

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO TARDIA DE COMPOSTOS SENOLÍTICOS NA PRESERVAÇÃO DO PERÍODO FÉRTIL EM CAMUNDONGOS

JULIANE BRISTOT PROSCZEK¹; DRIELE NESKE GARCIA²; JÉSSICA HENSE³;
BIANKA ZANINI⁴; GABRIEL BRRETO⁵; AUGUSTO SCHNEIDER⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas - julianeproszczek@gmail.com

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 - gabrielbveiga@icloud.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - augusto.schneider@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

No envelhecimento há a ocorrência de um processo chamado de senescência celular, no qual há diminuição da proliferação celular, ou seja, as células perdem a capacidade de divisão (CHILDS et al., 2015). Dentre as causas para a senescência podemos citar o encurtamento dos telômeros que ocorre a cada divisão celular e acúmulo de danos no DNA (BERNADOTTE et al., 2016; BROEKMANS et al., 2009). No entanto, vários fatores podem acelerar e/ou desencadear a senescência celular, incluindo várias formas de estresse, como estresse oxidativo junto com o aumento do tecido adiposo (DE MAGALHÃES et al., 2018). Interessantemente, com o envelhecimento há aumento relativo na gordura intra-abdominal e na deposição de gordura ectópica (JURA et al., 2016).

Além disso, é sabido que o envelhecimento diminui a fertilidade em mulheres. A infertilidade em mulheres advém de problemas na fecundidade, devido à diminuição da reserva ovariana, acarretando falha na concepção (AMANVERMEZ et al., 2016; BROEKMANS et al., 2019). A mulher possui uma reserva ovariana limitada, composta por folículos primordiais, que é estabelecida no início da vida e diminui ao longo de cada ciclo reprodutivo, tendo declínio acentuado a partir dos 35 anos quando é observada diminuição da fertilidade (SONIGO et al., 2019; TE VELDE et al., 2002). A ativação de folículos primordiais é um processo irreversível (KALLEN et al., 2018) somado a isso, com passar do tempo, os oócitos inclusos nestes folículos perdem sua qualidade devido ao acúmulo de danos no DNA, o qual está relacionado ao estresse oxidativo (KOBAYASHI et al., 2017). Neste sentido, mulheres obesas e/ou com idade avançada possuem mais danos em seus folículos primordiais (KALLEN et al., 2018; BROEKMANS et al., 2009). Esse acúmulo de danos ao DNA no oócito leva à uma falha na disjunção meiótica, que acarreta menor capacidade de desenvolvimento embrionário após a fertilização (BROEKMANS et al., 2009). Por volta dos 50 anos a mulher perde sua capacidade reprodutiva devido ao cessar da ovulação e o início da menopausa, o que indica o fim da reserva ovariana e a cessação da menstruação (JOHNSON et al., 2019).

Ainda que as células senescentes existam em números relativamente pequenos nos tecidos, elas têm associação a múltiplas doenças do envelhecimento. É por isso que os compostos senolíticos estão sendo bem estudados para o tratamento preventivo para doenças relacionadas à idade (FARR et al., 2017; MUSI et al., 2018; ROOS et al., 2016; SCHAFER et al., 2017). Esses compostos induzem seletivamente a apoptose de células senescentes (KIRKLAND et al., 2015). Recentemente a combinação de Dasatinib e Quercetina (D+Q) surgiu como uma alternativa na elimi-

nação de células senescentes (XU et al., 2018). Mediante dados que apontam a eficácia da atuação dos senolíticos na inibição de senescência em tecidos já expostos a esse dano, o objetivo deste trabalho foi observar como a administração de senolíticos, poderá ser benéfica na preservação da fertilidade em camundongos fêmeas de idade avançada.

2. METODOLOGIA

O experimento foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizados 42 camundongos fêmeas C57BL/6 com seis meses de idade, mantidos em condições de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de 12 horas de luminosidade e umidade de 40%-60. Divididos em dois grupos, sendo que todos receberam água e dieta padrão ad libitum durante toda a duração do experimento: D+Q (n=22), recebeu por gavagem dasatinib (5 mg/kg) e quercetina (50 mg/kg) três dias consecutivos por mês; Controle (n=20) que recebeu solução placebo (Xu et al., 2018). As fêmeas foram tratadas com senolíticos uma vez por mês até os 11 meses de idade, quando foram acasaladas com camundongos machos de 3 meses de idade (proporção 2:1, não recebendo nenhum tratamento) durante 30 dias para avaliar a taxa de prenhez e o tamanho da ninhada. Os filhotes originados dos acasalamentos foram contados, pesados e eutanasiados logo após o nascimento.

Para comparação da proporção de fêmeas prenhes foi realizada a análise de sobrevivência e para o tamanho da ninhada a análise de variância no software GraphPad Prism 8. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativamente estatísticos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

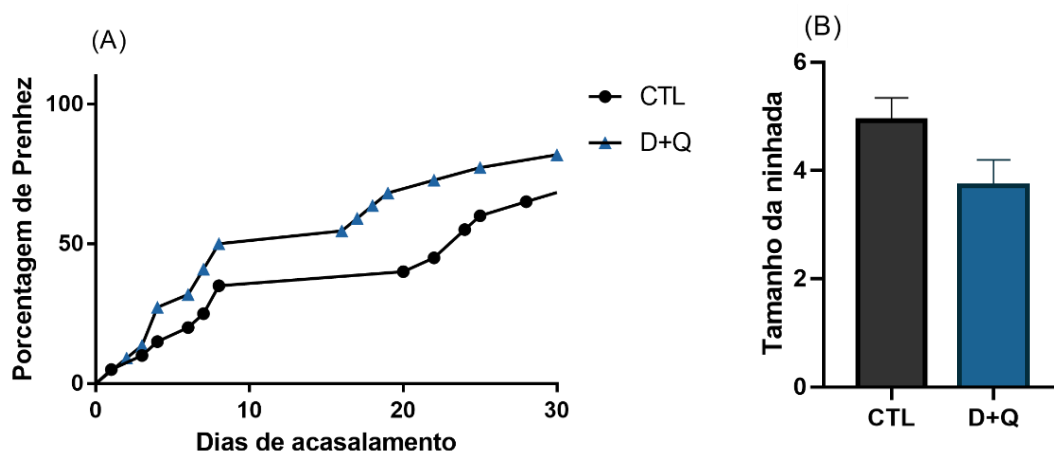


Figura 1 – Porcentagem de animais prenhas (A) durante os 30 dias de acasalamento. Número de animais nascidos (B) em cada ninhada.

Ao final do período de acasalamento, 70% e 81,8% das fêmeas estavam prenhas ($P=0,19$, figura 1 A) para os grupos Controle e D+Q, respectivamente. Observamos uma tendência ($P=0,08$) de mais fêmeas prenhes no grupo D+Q em relação ao grupo Controle. Já o tamanho da ninhada, no grupo controle a média foi de 4,92

e o D+Q 3,72 ($P=0,07$, figura 1 B). Contudo os resultados encontrados do uso de D+Q indicam que não há efeitos significativos do D+Q na fertilidade.

A não preservação da fertilidade com o uso de D+Q, pode se dar pelo fato do animal estar ainda jovem e longe do ápice de senescência no envelhecimento ovariano. Visto que há aumento de senescência no ovário, referente ao envelhecimento, entre 6 e 9 meses de idade, e já dos 9 aos 12 meses esta mudança não é significativa (ANSERE et al., 2021). Ainda, neste período observamos um máximo de 4% de células senescentes, que pode representar muito pouco para sua remoção causar algum efeito significativo. E D+Q se fazem efetivos em tecidos já expostos a uma grande quantidade de senescência, tanto por indução alimentar, radiação ou transplante (XU et al., 2018).). Além do mais, é válido mencionar que pouco se sabe sobre a senescência ovariana e sua ligação com o declínio da fertilidade.

4. CONCLUSÕES

Nesta pesquisa, os compostos senolíticos D+Q não apresentaram efeito no controle do declínio da fertilidade com o envelhecimento. Apesar disso, D+Q não acarretou desvantagens para o organismo dos camundongos em seu uso, o que infere que pode ser utilizado, devido seus diversos outros possíveis benefícios.

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.
- Bernadotte A, Mikhelson VM, Spivak IM. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. **Aging (Albany NY)**. 2016;8(1):3-11.
- Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. **Endocr Rev**. 2009;30(5):465-493.
- De Magalhães JP, Passos JF. Stress, cell senescence and organismal ageing. **Mech Ageing Dev**. 2018;170:2-9.
- Jura M, Kozak LP. Obesity and related consequences to ageing. **Age (Dordr)**. 2016;38(1):23.
- Amanvermez R, Tosun M. An Update on Ovarian Aging and Ovarian Reserve Tests. **Int J Fertil Steril**. 2016;9(4):411-415.
- Broekmans FJ. Individualization of FSH Doses in Assisted Reproduction: Facts and Fiction. **Front Endocrinol (Lausanne)**. 2019;10:181. Published 2019 Apr 26.
- Sonigo C, Beau I, Grynberg M, Binart N. AMH prevents primordial ovarian follicle loss and fertility alteration in cyclophosphamide-treated mice. **FASEB J**. 2019;33(1):1278-1287.
- te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. **Hum Reprod Update**. 2002;8(2):141-154.
- Johnson A, Roberts L, Elkins G. Complementary and Alternative Medicine for Menopause. **J Evid Based Integr Med**. 2019;24:2515690X19829380.
- Takahashi TA, Johnson KM. Menopause. **Med Clin North Am**. 2015;99(3):521-534.
- Kallen A, Polotsky AJ, Johnson J. Untapped Reserves: Controlling Primordial Follicle Growth Activation. **Trends Mol Med**. 2018;24(3):319-331.

- 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.
- 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.
- Roos WP, Thomas AD, Kaina B. DNA damage and the balance between survival and death in cancer biology. **Nat Rev Cancer.** 2016;16(1):20-33.
- Schafer MJ, Miller JD, LeBrasseur NK. Cellular senescence: Implications for metabolic disease. **Mol Cell Endocrinol.** 2017;455:93-102.
- Kirkland JL, Tchkonja T. Clinical strategies and animal models for developing senolytic agents. **Exp Gerontol.** 2015;68:19-25.
- Kobayashi H, Ogawa K, Kawahara N, et al. Sequential molecular changes and dynamic oxidative stress in high-grade serous ovarian carcinogenesis. **Free Radic Res.** 2017;51(9- 315 10):755-764
- Ansere VA, Ali-Mondal S, Sathiaselvan R, et al. Cellular hallmarks of aging emerge in the ovary prior to primordial follicle depletion. **Mech Ageing Dev.** 2021;194:111425.
- Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. **Nat Med.** 2018;24(8):1246-1256.