



EFEITO DO USO CONTÍNUO DE SENOLÍTICOS DASANITIB E QUERCETINA NO GANHO DE PESO E TECIDO ADIPOSEO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

JULIANE BRISTOT PROSCZEK¹; DRIELE NESKE GARCIA²; JOSÉ V. VIERIA ISOLA; BIANKA M. ZANINI; JÉSSICA D. HENSE; AUGUSTO SCHNEIDER³

¹Universidade Federal de Pelotas – julianeproszczek@gmail.com

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

²Universidade Federal de Pelotas – jvvisola@ufpel.edu.br

²Universidade Federal de Pelotas – bianka_zanini@hotmail.com

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

³Universidade Federal de Pelotas – augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Senescência celular é um processo relacionado com o envelhecimento, ocorrendo a diminuição da proliferação celular, ou seja, as células perdem a capacidade de divisão (CHILDS et al., 2015). Ademais, vários fatores podem desencadear e/ou acelerar a senescência celular, incluindo várias formas de estresse e o aumento do tecido adiposo (MAGALHÃES et al., 2018). Estas células senescentes são metabolicamente ativas, pois secretam amplo número de fatores pró-inflamatórios, chamados de ‘fenótipo secretório associado à senescência’ (SASP) (LASRY et al., 2015). O SASP é uma secreção composta de citocinas, bradicinas, prostenóides, miRNAs, proteínas do padrão molecular associadas a danos (DAMPs) e outros mediadores pró-inflamatórios, como quimiocinas. Promovendo, assim, uma reação inflamatória que visa eliminar as células senescentes do organismo (KIRKLAND et al., 2017). Interessantemente, com o envelhecimento há aumento relativo na gordura intra-abdominal e na deposição de gordura ectópica (JURA et al., 2016). Este acúmulo do tecido adiposo é associado à crescente liberação de citocinas pró-inflamatórias pelos pré-adipócitos e diminuição da atuação dos macrófagos, devido ao envelhecimento (TCHKONIA et al., 2010). A disfuncionalidade deste tecido adiposo libera em excesso sinais inflamatórios, levando a resistência à insulina (MAU et al., 2018). Dados recentes mostram um excesso de células senescentes no tecido adiposo visceral, o que pode explicar a relação entre obesidade, envelhecimento e desregulação do controle glicêmico (PALMER et al., 2019).

Ainda que as células senescentes existam em números relativamente pequenos nos tecidos, elas têm sido associadas a múltiplas doenças do envelhecimento. É por isto, que os compostos senolíticos estão sendo bem estudados para o tratamento preventivo de doenças relacionadas à idade (FARR et al., 2017; MUSI et al., 2018; ROOS et al., 2016; SCHAFER et al., 2017). Os senolíticos induzem seletivamente a apoptose de células senescentes (KIRKLAND et al., 2015). Recentemente a combinação de Dasatinib mais Quercetina (D+Q), se mostrou eficaz, de modo que Dasatinib tem função inibidora de ação curta de múltiplas tirosina quinases, sendo projetado para inibir ABL e SRC, mas também tem atividade em várias outras quinases, incluindo c-KIT, PDGFR- α , PDGFR- β e quinases do receptor de efrina. Já quercetina sendo um flavonoide que tem como alvo os membros da família BCL-2, bem como HIF-1 α e nós específicos em PI3-quinase e vias anti-apoptóticas relacionadas a p21 (LINDAUER et al., 2018; XU et al., 2018). Esta combinação foi eficaz no tecido adiposo humano, reduzindo a

abundância de células senescentes de maneira seletiva, e em consequência, diminuindo a secreção de citocinas pró-inflamatórias (ZHU et al., 2015). Além disso, a combinação de D+Q foi capaz de induzir apoptose em tipos específicos de células senescentes em camundongos, aliviando assim o fenótipo relacionado à senescência (ZHU et al., 2016).

Contudo, às evidências sugerem os senolíticos como tratamento eficiente na inibição de traços de senescência em tecidos já expostos a esse dano, qual foi causado por indução a senescência (XU et al., 2018). Objetivou-se avaliar o efeito do tratamento crônico com senolíticos D+Q sobre o ganho de peso e tecido adiposo em camundongos.

2. METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, sob o protocolo 58357-2018. Foram utilizados 48 camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6 com idade de 30 dias, os quais foram mantidos em condições controladas de temperatura, luz e umidade (22 ± 2 °C, ciclos de 12 horas claro/12 horas escuro e 40-60%). Os animais foram divididos em 2 grupos, controle (n=24) e tratamento (n=24). Ambos os grupos receberam água e dieta padrão *ad libitum* à vontade, durante todo o experimento. O fornecimento dos senolíticos, para o grupo tratamento, iniciou 1 semana após o desmame, via gavagem, para tal o Dasatinib (5 mg/kg) e a Quercetina (50 mg/kg) eram diluídos em 60% de Phosal, 30% de PEG 400 e 10% álcool etílico absoluto. A gavagem também foi realizada no grupo controle usando apenas o veículo. A gavagem foi feita quinzenalmente, por 3 dias consecutivos, ao longo das 56 semanas do tratamento.

As fêmeas foram pesadas a cada duas semanas durante todo o período do experimento. Adicionalmente, diariamente foram verificados os sinais clínicos de prostração. Aos 6 meses de idade 8 animais de cada grupo foram eutanasiados, o tecido adiposo epididimal foi dissecado da região da camada hipoderme. Aos 12 meses de idade o restante das fêmeas foram eutanasiadas e o tecido adiposo, novamente dissecado e pesado.

Os dados foram analisados através do teste two way ANOVA no software GraphPad Prism 7. Foram considerados significativos valores de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com os senolíticos D+Q não afetou o peso corporal dos animais durante as 56 semanas de avaliação (Figura 1a, $P = 0,69$). Somente foi observado aumento do peso corporal em ambos os grupos ao longo do tempo, conforme esperado ($P < 0,0001$).

Além disso, o tratamento com os senolíticos não afetou o desenvolvimento do tecido adiposo epididimal, visto que não houve diferença entre grupos nos momentos avaliados ($P = 0,41$, Figura 1b). Aos 6 meses o grupo controle apresentou média do peso do tecido adiposo epididimal de $0,36 \pm 0,03$ g e no tratamento $0,39 \pm 0,04$ g. Já aos 12 meses a média de tecido adiposo de $0,33 \pm 0,07$ g e no controle e $0,38 \pm 0,05$ g,

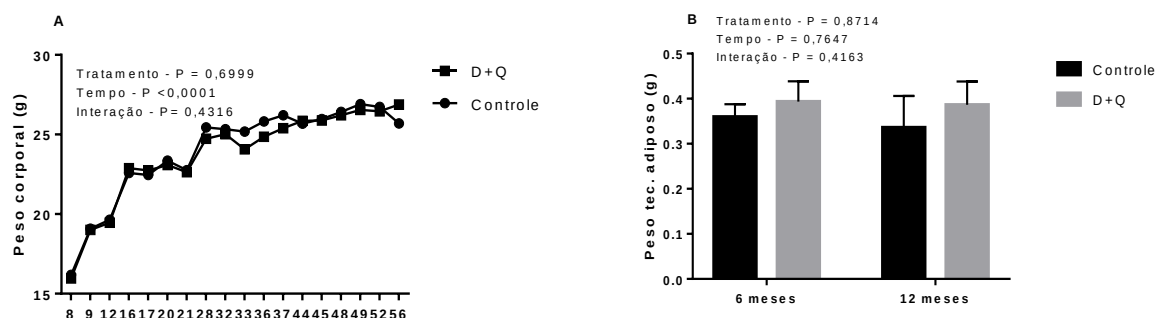


Figura 1 -Peso corporal (A) e peso do tecido adiposo epididimal (B) em camundongos fêmeas tratados (D+Q) ou não (Controle) com os senolíticos Dasatinib mais Quercetina durante 56 semanas.

Os resultados convergem aos encontrados por (XU et al., 2018), pois em ambos experimentos o peso dos camundongos quantitativamente não apresentou diferenças em animais tratados com D+Q. Contudo (PALMER et al., 2019; XU et al., 2018), observaram resultados positivos pela redução de células senescentes, logo diminuição da infiltração dos macrófagos que levam a diminuição de citocinas pró-inflamatórias. Assim, se faz necessário mais testes como expressão gênica e coloração beta – galactosidade para ver a qualidade do tecido adiposo e proporção de células senescentes no mesmo. Vale ressaltar que os testes feitos por autores citados anteriormente foram em camundongos machos, quais foram induzidos à senescência com dieta hipercalórica para assim iniciar o tratamento. Já o nosso estudo, foi feito em camundongos fêmeas, e iniciando o tratamento desde o desmame. Isto pode indicar potenciais diferenças entre sexos e do tratamento agudo ou crônico.

4. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados, mesmo que não tenham retardado as consequências do envelhecimento como o aumento de peso e do tecido adiposo epididimal, não acarretou malefícios e danos à saúde dos camundongos. Isto é algo positivo, pois mostra a segurança do uso do coquetel D+Q em longo período. Agora se faz necessária realização de diferentes testes para avaliar as características da composição do tecido adiposo.



5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHILDS BG, Durik M, Baker DJ, van Deursen JM. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. **Nat Med**. 2015;21(12):1424-1435. doi:10.1038/nm.4000
- DE MAGALHÃES JP, Passos JF. Stress, cell senescence and organismal ageing. **Mech Ageing Dev**. 2018;170:2-9. doi:10.1016/j.mad.2017.07.001
- LASRY A, Ben-Neriah Y. Senescence-associated inflammatory responses: aging and cancer perspectives. **Trends Immunol**. 2015;36(4):217-228. doi:10.1016/j.it.2015.02.009
- KIRKLAND JL, Tchkonja T. Cellular Senescence: A Translational Perspective. **EBioMedicine**. 2017;21:21-28. doi:10.1016/j.ebiom.2017.04.013
- LINDAUER M, Hochhaus A. Dasatinib. **Recent Results Cancer Res**. 2018;212:29-68. doi: 10.1007/978-3-319-91439-8_2. PMID: 30069624. JURA M, Kozak LP. Obesity and related consequences to ageing. **Age (Dordr)**. 2016;38(1):23. doi:10.1007/s11357-016-9884-3
- TCHKONIA T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. **Aging Cell**. 2010;9(5):667-684. doi:10.1111/j.1474-9726.2010.00608.x
- MAU T, Yung R. Adipose tissue inflammation in aging. **Exp Gerontol**. 2018;105:27-31. doi:10.1016/j.exger.2017.10.014
- PALMER AK, Xu M, Zhu Y, et al. Targeting senescent cells alleviates obesity-induced metabolic dysfunction. **Aging Cell**. 2019;18(3):e12950. doi:10.1111/acer.12950
- FARR JN, Xu M, Weivoda MM, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice [published correction appears in Nat Med. 2017 Nov 7;23(11):1384]. **Nat Med**. 2017;23(9):1072-1079. doi:10.1038/nm.4385
- MUSI N, Valentine JM, Sickora KR, et al. Tau protein aggregation is associated with cellular senescence in the brain. **Aging Cell**. 2018;17(6):e12840. doi:10.1111/acer.12840
- ROOS CM, Zhang B, Palmer AK, et al. Chronic senolytic treatment alleviates established vasomotor dysfunction in aged or atherosclerotic mice. **Aging Cell**. 2016;15(5):973-977. doi:10.1111/acer.12458
- Schafer MJ, Miller JD, LeBrasseur NK. Cellular senescence: Implications for metabolic disease. **Mol Cell Endocrinol**. 2017;455:93-102. doi:10.1016/j.mce.2016.08.047
- KIRKLAND JL, Tchkonja T. Clinical strategies and animal models for developing senolytic agents. **Exp Gerontol**. 2015;68:19-25. doi:10.1016/j.exger.2014.10.012
- ZHU Y, Tchkonja T, Pirtskhalava T, et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. **Aging Cell**. 2015;14(4):644-658. doi:10.1111/acer.12344
- ZHU Y, Tchkonja T, Fuhrmann-Stroissnigg H, et al. Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. **Aging Cell**. 2016;15(3):428-435. doi:10.1111/acer.12445