Pesquisa Multidisciplinar EM SAÚDE
EDIÇÃO XXIII
EDITORA PASTEUR



Capítulo 4

ESTRESSE CELULAR, ADAPTAÇÃO E LONGEVIDADE: MECANISMOS MOLECULARES INVESTIGADOS EM *C. elegans*

ISABELLA GIUNCO ESTIGARRIBIA[1]
ALÉRCIO DA SILVA SOUTILHA[1]
HELDER FREITAS DOS SANTOS[2]
ÍGOR VÍCTOR DA SILVA[1]
MARIA VICTÓRIA BENITES RODRIGUES[1]
MATHEUS HENRIQUE FRANCO ALVES[1]
WELLINGTON HENRIQUE BOTELHO[1]
VITOR SIMON ARAUJO[1]
ALEX SANTOS OLIVEIRA[2]
DÉBORA DA SILVA BALDIVIA[2]
PAOLA DOS SANTOS ROCHA[2]
JAQUELINE FERREIRA CAMPOS[2]
EDSON LUCAS DOS SANTOS[2]
KELY DE PICOLI SOUZA[2]

[1]Discente – Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais.
[2]Docente – Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais.

Palavras-chave: *Estresse Oxidativo; Respostas Adaptativas; Longevidade.*

DOI: 10.59290/2670221307

INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional tem impulsionado a busca por estratégias que promovam a manutenção da saúde ao longo da vida. Essa deve ser uma prioridade científica e social diante do aumento da expectativa de vida, da incidência crescente de doenças crônicas relacionadas à idade e dos custos sociais e econômicos decorrentes desse cenário.

Entre os fatores determinantes da longevidade saudável, a manutenção do equilíbrio redox celular ocupa posição central, uma vez que o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode comprometer estruturas macromoleculares e contribuir para a progressão de processos degenerativos (SIES; JONES, 2020). Ao mesmo tempo, níveis fisiológicos de EROs participam da sinalização celular e da ativação de respostas adaptativas, tornando o equilíbrio redox um componente fundamental da manutenção da homeostase.

O objetivo deste estudo foi revisar os principais mecanismos envolvidos no estresse oxidativo e nas respostas adaptativas celulares, abordando a produção de espécies reativas de oxigênio, os sistemas de defesa antioxidante e sua relação com o envelhecimento. Além disso, buscou-se apresentar a utilização de *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental para estudos de longevidade e de respostas aos estresses oxidativo, térmico e osmótico, com ênfase nas vias moleculares *SKN-1*/Nrf2, DAF-16/FOXO e HSF-1 e sua participação na manutenção da homeostase celular.

MÉTODO

Este capítulo foi desenvolvido por meio de uma revisão bibliográfica narrativa, fundamentada em artigos científicos relacionados ao estresse celular, às respostas adaptativas e à longevidade. A pesquisa bibliográfica foi realizada nas bases PubMed/MEDLINE e Google Acadêmico, utilizando descritores como *oxidative stress*, *reactive oxygen species*, *cellular stress response*, *aging*, *longevity* e *Caenorhabditis elegans*. Foram priorizadas publicações relevantes para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na homeostase redox, nas defesas antioxidantes e nas respostas aos estresses oxidativo, térmico e osmótico. A literatura selecionada foi organizada e analisada de forma descritiva e temática, com ênfase nas vias de sinalização *SKN-1*/Nrf2, DAF-16/FOXO e HSF-1 e em sua relação com a adaptação celular e a longevidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estresse oxidativo e espécies reativas de oxigênio na homeostasia celular

A vida aeróbica é intrinsecamente dependente do oxigênio molecular (O_2) para a produção eficiente de energia via fosforilação oxidativa mitocondrial. No entanto, esse processo gera um conjunto de subprodutos altamente reativos, coletivamente denominados Espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs são moléculas derivadas do oxigênio que podem exibir um ou mais elétrons desemparelhados, conferindo-lhes alta reatividade. O termo genérico EROs inclui radicais livres, como o ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) e o radical hidroxila (HO•), e espécies não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ácido hipocloroso (HOCl).

Por décadas, as EROs foram vistas exclusivamente como agentes citotóxicos, subprodutos indesejáveis do metabolismo responsáveis por danos macromoleculares e envelhecimento. Contudo, a visão contemporânea, reformulada na última década, reconhece que as ERO, em particular o H_2O_2, atuam como importantes moléculas sinalizadoras em processos fisiológicos cruciais, como proliferação, diferenciação,

resposta imune e apoptose, em um fenômeno denominado *redox signaling* (sinalização redox) (SIES; JONES, 2020).

A manutenção da homeostasia celular, portanto, não depende da completa eliminação das EROs, mas sim da manutenção de um equilíbrio dinâmico entre a sua produção e a sua neutralização por sistemas antioxidantes. O desequilíbrio neste sistema, com deslocamento favorável à produção de EROs, é definido como estresse oxidativo.

Fontes e natureza química das principais espécies reativas de oxigênio

A geração de EROs ocorre a partir de fontes endógenas e exógenas. Entre as fontes endógenas, a mitocôndria constitui a principal fonte de ERO, especialmente pela formação do ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) em diferentes sítios da cadeia transportadora de elétrons, incluindo os complexos I e III. A proporção do oxigênio molecular (O_2) consumido que é direcionada à formação dessas espécies varia conforme o tecido, o estado metabólico e as condições de funcionamento mitocondrial (SIES; MAILLOUX; JAKOB, 2024). Essa produção pode ser intensificada em condições de disfunção mitocondrial ou hiperglicemia.

Outras fontes enzimáticas significativas incluem a família de NADPH Oxidases (NOX), cuja função fisiológica primordial é a geração regulada de $O_2^{\bullet -}$ (e subsequentemente H_2O_2) para fins de sinalização celular e defesa microbiana. As isoformas de NOX são expressas de forma tecido-específica e sua regulação disfuncional está implicada em diversas doenças (SIES; MAILLOUX; JAKOB, 2024). Enzimas como a xantina oxidase, citocromo P450 e a óxido nítrico sintase desacoplada (eNOS) também contribuem para o pool intracelular de EROs. Exogenamente, radiação ultravioleta, xenobióticos, metais de transição, tabagismo e poluentes ambientais são potenciais indutores de estresse oxidativo.

O ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) possui meia-vida curta e limitada permeabilidade através de membranas. Sua importância reside principalmente como precursor da maioria das outras EROs. A dismutação espontânea ou catalisada pela superóxido dismutase (SOD) converte $O_2^{\bullet -}$ em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2, uma espécie não radical e relativamente estável, constitui um importante produto da dismutação do $O_2^{\bullet -}$ e pode participar de processos de sinalização redox (WINTERBOURN, 2013). A reação de $O_2^{\bullet -}$ com o óxido nítrico ($NO\bullet$) produz peroxinitrito ($ONOO^-$), um potente oxidante e nitrante envolvido nas doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Na presença de íons metálicos como Fe^{2+} (via reação de Fenton), o H_2O_2 gera o radical hidroxila ($HO\bullet$), a ERO mais reativa e danosa, capaz de causar danos irreversíveis a lipídios, proteínas e DNA.

Sistemas de defesa antioxidante: uma rede complexa e integrada

Para conter a potencial toxicidade das EROs, os sistemas biológicos evoluíram com uma sofisticada rede de defesas antioxidantes, categorizadas em sistemas enzimáticos e não enzimáticos. O sistema enzimático primário é composto por três enzimas-chave: a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do $O_2^{\bullet -}$ em H_2O_2; a catalase, abundantemente presente em peroxissomos, que converte H_2O_2 em água e O_2; e a glutationa peroxidase (GPx), que reduz H_2O_2 e hidroperóxidos lipídicos utilizando glutationa reduzida (GSH) como doadora de elétrons, oxidando-a a glutationa dissulfeto (GSSG). A reciclagem da GSH é garantida pela enzima glutationa redutase, que utiliza NADPH para reduzir o GSSG de volta a GSH, mantendo uma alta razão GSH/GSSG intracelular, crucial para o estado redox da célula (ADHIKARI *et al*., 2019).

Os antioxidantes não enzimáticos incluem micronutrientes como as vitaminas C (ácido ascórbico) e E (α-tocoferol), que atuam neutralizando radicais livres em compartimentos aquosos e lipídicos, respectivamente. O ácido úrico, a bilirrubina e proteínas como a albumina também possuem atividade antioxidante significativa.

Um sistema de extrema importância é o fator de transcrição *Nrf2* (*Nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), considerado o "regulador mestre" da resposta antioxidante. Em condições de estresse oxidativo, o *Nrf2* escapa da degradação mediada por Keap1, transloca-se para o núcleo e liga-se ao Elemento de Resposta Antioxidante (ARE), promovendo a transcrição de uma vasta gama de genes envolvidos na síntese de GSH (GCL, GSS), detoxificação (NQO1, HO-1) e eliminação de EROs (SOD, CAT) (BELLEZZA *et al.*, 2018).

Mecanismos de sinalização por espécies reativas de oxigênio (sinalização redox)

A sinalização redox é um mecanismo de transdução de sinal fundamental onde as EROs, em níveis fisiológicos (não citotóxicos), atuam como segundos mensageiros modulando vias de sinalização específicas. O H_2O_2 é a principal molécula efetora devido à sua relativa estabilidade e capacidade de oxidar seletivamente resíduos de cisteína em proteínas, formando intermediários sulfênicos (S-OH), que podem levar a ligações dissulfeto intramoleculares ou com a GSH (S-glutationilação). Essas modificações pós-traducionais reversíveis alteram dramaticamente a função de uma vasta gama de proteínas, incluindo quinases, fosfatases, fatores de transcrição e canais iônicos.

Vias de sinalização clássicas são sensíveis ao estado redox celular. A via da PI3K/Akt, crucial para a sobrevivência e o crescimento celular, é ativada por H_2O_2. Por outro lado, as fosfatases de tirosina, que desfosforilam e inativam receptores de tirosina quinase, possuem cisteínas sensíveis à oxidação em seus sítios catalíticos. Sua inativação por H_2O_2 prolonga e amplifica a sinalização mitogênica (TONKS, 2005). Fatores de transcrição pro-inflamatórios como NF-κB e AP-1 são também ativados por estímulos oxidativos. Dessa forma, as EROs integram-se a redes de sinalização complexas, influenciando decisões celulares de vida ou morte, crescimento e resposta inflamatória.

Estresse oxidativo e longevidade saudável

O estresse oxidativo representa um dos principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos no envelhecimento precoce e no desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis relacionadas à idade. O acúmulo progressivo de danos oxidativos a proteínas, lipídios e DNA compromete a homeostasia celular, favorecendo mutações, inflamação persistente e disfunção mitocondrial (SIES; MAILLOUX; JAKOB, 2024). Entretanto, a compreensão moderna sobre o papel das EROs reconhece que seu impacto depende não apenas da quantidade gerada, mas também da intensidade, duração e do contexto metabólico em que ocorrem (SIES, 2017).

Historicamente, o acúmulo de danos provocados por radicais livres foi considerado um dos principais mecanismos responsáveis pela deterioração celular associada ao envelhecimento. Entretanto, evidências posteriores demonstraram que as EROs não atuam exclusivamente como agentes causadores de danos, mas também como moléculas sinalizadoras capazes de modular processos fisiológicos e estimular respostas celulares adaptativas. Nesse contexto, níveis moderados de EROs podem favorecer a ativação de mecanismos citoprotetores, contribuindo para a resistência ao estresse e a manutenção da homeostase celular, fenômeno rela-

cionado à hormese redox (SIES, 2017; SIES; JONES, 2020).

No contexto do envelhecimento saudável, o equilíbrio entre a produção de EROs e a atividade dos sistemas antioxidantes desempenha papel fundamental na manutenção da homeostase celular. Estudos com indivíduos de longevidade excepcional, incluindo centenários, identificaram menores níveis de determinados marcadores de dano oxidativo, especialmente aqueles associados à peroxidação lipídica, além de diferenças na atividade de enzimas antioxidantes. Esses achados sugerem que a longevidade excepcional está associada à preservação do equilíbrio redox, embora os mecanismos envolvidos sejam complexos e ainda não estejam completamente esclarecidos (BELENGUER-VAREA *et al*., 2020). Nesse sentido, a longevidade saudável não depende da eliminação completa das EROs, mas da manutenção de um equilíbrio redox dinâmico e da capacidade de desenvolver respostas adaptativas diante de diferentes desafios celulares (SIES; JONES, 2020; LÓPEZ-OTÍN *et al*., 2023).

Diversas estratégias podem contribuir para a manutenção da homeostase redox e o envelhecimento saudável, destacando-se a prática regular de exercícios físicos. Durante a atividade física, a produção transitória de ERO participa da ativação de vias de sinalização envolvidas nas respostas adaptativas celulares. Entre os principais reguladores dessas respostas destacam-se o fator de transcrição Nrf2, associado à indução de defesas antioxidantes, e o coativador transcricional PGC-1α, envolvido na regulação da biogênese mitocondrial. Essas adaptações contribuem para o aumento da capacidade antioxidante, a manutenção da função mitocondrial e a melhoria da homeostase redox em resposta ao treinamento físico (MARGARITELIS *et al*., 2020). De maneira semelhante agem a restrição calórica e os miméticos da restrição calórica, como a metformina e a rapamicina, modulando vias associadas à longevidade, incluindo AMPK, sirtuínas e mTOR, promovendo maior resistência ao estresse e prolongamento da expectativa de vida em diversos modelos (MADEO *et al*., 2019).

A dieta também desempenha papel fundamental nesse contexto. Compostos bioativos encontrados em frutas, vegetais e plantas medicinais, como polifenóis e flavonoides, exercem atividade antioxidante direta e modulam vias redox-sensíveis. A quercetina, a epigalocatequina-galato (EGCG) do chá verde e o resveratrol, presente em uvas, são exemplos de moléculas que regulam positivamente sirtuínas, *Nrf2* e a autofagia, associando-se a efeitos pró-longevidade. Além disso, micronutrientes antioxidantes clássicos, como vitaminas C e E, zinco e selênio, atuam sinergicamente com as defesas endógenas para manter o equilíbrio redox.

A manutenção da função mitocondrial é outro eixo central na relação entre estresse oxidativo e envelhecimento saudável. A mitocôndria é simultaneamente a principal fonte e alvo das EROs, e sua disfunção está ligada ao declínio funcional relacionado à idade. Intervenções que preservam a integridade mitocondrial, como a ativação da autofagia seletiva de mitocôndrias defeituosas (mitofagia), mostraram-se críticas para retardar o envelhecimento e prevenir doenças associadas (PALIKARAS *et al*., 2018).

Embora o foco esteja na promoção de longevidade saudável, é importante destacar que a falha nos mecanismos de controle redox contribui decisivamente para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. A Doença de Alzheimer é um exemplo paradigmático, nela a deposição de placas de β-amiloide aumenta a geração de EROs, que por sua vez

intensificam a disfunção mitocondrial e a hiperfosforilação da proteína tau, estabelecendo um ciclo vicioso de estresse oxidativo e neurodegeneração (BUTTERFIELD; HALLIWELL, 2019). A compreensão desses mecanismos tem impulsionado a busca por estratégias terapêuticas baseadas na modulação redox, tanto preventivas quanto como adjuvantes ao tratamento.

Dessa forma, a manutenção do equilíbrio redox constitui um dos componentes relevantes da longevidade saudável, integrando mecanismos de defesa, sinalização e adaptação celular.

Caenorhabditis elegans como modelo para estudos de estresse e longevidade

O *Caenorhabditis. elegans* foi o organismo no qual foram descobertas as primeiras mutações que estendem a expectativa de vida, revolucionando o campo da biologia do envelhecimento. Nos ensaios de longevidade, populações sincronizadas de *C. elegans* são acompanhadas ao longo do tempo, registrando-se periodicamente a sobrevivência dos indivíduos até o encerramento do experimento. Durante o período reprodutivo, os animais podem ser transferidos para novas placas, evitando que a progênie interfira nas análises. Esses ensaios permitem investigar os efeitos de alterações genéticas e de intervenções farmacológicas, como a exposição a diferentes concentrações de um fármaco, sobre a longevidade dos nematoides.

As curvas de sobrevivência são comparadas entre os grupos experimentais e seus respectivos controles, frequentemente por meio do teste de log-rank, permitindo identificar diferenças estatisticamente significativas na sobrevivência. Intervenções como restrição alimentar, redução da via de insulina/IGF-1 (mutantes daf-2) e inibição mitocondrial (mutantes clk-1) podem aumentar a vida útil de *C. elegans*, demonstrando a plasticidade do processo de envelhecimento (KENYON, 2010).

Em *C. elegans*, estudos genéticos demonstram que alterações em vias associadas à longevidade podem modificar simultaneamente a resistência ao estresse e a manutenção da homeostase celular (YANG; HEKIMI, 2010). Esse modelo permite relacionar alterações na expressão de genes de defesa, como sod-3, monitorada pela cepa CF1553, à capacidade de adaptação ao estresse e à manutenção da saúde durante o envelhecimento. Assim, o conceito de *healthspan* complementa a análise da *lifespan* ao considerar não apenas a duração da vida, mas também a preservação da função fisiológica.

Modelos experimentais de estresse em *C. elegans*

Estresse oxidativo induzido por juglone

O juglone (5-hidroxi-1,4-naftoquinona) é um composto natural da classe das naftoquinonas, encontrado em plantas do gênero *Juglans*, amplamente utilizado como agente pró-oxidante em estudos experimentais com *C. elegans*. Sua atividade está relacionada às propriedades redox-ativas, que favorecem a formação de EROs e o estabelecimento de condições de estresse oxidativo. Estudos experimentais demonstraram que a exposição ao juglone reduz a sobrevivência dos nematoides de maneira dependente da concentração e induz a expressão de genes envolvidos na resposta antioxidante, incluindo *gst-4*, *gst-12* e *gst-30* (CROMBIE *et al*., 2016).

As consequências celulares dessa exposição oxidativa são diversas, uma vez que o excesso de EROs, incluindo o ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (HO•), pode comprometer diferentes componentes celulares, conforme descrito a seguir:

Peroxidação lipídica: a oxidação dos lipídios, especialmente dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas, compromete sua integridade, fluidez e permeabilidade, podendo prejudicar a função de organelas como mitocôndrias e retículo endoplasmático.

Oxidação e carbonilação proteica: as EROs podem modificar resíduos de aminoácidos e grupos funcionais das proteínas, favorecendo alterações conformacionais, agregação e perda de atividade biológica. A carbonilação representa uma dessas modificações oxidativas e pode comprometer enzimas essenciais ao metabolismo celular, incluindo proteínas envolvidas na produção de energia.

Danos ao DNA: o estresse oxidativo pode provocar alterações nas bases nitrogenadas e quebras nas fitas de DNA. Entre as modificações mais conhecidas destaca-se a formação de 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxo-dG), frequentemente utilizada como marcador de dano oxidativo ao DNA.

Fenotipicamente, a exposição aguda ao juglone pode comprometer funções fisiológicas de *C. elegans*, incluindo alterações na motilidade e na capacidade de resposta a estímulos, dependendo da intensidade e da duração da exposição. Experimentalmente, a resistência ao estresse oxidativo pode ser avaliada por ensaios de sobrevivência, nos quais os nematoides são expostos ao agente estressor e posteriormente avaliados quanto à viabilidade, inclusive após períodos de recuperação.

Além de atuar como agente pró-oxidante, o juglone constitui uma ferramenta experimental para investigar os mecanismos celulares de defesa antioxidante. Alterações genéticas ou intervenções que modulam essas respostas podem modificar a sensibilidade dos nematoides à exposição, permitindo comparar a resistência entre diferentes condições experimentais (HEIDLER *et al*., 2010). Dessa forma, os ensaios de sobrevivência com juglone possibilitam avaliar funcionalmente a resistência ao estresse oxidativo e sua relação com os mecanismos de adaptação celular.

Estresse térmico e homeostase proteica

O estresse por choque térmico representa uma ameaça à homeostase proteica (proteostase), pois o aumento da temperatura pode comprometer a estabilidade conformacional das proteínas, favorecendo seu dobramento inadequado e a formação de agregados proteotóxicos. Em *Caenorhabditis elegans*, a resposta ao estresse térmico é coordenada por uma maquinaria molecular conservada, na qual se destaca o fator de transcrição HSF-1 (*Heat Shock Factor 1*). Diferentemente do modelo clássico de translocação nuclear induzida pelo calor, estudos experimentais demonstraram que HSF-1 já se encontra predominantemente localizado no núcleo em condições basais. Durante o choque térmico, como na exposição de 20 °C para 35 °C, ocorre uma rápida reor-ganização de HSF-1 em estruturas subnucleares dinâmicas, associadas à resposta ao estresse. Sua atividade transcricional envolve o reconhecimento de elementos de resposta ao choque térmico (HSEs) em regiões regulatórias de genes-alvo, promovendo a expressão de proteínas de choque térmico (HSPs), essenciais à manutenção da proteostase (MORTON; LAMITINA, 2013; LABBADIA; MORIMOTO, 2015).

A ativação do HSF-1 desencadeia a transcrição massiva de uma classe de chaperonas moleculares especializadas conhecidas como Proteínas de Choque Térmico (HSPs). Estas incluem:

- HSP70: atuam como "motores de dobramento", utilizando ATP para auxiliar no redobramento correto de proteínas desnaturadas.

- HSP90: estabiliza uma gama diversificada de clientes proteicos, incluindo quinases e fatores de transcrição.

Pequenas HSPs (sHSPs), como a HSP-16.2, funcionam como "holdases", ligando-se preventivamente a proteínas desnaturadas para evitar sua agregação irreversível, comprando tempo para que outras chaperonas as redobrem ou para que sejam direcionadas para degradação via ubiquitina-proteassoma.

A cepa transgênica CL2070 [dvIs70 (hsp-16.2p::GFP + rol-6(su1006))] é um recurso indispensável neste campo. A expressão da proteína verde fluorescente (GFP) sob o controle do promotor altamente sensível da hsp-16.2 permite a visualização e quantificação *in vivo* da resposta ao choque térmico em tempo real. Um aumento na fluorescência é um indicador direto e quantificável de estresse proteotóxico (HEIDLER *et al*., 2010; MORTON; LAMITINA, 2013).

A conexão entre a resposta ao choque térmico e a longevidade é profunda e mecanicista. Mutações que estendem a vida útil, como aquelas na via de insulina/IGF-1 (daf-2), frequentemente conferem termorresistência constitutiva e uma resposta de HSPs mais robusta ao estresse. Inversamente, a depleção de *hsf-1* por RNA de interferência (RNAi) não apenas abole a termorresistência, mas também encurta drasticamente a expectativa de vida, mesmo em mutantes longevos (LABBADIA; MORIMOTO, 2015). Isso demonstra que a capacidade de manter a proteostase através da via HSF-1/HSPs não é meramente uma resposta adaptativa aguda, mas um determinante ativo do processo de envelhecimento. A perda progressiva da proteostase é uma marca do envelhecimento, e intervenções que a fortalecem, seja geneticamente ou através de pré-condicionamento térmico ("*hormesis*"), são capazes de mitigar a toxicidade de proteínas agregadas em modelos de doenças neurodegenerativas e promover um envelhecimento saudável.

Estresse osmótico e resposta adaptativa

O estresse osmótico, induzido pela exposição a ambientes hipertônicos, representa um desafio fisiológico caracterizado pela perda osmótica de água e consequente redução do volume celular. Essas alterações modificam a concentração intracelular de solutos e podem comprometer a conformação das proteínas, a atividade enzimática e a integridade de estruturas celulares. Em *C. elegans*, a exposição a concentrações elevadas de NaCl provoca rápida redução do volume corporal, seguida pela ativação de mecanismos adaptativos que favorecem a sobrevivência em condições hipertônicas (LAMITINA *et al*., 2004; URSO; LAMITINA, 2021).

A resposta ao estresse hiperosmótico em *C. elegans* envolve diferentes mecanismos de sinalização e regulação gênica, incluindo componentes da via p38 MAPK, associados à resistência osmótica, e mecanismos relacionados à matriz extracelular e à manutenção da proteostase (SOLOMON *et al*., 2004; URSO; LAMITINA, 2021). Entre os fatores de transcrição envolvidos nas respostas celulares ao estresse destaca-se *SKN-1*, homólogo funcional de Nrf2, cuja fosforilação por PMK-1 e consequente localização nuclear foram demonstradas durante o estresse oxidativo (INOUE *et al*., 2005). Além disso, estudos experimentais demonstraram que *SKN-1* participa da resposta transcricional à hiperosmolaridade, contribuindo para a expressão de genes associados ao acúmulo de osmólitos. Embora esses resultados evidenciem a participação de *SKN-1* na adaptação osmótica, sua ativação especificamente por PMK-1 nesse contexto ainda não foi estabelecida (DODD *et al*., 2018).

A adaptação ao estresse osmótico envolve respostas celulares complementares, particularmente relacionadas à regulação de osmólitos orgânicos, à manutenção da proteostase e às alterações na expressão de componentes estruturais:

- Biossíntese de osmólitos orgânicos compatíveis: Um dos principais mecanismos de adaptação em *C. elegans* consiste na síntese e no acúmulo intracelular de glicerol, um osmólito que contribui para o equilíbrio osmótico e a manutenção do volume celular. Esse processo envolve a regulação de genes como *gpdh-1*, associado à biossíntese de glicerol, e *hmit-1.1*, relacionado ao transporte de mio-inositol. Estudos experimentais demonstraram que *SKN-1* contribui para a expressão desses genes, especialmente nas fases iniciais de exposição à hiperosmolaridade. Entretanto, sua participação é parcial e dependente das condições experimentais, indicando a existência de mecanismos regulatórios adicionais. O acúmulo de osmólitos compatíveis favorece a retenção de água e a preservação das funções celulares em ambientes hipertônicos (LAMITINA *et al*., 2004; DODD *et al*., 2018; URSO; LAMITINA, 2021).

- Manutenção da proteostase e resposta ao dano celular: A exposição a condições hipertônicas pode comprometer o dobramento e a estabilidade das proteínas, favorecendo alterações conformacionais e agregação proteica. Em resposta, o *C. elegans* apresenta mecanismos adaptativos associados à regulação da síntese e degradação de proteínas, que contribuem para a manutenção da proteostase. Além disso, análises transcriptômicas identificaram alterações na expressão de genes relacionados à matriz extracelular e a componentes estruturais, incluindo colágenos da cutícula, caderinas e proteínas semelhantes à miosina, sugerindo a participação de mecanismos de adaptação estrutural. Embora *SKN-1* contribua para parte da resposta transcricional ao estresse osmótico, não foi demonstrado que esse fator controle diretamente a reorganização do citoesqueleto nessas condições (DODD *et al*., 2018; URSO; LAMITINA, 2021).

Mecanismos moleculares de resposta ao estresse celular

A capacidade adaptativa de *C. elegans* a uma variedade de estresses é mediada por um sofisticado e interconectado sistema molecular. Essas vias, altamente conservadas em mamíferos, são ativadas para neutralizar danos, reparar componentes celulares e restaurar a homeostase. A compreensão desses mecanismos não só elucida a biologia fundamental do nematoide, mas também fornece contribuições relevantes para a saúde humana, particularmente no contexto de doenças associadas ao estresse e ao envelhecimento.

Vias antioxidantes e detoxificação

A defesa primária contra o estresse oxidativo e eletrofílico é coordenada por uma resposta transcricional regulada por fatores de transcrição conservados.

- *Nrf2* e o homólogo *SKN-1* em *C. elegans*

O fator de transcrição Nrf2 (*Nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) desempenha papel central na regulação das respostas antioxidantes e de detoxificação de fase II em mamíferos. Em *C. elegans*, essa função é desempenhada pelo seu homólogo funcional *SKN-1* (*Skinhead-1*), um fator de transcrição pertencente à família Cap'n'Collar (CNC). Sua atividade é regulada por diferentes mecanismos moleculares, incluindo a ação repressora de WDR-23, uma proteína que atua em associação ao complexo ubiquitina-ligase CUL-4/DDB-1 e contribui para o controle da abundância e da atividade nuclear de *SKN-1* (CHOE *et al*., 2009).

Durante o estresse oxidativo, *SKN-1* pode acumular-se nos núcleos das células intestinais e promover a expressão de genes envolvidos na proteção celular, especialmente aqueles relacionados à detoxificação de fase II e à defesa antioxidante. Entre seus alvos estão genes que codificam glutationa-S-transferases (GSTs) e enzimas envolvidas na biossíntese de glutationa, como GCS-1, contribuindo para a manutenção da homeostase redox e a resistência ao estresse oxidativo (AN; BLACKWELL, 2003; TULLET *et al*., 2017).

Além de sua participação nas respostas antioxidantes, *SKN-1* exerce funções importantes na regulação da longevidade. Estudos demonstraram que o aumento de sua atividade pode favorecer a extensão da vida de *C. Elegans*, embora os mecanismos relacionados à resistência oxidativa e à longevidade não sejam necessariamente os mesmos. Esses resultados evidenciam o papel de *SKN-1* na integração entre defesa celular, adaptação ao estresse e envelhecimento (TULLET *et al*., 2017).

- Regulação da glutationa: papel de GCS-1 e GST-4

A glutationa (GSH) é o principal tiol não proteico e antioxidante da célula, servindo como cofator essencial para enzimas de detoxificação e atuando diretamente na neutralização de radicais livres e eletrófilos. Nesse contexto, GCS-1 e GST-4 desempenham funções complementares na síntese e utilização da glutationa, respectivamente, conforme descrito a seguir.

GCS-1 (*Gamma-Glutamylcysteine Synthetase*): esta é a enzima limitante e principal ponto de regulação na biossíntese de novo da glutationa. O gene *gcs-1* é um alvo transcricional direto de *SKN-1*. A ativação da via *SKN-1*/Nrf2 leva ao aumento da expressão de *gcs-1*, elevando os níveis intracelulares de GSH e, consequentemente, a capacidade antioxidante global da célula (AN; BLACKWELL, 2003). A depleção de GSH, seja por inibição química ou mutação em *gcs-1*, torna os vermes extremamente sensíveis ao estresse oxidativo.

GST-4 (Glutationa-S-Transferase 4): As GSTs são enzimas de fase II que catalisam a conjugação da glutationa a uma ampla gama de substratos eletrofílicos, marcando-os para exportação celular ou inativando sua reatividade. O gene *gst-4* é um dos marcadores mais sensíveis da ativação da via *SKN-1*/Nrf2. A cepa transgênica CL2166 (gst-4p::GFP), amplamente utilizada, funciona como um biosensor in vivo: determinadas condições que ativem *SKN-1* (seja por estresse ou por intervenção genética/farmacológica) resultam em um aumento robusto e quantificável da fluorescência GFP (LINK; JOHNSON, 2002).

- Enzimas antioxidantes

Além do sistema dependente de glutationa, *C. elegans* possui outras enzimas que atuam diretamente na detoxificação das EROs:

- *Superóxido dismutase (SOD-3)*: A SOD-3 é uma superóxido dismutase mitocondrial dependente de manganês. Sua função primordial é catalisar a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2), constituindo a primeira linha de defesa enzimática contra as EROs. A expressão de sod-3 é rigidamente controlada pelo fator de transcrição DAF-16/FOXO, o efetor downstream da via de insulina/IGF-1 (IIS). Quando a sinalização da IIS é reduzida (ex.: em mutantes daf-2), DAF-16 transloca para o núcleo e ativa a transcrição de sod-3 e outros genes de longevidade, conferindo ao animal maior resistência ao estresse oxidativo e vida mais longa (MURPHY *et al*., 2003). A cepa transgênica CF1553 (*sod-3p::GFP*) constitui, portanto, uma ferramenta experimental para monitorar *in vivo* a expressão do gene *sod-3*, frequentemente utilizada como

indicador de respostas celulares associadas à atividade do fator de transcrição DAF-16/FOXO.

- *Glutationa-S-Transferases (GSTs)*: como mencionado, a família de enzimas GST (incluindo GST-4) desempenha um papel duplo: detoxificação e sinalização. Além de conjugarem eletrófilos, algumas GSTs podem modular vias de sinalização de estresse através de interações proteína-proteína. A expressão coordenada de múltiplas isoformas de GSTs garante uma defesa abrangente contra uma ampla gama de toxinas.

Além da neutralização direta das ERO, *C. elegans* também ativa mecanismos de proteção proteica frente ao desdobramento e agregação de proteínas, como descritos a seguir.

Proteínas de choque térmico e HSF-1/HSP-16.2

A proteostase também constitui um componente importante da resposta ao estresse celular. Como discutido anteriormente, a ativação de HSF-1 induz a expressão de chaperonas moleculares, incluindo HSP70 e pequenas HSPs, como HSP-16.2, que auxiliam na prevenção da agregação e no processamento de proteínas danificadas (MORTON; LAMITINA, 2013).

- *HSF-1/HSPs*: A resposta coordenada por HSF-1 integra o controle da qualidade proteica à adaptação celular, favorecendo o redobramento ou a degradação de proteínas danificadas por meio das chaperonas e do sistema ubiquitina-proteassoma.

A cepa CL2070 (hsp-16.2p::GFP) constitui uma ferramenta experimental para monitorar a ativação da resposta ao choque térmico *in vivo*. O aumento da fluorescência de GFP sob o controle do promotor de hsp-16.2 pode ser utilizado como indicador quantitativo da ativação da resposta proteotóxica (HEIDLER *et al*., 2010). A capacidade de preservar a proteostase integra-se às respostas antioxidantes e de reparo, contribuindo para a resistência ao estresse e para a manutenção da função celular durante o envelhecimento.

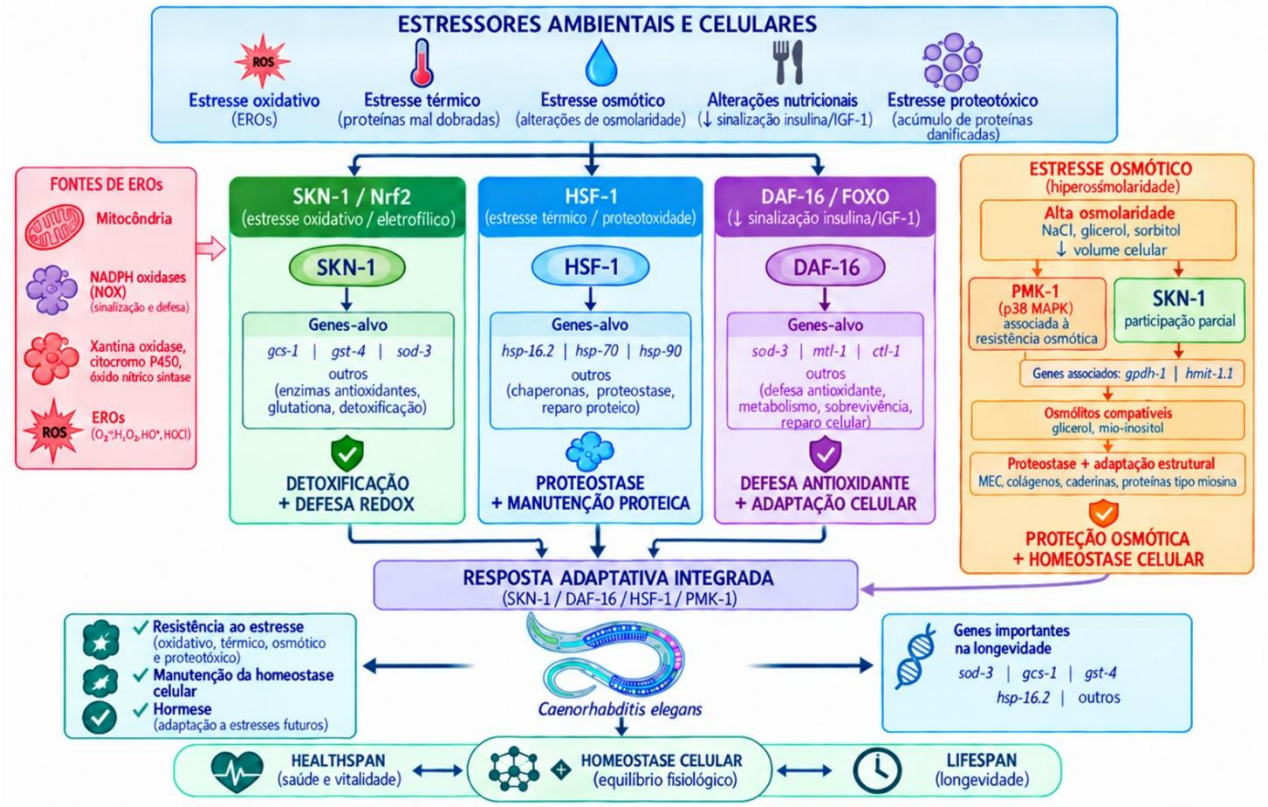
Relação entre expressão gênica, estresse celular e longevidade

As vias de *SKN-1*/Nrf2, DAF-16/FOXO e HSF-1 não operam isoladamente; elas formam uma rede de sinalização integrada que conecta respostas antioxidantes, proteostase e regulação da longevidadeEssa interação permite que alterações na disponibilidade de nutrientes e a exposição a diferentes estressores modulem a expressão de genes citoprotetores, desencadeando respostas adaptativas coordenadas. Dessa forma, a atuação conjunta dessas vias contribui para a manutenção da homeostase celular, a resistência ao estresse e a regulação da longevidade (**Figura 4.1**).

A redução da sinalização da via de insulina/IGF-1 pode favorecer a ativação de DAF-16, associada à modulação de *SKN-1* e *HSF-1* (AYUDA-DURÁN *et al*., 2020). Como resultado, ocorre aumento da expressão de genes relacionados à defesa antioxidante, detoxificação e proteostase, incluindo SOD-3, GSTs e HSPs, ampliando a capacidade de adap-tação do organismo a diferentes formas de estresse.

Essa capacidade integrada de defesa e reparo contribui para retardar o acúmulo de danos moleculares associados ao envelhecimento e ajuda a explicar a relação entre resistência ao estresse, *healthspan* e *lifespan*. Assim, em *C. elegans*, a expressão gênica associada às respostas adaptativas constitui um componente importante da manutenção da homeostase e da longevidade, sem se reduzir a uma resposta aguda a um único estressor.

Figura 4.1 Integração das principais vias de resposta ao estresse celular e regulação da longevidade em *Caenorhabditis elegans*. A exposição a diferentes tipos de estresse celular, incluindo estresse oxidativo, térmico, osmótico e proteotóxico, ativa respostas adaptativas coordenadas por fatores de transcrição conservados, especialmente *SKN-1*/Nrf2, DAF-16/FOXO e HSF-1. Essas vias regulam a expressão de genes relacionados à defesa antioxidante, detoxificação, proteostase e manutenção da homeostase celular, incluindo *sod-3*, *gst-4*, *gcs-1* e *hsp-16.2*. A integração dessas respostas contribui para o aumento da resistência ao estresse, manutenção da homeostase e promoção da longevidade saudável



Fonte: autoria própria

CONCLUSÃO

A compreensão dos mecanismos envolvidos na resposta ao estresse celular evidencia a estreita relação entre homeostase, adaptação e longevidade. Nesse contexto, o *Caenorhabditis elegans* constitui um modelo experimental relevante para investigar como diferentes formas de estresse modulam vias moleculares conservadas, particularmente aquelas associadas à defesa antioxidante, à proteostase e à regulação da longevidade. A integração das vias *SKN-1*/Nrf2, DAF-16/FOXO e HSF-1 demonstra que a manutenção da saúde celular depende não apenas da redução de danos, mas também da capacidade adaptativa do organismo diante de desafios. Assim, o estudo dessas respostas em *C. elegans* contribui para ampliar a compreensão dos mecanismos do envelhecimento e das bases celulares relacionadas à manutenção da longevidade saudável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADHIKARI, A. *et al*. Role of nanomedicine in redox mediated healing at molecular level. Biomolecular Concepts, v. 10, n. 1, p. 160–174, 2019. DOI: https://doi.org/10.1515/bmc-2019-0018.

AN, J. H.; BLACKWELL, T. K. SKN-1 links C. elegans mesendodermal specification to a conserved oxidative stress response. Genes & Development, v. 17, n. 15, p. 1882-1893, 2003. DOI: https://doi.org/10.1101/gad.1107803.

AYUDA-DURÁN, B. *et al*. Caenorhabditis elegans as a model organism to evaluate the antioxidant effects of phytochemicals. Molecules, v. 25, n. 14, art. 3194, p. 1-22, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules25143194.

BELENGUER-VAREA, Á. *et al*. Oxidative stress and exceptional human longevity: systematic review. Free Radical Biology and Medicine, v. 149, p. 51–63, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.09.019.

BELLEZZA, I. *et al*. Nrf2–Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research, v. 1865, n. 5, p. 721-733, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.02.010.

BUTTERFIELD, D. A.; HALLIWELL, B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. Nature Reviews Neuroscience, v. 20, n. 3, p. 148-160, 2019. DOI: https://doi.org/10.1038/s41583-019-0132-6.

CHOE, K. P.; PRZYBYSZ, A. J.; STRANGE, K. The WD40 repeat protein WDR-23 functions with the CUL4/DDB1 ubiquitin ligase to regulate nuclear abundance and activity of SKN-1 in Caenorhabditis elegans. Molecular and Cellular Biology, v. 29, n. 10, p. 2704–2715, 2009. DOI: https://doi.org/10.1128/MCB.01811-08.

CROMBIE, T. A. *et al*. Inhibition of the oxidative stress response by heat stress in Caenorhabditis elegans. Journal of Experimental Biology, v. 219, n. 14, p. 2201-2211, 2016. DOI: https://doi.org/10.1242/jeb.138883.

DODD, W. *et al*. A damage sensor associated with the cuticle coordinates three core environmental stress responses in Caenorhabditis elegans. Genetics, v. 208, n. 4, p. 1467-1482, 2018. DOI: https://doi.org/10.1534/genetics.118.300827.

HEIDLER, T. *et al*. Caenorhabditis elegans lifespan extension caused by treatment with an orally active ROS-generator is dependent on DAF-16 and SIR-2.1. Biogerontology, v. 11, n. 2, p. 183–195, 2010. DOI: https://doi.org/10.1007/s10522-009-9239-x.

INOUE, H. *et al*. The C. elegans p38 MAPK pathway regulates nuclear localization of the transcription factor SKN-1 in oxidative stress response. Genes & Development, v. 19, n. 19, p. 2278-2283, 2005. DOI: https://doi.org/10.1101/gad.1324805.

KENYON, C. The genetics of ageing. Nature, v. 464, n. 7288, p. 504-512, 2010. DOI: https://doi.org/10.1038/nature08980.

LABBADIA, J.; MORIMOTO, R. I. Repression of the heat shock response is a programmed event at the onset of reproduction. Molecular Cell, v. 59, n. 4, p. 639-650, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.06.027.

LAMITINA, S. T. *et al*. Adaptation of the nematode Caenorhabditis elegans to extreme osmotic stress. American Journal of Physiology-Cell Physiology, v. 286, n. 4, p. C785-C791, 2004. DOI: https://doi.org/10.1152/ajpcell.00381.2003.

LINK, C. D.; JOHNSON, C. J. Reporter transgenes for study of oxidant stress in Caenorhabditis elegans. Methods in Enzymology, v. 353, p. 497-505, 2002. DOI: https://doi.org/10.1016/s0076-6879(02)53072-4.

LÓPEZ-OTÍN, C. *et al*. Hallmarks of aging: an expanding universe. Cell, v. 186, n. 2, p. 243-278, 2023. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001.

MADEO, F. *et al*. Caloric restriction mimetics. Nature Reviews Drug Discovery, v. 18, n. 9, p. 671-693, 2019. DOI: https://doi.org/10.1038/s41573-019-0013-1.

MARGARITELIS, N. V. *et al*. Redox basis of exercise physiology. Redox Biology, v. 35, art. 101499, p. 1-13, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101499.

MORTON, E. A.; LAMITINA, T. C. elegans HSF-1 is an essential nuclear protein that forms stress granule-like structures following heat shock. Aging Cell, v. 12, n. 1, p. 112–120, 2013. DOI: https://doi.org/10.1111/acel.12024.

MURPHY, C. T. *et al*. Genes downstream of DAF-16 influencing lifespan. Nature, v. 424, n. 6946, p. 277-283, 2003. DOI: https://doi.org/10.1038/nature01789.

PALIKARAS, K.; LIONAKI, E.; TAVERNARAKIS, N. Mechanisms of mitophagy in cellular homeostasis, physiology and pathology. Nature Cell Biology, v. 20, n. 9, p. 1013-1022, 2018. DOI: https://doi.org/10.1038/s41556-018-0176-2.

SIES, H. Hydrogen peroxide as a central signalling molecule. Redox Biology, v. 11, p. 613-619, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035.

SIES, H.; JONES, D. P. ROS as signalling agents. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 21, n. 7, p. 363-383, 2020. DOI: https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3.

SIES, H.; MAILLOUX, R. J.; JAKOB, U. Fundamentals of redox regulation in biology. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 25, n. 9, p. 701-719, 2024. DOI: https://doi.org/10.1038/s41580-024-00730-2.

SOLOMON, A. *et al*. Caenorhabditis elegans OSR-1 regulates behavioral and physiological responses to hyperosmotic environments. Genetics, v. 167, n. 1, p. 161-170, 2004. DOI: https://doi.org/10.1534/genetics.167.1.161.

TONKS, N. K. Redox control of cell signaling. Cell, v. 121, n. 5, p. 667-670, 2005. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.016.

TULLET, J. M. A. *et al*. The SKN-1/Nrf2 transcription factor can protect against oxidative stress and increase lifespan in C. elegans by distinct mechanisms. Aging Cell, v. 16, n. 5, p. 1191-1194, 2017. DOI: https://doi.org/10.1111/acel.12627.

URSO, S. J.; LAMITINA, T. The C. elegans hypertonic stress response: big insights from shrinking worms. Cellular Physiology and Biochemistry, v. 55, n. S1, p. 89-105, 2021. DOI: https://doi.org/10.33594/000000334.

WINTERBOURN, C. C. Biological chemistry of H_2O_2. Methods in Enzymology, v. 528, p. 3-25, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405881-1.00001-X.

YANG, W.; HEKIMI, S. Two modes of mitochondrial dysfunction lead independently to lifespan extension in Caenorhabditis elegans. Aging Cell, v. 9, n. 3, p. 433–447, 2010. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2010.00571.x.