 2020).

CONCLUSIONES

Los estudios respaldan las fortalezas del nematodo *C. elegans* como modelo en investigaciones toxicológicas. Su uso abarca desde pruebas de toxicidad de nuevos compuestos —incluidos fármacos, aditivos y otras sustancias químicas—, hasta aplicaciones en el monitoreo ambiental. Esta versatilidad es relevante ante la creciente cantidad de sustancias que se introducen anualmente en el mercado. Estudios de monitoreo ambiental para identificar sitios contaminados con el uso de cepas que expresan genes reporteros es de especial interés en países como México donde se han identificado zonas de emergencia ambiental, estas evaluaciones se hacen de forma rápida sin requerir infraestructura analítica sofisticada. En el campo de la neurotoxicología, *C. elegans* también se ha consolidado como una herramienta clave para el estudio de los mecanismos de toxicidad de sustancias emergentes, particularmente aquellas que afectan el desarrollo del sistema nervioso en etapas tempranas de la vida, o bien estar implicadas en la génesis de enfermedades neurodegenerativas o trastornos psiquiátricos. Además, este modelo permite evaluar los efectos a largo plazo de exposiciones tempranas a contaminantes, así como los efectos transgeneracionales en la descendencia de ancestros previamente expuestos. Es destacable que, mientras los estudios transgeneracionales tardan meses o incluso años en modelos animales convencionales —y décadas en estudios epidemiológicos humanos—, con *C. elegans* es posible obtener resultados en plazos significativamente más cortos. Si bien existen limitaciones inherentes al uso de un organismo tan sencillo en comparación con organismos superiores, sus ventajas como sistema exploratorio y complementario son sobresalientes.

Finalmente, aunque en México el número de investigadores e investigadoras que han adoptado a *C. elegans* como modelo de estudio es reducido, y las principales disciplinas abordadas han sido la reproducción y el metabolismo, esta revisión busca destacar la relevancia de este organismo en la evaluación de los riesgos a la salud derivados de la exposición a contaminantes ambientales. Esta propuesta es importante para los países en desarrollo, donde se enfrentan retos ambientales de: contaminación en comunidades cercanas a las zonas mineras, el uso intensivo de agroquímicos en áreas agrícolas, y el vertido de desechos industriales en fuentes de agua destinadas al consumo humano. Además, las pruebas experimentales en *C. elegans* son rápidas y de bajo costo, lo que representa una ventaja considerable en contextos donde las inversiones en ciencia y tecnología continúan siendo limitadas.

FINANCIAMIENTO

Este manuscrito fue parcialmente apoyado por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) mediante el financiamiento del proyecto 321788 otorgado a José Miguel Chin Chan.

REFERENCIAS

- Altun, Z. F. & Hall, D. H. (2009). Introduction to *C. elegans* anatomy. Retrieved from DOI:10.3908/wormatlas.1.1
- Anbalagan, C., Lafayette, I., Antoniou-Kourounioti, M., Haque, M., King, J., Johnsen, B., Baillie, D., Gutierrez, C., Martin J. A & de Pomerai, D. E (2012). Transgenic nematodes as biosensors for metal stress in soil pore water samples. *Ecotoxicology*, **21**(2), 439-455. DOI:10.1007/s10646-011-0804-0
- Anway, M. D., Cupp, A. S., Uzumcu, M. & Skinner, M. K. (2005). Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*, **308**(5727), 1466-1469. DOI:10.1126/science.1108190
- Barrière, A. & Félix, M. A. (2005). Natural variation and population genetics of *Caenorhabditis elegans*. Dec 26. In: WormBook: The Online Review of *C. elegans* Biology [Internet]. Pasadena (CA): *WormBook*; 2005-2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19770/>
- Bollati, V. & Baccarelli, A. (2010). Environmental epigenetics. *Heredity*, **105**(1), 105-112. DOI:10.1038/hdy.2010.2
- Boyd, W. A., Smith, M. V., Kissling, G. E. & Freedman, J. H. (2010). Medium- and high-throughput screening of neurotoxicants using *C. elegans*. *Neurotoxicol. Teratol.*, **32**(1), 68-73. DOI:10.1016/j.ntt.2008.12.004
- Brenner, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, **77**(1), 71-94. DOI:10.1093/genetics/77.1.71
- Byrd, D. T. & Jin, Y. (2021). Wired for insight-recent advances in *Caenorhabditis elegans* neural circuits. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **69**, 159-169. DOI:10.1016/j.conb.2021.02.009
- Charles, M.A., Delpierre, C. & Breant, B. (2016). [Developmental origin of health and adult diseases (DOHaD): evolution of

- a concept over three decades]. *Med. Sci. (Paris)*, **32(1)**, 15-20. DOI:10.1051/medsci/20163201004
- Chase, D. L. & Koelle, M. R. (2007). Biogenic amine neurotransmitters in *C. elegans*. 2007 Feb 20. In: *WormBook: The Online Review of C. elegans Biology* [Internet]. Pasadena (CA): WormBook; 2005-2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19678/>
- Chen, H., Chen, X., Gu, Y., Jiang, Y., Guo, H., Chen, J., Yu, J., Wang, C., Chen, C. & Li, H. (2024). Transgenerational reproductive toxicity induced by carboxyl and amino charged microplastics at environmental concentrations in *Caenorhabditis elegans*: Involvement of histone methylation. *Sci. Total Environ.*, **949**, 175132. DOI:10.1016/j.scitotenv.2024.175132
- Chen, H., Hua, X., Li, H., Wang, C., Dang, Y., Ding, P. & Yu, Y. (2021). Transgenerational neurotoxicity of polystyrene microplastics induced by oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, **272**, 129642. DOI:10.1016/j.chemosphere.2021.129642
- Chin-Chan, M., Cobos-Puc, L., Alvarado-Cruz, I., Bayar, M. & Ermolaeva, M. (2019). Early-life Pb exposure as a potential risk factor for Alzheimer's disease: are there hazards for the Mexican population? *J. Biol. Inorg. Chem.*, **24(8)**, 1285-1303. DOI:10.1007/s00775-019-01739-1
- Chin-Chan, M., Navarro-Yepes, J. & Quintanilla-Vega, B. (2015). Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Front. Cell Neurosci.*, **9**, 124. DOI:10.3389/fncel.2015.00124
- Clavijo, A., Kronberg, M. F., Rossen, A., Moya, A., Calvo, D., Salatino, S. E., Pagano, E. A., Morabito, J. A. & Munarriz, E. R. (2016). The nematode *Caenorhabditis elegans* as an integrated toxicological tool to assess water quality and pollution. *Sci. Total Environ.*, **569-570**, 252-261. DOI:10.1016/j.scitotenv.2016.06.057
- Consortium, C. e. S. (1998). Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science*, **282(5396)**, 2012-2018. DOI:10.1126/science.282.5396.2012
- Conte, D., Jr., MacNeil, L. T., Walhout, A. J. M. & Mello, C. C. (2015). RNA Interference in *Caenorhabditis elegans*. *Curr. Protoc. Mol. Biol.*, **109**, 26.23.21-26.23.30. doi:10.1002/0471142727.mb2603s109
- Corsi, A.K., Wightman, B. & Chalfie, M. (2015). A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. In: *WormBook: The Online Review of C. elegans Biology* [Internet]. Pasadena (CA): WormBook; 2005-2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299460/>
- Daul, A., Andersen, E. & Rougvie, A. (2019). The *Caenorhabditis elegans* genetics center (CGC) and the *Caenorhabditis elegans* natural diversity resource. In *The Biological Resources of Model Organisms* (pp. 69-94): CRC Press. Boca Ratón, Estados Unidos de América.
- Dengg, M. & van Meel, J. C. (2004). *Caenorhabditis elegans* as model system for rapid toxicity assessment of pharmaceutical compounds. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **50(3)**, 209-214. DOI:10.1016/j.vascn.2004.04.002
- Dickinson, H., Moss, T. J., Gatford, K. L., Moritz, K. M., Akison, L., Fullston, T., Hryciw, D.H., Maloney, C. A., Morris, M. J., Wooldridge, A. L., Schjenken, J. E., Robertson, S. A., Waddell, B. J., Mark, P. J. Wyrwoll, C. S., Ellery, S. J. Thornburg, K. L., Muhlhauser, B. S. & Morrison, J. L. (2016). A review of fundamental principles for animal models of DOHaD research: an Australian perspective. *J. Dev. Orig. Health Dis.*, **7(5)**, 449-472. DOI:10.1017/S2040174416000477
- Dwyer, D. S. (2018). Crossing the Worm-Brain Barrier by Using *Caenorhabditis elegans* to Explore Fundamentals of Human Psychiatric Illness. *Mol. Neuropsychiatry*, **3(3)**, 170-179. DOI:10.1159/000485423
- Emmons, S. W. (2015). The beginning of connectomics: a commentary on White et al. (1986) 'The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*'. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **370(1666)**, 2014039. DOI:10.1098/rstb.2014.0309
- Fabian, T. J. & Johnson, T. E. (1994). Production of age-synchronous mass cultures of *Caenorhabditis elegans*. *J. Gerontol.*, **49(4)**, B145-156. DOI:10.1093/geronj/49.4.b145
- Farboud, B. (2017). Targeted genome editing in *Caenorhabditis elegans* using CRISPR/Cas9. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.*, **6(6)**, e287 DOI:10.1002/wdev.287
- Gao, S., Chen, W., Zeng, Y., Jing, H., Zhang, N., Flavel, M., Jois, M., Han, J. J., Xian, B. & Li, G. (2018). Classification and prediction of toxicity of chemicals using an automated phenotypic profiling of *Caenorhabditis elegans*. *BMC Pharmacol. Toxicol.*, **19(1)**, 18. DOI:10.1186/s40360-018-0208-3
- Gjorgjieva, J., Biron, D. & Haspel, G. (2014). Neurobiology of *Caenorhabditis elegans* Locomotion: Where Do We Stand? *Bioscience*, **64(6)**, 476-486. DOI:10.1093/biosci/biu058
- Grandjean, P. & Landrigan, P. J. (2014). Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurol.*, **13(3)**, 330-338. DOI:10.1016/S1474-4422(13)70278-3
- He, X., Liu, J. & Li, G. (2023). Editorial: Role of epigenetics in environmental pollution associated diseases. *Frontiers in Genetics*, **14**, 1266714 DOI:<https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1266714>
- Heindel, J. J., Balbus, J., Birnbaum, L., Brune-Drisse, M. N., Grandjean, P., Gray, K., Landrigan, P. J., Sly, P. D., Suk, W., Cory Slechts, D., Thompson, C. & Hanson, M. (2015). Developmental Origins of Health and Disease: Integrating Environmental Influences. *Endocrinology*, **156(10)**, 3416-3421. DOI:10.1210/EN.2015-1394
- Hu, J., Li, X., Lei, L., Cao, C., Wang, D. & He, D. (2020). The Toxicity of (Nano)Microplastics on *C. elegans* and Its Mechanisms. In D. He & Y. Luo (Eds.), *Microplastics in Terrestrial Environments: Emerging Contaminants*

- and Major Challenges (pp. 259-278). Cham: Springer International Publishing. Switzerland.
- Hunt, P. R., Camacho, J. A. & Sprando, R. L. (2020). *Caenorhabditis elegans* for predictive toxicology. *Current Opinion in Toxicology*, **23-24**, 23-28.
- Hunt, P. R., Olejnik, N. & Sprando, R. L. (2012). Toxicity ranking of heavy metals with screening method using adult *Caenorhabditis elegans* and propidium iodide replicates toxicity ranking in rat. *Food Chem. Toxicol.*, **50(9)**, 3280-3290. DOI:10.1016/j.fct.2012.06.051
- Jiang, Y., Chen, J., Wu, Y., Wang, Q. & Li, H. (2016). Sublethal Toxicity Endpoints of Heavy Metals to the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*, **11(1)**, e0148014. DOI:10.1371/journal.pone.0148014
- Johnson, T. E. (2003). Advantages and disadvantages of *Caenorhabditis elegans* for aging research. *Exp. Gerontol.*, **38(11-12)**, 1329-1332. DOI:10.1016/j.exger.2003.10.020
- Kaletta, T. & Hengartner, M. O. (2006). Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **5(5)**, 387-398. DOI:10.1038/nrd2031
- Kamath, R. S. & Ahringer, J. (2003). Genome-wide RNAi screening in *Caenorhabditis elegans*. *Methods*, **30(4)**, 313-321. DOI:10.1016/s1046-2023(03)00050-1
- Khabib, M. N. H., Sivasanku, Y., Lee, H. B., Kumar, S. & Kue, C. S. (2022). Alternative animal models in predictive toxicology. *Toxicology*, **465**, 153053. DOI:10.1016/j.tox.2021.153053
- Kimble, J. & Nüsslein-Volhard C. (2022). The great small organisms of developmental genetics: *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.*, **485**, 93-122. DOI: 10.1016/J.ydbio.2022.02.013
- Lai, C. H., Chou, C. Y., Chang, L. Y., Liu, C. S. & Lin, W. (2000). Identification of novel human genes evolutionarily conserved in *Caenorhabditis elegans* by comparative proteomics. *Genome Res.*, **10(5)**, 703-713. DOI:10.1101/gr.10.5.703
- Leung, M. C., Williams, P. L., Benedetto, A., Au, C., Helmcke, K. J., Aschner, M. & Meyer, J. N. (2008). *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology. *Toxicol. Sci.*, **106(1)**, 5-28. DOI:10.1093/toxsci/kfn121
- Li, H., Zeng, L., Wang, C., Shi, C., Li, Y., Peng, Y., Peng, H., Chen, H., Zhang, J., Cheng, B., Chen, C., Xiang, M. & Huang, Y. (2022). Review of the toxicity and potential molecular mechanisms of parental or successive exposure to environmental pollutants in the model organism *Caenorhabditis elegans*. *Environ. Pollut.*, **311**, DOI: 119927. doi:10.1016/j.envpol.2022.119927
- Loer, C. M. & Kenyon, C. J. (1993). Serotonin-deficient mutants and male mating behavior in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J. Neurosci.*, **13(12)**, 5407-5417. DOI:10.1523/JNEUROSCI.13-12-05407.1993
- Lublin, A. L. & Link, C. D. (2013). Alzheimer's disease drug discovery: *in vivo* screening using *Caenorhabditis elegans* as a model for beta-amyloid peptide-induced toxicity. *Drug Discov Today Technol.*, **10(1)**, e115-e119. DOI:10.1016/j.ddtec.2012.02.002
- Ma, L., Li, X., Liu, C., Yan, W., Ma, J., Petersen, R. B., Peng, A. & Huang, K. (2022). Modelling Parkinson's Disease in *C. elegans*: Strengths and Limitations. *Curr. Pharm. Des.*, **28(37)**, 3033-3048. DOI:10.2174/1381612828666220915103502
- Melnikov, K., Kucharikova, S., Bardyova, Z., Botek, N. & Kaiglova, A. (2023). Applications of a powerful model organism *Caenorhabditis elegans* to study the neurotoxicity induced by heavy metals and pesticides. *Physiol. Res.*, **72(2)**, 149-166. DOI:10.33549/physiolres.934977
- Mersha, M. D., Sanchez, K. R., Temburni, M. K. & Dhillon, H. S. (2018). Long-term Behavioral and Reproductive Consequences of Embryonic Exposure to Low-dose Toxicants. *J. Vis. Exp.*, **(133)**. DOI:10.3791/56771
- Nilsson, E. E., Ben Maamar, M. & Skinner, M. K. (2022). Role of epigenetic transgenerational inheritance in generational toxicology. *Environ Epigenet*, **8(1)**, dvac001. DOI:10.1093/eep/dvac001
- Nilsson, E. E., Sadler-Riggleman, I. & Skinner, M. K. (2018). Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Environ. Epigenet.*, **4(2)**, dvy016. DOI:10.1093/eep/dvy016
- Parmar, T. K., Rawtani, D. & Agrawal, Y. K. (2016). Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. *Frontiers in Life Science*, **9(2)**, 110-118. DOI:https://doi.org/10.1080/021553769.2016.1162753
- Paul, D., Chipurupalli, S., Justin, A., Raja, K. & Mohankumar, S. K. (2020). *Caenorhabditis elegans* as a possible model to screen anti-Alzheimer's therapeutics. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **106**, 106932. DOI:10.1016/j.vascn.2020.106932
- Pulak, R. (2006). Techniques for analysis, sorting, and dispensing of *C. elegans* on the COPAS flow-sorting system. *Methods Mol. Biol.*, **351**, 275-286. DOI:10.1385/1-59745-151-7:275
- Queiros, L., Pereira, J. L., Goncalves, F. J. M., Pacheco, M., Aschner, M. & Pereira, P. (2019). *Caenorhabditis elegans* as a tool for environmental risk assessment: emerging and promising applications for a "nobelized worm". *Crit. Rev. Toxicol.*, **49(5)**, 411-429. DOI:10.1080/10408444.2019.1626801
- Rahmani, A., McMillen, A., Allen, E., Minervini, C. & Chew, Y. L. (2024). Behavioral Tests for Associative Learning in *Caenorhabditis elegans*. *Methods Mol. Biol.*, **2746**, 21-46. DOI:10.1007/978-1-0716-3585-8_2
- Riddle, D., Blumenthal, L., Meyer, B. & Priess, J. (1997). *C. elegans* II. In D. L. Riddle, T. Blumenthal, B. J. Meyer, & J. R. Priess (Eds.), *C. elegans* II (2nd ed.). Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor
- Rock, K. D. & Patisaul, H. B. (2018). Environmental Mechanisms of Neurodevelopmental Toxicity. *Curr. Environ. Health Rep.*, **5(1)**, 145-157. DOI:10.1007/s40572-018-0185-0
- Rogers, A., Antoshechkin, I., Bieri, T., Blasiar, D., Bastiani, C., Canaran, P., Chan, J., Chen, W. J., Davis, P., Fernandes,

- J., Fiedler, T. J., Han, M., Harris, T. W., Kishore, R., Lee, R., McKay, S., Muller, H. M., Nakamura, C., Ozersky, P., Petcherski, A., Schindelman, G., Schwarz, E. M., Spooner, W., Tuli, M. A., Van Auken, K., Wang, D., Wang, X., Williams, G., Yook, K., Durbin, R., Stein, L. D., Spieth, J. & Sternberg, P. W. (2008). WormBase 2007. *Nucleic Acids Res.*, **36**(Database issue), D612-617. DOI:10.1093/nar/gkm975
- Rosenbluth, T. (2024). These Tiny Worms Account for at Least 4 Nobel Prizes. *The New York Time* Retrieved from <https://www.nytimes.com/2024/10/17/science/nobel-prizes-caenorhabditis-elegans.html>
- Roussos, A., Kitopoulou, K., Borbolis, F. & Palikaras, K. (2023). *Caenorhabditis elegans* as a Model System to Study Human Neurodegenerative Disorders. *Biomolecules*, **13**(3). DOI:10.3390/biom13030478
- Ruszkiewicz, J. A., Pinkas, A., Miah, M. R., Weitz, R. L., Lawes, M. J. A., Akinyemi, A. J., Ijomone, O. M. & Aschner, M. (2018). *C. elegans* as a model in developmental neurotoxicology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **354**, 126-135. DOI:10.1016/j.taap.2018.03.016
- Sachana, M. & Hargreaves, A. (2018). Toxicological Testing: *In Vivo* and *In Vitro* Models. In R. Gupta (Ed.), *Veterinary Toxicology* (Third edition ed., pp. 145-161): Academic Press. Estados Unidos de América.
- Sammi, S. R., Jameson, L. E., Conrow, K. D., Leung, M. C. K. & Cannon, J. R. (2022). *Caenorhabditis elegans* Neurotoxicity Testing: Novel Applications in the Adverse Outcome Pathway Framework. *Frontiers in Toxicology*, **4**, 826488 DOI:10.3389/ftox.2022.826488
- Skinner, M. K. (2008). What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod. Toxicol.*, **25**(1), 2-6. DOI:10.1016/j.reprotox.2007.09.001
- Skinner, M. K. (2011). Environmental epigenetic transgenerational inheritance and somatic epigenetic mitotic stability. *Epigenetics*, **6**(7), 838-842. DOI:10.4161/epi.6.7.16537
- Stiernagle T. (2006). Maintenance of *C. elegans*. 2006 Feb 11. In: *WormBook: The Online Review of C. elegans Biology* [Internet]. Pasadena (CA): WormBook; 2005-2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19649/>
- Stresser, D. M., Kopec, A. K., Hewitt, P., Hardwick, R. N., Van Vleet, T. R., Mahalingaiah, P. K. S., O'Connell, D., Jenkins, G. J., David, R., Graham, J., Lee, D., Ekert, J., Fullerton, A., Villenave, R., Bajaj, P., Gosset, J. R., Ralston, S. L., Guha, M., Amador-Arjona, A., Khan, K., Agarwal, S., Hasselgren, C., Wang, X., Adams, K., Kaushik, G., Raczynski, A. & Homan, K. A. (2024). Towards *in vitro* models for reducing or replacing the use of animals in drug testing. *Nat. Biomed. Eng.*, **8**(8), 930-935. DOI:10.1038/s41551-023-01154-7
- Tang, B., Tong, P., Xue, K. S., Williams, P. L., Wang, J. S. & Tang, L. (2019). High-throughput assessment of toxic effects of metal mixtures of cadmium(Cd), lead(Pb), and manganese(Mn) in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, **234**, 232-241. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.05.271
- Tejeda-Benitez, L. & Olivero-Verbel, J. (2016). *Caenorhabditis elegans*, a Biological Model for Research in Toxicology. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **237**, 1-35. DOI:10.1007/978-3-319-23573-8_1
- Thenobelprize.org. (2024). The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2024. Retrieved from <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2024/summary/>
- Weinhouse, C., Truong, L., Meyer, J. N. & Allard, P. (2018). *Caenorhabditis elegans* as an emerging model system in environmental epigenetics. *Environ. Mol. Mutagen.*, **59**(7), 560-575. DOI:10.1002/em.22203
- White, J. G., Southgate, E., Thomson, J. N. & Brenner, S. (1986). The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **314**(1165), 1-340. DOI:10.1098/rstb.1986.0056
- Williams, P. L. & Dusenbery, D. B. (1988). Using the nematode *Caenorhabditis elegans* to predict mammalian acute lethality to metallic salts. *Toxicol. Ind. Health.*, **4**(4), 469-478. DOI:10.1177/074823378800400406
- Wittkowski, P., Marx-Stoelting, P., Violet, N., Fetz, V., Schwarz, F., Oelgeschlager, M., Schonfelder, G. & Vogl, S. (2019). *Caenorhabditis elegans* As a Promising Alternative Model for Environmental Chemical Mixture Effect Assessment-A Comparative Study. *Environ. Sci. Technol.*, **53**(21), 12725-12733. DOI:10.1021/acs.est.9b03266
- Wu, T., Xu, H., Liang, X. & Tang, M. (2019). *Caenorhabditis elegans* as a complete model organism for biosafety assessments of nanoparticles. *Chemosphere*, **221**, 708-726. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.01.021
- Wu, Y. & Luo, Y. (2005). Transgenic *C. elegans* as a model in Alzheimer's research. *Curr. Alzheimer Res.*, **2**(1), 37-45. DOI:10.2174/1567205052772768
- Yu, Z., Chen, X., Zhang, J., Wang, R. & Yin, D. (2013). Transgenerational effects of heavy metals on L3 larva of *Caenorhabditis elegans* with greater behavior and growth inhibitions in the progeny. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **88**, 178-184. DOI:10.1016/j.ecoenv.2012.11.012
- Zhang, X., Zhong, H. Q., Chu, Z. W., Zuo, X., Wang, L., Ren, X. L., Ma, H., Du, R. Y., Ju, J. J., Ye, X. L., Huang, C. P., Zhu, J. H. & Wu, H. M. (2020). Arsenic induces transgenerational behavior disorders in *Caenorhabditis elegans* and its underlying mechanisms. *Chemosphere*, **252**, 126510. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.126510
- Zhang, Y., Ye, B. & Wang, D. (2010). Effects of metal exposure on associative learning behavior in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **59**(1), 129-136. DOI:10.1007/s00244-009-9456-y
- Zhao, Y., Chen, J., Wang, R., Pu, X. & Wang, D. (2023). A review of transgenerational and multigenerational toxicology in the *in vivo* model animal *Caenorhabditis elegans*. *J. Appl. Toxicol.*, **43**(1), 122-145. DOI:10.1002/jat.4360