

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE UM COQUETEL SENOLÍTICO NO METABOLISMO DA GLICOSE EM CAMUNDONGOS.

GABRIEL VEIGA¹; JOSÉ VICTOR ISOLA²; DRIELE NESKE GARCIA²; BIANKA
ZANINI MACHADO²; MARIA ISABEL SCHIAVON²; AUGUSTO SCHNEIDER³

¹Faculdade de nutrição (UFPEL) – gabrielbveiga@icloud.com

²Faculdade de nutrição (UFPEL) – jvvisola@gmail.com

²Faculdade de nutrição (UFPEL) – drika_neske@yahoo.com.br

²Faculdade de nutrição (UFPEL) – bianka_zanini@hotmail.com

²Faculdade de nutrição (UFPEL) – isabelcousen@gmail.com

³Faculdade de nutrição (UFPEL) – augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) faz parte do grupo de Doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), as quais somente no Brasil foram responsáveis por 51,6% do total de óbitos na população de 30 a 69 anos no ano de 2015 (DATASUS). Dados demonstram que a prevalência de DM 2 (DM2) quadriplicou desde 1980 (OMS, 2016). Sabe-se que a presença do DM2 está associada com outras doenças, como as renais e cardiovasculares (OMS, 2016). Em meio a complexidade da doença, é conhecida também, a associação da senescência celular ao DM2, entretanto, ainda há dúvidas se esse processo atua como causa ao desencadear da doença ou se é consequência da mesma (PALMER ET AL, 2015).

O processo da senescência celular é considerado fisiológico, tendo em vista os papéis exercidos no organismo durante o período embrionário, reparação e cicatrização de tecidos e na supressão tumoral (DE MAGALHÃES, 2018). Em âmbito celular, este é um mecanismo de defesa a estímulos prejudiciais a célula, culminando com a parada proliferativa e aquisição de um padrão inflamatório em decorrência da secreção de moléculas específicas (SAPS, do inglês *senescence-associated secretory phenotype*) (CHILDS ET AL, 2015). Contudo, pontos negativos da senescência começam a ser observados quando o acúmulo destas células se torna crônico durante o envelhecimento, acarretando em disfunção tecidual (KIRKLAND ET AL, 2017). Este acúmulo está associado com o aparecimento de diversas doenças como diabetes mellitus 2 (DM2), aterosclerose, câncer, dentre outras doenças do envelhecimento (CHILDS ET AL, 2015).

Apesar do fato de as células senescentes não apresentarem um fenótipo claro devido à grande heterogeneidade (MATJUSAITIS ET AL, 2016), algumas características em comum são encontradas. Células senescentes apresentam a capacidade de evitar a apoptose pela de vias anti-apoptóticas (ZHU ET AL, 2015). Além disto, alterações em proteínas específicas como as da via p53, são as principais responsáveis pelo fim da proliferação celular (RUFINI ET AL, 2013). Outros traços como a atividade da enzima B-galactosidase, danos ao DNA e sua síntese e até mesmo os SAPS, podem ser biomarcadores desta alteração celular (MATJUSAITIS ET AL, 2016).

Entre outros benefícios, a redução do número de células senescentes melhorou o metabolismo da glicose e padrão inflamatório (PALMKER ET AL, 2019). Por esta razão, as células senescentes tornaram-se alvos terapêuticos de novas drogas chamadas senolíticos, as quais apresentam por finalidade promover a morte celular seletivamente destas células (SHORT ET AL, 2019). Testes com

senolíticos como Desartiniibe (D) e Quercetina (Q) demonstram que além diminuir o número de células senescentes, também podem reduzir a secreção de SAPS, e quando utilizadas de forma sinérgica, mostram maior eficácia e seletividade. (XU ET AL, 2018). Em testes realizados em camundongos, a administração das drogas D + Q demonstram ser capazes de aumentar a longevidade pós-tratamento mesmo de animais já em idade avançada (XU ET AL, 2018). Devido ao fato dos senolíticos serem drogas cuja a descoberta e utilização são recentes, a densidade de testes realizados é limitada e melhor entendimento do seu funcionamento e efeitos é necessário. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da administração de um coquetel senolítico no metabolismo da glicose em camundongos.

2. METODOLOGIA

Inicialmente, este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, sob o número (58357-2018). Foram utilizados 48 camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6, mantidos sob condições controladas de luz e temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclos 12 horas claro/12 horas escuro) e com dieta padrão e água ad libitum. Com 30 dias de idade os camundongos fêmeas foram divididos em grupo controle (C) ($n=24$), e grupo senolíticos (S) ($n=24$), que recebeu administração quinzenal em 3 dias consecutivos de um coquetel senolítico composto pelas drogas Desartiniibe (D) e Quercetina (Q) em doses de 5mg/kg de peso corporal e 50mg/kg de peso corporal respectivamente, diluídas em veículo composto por 60% phosal, 40% PEG400 e 10% álcool etílico. (XU et al, 2018). O grupo controle recebeu gavagem apenas do veículo no mesmo volume e intervalo.

Aos 173 dias de idade (1 semana antes da eutanásia) foi executado o teste de tolerância à insulina (TTI, $n=10$ Controle, $n=10$ D+Q), onde foi administrada uma dose de 0,5 U/kg de peso corporal de insulina intraperitonealmente 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, sendo os níveis de glicose mensurados com um glicosímetro (AccuChek Activ, Roche Diagnostics®, USA) (BENNIS et al, 2017). Além disso, foi feito o cálculo de KITT, onde é medida a taxa de decaimento da glicose por minuto. Neste mesmo momento, foi realizado o teste de tolerância a glicose (TTG, $n=10$ Controle, $n=10$ D+Q), onde foi administrado 2g de glicose/kg de peso corporal intraperitonealmente após 6 horas de jejum. Também sendo coletada uma amostra de sangue por meio de uma pequena incisão na ponta da cauda nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 minutos após a administração de glicose e a glicemia sendo averiguada por um glicosímetro (BENNIS et al, 2017).

As análises estatísticas foram realizadas no software Graphpad Prism 6. Sendo realizados testes T e two-way ANOVA, considerando diferente estatisticamente $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado como resultado dos testes de TTI e TTG aplicados aos camundongos de ambos os grupos, dados que demonstram não haver efeito do tratamento com D+Q aplicado sobre o metabolismo da glicose. O grupo controle apresentou decaimento da glicose por minuto ($1,9 \pm 0,29$) muito semelhante ao grupo senolítico ($2,2 \pm 0,30$), não havendo diferença significativa entre os grupos

($P=0,4675$). Isto também pode ser observado na Figura 1, onde está representada a curva da glicemia em resposta a insulina e glicose.

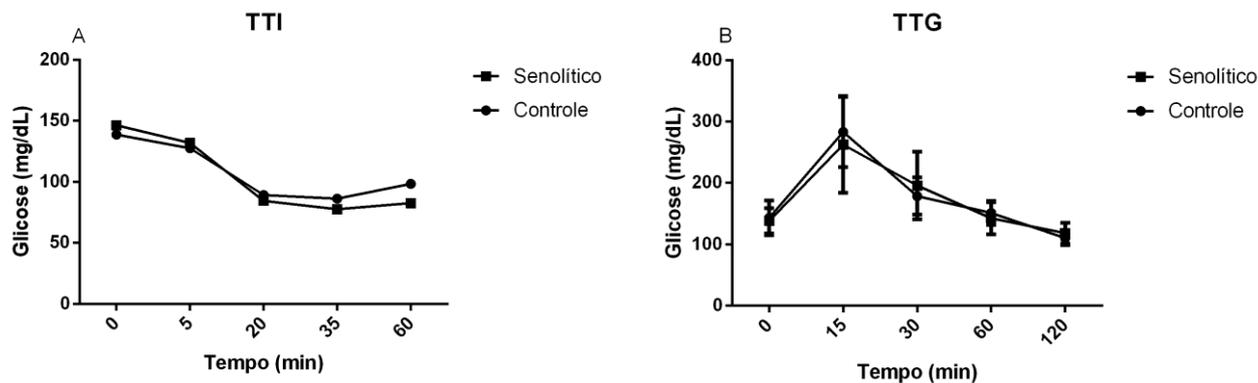


Figura 1 – Curvas glicêmicas em resposta aos testes TTI e TTG em camundongos recebendo drogas senolíticas (Senol, D+Q) ou placebo (Controle)

Estes resultados entram em divergência aos encontrados por PALMER et al (2019) o qual observou melhoras na homeostase da glicose e aumento da sensibilidade a insulina de camundongos após administração de um coquetel senolítico composto pelas mesmas drogas, quantidades e frequência iguais ao nosso trabalho. Entretanto, os camundongos utilizados por PALMER et al (2019) foram induzidos a obesidade anteriormente ao tratamento e estavam em idade mais avançada no momento do TTI e TTG. Posto isto, uma das hipóteses levantadas para a não diferença entre os grupos em nosso trabalho é o fato dos camundongos serem jovens (6 meses) e não-obesos quando os testes TTI e TTG foram realizados, não havendo acúmulo de células senescentes em nenhum dos grupos ocasionando em disfunção tecidual, visto que estas células se desenvolvem com o envelhecer ou em casos de obesidade e diabetes (PALMER ET AL, 2019)

É importante ressaltar, que a abundância de estudos que avaliam os efeitos da diminuição do número de células senescentes especificamente no metabolismo da glicose é muito pequena, intensificando a necessidade de estudos que avaliem os diversos efeitos de diferentes doses e frequências de administração agudas ou crônicas, testando outros potenciais benefícios terapêuticos, essencialmente em humanos e outros animais. Além disso, ressalta-se a diferença do metabolismo das fêmeas e a necessidade de mais testes nesta categoria como é o caso do nosso estudo.

4. CONCLUSÕES

A administração de um coquetel senolítico composto pelas drogas D + Q não resultou em alterações na tolerância à glicose ou resistência à insulina em camundongos fêmeas até os 6 meses de idade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BENNIS, Mohammed T. et al. **The role of transplanted visceral fat from the long-lived growth hormone receptor knockout mice on insulin signaling.** *Geroscience*, v. 39, n. 1, p. 51-59, 2017.
2. CHILDS, Bennett G. et al. **Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy.** *Nature medicine*, v. 21, n. 12, p. 1424, 2015.
3. DE MAGALHÃES, João Pedro; PASSOS, João F. **Stress, cell senescence and organismal ageing. Mechanisms of ageing and development**, v. 170, p. 2-9, 2018.
4. **Doenças crônicas não transmissíveis.** Portal do ministério da saúde. Acessado em 09 de setembro. 2019. Online disponível em: <http://www.saude.gov.br/vigilancia-em-saude/vigilancia-de-doencas-cronicas-nao-transmissiveis-dcnt>
5. KIRKLAND, James L.; TCHKONIA, Tamara. **Cellular senescence: a translational perspective.** *EBioMedicine*, v. 21, p. 21-28, 2017.
6. MATJUSAITIS, Mantas et al. **Biomarkers to identify and isolate senescent cells.** *Ageing research reviews*, v. 29, p. 1-12, 2016.
7. PALMER, Allyson K. et al. **Cellular senescence in type 2 diabetes: a therapeutic opportunity.** *Diabetes*, v. 64, n. 7, p. 2289-2298, 2015.
8. PALMER, Allyson K. et al. **Targeting senescent cells alleviates obesity-induced metabolic dysfunction.** *Aging cell*, v. 18, n. 3, p. e12950, 2019.
9. RUFINI, A. et al. **Senescence and aging: the critical roles of p53.** *Oncogene*, v. 32, n. 43, p. 5129, 2013.
10. SHORT, Susan et al. **Senolytics and senostatics as adjuvant tumour therapy.** *EBioMedicine*, 2019.
11. World Health Organization. **Global report on diabetes.** World Health Organization, 2016. Acessado em 09 de setembro de 2019. Online disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204871>
12. XU, Ming et al. **Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age.** *Nature medicine*, v. 24, n. 8, p. 1246, 2018.
13. ZHU, Yi et al. **The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs.** *Aging cell*, v. 14, n. 4, p. 644-658, 2015.