

EFEITOS DO COQUETEL SENOLÍTICO QUERCETINA E DASATINIBE NO GANHO DE PESO E RESISTÊNCIA A INSULINA EM CAMUNDONGOS MACHOS

GABRIEL SARAIVA COELHO¹; DRIELE NESKE GARCIA²; JÉSSICA D. HENSE³;
BIANKA M. ZANINI⁴; JULIANE PROSCZEK⁵; AUGUSTO SCHNEIDER⁶

1Universidade Federal de Pelotas – gabriel.saraiva@ufpel.edu.br

2Universidade Federal de Pelotas – drika_neske@yahoo.com.br

3Universidade Federal de Pelotas – jeeh.hense@hotmail.com

4Universidade Federal de Pelotas – bianka_zanini@hotmail.com

5Universidade Federal de Pelotas – julianeproszczek@gmail.com

6Universidade Federal de Pelotas – augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento é caracterizado por uma perda progressiva da integridade celular, levando ao comprometimento da função fisiológica e a incapacidade dos tecidos de manter a homeostase, proporcionando uma maior vulnerabilidade a doenças e ao óbito (KIRKWOOD, 2005). Acredita-se que o envelhecimento seja causado, pelo menos em parte, pelo acúmulo de danos celulares. Isso inclui danos às proteínas, DNA, mitocôndrias (GREEN; GALLUZZI; KROEMER, 2011) e encurtamento de telômeros (LIU et al., 2002), os quais são gerados pela inflamação crônica e pelas espécies reativas de oxigênio (LEE et al., 1999; PACKER; FUEHR, 1977; TRIFUNOVIC et al., 2004). Sabe-se que um denominador comum do envelhecimento é o acúmulo de danos genéticos ao longo da vida e que esses danos podem gerar células anormais que, se não eliminadas, poderão originar doenças como o câncer (MOSKALEV et al., 2013).

A senescência celular é um mecanismo importante para prevenir a proliferação de células anormais e potencialmente cancerígenas, a qual é estimulada em resposta aos danos celulares citados (CAMPISI; D'ADDA DI FAGAGNA, 2007). O fenótipo secretor associado a senescência (SASP) é estimulado principalmente aos danos sofridos no DNA e pelo encurtamento dos telômeros (JUNIOR; OLIVERIRA; BUGS, 2020), tendo como função secretar citocinas pró-inflamatórias que promovem o recrutamento de macrófagos para a depuração das células anormais (TCHKONIA et al., 2013). Contudo, o acúmulo de células senescentes, a depuração ineficiente e o SASP excessivo, são responsáveis pela formação de uma inflamação crônica “estéril” e de baixo nível, que é uma marca registrada do envelhecimento do organismo (CHUNG et al., 2009; FRANCESCHI et al., 2007).

Existem também outros fatores responsáveis que contribuem para inflamação sistêmica, sendo um deles o tecido adiposo, presente em excesso em situações de sobrepeso e obesidade. As células adiposas realizam secreção constante de fatores pró-inflamatórios que acarretam uma inflamação sistêmica de baixo grau, comprometendo assim as vias de sinalização da resposta ao dano no DNA (KARAMAN et al., 2015), além de acelerar o encurtamento telomérico (TZANETAKOU et al., 2012), aumentar o estresse oxidativo sistêmico (MARSEGLIA et al., 2014) e estimular o SASP. Somados, esses fatores passam a retroalimentar o quadro de inflamação sistêmica (COPPÉ et al., 2010). A inflamação gerada por esses mecanismos é um dos vetores responsáveis pelo aparecimento precoce de diversas doenças associadas com o envelhecimento.

Os senolíticos são uma classe de compostos que promovem a eliminação de células senescentes do corpo, proporcionando uma prevenção à inflamação crônica e aos danos teciduais, tendo como objetivo diminuir os riscos provindos do

envelhecimento e aumentar a longevidade (ROBBINS et al., 2021). Recentemente, foi demonstrado que o tratamento de camundongos velhos com o coquetel senolítico Dasatinibe e Quercetina (D+Q), reduziu seletivamente o número de células senescentes e promoveu um aumento da longevidade (XU et al., 2018; ZHU et al., 2015).

Buscamos com este trabalho verificar se o tratamento com D+Q irá alterar o ganho de peso corporal e a resistência à insulina, podendo ser estes fatores importantes no controle da inflamação sistêmica.

2. METODOLOGIA

Para este estudo, camundongos C57BL/6 machos de 3 meses de idade ($n = 18$) foram usados em condições controladas de temperatura, luz e umidade ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 horas claro/12 horas ciclos escuros e 40-60%). Os camundongos foram divididos em grupo de tratamento ($n = 9$), que recebeu dasatinibe por gavagem oral (5 mg/kg) e quercetina (50 mg/kg) em três dias consecutivos uma vez por mês (Xu et al., 2018) e grupo controle ($n=9$), que recebeu placebo por gavagem. Todos os camundongos receberam água e dieta padrão ad libitum durante todo o experimento. O tratamento começou aos 3 meses de idade e teve duração de seis meses. Os machos foram pesados a cada duas semanas durante o experimento. Durante todo o experimento os camundongos foram observados diariamente quanto a sinais clínicos de prostração e alimentação através do ganho de peso individual. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas.

Uma semana antes da eutanásia os camundongos foram submetidos a um teste de tolerância à insulina (ITT, $n=10/\text{grupo}$). Para o ITT, 0,5 UI/kg de peso corporal de insulina foram administrados i.p. após duas horas de jejum. O sangue foi coletado através de uma pequena incisão na ponta da cauda em: 0, 5, 25, 35 e 60 minutos após a injeção de insulina e os níveis de glicose foram medidos com um glicosímetro (AccuChek Activ, Roche Diagnostics®, EUA) (FANG et al., 2013).

As análises estatística foram realizadas utilizando o programa Graphpad Prism 5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ganho de peso em camundongos que receberam o coquetel senolítico D+Q não foi diferente do grupo controle ($P>0,05$). Porém, supomos que este resultado não foi significativo devido os animais do estudo serem jovens e não estarem recebendo uma dieta rica em gorduras.

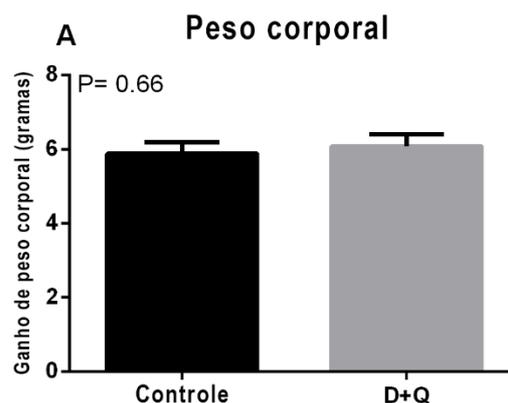


Figura 1. Ganho de peso corporal (em gramas) em camundongos machos controle e tratados com o coquetel senolítico D+Q.

Em relação ao TTI e o kITT, os resultados mostram que não há uma sensibilidade maior à insulina com o uso de D+Q durante o período do estudo. No entanto, estudos anteriores mostram dados opostos ao encontrado neste trabalho, referindo melhoras significativas na homeostase da glicose e na sensibilidade à insulina, sendo estes marcadores importantes relacionados com o metabolismo glicídico e lipídico (PALMER, et al. 2019). Acreditamos que o desfecho de Palmer, et al. foi diferente devido ao estado nutricional dos animais, pois eram obesos e recebiam uma dieta rica em gorduras, com valores de glicose sérica e resistência à insulina mais elevados, sendo mais suscetível ao tratamento.

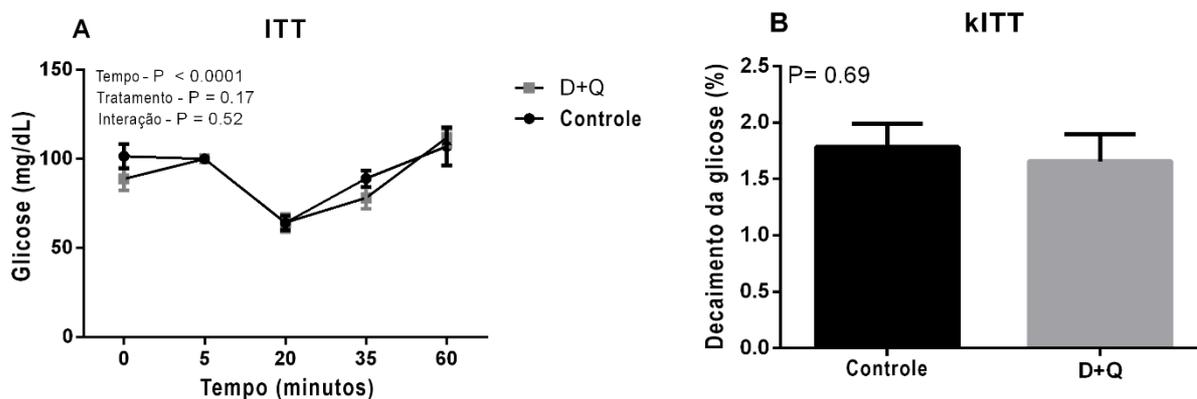


Figura 2. Teste de intolerância a glicose (TTI – A) e constante de decaimento da glicose sérica por minuto (kITT – B) em camundongos machos controle e tratados com o coquetel senolítico D+Q.

Apesar do coquetel D+Q não ter efeitos significativos nos marcadores analisados, os senolíticos tem efeitos que vão além destes, mostrando serem estratégias farmacológicas promissoras para prevenção de doenças relacionadas a idade e aumento de sobrevida, devido a diminuição da inflamação sistêmica e, consequentemente, menores danos celulares (XU et al., 2018). Importante ressaltar que a quantidade de inflamação se eleva juntamente a maior quantidade de células senescentes, essas que crescem com o avançar da idade. Além disso, animais envelhecidos possuem um ambiente hormonal mais favorável ao acúmulo de gorduras, sendo este outro fator de risco. Por estes motivos, é de se esperar que o nosso estudo tenha desfechos diferentes dos artigos analisados, pois utilizamos animais jovens, não obesos e com uma dieta padrão, obtendo marcadores mais controlados e menos suscetíveis ao tratamento.

4. CONCLUSÕES

O tratamento com o coquetel senolítico D+Q não parece ser efetivo na redução ou ganho de peso, nem melhorar os marcadores do metabolismo da glicose em camundongos machos jovens.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAMPISI, J.; D'ADDA DI FAGAGNA, F. Cellular senescence: When bad things happen to good cells. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, n. 9, p. 729– 740, set. 2007.

2. COPPÉ, J. P. et al. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. **Annual review of pathology**, v. 5, p. 99–118, 2 fev. 2010a.
3. FANG, Y. et al. Duration of rapamycin treatment has differential effects on metabolism in mice. **Cell metabolism**, v. 17, n. 3, p. 456–462, 5 mar. 2013.
4. FRANCESCHI, C. et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. **Mechanisms of ageing and development**, v. 128, n. 1, p. 92–105, jan. 2007.
5. JUNIOR, C.; OLIVERIRA, M. G. DE; BUGS, C. A. SENESCÊNCIA CELULAR E SINALIZAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 7, n. 2, 27 fev. 2020.
6. KARAMAN, A. et al. DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome. **Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis**, v. 782, p. 30–35, 1 abr. 2015.
7. KIRKWOOD, T. B. L. Understanding the odd science of aging. **Cell**, v. 120, n. 4, p. 437–447, 25 fev. 2005.
8. LEE, A. C. et al. Ras proteins induce senescence by altering the intracellular levels of reactive oxygen species. **The Journal of biological chemistry**, v. 274, n. 12, p. 7936–7940, 19 mar. 1999.
9. MARSEGLIA, L. et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 1, p. 378–400, 26 dez. 2014.
10. MOSKALEV, A. A. et al. The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. **Ageing Research Reviews**, v. 12, n. 2, p. 661–684, 1 mar. 2013.
11. NG, H. Y. et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. **Ageing research reviews**, v. 8, n. 1, p. 18–30, jan. 2009
12. PACKER, L.; FUEHR, K. Low oxygen concentration extends the lifespan of cultured human diploid cells. **Nature**, v. 267, n. 5610, p. 423–425, 1977.
13. REEN, D. R.; GALLUZZI, L.; KROEMER, G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. **Science (New York, N.Y.)**, v. 333, n. 6046, p. 1109–1112, 26 ago. 2011.
14. ROBBINS, P. D. et al. Senolytic Drugs: Reducing Senescent Cell Viability to Extend Health Span. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 61, p. 779–803, 6 jan. 2021.
15. TCHKONIA, T. et al. Review series Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 123, 2013.
16. TRIFUNOVIC, A. et al. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. **Nature**, v. 429, n. 6990, p. 417–423, 27 maio 2004.
17. TZANETAKOU, I. P. et al. “Is obesity linked to aging?”: adipose tissue and the role of telomeres. **Ageing research reviews**, v. 11, n. 2, p. 220–229, abr. 2012.
18. XU, M. et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. **Nature medicine**, v. 24, n. 8, p. 1246–1256, 1 ago. 2018.
19. ZHU, Y. et al. The achilles’ heel of senescent cells: From transcriptome to senolytic drugs. **Ageing Cell**, v. 14, n. 4, p. 644–658, 2015.