



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**USO DEL NEMATODO *CAENORHABDITIS ELEGANS* COMO MODELO PARA
EVALUAR ESTRÉS OXIDANTE Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:

BRENDA FERNANDA CHÁVEZ MEZA

ASESOR:

DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI



Ciudad Universitaria, CD. MX. 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Martínez Barajas J. Eleazar

VOCAL: Profesor: Hernández Luis Francisco

SECRETARIO: Profesor: Pedraza Chaverri José

1er. SUPLENTE: Profesor: Ávila Chávez Euclides

2° SUPLENTE: Profesor: Del Valle Pérez Paulina

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 315, EDIFICIO F1, 2° PISO, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, FACULTAD DE QUÍMICA,
EXTERIOR S/N, COYOACÁN, CD. UNIVERSITARIA, C.P. 04510, CIUDAD DE MÉXICO.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. José Pedraza Chaverri

SUSTENTANTE (S):

Brenda Fernanda Chávez Meza

Índice

Índice de tablas	4
Índice de figuras	4
Lista de abreviaturas	5
Introducción.....	8
1. Objetivo	8
2. Estrés oxidante y especies reactivas	9
3. Sistemas antioxidantes	11
3.1. Enzimas antioxidantes	11
3.2. Glutación	13
4. <i>C. elegans</i> como modelo	14
4.1. Género.....	16
4.2. Ciclo de vida	17
4.3. Anatomía	20
5. Vías de señalización de <i>C. elegans</i> relacionadas con estrés oxidante.....	22
5.1. Vía IIS	22
5.2. Vía SKN-1	23
6. Determinación de biomarcadores de estrés oxidante en <i>C. elegans</i>	24
6.1. Determinación de niveles de ERO	25
6.2. Determinación de niveles de glutación.....	27
6.3. Evaluación del daño de moléculas biológicas	29
6.3.1. Oxidación de proteínas	29
6.3.2. Peroxidación lipídica	31
6.3.3. Daño en el ADN.....	33
7. <i>C. elegans</i> como modelo para evaluar estrés oxidante.....	35
8. Discusión	39
9. Conclusión y direcciones futuras	40
10. Referencias	41

Índice de tablas

Tabla 1. Especies radicales y no radicales de ERO y ERN.	10
Tabla 2. Sondas utilizadas para la determinación de ERO	26
Tabla 3. Revisión de estudios del uso <i>C. elegans</i> como modelo para evaluar estrés oxidante.....	35

Índice de figuras

Figura 1. Estructura química del glutatión (GSH)	14
Figura 2. Publicaciones que han utilizado a <i>C. elegans</i> como modelo	14
Figura 3. Distinción entre un macho y una hermafrodita de <i>C. elegans</i>	17
Figura 4. Ciclo de vida <i>C. elegans</i>	18
Figura 5. Estadios larvales de <i>C. elegans</i>	20
Figura 6. Anatomía de <i>C. elegans</i>	20
Figura 7. Sistema nervioso de <i>C. elegans</i>	21
Figura 8. Vías de señalización de <i>C. elegans</i> relacionadas con estrés oxidante	24
Figura 9. Reacción de diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA) con especies reactivas de oxígeno (ERO).....	26
Figura 10. Reacción de glutatión (GSH) con ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB)	28
Figura 11. Reacción de derivatización de glutatión (GSH) con ortoftaldehído (OPT) ..	28
Figura 12. Reacción de 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) con proteínas oxidadas	30
Figura 13. Imágenes representativas de evaluaciones realizadas con cepas GFP.....	31
Figura 14. Estructura química del malondialdehído (MDA) y 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE)	32
Figura 15. Daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) por las especies reactivas de oxígeno (ERO)	34

Lista de abreviaturas

µm	micrómetros
4-HNE	4-hidroxi-2-nonenal
•OH	radical hidroxilo
ADN	ácido desoxirribonucleico
AGE-1	fosfatidilinositol 3-cinasa
AKT-1	serina treonina cinasa 1
AKT-2	serina treonina cinasa 2
ARNi	ácido ribonucleico de interferencia
ATP	adenosín 5´- trifosfato
CAT	catalasa
ctl-1	gen catalasa
DAF-16	gen homólogo del factor de transcripción FOXO humano
DAF-18	gen homólogo del supresor tumoral humano PTEN
DAF-2	receptor de tirosina cinasa
DCF	2',7'-diclorofluoresceína
DCFH	2',7'-diclorodihidrofluoresceína
DCFH-DA	diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína
DHE	dihidroetidio
DNP	2,4-dinitrofenol
DNPH	2,4-dinitrofenilhidrazina
DTNB	ácido 5,5´-ditiobis-(2-nitrobenzoico)
e ⁻	electrones
ELISA	ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
EPA	ácido eicosapentaenoico
ERN	especies reactivas de nitrógeno
ERO	especies reactivas de oxígeno
ETC	cadena de transporte de electrones mitocondrial
FAD	flavín adenín dinucleótido oxidado
FADH ₂	flavín adenín dinucleótido reducido
FOXO	factor de transcripción forkhead
GABA	ácido γ-aminobutírico
GFP	proteína verde fluorescente
GLRx	glutarredoxina
GPx	glutación peroxidasa
GR	glutación reductasa
GSH	glutación
GSSG	glutación disulfuro
GST	glutación S-transferasa
gst-4	gen glutación S-transferasa
GSTNB	aducto glutación y ácido-5-mercapto-2-nitrobenzoico
H ₂ O	agua

H ₂ O ₂	peróxido de hidrógeno
HClO	ácido hipocloroso
HPLC	cromatografía líquida de alta eficacia
HSF-1	factor de transcripción de choque térmico 1
HSP	proteínas de choque térmico
hsp-16.2	gen de proteínas de choque térmico
IGF-1	factor de crecimiento similar a la insulina/insulina-1
IIS	vía de la señalización
ILP	ligando similar a la insulina
JNK-1	homólogo de cinasa N-terminal c-Jun
L1	estadio larval 1
L2	estadio larval 2
L3	estadio larval 3
L4	estadio larval 4
LOO [•]	radicales lipídicos
LOOH	peróxidos lipídicos
lys-7	gen de defensa de bacterias patógenas
MAPK	proteína cinasa activada por mitógeno
MAPKKK	MAPK cinasa cinasa
MDA	malondialdehído
mm	milímetro
mtl-1	gen metalotioneína
N ₂	nitrógeno
NADH	nicotamida adenina dinucleótido
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
nm	nanómetros
NO [•]	óxido nítrico
NO ₂ ⁻	ión dióxido de nitrógeno
NOS	óxido nítrico sintasa
NOX	NADPH oxidasa
Nrf2	factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide
O ₂	oxígeno
O ₂ ^{-•}	anión superóxido
O ₃	ozono
ONOO ⁻	peroxinitrito
OPT	ortoftaldehído
PDK1	proteína cinasa 1 dependiente de 3-fosfoinositol
PIP ₂	fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato
PIP ₃	fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato
PMK-1	ortólogo de la proteína cinasa 11 activada por mitógeno

PRx	peroxirredoxina
PTEN	supresor tumoral humano fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa
PUFA	ácidos grasos poliinsaturados
ROO [•]	grupos peroxilo
RX	compuestos orgánicos
SDS-PAGE	electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico
SEK-1	cinasa SAPK / ERK
SGK-1	cinasa regulada por suero y glucocorticoides 1
SIR-2.1	homólogo de histona desacetilasa dependiente de NAD ⁺
SKN-1	homólogo de Nrf2
SOD	superóxido dismutasa
sod-3	gen superóxido dismutasa-3
spp-1	gen de defensa de bacterias patógenas
TBA	ácido 2-tiobarbiturico
TNB	ácido 5-mercapto-2-nitrobenzoico
TRx	tiorredoxina
TrxR	tiorredoxina reductasa
Trx-(SH) ₂	tiorredoxina reducida
Trx-S ₂ :	tiorredoxina oxidada
UV	ultravioleta

Introducción

El nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) habita en muchas partes del mundo (Feng *et al.*, 2021; Leung *et al.*, 2008; Corsi *et al.*, 2015). Actualmente se ha convertido en un excelente modelo para llevar a cabo ensayos, en los cuales se determinen biomarcadores de estrés oxidante al someter a *C. elegans* a un estrés inducido por la exposición de factores físicos o químicos. El estrés oxidante se considera como el desbalance entre las condiciones oxidantes y las defensas antioxidantes, ocasionado por un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) o una baja actividad de los sistemas antioxidantes (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022).

El principal sitio de producción de las ERO es a partir de la cadena de transporte mitocondrial (Lushchak, 2014), entre ellas se incluyen al radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), dióxido de nitrógeno ($\text{NO}_2\cdot$) así como a los grupos peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) y los radicales lipídicos ($\text{LOO}\cdot$). Por otra parte, las especies no radicales incluyen al peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso (HClO), ozono (O_3) y peroxinitrito (ONOO^-) (Ayuda-Durán *et al.*, 2020).

El desequilibrio de las ERO y los sistemas antioxidantes tiene consecuencias en los sistemas biológicos, ocasionando daño en lípidos, proteínas y material genético, teniendo como resultado daño en estructura y membranas celulares, oxidación de residuos de aminoácidos, rompimiento de enlaces peptídicos y la agregación de proteínas, así como modificaciones en las bases nitrogenadas, rotura de hebra y problemas en la compactación y enrollamiento del material genético (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022; Pisoschi & Pop, 2015; Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006).

Se ha permitido utilizar a *C. elegans* como modelo en investigaciones para evaluar los efectos de compuestos naturales sobre el estrés inducido por factores físicos y químicos en el nematodo. Se ha relacionado el estrés oxidante a diferentes patologías; por lo que, utilizar un modelo como *C. elegans* puede abrir la oportunidad de desarrollo de nueva terapia.

1. Objetivo

Examinar la literatura científica en bases de datos como PubMed, MDPI o Elsevier, para obtener información sobre la descripción y aplicaciones del nematodo *C. elegans* como modelo en investigaciones sobre marcadores de estrés oxidante.

2. Estrés oxidante y especies reactivas

La atmósfera se encuentra constituida por 78% de nitrógeno (N₂) y 21% de oxígeno (O₂) siendo el O₂ uno de los gases más importantes de la tierra (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006). Debido a la abundancia de estas moléculas, los organismos aerobios reducen la mayor parte del O₂ en agua (H₂O) gracias a la actividad de la enzima citocromo oxidasa (Complejo IV) durante la cadena de transporte de electrones mitocondrial (ETC) (Lushchak, 2014). La función de la ETC está relacionada a la generación de energía en forma de adenosín 5'-trifosfato (ATP) mediante la fosforilación oxidativa por acción de la enzima ATP sintasa (Ma, 2010; Lushchak, 2014).

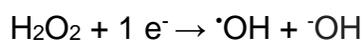
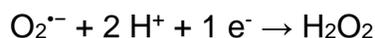
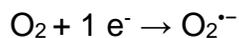
Para llevar a cabo la conversión de O₂ a H₂O se involucran cuatro electrones mediante la siguiente reacción (Lushchak, 2014):



Sin embargo, cuando el O₂ se reduce a través de vías sucesivas de un solo electrón (Lushchak, 2014) derivada de la incompleta reducción del O₂ (Jara-Palacios *et al.*, 2013) puede formar secuencialmente ERO (Olson *et al.*, 2017).

Un radical libre se define como cualquier especie química capaz de existir independientemente, que contiene uno o más electrones desapareados, ya sea por ganancia o pérdida de un electrón de un no radical o por la ruptura homolítica de una molécula (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006; Valko *et al.*, 2007, Halliwell, 2006). La presencia de electrones desapareados modifica su reactividad, en donde suele ser más reactiva que su correspondiente no radical (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006).

De esta forma la reducción incompleta del O₂ da como resultado la formación de ERO como el O₂^{•-}, H₂O₂ y [•]OH, conforme a las siguientes reacciones (Lushchak, 2014):



Entre otras ERO y especies reactivas de nitrógeno (ERN) (Tabla 1), se encuentran radicales como el NO^\bullet , NO_2^\bullet así como ROO^\bullet y LOO^\bullet . También se incluyen especies no radicales como H_2O_2 , HClO , O_3 y ONOO^- (Ayuda-Durán *et al.*, 2020).

Tabla 1. Especies radicales y no radicales de ERO y ERN.

Especies	ERO	ERN
Radicales	ROO^\bullet $\text{O}_2^{\bullet-}$	NO^\bullet
	LOO^\bullet $\bullet\text{OH}$	NO_2^\bullet
No radicales	H_2O_2 O_3	ONOO^-
	HClO	HNO_2

ERO: especies reactivas de oxígeno, ERN: especies reactivas de nitrógeno, ROO^\bullet : grupos peroxilo, $\text{O}_2^{\bullet-}$: anión superóxido, LOO^\bullet : radicales lipídicos, $\bullet\text{OH}$: radical hidroxilo, H_2O_2 : peróxido de hidrógeno, O_3 : ozono, HClO : ácido hipocloroso, NO^\bullet : óxido nítrico, NO_2^\bullet : dióxido de nitrógeno, ONOO^- : peroxinitrito, HNO_2 : ácido nitroso.

Estas especies suelen ser productos normales del metabolismo celular (Kaur *et al.*, 2014), derivados como subproductos del metabolismo del O_2 (Jara-Palacios *et al.*, 2013); sin embargo, también pueden generarse por la acción de sistemas enzimáticos (Ma, 2010), como el citocromo P450, las nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasas (NOX), las lipoxigenasas, las monooxigenasas o la óxido nítrico sintasa (NOS) (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Pisoschi & Pop, 2015; Finkel, 2011; Kaur *et al.*, 2014).

También, la radiación ultravioleta (UV), la exposición a agentes químicos, iones metálicos, calor, radiación, microorganismos patógenos o citosinas inflamatorias, se han considerado factores exógenos que contribuyen de manera significativa a la generación ERO y ERN dentro de la célula (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Pisoschi & Pop, 2015; Kaur *et al.*, 2014; Jara-Palacios *et al.*, 2013).

A bajas concentraciones las ERO y ERN funcionan como señalizadores de la regulación de la homeostasis (Ma, 2010, Brahma *et al.*, 2021). Un desequilibrio entre las condiciones oxidantes y las defensas antioxidantes puede generar un estrés dentro de la célula que tiene

consecuencias en los sistemas biológicos, ocasionando daños en macromoléculas como: lípidos, proteínas y ácido desoxirribonucleico (ADN) (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022; Pisoschi & Pop, 2015; Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006; Dalle *et al.*, 2003; Kaur *et al.*, 2014).

La presencia de ERO se ha relacionado al envejecimiento y a diferentes procesos patológicos (Lushchak, 2014; Ma, 2010), incluidos procesos neurodegenerativos, enfermedades cardiovasculares, isquemia, Alzheimer, artritis reumatoide, hipertensión, catarogénesis y cáncer (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006; Jara-Palacios *et al.*, 2013; Ma, 2010).

3. Sistemas antioxidantes

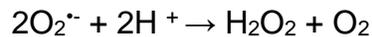
El organismo ha desarrollado mecanismos que mantienen el equilibrio del estado redox dentro de la célula (Zhu *et al.*, 2022; Kaur *et al.*, 2014). A bajas concentraciones un antioxidante retarda o previene la oxidación del sustrato (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006). Los sistemas antioxidantes incluyen mecanismos enzimáticos y no enzimáticos para mantener dicho equilibrio (Kaur *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2022). De manera endógena se incluyen moléculas como el glutatión (GSH), enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) o catalasa (CAT) (Finkel, 2011; Ayuda-Durán *et al.*, 2020). Por otra parte, de manera exógena, los antioxidantes provenientes de la dieta como la vitamina E (tocoferol), vitamina c (ácido ascórbico), carotenoides, antocianinas, flavonoides y polifenoles tienen función dentro de la regulación de la homeostasis redox (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Lushchak, 2014; Kaur *et al.*, 2014).

3.1. Enzimas antioxidantes

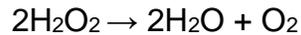
El estrés oxidante puede ser modulado indirectamente por enzimas antioxidantes, como son la SOD, CAT, GPx, la tiorredoxina (TRx), la glutarredoxina (GLRx) o la peroxirredoxina (PRx) (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022).

Existen 2 isoformas de SOD dentro de la célula: SOD1 contiene cobre y zinc y se localiza en citoplasma y SOD2 que es dependiente de manganeso y se encuentra en la matriz mitocondrial (Ma; 2010, Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006).

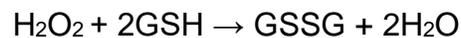
La SOD cataliza la reacción de conversión de $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 (Ma, 2010; Kaur *et al.*, 2014)



Por otra parte, la enzima CAT se encuentra principalmente en los peroxisomas (Kaur *et al.*, 2014) y cataliza la reducción del H_2O_2 en H_2O (Olson *et al.*, 2017):



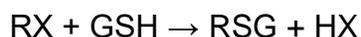
La GPx es una selenoenzima (Kaur *et al.*, 2014) que cataliza la reducción de H_2O_2 y peróxidos lipídicos (LOOH) empleando dos moléculas de GSH, generando glutatión disulfuro (GSSG) y agua (Lushchak, 2014):



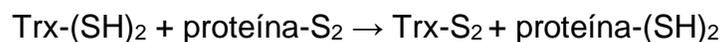
El glutatión reductasa (GR) se encuentra en citoplasma y en su sitio activo contiene a la coenzima flavín adenín dinucleótido oxidado (FAD) (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006). Realiza la reducción de GSSG empleando la coenzima NADPH (Lushchak, 2014):



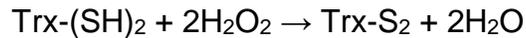
La glutatión S-transferasa (GST) cataliza la conjugación de GSH con una gran cantidad de compuestos orgánicos (RX), la reacción general es (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006):



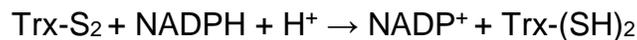
La TRx es un polipéptido distribuido en el retículo endoplásmico que contiene dos grupos tiol adyacentes en su forma reducida ($Trx-(SH)_2$: tiorredoxina reducida) que se puede oxidar a su forma disulfuro ($Trx-S_2$: tiorredoxina oxidada) (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006):



Así mismo, la TRx puede reaccionar directamente con el H₂O₂, llevando a cabo la siguiente reacción (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006):



Por otra parte, la tiorredoxina reductasa (TrxR) es una selenoproteína que en su penúltimo carbono contiene un residuo de selenocisteína que es necesario para llevar su actividad catalítica. Existen dos isoformas: la citosólica y la mitocondrial. Catalizan la reducción del polipéptido Trx (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006).



3.2. Glutación

El GSH (γ -glutamilcisteinilglicina) es el antioxidante endógeno más importante en las células (Ferguson & Bridge, 2019; Urban *et al.*, 2017; Kaur *et al.*, 2014), es abundante en el citosol, mitocondria y núcleo (Kaur *et al.*, 2014), interviene en procesos de desintoxicación de xenobióticos, señalización celular y apoptosis (Urban *et al.*, 2017; Forman *et al.*, 2009).

Es un tripeptido constituido por los aminoácidos: glutamato, cisteína y glicina (Figura 1) (Caito & Aschner, 2015; Lushchak, 2014). Su síntesis se lleva a cabo mediante la adición secuencial de cisteína al glutamato para finalizar con la adición de la glicina (Forman *et al.*, 2009), esto gracias a la actividad de glutamato-cisteína ligasa y de glutatión sintetasa, respectivamente (Kaur *et al.*, 2014).

En condiciones normales, el GSH (forma reducida) predomina ante el GSSG (forma oxidada), siendo el cociente GSH/GSSG el responsable de mantener el medio intracelular reducido (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022). El GSH tiene un papel fundamental en la defensa antioxidante, sirve como cosustrato para las reducciones catalizadas por la enzima GPx. Por otra parte, al generarse GSSG (considerado potencialmente tóxico para la célula), la enzima GR cataliza la reacción de reducción de GSSG. Por último, el GST conjuga GSH con diferentes compuestos orgánicos, siendo útil para la eliminación de xenobióticos (Forman *et al.*, 2009). Estas tres enzimas son importantes para la supervivencia celular, función mitocondrial, señalización celular y la regeneración de la reserva de GSH (Caito & Aschner, 2015).

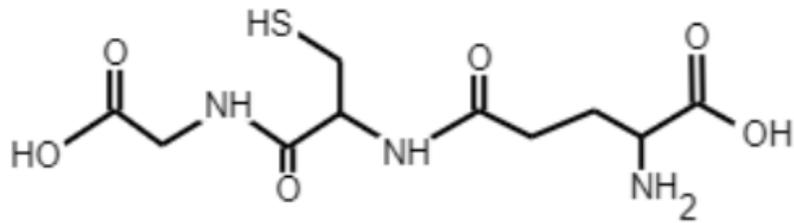


Figura 1. Estructura química del glutatión (GSH) (Tomado de Forman *et al.*, 2009).

4. *C. elegans* como modelo

En la segunda mitad del siglo XX, Sidney Brenner introdujo al nematodo *C. elegans* como modelo de estudio en investigaciones de neurobiología (Strange, 2003; Corsi, 2006; Culetto & Sattelle, 2000). Desde entonces, el número de publicaciones que emplean a *C. elegans* como modelo ha experimentado un crecimiento sustancial, tal como se puede observar en la Figura 2. Este aumento se debe a su notable contribución a la comprensión de procesos biológicos fundamentales, lo que ha fortalecido tanto el interés como la confianza en su utilización como modelo experimental.

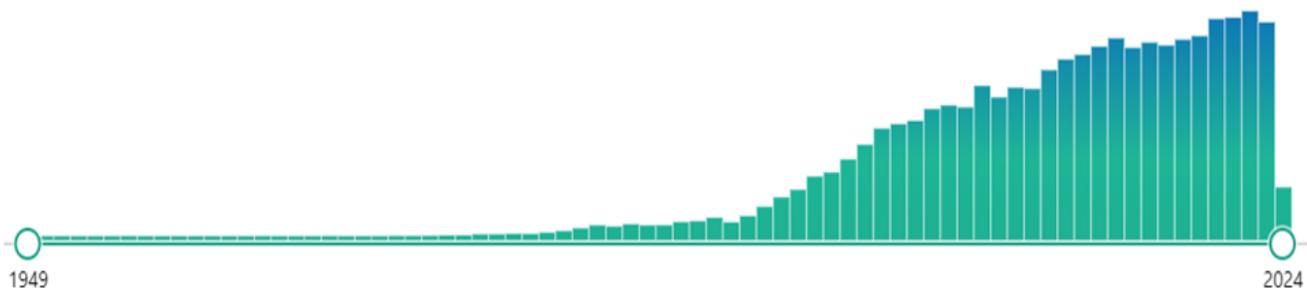


Figura 2. Publicaciones que han utilizado a *C. elegans* como modelo (Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> el 08 marzo 2024)

El nematodo *C. elegans* tiene una gran variedad de características que lo han convertido en un excelente modelo para realizar diferentes ensayos, gracias a la homología de sus genes con los correspondientes de humanos (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Kaletta & Hengartner, 2006; Koch *et al.*, 2020; Baumeister & Ge, 2002). A pesar de estar separados por millones de años de evolución (Kyriakakis *et al.*, 2014), se han identificado para alrededor del 60 al 80% de los genes humanos, los homólogos en *C. elegans* (Leung *et al.*, 2008; Calvo *et al.*, 2016; Yu *et*

al., 2014; Zhu *et al.*, 2022; Kyriakakis *et al.*, 2014), algunos de estos genes están relacionados con enfermedades humanas (Corsi, 2006; Culetto & Sattelle, 2000).

Este nematodo habita en el suelo y hojarasca de muchas partes del mundo (Feng *et al.*, 2021; Leung *et al.*, 2008; Corsi *et al.*, 2015), se ha podido aislar de materia vegetal en descomposición como flores, frutas y tallos (Corsi *et al.*, 2015, Kiontke & Sudhaus, 2006; Félix & Braendle, 2010). En el laboratorio es fácil y económico de desarrollar, se cultiva en medios sólidos y líquidos (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Calvo *et al.*, 2016; Lüersen *et al.*, 2013; Kyriakakis *et al.*, 2014, Dhakal *et al.*, 2021) y se mantiene con una dieta a base de cepas no patógenas de *Escherichia coli* comúnmente se utiliza la cepa OP50 (Brooks *et al.*, 2009; Leung *et al.*, 2008; Kaletta & Hengartner, 2006; Strange, 2003; Kyriakakis *et al.*, 2014; Mayoral *et al.*, 2017).

El nematodo *C. elegans* no se considera un organismo patógeno y, al ser un invertebrado, no conlleva las restricciones éticas asociadas con otros modelos de investigación (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Shen *et al.*, 2018). Su ciclo de vida es breve: bajo condiciones óptimas de temperatura, alrededor de los 20°C, el desarrollo desde el huevo hasta el gusano adulto ocurre en aproximadamente tres días, y posteriormente puede vivir entre 15 y 22 días (Leung *et al.*, 2008; Kaletta & Hengartner, 2006; Kyriakakis *et al.*, 2014; Zeng & Feng, 2020; Zhu *et al.*, 2022; Strange, 2003). Sin embargo, este período puede fluctuar ligeramente según las variaciones de temperatura y las condiciones ambientales. Esta particularidad lo convierte en un modelo valioso, ya que agiliza tanto los costos como el tiempo requerido para obtener resultados en una variedad de investigaciones, especialmente en estudios de longevidad (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Feng *et al.*, 2021; Kyriakakis *et al.*, 2014; Zheng & Greenway, 2012).

Al ser transparente en todo su ciclo vida, permite visualizar sus estructuras internas sin tener que realizar disecciones (Mayoral *et al.*, 2017; Hunt, 2017), esta característica permite que se puedan visualizar procesos mediante el uso de marcadores fluorescentes (Kaletta & Hengartner, 2006; Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Corsi *et al.*, 2015) específicos de tejido, procesos celulares y fisiológicos (Carretero *et al.*, 2017).

Además, fue el primer organismo multicelular en tener su genoma completamente secuenciado (Shen *et al.*, 2018; Colonnello, 2018; Lüersen *et al.*, 2013; Zheng & Greenway, 2012). La facilidad de realizar mutaciones, la capacidad de manipular y expresar genes

mediante técnicas de ácido ribonucleico de interferencia (ARNi) permite su uso y aplicación en diferentes áreas de investigación (Baumeister & Ge, 2002; Engleman *et al.*, 2016).

Actualmente se encuentran disponibles más de 3,000 cepas mutantes de *C. elegans* en la Universidad de Minnesota lo que facilita su aplicación en diferentes áreas de investigación (Shen *et al.*, 2018; Caito & Aschner, 2015), algunas de ellas contienen marcadores de proteína verde fluorescente (GFP) en diferentes vías celulares como tolerancia al estrés, envejecimiento y diferentes enfermedades, lo que permite su uso y visualización de estas vías mediante el seguimiento de esta GFP (Wang & Wink, 2016; Thabit *et al.*, 2018).

4.1. Género

Existen dos géneros: machos y hermafroditas (Shen *et al.*, 2018; Corsi *et al.*, 2015). *C. elegans* no posee cromosoma Y, por lo que el genotipo de las hermafroditas se conforma de dos cromosomas X (XX) mientras que el de los machos únicamente de uno (XO) (Corsi *et al.*, 2015; Félix & Braendle, 2010; Brenner, 1974; Hunt, 2017).

La reproducción es rápida, se genera una producción a gran escala de millones de animales por día (Kaletta & Hengartner, 2006; Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Kyriakakis *et al.*, 2014; Corsi, 2006). Las larvas recién nacidas miden alrededor de 0.25 mm (milímetro) (Corsi *et al.*, 2015) y los adultos aproximadamente 1 mm de longitud, lo que permite realizar ensayos *in vivo* en microplacas de 96 pocillos (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Leung *et al.*, 2008; Kaletta & Hengartner, 2006; Calvo *et al.*, 2016; Strange, 2003).

La distinción entre un macho y una hermafrodita radica en la estructura de la cola; los machos cuentan con un aparato copulador, mientras que, en las hermafroditas, la cola simplemente se alarga y se vuelve puntiaguda (Figura 3) (Shen *et al.*, 2018; Corsi, 2006).

Cada generación de *C. elegans* está compuesta mayoritariamente por hermafroditas, con solo un pequeño porcentaje, entre el 0.1% y el 0.2%, de individuos machos presentes (Ferguson & Bridge, 2019; Kyriakakis *et al.*, 2014; Corsi, 2006). Cuando una hermafrodita se autofecunda, puede generar alrededor de 300 descendientes a lo largo de su vida, compuestos en su gran mayoría por hermafroditas, representando aproximadamente el 99.9% de la descendencia (Shen *et al.*, 2018; Strange, 2003; Corsi *et al.*, 2015; Kyriakakis *et al.*, 2014).

La autofecundación ofrece ventajas para el análisis genético, simplifica el mantenimiento de las poblaciones debido a que solo un nematodo puede generar una población completa (Mayoral *et al.*, 2017; Corsi *et al.*, 2015).

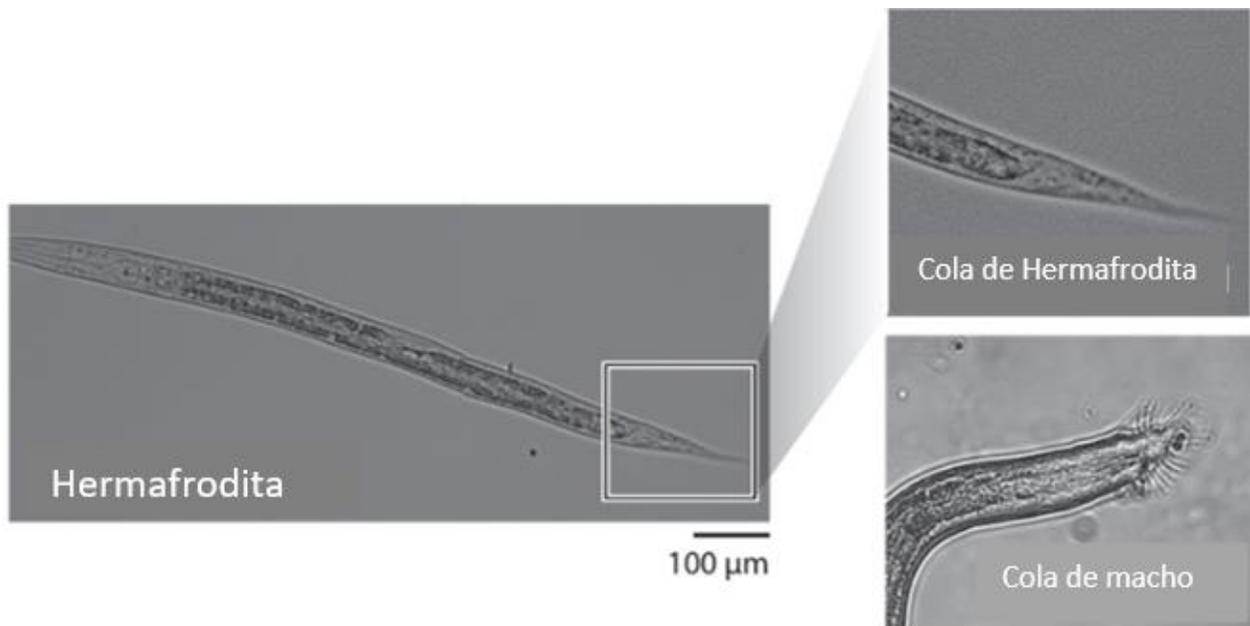


Figura 3. Distinción entre un macho y una hermafrodita de *C. elegans*. Los machos poseen un aparato copulador, mientras que en las hermafroditas la cola se alarga y adquiere una forma puntiaguda. (Modificado de Shen *et al.*, 2018).

4.2. Ciclo de vida

La embriogénesis comprende cuatro estadios larvales: estadio larval 1 (L1), estadio larval 2 (L2), estadio larval 3 (L3) y estadio larval 4 (L4) y la fase adulta (Figura 4) (Colonnello, 2018; Ferguson & Bridge, 2019; Strange, 2003; Carranza-García & Navarro, 2020; Corsi *et al.*, 2015). Los nematodos en L1 eclosionan de los huevos, para continuar el desarrollo de las etapas L2, L3 y L4 (Figura 5) (Shen *et al.*, 2018).

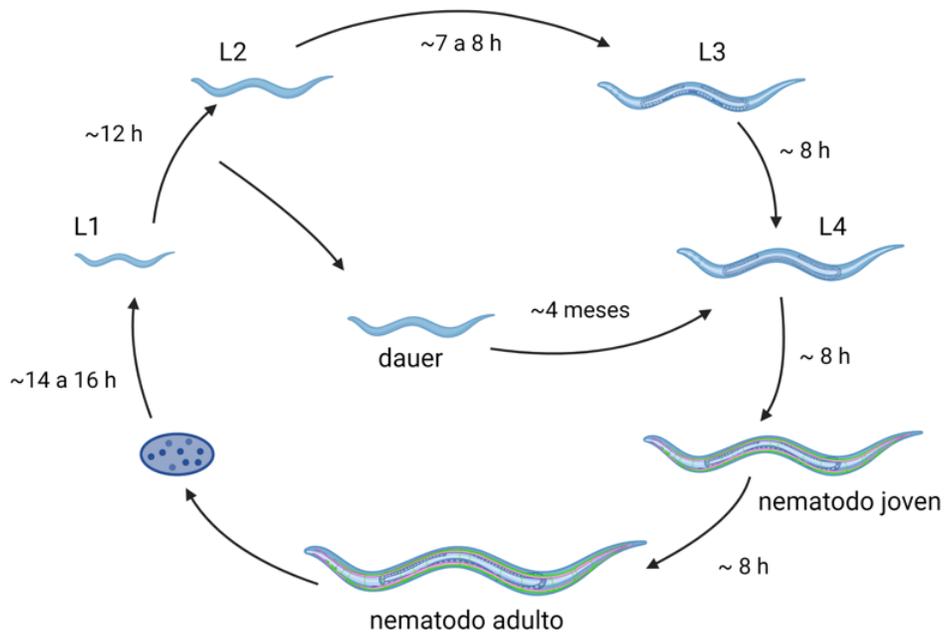


Figura 4. Ciclo de vida *C. elegans*. Estadio larval 1 (L1), estadio larval 2 (L2), estadio larval 3 (L3) y estadio larval 4 (L4) (Creado con Biorender.com)

Cada etapa culmina con un periodo de inactividad en la que se forma una nueva cutícula y se desprende la anterior (Corsi, 2006; Jorgensen & Mango, 2002). Después de la fertilización, para sobrevivir fuera del útero el cigoto produce un caparazón resistente que hace al embrión impermeable a la mayoría de las soluciones (Shen *et al.*, 2018; Corsi *et al.*, 2015).

Factores como la dieta o temperatura pueden afectar el ciclo de vida de *C. elegans* (Dhakal *et al.*, 2021; Gómez-Orte *et al.*, 2017). Los estudios realizados con este nematodo comúnmente se realizan oscilando en temperaturas de 15 a 25°C (Gómez-Orte *et al.*, 2017).

A 20°C, la embriogénesis tiene una duración entre 16 horas (Corsi *et al.*, 2015), en esta etapa se llevan a cabo una serie de divisiones mitóticas que dan paso a la organogénesis (Colonnello, 2018). La primera división se lleva al interior del útero, una vez que el embrión tiene alrededor de 28 a 30 células, se coloca en el medio ambiente por medio de la abertura de la vulva (Corsi, 2006).

El desarrollo post-embriionario ocurre en las próximas etapas larvales (L1-L4) que culminan en aproximadamente en 35 horas (Strange, 2003; Dhakal *et al.*, 2021).

La etapa L1 a un rango entre 20 a 25°C se desarrolla en alrededor de 12 horas (Dhakal *et al.*, 2021; Strange, 2003, Blackwell *et al.*, 2015), en esta etapa *C. elegans* puede censar alimento, sobrepoblación y temperatura (Colonnello, 2018). Cuando en el medio no existen las condiciones óptimas de temperatura y alimento, las larvas L1 detienen la etapa de desarrollo y entran a una fase alternativa (Shen *et al.*, 2018; Corsi, 2006; Hunt, 2017). Esta fase de hibernación se conoce como “dauer” o de supervivencia. Durante este periodo, las larvas son resistentes a condiciones extremas, reducen su movimiento, tasa de respiración y digestión; además, existe una reducción en el gasto de ATP al entrar en un estado de hipometabolismo en donde se reduce significativamente la tasa metabólica (Lant & Storey, 2010). Cuando las condiciones de alimento y temperatura son favorables, el nematodo puede continuar con el desarrollo larvario y entrar en la etapa L4, sin embargo, pueden permanecer en esta etapa durante un largo tiempo (Fielenbach & Antebi, 2008; Félix & Braendle, 2010; Dhakal *et al.*, 2021), aproximadamente 4 meses (Dhakal *et al.*, 2021; Strange, 2003, Blackwell *et al.*, 2015).

La etapa L2 tiene una duración entre 7 a 8 horas en un intervalo de 20 a 25°C (Dhakal *et al.*, 2021; Strange, 2003, Blackwell *et al.*, 2015), aquí el nematodo aumenta su tamaño y desarrolla órganos que son vitales (Colonnello, 2018).

La etapa L3 dura aproximadamente 8 horas en un rango entre 20 a 25°C (Dhakal *et al.*, 2021; Strange, 2003, Blackwell *et al.*, 2015), las gónadas se empiezan a formar y la epidermis segrega colágeno para formar la cutícula que lo protege del medio (Colonnello, 2018; Calvo *et al.*, 2016).

La etapa L4 tiene una duración de 8 horas en un intervalo de 20 a 25°C (Dhakal *et al.*, 2021; Strange, 2003), los órganos se encuentran completamente formados siendo capaz de producir gametos y gónadas (Colonnello, 2018). En esta etapa se hacen evidentes las diferencias anatómicas entre los dos sexos (Corsi, 2006) culminando esta etapa con un nematodo joven (Dhakal *et al.*, 2021).

En la fase adulta *C. elegans* llega a su tamaño máximo (Colonnello, 2018), toma alrededor de 8 horas esta fase (Dhakal *et al.*, 2021), la cutícula de colágeno está formada y ahora ya es capaz de auto fecundarse (Colonnello, 2018).



Figura 5. Estadios larvales de *C. elegans*. Estadio larval 1 (L1), estadio larval 2 (L2), estadio larval 3 (L3) y estadio larval 4 (L4) (Tomado de Shen et al., 2018).

4.3. Anatomía

El *C. elegans* se caracteriza por tener boca, faringe, intestino, gónadas y cutícula (Figura 6) (Shen *et al.*, 2018). Tiene un cuerpo cilíndrico no segmentado que se estrecha en ambos extremos (Strange, 2003). Su cuerpo se conforma por dos “tubos” concéntricos, el tubo interno consta del sistema digestivo (faringe, intestino y ano), mientras que el tubo exterior se compone de la cutícula, hipodermis, músculos de la pared del cuerpo y sistema nervioso (Corsi, 2006).

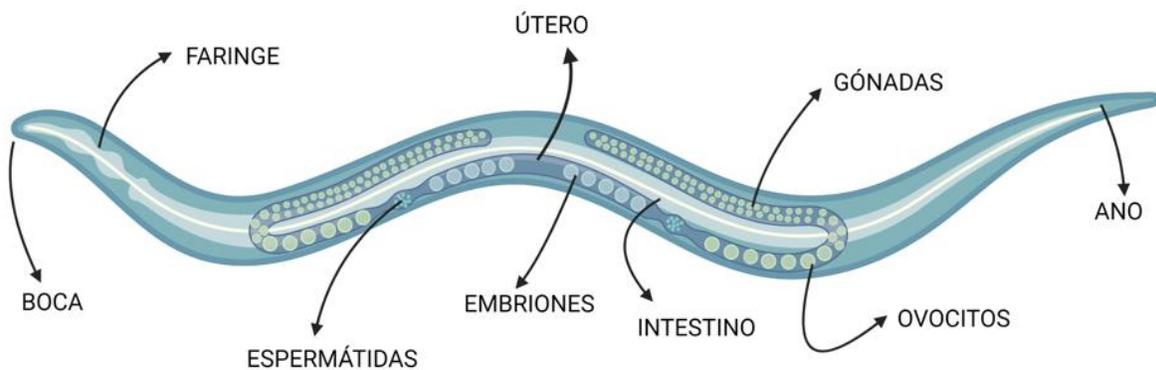


Figura 6. Anatomía de *C. elegans* (Creado con BioRender.com).

Durante su desarrollo el nematodo es encerrado dentro de un exoesqueleto denominado cutícula, que es una matriz extracelular de colágeno que funciona como una barrera impermeable entre *C. elegans* y su entorno (Shen *et al.*, 2018, Colonnello, 2018). La cutícula de colágeno está sustentada por hipodermis, músculos y nervios. Además de una cavidad corporal que separa la pared de los órganos internos (Strange, 2003). Esta cutícula crece sobre las aberturas bucales y anales cuando el nematodo se encuentra en estado dauer, lo que las hace más resistentes a los entornos desfavorables para su desarrollo (Hunt, 2017).

Posee músculos estriados y no estriados, siendo los primeros los de mayor cantidad, encontrándose en bandas longitudinales a lo largo de la pared del cuerpo siendo los responsables de la locomoción. Los no estriados están relacionados a la faringe, el intestino, el ano y el útero hermafrodita, estos son responsables del bombeo faríngeo, la defecación, la ovulación, la fertilización y la puesta de huevos (Strange, 2003).

El sistema nervioso de las hermafroditas consta de 302 neuronas y 56 células gliales y de soporte (Strange, 2003; Carretero *et al.*, 2017), mientras que los machos tienen 381 neuronas y 92 células gliales y de soporte (Strange, 2003). La diferencia del sistema nervioso de los sexos se encuentra en la cola del macho, debido a que esta juega un papel importante en el apareamiento (Strange, 2003). Cuentan con la mayoría de los neurotransmisores relevantes para humanos como: serotonina, acetilcolina, dopamina, ácido γ -aminobutírico (GABA) y glutamato (Wellenberg *et al.*, 2021) (Figura 7).

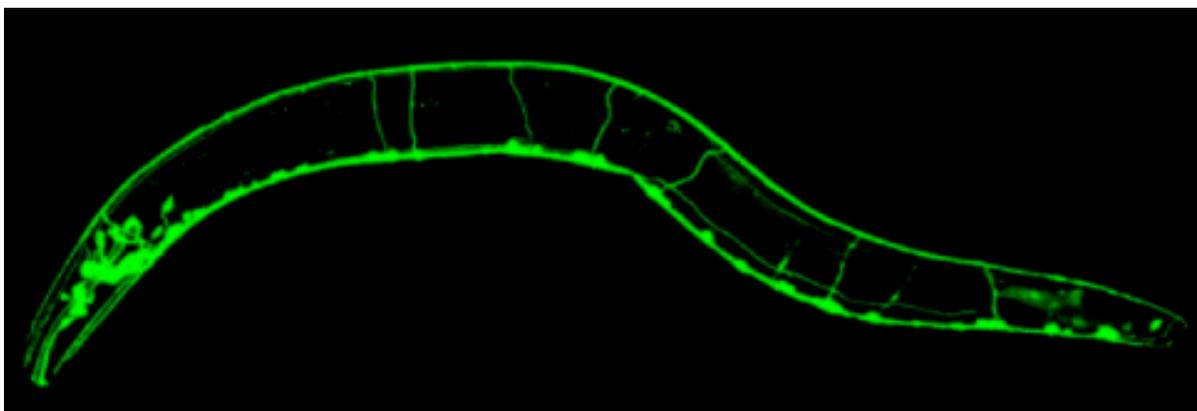


Figura 7. Sistema nervioso de *C. elegans* (Tomado de Dhakal *et al.*, 2021).

Las neuronas se unen en la parte anterior del nematodo en un cerebro primitivo conocido como anillo nervioso (Corsi, 2006). Además, consta de alrededor de 60 neuronas ciliadas

que construyen el sistema sensorial primario que ayudan a mediar estímulos químicos, térmicos o mecánicos del medio en el que se encuentran (Félix & Braendle, 2010; Corsi, 2006).

La boca de un adulto tiene seis labios simétricos que rodean la abertura y forman una cavidad circular de 1 a 3 micrómetros (μm) en la cual se transporta el alimento a la faringe. Se alimenta por medio de una faringe de dos lóbulos, siendo un órgano casi autónomo que tiene un sistema neuronal, músculos y epitelio (Shen *et al.*, 2018).

La faringe está conectada a la del intestino, esta es la responsable de la digestión de alimentos y absorción de nutrientes, así como la síntesis y almacenamiento de macromoléculas. La superficie apical de las células del intestino tiene numerosas vellosidades que permiten aumentar la superficie de absorción (Shen *et al.*, 2018; Strange, 2003).

El contenido del intestino se secreta al exterior a través de la vulva rectal, que conecta al intestino con el recto, el cual se conforma por cinco células epiteliales y ano. Los músculos entéricos que trabajan para la defecación están localizados alrededor del recto e intestino posterior (Shen *et al.*, 2018).

5. Vías de señalización de *C. elegans* relacionadas con estrés oxidante

Los mecanismos moleculares de *C. elegans* que involucran al estrés oxidante son: la vía de la señalización del factor de crecimiento similar a la insulina/insulina-1 (IGF-1) (IIS) y factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide (Nrf2) (Figura 8) (Zhu *et al.*, 2022; Hernández-Cruz *et al.*, 2023).

5.1. Vía IIS

Esta vía se activa en condiciones favorables, lo que permite el correcto desarrollo de *C. elegans* (Hernández-Cruz *et al.*, 2023). La vía comienza cuando el receptor de tirosina cinasa (DAF-2) se activa al unirse al ligando similar a la insulina (ILP), lo que desencadena una cascada de fosforilación, activando la fosfatidilinositol 3-cinasa (AGE-1) para catalizar la formación de fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP₃) a partir de fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato (PIP₂) (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Hernández-Cruz *et al.*, 2023).

Al formarse PIP₃ se activa la proteína cinasa 1 dependiente de 3-fosfoinositol (PDK1) lo que da como resultado la fosforilación y activación de las serinas/treonina cinasas 1 y 2 (AKT-1, AKT-2) y cinasa regulada por suero y glucocorticoides 1 (SGK-1). Como consecuencia DAF-16 [gen homólogo del factor de transcripción forkhead (FOXO) humano], SKN-1 (homólogo de Nrf2) y el factor de transcripción de choque térmico 1 (HSF-1) se inactivan, impidiendo su translocación al núcleo y la regulación transcripcional de efectores involucrados en la resistencia al estrés (Zhu *et al.*, 2022; Hernández-Cruz *et al.*, 2023).

En situaciones no favorables de estrés oxidante, la vía IIS se ve antagonizado por DAF-18, gen homólogo del supresor tumoral humano fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa (PTEN), lo que permite la translocación al núcleo de DAF-16, HSF-1 y SKN-1 (Zhu *et al.*, 2022; Hernández-Cruz *et al.*, 2023), favoreciendo la expresión de genes diana como catalasa (ctl-1), superóxido dismutasa-3 (sod-3), metalotioneína (mtl-1) genes de defensa de bacterias patógenas (lys-7 y spp-1), genes de proteínas de choque térmico (hsp-16.2) y glutatión S-transferasa (gst-4) (Hernández-Cruz *et al.*, 2023; Ayuda-Durán *et al.*, 2020). De igual manera, DAF-16 puede ser activado por el homólogo de histona desacetilasa dependiente de NAD⁺ (SIR-2.1) y el homólogo de cinasa N-terminal c-Jun (JNK-1) (Hernández-Cruz *et al.*, 2023).

5.2. Vía SKN-1

El factor de transcripción SKN-1, regulado por la vía de señalización IIS previamente mencionada, actúa como una proteína protectora esencial. Su función principal es contrarrestar el daño oxidante y garantizar la integridad celular al regular la expresión de genes involucrados en la detoxificación (enzimas de fase II), protección antioxidante (SOD, GST, GPx) y mantenimiento de la homeostasis proteica (chaperonas moleculares, biosíntesis y degradación de proteínas) (Zhu *et al.*, 2022; Ayuda-Durán *et al.*, 2020).

En ausencia de estrés, el factor SKN-1 se localiza constitutivamente en el citoplasma. Cuando el entorno cambia, se trasloca al núcleo tras la fosforilación por PMK-1, aquí se involucra y se activa la cascada de proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK) p38, la MAPK cinasa cinasa (MAPKKK) fosforila a la cinasa SAPK / ERK (SEK-1) así mismo, SEK-1 fosforila al ortólogo de la proteína cinasa 11 activada por mitógeno (PMK-1) y PMK-1

fosforila SKN-1 en Ser74 y Ser340. En consecuencia, cuando SKN-1 se encuentra en el núcleo activa genes inducidos por estrés que codifican a enzimas de detoxificación de fase II, en respuesta al estrés inducido en la célula (Zhu *et al.*, 2022; Ayuda-Durán *et al.*, 2020).

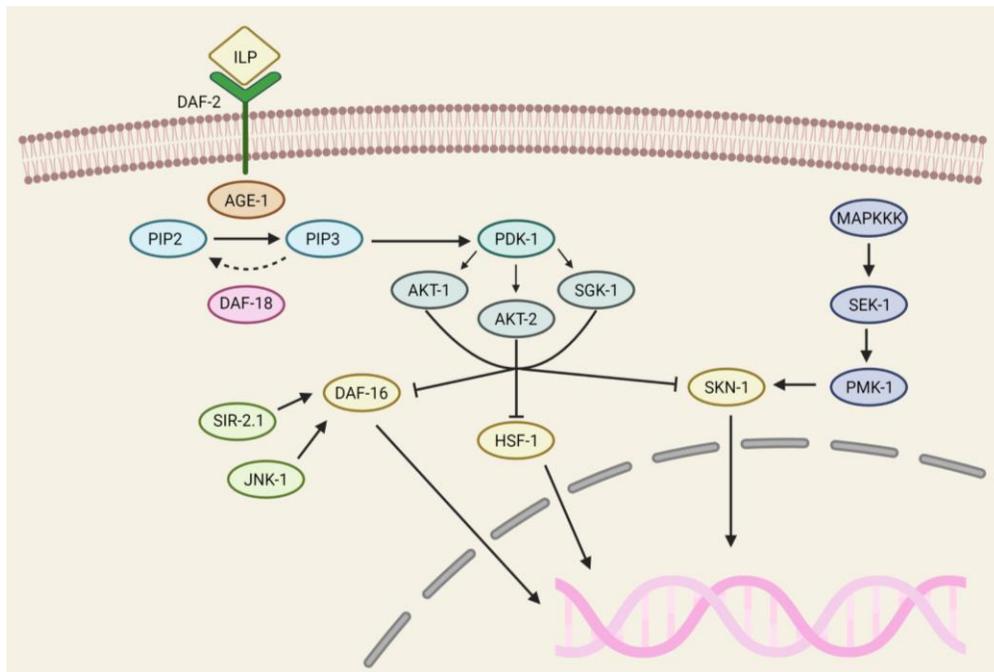


Figura 8. Vías de señalización de *C. elegans* relacionadas con estrés oxidante. DAF-2: receptor de tirosina cinasa, ILP: ligando similar a la insulina, PIP₂: fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato, PIP₃: fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato, DAF-18: gen homólogo del supresor tumoral humano PTEN, AGE-1: fosfatidilinositol 3-cinasa, PDK-1: proteína cinasa 1 dependiente de 3-fosfoinositol, AKT-1: serina treonina cinasa 1, AKT-2; serina treonina cinasa 2. SGK-1: cinasa regulada por suero y glucocorticoides 1, SIR-2.1: homólogo de histona desacetilasa dependiente de NAD⁺, JNK-1: homólogo de cinasa N-terminal c-Jun, DAF-16: gen homólogo del factor de transcripción FOXO humano, SKN-1: homólogo de Nrf2, HSF-1: factor de transcripción de choque térmico 1, PMK-1: ortólogo de la proteína cinasa 11 activada por mitógeno, MAPKKK: MAPK cinasa cinasa y SEK-1: cinasa SAPK / ERK. (Creado con Biorender.com)

6. Determinación de biomarcadores de estrés oxidante en *C. elegans*

Se han llevado a cabo diversas investigaciones utilizando el nematodo *C. elegans* para identificar biomarcadores de estrés oxidante. Estas investigaciones se centran principalmente en la inducción de estrés físico o químico en el organismo, seguido de tratamientos con

diversos compuestos, especialmente aquellos extraídos de diversas partes de las plantas, como hojas, raíces, tallos, frutos y semillas (Hernández-Cruz *et al.*, 2023).

Compuestos químicos como paraquat y juglone se han utilizado en *C. elegans* para generar un ambiente de estrés en el nematodo. El compuesto paraquat o 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridinio (Ling *et al.*, 2022), es un herbicida nitrogenado, utilizado para la protección de los productos agrícolas contra las malas hierbas, puede generar ERO causando daño en órganos, lípidos y ácidos nucleicos (Onur *et al.*, 2022). Por otra parte, el compuesto juglone o 5-hidroxil-1,4-naftoquinona es un compuesto fenólico que se encuentra en las nueces, produce ERO mediante la oxidación de NADPH aumentando el consumo de O₂ y la producción de ERO (Ahmad & Suzuki, 2019).

A continuación, se describen diferentes estudios en los cuales ha sido utilizado *C. elegans* como modelo para la determinación de ERO, enzimas antioxidantes o expresión de genes ante la exposición a diferentes compuestos naturales tras la exposición a factores como temperatura, radiación UV y compuestos químicos como juglone o paraquat.

6.1. Determinación de niveles de ERO

Para evaluar el estado redox en *C. elegans* se han determinado las ERO, para esta evaluación se utilizan reactivos fluorescentes, cada sonda posee diferentes características de reacción por lo que es importante realizar la correcta elección dependiendo de lo que se quiere detectar (Ayuda-Durán *et al.*, 2020). En la Tabla 2 se presentan diferentes sondas que son utilizadas para realizar las determinaciones de ERO, así como su especificidad a ellas (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022).

La sonda de diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA) es comúnmente utilizada para determinar los niveles intracelulares de ERO en *C. elegans* (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Tambara *et al.*, 2018; Qu *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022), en donde el nematodo es inducido a un estrés por calor (Yoon *et al.*, 2018; Ayuda-Durán *et al.*, 2019) o exposición a compuestos tóxicos (Qu *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022). La sonda DCFH-DA puede penetrar fácilmente la membrana celular (Yoon *et al.*, 2018), es desacetilada por esterasas, convirtiendo DCFH-DA en 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFH) el cual se oxida en presencia de ERO a 2',7'-diclorofluoresceína (DCF), este último es un compuesto altamente

MitoTracker Red	Oxidación de la forma reducida al colorante rojo-fluorescente	Especialmente H ₂ O ₂	Mala detección de otras ERO.
MitoSOX	El dihidroetidio (DHE) es oxidado por O ₂ ^{•-} a la forma de etidio fluorescente.	Principalmente O ₂ ^{•-}	Posible reacción con componentes celulares como el citocromo c.
Amplex Red	Formación de resorufina fluorescente tras la oxidación de 10-acetil-3,7-dihidroxi-fenoxazina.	H ₂ O ₂	Interferencia de reductores como glutatión o nicotinamida adenina dinucleótido (NADH). Sin detección de H ₂ O ₂ intracelular.

DCFH-DA: diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína, DCF: 2',7'-diclorofluoresceína, H₂O₂: peróxido de hidrógeno, •OH: radical hidroxilo, ROO•: grupos peroxilo, NO•: óxido nítrico, HClO: ácido hipocloroso, O₂^{•-}: anión superóxido, ERO: especies reactivas de oxígeno, DHE: dihidroetidio, NADH: nicotinamida adenina dinucleótido.

6.2. Determinación de niveles de glutatión

La detección de GSH en *C. elegans* se puede evaluar mediante el reactivo de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB) el cual reacciona con GSH para producir el cromóforo amarillo ácido 5-mercapto-2-nitrobenzoico (TNB) que se puede medir por espectrometría a 412 nm (nanómetros) (Figura 10) (Urban *et al.*, 2017; Caito & Aschner, 2015). El uso de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es otro método utilizado para analizar GSH después de la derivatización con ortoftaldehído (OPT), el cual produce un producto fluorescente que se cuantifica a 420 nm (Figura 11) (Forman *et al.*, 2009; Urban *et al.*, 2017).

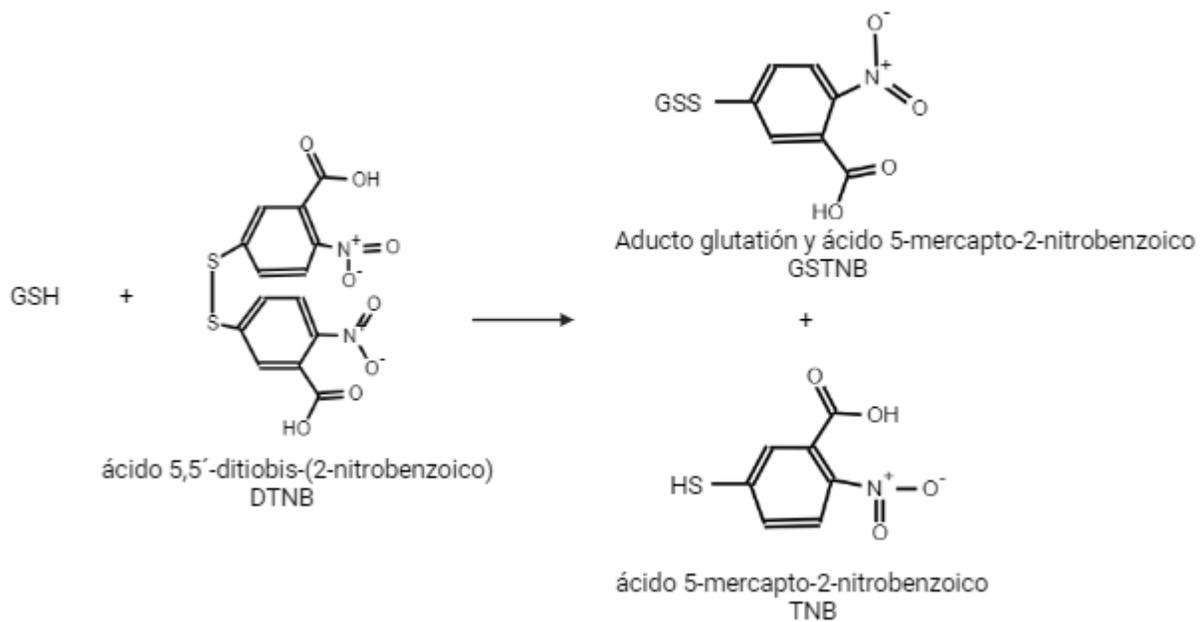


Figura 10. Reacción de glutatión (GSH) con ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (DTNB)
 GSTNB: aducto glutatión y ácido-5-mercapto-2-nitrobenzoico, TNB: ácido 5-mercapto-2-nitrobenzoico (Tomado de Rover *et al.*, 2001).

Por otro lado, Hsu y sus colegas (2012) sometieron al nematodo a extracto de *Cinnamomum osmophloeum* para evaluar la expresión del gen *gst-4* en respuesta al estrés inducido por juglone. Observaron una mayor resistencia al estrés, así como un aumento en la expresión de *gst-4* y *sod-3* (Hsu *et al.*, 2012).

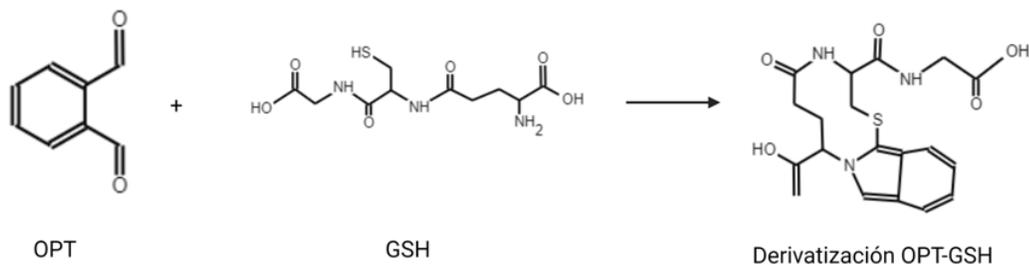


Figura 11. Reacción de derivatización de glutatión (GSH) con orto-ftaldehído (OPT)
 (Tomado de Forman *et al.*, 2009).

6.3. Evaluación del daño de moléculas biológicas

6.3.1. Oxidación de proteínas

Las ERO pueden causar la pérdida de la actividad catalítica de enzimas, daños en la integridad estructural de proteínas o interrumpir la regulación de vías metabólicas. Los efectos se basan en la oxidación de residuos de aminoácidos, rompimiento de enlaces peptídicos y la agregación de proteínas (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006).

Las proteínas son el principal objetivo de las ERO (Labuschagne & Brenkman, 2013a), la carbonilación es una de las formas irreversibles del daño a proteínas en cadenas laterales de aminoácidos específicos como: lisina, prolina, arginina y treonina (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Dalle-Donne *et al.*, 2003; Valko *et al.*, 2007), esta carbonilación también se puede propagar mediante la adición de aldehídos derivados de la peroxidación lipídica (Labuschagne & Brenkman, 2013a).

Determinar la carbonilación de proteínas ha sido comúnmente utilizada para evaluar el daño de las ERO en *C. elegans* (Labuschagne & Brenkman, 2013a). La reacción con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) es uno de los métodos más utilizados, la reacción da como resultado la formación de 2,4-dinitrofenol (DNP), el cual se puede medir por espectrofotometría a 370 nm (Figura 12) (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Labuschagne & Brenkman, 2013a; Van Raamsdonk & Hekimi, 2010; Tambara *et al.*, 2018). Este método fue utilizado por Peixoto y colaboradores (2019), obteniendo como resultado la disminución de la cantidad de proteínas carboniladas tras la inducción de estrés oxidante al nematodo por medio de juglone para evaluar el efecto antioxidante de extractos de *Calycophyllum spruceanum* (Peixoto *et al.*, 2019).

También se puede realizar la determinación mediante un ensayo inmunológico utilizando un estuche comercial: Oxyblot; el cual realiza la separación de las proteínas que fueron derivatizadas con DNPH por electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE), seguido de un inmunoensayo por Western blot (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Surco-Laos *et al.*, 2011).

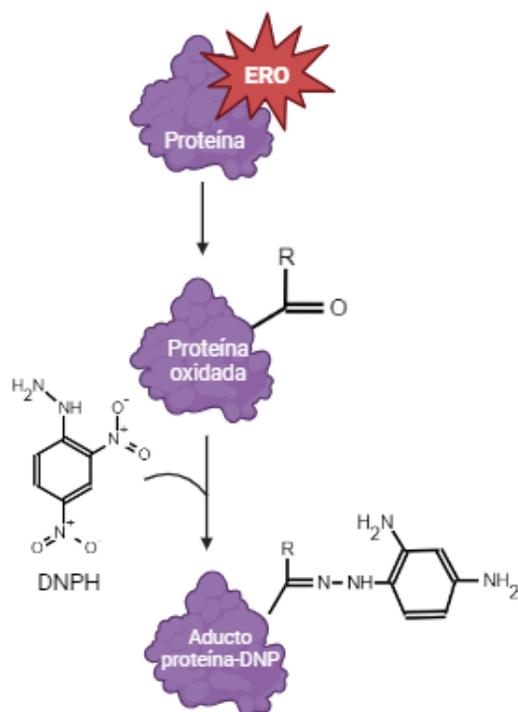


Figura 12. Reacción de 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) con proteínas oxidadas. ERO: especies reactivas de oxígeno, DNP: 2,4 dinitrofenol. (Modificado de Labuschagne & Brenkman, 2013a) (Creado con BioRender.com).

Las proteínas de choque térmico (HSP) son biomarcadores que se expresan en células que han sido estresadas mediante la exposición a factores térmicos y oxidantes, altamente inducibles durante la exposición a prooxidantes (Abbas & Wink; 2014), son un mecanismo de defensa antioxidante que sirve para proteger y reparar el daño, previniendo la agregación y el mal plegamiento de proteínas en la célula (Sobeh *et al.*, 2017b).

La expresión de la proteína hsp-16.2 en la faringe de *C. elegans* se puede realizar mediante la cuantificación de la fluorescencia de la GFP que esta acoplada a este gen (Abbas & Wink, 2014).

En su investigación sobre las propiedades antioxidantes de *Turrea fischeri*, Sobeh y su equipo (2017b) expusieron *C. elegans* al extracto de la planta y luego indujeron estrés mediante juglone. Descubrieron que la expresión de HSP disminuyó en relación con la dosis del extracto al que se expuso el nematodo.

Por otra parte, Abbas y colaboradores (2014) expusieron a *C. elegans* a un extracto de té verde para su posterior exposición a juglone. Para inducir estrés oxidante, se evaluó la

expresión de *hsp-16.2* mediante la observación directa de la fluorescencia de la proteína GFP en la faringe. Se observó una disminución de aproximadamente el 68.43% en la fluorescencia de los nematodos tratados con el extracto en comparación con el grupo control no expuesto al extracto (Figura 13). Además, se observó un aumento en la resistencia al estrés inducido por juglone (Abbas & Wink, 2014).

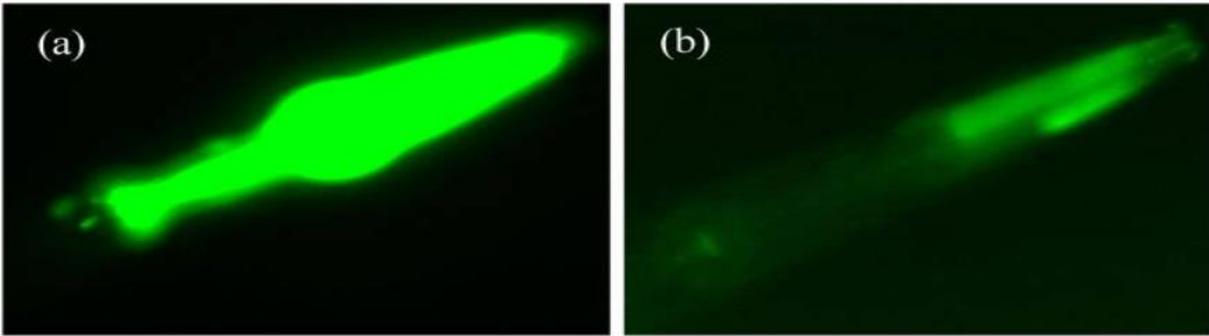


Figura 13. Imágenes representativas de evaluaciones realizadas con cepas GFP. En el experimento llevado a cabo por Abbas y Wink (2014), se midió la fluorescencia de la cepa TJ375 (*hsp-16.2*/GFP) en respuesta al tratamiento con juglona. La imagen (a) muestra la fluorescencia del grupo de control, mientras que la imagen (b) muestra la fluorescencia tras el tratamiento con extracto de té verde. (Imagen tomada de Abbas y Wink, 2014)

6.3.2. Peroxidación lipídica

Los lípidos son componentes esenciales que mantienen la estructura morfológica y los procesos biológicos de las membranas celulares. El ataque de las ERO a los lípidos está relacionado con diferentes estados patológicos, como diabetes, hipertensión, lesión renal, accidentes cerebrovasculares, etc. (Zhu *et al.*, 2022).

La lipoperoxidación es el daño principal que producen las ERO en los lípidos (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006). Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) son altamente sensibles a la oxidación, lo que permite la formación de ROO[•] los cuales se separan en moléculas más pequeñas como: malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) que son utilizados como biomarcadores de estrés oxidante (Figura 14) (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Valko *et al.*, 2007, Brahma *et al.*, 2021).

En altos niveles estas moléculas son consideradas citotóxicas (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006, Petersen & Doorn, 2004; Ayyadevara *et al.*, 2005), debido a que

funcionan como agentes electrofílicos que interactúan con proteínas y ADN, teniendo como consecuencia la alteración en la estructura de la membrana, afectando la fluidez y la integridad (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006). Los aductos entre 4-HNE y las proteínas, se pueden evaluar mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) competitivo utilizando un anticuerpo policlonal (Ayyadevara *et al.*, 2005). También, los valores de MDA pueden ser cuantificados mediante la reacción con ácido 2-tiobarbiturico (TBA), en la cual se produce un aducto que se lee en un rango de 532-535 nm (Papastergiadis *et al.*, 2012).

Por otra parte, Ayuda-Durán y colaboradores (2019), expusieron a *C. elegans* a choques térmicos para la inducción de estrés oxidante y de esta manera evaluar el efecto antioxidante de epicatequinas (flavonoides abundantes en frutas, té, cacao y vino tinto). Determinaron mediante técnica de HPLC después de la derivatización con DNPH y una detección con espectrofotometría de masas la cantidad de 4-HNE y MDA en el nematodo, obteniendo una disminución en la cantidad de estos biomarcadores, concluyeron que este flavonoide confiere una mejor resistencia al estrés oxidante (Ayuda-Durán *et al.*, 2019).

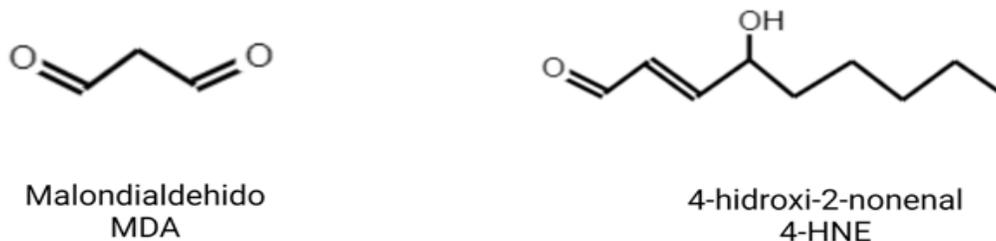


Figura 14. Estructura química del malondialdehído (MDA) y 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) (Creado con Biorender.com).

La lipofuscina es otro biomarcador utilizado para evaluar la oxidación de lípidos (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022). Este pigmento tiene una composición heterogénea que consiste principalmente en proteínas oxidadas, que pueden estar entrecruzadas por productos de peroxidación lipídica, como 4-HNE, y diferentes componentes lipídicos. En un proceso normal de envejecimiento, la lipofuscina se acumula, lo que le confiere la denominación de pigmento de la edad, es considerado el mejor biomarcador del envejecimiento celular (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Vayndorf *et al.*, 2013; Wilson *et al.*, 2006). El método para detectar la lipofuscina se basa en la observación de su autofluorescencia

mediante microscopía (Ayuda-Durán *et al.*, 2020), se ha utilizado este biomarcador en estudios de evaluación de toxicidad de diferentes compuestos como: hexabromociclododecano (Wang *et al.*, 2018), lindano (Yu *et al.*, 2020), fungicidas (Liu *et al.*, 2022), por mencionar algunos.

Los isoprostanos son productos finales de peroxidación de lípidos no enzimáticos químicamente estables derivados de PUFA (Labuschagne & Brenkman, 2013a). Diferentes PUFA conducen a la formación de diferentes isoprostanos (Labuschagne & Brenkman, 2013a, Ayuda *et al.*, 2020). En *C. elegans*, el PUFA predominante es el ácido eicosapentaenoico (EPA) que lleva a la formación de F3-isoprostanos (Labuschagne & Brenkman, 2013a, Labuschagne *et al.*, 2013b). El método para detectar los niveles de F3-isoprostanos se caracteriza por ser específico, sensible, preciso y lineal, permitiendo la cuantificación de los niveles endógenos del daño oxidante, este método se basa en la dilución de isotopos estables basados en espectrometría de masas (Labuschagne *et al.*, 2013b).

6.3.3. Daño en el ADN

En presencia de ERO, el ADN se fracciona, apareciendo fragmentos internucleosomales. Estos se forman por la ruptura del ADN entre los nucleosomas, dando como consecuencia problemas en la compactación y enrollamiento del material genético dentro de la cromatina, alterando su función en la regulación de la transcripción génica (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006).

Cuando la ERO reaccionan con el ADN puede desarrollar mutaciones que resultan en carcinogénesis, apoptosis o necrosis (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006). El daño del ADN inducido por estrés oxidante está implicado con el envejecimiento y enfermedades comunes en las que se incluye cáncer y trastornos neurodegenerativos (Arczewska *et al.*, 2011; Labuschagne & Brenkman, 2013a; Meyer *et al.*, 2007).

Los daños que se pueden generar al ADN incluyen modificaciones a las bases o roturas de una o doble hebra (Zhu *et al.*, 2022). Entre los mecanismos que reparan el daño, la escisión de bases es el más importante; sin embargo, cuando la modificación afecta regiones más extensas, se lleva a cabo la escisión de nucleótidos, removiendo todo el segmento a través de una nucleasa para finalmente ser remplazado por la ADN polimerasa I y la ligasa

(Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006; Meyer *et al.*, 2007). Entre las ERO, el $\cdot\text{OH}$ es el radical que tiene mayor impacto en el ADN (Fleming & Burrows, 2020). Se produce principalmente a partir de la reacción de Fenton (Halliwell, 2006):



La lesión en ADN más estudiada y cuantificada es la formación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) (Figura 15) (Valko *et al.*, 2007; Labuschagne & Brenkman, 2013a). El 8-OHdG se puede medir mediante HPLC, detección electroquímica, espectrometría de masas en tándem y ELISA (Zhu *et al.*, 2022; Labuschagne & Brenkman, 2013a; Ayuda-Durán *et al.*, 2020).



Figura 15. Daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) por las especies reactivas de oxígeno (ERO). 8-OHdG: 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (Creado con BioRender.com).

Sin embargo, el daño en el ADN también se puede determinar mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa. Se basa en las lesiones ocasionadas al ADN obstaculizan la progresión del ADN polimerasa, lo que da como resultado una disminución de la amplificación del ADN, de modo que la cantidad de producto de PCR, en comparación con cantidades iguales de ADN no tratado, es inversamente proporcional a la extensión del daño en el ADN (Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Meyer *et al.*, 2007).

De igual manera, por medio de esta técnica se pueden cuantificar la expresión de los genes que codifican a enzimas antioxidantes que sirven como defensa de los organismos al estrés inducido por diferentes factores (Wilson *et al.*, 2006).

Wilson y sus colegas (2006) llevaron a cabo un análisis de los efectos antioxidantes de los arándanos (*Vaccinium angustifolium*). Utilizando la técnica de PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR), encontraron que la expresión de los genes que codifican la proteína HSP disminuyó después de ser inducidos al estrés mediante la exposición al paraquat y al calor.

7. *C. elegans* como modelo para evaluar estrés oxidante

A continuación, en la Tabla 3 se presentan diferentes investigaciones en donde fue utilizado *C. elegans* como modelo para evaluar los efectos de compuestos naturales sobre el estrés inducido por diferentes factores físicos y químicos en el nematodo, así como los resultados obtenidos en cada una de estas investigaciones revisadas.

Tabla 3. Revisión de estudios del uso de *C. elegans* como modelo para evaluar estrés oxidante.

Extracto utilizado	Estrés inducido	Resultados obtenidos	Referencia
Orujo de uva	Exposición a temperaturas de 35°C.	Disminución de la cantidad de ERO y aumento de supervivencia.	Jara-Palacios <i>et al.</i> , 2013
<i>Camellia sinensis</i>	Exposición a altas concentraciones de cloruro de sodio, temperatura de 35°C y radiación UV.	Resistencia al estrés inducido, incremento de la actividad de GSH-PX y expresión de sod-3. Disminución de la cantidad de ERO.	Xiong <i>et al.</i> , 2014
Hojas de <i>Myrciaria tenella</i>	Exposición a hidroperóxido de terc-butilo (t-BOOH).	Disminución de la cantidad de ERO.	Ribeiro <i>et al.</i> , 2019
Raiz de <i>Cassia abbreviata</i>	Exposición a juglone.	Resistencia al estrés inducido, disminución de ERO y expresión de HSP-16.2, translocación de DAF-16.	Sobeh <i>et al.</i> , 2018

<i>Senna singueana</i>	Exposición a juglone.	Resistencia al estrés inducido, disminución de la cantidad de ERO y la translocación de DAF-16.	Sobeh <i>et al.</i> , 2017a
<i>Turraea fischeri</i>	Exposición a juglone.	Disminución de la cantidad de ERO y la expresión de HSP-16.2, así como la translocación de DAF-16.	Sobeh <i>et al.</i> , 2017b
<i>Arctium lappa</i>	Exposición a juglone.	Resistencia al estrés inducido, disminución de la cantidad de ERO y la expresión de HSP-16.2, así como la translocación de DAF-16.	Su & Wink, 2015
<i>Aspalathus linearis</i>	Exposición a juglone.	Disminución de la cantidad de ERO y la expresión de HSP-16.2, así como aumento de la expresión de <i>daf-16</i> y <i>sod-3</i> .	Chen <i>et al.</i> , 2013a
Resveratrol	Exposición a juglone y concentraciones altas de glucosa.	Disminución de la expresión de HSP-16.2, aumento de vida útil, resistencia al estrés inducido por glucosa	Chen <i>et al.</i> , 2013b
Galato de epigallocatequina	Exposición a juglone	Disminución de la cantidad de H ₂ O ₂ y expresión de HSP-16.2.	Abbas <i>et al.</i> , 2009
<i>Spinacia oleracea</i>	Exposición a juglone.	Aumento de vida útil y expresión de <i>sod-3</i> , resistencia al estrés inducido. Además de la disminución de la expresión de HSP-16.2 y la translocación de DAF-16.	Wang & Wink, 2016
<i>Bacopa monnieri</i>	Exposición a temperatura y paraquat.	Aumento de vida útil y expresión de HSP-16.2, disminución de la cantidad de ERO.	Phulara <i>et al.</i> , 2015

Curcumina	Exposición a temperaturas de 35°C y juglone.	Aumento de vida útil, disminución de la cantidad de ERO y lipofuscina.	Liao <i>et al.</i> , 2011
Frutas de <i>Euterpe precatoria</i>	Exposición a juglone	Disminución de la cantidad de ERO y en la expresión de HSP-16.2. Aumento en la expresión de sod-3 y translocación de DAF-16.	Peixoto <i>et al.</i> , 2016
Luteína	Microcistina (hepatotoxina)	Disminución de la expresión de <i>hsp-16.2</i> y aumento en la expresión de SOD.	Augusti <i>et al.</i> , 2017
<i>Vaccinium angustifolium</i>	Exposición a temperatura y paraquat.	Disminución de niveles de lipofuscina y 4-HNE.	Wilson <i>et al.</i> , 2006
Extractos de manzana verde	Exposición a temperatura, paraquat, radiación UV.	Aumento de vida útil y resistencia al estrés inducido así como la disminución de niveles de lipofuscina.	Vayndorf <i>et al.</i> , 2013
Galato de epigallocatequina extraída de té verde	Exposición a temperatura y juglone.	Resistencia al estrés inducido, disminución de ERO, mayor expresión de <i>sod-3</i> , <i>hsp-16.2</i> , <i>daf-16</i> y <i>skn-1</i>	Zhang <i>et al.</i> , 2009
Teanina de té verde	Exposición a temperatura.	Mayor expresión de <i>hsp-16.2</i> .	Gong <i>et al.</i> , 2012
<i>Spinacia oleracea L.</i>	Exposición a temperatura y juglone.	Resistencia al estrés inducido.	Fan <i>et al.</i> , 2011

Teanina de té verde	Exposición a paraquat.	Resistencia al estrés inducido y aumento en vida útil.	Zarse <i>et al.</i> 2012
<i>Achyrocline flaccida</i>	Exposición a juglone.	Disminución de la cantidad de ERO.	Machado <i>et al.</i> , 2022
<i>Rosa roxburghii</i>	Exposición a paraquat.	Aumento de vida útil, disminución de la cantidad de ERO y mayor actividad de SOD y CAT	Huang <i>et al.</i> 2022
<i>Styphnolobium japonicum</i>	Exposición a juglone	Resistencia al estrés inducido, disminución de la cantidad de ERO y HSP-16. Aumento de la actividad de sod-3.	Thabit <i>et al.</i> , 2019
<i>Cassia fistula</i>	Exposición a juglone.	Disminución de la cantidad de ERO y expresión de GST-4, translocación de DAF-16, mayor expresión de sod-3.	Thabit <i>et al.</i> , 2018
<i>Endopleura uchi</i>	Exposición a juglone	Resistencia al estrés inducido, mayor expresión de sod-3 y disminución de la cantidad de HSP-16.2	Peixoto <i>et al.</i> , 2019
<i>Calycophyllum spruceanum</i>	Exposición a juglone.	Resistencia al estrés inducido, disminución de la cantidad de ERO y cantidad de HSP-16.2.	Peixoto <i>et al.</i> 2018
<i>Ilex paraguariensis</i>	Exposición a paraquat.	Aumento de vida útil, translocación de DAF-16, disminución de la cantidad de ERO.	Lima <i>et al.</i> , 2014
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i>	Exposición a paraquat, temperatura y UV	Aumento de vida útil y resistencia al estrés inducido.	Park <i>et al.</i> , 2014

<i>Polygonum multiflorum</i>	Exposición a paraquat.	Resistencia al estrés inducido, translocación de DAF-16, aumento de vida útil y disminución de niveles de lipofuscina	Saier <i>et al.</i> , 2018
------------------------------	------------------------	---	----------------------------

ERO: especies reactivas de oxígeno, UV: ultravioleta, sod-3: gen superóxido dismutasa-3, BOOH: hidroperóxido de terc-butilo, HSP-16.2: gen de proteínas de choque térmico, DAF-16: gen homólogo del factor de transcripción FOXO humano, H₂O₂: peróxido de hidrógeno, SOD: superóxido dismutasa, 4-HNE: 4-hidroxi-2-nonenal, skn-1: homólogo de Nrf2, CAT: catalasa, GST-4: gen glutatión S-transferasa.

8. Discusión

A pesar de ser un animal que se puede considerar sencillo, *C. elegans* ha sido utilizado como modelo en diferentes investigaciones, entre ellas se incluye su uso para evaluar marcadores de estrés oxidante. Este nematodo posee características que lo han convertido en un valioso modelo de investigación, su ciclo de vida corto (Zeng & Feng, 2020; Zhu *et al.*, 2022) ha permitido obtener respuestas a cada una de las investigaciones en menor tiempo (Zheng & Greenway, 2012), además al desarrollarse en condiciones normales de laboratorio (Ayuda-Durán *et al.*, 2020), no requiere de algún tratamiento o condición especial, lo que permite disminuir costos en las investigaciones gracias a estas características.

Por otra parte, al ser un gusano transparente en todo su ciclo de vida (Mayoral *et al.*, 2017; Hunt, 2017), permite visualizar estructuras internas usando marcadores fluorescentes (Kaletta & Hengartner, 2006; Ayuda-Durán *et al.*, 2020; Corsi *et al.*, 2015) sin la necesidad de que se realice algún tratamiento que resulte invasivo en el nematodo.

Dentro de su anatomía se conforma por boca, sistema digestivo, nervioso y gónadas (Shen *et al.*, 2018; Corsi, 2006), dentro de esta característica se puede encontrar una limitante debido a que no se podría conocer el efecto que tienen los compuestos en otros órganos y algunas de las investigaciones podrían resultar limitadas. Sin embargo, *C. elegans* no deja de ser un excelente modelo para realizar investigaciones que pueden llegar a ser útiles para el tratamiento de patologías que han sido relacionadas con el estrés oxidante (Cárdenas-Rodríguez & Pedraza-Chaverri, 2006).

Durante esta revisión se encontró que factores físicos como la temperatura, la radiación UV o la exposición a compuestos químicos como juglone y paraquat, pueden inducir estrés en el nematodo, lo que ha permitido evaluar y conocer los efectos que tienen diferentes compuestos provenientes de productos naturales como hojas, tallos o plantas, dentro de las investigaciones descritas se han obtenido respuesta a los efectos que tiene sobre el estrés de compuestos naturales como *Camellia sinensis* (Xiong *et al.*, 2014), hoja de *Myrciaria tenella* (Ribeiro *et al.*, 2019), *Calycophyllum spruceanum* (Peixoto *et al.* 2018) o *Polygonum multiflorum* (Saier *et al.*, 2018) por mencionar algunos.

Dentro de los resultados obtenidos por diferentes autores al utilizar a *C. elegans* como modelo se puede encontrar la translocación de DAF-16 al núcleo, una mayor resistencia, disminución de cantidad de ERO, así como aumento en la expresión de enzimas antioxidantes.

El aumento de la cantidad de ERO se ha relacionado con diferentes procesos patológicos (Lushchak, 2014; Ma, 2010), por lo que contar con un modelo con las características que posee *C. elegans* puede abrir oportunidades de desarrollo para la investigación y desarrollo de tratamientos para estas patologías.

9. Conclusión y direcciones futuras

El empleo de *C. elegans* como modelo experimental ha propiciado avances significativos en la comprensión del impacto de compuestos naturales en la respuesta al estrés oxidativo. Las notables características de este organismo, incluyendo su ciclo de vida corto, su facilidad de manipulación genética y su alta conservación de vías metabólicas clave, lo posicionan como una herramienta prometedora en la investigación de moléculas con potencial terapéutico para enfermedades relacionadas con el estrés oxidante. Los resultados obtenidos hasta la fecha respaldan la eficacia de este modelo en la identificación de compuestos antioxidantes y en la elucidación de los mecanismos subyacentes a su actividad protectora. Estos hallazgos no solo contribuyen al conocimiento básico de la biología del estrés oxidante, sino que también abren nuevas perspectivas en el desarrollo de terapias para diversas patologías asociadas con este fenómeno, como enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y el envejecimiento.

10. Referencias

1. Abbas, S., & Wink, M. (2014). Green Tea Extract Induces the Resistance of *Caenorhabditis elegans* against Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 3(1), 129–143. <https://doi.org/10.3390/antiox3010129>
2. Abbas, S., & Wink, M. (2009). Epigallocatechin gallate from green tea (*Camellia sinensis*) increases lifespan and stress resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Planta medica*, 75(3), 216–221. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088378>
3. Ahmad, T., & Suzuki, Y. J. (2019). Juglone in Oxidative Stress and Cell Signaling. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(4), 91. <https://doi.org/10.3390/antiox8040091>
4. Augusti, P. R., Brasil, A. V. S., Souto, C., Göethel, G., de Oliveira Rios, A., Emanuelli, T., Bürger, M. E., & Garcia, S. C. (2017). Microcystin-LR exposure induces oxidative damage in *Caenorhabditis elegans*: Protective effect of lutein extracted from marigold flowers. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 109(Pt 1), 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.045>
5. Arczewska, K. D., Baumeier, C., Kassahun, H., Sengupta, T., Bjørås, M., Kuśmierk, J. T., & Nilsen, H. (2011). *Caenorhabditis elegans* NDX-4 is a MutT-type enzyme that contributes to genomic stability. *DNA repair*, 10(2), 176–187. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2010.10.009>
6. Ayyadevara, S., Engle, M. R., Singh, S. P., Dandapat, A., Lichti, C. F., Benes, H., Shmookler Reis, R. J., Liebau, E., & Zimniak, P. (2005). Lifespan and stress resistance of *Caenorhabditis elegans* are increased by expression of glutathione transferases capable of metabolizing the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal. *Aging cell*, 4(5), 257–271. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2005.00168.x>
7. Ayuda-Durán, B., González-Manzano, S., Miranda-Vizueté, A., Dueñas, M., Santos-Buelga, C., & González-Paramás, A. M. (2019). Epicatechin modulates stress-resistance in *C. elegans* via insulin/IGF-1 signaling pathway. *PloS one*, 14(1), e0199483. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199483>

8. Ayuda-Durán, B., González-Manzano, S., González-Paramás, A. M., & Santos-Buelga, C. (2020). *Caenorhabditis elegans* as a Model Organism to Evaluate the Antioxidant Effects of Phytochemicals. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(14), 3194. <https://doi.org/10.3390/molecules25143194>
9. Baumeister, R., & Ge, L. (2002). The worm in us - *Caenorhabditis elegans* as a model of human disease. *Trends in biotechnology*, 20(4), 147–148. [https://doi.org/10.1016/s0167-7799\(01\)01925-4](https://doi.org/10.1016/s0167-7799(01)01925-4)
10. Blackwell, T. K., Steinbaugh, M. J., Hourihan, J. M., Ewald, C. Y., & Isik, M. (2015). SKN-1/Nrf, stress responses, and aging in *Caenorhabditis elegans*. *Free radical biology & medicine*, 88(Pt B), 290–301. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.008>
11. Brahma, M. K., Gilgioni, E. H., Zhou, L., Trépo, E., Chen, P., & Gurzov, E. N. (2021). Oxidative stress in obesity-associated hepatocellular carcinoma: sources, signaling and therapeutic challenges. *Oncogene*, 40(33), 5155–5167. <https://doi.org/10.1038/s41388-021-01950-y>
12. Brenner S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 77(1), 71–94. <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>
13. Brooks, K. K., Liang, B., & Watts, J. L. (2009). The influence of bacterial diet on fat storage in *C. elegans*. *PloS one*, 4(10), e7545. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007545>
14. Caito, S. W., & Aschner, M. (2015). Quantification of Glutathione in *Caenorhabditis elegans*. *Current protocols in toxicology*, 64(618), 6.18.1–6.18.6. <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0618s64>
15. Calvo, D., Martorell, P., Genovés, S. & Gosálbez, L. (2016). Development of novel functional ingredients: Need for testing systems and solutions with *Caenorhabditis elegans*. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 54: 197-203 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.006>

16. Carranza-García, E., & Navarro, R. E. (2020). Insights Into the Hypometabolic Stage Caused by Prolonged Starvation in L4-Adult *Caenorhabditis elegans* Hermaphrodites. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 124. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00124>
17. Carretero, M., Solis, G. M., & Petrascheck, M. (2017). *C. elegans* as Model for Drug Discovery. *Current topics in medicinal chemistry*, 17(18), 2067–2076. <https://doi.org/10.2174/1568026617666170131114401>
18. Cárdenas-Rodríguez, N. & Pedraza-Chaverri J. (2006). Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educación Química*. 17 (2): 164-173 <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2006.2.66056>
19. Chen, W., Sudji, I. R., Wang, E., Joubert, E., van Wyk, B. E., & Wink, M. (2013a). Ameliorative effect of aspalathin from rooibos (*Aspalathus linearis*) on acute oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 20(3-4), 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.10.006>
20. Chen, W., Rezaizadehnajafi, L., & Wink, M. (2013b). Influence of resveratrol on oxidative stress resistance and life span in *Caenorhabditis elegans*. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 65(5), 682–688. <https://doi.org/10.1111/jphp.12023>
21. Colonnello, G. A. (2018). "Análisis comparativo del efecto protector del extracto acuoso de caña de azúcar vs ácido ferúlico en *C. elegans*". (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/290527>
22. Corsi A. K. (2006). A biochemist's guide to *Caenorhabditis elegans*. *Analytical biochemistry*, 359(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.07.033>
23. Corsi, A. K., Wightman, B., & Chalfie, M. (2015). A Transparent Window into Biology: A Primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 200(2), 387–407. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.176099>

24. Culetto, E., & Sattelle, D. B. (2000). A role for *Caenorhabditis elegans* in understanding the function and interactions of human disease genes. *Human molecular genetics*, 9(6), 869–877. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.6.869>
25. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., & Colombo, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 329(1-2), 23–38. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(03\)00003-2](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(03)00003-2)
26. Dhakal, R., Yosofvand, M., Yavari, M., Abdulrahman, R., Schurr, R., Moustaid-Moussa, N., & Moussa, H. (2021). Review of Biological Effects of Acute and Chronic Radiation Exposure on *Caenorhabditis elegans*. *Cells*, 10(8), 1966. <https://doi.org/10.3390/cells10081966>
27. Engleman, E. A., Katner, S. N., & Neal-Beliveau, B. S. (2016). *Caenorhabditis elegans* as a Model to Study the Molecular and Genetic Mechanisms of Drug Addiction. *Progress in molecular biology and translational science*, 137, 229–252. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.10.019>
28. Fan, D., Hodges, D. M., Zhang, J., Kirby, C. W., Ji, X., Lockec, S. J., Critchley, A. T., & Prithiviraj, B. (2011). Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. *Food Chemistry*, 124(1), 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.008>
29. Félix, M. A., & Braendle, C. (2010). The natural history of *Caenorhabditis elegans*. *Current biology: CB*, 20(22), R965–R969. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.09.050>
30. Ferguson, G. D., & Bridge, W. J. (2019). The glutathione system and the related thiol network in *Caenorhabditis elegans*. *Redox biology*, 24, 101171. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101171>
31. Feng, S., Zhang, C., Chen, T., Zhou, L., Huang, Y., Yuan, M., Li, T., & Ding, C. (2021). Oleuropein Enhances Stress Resistance and Extends Lifespan via Insulin/IGF-1 and

- SKN-1/Nrf2 Signaling Pathway in *Caenorhabditis elegans*. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 10(11), 1697. <https://doi.org/10.3390/antiox10111697>
32. Fielenbach, N., & Antebi, A. (2008). C. elegans dauer formation and the molecular basis of plasticity. *Genes & development*, 22(16), 2149–2165. <https://doi.org/10.1101/gad.1701508>
33. Finkel T. (2011). Signal transduction by reactive oxygen species. *The Journal of cell biology*, 194(1), 7–15. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102095>
34. Fleming, A. M., & Burrows, C. J. (2020). On the irrelevancy of hydroxyl radical to DNA damage from oxidative stress and implications for epigenetics. *Chemical Society reviews*, 49(18), 6524–6528. <https://doi.org/10.1039/d0cs00579g>
35. Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular aspects of medicine*, 30(1-2), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>
36. Gong, Yushun; Luo, Yunfeng; Huang, Jian-an; Zhang, Jianwei; Peng, Yuxuan; Liu, Zhonghua; Baolu, Zhao (2012). *Theanine improves stress resistance in Caenorhabditis elegans*. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 988–993. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.04.005>
37. Gómez-Orte, E., Cornes, E., Zheleva, A., Sáenz-Narciso, B., de Toro, M., Iñiguez, M., López, R., San-Juan, J. F., Ezcurra, B., Sacristán, B., Sánchez-Blanco, A., Cerón, J., & Cabello, J. (2017). Effect of the diet type and temperature on the *C. elegans* transcriptome. *Oncotarget*, 9(11), 9556–9571. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23563>
38. Halliwell B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141(2), 312–322. <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>
39. Hernández-Cruz, E. Y., Eugenio-Pérez, D., Ramírez-Magaña, K. J., & Pedraza-Chaverri, J. (2023). Effects of Vegetal Extracts and Metabolites against Oxidative

- Stress and Associated Diseases: Studies in *Caenorhabditis elegans*. *ACS omega*, 8(10), 8936–8959. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07025>
40. Hsu, F. L., Li, W. H., Yu, C. W., Hsieh, Y. C., Yang, Y. F., Liu, J. T., Shih, J., Chu, Y. J., Yen, P. L., Chang, S. T., & Liao, V. H. (2012). In vivo antioxidant activities of essential oils and their constituents from leaves of the Taiwanese *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(12), 3092–3097. <https://doi.org/10.1021/jf2045284>
41. Huang, D., Li, C., Chen, Q., Xie, X., Fu, X., Chen, C., Huang, Q., Huang, Z., & Dong, H. (2022). Identification of polyphenols from *Rosa roxburghii* Tratt pomace and evaluation of in vitro and in vivo antioxidant activity. *Food chemistry*, 377, 131922. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131922>
42. Hunt P. R. (2017). The *C. elegans* model in toxicity testing. *Journal of applied toxicology : JAT*, 37(1), 50–59. <https://doi.org/10.1002/jat.3357>
43. Jara-Palacios, M. J., González-Manzano, S., Escudero-Gilete, M. L., Hernanz, D., Dueñas, M., González-Paramás, A. M., Heredia, F. J., & Santos-Buelga, C. (2013). Study of zalema grape pomace: phenolic composition and biological effects in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(21), 5114–5121. <https://doi.org/10.1021/jf400795s>
44. Jorgensen, E. M., & Mango, S. E. (2002). The art and design of genetic screens: *caenorhabditis elegans*. *Nature reviews. Genetics*, 3(5), 356–369. <https://doi.org/10.1038/nrg794>
45. Kaur, R., Kaur, J., Mahajan, J., Kumar, R., & Arora, S. (2014). Oxidative stress--implications, source and its prevention. *Environmental science and pollution research international*, 21(3), 1599–1613. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2251-3>
46. Kaletta, T., & Hengartner, M. O. (2006). Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. *Nature reviews. Drug discovery*, 5(5), 387–398. <https://doi.org/10.1038/nrd2031>

47. Kiontke, K., & Sudhaus, W. (2006). Ecology of *Caenorhabditis* species. *WormBook : the online review of C. elegans biology*, 1–14. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.37.1>
48. Koch, K., Weldle, N., Baier, S., Büchter, C., & Wätjen, W. (2020). Hibiscus sabdariffa L. extract prolongs lifespan and protects against amyloid- β toxicity in *Caenorhabditis elegans*: involvement of the FoxO and Nrf2 orthologues DAF-16 and SKN-1. *European journal of nutrition*, 59(1), 137–150. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01894-w>
49. Kyriakakis, E., Markaki, M., & Tavernarakis, N. (2014). *Caenorhabditis elegans* as a model for cancer research. *Molecular & cellular oncology*, 2(2), e975027. <https://doi.org/10.4161/23723556.2014.975027>
50. Lant, B., & Storey, K. B. (2010). An overview of stress response and hypometabolic strategies in *Caenorhabditis elegans*: conserved and contrasting signals with the mammalian system. *International journal of biological sciences*, 6(1), 9–50. <https://doi.org/10.7150/ijbs.6.9>
51. Labuschagne, C. F., & Brenkman, A. B. (2013a). Current methods in quantifying ROS and oxidative damage in *Caenorhabditis elegans* and other model organism of aging. *Ageing research reviews*, 12(4), 918–930. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2013.09.003>
52. Labuschagne, C. F., Stigter, E. C., Hendriks, M. M., Berger, R., Rokach, J., Korswagen, H. C., & Brenkman, A. B. (2013b). Quantification of in vivo oxidative damage in *Caenorhabditis elegans* during aging by endogenous F3-isoprostane measurement. *Aging cell*, 12(2), 214–223. <https://doi.org/10.1111/accel.12043>
53. 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. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 106(1), 5–28. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn121>
54. Liao, V. H., Yu, C. W., Chu, Y. J., Li, W. H., Hsieh, Y. C., & Wang, T. T. (2011). Curcumin-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of ageing and development*, 132(10), 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2011.07.008>

55. Lima, M. E., Colpo, A. C., Salgueiro, W. G., Sardinha, G. E., Avila, D. S., & Folmer, V. (2014). Ilex paraguariensis Extract Increases Lifespan and Protects Against the Toxic Effects Caused by Paraquat in *Caenorhabditis elegans*. *International journal of environmental research and public health*, 11(10), 10091–10104. <https://doi.org/10.3390/ijerph111010091>
56. Ling, C., Shang, L., Xie, X., Ye, S., Wang, N., & Chen, C. (2022). AdoR-1 (Adenosine Receptor) Contributes to Protection against Paraquat-Induced Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, 1759009. <https://doi.org/10.1155/2022/1759009>
57. Liu, Y., Zhang, W., Wang, Y., Liu, H., Zhang, S., Ji, X., & Qiao, K. (2022). Oxidative stress, intestinal damage, and cell apoptosis: Toxicity induced by fluopyram in *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, 286(Pt 3), 131830. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131830>
58. Lüersen, K., Stegehake, D., Daniel, J., Drescher, M., Ajonina, I., Ajonina, C., Hertel, P., Woltersdorf, C., & Liebau, E. (2013). The glutathione reductase GSR-1 determines stress tolerance and longevity in *Caenorhabditis elegans*. *PloS one*, 8(4), e60731. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060731>
59. Lushchak V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>
60. Ma Q. (2010). Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. *Pharmacology & therapeutics*, 125(3), 376–393. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.11.004>
61. Machado, V. S., Verdi, C. M., Rossi, G. G., Souza, L. I., Teixeira, C. A., Machado, M. L., da Silveira, T. L., Sagrillo, M. R., Machado, A. K., Dornelles, R. C., Campos, M. M., Rodrigues, E., Emanuelli, T., Somacal, S., & Santos, R. C. V. (2022). Antimycobacterial activity of *Achyrocline flaccida* (Asteraceae) aqueous extract from Southern Brazil. *Natural product research*, 36(11), 2897–2901. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1931183>

62. Mayoral, P. Z., Piña, V. D. M., Gómez, S. M., Salazar, O. L. A., Aguilar, T. G., & Arellano C.F. (2017). El nematodo *Caenorhabditis elegans* como modelo para evaluar el potencial antihelmíntico de extractos de plantas. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(3), 279-289. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i3.4504>
63. Meyer, J. N., Boyd, W. A., Azzam, G. A., Haugen, A. C., Freedman, J. H., & Van Houten, B. (2007). Decline of nucleotide excision repair capacity in aging *Caenorhabditis elegans*. *Genome biology*, 8(5), R70. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-5-r70>
64. Miljevic, B.; Hedayat, F.; Stevanovic, S.; Fairfull-Smith, K. E.; Bottle, S. E.; Ristovski, Z. D. (2014). *To Sonicate or Not to Sonicate PM Filters: Reactive Oxygen Species Generation Upon Ultrasonic Irradiation*. *Aerosol Science and Technology*, 48(12), 1276–1284. <https://doi.org/10.1080/02786826.2014.981330>
65. Olson, K. R., Gao, Y., DeLeon, E. R., Arif, M., Arif, F., Arora, N., & Straub, K. D. (2017). Catalase as a sulfide-sulfur oxido-reductase: An ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS). *Redox biology*, 12, 325–339. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.02.021>
66. Onur, B., Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., & Acar, A. (2022). Paraquat toxicity in different cell types of Swiss albino mice. *Scientific reports*, 12(1), 4818. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08961-z>
67. Papastergiadis, A., Mubiru, E., Van Langenhove, H., & De Meulenaer, B. (2012). Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(38), 9589–9594. <https://doi.org/10.1021/jf302451c>
68. Park, J. K., Kim, C. K., Gong, S. K., Yu, A. R., Lee, M. Y., & Park, S. K. (2014). *Acanthopanax sessiliflorus* stem confers increased resistance to environmental stresses and lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *Nutrition research and practice*, 8(5), 526–532. <https://doi.org/10.4162/nrp.2014.8.5.526>

69. Phulara, S. C., Shukla, V., Tiwari, S., & Pandey, R. (2015). Bacopa monnieri promotes longevity in *Caenorhabditis elegans* under stress conditions. *Pharmacognosy magazine*, 11(42), 410–416. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.153097>
70. Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
71. Petersen, D. R., & Doorn, J. A. (2004). Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets. *Free radical biology & medicine*, 37(7), 937–945. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.012>
72. Peixoto, H., Roxo, M., Krstin, S., Röhrig, T., Richling, E., & Wink, M. (2016). An Anthocyanin-Rich Extract of Acai (*Euterpe precatoria* Mart.) Increases Stress Resistance and Retards Aging-Related Markers in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(6), 1283–1290. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05812>
73. Peixoto, H., Roxo, M., Koolen, H., da Silva, F., Silva, E., Braun, M. S., Wang, X., & Wink, M. (2018). Calycophyllum spruceanum (Benth.), the Amazonian "Tree of Youth" Prolongs Longevity and Enhances Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(3), 534. <https://doi.org/10.3390/molecules23030534>
74. Peixoto, H., Roxo, M., Silva, E., Valente, K., Braun, M., Wang, X., & Wink, M. (2019). Bark Extract of the Amazonian Tree *Endopleura uchi* (Humiriaceae) Extends Lifespan and Enhances Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(5), 915. <https://doi.org/10.3390/molecules24050915>
75. Qu, M., Xu, K., Li, Y., Wong, G., & Wang, D. (2018). Using acs-22 mutant *Caenorhabditis elegans* to detect the toxicity of nanopolystyrene particles. *The Science of the total environment*, 643, 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.173>
76. Ribeiro, A.R.C.; Cordeiro, M.L.d.S.; Silva, L.M.P.; Cadavid, C.O.M.; Caland, R.B.d.O.; Fernandes-Negreiros, M.M.; Queiroz, M.F.; Barbosa, J.d.S.; Aragão, C.F.S.; Zucolotto, S.M.; Oliveira, R.d.P.; Rocha, H.A.O.; Scortecci, K.C. *Myrciaria tenella* (DC.) O. Berg

- (Myrtaceae) Leaves as a Source of Antioxidant Compounds (2019). *Antioxidants* 8, 310. <https://doi.org/10.3390/antiox8080310>
77. Rover, J. L., Höehr, N. F., Vellasco, A. P., & Kubota, L. T.. (2001). Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathiona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, 24(1), 112–119. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100019>
78. Saier, C., Büchter, C., Koch, K., & Wätjen, W. (2018). *Polygonum multiflorum* Extract Exerts Antioxidative Effects and Increases Life Span and Stress Resistance in the Model Organism *Caenorhabditis elegans* via DAF-16 and SIR-2.1. *Plants (Basel, Switzerland)*, 7(3), 60. <https://doi.org/10.3390/plants7030060>
79. Strange K. (2003). From genes to integrative physiology: ion channel and transporter biology in *Caenorhabditis elegans*. *Physiological reviews*, 83(2), 377–415. <https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2002>
80. Shen, P., Yue, Y., Zheng, J., & Park, Y. (2018). *Caenorhabditis elegans*: A Convenient In Vivo Model for Assessing the Impact of Food Bioactive Compounds on Obesity, Aging, and Alzheimer's Disease. *Annual review of food science and technology*, 9, 1–22. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012709>
81. Su, S., & Wink, M. (2015). Natural lignans from *Arctium lappa* as antiaging agents in *Caenorhabditis elegans*. *Phytochemistry*, 117, 340–350. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.06.021>
82. Surco-Laos, F., Cabello, J., Gómez-Orte, E., González-Manzano, S., González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., & Dueñas, M. (2011). Effects of O-methylated metabolites of quercetin on oxidative stress, thermotolerance, lifespan and bioavailability on *Caenorhabditis elegans*. *Food & function*, 2(8), 445–456. <https://doi.org/10.1039/c1fo10049a>
83. Sobeh, M., Mahmoud, M. F., Hasan, R. A., Cheng, H., El-Shazly, A. M., & Wink, M. (2017a). *Senna singueana*: Antioxidant, Hepatoprotective, Antiapoptotic Properties and Phytochemical Profiling of a Methanol Bark Extract. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(9), 1502. <https://doi.org/10.3390/molecules22091502>

84. Sobeh, M., Mahmoud, M. F., Sabry, O. M., Adel, R., Dmirieh, M., El-Shazly, A. M., & Wink, M. (2017b). HPLC-PDA-MS/MS Characterization of Bioactive Secondary Metabolites from *Turraea fischeri* Bark Extract and Its Antioxidant and Hepatoprotective Activities In Vivo. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(12), 2089. <https://doi.org/10.3390/molecules22122089>
85. Sobeh, M., Mahmoud, M. F., Abdelfattah, M. A. O., Cheng, H., El-Shazly, A. M., & Wink, M. (2018). A proanthocyanidin-rich extract from *Cassia abbreviata* exhibits antioxidant and hepatoprotective activities in vivo. *Journal of ethnopharmacology*, 213, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.007>
86. Tambara, A. L., de Los Santos Moraes, L., Dal Forno, A. H., Boldori, J. R., Gonçalves Soares, A. T., de Freitas Rodrigues, C., Mariutti, L. R. B., Mercadante, A. Z., de Ávila, D. S., & Denardin, C. C. (2018). Purple pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.) protects against oxidative stress and increase the lifespan in *Caenorhabditis elegans* via the DAF-16/FOXO pathway. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 120, 639–650. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.057>
87. Thabit, S., Handoussa, H., Roxo, M., Cestari de Azevedo, B., S E El Sayed, N., & Wink, M. (2019). *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott Fruits Increase Stress Resistance and Exert Antioxidant Properties in *Caenorhabditis elegans* and Mouse Models. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(14), 2633. <https://doi.org/10.3390/molecules24142633>
88. Thabit, S., Handoussa, H., Roxo, M., El Sayed, N. S., Cestari de Azevedo, B., & Wink, M. (2018). Evaluation of antioxidant and neuroprotective activities of *Cassia fistula* (L.) using the *Caenorhabditis elegans* model. *PeerJ*, 6, e5159. <https://doi.org/10.7717/peerj.5159>
89. Urban, N., Tsitsipatis, D., Hausig, F., Kreuzer, K., Erler, K., Stein, V., Ristow, M., Steinbrenner, H., & Klotz, L. O. (2017). Non-linear impact of glutathione depletion on *C. elegans* life span and stress resistance. *Redox biology*, 11, 502–515. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.003>

90. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
91. Van Raamsdonk, J. M., & Hekimi, S. (2010). Reactive Oxygen Species and Aging in *Caenorhabditis elegans*: Causal or Casual Relationship?. *Antioxidants & redox signaling*, 13(12), 1911–1953. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3215>
92. Vayndorf, E. M., Lee, S. S., & Liu, R. H. (2013). Whole apple extracts increase lifespan, healthspan and resistance to stress in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of functional foods*, 5(3), 1236–1243. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.04.006>
93. Wang, X., Yang, J., Li, H., Guo, S., Tariq, M., Chen, H., Wang, C., & Liu, Y. (2018). Chronic toxicity of hexabromocyclododecane(HBCD) induced by oxidative stress and cell apoptosis on nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, 208, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.147>
94. Wang, E., & Wink, M. (2016). Chlorophyll enhances oxidative stress tolerance in *Caenorhabditis elegans* and extends its lifespan. *PeerJ*, 4, e1879. <https://doi.org/10.7717/peerj.1879>
95. Wellenberg, A., Weides, L., Kurzke, J., Hennecke, T., Bornhorst, J., Crone, B., Karst, U., Brinkmann, V., Fritz, G., & Honnen, S. (2021). Use of *C. elegans* as a 3R-compliant in vivo model for the chemoprevention of cisplatin-induced neurotoxicity. *Experimental neurology*, 341, 113705. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113705>
96. Wilson, M. A., Shukitt-Hale, B., Kalt, W., Ingram, D. K., Joseph, J. A., & Wolkow, C. A. (2006). Blueberry polyphenols increase lifespan and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Aging cell*, 5(1), 59–68. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00192.x>
97. Yoon, D. S., Lee, M. H., & Cha, D. S. (2018). Measurement of Intracellular ROS in *Caenorhabditis elegans* Using 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein Diacetate. *Bio-protocol*, 8(6), e2774. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2774>

98. Xiong, L. G., Huang, J. A., Li, J., Yu, P. H., Xiong, Z., Zhang, J. W., Gong, Y. S., Liu, Z. H., & Chen, J. H. (2014). Black tea increased survival of *Caenorhabditis elegans* under stress. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(46), 11163–11169. <https://doi.org/10.1021/jf503120j>
99. Yu, Y., Hua, X., Chen, H., Wang, Y., Li, Z., Han, Y., & Xiang, M. (2020). Toxicity of lindane induced by oxidative stress and intestinal damage in *Caenorhabditis elegans*. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 264, 114731. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114731>
100. Yu, C. W., Wei, C. C., & Liao, V. H. (2014). Curcumin-mediated oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* is modulated by age-1, akt-1, pdk-1, osr-1, unc-43, sek-1, skn-1, sir-2.1, and mev-1. *Free radical research*, 48(3), 371–379. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.872779>
101. Zeng, C., & Feng, S. (2020). The Antioxidant Capacity In Vitro and In Vivo of Polysaccharides From *Bergenia emeiensis*. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7456. <https://doi.org/10.3390/ijms21207456>
102. Zarse, K., Jabin, S., & Ristow, M. (2012). L-Theanine extends lifespan of adult *Caenorhabditis elegans*. *European journal of nutrition*, 51(6), 765–768. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0341-5>
103. Zhang, L., Jie, G., Zhang, J., & Zhao, B. (2009). Significant longevity-extending effects of EGCG on *Caenorhabditis elegans* under stress. *Free radical biology & medicine*, 46(3), 414–421. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.10.041>
104. Zheng, J., & Greenway, F. L. (2012). *Caenorhabditis elegans* as a model for obesity research. *International journal of obesity (2005)*, 36(2), 186–194. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.93>
105. Zhu, A., Zheng, F., Zhang, W., Li, L., Li, Y., Hu, H., Wu, Y., Bao, W., Li, G., Wang, Q., & Li, H. (2022). Oxidation and Antioxidation of Natural Products in the Model Organism *Caenorhabditis elegans*. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(4), 705. <https://doi.org/10.3390/antiox11040705>