

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



### EFEITO DE ALTAS CONCENTRAÇÕES DE CAFEÍNA NA TAXA DE MORTALIDADE EM *Drosophila melanogaster*

Jose Wellington Macêdo Viana<sup>1</sup>, Rita de Cássia Gonçalves de Lima<sup>2</sup>, Jean Paul Kamdem<sup>3</sup>

**RESUMO:** Estudos demonstraram que a cafeína (CAF), um alcaloide purina natural encontrado em mais de 60 tipos de plantas, tem sido associada com a redução do estresse oxidativo, sendo capaz de inibir a peroxidação lipídica nas células. Não obstante, dependendo da dosagem e da frequência de uso, a CAF pode ser tóxica para humanos e animais. Pesquisas usando modelos invertebrados demonstraram que altas doses de CAF contribuem para aumentar os níveis de estresse oxidativo, desencadeando mudanças comportamentais e diminuição da expectativa de vida. Neste contexto, objetivamos avaliar as alterações na taxa de mortalidade induzidas por altas concentrações de cafeína em *Drosophila melanogaster*. Para tanto, foram utilizadas moscas machos e fêmeas, com 1-3 dias de vida e expostas à dieta suplementada com concentrações crescentes de CAF (10, 25, 50 e 100 mM) durante 7 dias. A contagem do número de moscas mortas foi registrada diariamente e os testes realizados em triplicata. Ao final do período de exposição, foi possível perceber que a concentração de 100 mM de CAF foi a mais tóxica, evidenciado pelo aumento na taxa de mortalidade quando comparado ao controle e aos demais grupos.

**Palavras-chave:** Cafeína (CAF). Taxa de Mortalidade. Toxicidade. Moscas.

## 1. INTRODUÇÃO

A cafeína (CAF) (1,3,7-trimetilxantina) é uma das principais substâncias psicoativas mais frequentemente consumidas em todo o mundo (LIU *et al.*, 2017), sendo um alcaloide purina natural encontrado em folhas, sementes e frutos de mais de 60 tipos de plantas (MAGUIRE *et al.*, 2017), bem como nas populares bebidas energéticas, onde a cafeína sintética é adicionada para melhorar suas propriedades estimulantes (TEMPLE *et al.*, 2017).

Estudos demonstraram que a CAF tem sido associada com a redução do estresse oxidativo devido à sua capacidade de neutralizar Espécies Reativas

---

1 Graduando em Bacharelado do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Cariri, e-mail: [wellingtonmacedo1819@gmail.com](mailto:wellingtonmacedo1819@gmail.com)

2 Graduanda em Licenciatura do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Cariri, e-mail: [ritagoncalves289@gmail.com](mailto:ritagoncalves289@gmail.com)

3 Orientador, Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Cariri, e-mail: [kamdemjeanpaul2005@yahoo.fr](mailto:kamdemjeanpaul2005@yahoo.fr)

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



de Oxigênio e inibir a peroxidação lipídica nas células (MISHRA; KUMAR, 2014), além de reduzir a produção de proteína  $\beta$ -amiloide em humanos com doença de Alzheimer (KOLAHDOUZAN; HAMADEH, 2017).

Apesar disso, evidências científicas apontam que substâncias antioxidantes como a CAF podem promover efeitos adversos no organismo dependendo da dosagem e da frequência de uso (CARAVAN *et al.*, 2016), sendo dosagens excessivas contribuintes para o desenvolvimento de alterações fisiológicas diversas (ALMOSAWI *et al.*, 2018). Por exemplo, estudos utilizando modelos invertebrados (a exemplo da *Drosophila melanogaster*) demonstraram que concentrações acima de 50 mM de CAF podem contribuir para aumentar os níveis de estresse oxidativo, desencadeando mudanças comportamentais e diminuição da expectativa de vida, além de resultar em efeitos negativos sobre a atividade locomotora, aprendizado e sono (SI; ZHANG; MALESZKA, 2015; MUSTARD, 2014; KO *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2018; Da SILVA *et al.*, 2018).

*D. melanogaster*, conhecida popularmente como a mosca-das-frutas, vem sendo amplamente empregada nos últimos anos como modelo animal invertebrado alternativo para entender a toxicidade básica de vários compostos em diferentes sistemas biológicos (MUNOZ-SORIANO; PATRICIO, 2011; VRAILAS-MORTIMER *et al.*, 2012). Neste contexto, destacam-se estudos que procuraram avaliar a toxicidade da CAF sob alterações comportamentais, expectativa de vida e taxa de mortalidade em *D. melanogaster* (BONILLA *et al.*, 2006; BAHADORANI *et al.*, 2008; MUSTARD *et al.*, 2012).

## 2. OBJETIVO

Diante do exposto, o presente estudo objetivou avaliar as alterações na taxa de mortalidade induzidas por altas concentrações de cafeína em *D. melanogaster*.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. Animais

Para a realização dos protocolos experimentais, foram utilizadas moscas machos e fêmeas da espécie *D. melanogaster*, com 1 a 3 dias de idade, e obtidas do Laboratório de Biologia e Toxicologia (BIOTOX) da Universidade Regional do Cariri-URCA.

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



### 3.2. Formulação da Dieta

As moscas foram mantidas em frascos de vidro contendo meio de cultura constituído por 1 kg de cuscuz (fubá), 50 g de soja moída, 50 g de leite em pó, 50 g de açúcar e 10 g de sal, mantidos em um ciclo claro/escuro de 12/12 horas.

### 3.3. Grupos Experimentais

As moscas foram expostas à dieta suplementada com diferentes concentrações de CAF (10, 25, 50 e 100 mM) durante um período de 7 dias (1 semana) para testar quais das concentrações apresentaria maior toxicidade mediante avaliação da taxa de mortalidade, que se baseia na contagem diária do número de moscas mortas durante o período considerado.

Ao final da exposição, foi possível obter uma média do número cumulativo de mortes registradas ao longo de uma semana. Os testes experimentais foram realizados em triplicata, seguindo o protocolo padrão. Os grupos foram: Grupo I: Moscas sem dieta suplementada com CAF (Controle); Grupos II ao V: Moscas expostas à dieta suplementada com concentrações crescentes de CAF (10, 25, 50 e 100 mM), respectivamente.

## 4. RESULTADOS

Conforme o esperado, a concentração de 100 mM de CAF mostrou-se a mais tóxica para as moscas, com aumento na taxa de mortalidade quando comparada com o grupo controle durante o período considerado. As demais concentrações apresentaram efeitos tóxicos menos significativos quando comparado ao grupo V (CAF 100 mM) e ao grupo I (controle) (gráfico abaixo).

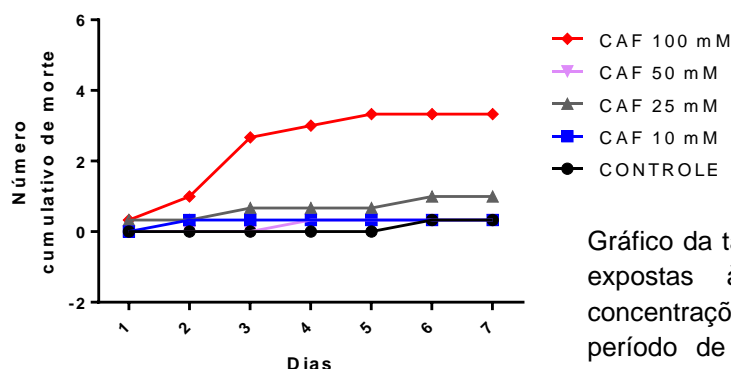


Gráfico da taxa de mortalidade das moscas expostas à dieta suplementada com concentrações crescentes de CAF durante o período de exposição de 7 dias. Fonte: gráfico elaborado pelos autores.

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



É perceptível que a menor concentração de CAF (10 mM) praticamente não causou alterações na taxa de mortalidade das moscas, fato vislumbrado pelo número cumulativo de morte relativamente reduzido. Quando comparado ao grupo IV (moscas com dieta suplementada com CAF na concentração de 50 mM), esta afirmação também faz-se verdadeira. Neste grupo, o número de moscas mortas permaneceu constante a partir do terceiro dia de exposição, fato relativamente interessante e que será digno de nota em experimentos ulteriores. Em contraste, no grupo exposto à dieta suplementada com CAF na concentração de 25 mM (grupo III), houve aumento na taxa de mortalidade em comparação ao grupo IV e o controle.

### 5. CONCLUSÃO

Em suma, é possível concluir que a cafeína, quando em altas concentrações (> 50 mM), é tóxica para as moscas, fato evidenciado pelo aumento na taxa de mortalidade na concentração de 100 mM e corroborado por estudos toxicológicos básicos citados anteriormente neste trabalho. Mesmo assim, não podemos generalizar os fatos, uma vez que a concentração de 50 mM (considerada alta por alguns autores) praticamente não causou efeitos sob a taxa de mortalidade das moscas, como demonstrado previamente em nossos experimentos.

### 6. REFERÊNCIAS

- ALMOSAWI, S.; BAKSH, H.; QAREEBALLA, A.; FALAMARZI, F.; ALSALEH, B.; ALRABAANI, M.; ALKALBANI, A.; MAHDI, S.; KAMAL, A. Acute administration of caffeine: the effect on motor coordination, higher brain cognitive functions, and the social behavior of BLC57 Mice. **Behavioural Science**, v. 8, n. 65, p. 01-11, 2018.
- BAHADORANI, S.; BAHADORANI, P.; PHILLIPS, J. P.; HILLIKER, A. J. The effects of vitamin supplementation on *Drosophila* life span under normoxia and under oxidative stress. **Journal of Gerontology: Biological Sciences**, v. 63, n. 1, p. 35-42, 2008.
- BONILLA, E.; MEDINA-LEENDERTZ, S.; VILLALOBOS, V.; MOLERO, L.; BOHÓRQUEZ, A. Paraquat-induced oxidative stress in *Drosophila melanogaster*: effects of melatonin, glutathione, serotonin, minocycline, lipoic acid and ascorbic acid. **Neurochemistry Research**, v. 31, p. 1425-1432, 2006.
- CARAVAN, I.; SEVASTRE BERGHIAN, A.; MOLDOVAN, R.; DECEA, N.; ORASAN, R.; FILIP, G. A. Modulatory effects of caffeine on oxidative stress and anxiety-like behaviour in ovariectomized rats. **Journal of physiology and Pharmacology**, v. 94, p. 961-972, 2016.
- CHEN Y. W.; HUANG Y. H.; WEN C.C.; WANG Y. H.; CHEN W.L.; CHEN L.C.; TSAY, H.J. Movement disorder and neuromuscular change in zebrafish embryos after exposure to caffeine. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 30, n. 5, p. 440-447, 2018.

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



Da SILVA, C. S.; LIMA, R. C. G.; ELEKOFEHINTI, O. O.; OGUNBOLUDE, Y.; DUARTE, A. E.; ROCHA, J. B. T.; MENEZES, I. R. A.; BARROS, L. M.; TSOPMO, A.; LUKONG, K. E.; KAMDEM, J. P. Caffeine-supplemented diet modulates oxidative stress markers and improves locomotor behaviour in the lobster cockroach *Nauphoeta cinerea*. **Chemical-Biological Interactions**, v. 12, p. 01-08, 2018.

KO, B. S.; AHN, S. H.; NOHC, D. O.; HONG, K. B.; HANE, S. H.; SUH, H. J. Effect of explosion-puffed coffee on locomotor activity and behavioural patterns in *Drosophila melanogaster*. **Food Research International**, v. 100, p. 252–260, 2017.

KOLAHDOUZAN, M.; HAMADEH, M. J. The neuroprotective effects of caffeine in neurodegenerative diseases. **CNS Neuroscience Therapeutic**, v. 23, p. 272–290, 2017.

LIU, Q. S.; DENG, R.; FAN, Y.; LI, K.; MENG, F.; LI, X.; LIU, R. Low dose of caffeine enhances the efficacy of antidepressants in major depressive disorder and the underlying neural substrates. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, p. 132-146, 2017.

MAGUIRE, A. R.; KUNCB, M.; HYRSLB, P.; KAVANAGH, K. Caffeine administration alters the behaviour and development of *Galleria mellonella* larvae. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 64, p. 37-44, 2017.

MISHRA, J.; KUMAR, A. Improvement of mitochondrial NAD(+)/FAD(+)-linked state-3 respiration by caffeine attenuates quinolinic acid induced motor impairment in rats: implications in Huntington's disease. **Pharmacological Reports**, v. 66, p. 1148–1155, 2014.

MUNOZ-SORIANO, V.; PATRICIO, N. *Drosophila* models of Parkinson's disease: discovering relevant pathways and novel therapeutic strategies. **Parkinson's Disease**, n. 11, p. 11-14, 2011.

MUSTARD, J. A.; DEWS, L.; BRUGATO, A.; DEY, K.; WRIGHT, G. A. Consumption of an acute dose of caffeine reduces acquisition but not memory in the honey bee. **Behavioural Brain Research**, v. 232, n. 1, p. 217-224, 2012.

MUSTARD, J. A. The buzz on caffeine in invertebrates: effects on behaviour and molecular mechanisms. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 8, p. 1375–1382, 2014.

SI, A.; ZHANG, S. W.; MALESZKA, R. Effects of caffeine on olfactory and visual learning in the honey bee (*Apis mellifera*). **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v. 82, n. 4, p. 664–672, 2015.

TEMPLE, J. L.; BERNARD, C.; LIPSHULTZ, S.E.; CZACHOR, J.D.; WESTPHAL, J. A.; MESTRE, M.A. The safety of ingested caffeine: a comprehensive review. **Frontiers in Psychiatry**, v. 8, n. 80, p. 01-19, 2017.

VRAILAS-MORTIMER, A.; GOMEZ, R.; DOWSE, H.; SANYAL, S. A survey of the protective effects of some commercially available antioxidant supplements in genetically and chemically induced models of oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. **Experimental Gerontology**, v. 47, p. 712–722, 2012.