

# O TRATAMENTO CRÔNICO COM CAFEÍNA PREVINE AS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS INDUZIDAS POR MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO.



DOBLER, P.B.<sup>1</sup>, PORCIÚNCULA, L.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Bioquímica, Porto Alegre/RS, Brasil.

\* E-mail: holapaula1@gmail.com



## Introdução

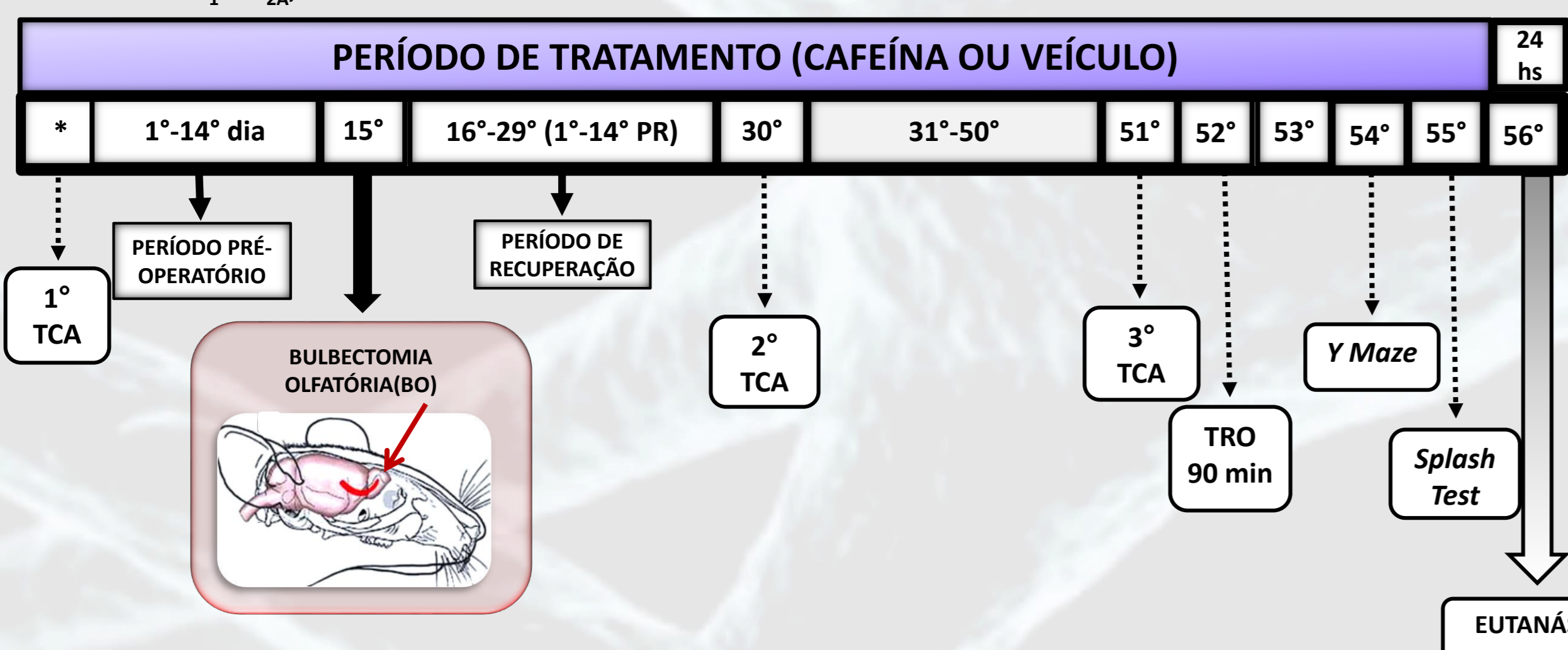
Depressão é uma desordem psiquiátrica caracterizada por uma ampla variedade de sintomas, incluindo alterações de humor e de funções cognitivas, associados a pensamentos recorrentes de morte ou suicídio. Um estudo longitudinal mostrou que o risco de depressão diminuiu com o aumento do consumo de café cafeinado. A cafeína é um composto psicoestimulante amplamente consumido no mundo que age como um antagonista não-seletivo de receptores adenosinérgicos, principalmente dos subtipos A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub>. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar o potencial efeito neuroprotetor/profilático da cafeína contra a depressão. A bulbectomia olfatória (BO) é um modelo animal de depressão que resulta em alterações comportamentais e neuroquímicas, características encontradas em pacientes deprimidos.

## Objetivos

O presente estudo investigou a habilidade da cafeína em prevenir alterações comportamentais e neuroquímicas induzidas pela BO, tais como hiperatividade (depressão agitada), comportamento anedônico e déficit de memória e aprendizado. Além disso, foi analisado o efeito da administração crônica com cafeína, sobre a densidade dos receptores de adenosina A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub>, SNAP-25 (proteína associada ao sinaptossoma de 25 kDa) e GFAP (proteína ácida fibrilar glial) no córtex pré-frontal, hipocampo e estriado de animais bulbectomizados por western blot.

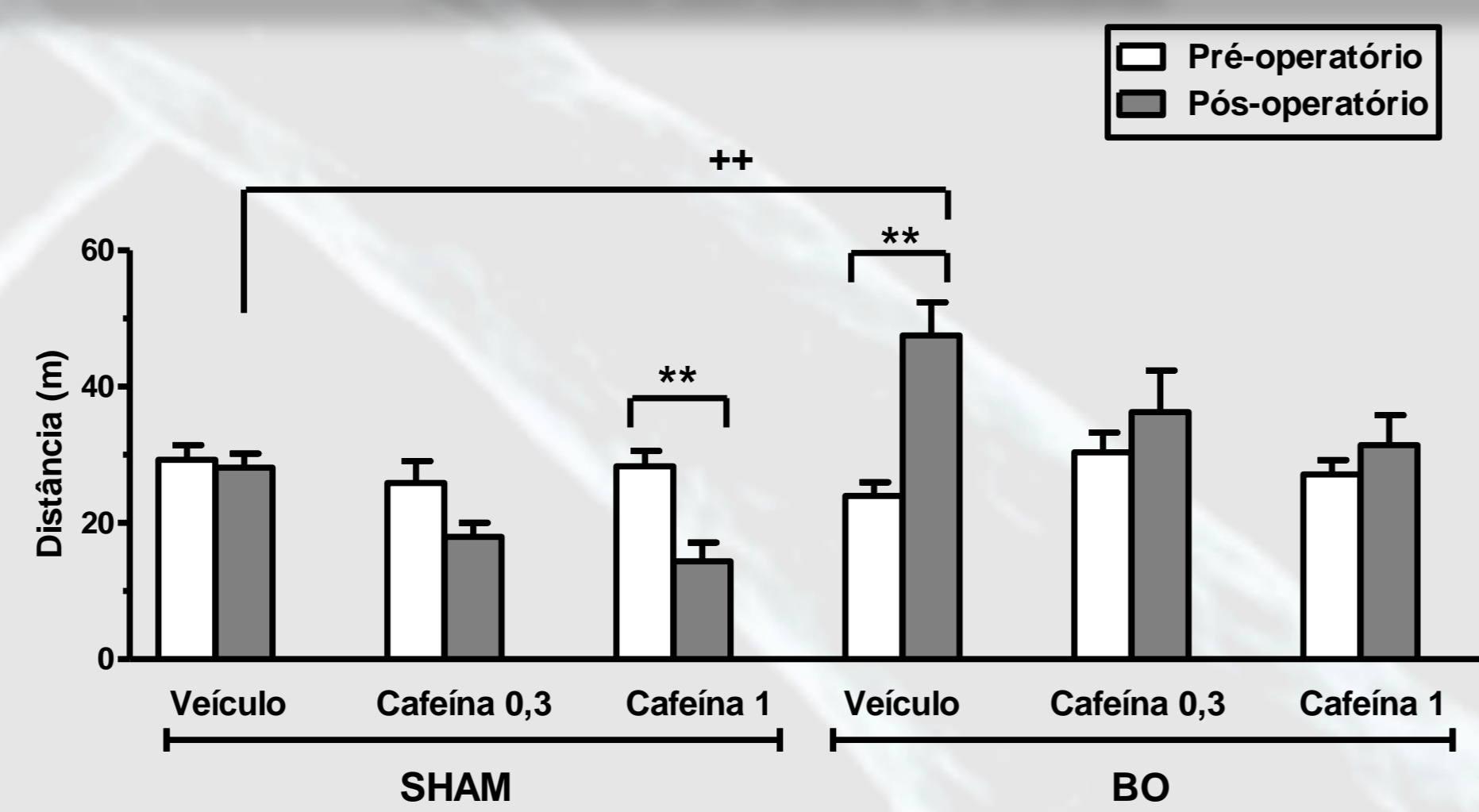
## Métodos

Animais bulbectomizados receberam cafeína (0,3 e 1 g/L, na água de beber), durante o ciclo ativo, por sete semanas (duas semanas antes da cirurgia e ao longo de quatro semanas depois da BO). Os animais foram submetidos ao teste de campo aberto (com a finalidade de verificar o comportamento de hiperatividade, relacionado com a "depressão agitada"), splash-test (comportamento anedônico), e as tarefas de reconhecimento de objetos (TRO) e Y maze (déficit de aprendizado). Depois dos testes comportamentais, os animais foram anestesiados e o córtex pré-frontal, hipocampo e estriado foram dissecados para imunodeteção (Western Blot) de receptores de adenosina A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub>, SNAP-25 e GFAP.



## Resultados

### Tratamento com cafeína: 4 semanas



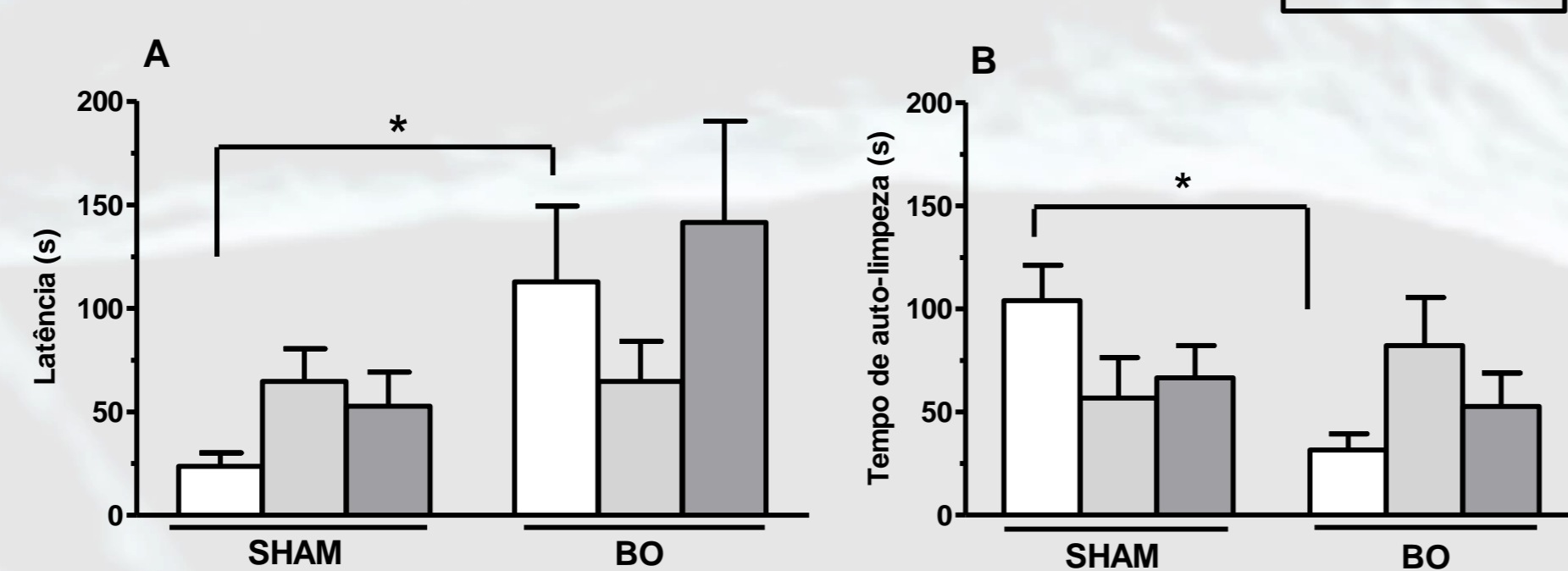
**Figura 1.** Efeitos do tratamento crônico (4 semanas) com cafeína (0,3 ou 1,0 g/L) sobre a atividade locomotora de camundongos bulbectomizados no Teste de Campo Aberto (TCA). Os animais receberam o tratamento com cafeína em duas doses (0,3 e 1 g/L) na água de beber durante a noite, o que corresponde ao ciclo ativo dos animais, a fim de mimetizar o padrão de consumo de cafeína em humanos. Durante o ciclo claro, os camundongos CF1 receberam água potável *ad libitum*. A figura mostra a atividade locomotora no período pré-operatório, antes da Bulbectomia Olfatória (BO), (barras brancas) e período pós-operatório da BO (barras cinzas). Cada coluna representa a média + EPM (N = 7-11 animais/grupo experimental). \*\*P<0,01 quando comparado com o período pré-operatório; ++P<0,01 quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Duncan.

### Tratamento com cafeína: 7 semanas



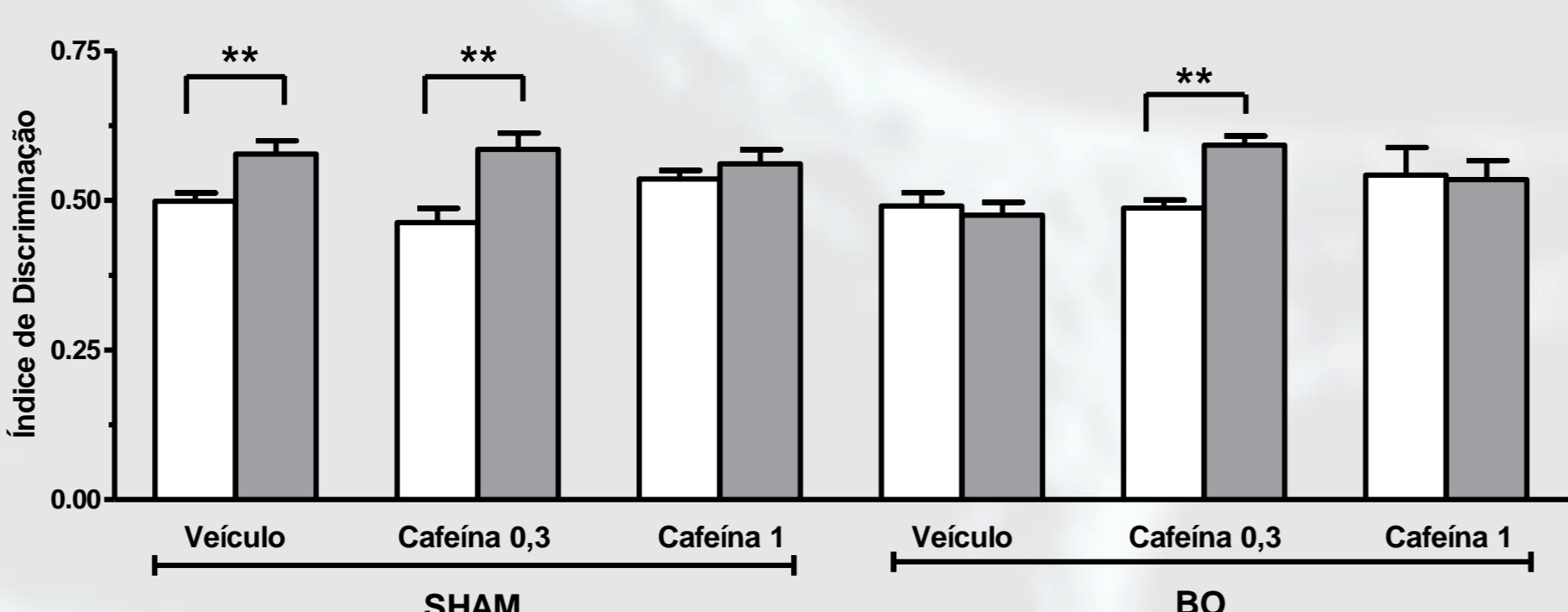
**Figura 2.** Efeitos do tratamento crônico (7 semanas) com cafeína (0,3 ou 1,0 g/L) sobre a atividade locomotora de camundongos bulbectomizados no Teste de Campo Aberto (TCA). Os animais receberam o tratamento com cafeína em duas doses (0,3 e 1 g/L) na água de beber durante a noite, o que corresponde ao ciclo ativo dos animais, a fim de mimetizar o padrão de consumo de cafeína em humanos. Durante o ciclo claro, os camundongos CF1 receberam água *ad libitum*. Cada coluna representa a média + EPM (N = 7-11 /grupo experimental). \* P<0,05 quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo). ++ P<0,01 quando comparado ao grupo BO-Veículo. Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Duncan.

### Tratamento com cafeína: 7 semanas



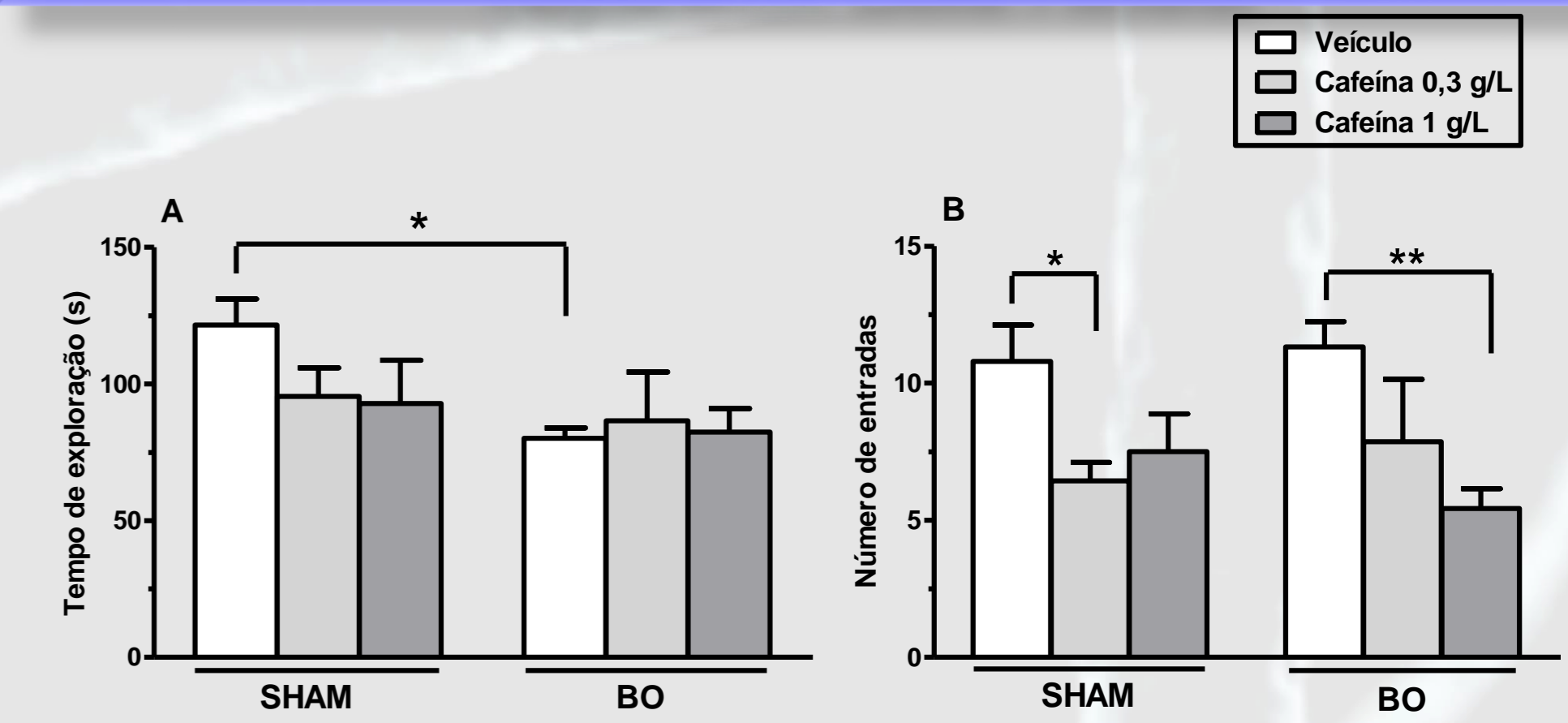
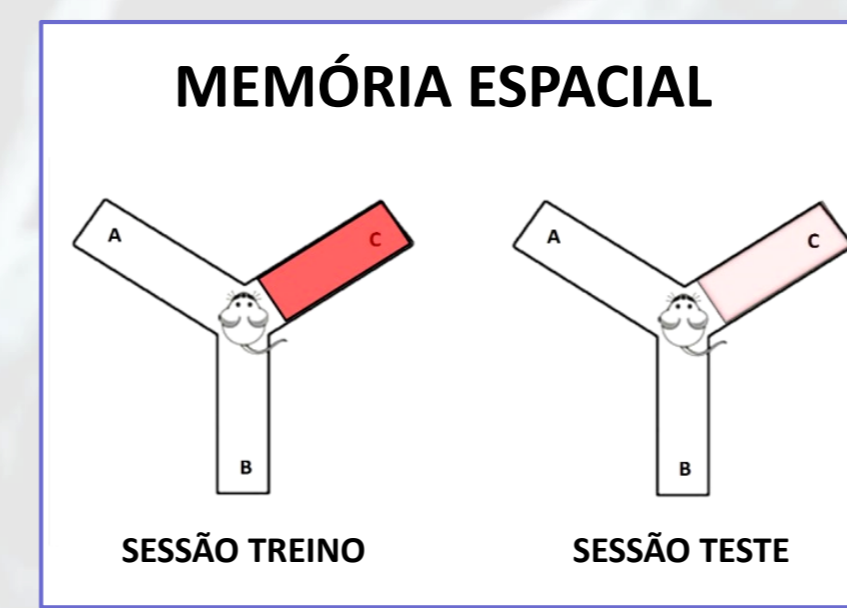
**Figura 3.** Efeitos do tratamento crônico (7 semanas) com cafeína (0,3 ou 1,0 g/L) sobre o comportamento anedônico de camundongos bulbectomizados quando submetidos ao *Splash Test*. Os animais receberam o tratamento com cafeína em duas doses (0,3 e 1 g/L) na água de beber durante a noite, o que corresponde ao ciclo ativo dos animais, a fim de mimetizar o padrão de consumo de cafeína em humanos. Durante o ciclo claro, os camundongos CF1 receberam água *ad libitum*. A figura 3A representa a latência para os animais exibirem o comportamento de auto-limpeza e a figura 3B representa o tempo total de auto-limpeza durante o teste. Cada coluna representa a média + EPM (N = 7-11 /grupo experimental). \* P<0,05 quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Duncan.

### Tratamento com cafeína: 7 semanas



**Figura 4.** Efeitos do tratamento crônico (7 semanas) com cafeína (0,3 ou 1,0 g/L) em camundongos bulbectomizados, sobre o desempenho na Tarefa de Reconhecimento de Objetos (TRO). A figura mostra o índice de discriminação de objetos na sessão treino (barras brancas) e na sessão teste (barras cinzas). A sessão teste foi realizada 90 minutos depois da sessão de treino. Os dados são apresentados como média ± EPM. Os resultados estão expressos pelo índice de discriminação dos objetos durante as sessões treino e teste do TRO. A análise estatística realizada foi pelo teste t (não pareado). Cada coluna representa a média + EPM (N = 7-11/grupo experimental). \*\* P<0,01, indica a diferença no índice de discriminação entre as sessões treino e teste de cada grupo.

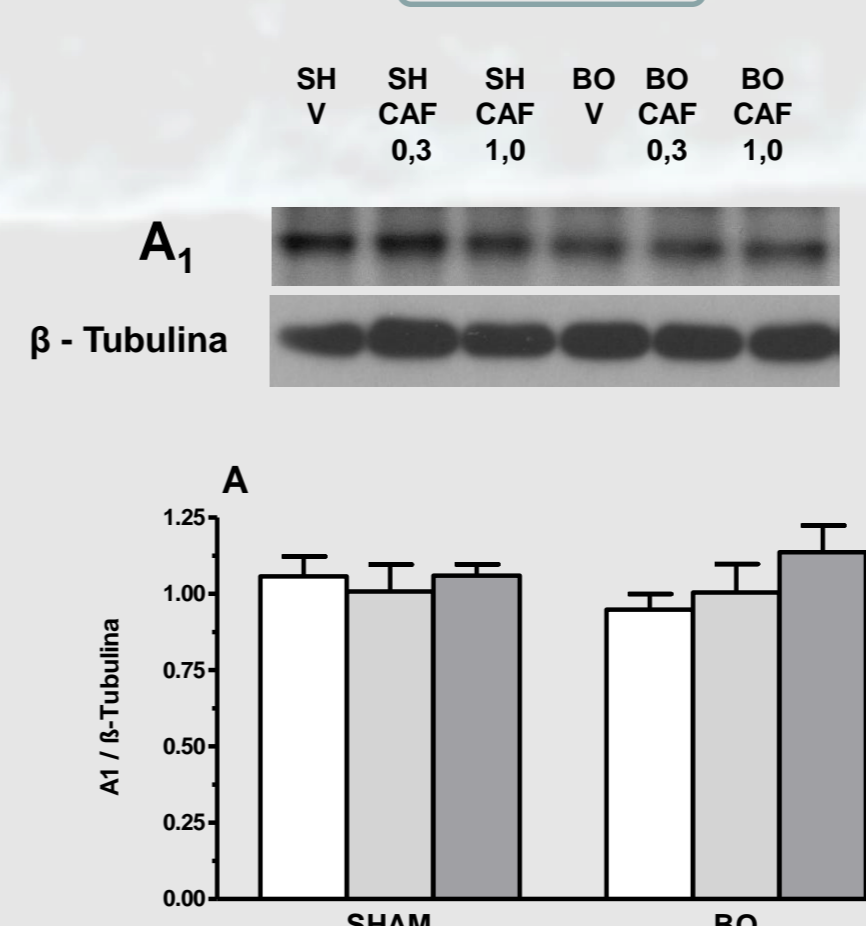
### Tratamento com cafeína: 7 semanas



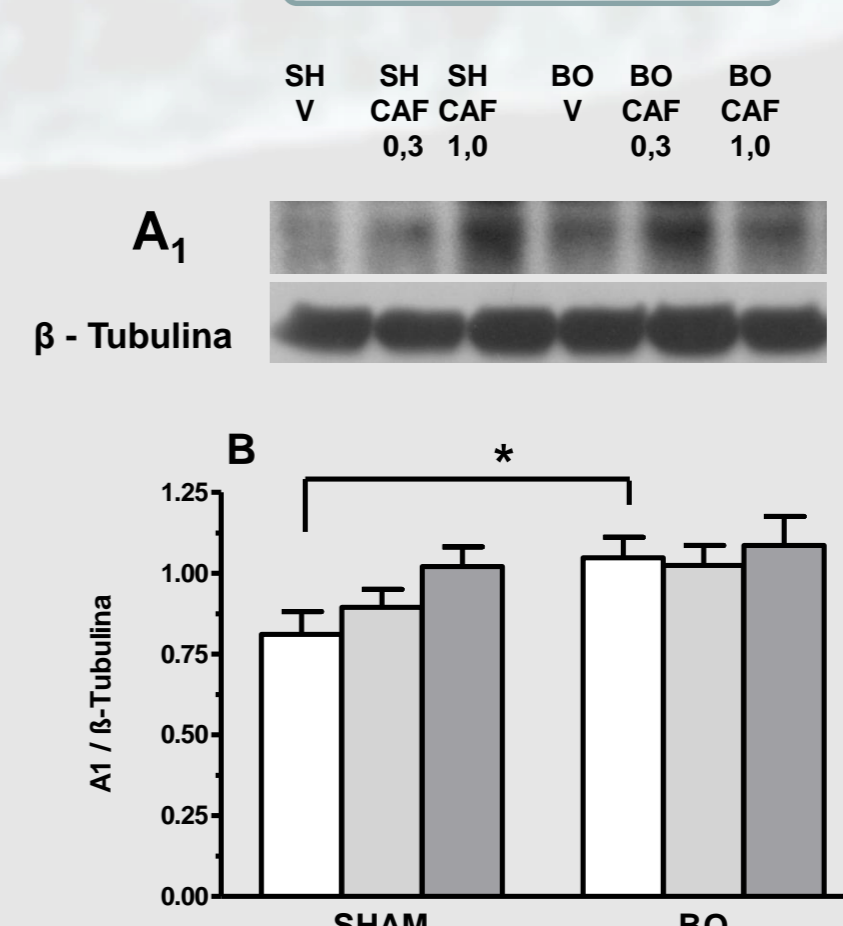
**Figura 5.** Efeitos do tratamento crônico (7 semanas) com cafeína (0,3 ou 1,0 g/L) em camundongos bulbectomizados, sobre o desempenho na Tarefa do Y Maze. Os animais receberam o tratamento com cafeína em duas doses (0,3 e 1 g/L) na água de beber durante a noite, o que corresponde ao ciclo ativo dos mesmos. A sessão teste foi realizada 30 minutos depois da sessão treino. A figura 5A representa o tempo de exploração no braço novo do aparato, e a figura 5B representa o número de entradas no braço novo. Cada coluna representa a média + EPM (N = 7-11/grupo experimental). \*P<0,05 quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo); \*\* P<0,01 quando comparado com o grupo BO-Veículo.

## WESTERN BLOT

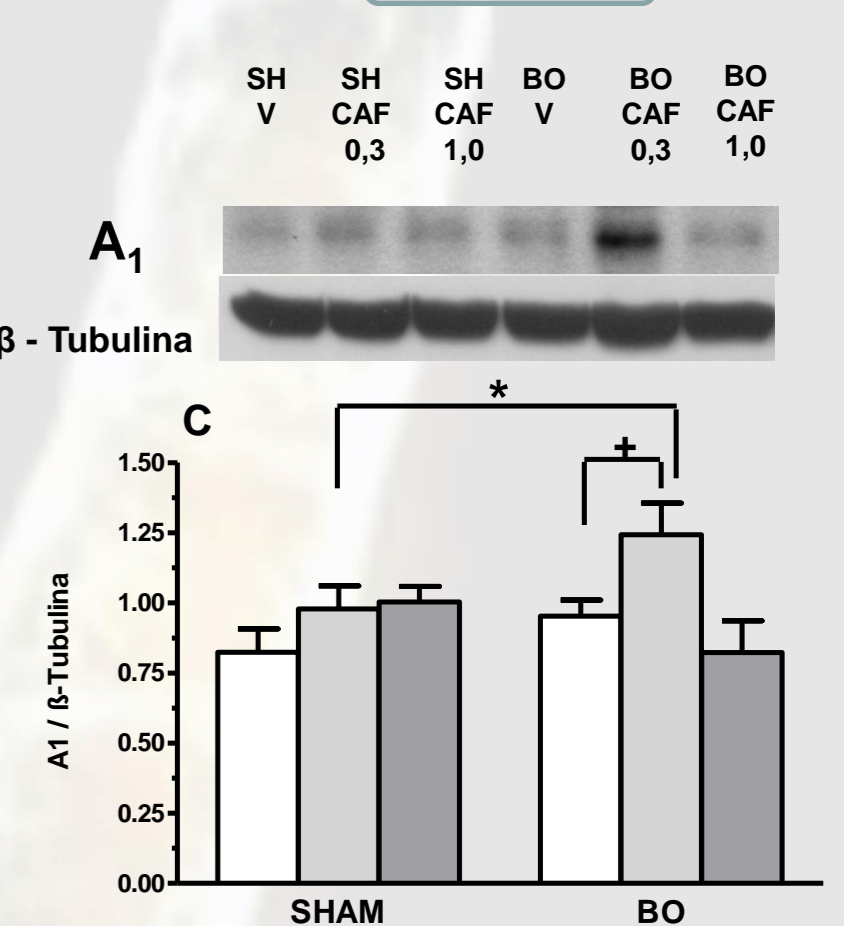
### HIPOCAMPO



### CÓRTEX PRÉ-FRONTAL

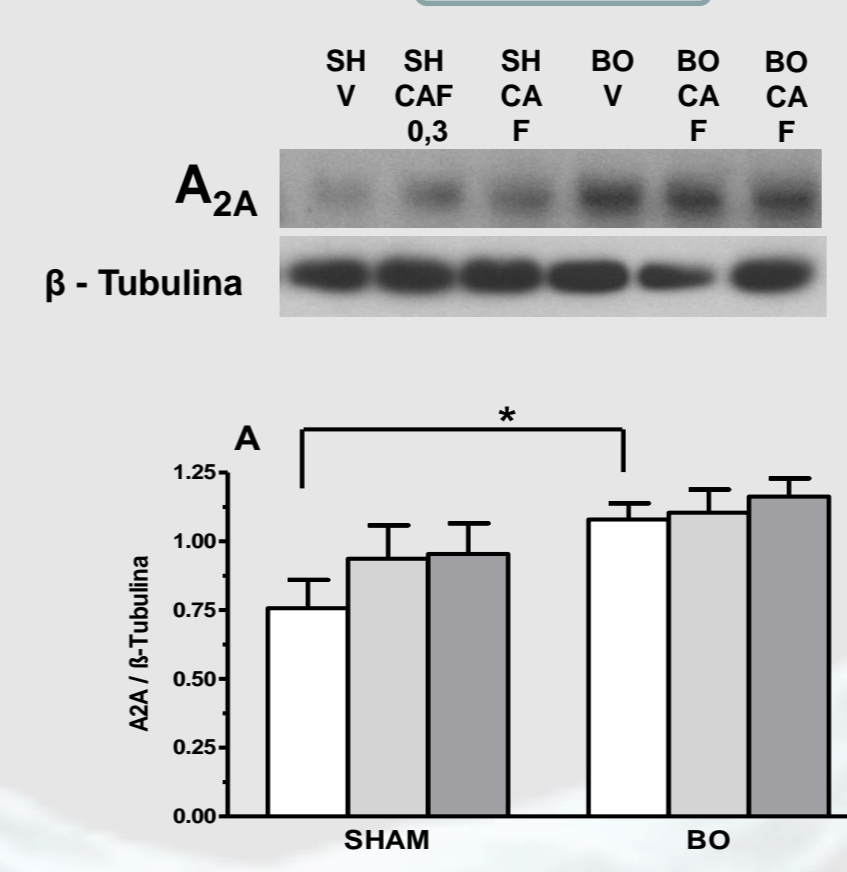


### ESTRIADO

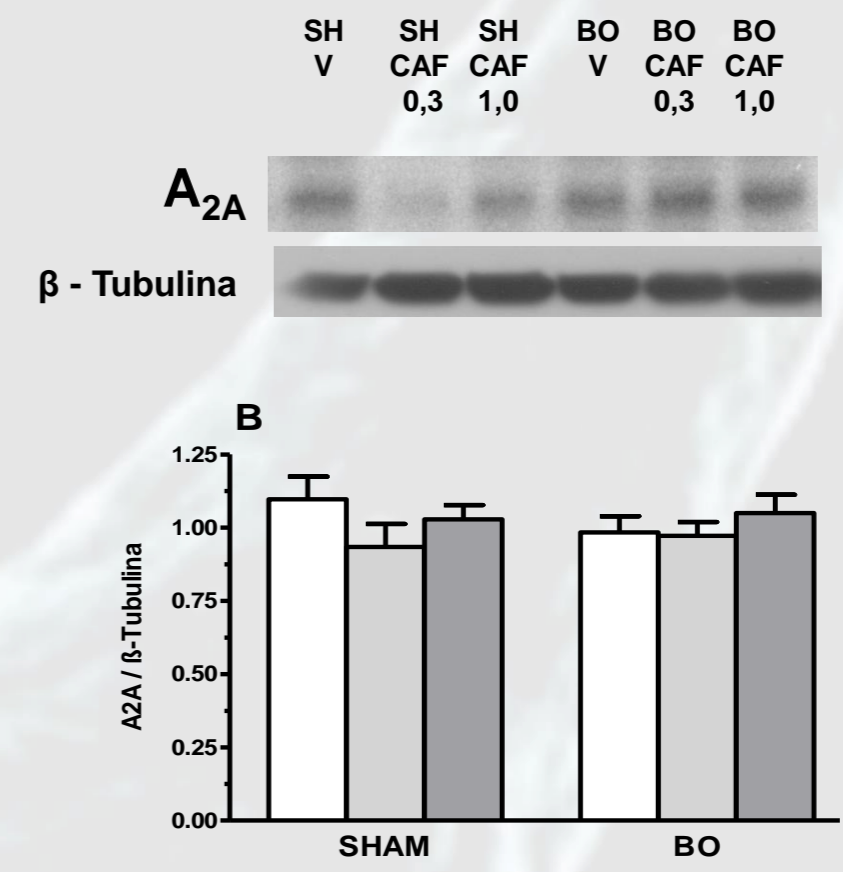


**Figura 6.** Imunoconteúdo de receptores de adenosina A<sub>1</sub> em camundongos bulbectomizados e submetidos ao tratamento crônico com cafeína (0,3 e 1 g/L) na água de beber por 7 semanas. A quantificação dos receptores de adenosina A<sub>1</sub> no hipocampo estão representados na figura 6A, no córtex pré-frontal (figura 6B) e no estriado (figura 6C) dos camundongos bulbectomizados e tratados com cafeína. Cada coluna representa a média ± EPM (n = 6-9 animais por grupo experimental). As densidades foram mensuradas por Western blot e normalizadas pela densidade de β-tubulina. Na parte superior das figuras estão as bandas representativas de Western blot para os receptores A<sub>1</sub> e β-tubulina. \*P<0,05, indica diferença significativa quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo), +P<0,05, indica diferença significativa quando comparado com o grupo BO-veículo. Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Duncan. Os grupos são: SH-V (SHAM-Veículo), SH-CAF 0,3 (SHAM-Cafeína 0,3), SH-CAF 1,0 (SHAM-Cafeína 1,0), BO-V (BO-Veículo), BO-CAF 0,3 (BO-Cafeína 0,3), BO-CAF 1,0 (BO-Cafeína 1,0).

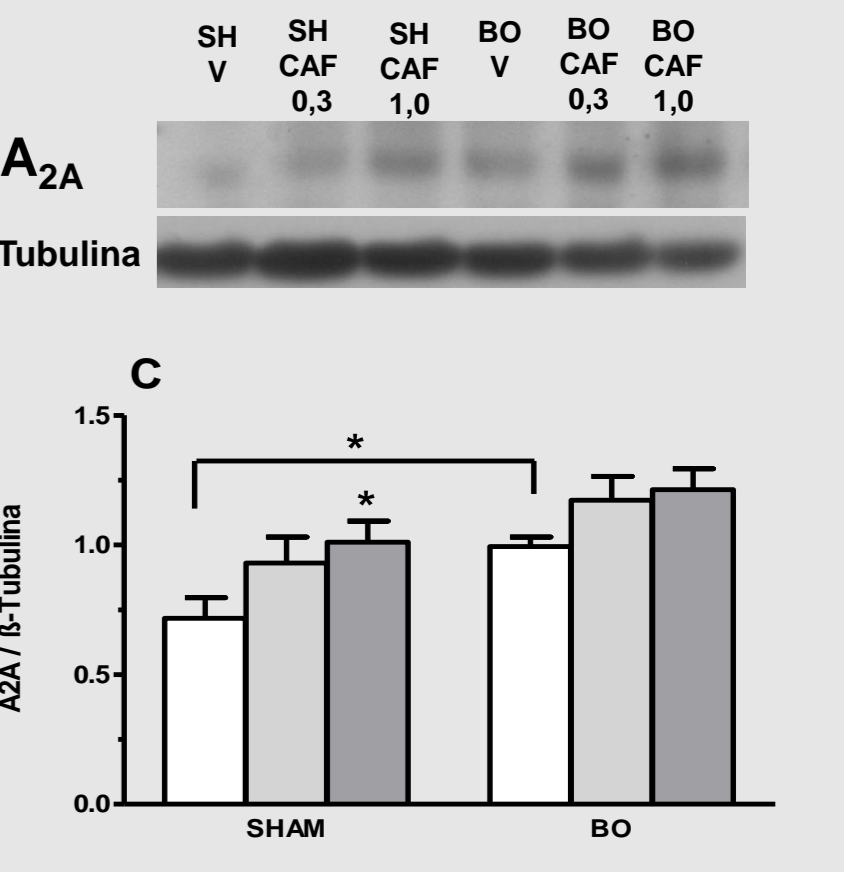
### HIPOCAMPO



### CÓRTEX PRÉ-FRONTAL

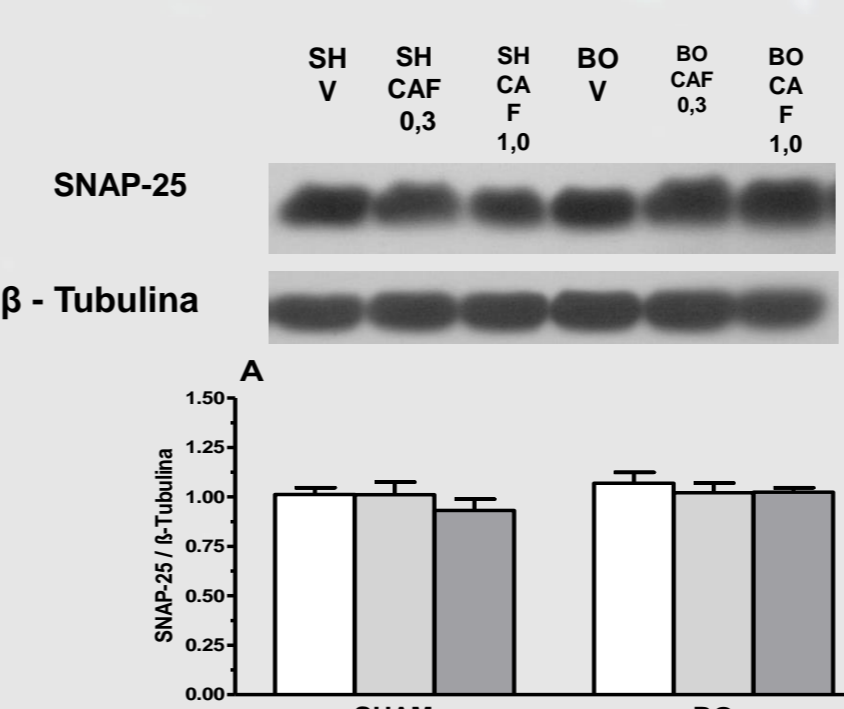


### ESTRIADO

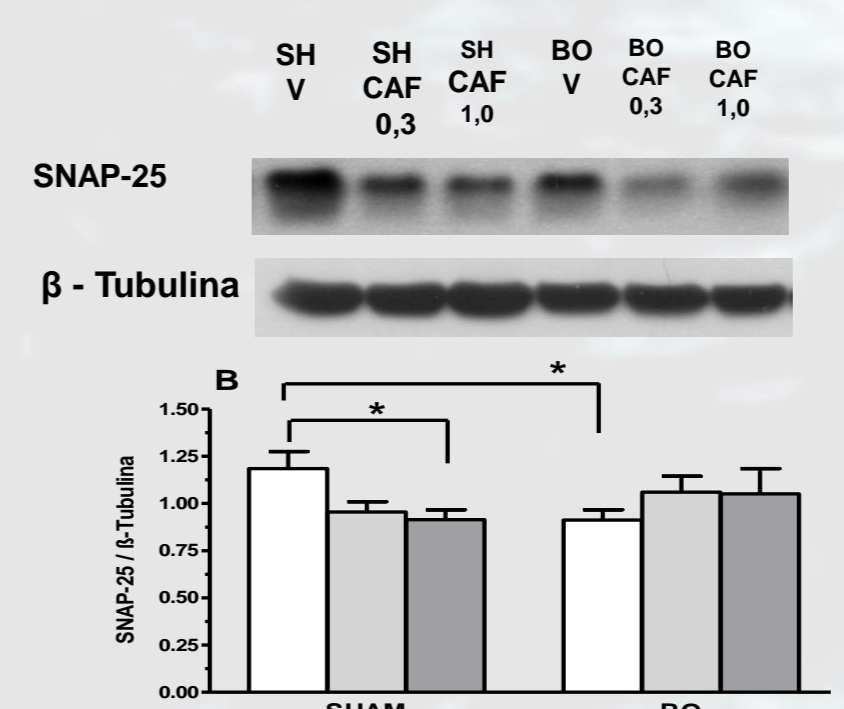


**Figura 7.** Imunoconteúdo de receptores de adenosina A<sub>2A</sub> em camundongos bulbectomizados e submetidos ao tratamento crônico com cafeína (0,3 e 1 g/L) na água de beber por 7 semanas. A quantificação dos receptores de adenosina A<sub>2A</sub> no hipocampo estão representados na figura 7A, no córtex pré-frontal (figura 7B) e no estriado (figura 7C) dos camundongos bulbectomizados e tratados com cafeína. Cada coluna representa a média ± EPM (n = 6-12 animais por grupo experimental). As densidades foram mensuradas por Western blot e normalizadas pela densidade de β-tubulina. Na parte superior das figuras estão as bandas representativas de Western blot para os receptores A<sub>2A</sub> e β-tubulina. \*P<0,05, indica diferença significativa quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Duncan. Os grupos são: SH-V (SHAM-Veículo), SH-CAF 0,3 (SHAM-Cafeína 0,3), SH-CAF 1,0 (SHAM-Cafeína 1,0), BO-V (BO-Veículo), BO-CAF 0,3 (BO-Cafeína 0,3), BO-CAF 1,0 (BO-Cafeína 1,0).

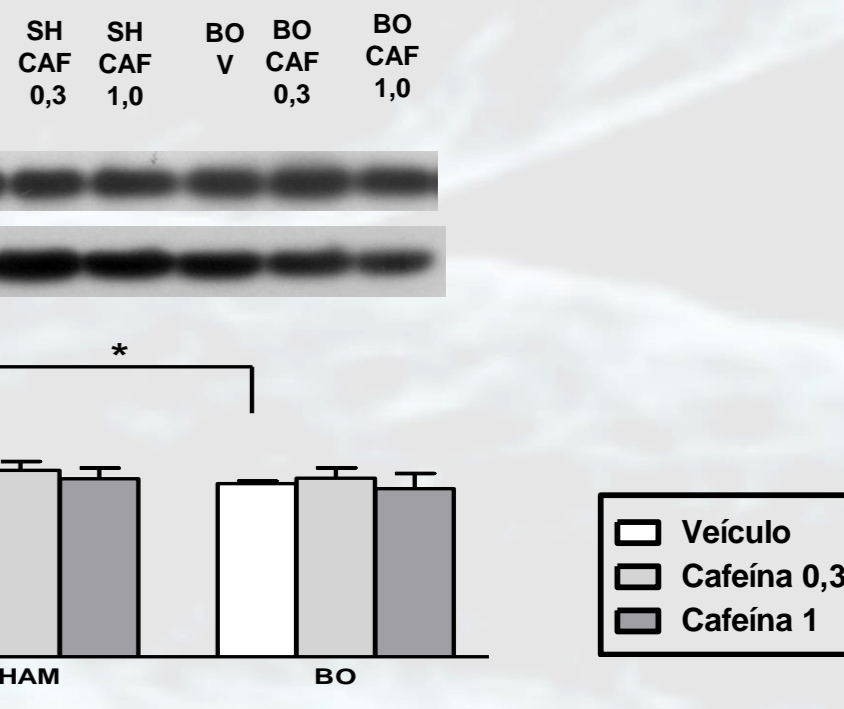
### HIPOCAMPO



### CÓRTEX PRÉ-FRONTAL

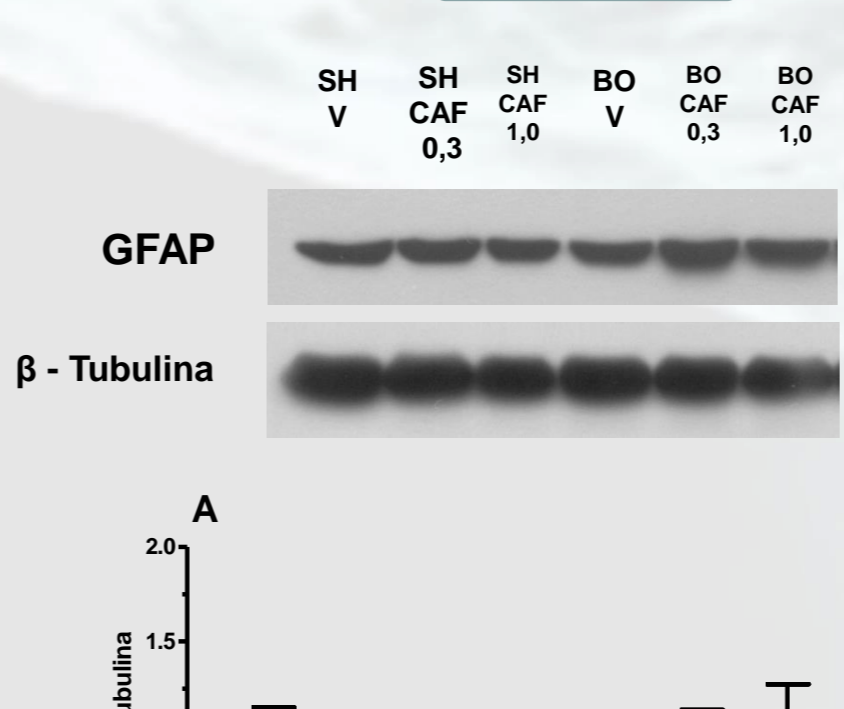


### ESTRIADO

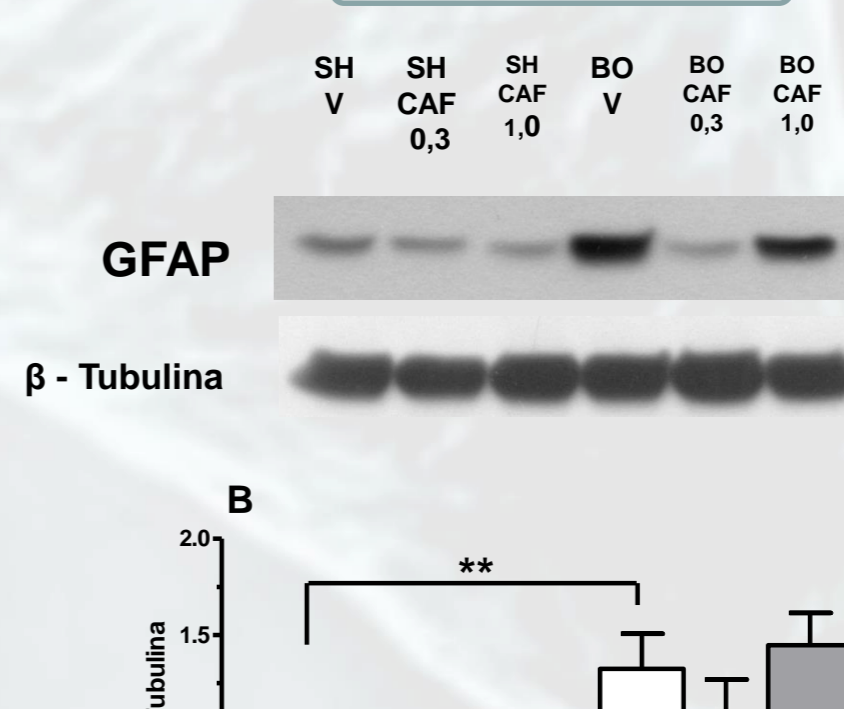


**Figura 8.** Imunoconteúdo de SNAP-25 (proteína associada ao sinaptossoma de 25 kDa) em camundongos bulbectomizados e submetidos ao tratamento crônico com cafeína (0,3 e 1 g/L) na água de beber por 7 semanas. A quantificação de SNAP-25 no hipocampo estão representados na figura 8A, no córtex pré-frontal (figura 8B) e no estriado (figura 8C) dos camundongos bulbectomizados e tratados com cafeína. Cada coluna representa a média ± EPM (n = 6-12 animais por grupo experimental). As densidades foram mensuradas por Western blot e normalizadas pela densidade de β-tubulina. Na parte superior das figuras estão as bandas representativas de Western blot para SNAP-25 e β-tubulina. \*P<0,05, indica diferença significativa quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Duncan. Os grupos são: SH-V (SHAM-Veículo), SH-CAF 0,3 (SHAM-Cafeína 0,3), SH-CAF 1,0 (SHAM-Cafeína 1,0), BO-V (BO-Veículo), BO-CAF 0,3 (BO-Cafeína 0,3), BO-CAF 1,0 (BO-Cafeína 1,0).

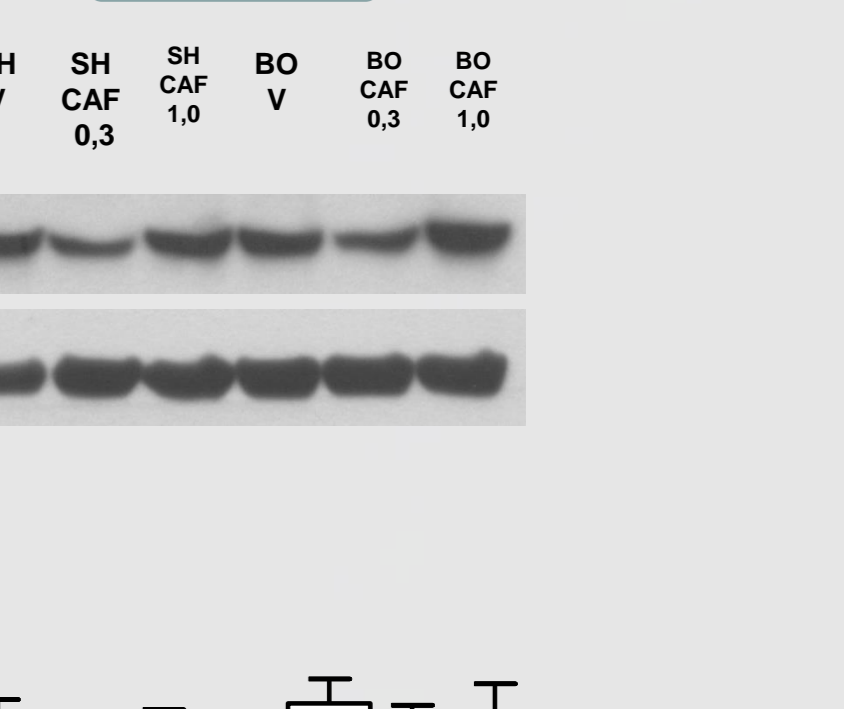
### HIPOCAMPO



### CÓRTEX PRÉ-FRONTAL



### ESTRIADO



**Figura 9.** Imunoconteúdo de GFAP (proteína ácida fibrilar glial) em camundongos bulbectomizados e submetidos ao tratamento crônico com cafeína (0,3 e 1 g/L) na água de beber por 7 semanas. A quantificação de GFAP no hipocampo estão representados na figura 9A, no córtex pré-frontal (figura 9B) e no estriado (figura 9C) dos camundongos bulbectomizados e tratados com cafeína. Cada coluna representa a média ± EPM (n = 6-12 animais por grupo experimental). As densidades foram mensuradas por Western blot e normalizadas pela densidade de β-tubulina. Na parte superior das figuras estão as bandas representativas de Western blot para GFAP e β-tubulina. \*\*P<0,01, indica diferença significativa quando comparado com o grupo controle (SHAM-Veículo). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Duncan. Os grupos são: SH-V (SHAM-Veículo), SH-CAF 0,3 (SHAM-Cafeína 0,3), SH-CAF 1,0 (SHAM-Cafeína 1,0), BO-V (BO-Veículo), BO-CAF 0,3 (BO-Cafeína 0,3), BO-CAF 1,0 (BO-Cafeína 1,0).

## CONCLUSÃO

A cafeína preveniu alterações comportamentais em camundongos bulbectomizados, com algumas modificações nas correlações neuroquímicas, sugerindo que outras vias de sinalização possam estar envolvidas. Em suma, os resultados do presente estudo, indicam que a cafeína pode ser considerada uma ferramenta terapêutica promissora na profilaxia e/ou tratamento da depressão.

SUPORTE FINANCEIRO: CNPq