

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 03/04/2027

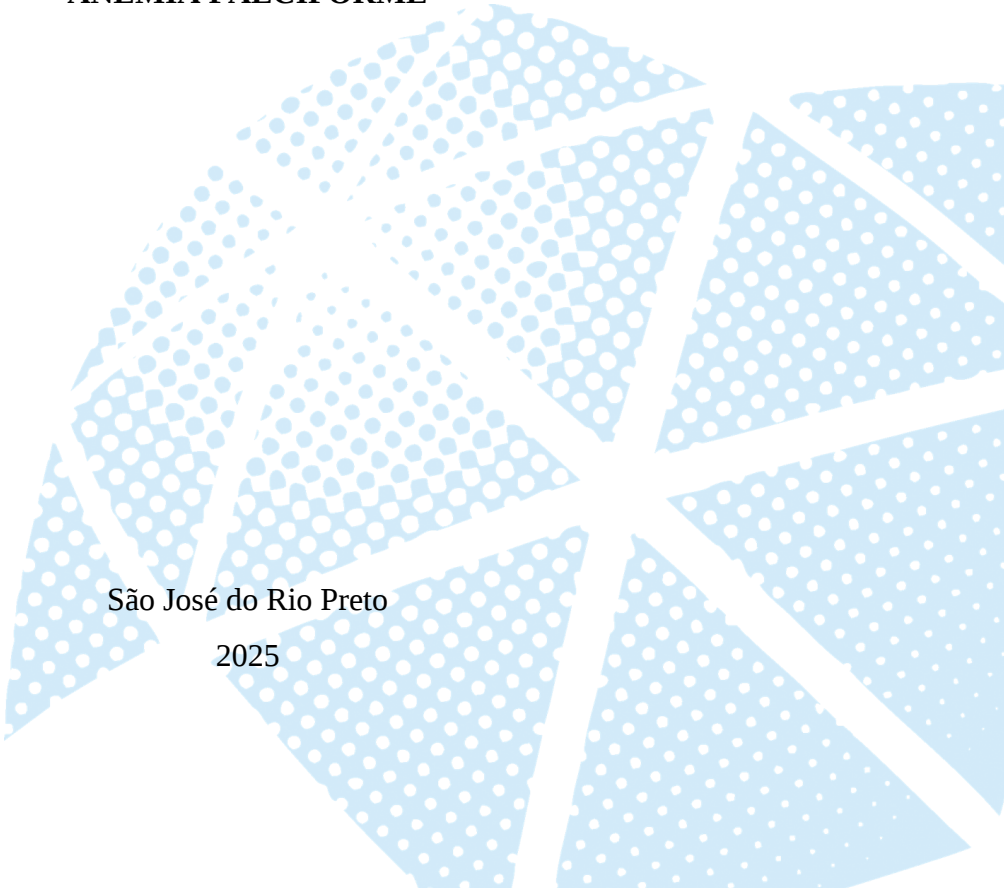
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

FLAVIENE FELIX TORRES

**MELATONINA COMO TERAPIA ANTIOXIDANTE: MECANISMOS CELULARES
DE ADAPTAÇÃO REDOX EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS PARA
ANEMIA FALCIFORME**

São José do Rio Preto

2025



FLAVIENE FELIX TORRES

**MELATONINA COMO TERAPIA ANTIOXIDANTE: MECANISMOS CELULARES
DE ADAPTAÇÃO REDOX EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS PARA
ANEMIA FALCIFORME**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutora em Biociências.

Área de Concentração: Genética e Biologia Evolutiva

Orientador: Prof. Dr. Danilo Grünig Humberto da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Marcus Alexandre Finzi Corat

São José do Rio Preto

2025

T693m

Torres, Flaviene Felix

Melatonina como terapia antioxidante: mecanismos celulares de adaptação redox em camundongos transgênicos para anemia falciforme / Flaviene Felix Torres. -- São José do Rio Preto, 2025

158 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Danilo Grünig Humberto da Silva

Coorientador: Marcus Alexandre Finzi Corat

1. Melatonina. 2. Anemia falciforme. 3. Estresse oxidativo. 4. Genética molecular. 5. Bioquímica. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta tese investigou a melatonina como terapia antioxidante para anemia falciforme (AF), com impactos científicos, sociais e econômicos significativos. Cientificamente, o estudo avança na compreensão dos mecanismos redox e inflamatórios da AF, demonstrando que a melatonina modula vias antioxidantes e anti-inflamatórias de forma comparável a tratamentos consolidados, como hidroxicarbamida e L-glutamina. A abordagem multidisciplinar, combinando análises moleculares, bioquímicas e modelagem computacional, estabelece bases para novas terapias baseadas em antioxidantes, com potencial aplicação em outras doenças hematológicas.

Do ponto de vista social, a AF afeta principalmente populações vulneráveis, onde o acesso a tratamentos avançados é limitado. A melatonina, por ser acessível, segura e de baixo custo, pode melhorar a qualidade de vida dos pacientes, reduzindo complicações como crises de dor e inflamação crônica, diminuindo hospitalizações e custos associados. Isso beneficiaria tanto sistemas públicos de saúde quanto comunidades carentes, alinhando-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS 3 – Saúde e Bem-Estar e ODS 10 – Redução das Desigualdades).

A inovação reside no uso de uma molécula natural para uma doença complexa, reduzindo a toxicidade e os efeitos colaterais. Além disso, a metodologia empregada, incluindo modelos transgênicos e simulações *in silico*, otimiza recursos e segue princípios éticos na pesquisa pré-clínica. Ainda, ao longo do desenvolvimento desta proposta que visou alternativas terapêuticas em biomoléculas ativas, foram estabelecidas colaborações internacionais como com a Universidad de Chile e Universidade de Lisboa. A internacionalização é ainda reforçada pela submissão do trabalho a revista de alto impacto, posicionando o Brasil como produtor de conhecimento relevante em hematologia.

Localmente, a pesquisa fortalece a rede entre UNESP, UNICAMP e UFMS, integrando pesquisadores e promovendo a formação de recursos humanos qualificados. A divulgação dos resultados em materiais educacionais e para comunidades afetadas pela AF amplia a conscientização sobre terapias complementares, contribuindo para a educação em saúde. Assim, este trabalho não apenas expande o conhecimento científico, mas também oferece uma solução viável e sustentável para o manejo da AF, com benefícios tangíveis para a sociedade e sistemas de saúde.

FLAVIENE FELIX TORRES

**MELATONINA COMO TERAPIA ANTIOXIDANTE: MECANISMOS CELULARES
DE ADAPTAÇÃO REDOX EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS PARA
ANEMIA FALCIFORME**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutora em Biociências.

Área de Concentração: Genética e Biologia Evolutiva

Data da defesa: 03/04/2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Danilo Grünig Humberto da Silva
UNESP - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto
UFMS - Campus de Três Lagoas

Profa. Dra. Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP)

Prof. Dr. Marcelo Rizzatti Luizon
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Prof. Dr. Marcos André Cavalcante Bezerra
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Nuno Galamba
Universidade de Lisboa (UL)

Dedico este trabalho a todos meus familiares e colegas que me ajudaram até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à **Deus** pelas graças que me têm sido concedidas ao longo desta jornada.

Aos meus pais, **José Antônio e Nigéria**, aos meus avós, **Dirce e Luís**, aos meus tios, **Alisson e Ariadne**, à minha irmã, **Vitória**, e ao meu namorado, **Fabricio**, pelo apoio incondicional, incentivo constante e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Danilo Grünig Humberto da Silva**, pelos ensinamentos, correções, paciência e por acreditar no potencial das nossas pesquisas.

Ao meu coorientador, **Prof. Dr. Marcus Alexandre Finzi Corat**, pelas valiosas contribuições, dicas e pelo constante estímulo ao meu aprendizado.

À um grande professor e pesquisador de longa data, **Prof. Dr. Édis Belini Junior**, pela confiança e pelos conhecimentos compartilhados.

À duas grandes pesquisadoras, **Mayara e Daniela** por dedicarem parte de seu tempo ao meu aprendizado e ao projeto.

À minha grande amiga, **Victoria**, que novamente esteve ao meu lado, sempre muito altruísta e bem-humorada. Eu não poderia desejar por uma amiga melhor para compartilhar essa trajetória de estudo e pesquisa nesses 10 anos que estamos juntas.

Aos **amigos do LGBM**, pelos aprendizados, risadas, conversas e muito cafézinho!

Aos membros da **banca examinadora** por aceitarem contribuir com o presente trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Além disso, também gostaria de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo: 406700/2021- 4) e a Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Fundect, TO: 155/2024) pelos financiamentos.

"O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano."

(Isaac Newton, *Opticks*, 1704).

RESUMO

A anemia falciforme (AF) é uma doença genética caracterizada pela produção de hemoglobina S (HbS), que desencadeia quadros oxidativo e inflamatório crônicos. A melatonina (MEL), um potente antioxidante, tem demonstrado potencial para mitigar os danos oxidativos e modular a homeostase redox. Este estudo investigou os efeitos protetores da MEL em um modelo transgênico de camundongos com AF, divididos em três grupos: controle (SA), transgênicos não tratados (SS) e transgênicos tratados com MEL (SS+MEL; 10 mg/kg por 60 dias). Foram analisados (i) a expressão gênica de genes relacionados ao metabolismo redox (*Nfe2l2*, *Foxo3*, *Mst1*, *Ywhaz*, *Cat*, *Sod1*, *Gpx1*, *Prdx1*, *Trx1*, *Txnip*) e moléculas reguladoras (*Eif2s1*, *Atf4*, *Slc22a4*) em células progenitoras da medula óssea, e a quantificação desses resultados se baseou na derivação da fórmula $2^{-\Delta\Delta CT}$; (ii) atividades enzimáticas de antioxidantes (CAT, GPx, GR, GST, G6PDH, CYB5R) em eritrócitos, por espectrofotometria; e (iii) análises *in silico*, para previsão modos de ligação, estabilidade estrutural dos complexos e avaliação da afinidade de ligação dos ligantes às proteínas-alvo (FoxO3, 14-3-3 PRDX1, TXNIP, e ATF4). As análises estatísticas foram realizadas pelo *General Linear Model*, no formato one-way ANOVA, seguido pelo *post hoc* de Bonferroni. Os resultados mostraram que o tratamento com MEL reduziu a expressão de genes-chave envolvidos na homeostase redox, como *Nfe2l2* e *Foxo3*, enquanto estes se mantiveram elevados nos SS (~3x vs. SA); ainda, o grupo SS apresentou níveis de transcritos reduzidos para a *Sod1*, *Prdx1* e *Trx1* e o tratamento com MEL restaurou para níveis semelhantes aos do grupo controle, enquanto a *Txnip* apresentou níveis reduzidos sob tratamento e semelhantes ao controle nos SS, sugerindo um papel da MEL na modulação das principais vias de adaptação redox. A análise bioquímica revelou atividade ~3,5x elevada da GPx no grupo SS+MEL em relação ao não tratado, indicando que a MEL atuou diretamente no combate das espécies reativas, não havendo o consumo da enzima. Além disso, a MEL reduziu significativamente a expressão de genes envolvidos em vias inflamatórias (*Nlrp3* e *Kit1*), reforçando suas propriedades anti-inflamatórias. As análises *in silico* apontaram para possíveis interações entre a MEL e proteínas envolvidas na regulação redox, como FoxO3, PRDX1 e TXNIP. Esses resultados podem sugerir que a MEL é capaz de modular diretamente a atividade dessas proteínas, corroborando a hipótese de que a MEL atua não apenas como antioxidante direto, mas também como reguladora de vias redox e inflamatórias. Os achados deste estudo destacam o potencial da MEL como uma alternativa terapêutica para a AF, modulando genes fundamentais para adaptação celular em resposta a estressores oxidativos e inflamatórios, de forma semelhante à de tratamentos estabelecidos, como a hidroxycarbamida (HC) e a L-glutamina. Em conclusão, a capacidade da MEL de modular múltiplas vias patogênicas da AF, combinada com seu perfil de segurança, torna-a uma opção viável para melhorar a qualidade de vida dos pacientes e complementar as terapias existentes. Este estudo fornece uma base sólida para futuras investigações sobre o uso da MEL no tratamento de doenças hematológicas caracterizadas por estresse oxidativo e inflamação crônica.

Palavras-chave: hemoglobina S; biologia redox; indolamina; inflamação, homeostase, dinâmica molecular.

ABSTRACT

Sickle cell anemia (SCA) is a genetic disease characterized by the production of hemoglobin S (HbS), which triggers chronic oxidative and inflammatory conditions. Melatonin (MEL), a potent antioxidant, has shown potential to mitigate oxidative damage and modulate redox homeostasis. This study investigated the protective effects of MEL in a transgenic model of SCA mice, divided into three groups: control (SA), untreated transgenics (SS) and transgenics treated with MEL (SS+MEL; 10 mg/kg for 60 days). We analyzed (i) gene expression of genes related to redox metabolism (*Nfe2l2*, *Foxo3*, *Mst1*, *Ywhaz*, *Cat*, *Sod1*, *Gpx1*, *Prdx1*, *Trx1*, *Txnip*) and regulatory molecules (*Eif2s1*, *Atf4*, *Slc22a4*) in bone marrow progenitor cells, and quantification of these results was based on the derivation of the formula $2^{-\Delta\Delta CT}$; (ii) enzymatic activities of antioxidants (CAT, GPx, GR, GST, G6PDH, CYB5R) in erythrocytes, by spectrophotometry; and (iii) *in silico* analyses, to predict binding modes, structural stability of the complexes and evaluation of the binding affinity of the ligands to the target proteins (FoxO3, 14-3-3 PRDX1, TXNIP, and ATF4). Statistical analyses were performed using the General Linear Model, in one-way ANOVA format, followed by Bonferroni's post hoc test. The results showed that MEL treatment reduced the expression of key genes involved in redox homeostasis, such as *Nfe2l2* and *Foxo3*, while these remained elevated in SS (~3x vs. SA); furthermore, the SS group presented reduced transcript levels for *Sod1*, *Prdx1* and *Trx1* and MEL treatment restored them to levels similar to those of the control group, while *Txnip* presented reduced levels under treatment and similar to the control in SS, suggesting a role of MEL in the modulation of the main redox adaptation pathways. Biochemical analysis revealed ~3.5x higher GPx activity in the SS+MEL group compared to the untreated group, indicating that MEL acted directly in combating reactive species, with no consumption of the enzyme. Furthermore, MEL significantly reduced the expression of genes involved in inflammatory pathways (*Nlrp3* and *Kit1*), reinforcing its anti-inflammatory properties. *In silico* analyses pointed to possible interactions between MEL and proteins involved in redox regulation, such as FoxO3, PRDX1 and TXNIP. These results may suggest that MEL is capable of directly modulating the activity of these proteins, corroborating the hypothesis that MEL acts not only as a direct antioxidant, but also as a regulator of redox and inflammatory pathways. The findings of this study highlight the potential of MEL as a therapeutic alternative for SCA, modulating genes essential for cellular adaptation in response to oxidative and inflammatory stressors, similarly to established treatments such as hydroxycarbamide (HC) and L-glutamine. In conclusion, the ability of MEL to modulate multiple pathogenic pathways of SCA, combined with its safety profile, makes it a viable option to improve the quality of life of patients and complement existing therapies. This study provides a solid basis for future investigations into the use of MEL in the treatment of hematologic diseases characterized by oxidative stress and chronic inflammation.

Keywords: hemoglobin S; redox biology; indolamine; inflammation; homeostasis; molecular dynamics.

SUMÁRIO

	PREFÁCIO.....	12
1	INTRODUÇÃO	13
2	RESTORING REDOX HOMEOSTASIS IN SICKLE CELL ANEMIA: MELATONIN AS A PROMISING ANTIOXIDANT THERAPY	23
3	COMPILAÇÃO DE ARTIGOS NA MESMA TEMÁTICA.....	64
3.1	FOXO3 AND OXIDATIVE STRESS: A MULTIFACETED ROLE IN CELLULAR ADAPTATIONS	65
3.2	DISRUPTED HOMEOSTASIS IN SICKLE CELLS: EXPANDING THE COMPREHENSION OF METABOLISM ADAPTATION AND RELATED THERAPEUTIC STRATEGIES	82
3.3	MELATONIN’S ROLE IN REDOX HOMEOSTASIS: A PRECLINICAL AND CLINICAL PERSPECTIVE.....	112
4	CONCLUSÃO.....	129
	REFERÊNCIAS.....	130
	ANEXO I - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/UNICAMP)	134
	ANEXO II – OUTRAS PUBLICAÇÕES DURANTE O PERÍODO DE DOUTORADO.....	149

1 INTRODUÇÃO

As espécies reativas de oxigênio (ERO) influenciam significativamente a manutenção da homeostase celular, podendo ser geradas naturalmente em processos aeróbicos ou por algum distúrbio biológico (Jomova et al., 2023; Yoshikawa; You, 2024). As ERO servem como moléculas de sinalização redox, regulando processos biológicos e fisiológicos, como regulação da proliferação celular, apoptose e expressão gênica (Forman; Zhang, 2021; Yoshikawa; You, 2024), termo conhecido como eustresse (Jomova et al., 2023). Por outro lado, uma elevada produção de ERO ou diminuição da capacidade antioxidante da célula pode ocasionar estresse oxidativo (EO), culminando em um acúmulo de lesões oxidativas em diferentes biomoléculas, como DNA, proteínas e lipídios, situação conhecida como distresse oxidativo (Jomova et al., 2023), cujo dano provocado à célula pode manifestar-se clinicamente de diferentes formas (Sies; Berndt; Jones, 2017) (Figura 1). Assim, hoje, o EO está relacionado como causa ou consequência de dezenas de doenças humanas (Forman; Zhang, 2021; Yoshikawa; You, 2024), dentre elas, a anemia falciforme (Bernardo et al., 2025).

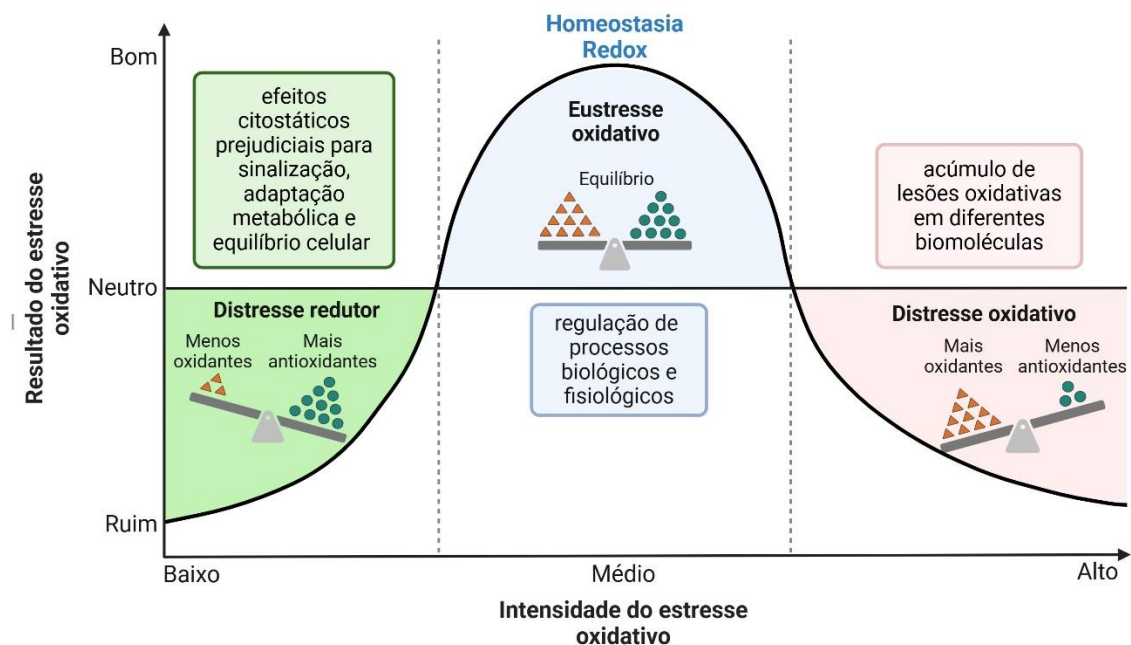


Figura 1. Relação entre a intensidade do estresse oxidativo e seus efeitos nos processos biológicos e fisiológicos, destacando três estados principais. No distresse redutor, a baixa intensidade do estresse oxidativo é caracterizada por um excesso de antioxidantes em relação aos oxidantes, resultando em efeitos citostáticos que prejudicam a sinalização celular, a adaptação metabólica e o equilíbrio celular. No eustresse oxidativo, há um equilíbrio dinâmico entre oxidantes e antioxidantes, promovendo a regulação de processos biológicos e fisiológicos, essenciais para a manutenção da homeostase redox. No distresse oxidativo, a alta intensidade do estresse oxidativo resulta em um acúmulo de espécies reativas de oxigênio e uma redução nos níveis de antioxidantes, levando a lesões oxidativas em biomoléculas, como lipídeos, proteínas e DNA, contribuindo para a disfunção celular e o desenvolvimento de doenças crônicas. A figura ressalta a importância de manter o equilíbrio redox para preservar a saúde celular. Fonte: próprio autor utilizando Biorender.com.

A doença falciforme (DF) define um grupo de doenças genéticas representadas por mutações no gene da β globina (HBB) e que se tem a presença do alelo β^S . A mutação pontual que leva ao alelo β^S (HBB; c.20A>T; rs334), resulta em uma hemoglobina (Hb) variante, chamada HbS, a qual apresenta a substituição do ácido glutâmico (características hidrofílicas) por valina (características hidrofóbicas) na posição 6 da cadeia polipeptídica. Na DF, a HbS pode ser herdada com outras Hb variantes ou talassemia β , porém, a forma mais prevalente e grave da doença é decorrente da homozigose, ocasionando a chamada anemia falciforme (AF) (Kato et al., 2018; Sundd; Gladwin; Novelli, 2019). A simplicidade da mutação genética que ocasiona a AF subestima a complexidade da doença. O evento primário responsável pelas inúmeras consequências fisiopatológicas da AF é a polimerização da HbS, a qual ocorre devido à sua baixa afinidade pelo oxigênio, favorecendo cineticamente um aumento dos níveis de HbS desoxigenada, a qual, por sua vez, polimeriza rapidamente (Kato et al., 2018; Williams; Thein, 2018). Este processo induz uma mudança conformacional levando à formação de um polímero de Hb. À medida que as fibras poliméricas se estendem, rompem o citoesqueleto eritrocitário e formam protrusões, ocasionando assim modificações na sua arquitetura, dando origem a aparência de foice, e também em sua flexibilidade e propriedades reológicas (Sundd; Gladwin; Novelli, 2019; Vona et al., 2021), desencadeando uma cascata de eventos que afeta diversos tecidos (Williams; Thein, 2018).

A oxidação da HbS e os polímeros também afetam de forma adversa proteínas estruturais de membrana, como a banda 3, resultando na microvesiculação da membrana e na liberação de micropartículas derivadas de eritrócitos (Kato et al., 2018; Vona et al., 2021). Além disso, a polimerização e a falcização interferem na conexão da membrana com o citoesqueleto, resultando na exposição de epítomos de proteínas transmembrana e na redistribuição lipídica, particularmente da fosfatidilserina (PS), entre as faces interna e externa da célula. Esse processo contribui para o aumento da hemólise, disfunção endotelial, interações entre eritrócitos, leucócitos e plaquetas, além da ativação das vias de coagulação (Kato et al., 2018; Vona et al., 2021). Sendo assim, episódios recorrentes de polimerização e falcização desencadeiam alterações significativas na função e estrutura da membrana, além de ocasionar compartimentação anormal do cálcio e, eventualmente, resultam em células irreversivelmente falciformes (Kato et al., 2018; Williams; Thein, 2018).

Vale ressaltar que na AF, ocorre um aumento das ERO, as quais são geradas por eritrócitos falcêmicos, bem como por leucócitos ativados, plaquetas, células endoteliais e enzimas plasmáticas. Vários mecanismos contribuem para a formação de ERO em tecidos de pacientes com AF, como (i) aumento da atividade de nicotinamida-adenina dinucleotídeo

fosfato (NADPH) oxidase e xantina oxidase endotelial (XO), (ii) taxas elevadas de autooxidação de HbS, produzindo ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), (iii) liberação de heme e ferro, que atua ativando células endoteliais, macrófagos e neutrófilos e promove a formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs - NETose) (iv) aumento da dimetilarginina assimétrica (ADMA) e (v) desacoplamento da atividade da óxido nítrico sintase (NOS) e diminuição da biodisponibilidade de $NO^{\bullet}$ (Bernardo et al., 2025; Pavitra et al., 2024; Vona et al., 2021; Williams; Thein, 2018). Isso torna o eritrócito falciforme mais frágil, suscetível a danos oxidativos e altamente instável, reduzindo sua vida útil em $\geq 75\%$ (Kato et al., 2018).

Essa superprodução de ERO se não for rapidamente contida, pode desencadear uma série de eventos que levam à inflamação persistente, que, por outro lado, pode causar EO ao estimular constantemente as células imunes, o que pode levar a um ciclo vicioso de ambos (revisado em (Aboderin et al., 2023)). Importantes participantes desse processo incluem c-Kit, um receptor de tirosina quinase envolvido na regulação de células-tronco hematopoiéticas e respostas imunes (Martinez-Anton et al., 2019), e o inflamassomo domínio de ligação a nucleotídeos e repetições ricas em leucina (NLR) e receptor contendo domínio pirina 3 (NLRP3), um complexo multiproteico que promove a produção de citocinas pró-inflamatórias em resposta ao estresse e danos celulares (Salgar et al., 2023). A desregulação dessas vias pode exacerbar o EO e a inflamação, contribuindo ainda mais para a cascata patológica da AF (revisado na figura 2).

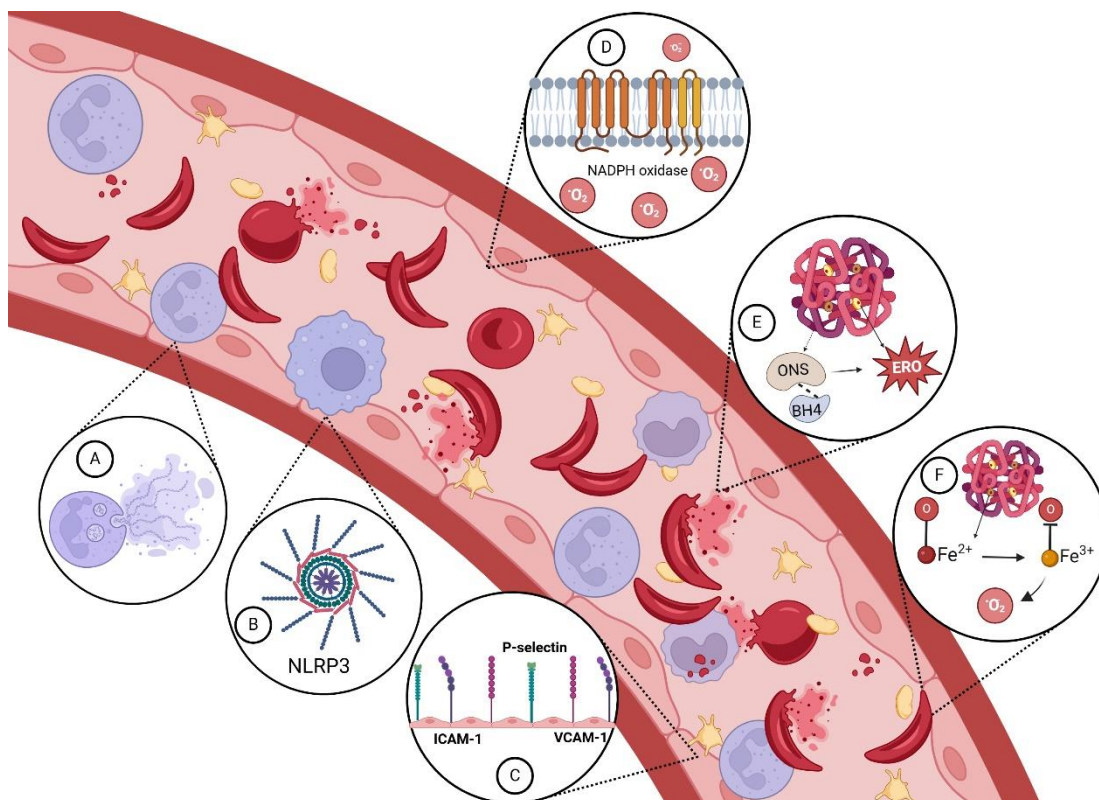


Figura 2. Representação esquemática das principais vias moleculares e celulares envolvidas na fisiopatologia da anemia falciforme. A liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (A) pelos neutrófilos contribui para o aumento da inflamação e adesão celular, promovendo a agregação de células endoteliais, plaquetas e leucócitos e intensificando os eventos vaso-oclusivos. A ativação do inflamassomo NLRP3 (B), estimulada por padrões moleculares associados a danos (DAMPs), como heme livre e ferro circulante (E – direita), aumenta a liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e IL-18), exacerbando a disfunção endotelial e promovendo o ciclo inflamatório. As células endoteliais e plaquetas apresentam superexpressão de moléculas de adesão, como ICAM-1, VCAM-1 e P-selectina (C), facilitando a adesão e interação com glóbulos vermelhos falciformes e outras células inflamatórias. Adicionalmente, a ativação da NADPH oxidase eleva ainda mais a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (D), criando um ciclo de estresse oxidativo e inflamação, que perpetua as lesões vasculares e crises vaso-oclusivas. A hemólise intravascular libera hemoglobina livre, que sequestra óxido nítrico (ON), reduzindo sua biodisponibilidade, além da doença também contar com o desacoplamento da óxido nítrico sintase (ONS) de seu cofator tetraidrobiopterina (BH4), fazendo com que a enzima se dissocie em monômeros gerando $O_2^{\bullet-}$ em vez de $\bullet NO$ (E – esquerda), contribuindo para o aumento do estresse oxidativo vascular. Ainda, na anemia falciforme, a hemoglobina S apresenta alta taxa de auto oxidação, resultando na geração exacerbada de ERO (F). Este processo amplifica os danos oxidativos às células endoteliais e promove mais inflamação. Este ciclo inflamatório e oxidativo demonstra a complexidade das complicações microvasculares da anemia falciforme, destacando a necessidade de potenciais agentes terapêuticos para atenuar a inflamação, o estresse oxidativo e suas consequências clínicas. Fonte: próprio autor utilizando Biorender.com.

Ainda que o dano molecular seja uma mutação de um único ponto, o gene *HBB*^S é pleiotrópico por natureza, ocasionando um conjunto complexo de processos fisiopatológicos que integram as múltiplas complicações da doença. As células falciformes, a partir de interações com neutrófilos e plaquetas ativados e adesão ao endotélio vascular, ocasionam oclusão microvascular levando à isquemia e hipóxia tecidual seguida de vasodilatação e lesão de reperusão, gerando, por exemplo, crises de dor e vasclusão, hipertensão pulmonar e insuficiência cardíaca, os quais constituem os sintomas característicos da doença (Kato et al.,

2018; Sundd; Gladwin; Novelli, 2019). O manejo da AF e suas complicações continua a ser principalmente de natureza paliativa, o advento de abordagens preventivas para a terapia é promissor, como a hidroxicarbamida (HC), a qual tem sucesso na diminuição da frequência das crises vaso-oclusivas (Kato et al., 2018; Williams; Thein, 2018). Ainda assim, mesmo com o melhor suporte disponível, a expectativa de vida permanece reduzida em aproximadamente 30 anos (Kato et al., 2018). Desta forma, a busca por alternativas farmacoterapêuticas que possam ser usadas isoladamente ou em combinação com HC é bastante válida e necessária para um melhor tratamento da doença. Uma alternativa terapêutica potencial que merece destaque é a melatonina, já tendo sido descrito que esta é capaz de contrapor os efeitos negativos ocasionados pelos oxidantes previamente mencionados que se encontram elevados na AF (Chitimus et al., 2020; Galano; Tan; Reiter, 2011; Kantar et al., 2015).

A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina; MEL) é uma indolamina com ocorrência universal ao longo de diferentes táxons e com grande potencial antioxidante. Esta indolamina, derivada do aminoácido triptofano, e seus metabólitos constituem uma família química particularmente eficiente no combate ao EO (Galano; Reiter, 2018; Reiter et al., 2014). Diversos estudos já comprovaram que a MEL possui a maioria das características desejáveis de bons antioxidantes, como: ser anfifílica; ser produzida por diversos tecidos; ter metabólitos que ainda apresentam atividade antioxidante; ter toxicidade mínima; ser um quelante de íons metálicos que estão envolvidos nas reações de Haber-Weiss e Fenton, impedindo assim a formação de $\bullet\text{OH}$; aumenta a eficiência da transferência de elétrons entre os complexos respiratórios mitocondriais, reduzindo assim o vazamento de elétrons e a formação de radicais livres; e, por fim atuar como um antioxidante de amplo espectro, podendo atuar diretamente como antioxidante, ao interagir com radicais livres e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, inativando-os, ou de forma indireta, modulando a atividade e/ou expressão de moléculas produtoras de espécies reativas ou de integrantes do sistema antioxidante celular, tanto in vitro quanto in vivo (Galano; Reiter, 2018; Galano; Tan; Reiter, 2011; Reiter et al., 2014).

Além disso, estudos já demonstraram outras importantes ações da MEL que poderiam atenuar a fisiopatologia e manifestações da AF. A MEL apresenta ações anti-inflamatórias reduzindo os danos ocasionados em lesões pulmonares por isquemia-reperfusão e lesão cerebral, suprimindo a ativação de ciclooxygenase-2, inflamassomo NLRP3, *Toll like receptor 4* (TLR4) e sinalização *mammalian target of rapamycin* (mTOR) e ainda, a utilização de MEL exógena já demonstrou influenciar a atividade da sirtuina 1 (SIRT1), que exerce efeitos anti-inflamatórios, atenuando assim a resposta inflamatória (revisado em WANG; GAO, 2021). Ainda, devido a seu potente efeito anti-inflamatório, está envolvida na atenuação da dor

associada à inflamação. Estudo de Hemati et al. (2021) demonstrou que a MEL possui propriedades analgésicas quando administrada sozinha ou em combinação com outras drogas antinociceptivas, como a morfina, revertendo a tolerância deste opioide, ocasionada pela administração crônica do mesmo, por meio da regulação de várias vias de sinalização celular (Hemati et al., 2021). Além do mais, em estudos murinos, a MEL apresentou efeitos protetores no fígado, rim e tecidos musculares ao prevenir os processos de peroxidação lipídica (produção de dienos conjugados e malondialdeído), e limitou o dano às proteínas por meio da manutenção da capacidade funcional do sistema redox, reduzindo significativamente os níveis de derivados de aldeído e cetona, além de estabilizar membranas de eritrócitos (Kurhaluk et al., 2017, 2020); atuando também, na redução dos níveis de moléculas de adesão e leucócitos aderidos (Tamura et al., 2010) (Figura 3).

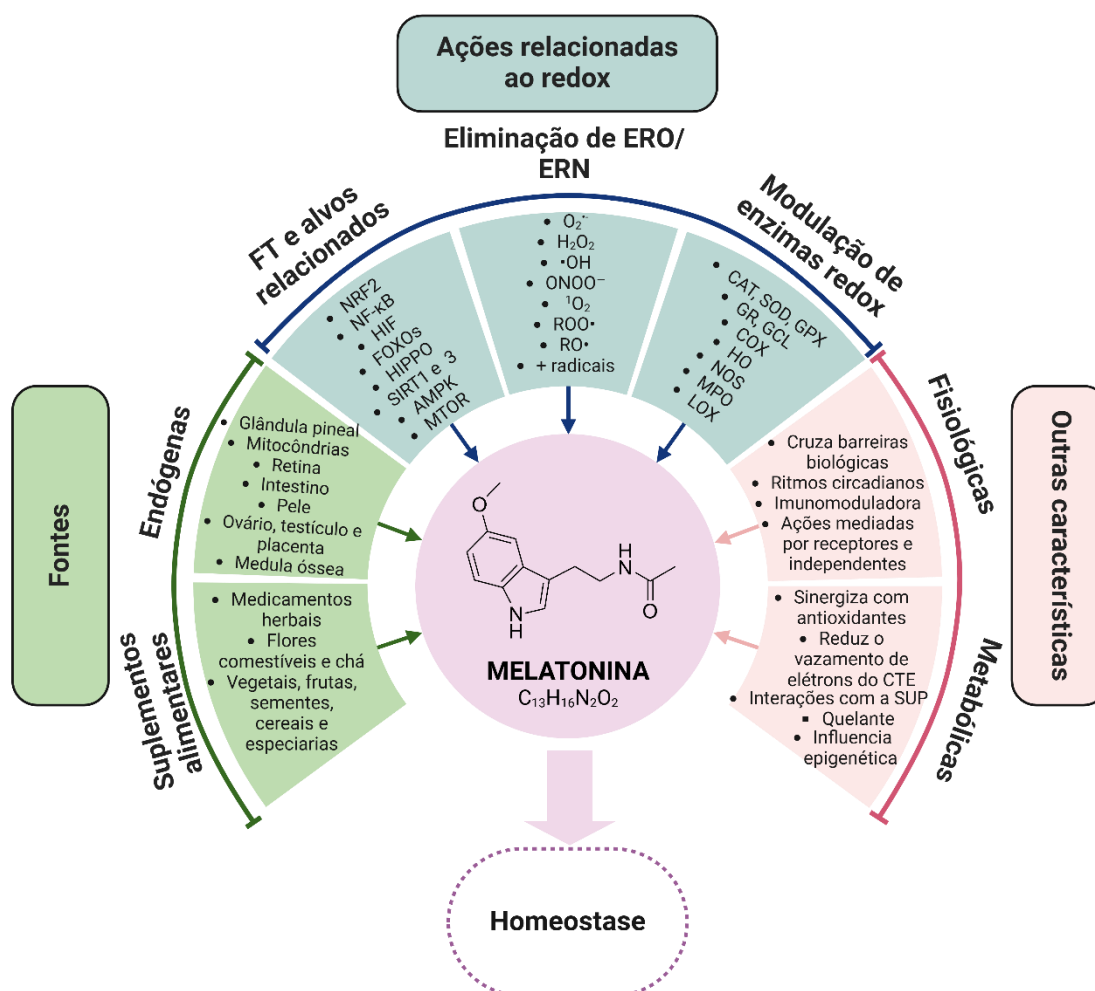


Figura 3. Papel da melatonina na manutenção da homeostase redox e suas múltiplas fontes, ações e características. FT, fator de transcrição; Nrf2, nuclear factor erythroid 2–related factor 2; NF- κ B, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; HIF, hypoxia-inducible factor; FOXO, forkhead box class O; SIRT, sirtuina; AMPK, AMP-activated protein kinase; mTOR, mammalian target of rapamycin; ERO, espécies reativas de oxigênio; ERN, espécies reativas de nitrogênio; $O_2^{\cdot-}$, superóxido; H_2O_2 , peróxido de hidrogênio; $\cdot OH$,

radical hidroxila; ONOO⁻, peroxinitrito; ¹O₂, oxigênio singlete; ROO[•], radical peroxila; CAT, catalase; SOD, superóxido dismutase; GR, glutathiona redutase; GCL, glutamato cisteína ligase; COX, ciclooxigenase; HO, heme oxigenase; NOS, óxido nítrico sintase; MPO, mieloperoxidase; LOX, lipoxigenase; CTE, cadeia de transporte de elétrons; SUP, sistema ubiquitina-proteassomo (Adaptado de (Torres et al., 2025)).

O sistema antioxidante endógeno, além de contar com a MEL como um mecanismo de defesa não enzimático, inclui enzimas antioxidantes como a glutathiona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) (Halliwell, 2024; Jomova et al., 2023). Além disso, a tioredoxina (TRX) e peroxiredoxinas (PRDXs), também têm funções essenciais no sistema de defesa antioxidante. A primeira além de atuar reduzindo proteínas oxidadas, é capaz de doar elétrons para as PRDX, sendo a PRDX6 exceção visto que usa a glutathiona (GSH) como seu redutor fisiológico, e estas atuam na redução de peróxidos e hidroperóxidos orgânicos (Forman; Zhang, 2021; Halliwell, 2024). Além disso, a proteína de interação com tioredoxina (TXNIP) atua como elemento central no equilíbrio redox, controlando a atividade da TRX ou sua disponibilidade para outros processos fisiológicos, como no controle da homeostase da glicose e na diferenciação de precursores eritroides de camundongos (Yoshihara et al., 2014). Ainda, a defesa enzimática conta também com a glutathiona redutase (GR) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), que dão suporte a outros antioxidantes em vez de neutralizar diretamente os radicais livres (Jomova et al., 2023; Van Zwieten; Verhoeven; Roos, 2014). Estes importantes agentes do combate ao EO têm sua expressão regulada por fatores de transcrição (FT), tais como FoxO3, Nrf2 e ATF4.

O Forkhead Box O3 (FoxO3) é um fator de transcrição que desempenha um papel crucial na regulação de uma ampla gama de processos celulares como apoptose, reparo de DNA, metabolismo, pluripotência, diferenciação e resistência ao EO (Calissi; Lam; Link, 2021). Dentre os alvos deste FT podemos citar SODs, CAT, PRDXs e GPx1 (Klotz et al., 2015). Sua atividade é negativamente controlada pela via *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K)-*protein kinase B* (AKT), que promove a fosforilação do FoxO3, facilitando sua interação com a chaperona 14-3-3, a qual o retém no citoplasma, inibindo assim sua função transcricional no núcleo. A via antagônica conta com a ativação da *Mammalian Sterile 20-like kinase 1* (MST1) em situações de EO, como o aumento de ERO; o que ocasiona a fosforilação deste FT em locais distintos, possibilitando sua realocação nuclear, onde dependendo da intensidade do estímulo, ativa genes pró-apoptóticos e antioxidantes (Bernardo; Torres; da Silva, 2023; Calissi; Lam; Link, 2021). Essa regulação flexível possibilita que o FoxO3 funcione como um mediador de sinais celulares, equilibrando sua atuação entre favorecer a sobrevivência celular em condições normais e desencadear respostas ao estresse ou apoptose em momentos de EO ou distresse

oxidativo, desempenhando um papel crucial na preservação da homeostase e no gerenciamento do processo de envelhecimento celular (Calissi; Lam; Link, 2021; Rodriguez-Colman; Dansen; Burgering, 2024).

Outro importante FT que desempenha papel central no controle da expressão de enzimas de defesa antioxidantes é o *nuclear factor erythroid 2–related factor 2* (Nrf2). Devido a ligação constante de *Kelch-like-ECH-associated protein 1* (KEAP1), um adaptador sensível ao ambiente redox para o complexo CUL3-RBX1 ubiquitina ligase, e subsequente degradação proteassomal, o Nrf2 está presente em baixas quantidades em circunstâncias basais (eustresse) (He; Ru; Wen, 2020; Murakami et al., 2023). Quando as cisteínas do KEAP1 se tornam oxidadas, o complexo KEAP1-NRF2 é interrompido, e a quantidade de Nrf2 nas células é temporariamente ou constitutivamente induzida (distresse). No núcleo, o Nrf2 ativado se acumula e interage com FT e cofatores adicionais para controlar a transcrição de seus genes alvo, que codificam proteínas associadas à inflamação, metabolismo, desintoxicação e antioxidantes (He; Ru; Wen, 2020). Desta forma, o Nrf2 ativa uma ampla gama de alvos envolvidos com a defesa celular, como a SOD1, CAT, GPx1, TRX1, GST, Tiorredoxina Redutase (TRXR), sulfirredoxina (Srx), PRDXs (He; Ru; Wen, 2020), além de estimular a transcrição de γ -Globina (Zhu; Li; Pace, 2017) e, estima-se, outras centenas de genes envolvidos na proteção celular.

Outra proteína redox que regula uma série elementos relacionados ao combate ao EO, assim como Nrf2, é o *Activating Transcription Factor 4* (ATF4), um FT essencial na resposta integrada ao estresse (RIE), um mecanismo celular que ajusta a expressão gênica em resposta a condições adversas, onde quatro enzimas, operando sozinhas ou em conjunto, respondem a estímulos como: (i) EO ou deficiência de heme; (ii) infecção viral; (iii) privação de nutrientes e luz UV; (iv) estresse do retículo endoplasmático ou hipóxia (Tang et al., 2024). A fosforilação do eIF2 α (*eukaryotic initiation factor 2 alpha*), mediada por diversas quinases de estresse, reduz a tradução geral das proteínas, mas favorece a tradução seletiva de RNAm, incluindo o de ATF4 (Neill; Masson, 2023). Uma vez traduzido, o ATF4 regula a transcrição de genes envolvidos na restauração da homeostase celular, promovendo adaptações metabólicas, como a produção de antioxidantes, inclusive estimulando a produção de NADPH, e a síntese de proteínas de reparo, ou, em casos extremos, direcionando a célula para a apoptose (Tang et al., 2024; Wortel et al., 2017). Assim, o ATF4 atua como um elemento central na RIE, integrando sinais de estresse e orquestrando respostas adaptativas para a sobrevivência ou morte celular.

Em relação às vias de sinalização supramencionadas, diversos estudos demonstraram que a MEL influencia diretamente vias centrais para a manutenção redox e homeostase celular

(extensivamente revisado em (Torres et al., 2025)). Já foi descrito que a MEL aumenta os níveis celulares de Nrf2 em vários modelos de indução de EO (revisado em (Vriend; Reiter, 2015)). Além disso, também reduz alterações histopatológicas através da redução de ERO e inflamação pela ativação de Nrf2 (Zhu et al., 2023), sendo capaz também de inibir o inflamassomo NLRP3 pela ativação do FT em questão (Kang et al., 2022). Já foi demonstrado também que a MEL pode modular a expressão do FoxO3 em diferentes modelos de estresse, tanto a nível gênico quanto proteico (Al-shahat et al., 2022; Chen et al., 2021; Torres et al., 2022; Zhao et al., 2018), além de aumentar significativamente a atividade deste FT a partir de sua localização nuclear aumentada (Carbajo-Pescador et al., 2013). Além disso, a MEL também influencia o ATF4, levando a uma redução do estresse do retículo endoplasmático em diferentes modelos (Fernández et al., 2015; Hao et al., 2024; Salem et al., 2023; Zhou et al., 2020).

Assim, para melhor entender a ação da MEL no combate ao EO e inflamação característicos da AF, a utilização de camundongos transgênicos é uma boa alternativa. Apesar de algumas diferenças, como a esplenomegalia com expansão significativa da hematopoiese esplênica, uma similaridade com pacientes é a imunidade inata alterada e inflamação crônica (Kamimura et al., 2024) (Figura 4). Além disso, semelhante a muitos pacientes humanos com AF, os camundongos desenvolvem uma anemia hemolítica grave, com consequências fisiopatológicas em múltiplos órgãos (Kamimura et al., 2024), mas apesar da anemia crônica, a maioria dos animais sobrevivia por 2 a 9 meses e é fértil (Pászty et al., 1997). Assim, o uso de camundongos transgênicos para AF como modelo experimental possibilitou e ainda possibilita considerável expansão da compreensão da fisiopatologia complexa da AF; e principalmente, o estudo de terapias medicamentosas alternativas para o tratamento de pessoas com a AF de forma singular, visto que apresentam efeitos de tratamento semelhantes aos humanos (Kamimura et al., 2024).

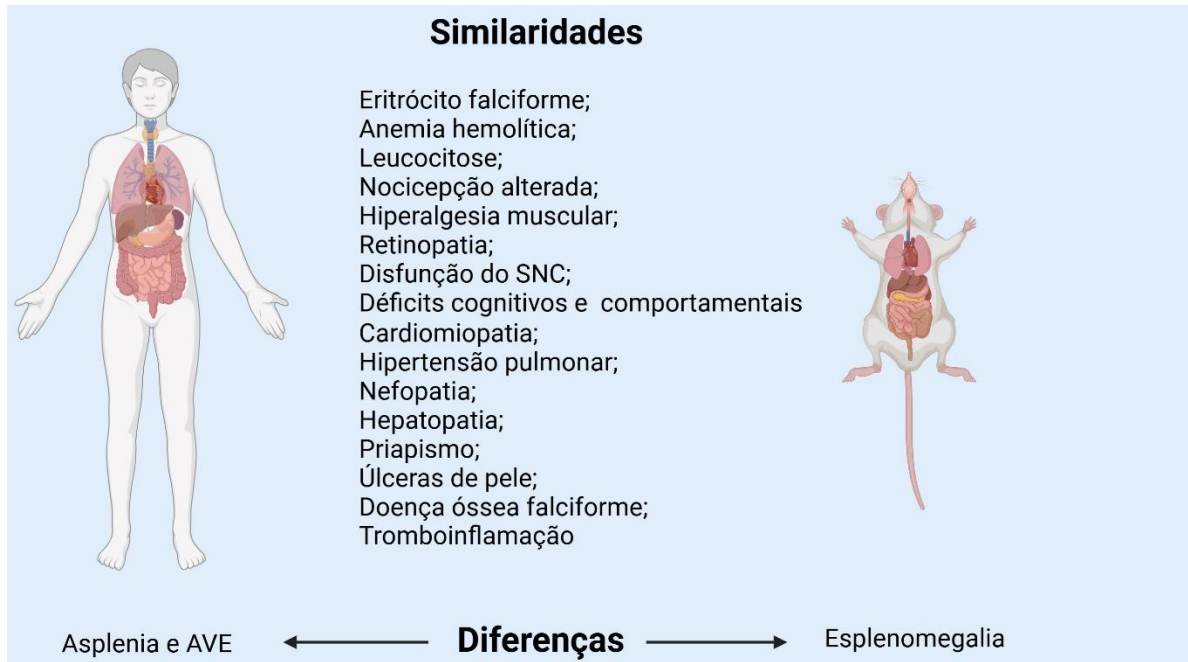


Figura 4. Principais similaridades e diferenças entre humanos e camundongos transgênicos com AF. SNC, sistema nervoso central; AVE, acidente vascular encefálico; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média. Adaptado de (Kamimura et al., 2024).

Dessa forma, a presente proposta visou fornecer conhecimentos específicos e inéditos sobre mecanismos celulares de adaptação redox indispensáveis para homeostase e sobrevivência em modelo de camundongos transgênicos para AF, visando evidenciar os efeitos promissores da MEL no controle ou redução de danos causados por EO. Atrélado a seu nível sérico cerca de três vezes diminuídos em pessoas com AF em relação a indivíduos saudáveis (Shimauti et al., 2010), é justificada esta investigação mais aprofundada dos possíveis efeitos benéficos da suplementação desse antioxidante biológico; fornecendo assim preceitos fundamentais para futura implementação deste antioxidante como alternativa terapêutica no tratamento da AF, bem como de diferentes doenças hematológicas humanas com quadros clínicos caracterizados por EO e inflamação crônicos.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que:

❖ **MEL apresenta efeito antioxidante:**

- A MEL demonstrou capacidade de reduzir o estresse oxidativo em camundongos transgênicos com AF, modulando a expressão de genes centrais da biologia redox (*Nfe2l2* e *Foxo3*).
- A MEL manteve níveis de transcritos de antioxidantes importantes, como *Sod1*, *Prdx1* e *Trx1*, semelhantes aos do grupo controle, sugerindo que estas proteínas, que desempenham diversas funções, não só relacionadas ao estresse foram mantidas; enquanto agiu reduzindo a expressão da linha de defesa primária antioxidante (*Cat* e *Gpx1*), sugerindo sua ação direta como antioxidante.
- O tratamento com MEL manteve níveis elevados da atividade da enzima GPx, indicando uma sua ação direta como antioxidante, não havendo necessidade do consumo da enzima.
- Os resultados sugerem que a MEL poderia influenciar positivamente a atividade de outras enzimas antioxidantes, como a GR e a G6PDH, que são essenciais para a manutenção do equilíbrio redox.

❖ **MEL reduz inflamação:**

- A MEL reduziu a expressão de marcadores relacionado ao processo inflamatório, como *Nlrp3* e *Kit1*, sugerindo um efeito anti-inflamatório significativo.

❖ **MEL é capaz de interagir diretamente com proteínas redox:**

- A análise *in silico* revelou que a MEL possui alta afinidade de ligação com proteínas envolvidas na regulação redox, como FoxO3, PRDX1 e TXNIP, sugerindo que a MEL pode modular diretamente essas proteínas, o que poderia contribuir com a estabilidade das mesmas e com sua ação como antioxidante.

❖ **MEL apresenta grande potencial terapêutico:**

- A MEL pode ser uma terapia complementar promissora para a AF, com potencial para reduzir a gravidade da doença e melhorar a qualidade de vida dos pacientes, oferecendo proteção adicional contra o estresse oxidativo e a inflamação.
- Os resultados sugerem que a MEL pode ser uma opção viável para ensaios clínicos de fase 2, visando avaliar sua eficácia e segurança em pacientes com AF.

REFERÊNCIAS

- ABODERIN, F. I. et al. A Review of the Relationship between the Immune Response, Inflammation, Oxidative Stress, and the Pathogenesis of Sick Cell Anaemia. *Biomedicines*, [s. l.], v. 11, n. 9, p. 2413, 2023.
- AL-SHAHAT, A. et al. Melatonin Mitigates Cisplatin-Induced Ovarian Dysfunction via Altering Steroidogenesis, Inflammation, Apoptosis, Oxidative Stress, and PTEN/PI3K/Akt/mTOR/AMPK Signaling Pathway in Female Rats. *Pharmaceutics*, [s. l.], v. 14, n. 12, p. 2769, 2022.
- BERNARDO, V. S. et al. Disrupted homeostasis in sickle cells: Expanding the comprehension of metabolism adaptation and related therapeutic strategies. *Tissue and Cell*, [s. l.], v. 93, p. 102717, 2025.
- BERNARDO, V. S.; TORRES, F. F.; DA SILVA, D. G. H. FoxO3 and oxidative stress: a multifaceted role in cellular adaptation. *Journal of Molecular Medicine*, [s. l.], v. 101, n. 1–2, p. 83–99, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00109-022-02281-5>.
- CALISSI, G.; LAM, E. W. F.; LINK, W. Therapeutic strategies targeting FOXO transcription factors. *Nature Reviews Drug Discovery*, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 21–38, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41573-020-0088-2>.
- CARBAJO-PESCADOR, S. et al. Melatonin induces transcriptional regulation of Bim by FoxO3a in HepG2 cells. *British Journal of Cancer*, [s. l.], v. 108, n. 2, p. 442–449, 2013.
- CHEN, Z. et al. Anti-Apoptosis and Autophagy Effects of Melatonin Protect Rat Chondrocytes against Oxidative Stress via Regulation of AMPK/Foxo3 Pathways. *Cartilage*, [s. l.], v. 13, n. 2_suppl, p. 1041S-1053S, 2021.
- CHITIMUS, D. M. et al. Melatonin's Impact on Antioxidative and Anti-Inflammatory Reprogramming in Homeostasis and Disease. *Biomolecules*, [s. l.], v. 10, p. 1–28, 2020.
- FERNÁNDEZ, A. et al. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: Relation to autophagy and apoptosis. *Journal of Pineal Research*, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 292–307, 2015.
- FORMAN, H. J.; ZHANG, H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, [s. l.], v. 20, n. 9, p. 689–709, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>.
- GALANO, A.; REITER, R. J. Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: From individual actions to collective protection. *Journal of Pineal Research*, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 1–33, 2018.
- GALANO, A.; TAN, D. X.; REITER, R. J. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: A physicochemical examination. *Journal of Pineal Research*, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 1–16, 2011.
- HALLIWELL, B. Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 13–33, 2024.
- HAO, E. et al. Melatonin alleviates endoplasmic reticulum stress and follicular granulosa cell apoptosis by regulating ATF4 to activate mTOR signaling pathway in chickens. *Poult Sci*, [s. l.], v. 103, n. 6, p. 103656, 2024.

HE, F.; RU, X.; WEN, T. NRF2, a transcription factor for stress response and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], v. 21, n. 13, p. 4777, 2020.

HEMATI, K. et al. Melatonin and morphine: potential beneficial effects of co-use. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 25–39, 2021.

JOMOVA, K. et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, [s. l.], v. 97, n. 10, p. 2499–2574, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>.

KAMIMURA, S. et al. Mouse models of sickle cell disease: Imperfect and yet very informative. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, [s. l.], v. 104, p. 102776, 2024.

KANG, J.-Y. et al. Melatonin attenuates LPS-induced pyroptosis in acute lung injury by inhibiting NLRP3-GSDMD pathway via activating Nrf2/HO-1 signaling axis. *Int Immunopharmacol*, [s. l.], v. 109, p. 108782, 2022.

KANTAR, Ş. et al. Beneficial effects of melatonin on serum nitric oxide, homocysteine, and ADMA levels in fructose-fed rats. *Pharmaceutical Biology*, [s. l.], v. 53, n. 7, p. 1035–1041, 2015.

KATO, G. J. et al. Sickle cell disease. [S. l.]: Nature Publishing Group, 2018.

KLOTZ, L. et al. Redox regulation of FoxO transcription factors. *Redox Biology*, [s. l.], v. 6, p. 51–72, 2015.

KURHALUK, N. et al. Melatonin maintains the function of the blood redox system at combined ethanol-induced toxicity and subclinical inflammation in mice. *Sleep Breath*, [s. l.], v. in print, 2020.

KURHALUK, N. et al. Melatonin restores white blood cell count, diminishes glycated haemoglobin level and prevents liver, kidney and muscle oxidative stress in mice exposed to acute ethanol intoxication. *Alcohol and Alcoholism*, [s. l.], v. 52, n. 5, p. 521–528, 2017.

MARTINEZ-ANTON, A. et al. KIT as a therapeutic target for non-oncological diseases. *Pharmacology and Therapeutics*, [s. l.], v. 197, p. 11–37, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.12.008>.

MURAKAMI, S. et al. NRF2 signalling in cytoprotection and metabolism. *British Journal of Pharmacology*, [s. l.], p. 1–14, 2023.

NEILL, G.; MASSON, G. R. A stay of execution: ATF4 regulation and potential outcomes for the integrated stress response. *Front Mol Neurosci*, [s. l.], v. 16, p. 1–14, 2023.

PÁSZTY, C. et al. Transgenic knockout mice with exclusively human sickle hemoglobin and sickle cell disease. *Science*, [s. l.], v. 278, n. 5339, p. 876–878, 1997.

PAVITRA, E. et al. Impacts of oxidative stress and anti-oxidants on the development, pathogenesis, and therapy of sickle cell disease: A comprehensive review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, [s. l.], v. 176, p. 116849, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116849>.

REITER, R. J. et al. Melatonin: Exceeding Expectations. *Physiology*, [s. l.], v. 29, n. 5, p. 325–333, 2014.

RODRIGUEZ-COLMAN, M. J.; DANSEN, T. B.; BURGERING, B. M. T. FOXO transcription factors as mediators of stress adaptation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 46–64, 2024.

SALEM, H. M. A. et al. Melatonin ameliorates high glucose-induced autophagy in Schwann cells. *Int J Biochem Mol Biol*, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 25–31, 2023.

SALGAR, S. et al. The NLRP3 inflammasome fires up heme-induced inflammation in hemolytic conditions. *Transl Res*, [s. l.], v. 252, p. 34–44, 2023.

SHIMAUTI, E. L. T. et al. Serum melatonin level and oxidative stress in sickle cell anemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, [s. l.], v. 45, n. 4, p. 297–301, 2010.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem*, [s. l.], v. 86, p. 715–748, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem->.

SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, [s. l.], v. 14, p. 263–292, 2019.

TAMURA, E. K. et al. Long-Lasting Priming of Endothelial Cells by Plasma Melatonin Levels. *Plos One*, [s. l.], v. 5, n. 11, p. 1–7, 2010.

TANG, H. et al. ATF4 in cellular stress, ferroptosis, and cancer. *Archives of Toxicology*, [s. l.], v. 98, n. 4, p. 1025–1041, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03681-x>.

TORRES, F. F. et al. Influence of Melatonin Treatment on Cellular Mechanisms of Redox Adaptation in K562 Erythroleukemic Cells. *Genes*, [s. l.], v. 13, n. 12, 2022.

TORRES, F. F. et al. Melatonin's Role in Redox Homeostasis: A Preclinical and Clinical Perspective. [S. l.]: Elsevier, 2025-. ISSN 2950-1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prenap.2025.100147>.

VAN ZWIETEN, R.; VERHOEVEN, A. J.; ROOS, D. Inborn defects in the antioxidant systems of human red blood cells. *Free Radical Biology and Medicine*, [s. l.], v. 67, p. 377–386, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.022>.

VONA, R. et al. Sickle cell disease: Role of oxidative stress and antioxidant therapy. [S. l.]: MDPI, 2021.

VRIEND, J.; REITER, R. J. The Keap1-Nrf2-antioxidant response element pathway: A review of its regulation by melatonin and the proteasome. *Molecular and Cellular Endocrinology*, [s. l.], v. 401, p. 213–220, 2015.

WANG, W.; GAO, J. U. Effects of melatonin on protecting against lung injury (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 1–9, 2021.

WILLIAMS, T. N.; THEIN, S. L. Sick Cell Anemia and Its Phenotypes. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, [s. l.], v. 19, p. 113–147, 2018.

WORTEL, I. M. N. et al. Surviving Stress: Modulation of ATF4-Mediated Stress Responses in Normal and Malignant Cells. *Trends Endocrinol Metab*, [s. l.], v. 28, n. 11, p. 794–806, 2017.

YOSHIHARA, E. et al. Thioredoxin / Txnip : redoxisome , as a redox switch for the pathogenesis of diseases. *Frontiers in Immunology*, [s. l.], v. 4, n. January, p. 1–9, 2014.

YOSHIKAWA, T.; YOU, F. Oxidative Stress and Bio-Regulation. *Int J Mol Sci*, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 3360, 2024.

ZHAO, Y. et al. Melatonin protects against A β -induced neurotoxicity in primary neurons via miR-132/PTEN/AKT/FOXO3a pathway. *Biofactors*, [s. l.], v. 44, n. 6, p. 609–618, 2018.

ZHOU, R. et al. Melatonin Inhibits Glucose-Induced Apoptosis in Osteoblastic Cell Line Through PERK-eIF2 α -ATF4 Pathway. *Front Pharmacol*, [s. l.], v. 11, p. 602307, 2020.

ZHU, L. et al. Melatonin alleviates particulate matter-induced liver fibrosis by inhibiting ROS-mediated mitophagy and inflammation via Nrf2 activation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, [s. l.], v. 268, p. 115717, 2023.

ZHU, X.; LI, B.; PACE, B. S. NRF2 mediates γ -globin gene regulation and fetal hemoglobin induction in human erythroid progenitors. *Haematologica*, [s. l.], v. 102, n. 8, p. e285–e288, 2017.