

CAENORHABDITIS ELEGANS: UM MODELO ALTERNATIVO PARA INVESTIGAÇÃO IN VIVO DE COMPOSTOS COM PROPRIEDADES BIOLÓGICAS¹

Larissa Marafiga Cordeiro², Priscila Seibert³, Renata Cardozo⁴, Daniela Signori⁵, Vinicius Rigo⁶, Bruna Comparsi⁷.

¹ Trabalho de iniciação científica do curso de Biomedicina do IESA

² Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina do IESA, PIBIC/IESA, email: larissa.marafiga@hotmail.com

³ Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina do IESA, bolsista PIBIC/IESA, email: priscila.seibert@hotmail.com

⁴ Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina do IESA, PIBIC/IESA, email: renatynha_rcardozo@hotmail.com

⁵ Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina do IESA, PIBIC/IESA, email: danielasignori@gmail.com

⁶ Aluno do Curso de Graduação em Biomedicina do IESA, email: rigo_vinicius@yahoo.com.br

⁷ Professora, Mestre em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, Curso de Biomedicina, email: brunacomparsi@hotmail.com

Introdução: O *Caenorhabditis elegans* é um nematódeo terrestre de vida livre componente da família Rhabditidae. Facilmente cultivado em laboratório em placas de petri contendo ágar semeadas com a bactéria *Escherichia coli* como alimento. Os vermes atingem a maturidade com 2,5 dias a 25° C e apresentam um tempo de vida curto de 20 dias a 25° C. O ciclo de vida do animal compreende um período de desenvolvimento embrionário (dentro do ovo), quatro estágios larvais (L1; L2; L3 e L4) e finalmente o adulto (WORMATLAS, 2014).

Do ponto de vista toxicológico o *C. elegans* é sensível a um amplo número de substâncias, incluindo metais pesados, fosfatos orgânicos e pesticidas (SCHOUDEST et al., 2009; LEUNG et al., 2008; WOLLENHAUPT et al., 2014). Vários estudos já demonstraram que o *C. elegans* é utilizado como modelo para o teste rápido da toxicidade de amostras de solo e água (MICHALSKI, 2010), bem como de compostos farmacêuticos e fitoquímicos (SCHOUDEST et al., 2009). Os parâmetros mais relevantes para a triagem toxicológica são a mortalidade (DENG; VAN MEEL, 2004), a longevidade, o comportamento/movimento, a alimentação, o crescimento e a reprodução (ANDERSON; BOYD; WILLIAMS, 2001). Mudanças no comportamento bem caracterizadas também podem ser avaliadas, pois o *C. elegans* se move tipicamente de maneira sinusóide em placas com ágar enquanto se alimentam de bactéria. Desta forma, a análise de compostos que alteram tanto o movimento sinusóide quanto o batimento faríngeo dos animais podem ser avaliados (HELMCKE et al., 2009).

Os ensaios para avaliar toxicidade também podem ser realizados em animais transgênicos. Cepas transgênicas contendo o gene repórter sob o controle transcricional do promotor do gene “heat shock” hsp-16 foram amplamente utilizadas para medir a resposta ao estresse associado à toxicidade de metais pesados, compostos farmacêuticos e amostras ambientais (ROH; LEE; CHOI, 2006; DENG; VAN MEEL, 2004; DAVID et al., 2003; MUTWAKIL et al., 1997). Animais transgênicos contendo a região promotora do gene *gst-4* (glutathione-S-transferase 4) fundido ao

Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XX Jornada de Pesquisa

gene gfp têm sido utilizados como biossensor da acrilamida, uma substância neurotóxica presente em alimentos (HASEGAWA et al., 2007; 2008) e como biossensor de estresse oxidativo (HASEGAWA et al., 2010).

Diante disso, os objetivos deste estudo se direcionam para a investigação da aplicação do *C. elegans* como um organismo modelo para estudos, in vivo, que visam pesquisar efeitos biológicos de diferentes moléculas.

Materiais e Métodos: Trata-se de uma revisão da literatura, utilizando-se busca eletrônica de publicações científicas nas seguintes bases de dados: PubMed e Scopus. Foram utilizados os descritores “*Caenorhabditis elegans*”, “modelo experimental”, “propriedades biológicas” e “farmacologia e toxicologia” em português e sua correspondência em inglês. Foram excluídos artigos cujos textos completos não foram obtidos. A etapa seguinte consistiu da leitura do título e abstract, quando necessário, após realizou-se a leitura na íntegra dos artigos identificados e selecionados, focando no tipo de estudo, intervenção realizada e avaliação da qualidade metodológica.

Discussão: O *C. elegans* é um sistema modelo importante para a pesquisa biológica em muitos campos, incluindo genômica, biologia celular, neurociência e envelhecimento (BRENNER, 1973; BYERLY et al., 1976; SULSTON et al., 1983; WOOD, 1988; LEWIS & FLEMING, 1995). Thompson e Pomerai (2005) usaram *C. elegans* para testar a toxicidade de diferentes álcoois mostrando diferentes toxicidades. Neste ensaio ele foi usado para obter o ponto ecotoxicológico. É uma boa alternativa para testar metais pesados e a ação da contaminação por detergentes no ambiente (Harada et al., 2007).

Entre as várias características notáveis do *C. elegans* estão a abundância de recursos genômicos, incluindo o genoma completamente sequenciado (*C. ELEGANS SEQUENCING CONSORTIUM*, 1998), um banco de dados de bioinformática facilmente acessível (CHEN et al., 2005), microarranjos de DNA (REINKE, 2002) e um consórcio de construção de mutantes “knock-out”. Estes recursos, associados ao fato de que cerca de 60-80% de genes homólogos aos humanos foram identificados no *C. elegans* (KALETTA, 2006), têm ajudado a compreender vários processos biológicos comuns a todos os animais, como o metabolismo xenobiótico e o envelhecimento.

Por ser um organismo multicelular com sistemas fisiológicos conservados e apresentar um tempo de vida curto, tem sido amplamente utilizado nos estudos de longevidade e toxicidade (AVILA et al., 2012; BRENNER, 1974; CORSI, 2006). É um excelente modelo para triagem rápida de compostos naturais ou sintéticos com propriedades biológicas, uma vez que ele dispõe de sistema sensorial e de defesa análogo ao dos mamíferos, facilitando: A) Detectar e avaliar compostos tóxicos; B) Investigar compostos que reduzem ou neutralizam compostos tóxicos; C) Pesquisar compostos que melhoram a saúde ou aumentam a longevidade (HASEGAWA et al., 2010).

Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XX Jornada de Pesquisa

Apresenta grandes vantagens em relação à cultura de células, pois é um organismo multicelular permitindo que a ação dos compostos estudados seja avaliada de forma sistêmica. Além disso, o cultivo e os experimentos realizados com este organismo são muito mais baratos, quando comparados com testes em camundongos ou outros modelos mamíferos. Isto se deve principalmente ao fato de que, no caso do *C. elegans*, a oferta de animais não é limitante, uma vez que eles crescem rapidamente em um sistema simples e barato, onde podem ser gerados milhares de animais em alguns poucos dias. Estas vantagens permitiram o desenvolvimento de estratégias de alta demanda para identificação de compostos que causam alterações no *C. elegans* (FITZGERALD et al., 2009).

Em resumo, a utilidade deste modelo parece não ter fim, vários pesquisadores utilizaram-o como biossensor para descobrir substâncias que aumentam a longevidade (OLIVEIRA et al., 2010). Entre eles podemos citar a metformina, biguanidina usada para tratamento de diabetes tipo 2 (ONKEN, 2010), os anticonvulsantes etosuximida, trimetadiona e ácido valpróico (EVASON et al., 2008; EVASON et al., 2005), vitamina E (ADACHI, 2000), extratos de mirtilo, “blueberry”, ricos em polifenóis (WILSON et al., 2006), extrato de Ginkgo biloba, rico em glicosídeos e terpenóides (KAMPKÖTTER et al., 2007), a quercetina, flavonóide abundante em plantas comestíveis (PIETSCH et al., 2009), o resveratrol, polifenol abundante nas cascas de uva (BASS et al., 2007) e os isotiocianatos, sulforafano e alil isotiocianato (HASEGAWA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2007).

Conclusão: A utilização de modelos alternativos para investigações científicas tem sido a alternativa de escolha de muitos grupos de pesquisa atualmente, isso se justifica pela menor implicação ética e pela busca por modelos que possam representar mais fielmente o funcionamento do sistema humano. Assim o *Caenorhabditis elegans* tem sido extensivamente estudado nos últimos anos e se mostrou útil para estudos em diversas áreas de pesquisa.

Palavras-chave- modelo alternativo; *Caenorhabditis elegans*; estudos in vivo.

Agradecimentos – Agradecemos a instituição financiadora deste trabalho, IESA.

Referências: ADACHI, H; ISHII, N. Effects of tocotrienols on life span and protein carbonylation in *Caenorhabditis elegans*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, v. 55, n. 6, p. B280-285, 2000.

ANDERSON, G.L.; BOYD, W.A.; WILLIAMS, P.L. Assessment of sublethal endpoints for toxicity testing with the nematode *Caenorhabditis elegans*. Environ Toxicol Chem, v. 20, n.4, p. 833-838, 2001.

AVILA DS, BENEDETTO A, AU C, MANARIN F, ERIKSON K, SOARES FA, ROCHA JB, ASCHNER M. Organotellurium and organoselenium compounds attenuate Mn-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans* by preventing oxidative stress. Free Radic Biol Med. v.1, n.2, p.1903-10, 2012.

Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XX Jornada de Pesquisa

- AVILA DS, SOMLYAI G, SOMLYAI I, ASCHNER M. Anti-aging effects of deuterium depletion on Mn-induced toxicity in a *C. elegans* model. *Toxicol Lett*, n.211, v.3, p.319-24, 2012.
- BASS, T.M et al. Effects of resveratrol on lifespan in *Drosophila melanogaster* and *C. elegans*. *Mech ageing dev*, v. 128, n. 10, p. 546-556, 2007.
- BRENNER, S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, v. 77, n. 1, p. 71-94, 1974.
- C. ELEGANS SEQUENCING CONSORTIUM. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science*, v. 282, n 5396, p. 2012-2018, 1998.
- CHEN, N. et al. WormBase: a comprehensive data resource for *Caenorhabditis* biology and genomics. *Nucleic Acids Res*, v. 33, p. 383-389, 2005.
- CORSI, A.K. A biochemist's guide to *Caenorhabditis elegans*. *Anal Biochem*, v. 359, n. 1, p. 1-17, 2006.
- DENG, M.; VAN MEEL, J.C. *Caenorhabditis elegans* as model system for rapid toxicity assessment of pharmaceutical compounds. *J Pharmacol Toxicol Methods*, v. 50, n. 3, p. 209-214, 2004.
- EVASON, K. et al. Anticonvulsant medications extend worm life-span. *Science*, v. 307, n. 5707, p. 258-262, 2005.
- EVASON, K. et al. Valproic acid extends *Caenorhabditis elegans* lifespan. *Aging Cell*, v. 7, n. 3, p. 305-317, 2008.
- FITZGERALD, V. et al. A transfer-less, multi-well liquid culture feeding system for screening small molecules that affect the longevity of *C. elegans*. *Biotechniques*, v. 47, p. 19-20, 2009.
- HARADA, H et al. Shortened lifespan of nematode *Caenorhabditis elegans* after prolonged exposure to heavy metals and detergents, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, New York, v.66, n.3, p. 378-383, May 2007.
- HASEGAWA, K. et al. A rapid and inexpensive method to screen for common foods that reduce the action of acrylamide, a harmful substance in food. *Toxicol Lett*, v. 175, n. 1-3, p. 82-88, 2007.
- HASEGAWA, K. et al. Acrylamide-responsive genes in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Toxicol Sci*, v. 101, n. 2, p. 215-225, 2008.
- HASEGAWA, K. et al. Allyl isothiocyanate that induces GST and UGT expression confers oxidative stress resistance on *C. elegans*, as demonstrated by nematode biosensor. *PLoS One*, v. 5, n. 2, p. 9267, 2010.
- HELMCKE, K.J. et al. Characterization of the effects of methylmercury on *Caenorhabditis elegans*. *Toxicol Appl Pharmacol*, v. 240, n. 2, p. 265-272, 2009.
- KALETTA, T.; HENGARTNER, M.O. Finding function in novel targets: *C.elegans* as a model organism. *Nat Rev Drug Discov*, v. 5, n. 5, p. 387-398, 2006.
- KAMPKÖTTER et al. Increase of stress resistance and lifespan of *Caenorhabditis elegans* by quercetin *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 149, p. 314-323, 2008.
- KAMPKOTTER, A. et al. The Ginkgo biloba extract EGb761 reduces stress sensitivity, ROS accumulation and expression of catalase and glutathione S-transferase 4 in *Caenorhabditis elegans*. *Pharmacol Res*, v. 55, n. 2, p. 139-147, 2007.
- LEUNG, M.C. et al. *Caenorhabditis elegans*: an emerging model in biomedical and environmental toxicology. *Toxicol Sci*, v. 106, n. 1, p. 5-28, 2008.

Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XX Jornada de Pesquisa

- MICHALSKI E.Z. Efluentes, mesmo tratados, podem conter compostos. Disponível em: www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/45537/Resumo_7772.pdf?... Acesso em: 10/06/2015
- MUTWAKIL, M.H. et al. Use of stress-inducible transgenic nematodes as biomarkers of heavy metal pollution in water samples from an english river system. *Arch Environ Contam Toxicol*, v. 32, n. 2, p. 146-153, 1997.
- OLIVEIRA, R.P. et al. Isothiocyanate and triterpenoid treatment induces SKN-1 and DAF-16 oxidative stress response and prolongs *C. elegans* life span, 2007.
- ONKEN, B.; DRISCOLL, M. Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* Healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1. *PLoS One*, v. 5, n. 1, p. e8758, 2010.
- P.W. ABRAHAM. Soils: their implications to human health *Sci. Total Environ.*, n.291, p. 1-32, 2002.
- PIETSCH, K. et al. Quercetin mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* is modulated by age-1, daf-2, sek-1 and unc-43. *Biogerontology*, v.10, n. 5, p. 565-578, 2009.
- REINKE, V. Functional exploration of the *C. elegans* genome using DNA microarrays. *Nat Genet*, v. 32, p. 541-546, 2002.
- ROH, J.Y.; LEE, J.; CHOI, J. Assessment of stress-related gene expression in
- SALGUEIRO W.G, XAVIER M.C, DUARTE L.F, CÂMARA D.F, FAGUNDEZ D.A, SOARES A.T, PERIN G, ALVES D, AVILA D.S. Direct synthesis of 4-organylsulfonyl-7-chloro quinolines and their toxicological and pharmacological activities in *Caenorhabditis elegans*. *Eur J Med Chem*, v. 21, n. 75, p.448-59, 2014.
- SCHOUEST, K. et al. Toxicological assessment of chemicals using *Caenorhabditis elegans* and optical oxygen respirometry. *Environ Toxicol Chem*, v. 28, n. 4, p. 791-799, 2009.
- THOMPSON, G.; POMERAI, D.I. Toxicity of short-chain alcohols to the nematode *Caenorhabditis elegans*: a comparison of endpoints. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, West Sussex, v. 19, n. 2, p. 87-95, 2005.
- WILSON, M.A. et al. Blueberry polyphenols increase lifespan and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell*, v. 5, n. 1, p. 59-68, 2006.
- WOLLENHAUPT SG et al. Seleno- and telluro-xylofuranosides attenuate Mn-induced toxicity in *C. elegans* via the DAF-16/FOXO pathway. *Food Chem Toxicol*, v. 64, p.192-9, 2014.
- WORMATLAS. Disponível em: <http://www.wormatlas.org/index.html>. Acesso em: 10/06/2015.