

Efeito dos senolíticos Dasatinib + Quercetina sobre o peso corporal e consumo da ração em camundongo fêmeas

Drielle Neske Garcia¹; José Victor Isola², Gabriel Barreto Veiga², Maria Isabel Schiavon Cousen², Carlos Castilho de Barros²; Augusto Schneider³

¹Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (UFPel) – drika_neske@yahoo.com.br

²Programa de Pós-graduação em Veterinária (UFPel) – jvvisola@ufpel.edu.br

²Faculdade de Nutrição (UFPel) – gabrielbveiga@icloud.com

²Faculdade de Nutrição (UFPel) – isabelcousen@gmail.com

²Faculdade de Nutrição (UFPel) – barrosccpel@gmail.com

³Faculdade de Nutrição (UFPel) – augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A senescência celular é a resposta da célula a danos no DNA e tem sido intensamente estudada. A senescência envolve muitas mudanças no perfil de expressão gênica e, principalmente, parada do ciclo celular (TCHKONIA et al. 2013). Estudos mostram um aumento no número de células senescentes com o envelhecimento em diferentes tecidos (LOPEZ-OTIN et al. 2013). Caracteristicamente estas células senescentes secretam fatores pró-inflamatórios que atraem macrófagos (TCHKONIA et al. 2013). Assim a maior presença de células senescentes está associada a maior potencial inflamatório e pode ser a causa de diversas doenças do envelhecimento (LOPEZ-OTIN et al. 2013). Recentemente foi demonstrado que o tratamento de camundongos velhos com senolíticos, drogas que reduzem o número de células senescentes, promovem aumento da expectativa de vida e reduzem danos do envelhecimento (XU et al. 2018; ZHU et al., 2015). Estas evidências mostram que as células senescentes não são apenas um subproduto do envelhecimento, mas podem ativamente combater os efeitos negativos do envelhecimento.

Neste sentido, as drogas senolíticas, por serem capazes de remover células senescentes no organismo, são uma alternativa para aumentar a longevidade. Um estudo bastante recente identificou que o tratamento de camundongos com uma combinação de duas drogas (dasatinib e quercetina) promove redução seletiva do número de células senescentes e redução de sintomas característicos do envelhecimento, estendendo o período de vida saudável em camundongos (XU et al. 2018). A quercetina possui propriedade senolítica (ZHU et al., 2015), é um flavonóide encontrado em frutas e vegetais com potente atividade antioxidante (WANG et al., 2018), além de propriedades anti-inflamatória, antineoplásica (HWANG et al., 2018). O dasatinib, é um inibidor de múltiplas tirosinas quinases, usado no tratamento de cânceres (MONTERO et al., 2011), que atua sobre o receptor de dependência regulador da sobrevivência da efrina B1 (EFNB1), estimulando indiretamente a apoptose de células senescentes (SOTO-GAMEZ E DEMARIA, 2017). O uso do combinado quercetina e dasatinib foi demonstrado como seguro tanto *in vitro* como *in vivo*, causando a eliminação seletiva de células senescentes e reduzindo vários efeitos negativos da presença destas células sobre metabolismo da glicose (XU et al. 2018; ZHU et al., 2015). Além disso, a combinação de dasatinib e quercetina atinge seletivamente uma gama mais ampla de tipos de células senescentes do que qualquer outro agente sozinho (ZHU et al., 2015). Camundongos foram tratados com os compostos por até 400 dias sem observação de efeitos negativos, promovendo uma longevidade 36% maior no grupo tratado (XU et al. 2018). Um estudo mais recente ainda testou

estes compostos senolíticos em humanos, pacientes com fibrose pulmonar idiopática, observando redução de sintomas após 3 semanas de intervenção (JUSTICE et al. 2019). Embora esses compostos estejam sendo amplamente estudados existe uma escassez de estudos os efeitos desses senolíticos no peso corporal e consumo dos modelos, é importante descobrir como esses compostos podem afetar o metabolismo visto que eles já estão movendo para a fase de testes clínicos, sendo assim o objetivo desse estudo foi avaliar o peso corporal e consumo de camundongos fêmeas tratadas com dasatinib e quercetina

2. METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal sob o número 58357-2018. Foram utilizados 48 camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6 com idade de 30 dias que 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 receberam água e dieta padrão *ad libitum* e foram divididos em 2 grupos, sendo que o grupo controle (n=24) e o grupo tratamento (n=24). O grupo tratamento recebeu dasatinib (5 mg/kg) e quercetina (50 mg/kg) diluídos em vetor composto por 60% Phosal, 30% PEG 400 e 10% álcool etílico absoluto via gavagem oral três dias consecutivos a cada duas semanas (XU et al. 2018). O grupo controle recebeu placebo, constituído por apenas o vetor em que foram diluídos os senolíticos. O tratamento iniciou uma semana após o desmame e as fêmeas foram tratadas por quatro meses. As fêmeas foram pesadas e o consumo foi calculado sempre uma vez a cada duas semanas durante o período do experimento. O cálculo do consumo foi feito pesando-se a ração que era fornecida e quanto que restava após três dias, para obter a diferença. Este valor era dividido por três (dias) e por dois (animais na caixa), estimando-se assim o consumo individual diário.

Os dados do peso e do consumo foram tabulados em uma planilha no excel e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Graphpad Prism 6.0 com o teste two-way ANOVA para medidas repetidas (consumo e peso corporal). Foram eliminados os dados do consumo e da pesagem das idades em dias de 75 e 80 dias, pois as fêmeas foram acasaladas nesse período. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativamente estatísticos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de peso e consumo podem ser visualizados na Figura 1. Não foi encontrada diferença no peso corporal ($P=0,77$) entre as fêmeas do grupo controle e as tratadas com senolíticos. O consumo foi maior no grupo de fêmeas tratadas com senolítico do que no grupo controle somente aos 95 dias de idade ($P < 0,0001$).

Não foi encontrado na literatura estudos comparando o efeito do coquetel dasatinib e quercetina sobre o peso corporal e o consumo de camundongos fêmeas. Com relação ao peso corporal, CASUSO et al. (2013) avaliaram o efeito da suplementação com quercetina sobre o ganho de peso em ratos que praticaram exercício físico e em ratos sedentários e não observaram efeito do tratamento com a quercetina sobre o ganho de peso em nenhum dos grupos. RIVERA et al. (2008) observaram que a quercetina parece ter efeito maior em ratos obesos do que em magros. PALMER et al. (2019) observou que o tratamento com dasatinib e quercetina em camundongos obesos teve efeito na

diminuição de células senescentes no tecido adiposo e essa depuração melhorou a homeostase da glicose e a sensibilidade à insulina, e também diminuiu a infiltração de macrófagos, diminuindo a inflamação no tecido adiposo desses camundongos. É possível que o efeito dos senolíticos seja em melhorar a qualidade do tecido adiposo ao diminuir o número de células senescentes, e não afetar a quantidade de tecido e peso corporal. Embora não tenha sido observado efeito do tratamento sobre o peso corporal e consumo no presente estudo, é importante salientar os benefícios do tratamento na melhora na homeostase da glicose, prevenindo a diabetes em camundongos obesos, já que o peso corporal e consumo estão diretamente relacionados com ambas doenças.

Outro fator que deve ser levado em consideração é a idade das fêmeas e a duração do experimento como o presente estudo ainda está em andamento, será possível acompanhar por mais tempo o efeito do tratamento de senolíticos sobre o peso corporal e o consumo da ração. Espera-se principalmente que efeitos sejam mais evidentes em animais mais velhos.

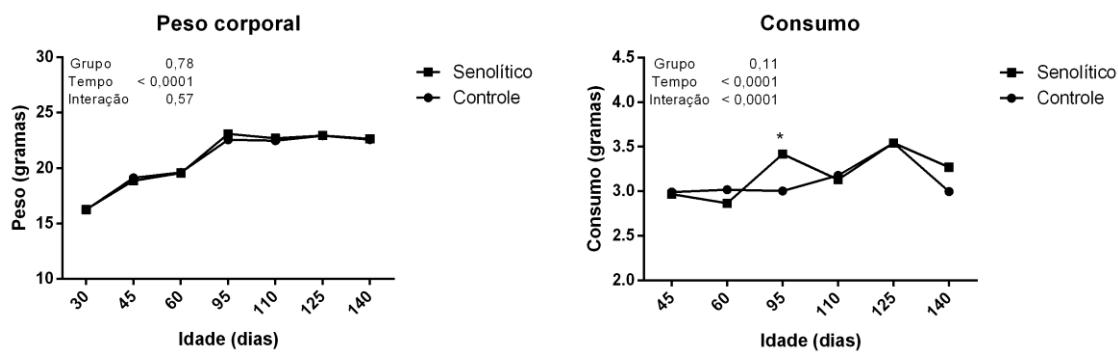


Figura 1 – Peso corporal e consumo da ração de fêmeas do grupo controle e tratadas com senolíticos queracetina e dasatinib durante quatro meses a partir dos 30 dias de idade. * representa $P<0,05$.

4. CONCLUSÕES

O tratamento com coquetel senolítico dasatinib + queracetina em fêmeas durante os primeiros 5 meses de vida não demonstrou efeitos significativos no peso corporal e no consumo da ração quando comparado ao grupo controle.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASUSO, R.A; MARTÍNEZ-LÓPEZ, E.J; HITA-CONTRERAS, F; CAMILETTI-MOIRÓN, D; MARTÍNEZ-AMAT, A. Quercetin effects on weight gain and caloric intake in exercised rats. **Biology of Sport**, Polônia, v. 31, n. 1, p. 63–67, 2014.
- HWANG, H.V; TRAN, D.T; REBUFFATTI, M.N; LI C-S; KNOWLTON, A.A. Investigation of quercetin and hyperoside as senolytics in adult human endothelial cells. **PlosOne**, San Francisco, v. 13, n. 1, p. e0190374, 2018.
- JUSTICE, J.N. et al. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. **EBioMedicine**, Londres, v. 40, n. 1, p. 554-563, 2019.
- LOPEZ-OTIN, C; BLASCO, M.A; PARTRIDGE, L; SERRANO, M; KROEMER G. The hallmarks of aging. **Cell**, Cambrige, v. 153, n. 6, p.1194-1217, 2013.
- MONTERO, J.C; SEOANE, S; OCĀNA, A; PANDIELLA, A. Inhibition of Src Family Kinases and Receptor Tyrosine Kinases by Dasatinib: Possible Combinations in Solid Tumors. **Clinical Cancer Research**, Filadélfia, v. 17, n. 17, p. 5546–52, 2011.
- PALMER, A.K. et al. Targeting senescent cells alleviates obesity-induced metabolic dysfunction. **Aging Cell**, Londres, v. 18, n. 3, p. e12950, 2019.
- RIVERA, L; MORÓN, R; SÁNCHEZ, M; ZARZUELO, A; GALISTEO, M. Quercetin Ameliorates Metabolic Syndrome and Improves the Inflammatory Status in Obese Zucker Rats. **Obesity (Silver Spring)**, Louisiana, v. 16, n. 9, p. 2081-2087, 2008.
- SOTO-GAMEZ, A; DEMARIA, M. Therapeutic interventions for aging: the case of cellular senescence. **Drug Discovery Today**, Canada, v. 22, n. 5, p. 786-795, 2017.
- TCHKONIA, T; ZHU, Y; VAN DEURSEN, J; CAMPISI, J; KIRKLAND, J.L. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. **The Journal of clinical investigation**, Michigan, v. 123, n. 3, p.966-972, 2013.
- XU, M. et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. **Nature Medicine**, New York, v. 24, n. 8, p. 1246-1256, 2018.
- ZHU, Y; TCHKONIA, T; PIRTSKHALAVA, T. et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. **Aging Cell**, Londres, v. 14, n. 4, p. 644-58, 2015.
- WANG, J; QIAN, X; GAO, Q; LV, C; XU, J; JIN, H; ZHU, H. Quercetin increases the antioxidant capacity of the ovary in menopausal rats and in ovarian granulosa cell culture *in vitro*. **Journal of Ovarian Research**, Canada, v. 11, n. 1, p. 51, 2018.