Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Mth: o gene "Matusalém" e a longevidade em moscas

Yasmin de Araújo Ribeiro[1,2], Tiago Campos Pereira[1,2]

[1]Depto de Biologia, FFCLRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP
[2]Programa de Pós-Graduação em Genética, FMRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP

Autor para correspondência - tiagocampospereira@ffclrp.usp.br

Palavras-chave: longevidade, Mth, Matusalém, GPCR, receptor de insulina, moscas

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

A busca pela longevidade acompanha o homem desde os primórdios, por meio de histórias fantásticas como as que rodeavam a alquimia. Com o avanço científico, essa busca adquiriu um novo caráter e passou a incluir também a investigação de genes que estivessem associados a uma maior expectativa de vida. Nesse contexto, estudos investigando o gene *Mth* da mosca de fruta *Drosophila melanogaster* mostraram que este, quando mutado, pode prolongar a vida do organismo. O gene *Mth* codifica um receptor transmembrana para os peptídeos endógenos Stunted A e B, e se acopla à proteína G. Receptores acoplados à proteína G estão relacionados a diversas atividades biológicas como neurotransmissão, fisiologia hormonal, resposta a drogas e transdução de estímulos. Desse modo, tal receptor atua recebendo e repassando informações para a célula, e assim, interferindo em sua longevidade. Estudos como esses fazem com que, aos poucos, nosso entendimento sobre a expectativa de vida torne-se mais amplo e detalhado, o que também traz a longevidade para mais perto da nossa realidade.

A longevidade e os genes

De acordo com a **Torá**, o livro sagrado do judaísmo, Matusalém foi um patriarca que gerou muitos filhos e filhas, e foi designado por Deus como sacerdote. Ele se destaca de todos os demais personagens devido a uma característica muito peculiar de sua história: a sua extrema longevidade. Segundo a tradição judaica, posteriormente incorporada à bíblia, Matusalém teria vivido por 969 anos. Como não há relato de algum outro ser humano que tenha vivido por tanto tempo, 'Matusalém' logo tornou-se sinônimo de longevidade na cultura judaico-cristã.

O termo "longevidade" pode ser interpretado e definido de diversas formas. Aqui, nós consideramos longevidade tal como definida pelo dicionário e no mesmo sentido que as pesquisas exploradas consideraram: "duração da vida de uma pessoa, de um grupo, de uma espécie, mais longa que o normal" – como representado pelos longos anos de vida de Matusalém, que extrapolam, e muito, a expectativa de vida do homem atual, que é por volta de 73 anos. A busca pela longevidade teve início muito tempo antes da Torá, e percorre toda a história com contos e mitologias intrigantes, representados na busca incansável dos alquimistas por um elixir da longa vida.

Com o avanço científico e a descoberta da relação entre genes e características biológicas, aspirações como a de prolongar a vida humana passaram a ser investigadas de forma mais concreta. Assim, não demorou para que os pesquisadores começassem a buscar genes que se relacionassem com as mais diversas características, inclusive, com a nossa expectativa de vida. Nesse contexto, deu-se início às pesquisas que buscavam estender a longevidade de diversos animais.

Uma forma de se investigar a relação de um gene e um determinado fenótipo é promovendo mutações no primeiro, e observando o consequente efeito de sua ausência no organismo. Paralelamente sabe-se, desde 1988, que a **restrição calórica** é uma intervenção que aumenta a longevidade em diversos organismos.

Restrição calórica - redução da ingestão total de calorias em aproximadamente 20-50%, sem que haja desnutrição.

As hipóteses sobre os mecanismos moleculares relacionados ao envelhecimento são complexas e diversas, envolvendo diferentes vias e processos, tais como o encurtamento de telômeros, o reparo de DNA, sirtuínas/desacetilases, estresse oxidativo, entre outras. A sensibilidade à **insulina** e a formação das **espécies reativas de oxigênio** são frequentemente citadas como diretamente envolvidas no processo de envelhecimento. Apesar de existirem controvérsias, as espécies reativas de oxigênio são constantemente relacionadas ao envelhecimento, de modo que o aumen-

Insulina - hormônio produzido pelo pâncreas, responsável por permitir a entrada da glicose nas células.

Espécies reativas de oxigênio - moléculas tóxicas e com elevado potencial de reagirem quimicamente com outros compostos (orgânicos) próximos. Em altas concentrações, elas podem danificar organelas, ácidos nucleicos, lipídeos, proteínas e provocar danos teciduais.

to da resistência ao estresse oxidativo contribuiria no sentido contrário, promovendo uma maior longevidade. Pesquisas indicam que tal correlação tem se mostrado verdadeira porque o aumento da produção de **enzimas antioxidantes**, que atuam na resistência ao estresse e lidam com as espécies reativas de oxigênio, ocorre como efeito secundário das mutações nos receptores de insulina. Por isso, é esperado que mutações que causam restrição calórica ou tolerância a estresses resultem em efeito semelhante, prolongando a longevidade. Com isso em mente, cientistas começaram a avaliar o efeito de mutações em genes que atuavam em vias bioquímicas potencialmente relacionadas, e a observar seu efeito na longevidade de diversos organismos. Esse tipo de manipulação genética, cujo resultado aumentou a longevidade, foi identificada pela primeira vez no nematoide *Caenorhabditis elegans*, e deu origem a outros estudos demonstradores de que a mutação em genes da via da insulina do nematoide aumentava em até 100% sua longevidade.

Enzimas antioxidantes - proteínas que catalisam reações para neutralizar radicais livres e espécies reativas de oxigênio.

A figura 1 e 2 ilustra a atuação do receptor de insulina ativo e inativo, evidenciando como o efeito secundário de uma mutação na via da insulina pode ser a resistência ao estresse. A ilustração é baseada no que ocorre quando um dos receptores de insulina do organismo modelo *C. elegans* tem seu respectivo gene mutado, e assim, o receptor está inativo. Vale ressaltar que esse é o exemplo de um mecanismo desencadeado para lidar com estresses e que, de modo curioso, tal mecanismo interfere na longevidade. Outros mecanismos também podem atuar de forma semelhante e apresentar interferência na longevidade do organismo.

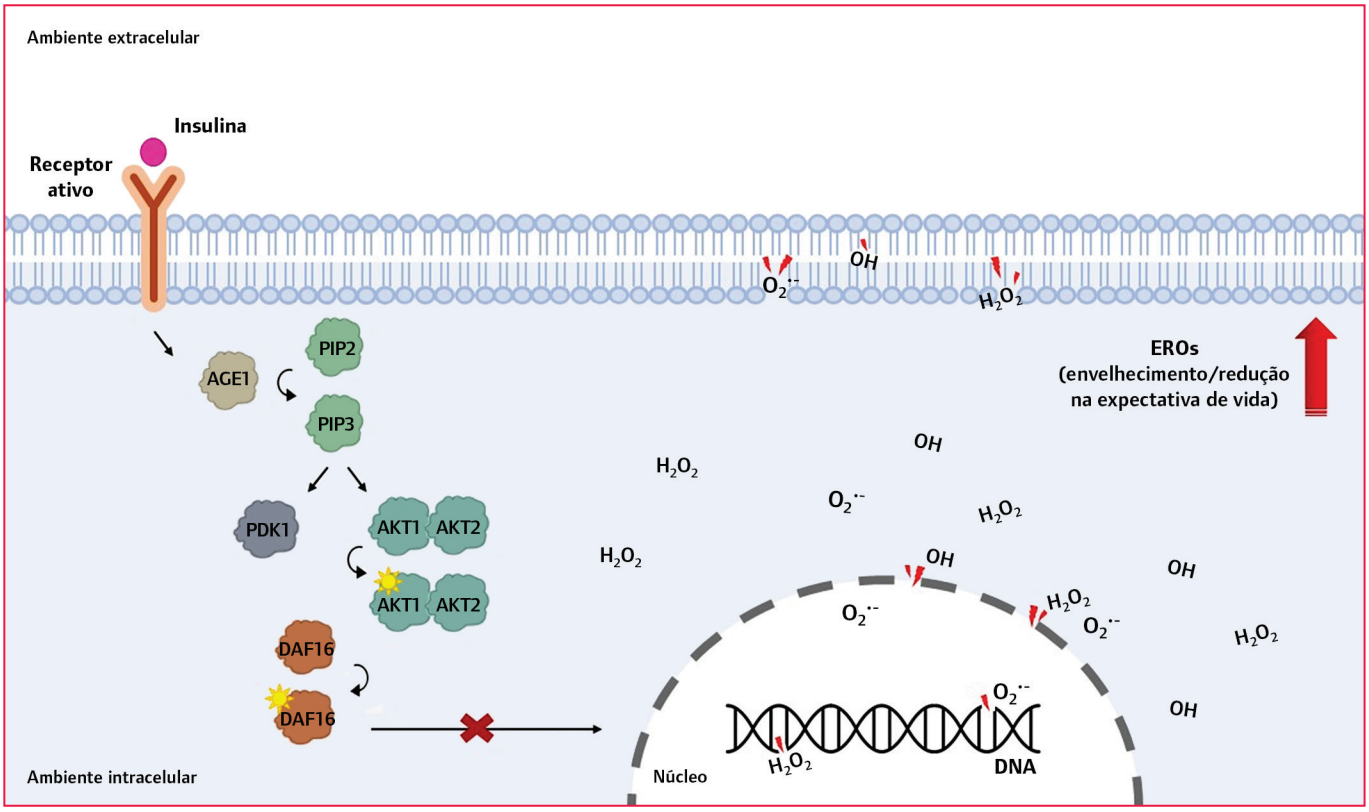


Figura 1.
Representação do receptor de insulina ativo. Quando o receptor de insulina (representado em laranja) está ativo, moléculas de insulina (representada em rosa) conseguem se ligar a ele. Assim, o receptor é ativado, o que também resulta na ativação da proteína AGE-1. Esta proteína atua catalisando a conversão de bifosfato de fosfatidilinositol (PIP2) em trisfosfato de fosfatidilinositol (PIP3). Em seguida, o PIP3 se liga ao complexo AKT-1/AKT-2, expondo locais de fosforilação. Em paralelo, a quinase PDK-1 por ligação ao PIP3, fosforila e ativa AKT-1. Por fim, a AKT-1 fosforila o fator de transcrição DAF-16 e, assim, assegura sua retenção no citoplasma. Uma vez fosforilado, DAF-16 não consegue adentrar no núcleo, e é impedido de auxiliar na transcrição de genes codificadores de proteínas de resposta a estresses. Dessa forma, temos o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS; representadas por OH, H_2O_2, $O_2^{\cdot -}$), o que causa danos nas membranas, proteínas e ácidos nucleicos da célula. Como fenótipo, temos o envelhecimento da célula e a redução da expectativa de vida do organismo. Imagem feita por Ribeiro Y.A., utilizando elemento gráfico da *Noun Project* (DNA por Shuai Tawf).

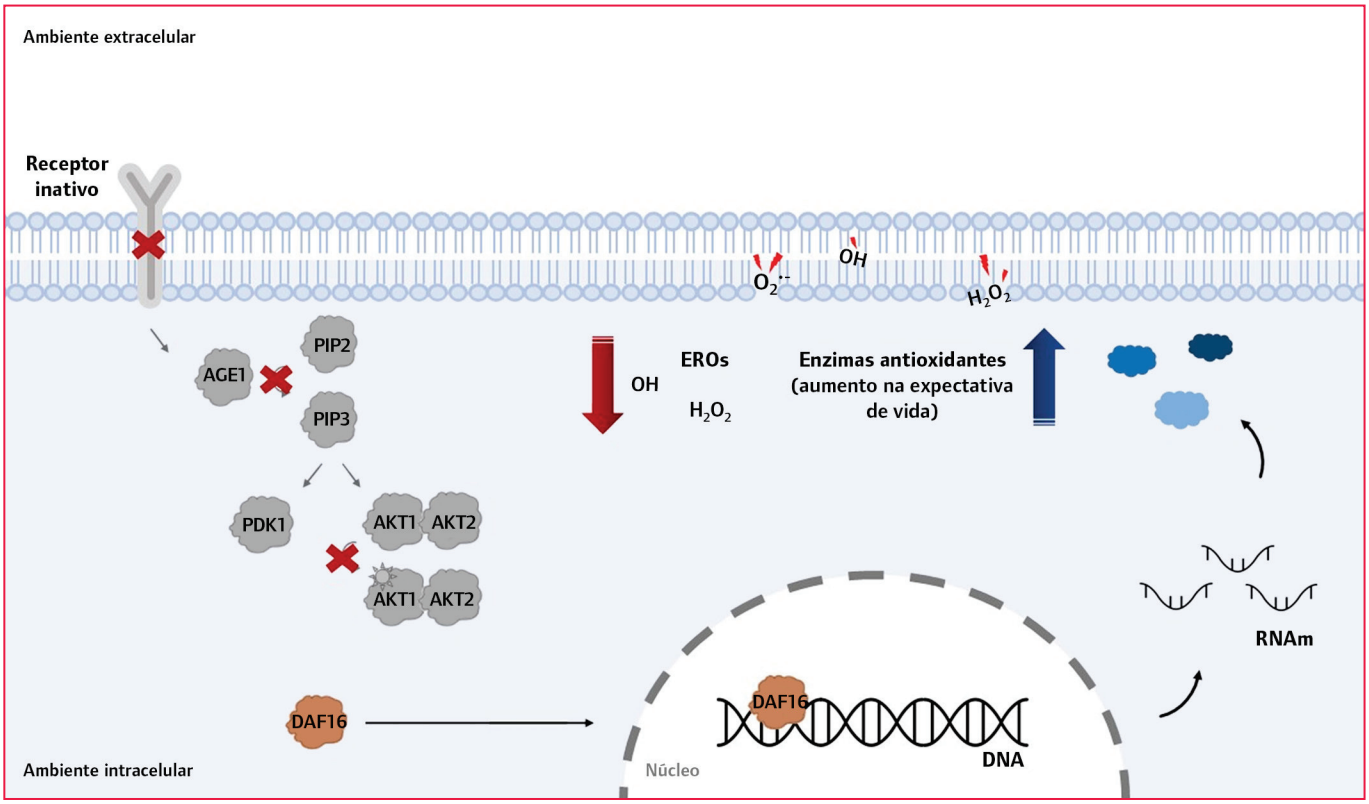


Figura 2.
Representação do receptor de insulina inativo. Com o receptor de insulina inativo (representado em cinza e marcado com um 'x') a molécula agonista não pode ser reconhecida, e a cascata de reações é inviabilizada (também marcada com um 'x'). Uma vez que a via está inativa, o fator de transcrição DAF-16 (representado em marrom) está livre para adentrar no núcleo celular. No núcleo celular, DAF-16 atua na transcrição de genes importantes para a resistência ao estresse. Após a transcrição, os RNAms resultantes são traduzidos, e assim, as proteínas necessárias para lidar com o estresse, como enzimas antioxidantes (representadas em azul), são sintetizadas, e estão prontas para lidar com as espécies reativas de oxigênio (EROS; representadas por OH, H_2O_2, $O_2^{\cdot-}$). Imagem feita por Ribeiro Y.A., utilizando elemento gráfico da *Noun Project* (DNA por Shuai Tawf).

O estudo realizado por Lin e colaboradores (1998) em *Drosophila*, mostrou que a mutação no gene *Mth* resulta em uma expectativa de vida aumentada em 35% (Figura 3) em relação ao tempo de vida média. De modo específico, o estudo em questão mostrou que, enquanto moscas selvagens vivem em média 57 dias, as moscas mutantes vivem 77 dias. Além disso, tais moscas apresentam resistência a estresses como calor, fome, dessecação e dano oxidativo. Não à toa, esse gene recebe o nome de *Mth*, do inglês *Methuselah*, em referência à personagem que conhecemos no início deste artigo, Matusalém.

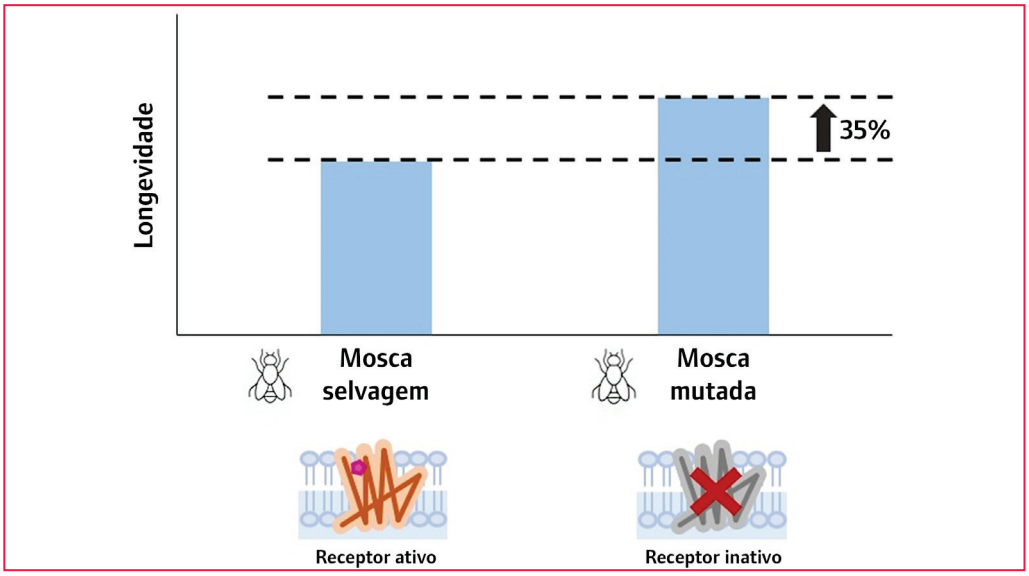


Figura 3.
Representação da longevidade de *Drosophila melanogaster*. Com o receptor 'matusalém' inativo (representado à direita) a mosca apresenta uma longevidade 35% maior do que quando a mesma proteína está ativa, mosca selvagem (representada à esquerda). Imagem feita por Ribeiro Y.A., utilizando elemento gráfico da *Noun Project* (mosca da fruta por Phạm Thanh Lộc).

O gene *Mth*

De acordo com o banco de dados *National Center for Biotechnology Information* (NCBI; EUA), o gene *Mth* (ID: 38058) de *Drosophila melanogaster* está localizado no cromossomo 3L, possui nove éxons e oito íntrons. Ao todo, o gene *Mth* possui 3580 nucleotídeos (nt) e pode gerar três transcritos alternativos. Duas isoformas (A e B) são produzidas por ***splicing* alternativo** e uma outra isoforma (E) foi mapeada e identificada computacionalmente (Figura 4). A isoforma A possui um RNAm de 1967 nt e resulta em uma proteína de 514 resíduos de aminoácidos (aa). A isoforma B possui um RNAm de 1882 nt e corresponde a uma proteína de 522 aa. Finalmente, a isoforma E possui RNAm de 2420 nt e codifica uma proteína também de 514 aa.

***Splicing* alternativo** - processo, durante a formação do RNAm, que permite a reorganização, de diferentes maneiras, dos éxons que foram transcritos. Dessa forma, um mesmo gene pode gerar RNAm distintos e, consequentemente, proteínas diversificadas.

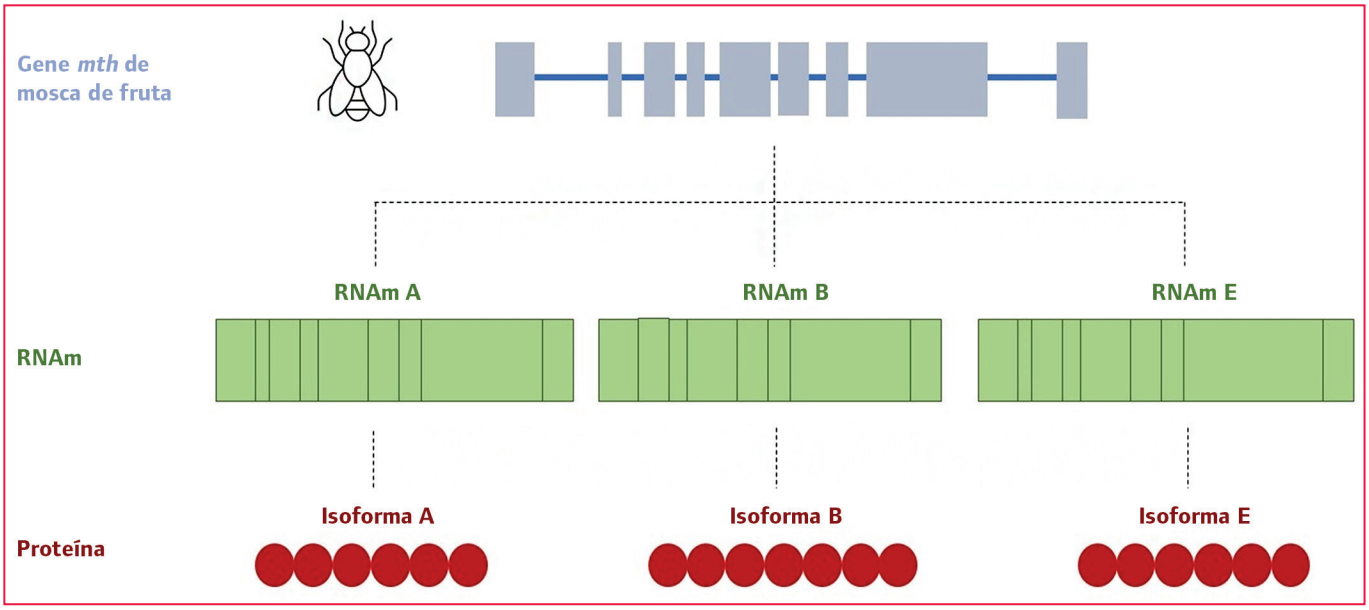


Figura 4.
Representação do gene *Mth*. O gene *Mth* possui nove éxons (representados por retângulos em azul claro) e oito íntrons (representados por linhas em azul escuro), com total de 3580 nucleotídeos. Após os eventos de transcrição, podemos ter até três tipos de RNAm (representados em verde), que denominamos de RNAm A, com 1967 nt; RNAm B com 1882 nt; RNAm E com 2420 nt. Seguida a tradução, os respectivos RNAm resultam na *Isoforma A* com 514 aa; *Isoforma B* com 522 aa e *Isoforma E* com 514 aa (representadas em vermelho). Imagem feita por Ribeiro Y.A., utilizando elemento gráfico da *Noun Project* (mosca da fruta por Phạm Thanh Lộc).

Aparentemente, a espécie humana é desprovida de um gene homólogo ao *Mth*, entretanto, alguns grupos de pesquisa argumentam que o gene ADGRG6 (do inglês, ***ad**hesion **G** protein-coupled **r**eceptor **G6***) seria o homólogo em nossa espécie, apesar de haver uma baixa similaridade de sequência das proteínas codificadas por eles - somente 23% de semelhança. Indivíduos homozigotos com mutações nesse gene apresentam a "síndrome 9 de contratura congênita letal", caracterizada pela degeneração de neurônios da medula espinhal, atrofia muscular esquelética extrema e contrações permanentes e involuntárias das articulações; sem relação com longevidade.

Mecanismo de ação de *Mth*

O gene *Mth* codifica uma proteína que atua como receptor na membrana da célula, com dois ligantes conhecidos - os peptídeos endógenos Stunted A e B. Esse receptor é classificado como 'receptor associado à proteínas G' (GPCR, do inglês ***G** **P**rotein-**C**oupled **R**eceptor*), ou seja, ela associa-se a uma família de proteínas de ligação a nucleotídeos de guanosina, denominada de 'proteínas G'. Sua estrutura consiste em um **ectodomínio** contendo um local de ligação ao ligante, sete segmentos

Ectodomínio - uma porção de uma proteína de membrana que se estende para o espaço extracelular.

transmembrana, e fica acoplado à proteína G, localizada na membrana plasmática da célula. A proteína G é formada por três subunidades: α, β e γ. Além disso, próximo à proteína G há uma enzima efetora, que é importante no contexto funcional (Figura 5).

Os GPCR são responsáveis por mediar uma ampla variedade de atividades biológicas como neurotransmissão, fisiologia hormonal, resposta a drogas e transdução de estímulos, como luz e odores. Dessa forma, para que uma informação seja passada do meio extracelular para o meio intracelular, é necessário que haja um intermediário – nesse caso, um GPCR. Quando uma molécula sinalizadora se liga a um GPCR, ocorre uma alteração conformacional, isto é, na estrutura tridimensional, no domínio intracelular do receptor, que afeta sua interação com a proteína G à qual está associado.

A proteína G alterna-se entre dois estados: inativo, quando está ligada a uma molécula denominada guanosina difosfato (GDP); e ativo, quando está ligada a uma molécula guanosina trifosfato (GTP). Durante a interação entre o receptor e o ligante, a subunidade α da proteína G é ativada. Uma vez ativa, a subunidade α pode trocar o GDP ligado a ela por um GTP, o que permite que a proteína dissocie-se do receptor e ligue-se à enzima efetora vizinha. Assim que a enzima efetora recebe a informação, ela se tornará ativa e a via jusante será guiada para atuar de acordo com a informação que recebeu, resultando numa cadeia de sinalização e mesma resposta celular.

Essa cascata de eventos promovida pelo receptor e pela ativação da proteína G transmite sinais e induz uma atuação de acordo com a informação recebida, controlando o metabolismo celular, por meio, por exemplo, da transcrição de genes e da secreção de moléculas.

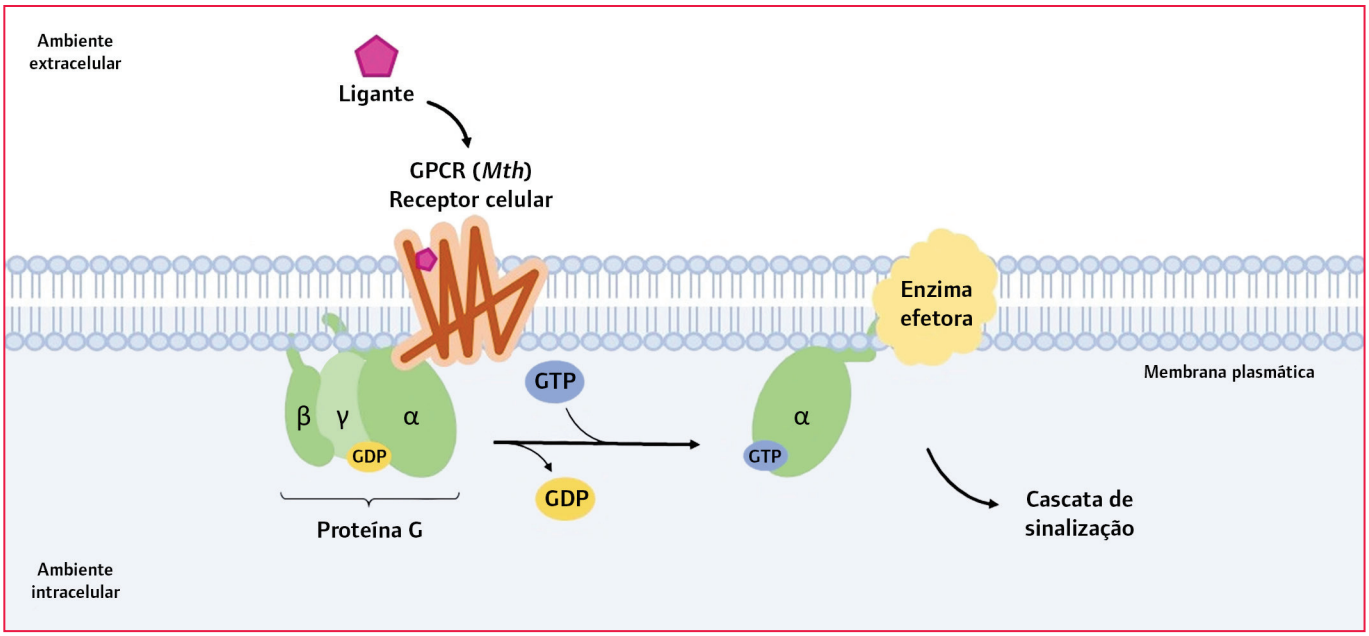


Figura 5.
Atuação da proteína transcrita pelo gene *Mth*. Após o ligante (representado em rosa – peptídeo Stunted A ou B) interagir com GPCR (representado em marrom; observe os sete segmentos transmembrana), a proteína G (representada em verde com suas respectivas subunidades) é ativada. Sua subunidade α troca a molécula GDP (representada em amarelo) por uma GTP (representada em azul), o que resulta na sua dissociação do receptor. Em seguida, a subunidade α é direcionada para a enzima efetora (representada em amarelo na membrana) a jusante, dando início a uma cascata de sinalização que varia de acordo com a função da enzima e informação passada. Imagem feita por Ribeiro Y.A.

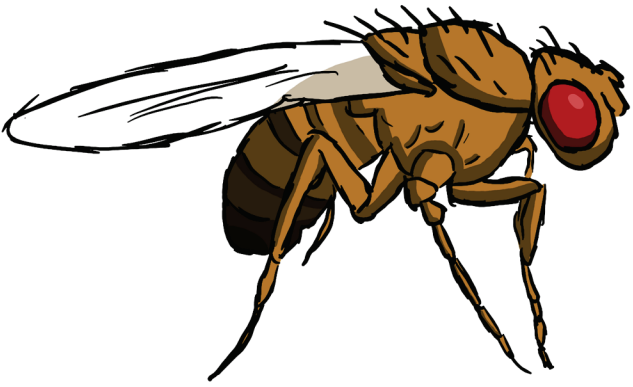
Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

De modo mais específico, devido à semelhança do receptor *Mth* com outros de função já conhecida, cientistas concluíram que ele atua como um GPCR relacionado à **transmissão sináptica**. Embora sua atuação celular seja bastante especulativa, pesquisas mostraram que *Mth* regula positivamente a **exocitose** de **neurotransmissores**, controlando o tráfego de **vesículas pré-sinápticas**. Nesse sentido, como as moscas mutantes *Mth* têm transmissão sináptica defeituosa, é possível que *Mth* faça parte de um controle do envelhecimento animal relacionado ao sistema nervoso.

A relação entre transmissão sináptica e prolongamento da expectativa de vida é ainda um grande enigma. Com o intuito de tentar compreender esse cenário, embora não haja dados moleculares de como *Mth* atua, os pesquisadores postulam que a longevidade seja um reflexo da regulação da transmissão sináptica e/ou da resistência ao estresse. Nesse sentido, a expectativa é que a ausência do receptor codificado por *Mth* tenha efeito similar a outros receptores, como o receptor de insulina em *C. elegans* (Figura 2) resultando na resistência aos estresses de forma secundária. A resistência ao estresse, isto é, como lidar com os danos celulares, é um aspecto importante quando mencionamos envelhecimento. e está amplamente relacionada a longevidade.

Saiba mais em https://tinyurl.com/3hsff-c4d.

Finalmente, é possível também que a relação entre a função reguladora de *Mth* e a longevidade seja direta já que os estudos até então não foram conclusivos e uma vez que apenas o detalhamento dos mecanismos moleculares que envolvem o gene *Mth* podem trazer luz para compreensão da longevidade estendida das moscas.



Conclusões

Identificar a função de um gene, ou de mutações no mesmo, é um grande passo para elucidar a relação entre nossos genes e a longevidade, bem como entendê-la de modo mais profundo. Cada informação obtida é como uma peça de um quebra-cabeça que contribui para, futuramente, entendermos o quadro geral e delinearmos com detalhes os processos biológicos que envolvem a vida. Por fim, estudos analisando a relação dos mutantes *Mth* com uma maior/menor incidência de problemas tipicamente associados com o transcorrer do tempo biológico são importantes para termos um entendimento melhor sobre a interação de todos esses elementos, tais como câncer e doenças neurodegenerativas. O incentivo a pesquisas relacionadas ao tema pode nos deixar mais próximos de compreender e, quem sabe, alcançar uma maior longevidade, isto é, dentro dos limites impostos pela biologia, fortuitamente, com saúde e qualidade de vida.

Para saber mais

CVEJIC, S. et al. The endogenous ligand Stunted of the GPCR Methuselah extends lifespan in Drosophila. *Nature cell biology*, v. 6, n. 6, p. 540-546, 2004.

LIN, Y. j. ; SEROUDE, L.; BENZER, S.. Extended life-span and stress resistance in the Drosophila mutant methuselah. *Science*, v. 282, n. 5390, p. 943-946, 1998.

PAABY, A. B.; SCHMIDT, P. S. Functional significance of allelic variation at methuselah, an aging gene in Drosophila. *PLoS One*, v. 3, n. 4, p. e1987, 2008.

SOLON-BIET, S. M. et al. Macronutrients and caloric intake in health and longevity. *The Journal of endocrinology*, v. 226, n. 1, p. R17, 2015.

SONG, W. et al. Presynaptic regulation of neurotransmission in Drosophila by the g protein-coupled receptor methuselah. *Neuron*, v. 36, n. 1, p. 105-119, 2002.

WARNER, H. R. Longevity genes: from primitive organisms to humans. *Mechanisms of ageing and development*, v. 126, n. 2, p. 235-242, 2005.

Transmissão sináptica - processo pelo qual uma informação gerada ou processada por um neurônio é transmitida a outro neurônio ou célula efetora.

Exocitose - processo que leva à expulsão de determinada substância do interior da célula.

Neurotransmissores - moléculas que agem como mensageiros químicos entre neurônios, enviando um sinal entre eles.

Vesículas pré-sinápticas - pequenas bolsas membranosas que armazenam os neurotransmissores liberados pelos neurônios.