

EFEITOS DO USO DE UM COQUETEL SENOLÍTICO NO METABOLISMO DA GLICOSE E GANHO DE PESO CORPORAL DE CAMUNDONGOS OBESOS

GABRIEL BARRETO VEIGA¹; JÉSSICA DAMÉ HENSE²
DRIELE NESKE GARCIA³; BIANKA ZANINI⁴, JOAO ALVEIRO ALVARADO
RINCÓN⁵, AUGUSTO SCHNEIDER⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – gabrielbveiga@icloud.com

² Universidade Federal de Pelotas – jeeh.hense@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – drika_neske@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas - bianka_zanini@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas⁵ -joaoal13@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Sob o atual cenário de pandemia, grande parte da atenção e recursos mundiais das principais organizações de saúde estão voltados para combate do aumento de casos do vírus Sars-CoV-2, tornando a preocupação com demais patologias em segundo plano. Dessa forma, a pandemia de COVID-19 impacta fortemente os cuidados médicos sobre doenças crônicas não transmissíveis, outra grande preocupação de saúde a qual está com o crescimento e agravamento favorecidos em decorrência da situação atual (CHUDASAMA et al, 2020).

Ao encontro disso, as condições de saúde contemporâneas são marcadas pelo envelhecimento da população, onde a expectativa de vida demonstrou fortes avanços nas últimas décadas em escala mundial (ROSER et al, 2013). Por conseguinte, doenças crônicas e envelhecimento são dois fatores relacionados entre si por repercutir vigorosamente sob a saúde humana, no qual a senescência celular evidencia-se como um ponto em comum de ambos aspectos (DAVALLI et al, 2016).

Em âmbito fisiológico, a senescência celular é considerado um mecanismo de defesa à estímulos prejudiciais a célula, culminando na parada proliferativa e aquisição de um padrão inflamatório em decorrência da secreção de moléculas específicas (SAPS, do inglês *senescence-associated secretory phenotype*) (KIRKLAND et al, 2017). Contudo o acúmulo de células senescentes de maneira crônica acarreta em repercussões negativas ao metabolismo humano, onde ocorre instalação do quadro de inflamação contínua de baixo grau devido principalmente a secreção de moléculas pró-inflamação pela linhagem celular (KIRKLAND et al, 2017). Por sua vez, a literatura científica atual permite apontar a inflamação crônica como um ponto central entre o desenvolvimento fisiopatológico das principais doenças contemporâneas, incluindo aqueles conhecidas como doenças relacionadas ao envelhecimento (CAMPS et al, 2014).

Além disso, a obesidade, uma condição metabólica caracterizada pelo excesso de gordura corporal que está relacionada ao desenvolvimento de diversas patologias e é vista como uma grave preocupação de saúde mundial, demonstra contribuir para maior velocidade de acúmulo de células senescentes, onde modelos animais obesos evidenciaram maior quantificação de senescência (XU et al, 2018).

Nessa visão, o uso de drogas senolíticas, ou seja, aquelas com a capacidade de promover a redução do número de células senescentes, chamam a atenção de pesquisadores, onde sua administração demonstrou resultados promissores quanto a melhora de marcadores do metabolismo da glicose, função física e longevidade em modelos animais, bem como decréscimo de senescência em

humanos diagnosticados com nefropatias relacionadas ao diabetes (XU et al, 2018; PALMER et al, 2019; HICKSON et al, 2019). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do uso de um coquetel senolítico (quercetina+dasatinib) no metabolismo da glicose e ganho de peso corporal de camundongos obesos.

2. METODOLOGIA

Primeiramente esse projeto foi aprovado pelo comitê de ética em Experimentação animal, sob número 24915-2020º, sendo os animais mantidos no biotério do laboratório de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, em estantes ventiladas, com água e ração ad libitum, em condições controladas de temperatura (20 ± 2 °C), umidade (40-70%) e fotoperíodo (12h claro/escuro). Em sua estrutura, o experimento foi composto por dois grupos (n=6), ambos de fêmeas *ob/ob* que foram divididas em dois grupos e tratadas com senolíticos durante 4 meses, iniciando aos 2 meses de idade. O grupo tratamento (D+Q) recebeu senolíticos dasatinib e quercetina (5mg/kg e 50mg/kg respectivamente) (Xu et al. 2018), dissolvidos no vetor (60% phosal, 30% PEG400 e 10% álcool etílico) durante três dias consecutivos, com intervalo de 14 dias entre uma dose e outra, já os controles receberam placebo, constituído por apenas o vetor onde foram dissolvidos o D+Q (XU et al., 2018). Aos seis meses de idade os animais foram eutanasiados para coleta de tecido ovariano .

Teste de tolerância à insulina

Aos 173 dias de idade (1 semana antes da eutanásia) foi executado o teste de tolerância à insulina (n=10 Controle, n=10 D+Q), onde foi administrada uma dose de 0,5 UI/kg de peso corporal de insulina intraperitoneal, após duas horas de jejum. Amostras de sangue foram coletadas por meio de uma pequena incisão na ponta da cauda nos tempos de 0, 5, 20, 35 e 60 minutos após a injeção de insulina e os níveis de glicose são mensurados com um glicosímetro (AccuChek Activ, Roche Diagnostics®, USA)

Monitoramento do ganho de peso

A metodologia para monitoramento da evolução do peso dos animais foi implementada a rotina do laboratório, sendo a análise da massa corporal necessária para o desenvolvimento dos cálculos para administração do coquetel senolítico e placebo, assim os animais foram pesados quinzenalmente e o respectivo resultado registrado em banco de dados

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados no software GraphPad Prism 6 através do teste de T. Sendo considerado como significante um $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem do ganho de peso corporal (Figura 1A) foi menor no grupo D+Q quando comparado com grupo controle ($P=0,0040$), a partir do terceira ciclo de tratamento. O resultado para o peso da gordura periovariana é mostrado na

(Figura 1B) sendo que nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos ($P=0,8359$).

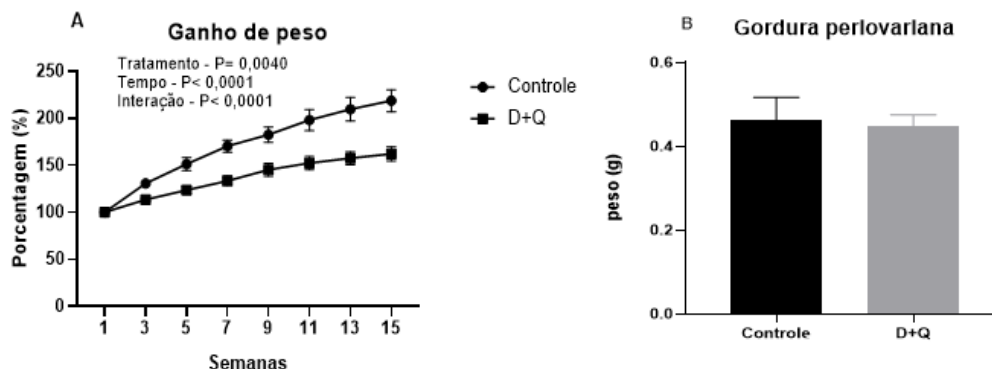


Figura 1. Porcentagem de ganho de peso corporal (A) e peso da gordura periovariana (B) de camundongos fêmeas ob/ob controle ou tratadas com dasatinib mais quercetina (D+Q).

Sendo o ganho de peso e acúmulo excessivo de gordura corporal associados ao quadro inflamatório a ativação imunológica proposta pelo tecido adiposo desenvolvido demasiadamente, e por sua vez o próprio estado de inflamação crônica retroalimentando os fatores relacionados a obesidade (SATIEL et al, 2017), o resultado encontrado nesse trabalho pode ser justificado pelo uso de senolíticos favorecem efeitos anti-inflamatório no metabolismo de camundongos e assim beneficiarem a composição corporal. Entretanto vale comentar que diversos estudos anteriores não encontraram alterações no peso corporal frente ao uso de senolíticos, ainda que diversos efeitos negativos da obesidade tenham sido aliviados frente ao “clearance” senescente, tal como melhora da disfunção metabólica induzida pela obesidade (PALMER, et al, 2019). Assim, o resultado encontrado nesse trabalho pode ser visto como mais um possível efeito positivo do uso de senolíticos ao metabolismo, sendo de extremo valor para a literatura científica.

O tratamento com senolíticos (D+Q) não afetou o metabolismo da glicose, no qual o teste de tolerância à insulina TTI realizado aos 6 meses de idade não apresentou diferença na glicemia (Figura 2).

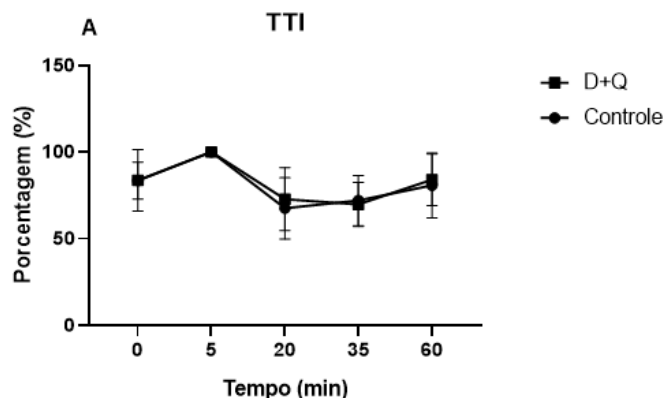


Figura 2. Teste de tolerância à insulina (TTI - A) em camundongos fêmeas ob/ob tratadas com senolíticos (D+Q) ou controle (grupo placebo).

Entretanto esse resultado contraria a maioria dos achados na literatura científica, onde um trabalho realizado por Mazzucato et al (2019) publicado na revista *Cell Metabolism* apontou a senescência de células beta-pancreáticas como um fator determinante para o desenvolvimento de Diabetes, no qual a administração de senolíticos evidencia-se como uma estratégia promissora e efetiva para beneficiar o metabolismo da glicose apresentando papel preventivo e terapêutico na patologia. Dessa forma, podemos indicar a ausência de diferenças quanto a tolerância à insulina entre grupos em nosso trabalho associada a menor exposição de agentes estimulantes à senescência, como o baixo impacto do envelhecimento nos camundongos utilizados.

4. CONCLUSÕES

Dado o exposto, pode-se concluir que a administração de um coquetel senolítico com Dasatinib + Quercetina é uma estratégia eficaz para impactar o ganho de peso de camundongos obesos jovens, entretanto não apresenta repercussões quanto ao metabolismo da glicose em modelo animal jovem.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUAYO-MAZZUCATO, Cristina et al. Acceleration of β cell aging determines diabetes and senolysis improves disease outcomes. **Cell metabolism**, v. 30, n. 1, p. 129-142. e4, 2019.
2. CAMPS, Jordi (Ed.). Oxidative stress and inflammation in non-communicable diseases-molecular mechanisms and perspectives in therapeutics. Imprint: **Springer**, Cham: Springer International Publishing, 2014.
3. CHUDASAMA, Yogini V. et al. Impact of COVID-19 on routine care for chronic diseases: a global survey of views from healthcare professionals. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 14, n. 5, p. 965-967, 2020.
4. DAVALLI, Pierpaola et al. ROS, cell senescence, and novel molecular mechanisms in aging and age-related diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.
5. HICKSON, LaTonya J. et al. Senolytics decrease senescent cells in humans: Preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease. **EBioMedicine**, v. 47, p. 446-456, 2019.
6. Kirkland JL, Tchkonja T. Cellular Senescence: A Translational Perspective. **EBioMedicine**. 2017;21:21-8.
7. Max Roser, Esteban Ortiz-Ospina and Hannah Ritchie (2013) - "Life Expectancy". Publicado online em: **OurWorldInData.org**. Acessado em: 'https://ourworldindata.org/life-expectancy' [Online Resource]
8. Palmer AK, Xu M, Zhu Y, Pirtskhalava T, Weivoda MM, Hachfeld CM, et al. Targeting senescent cells alleviates obesity-induced metabolic dysfunction. **Aging cell**. 2019;18(3):e12950.
9. SALTIEL, Alan R. et al. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 127, n. 1, p. 1-4, 2017.
10. Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, Weigand BM, Palmer AK, Weivoda MM, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. **Nature medicine**. 2018;24(8):1246-56.