



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**INTERFERÊNCIAS DE SUBSTÂNCIAS MODULADORAS DO SISTEMA  
NERVOSO CENTRAL NA PRIVAÇÃO DE SONO**

**MELISSA SOUSA DE ASSIS**

**BRASÍLIA/DF**

**2019**

MELISSA SOUSA DE ASSIS

**INTERFERÊNCIAS DE SUBSTÂNCIAS MODULADORAS DO SISTEMA  
NERVOSO CENTRAL NA PRIVAÇÃO DE SONO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, da Universidade de Brasília, como requisito final para obtenção do título de Doutora em Ciências Aplicadas à Saúde.

Orientadora: **Profa. Dra. Vania Moraes Ferreira**

**BRASÍLIA/DF**

**2019**

**Assis, MS**

***“Interferências de substâncias moduladoras do sistema nervoso central na privação do sono”***. Brasília-DF, UnB, 2019. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências Aplicadas em Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade de Brasília.

**Orientadora:** Profa. Dra. Vania Maria Moraes Ferreira

**Defesa:** 30.01.2019

[Ansiedade] [Bebida energética] [Cafeína] [Comportamento] [Etanol]  
[Memória] [Privação do sono] [Taurina]

MELISSA SOUSA DE ASSIS

**INTERFERÊNCIAS DE SUBSTÂNCIAS MODULADORAS DO SISTEMA  
NERVOSO CENTRAL NA PRIVAÇÃO DE SONO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas em Saúde.

Aprovada em 30 de janeiro de 2019

BANCA EXAMINADORA DE DOUTORADO

---

**Profa Dra Vania Moraes Ferreira**  
(Presidente)  
Universidade de Brasília

---

**Prof. Dr. Raphael Boechat Barros**  
(Membro Titular Interno)  
Universidade de Brasília

---

**Profa Dra Lilian Rosana Ferreira Faro**  
(Membro Titular Externo)  
Universidade de Vigo, Espanha

---

**Profa Dra Vaneila Moraes Ferreira Martins**  
(Membro Titular Externo)  
Universidade Federal de Goiás

---

**Profa Dra Adriana Manso Melchiades Nozima**  
(Membro Suplente Interno)  
Universidade de Brasília

**BRASÍLIA/DF  
2019**

“Não há despertar de consciências sem dor. As pessoas farão de tudo, chegando aos limites do absurdo para não enfrentar a própria alma. Ninguém se torna iluminado por imaginar figuras de luz, mas sim, por se tornar consciente da escuridão”.

- Carl Jung

Esta tese ultrapassa qualquer trabalho. Por mais árduo e dificultoso que tenha sido seu percurso, acredito fielmente que ela é preciosa e sagrada, pois Deus colocou-me no lugar onde pessoas iriam me manter, me proteger e me defender de tudo que tivesse nesse longo percurso, dando-me gozo para permanecer firme, sem “titubear”. Dedico à minha família...

## AGRADECIMENTOS

- ✓ A Deus, do amanhecer ao pôr-do-sol, que com sua infinita misericórdia e justiça sempre me permitiu galgar sonhos e, assim, finalizá-los com sua demonstração diária de amor.
- ✓ Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, em especial ao corpo docente, destacando os Profs. Drs. Otávio Nóbrega e Raphael Boechat Barros, por toda a oportunidade e ensinamentos que enriqueceram meus conhecimentos científicos, bem como à Profa. Dra. Lilian Rosana Ferreira Faro, Universidade de Vigo, Espanha, pela parceria internacional e contribuições científicas valiosas, os meus sinceros agradecimentos.
- ✓ A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), fundação do Ministério da Educação (MEC), Demanda social, pelo fomento de bolsa de estudos recebido durante minha estadia para essa pesquisa, ao qual sem esse recurso financeiro, nem sequer teria eu iniciado.
- ✓ Ao Decanato de Desenvolvimento Social – DDS, com face voltada aos Programas de Moradia, Colina Bloco K, Casa do Estudante da Pós-Graduação, pela moradia nos apartamentos 101 e 306, até pelo programa de Alimentação: Restaurante Universitário – RU sem interrupções destas, imprescindíveis para minha estadia nessa Instituição.
- ✓ À Profa Dra. Vânia Moraes Ferreira, cujos laços foram iniciados desde o Mestrado, interrompido momentaneamente, e retomado com mais firmeza nessa fase de doutoramento. Toda e qualquer palavra de agradecimento tornar-se-á pequena diante de todo o meu trajeto acadêmico futuro e de sua generosidade, acolhida, amizade, acolhida e perseverança dos piores momentos até a conclusão. O meu mais profundo agradecimento, terei sempre gratidão longínqua.
- ✓ Aos meus grandes incentivadores, ouvintes, e até intercessores, minha amada mãe Dona Lourdinha de cujo costume falo: “meu dia inicia quando abres os pequenos olhos”; meu saudoso Pai (*in memmorian*), cujo pensamento diário

me acompanha sempre; aos meus queridos irmãos: Michelly Cristinny, Michel Rômulo, Mariana e, em especial, à Mona Lisa minha irmã, desde os almoços, acolhida, escutas até a saída e sempre juntas nos fortalecendo. Amo cada um de vocês que me alicerçam e torcem por mim. Essa conquista é nossa, pois é do alto que me vem o socorro.

- ✓ Aos amores de minha vida que adoçam com afeto, inocência e amor puro meu trajeto acadêmico deste doutorado, especialmente ao Gabriel Ferreira, Caio Henrique, Michel Arthur, Mikaella Amélia, Milena Beatriz, Lucas Henrique, Miguel Rômulo e Maysa, sobrinhos amados que deixam os dias mais leves quando estou com eles e me impulsionam a prosperar.
- ✓ Aos meus amigos Gledson Alessandro Ribeiro da Silva, Isabela Santos de Castro, Josélia Alves, João Eudes Filho, Jéssica Bernardes, Veneziano Guedes, Alúzio Soares, William Lee Rocha, Givanilda Sallum, Domício Junior, Lucas Rafael, Elton Franklin, Adriana Souza, Fabielle Melissa Zorzin, Gilze Cunha, Priscilla Lima, Mayla Silva, Edgar Reis, Suélio Moura e ao movimento da Legião de Maria, sedes na Paraíba e Distrito Federal, obrigada pelas orações diárias, palavras de incentivo, risos e choros compartilhados.
- ✓ Aos colegas do grupo de pesquisa do Laboratório de Psicobiologia, do Instituto de Psicologia, onde realizei grande parte experimental e ao Hospital Universitário de Brasília – HUB pelas análises laboratoriais e parceria, a todos os funcionários que viabilizaram essas experimentações.
- ✓ A todas as pessoas que passaram, mesmo que distantes, alguma mensagem de força, carinho e confiança em mim, com gestos de orações, apoios financeiros e nos bicos da vida: Ana Rute, Mageane, Zilá Aparecida, Joamir Muniz, Eva Maria, Cristiane Silva, Neide, Rafael e Simone Soares, meu pedido de gratidão.



## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA .....	Análise de Variância
AMPc .....	Adenosina monofosfato cíclico
BE .....	Bebida Energizante
CAF .....	Cafeína
CEUA .....	Comitê de Ética em Uso Animais
EBA .....	Entrada do Braço Aberto
EBF .....	Entrada do Braço Fechado
EEG.....	Eletroencefalograma
EtOH .....	Etanol
FF.....	Frequência nos braços fechados
GABA .....	Ácido Gama Amino Butírico
LCE .....	Labirinto em Cruz Elevado
NREM.....	Movimento não rápido dos olhos
PS .....	Privados de Sono ou Privação de sono
REM .....	Movimento rápido dos olhos
SNC .....	Sistema Nervoso Central
TAU .....	Taurina
TBA .....	Tempo nos braços abertos
TBF .....	Tempo nos braços fechados

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Fases neurobiológicas do sono REM e NREM .....	20
<b>Figura 2</b> – Principais estruturas cerebrais que regulam o ciclo sono-vigília .....	21
<b>Figura 3</b> – Bases fisiológicas do ciclo sono-vigília .....	24
<b>Figura 4</b> – Mecanismo de ação da CAF no SNC .....	28
<b>Figura 5</b> – Vias de ação da TAU no corpo humano .....	31
<b>Figura 6</b> – Mecanismo de ação gabaérgica e glutamatérgica do EtOH de acordo com o tipo de consumo .....	33
<b>Figura 7</b> – Plataforma múltipla para PS .....	51
<b>Figura 8</b> – Arena usada no teste do campo aberto, para avaliar a atividade locomotora dos ratos .....	53
<b>Figura 9</b> – Aparato do LCE para avaliação de comportamento sugestivo de ansiedade em ratos .....	54
<b>Figura 10</b> – Esquiva inibitória do tipo <i>step-down</i> para avaliação de memória em ratos .....	55
<b>Figura 11</b> – Avaliação da atividade locomotora de ratos administrados com água de torneira (Controle), energéticos (Burn ou Red Bull®) CAF (6 ou 32 mg/dL) e TAU (25,36 ou 400 mg/dL) em um campo aberto .....	60
<b>Figura 12</b> – Avaliação do nível de ansiedade de ratos administrados com água de torneira (Controle), energéticos (Burn ou Red Bull®), CAF (6 ou 32 mg/dL) e TAU (25,36 ou 400 mg/dL) em um LCE .....	61

<b>Figura 13</b> – Avaliação das memórias de curta e longa duração de ratos administrados com salina (Controle), energéticos (Burn ou Red Bull®), CAF (6 ou 32 mg/dl) e TAU (25,36 ou 400 mg/dL) em um aparato de esquiva inibitória do tipo “step down” .....	62
<b>Figura 14</b> – Avaliação da atividade locomotora de ratos administrados com Red Bull® e/ou EtOH no teste do campo aberto .....	63
<b>Figura 15</b> – Avaliação comportamental de ratos administrados com Red Bull® e/ou EtOH no teste do LCE.....	64
<b>Figura 16</b> – Avaliação da memória de ratos administrados com Red Bull® e/ou EtOH no teste da esquiva inibitória .....	65
<b>Figura 17</b> – Atividade locomotora de ratos avaliados no teste do campo aberto, após a PS de 24, 48 e 96h.....	66
<b>Figura 18</b> – Comportamento de ansiedade de ratos avaliados no teste do LCE, após a PS de 24, 48 e 96h .....	67
<b>Figura 19</b> – Memória de ratos avaliados no teste da esquiva inibitória, após a PS de 24, 48 e 96h. ....	68
<b>Figura 20</b> – Atividade locomotora de ratos avaliados no teste do campo aberto, com e sem PS <sub>48h</sub> .....	69
<b>Figura 21</b> – Nível de ansiedade de ratos avaliados no teste do LCE, com e sem PS <sub>48h</sub> . ....	70
<b>Figura 22</b> – Memória de ratos avaliados no teste da esquiva inibitória, com e sem PS <sub>48h</sub> .....	71

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Principais sistemas de neurotransmissão que modulam o SNC e seus alvos de ação .....	22
<b>Quadro 2</b> – Neurotransmissores envolvidos no ciclo sono-vigília.....	23
<b>Quadro 3</b> – Efeitos moduladores de BE, CAF, TAU, EtOH e suas associações, com e sem PS.....	37
<b>Quadro 4</b> – Grupos de animais tratados com diferentes substâncias químicas e suas interações, com e sem PS .....	49
<b>Quadro 5</b> – Análise comportamental dos animais PS .....	57

## RESUMO

O sono é essencial para a homeostasia do organismo. As bebidas energéticas, destacam-se pelo fato de serem consumidas para manter o consumidor mais tempo em alerta e reduzir a fadiga física e mental. Além disso, elas também são usadas para minimizar os déficits comportamentais e cognitivos decorrentes do consumo de álcool. No entanto, muitos são os resultados contraditórios a respeito dessa interação, cabendo aqui interesse nesta investigação. Com isso, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a interferência de substâncias moduladoras do sistema nervoso central (SNC) nas respostas psicocomportamentais e cognitivas de ratos decorrentes da privação de sono (PS). Para tal, utilizou-se 16 grupos de ratos Wistar, fêmeas, avaliados comportamentalmente nos testes do campo aberto (locomoção), labirinto em cruz elevado - LCE (ansiedade) e esQUIVA inibitória (memória). Para os protocolos de PS foram utilizado um aparato de plataforma múltipla, onde para esta etapa dos experimentos, considerou-se a avaliação de manuseio e sinais neurológicos dos ratos. Para as investigações experimentais usou-se as bebidas energizantes – BE: Burn (3,54 mg/dL) e Red Bull® (3,57 mg/mL); a cafeína - CAF (6 e 32 mg/mL); taurina -TAU (25,36 e 400 mg/dL) e etanol – EtOH (1,2 g/Kg), cujas administrações foram feitas por gavagem. Considerando os resultados obtidos, observou-se que mediante uma análise comparativa entre os dois energéticos, o Red Bull® apresentou melhores respostas comportamentais e cognitivas do que o Burn. Em relação aos seus princípios ativos, é provável que o maior efeito observado no Burn se deveu à CAF e TAU, enquanto que para o Red Bull®, o efeito parece ser atribuído muito mais à CAF. Ao contrário de muitos relatos encontrados na literatura, o Red Bull® não interferiu nos efeitos do EtOH em ratos não PS. Por meio de uma curva tempo resposta notou-se que ratos PS em intervalos de tempos que variaram de 24, 48 e 96 horas apresentaram vários comportamentos sugestivos de alterações nas atividades espontâneas, respostas ao manuseio e déficits neurológicos, onde as alterações prejudiciais mais nítidas foram observadas com aqueles privados por 96h de sono. Os ratos privados por 48h foram os que tiveram melhores respostas para a proposta apresentada. No esquema de PS de 48h, o Red Bull® e/ou EtOH apresentaram um comportamento sugestivo de efeito ansiolítico, uma vez que aumentaram o percentual de frequência nos braços abertos do LCE, sem interferir nos aspectos cognitivos decorrentes do consumo energético e/ou alcoólico. Em um contexto geral, considerando os resultados obtidos, é importante investigar os aspectos celulares e moleculares envolvidos com essas respostas comportamentais e cognitivas apresentadas pela BE, CAF e TAU e suas interações com o EtOH, que possam também justificar os efeitos em humanos, visto que as alterações positivas ou negativas relatadas por alguns usuários dessas substâncias podem estar relacionadas à dose e ao tempo de consumo.

**Palavras-Chave:** Ansiedade, Bebida Energética, Cafeína, Comportamento, Etanol, Memória, Privação de Sono, Taurina.

## ABSTRACT

Sleep is essential for the body's homeostasis. The energy drinks, stand out because they are consumed to keep the consumer more alert and reduce physical and mental fatigue. In addition, they are also used to minimize behavioral and cognitive deficits resulting from the alcohol consumption. However, many are the contradictory results regarding this interaction, and this research is of interest here. Therefore, the aim of this research was to evaluate the interference of central nervous system (CNS) modulating substances in the psychobehavioral and cognitive responses of rats due to sleep deprivation (SD). For this, 16 groups of female Wistar rats were evaluated behaviorally in the open field (locomotor activity), Elevated plus-maze (EPM) and inhibitory avoidance (memory) tests. For SD protocols a multiple platform apparatus was used, where for this step of the experiments, the evaluation of the handling and neurological signs of the rats was considered. For the experimental investigations the Burn (3.54 mg/dL) and Red Bull® (3.57 mg/mL) energy drinks - ED; caffeine - CAF (6 and 32 mg/mL); taurine - TAU (25.36 and 400 mg/dL) and ethanol-EtOH (1.2 g/kg) were used, whose administrations were made by gavage. Considering the results obtained, it was observed that through a comparative analysis between the two energetics, Red Bull® presented better behavioral and cognitive responses than Burn. Regarding its active principles, it is likely that the greatest effect observed in Burn was due to CAF and TAU, whereas for Red Bull®, the effect seems to be attributed much more to the CAF. Contrary to many reports found in the literature, Red Bull® did not interfere with the effects of EtOH in non-SD rats. Through a curve-time response noted that SD rats in time intervals ranging from 24, 48 and 96 hours showed several behaviors suggestive of changes in spontaneous activities, responses to handling and neurological deficits, where the sharpest harmful changes were observed with those deprived for 96 hours of sleep. The SD rats for 48 hours were the ones that had the best answers to the presented proposal. Red Bull® and/or EtOH showed a behavior suggestive of an anxiolytic effect in the SD 48h scheme, since they increased the percentage of frequency in the open arms of the EPM, without interfering in the cognitive aspects resulting from energy and/or alcohol consumption. In a general context, considering the results obtained, it is important to investigate the cellular and molecular aspects involved with these behavioral and cognitive responses presented by ED, CAF and TAU and their interactions with EtOH, which may also justify the effects in humans, since the positive or negative changes reported by some users of these substances may be related to the dose and the time of consumption.

**Key words:** Anxiety, Energy Drink, Caffeine, Behavior, Ethanol, Memory, Sleep Deprivation, Taurine,

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
1.1 IMPORTÂNCIA DO SONO E SUAS CARACTERÍSTICAS NEUROBIOLÓGICAS .....	18
<b>1.1.1. Importância e tipos de sono</b> .....	<b>18</b>
<b>1.1.2. Bases neurobiológicas do sono</b> .....	<b>21</b>
1.2 PRIVAÇÃO DE SONO .....	25
1.3 SUBSTÂNCIAS MODULADORAS DO SNC .....	26
<b>1.3.1. Bebidas Energizantes</b> .....	<b>26</b>
1.3.1.1 Cafeína .....	27
1.3.1.2 Taurina .....	30
<b>1.3.2. Etanol</b> .....	<b>32</b>
1.4 EFEITO DAS SUBSTÂNCIAS MODULADORAS DO SNC NA PS .....	34
<b>1.4.1. Bebidas Energizantes</b> .....	<b>34</b>
1.4.1.1 Cafeína .....	34
1.4.1.2 Taurina .....	35
<b>1.4.2 Etanol</b> .....	<b>35</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>47</b>
2.1 GERAL .....	47
2.2 ESPECÍFICOS .....	47
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>48</b>
3.1 TIPO DE PESQUISA .....	48
3.2 ANIMAIS .....	48
3.3 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS .....	49
3.4 PRIVAÇÃO DE SONO .....	50
3.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	52
<b>3.5.1 Análises comportamentais e cognitivas</b> .....	<b>52</b>
3.5.1.1 Teste do Campo Aberto (Open Field) .....	52
3.5.1.2. Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) .....	53
3.5.1.3. Teste da Esquiva Inibitória (Memória) .....	54

3.5.1.4. Análises neurobiológica e de manuseio .....	56
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	58
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>59</b>
4.1 SEM PRIVAÇÃO DE SONO.....	59
<b>4.1.1 Bebida energizante, cafeína e taurina .....</b>	<b>59</b>
4.1.1.1 Teste do campo aberto .....	59
4.1.1.2 Labirinto em cruz elevado .....	60
4.1.1.3 Teste da esquiva inibitória .....	62
<b>4.1.2 Bebida energizante e etanol .....</b>	<b>63</b>
4.1.2.1 Teste do campo aberto .....	63
4.1.2.2 Teste do Labirinto em cruz elevado .....	63
4.1.2.3 Teste da esquiva inibitória .....	65
4.2 COM PRIVAÇÃO DE SONO .....	66
<b>4.2.1 Curva tempo-resposta para Privação do sono .....</b>	<b>66</b>
4.2.1.1 Teste do campo aberto .....	66
4.2.1.2 Labirinto em cruz elevado .....	67
4.2.1.3 Teste da esquiva inibitória .....	68
<b>4.2.2 Bebida energizante e etanol .....</b>	<b>69</b>
4.2.2.1 Teste do campo aberto .....	69
4.2.2.2 Teste do Labirinto em cruz elevado .....	69
4.2.2.3 Teste da esquiva inibitória.....	71
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>79</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>93</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O sono é uma das condições essenciais para a homeostase do organismo, tão importante quanto comer e respirar, sendo responsável por muitas funções psicológicas e fisiológicas de grande complexidade para seu entendimento. Dessa maneira, é considerado um comportamento e não apenas um estado de repouso. Como em qualquer experiência humana, indivíduos podem ter várias percepções com o sono e seus elementos podem contribuir para uma melhor qualidade de vida (OHAYON et al., 2018).

Quando o sono parece ser insuficiente leva a um dos problemas de saúde mais comuns e significativos em todo o mundo, especialmente quando está correlacionado aos déficits neurocomportamentais e emocionais que ocasionam alterações no sistema de modulação imunológica, influenciando o comportamento e cognição (ALKADHI et al., 2013; KUNZ e BES, 2018; PARK et al., 2016).

O presente trabalho justifica-se pelo fato de que os achados de quaisquer estudos epidemiológicos não são apenas aplicáveis às práticas clínicas, mas também com objetivo de planejamento e implementação de políticas e programas voltados para o controle de distúrbios do sono, de modo que possa mitigar seu impacto em indivíduos, sociedades e gastos públicos. Ressalta-se aqui a importância de envidar esforços de pesquisas a fim de reconhecer a conscientização sobre os benefícios do sono, o diagnóstico sobre seus distúrbios precoces, intervenções comportamentais e psicológicas, alternativas à farmacologia em indivíduos com insônia crônica e/ou um transtorno psiquiátrico comórbido que possam estar associados.

Dessa maneira, é importante compreender os potenciais efeitos de substâncias que podem atuar no sistema nervoso central (SNC) que podem estar associadas à privação do sono (PS) e outros distúrbios do sono relacionados, isto porque há uma diversidade de informações na literatura mostrando que muitos recursos farmacológicos são usados com o objetivo de manter o usuário muito mais tempo em alerta, com os objetivos de reduzir ou neutralizar os efeitos conhecidos da “ressaca do dia seguinte”.

## 1.1 IMPORTÂNCIA DO SONO E SUAS CARACTERÍSTICAS NEUROBIOLÓGICAS

### 1.1.1. Importância e tipos de sono

A importância do sono para o organismo ainda não está completamente compreendida, mas sabe-se que ele é vital para a sobrevivência do ser humano, sem uma teoria única sobre suas funcionalidades. As ideias sobre suas funções, entretanto, foram colocadas em duas categorias: teorias de *restauração* e de *adaptação*. A primeira advém da necessidade de dormir para descansar, que visa repor energia de um possível débito energético estabelecido durante a vigília ou garantir a manutenção do bom funcionamento do organismo para uma boa recuperação. A segunda versa sobre a importância de dormir para manter o estado de alerta estável e equilíbrio; caso contrário, há comprometimento do julgamento, do tempo de reação e de outras funções (BUENO e MENNA-BARRETO, 2016; MENNA-BARRETO, 2016).

Ainda em referência aos estudos elencados sobre a importância do sono e suas teorias envolvidas, alguns conceitos dissertam ser composta por uma parte passiva ou inativa das nossas vidas diárias (MAGALHÃES e MATARUNA, 2007). Com o avanço das pesquisas foi possível demonstrar, cada vez mais, que é um estado fisiológico complexo e não poderia ser evitado, resultado de uma atividade cerebral reduzida, portanto, um estado de consciência diferenciado, transitório e reversível, que se alterna com a vigília (estado desperto) envolvendo múltiplos e complexos mecanismos fisiológicos e comportamentais em vários sistemas e regiões do SNC (BUENO e MENNA-BARRETO, 2016). No sono, a pessoa não apresenta movimentos propositais e seus olhos podem estar fechados ou entreabertos. Apresenta-se também ausência de respostas a alguns estímulos auditivos, visuais ou mesmo dolorosos com impacto no equilíbrio das funções orgânicas (WOODEN et al., 2014).

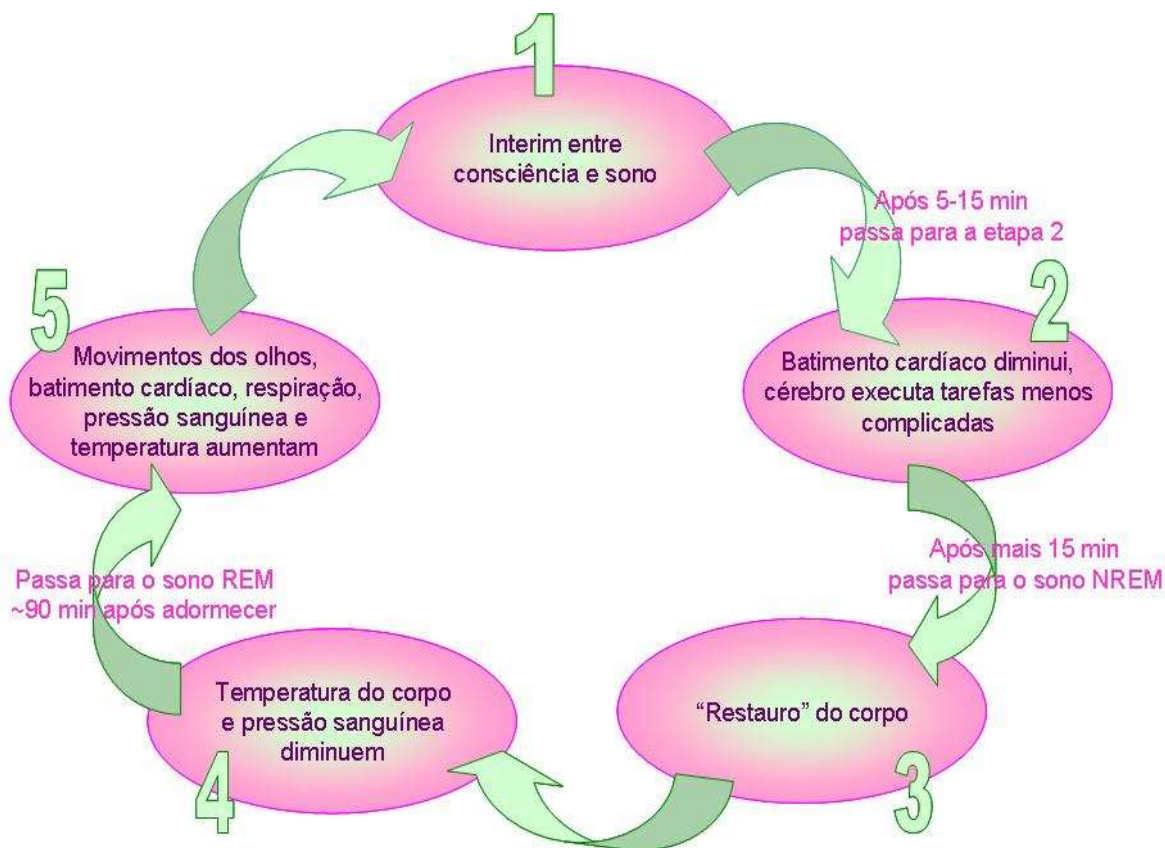
Foram identificados no sono duas fases principais que se alternam em estados distintos: movimento rápido dos olhos (REM - do inglês *rapid eye movement*) com atividade cerebral mais rápida e, movimento não rápido dos olhos (NREM - do inglês *non rapid eye movement*) cuja atividade cerebral é mais lenta

(KRUEGER et al., 2019). O sono não REM e o sono REM repetem-se a cada 70 a 110 minutos com alguns ciclos por noite (KANDEL et al., 2014).

Em relação ao REM apresenta apenas um estágio representando aproximadamente 75% do sono de uma pessoa e é considerado fisiologicamente tranquilo. Ocorre entre 70 e 90 minutos depois do adormecimento; os olhos se movem rapidamente, a respiração fica superficial e os batimentos cardíacos e a pressão sanguínea aumentam. Além disso, os braços e as pernas ficam paralisados. Iniciando-se com estímulos originados na ponte cuja direção volta-se ao tálamo, e que os transfere para o córtex cerebral. Há um aumento global da atividade neuronal, metabólica e temperatura encefálica (KANDEL et al., 2014).

Assim, quando pessoas são despertadas nessa fase frequentemente descrevem histórias bizarras e ilógicas que compõem os seus sonhos, da mesma forma alguns parâmetros corporais sofrem alterações, como a frequência cardíaca e a pressão arterial tornam-se variáveis e, ocorre atonia muscular que atinge toda a musculatura corporal, exceto o diafragma e os músculos óculo-motores (FERNANDES et al., 2017). Apesar da atonia muscular que acompanha este estágio, observam-se movimentos corporais fásicos e erráticos, de diversos grupamentos musculares, principalmente na face e nos membros, bem como emissão de sons (SOUZA et al., 2005).

Em relação ao sono NREM, este apresenta três estágios diferentes e observa-se um aumento da atividade parassimpática. No decorrer de cada estágio, ocorrem alterações nos níveis de consciência. No primeiro estágio o sono apresenta-se muito leve, sendo considerado um período de transição entre o estado de vigília e sono. No que se refere ao estágio 2, gasta-se em média 50% do tempo total de sono nele, cerca de 20% em sono REM e 30% nos demais estágios. É muito difícil acordar alguém durante os terceiro e quarto estágios, que juntos são chamados de sono profundo, ao que segue com o sono REM ou sono paradoxal. No quarto estágio, o indivíduo encontra-se profundamente relaxado e alheio ao mundo ao seu redor. Na vigília, importantes funções são executadas, com predomínio de dessincronia de ondas corticais de baixa amplitude e alta frequência (ALÓE et al., 2001; 2005; KANDEL et al., 2014; MAGALHÃES e MATURANA, 2007; SIEGEL, 2009), conforme esquematizado e representado abaixo pela **Figura 1**.



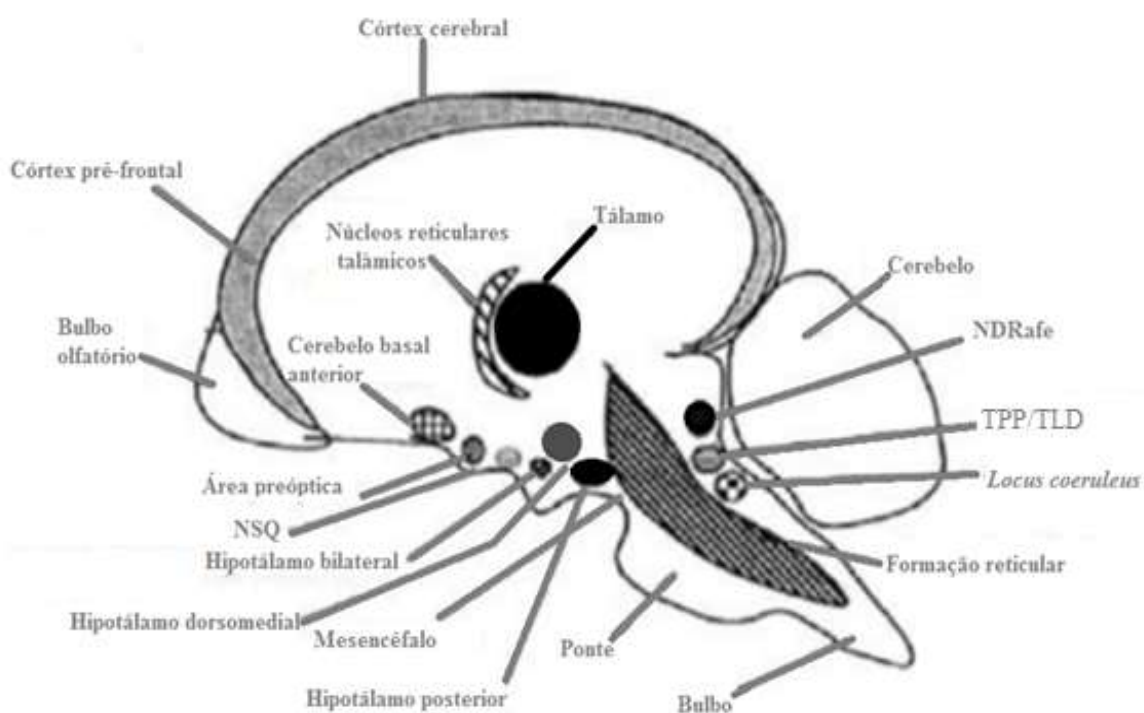
**Figura 1** – Fases neurobiológicas do sono REM e NREM (Fonte: o Autor)

A distribuição dos estágios de sono durante a noite pode ser alterada por vários fatores, como: idade, ritmo circadiano que regula a alternância dia/noite de cuja importância desperta para o processamento eficiente das informações adquiridas em conjunto com a vigília, alterações pela temperatura ambiente, ingestão de drogas ou por determinadas doenças. Normalmente o sono não REM concentra-se na primeira parte da noite, enquanto o sono REM predomina na segunda parte, em torno de 4-6 ciclos por noite (BORBÉLY e ACHERMANN, 1999).

Em casos de privação relacionada com a sua qualidade e quantidade ou em fase controlada pelo relógio circadiano, isso representará um envolvimento de interligação dos centros cerebrais promotores do sono e do despertar na regulação homeostática para o organismo (BUENO e MENNA-BARRETO, 2016; MAGALHÃES e MATARUNA, 2007). Nesse caso, quando o indivíduo dorme, seu ciclo não contempla corretamente o tempo de sono REM e, por isso, é insuficiente para recompor as necessidades básicas do organismo (COHEN et al., 2014; 2017).

### 1.1.2. Bases neurobiológicas do sono

O sono é um processo biológico complexo que surge da interação de numerosas regiões cerebrais e sistemas de neurotransmissores, apresentando diversas estruturas cerebrais que iniciam na ponte encefálica, nas proximidades dos núcleos óculo-motores, passando pelo corpo geniculado lateral e atingindo o córtex, por isto o nome de atividade ponto-genículo-occipital (HASAN et al., 2018; SAPER et al., 2005). A **Figura 2** abaixo ilustra as principais áreas do sono REM e NREM:



**Figura 2** - Principais estruturas cerebrais que regulam o ciclo sono-vigília. Sono NREM: área preóptica e núcleos intralaminares talâmicos. Sono REM: núcleo pedúnculo pontino tegmental e laterodorsal (TPP/TLD). Vigília: formação reticular, *locus coeruleus*, núcleo dorsal da Rafe, tálamo e hipotálamo (modificado de PALAGINI e ROSENLICHT, 2011).

O envolvimento de muitos neurotransmissores está inserido nesse aspecto, sendo liberados nas estruturas cerebrais como o córtex, que tem importantes funções de produzir a vigília, combater a pressão homeostática contínua no ciclo sono-vigília e atuar em diferentes grupos de neurônios no cérebro (PALAGINI e ROSENLICHT, 2011). O **Quadro 1** ilustra alguns desses neurotransmissores e seus respectivos alvos de atuação nesse ciclo.

**Quadro 1** – Principais sistemas de neurotransmissão que modulam o SNC e seus alvos de ação (modificado de SHETH et al., 2014).

Neurotransmissores	Receptores	Subtipos
<b>ADRENALINA</b>	ALFA BETA	1A, 1B, 1C, 1D, 2A, 2B, 2C, 1, 2, 3
<b>DOPAMINA</b>		D1, D2, D3, D4, D5
<b>ACETILCOLINA</b>	Nicotínicos Muscarínicos	alfa 2-4, Beta 2-4, M1, M2, M3, M4, m1, m2, m3, m4, m5
<b>AUTOCÓIDES</b>	Histaminérgicos Serotoninérgicos Angiotensina Quininas Prostaglandinas	H1, H2, H3

As aferências excitatórias do núcleo supraquiasmático para o hipotálamo posterior confirmam que o sinal circadiano é transmitido para o sistema de hipocretinas, atuando no hipotálamo lateral e participando na regulação do sono e do sistema de vigília em conjunto com os sistemas colinérgicos e monoaminérgicos. As hipocretinas (ou orexinas) regulam a excitação, vigília e apetite, e possuem um papel central na manutenção do alerta e persiste de forma elevada durante a PS (BLACK et al., 2013). O nível de atividade hipocretinérgica é mais elevado ao final do fotoperíodo cujo sistema límbico é responsável pela sua estimulação. Em animais diurnos ou no final dos períodos de atividade locomotora, o nível dessa atividade aumenta quando o acúmulo de adenosina atinge seu ponto máximo (WANG e ZHANG, 2004).

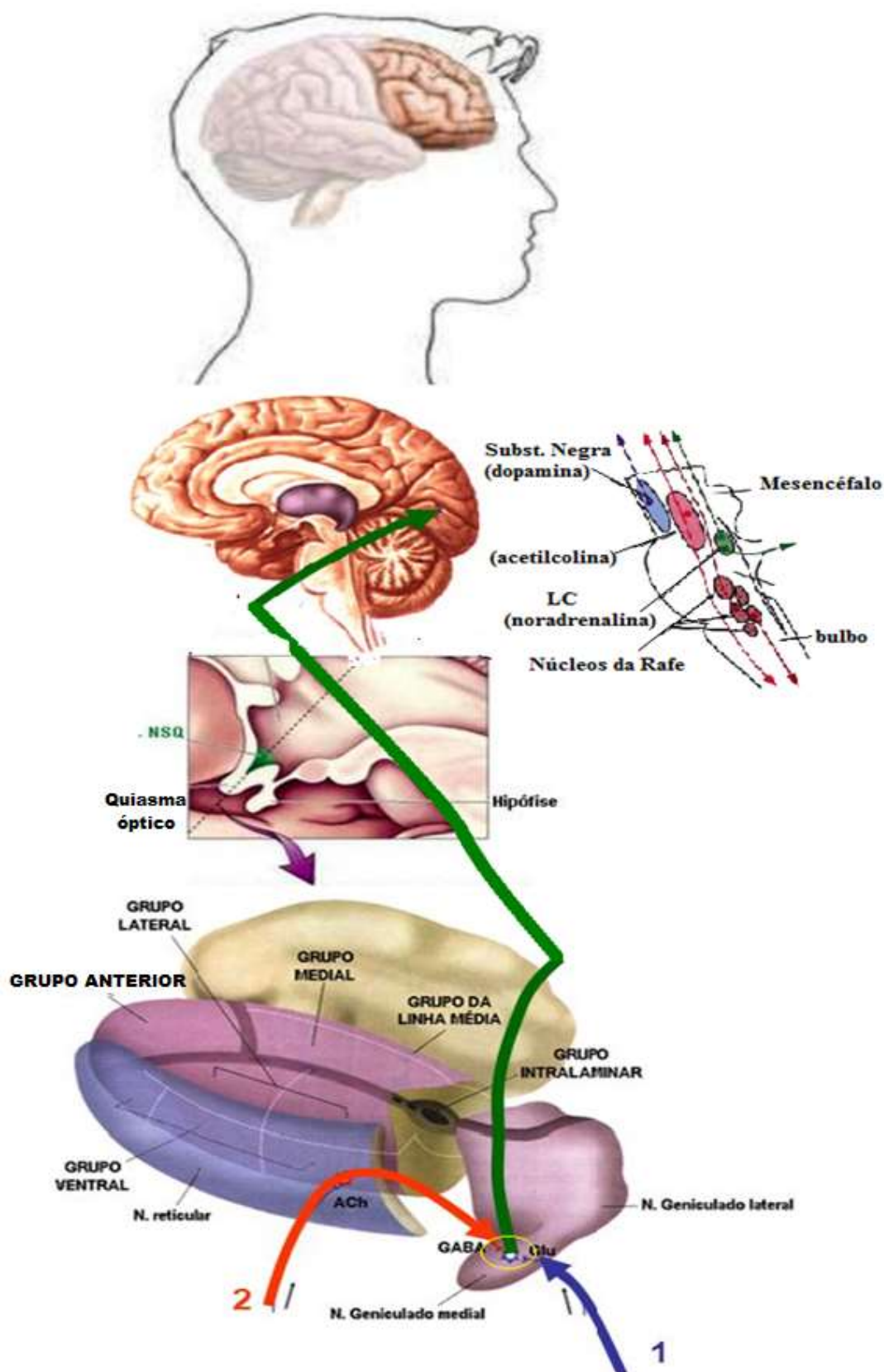
Neurotransmissores como a serotonina e a noradrenalina mantêm algumas partes do cérebro ativas enquanto estamos acordados. A acetilcolina (sistema colinérgico) participa do processo de inibição da atividade dos neurônios sincronizadores retículo-talâmico e contribui na manutenção do estado de vigília na região cortical. Na base do cérebro, outros neurônios começam a sinalizar quando adormecemos, parecendo 'desligar' os sinais que nos mantêm acordados, elevando os níveis de adenosina na corrente sanguínea, causando sonolência, e caem gradualmente enquanto dormimos (**Quadro 2**) (MAGALHÃES e MATARUNA, 2007).

**Quadro 2** - Neurotransmissores envolvidos no ciclo sono-vigília

	VIGÍLIA	SONO NREM	SONO REM
Noradrenalina	↑↑	—	—
Serotonina	↑↑	—	—
Acetilcolina	↑↑	—	↑↑
Histamina	↑↑	—	—
Orexinas	↑↑	—	—
GABA/Galanina	—	↑↑	—

A adenosina, por sua vez, é um produto do metabolismo energético celular, atuando no cérebro como um neurotransmissor inibitório, agindo como um calmante do SNC. Em circunstâncias normais, promove o sono e tende a acumular-se na fenda sináptica durante a vigília. A ação inibitória local da adenosina ocorre em auto-receptores 1 de adenosina das células colinérgicas do prosencéfalo basal. Portanto, é a região onde ocorre o maior acúmulo durante a PS. Dessa maneira, o prosencéfalo basal é considerado como o homeostato do sono (ASTLEY et al., 2017; PORKKA-HEISKANEN et al., 2002).

A **Figura 3** apresenta um esquema de funcionamento das bases fisiológicas do ciclo sono-vigília.



**Figura 3** - Bases fisiológicas do ciclo sono-vigília. A seta azul representa a substância negra (dopamina), a seta vermelha representa os núcleos da rafe (acetilcolina) e a verde o caminho que percorre no locus ceruleus (noradrenalina) até o bulbo (Adaptada de KIM et al., 2017 e TEMPLE et al., 2017).



## 1.2 PRIVAÇÃO DE SONO

Ela é definida como o estado ininterrupto de vigília, ocorrendo quando o sono inadequado leva à diminuição no desempenho e alerta até uma possível deterioração com efeitos danosos à saúde. Uma noite parece ser essencial para um equilíbrio na saúde mental e emocional da condição humana, atuando na manutenção de uma vida saudável e na fisiologia do organismo. Quando ocorre a cessação desse sono, o organismo passa a ter desequilíbrio em várias funções como: desregulação nos processos de reparo corporal, desequilíbrio homeostático, prejuízos na consolidação da memória e humor (KAHAN et al., 2014; SANTOS-SILVA et al., 2009).

Alguns trabalhadores de plantão, pessoas que se privam de dormir para estudar ou passam a noite em momentos de descontração, emendando esse tempo de vigília com o dia seguinte de trabalho, podem ter perturbações do sono ou até mesmo a insônia. A sua PS tem efeitos bem conhecidos. Não se está completamente entendido por que os organismos vivos (humanos e animais, por exemplo) precisam dele, embora algumas teorias, conforme mencionadas previamente, incluam conservação de energia, restauração e processamento de informações (ABRAMS, 2015; DONALD et al., 2017).

À medida que as experiências relacionadas a essa problemática desempenhavam um papel fundamental na elucidação das suas funções, muitos estudos apresentaram em seus resultados, mudanças comportamentais significativas após prolongada vigília quando envolviam distúrbios do sono. Tais pesquisas já vêm sendo desenvolvidas desde o final de 1800 até o presente momento, com alvos de investigação com sujeitos experimentais provocados para despertar o sono e, assim se monitoravam os efeitos subsequentes a essa interrupção para, então, inferir a função do sono a partir destas observações (ALEXANDRE et al., 2017; BRANDÃO et al., 2018).

Mesmo essa problemática ser de grande preocupação para saúde pública, observa-se um interesse muito maior devido ao fato de algumas pessoas fazerem usos de substâncias de maneira indiscriminada como uma forma de amenizar situações de natureza psíquica e comportamental.

### 1.3. SUBSTÂNCIAS MODULADORAS DO SNC

#### 1.3.1 Bebidas energizantes

Há alguns anos, o mercado vem sendo invadido por bebidas denominadas de ações energizantes ou “energéticas” por seus fabricantes que, segundo eles, foram criadas para incrementar a resistência física, proporcionar reações mais rápidas, maior concentração, aumentar o estado de alerta mental, proporcionar sensação de bem estar, estimular o metabolismo e ajudar a eliminar substâncias nocivas ao corpo (BALLISTRERI e CORRADI-WEBSTER, 2008; CAPPuccio e MILLER, 2017; KIM et al., 2017; STEPHENSON et al., 2016).

Os principais ingredientes da maioria delas são: taurina (TAU), cafeína (CAF), guaraná, ginseng, glucuronolactona e vitaminas, sendo que muitos destes componentes são de origem vegetal (BALLISTRERI e CORRADI-WEBSTER, 2008). Apesar de haver uma diversidade de marcas de bebidas energizantes, uma das mais consumidas é o Red Bull®. Em sua composição há uma combinação de carboidratos (11 g/dL), TAU (400 mg/dL), CAF (32 mg/dL), glucuronolactona (240 mg/dL) e vitaminas de um complexo B (CURRAN e MARCZINSKI, 2017; METS et al., 2011).

Os jovens têm livre acesso às bebidas energizantes (BE) nos locais onde se reúnem para dançar, estudar, passear em clubes, bares, academias, centros esportivos, concertos musicais, shows, e estas são vendidas separadamente ou juntas com bebidas alcoólicas. Este consumo, ainda mais quando misturado com álcool, parece estar cada vez mais difundido, transformando-se em um coquetel novo que, a priori, parece não gerar danos à saúde (ALFORD et al., 2015; CAPPuccio e MILLER, 2017; KIM et al., 2017).

A literatura mostra que na composição dos energéticos, a CAF e a TAU são os dois principais componentes ativos responsáveis por muitas das respostas relacionadas ao comportamento e cognição, o que vai depender dos seus aspectos farmacocinéticos que vão determinar as suas respostas farmacodinâmicas.

### 1.3.1.1 Cafeína

É uma metilxantina considerada uma das drogas psicoestimulantes mais consumida no mundo, sendo encontrada no chá, café, mate, pasta de guaraná e nozes de cola. Independentemente da idade, ela parece ter efeitos benéficos no desempenho cognitivo, podendo afetar algumas funções básicas e fundamentais no organismo, como o sono, estados de excitação, aprendizagem e memória (CAPPELLETTI et al., 2015; HONG et al., 2016; WADHWA et al., 2018).

O médico persa Rhazes foi um dos primeiros pesquisadores a mencioná-la em seus manuscritos. O Iêmen foi o primeiro país a cultivar as plantas de café, enquanto a Turquia foi pioneira em torrar os grãos de café verde (CAPPELLETTI et al., 2015). Ao longo dos séculos, essa substância foi estudada por muitos laboratórios e, dentre as muitas descobertas, o sistema de adenosina foi um dos mais bem consolidados como alvos de seus efeitos farmacodinâmicos (ZAGAAR et al., 2013).

Essa substância atua como um bloqueador não seletivo dos receptores de adenosina ( $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  e  $A_{3A}$ ) conforme demonstrado na **Figura 4**. A transmissão sináptica é essencial para o funcionamento do sistema nervoso. A neuromodulação permite regular esse processo de forma precisa. Um desses mecanismos modulatórios é a regulação da liberação de neurotransmissores. A ativação do subtipo  $A_{2a}$  está envolvida com a facilitação da liberação de neurotransmissores no SNC, relacionadas com regulação da frequência cardíaca, relaxamento dos músculos cardíacos e lisos, e com a sinalização neural (KNOWLES et al., 2018; SHETH et al., 2014).

Os receptores adenosinérgicos  $A_1$  e  $A_{3A}$  são acoplados à proteína  $G_i$ , enquanto os  $A_{2A}$  e  $A_{2B}$  são acoplados à  $G_s$ . Os  $A_1$  são amplamente distribuídos por todo o cérebro e têm níveis elevados no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo, núcleos hipotalâmicos, astrócitos, oligodendrócitos e microglia, estimulando a liberação de diversos neurotransmissores em regiões sinápticas, tais como o glutamato, dopamina, acetilcolina e serotonina, resultando em aumento da excitação, vigília e atenção (STEPHENSON et al., 2016).

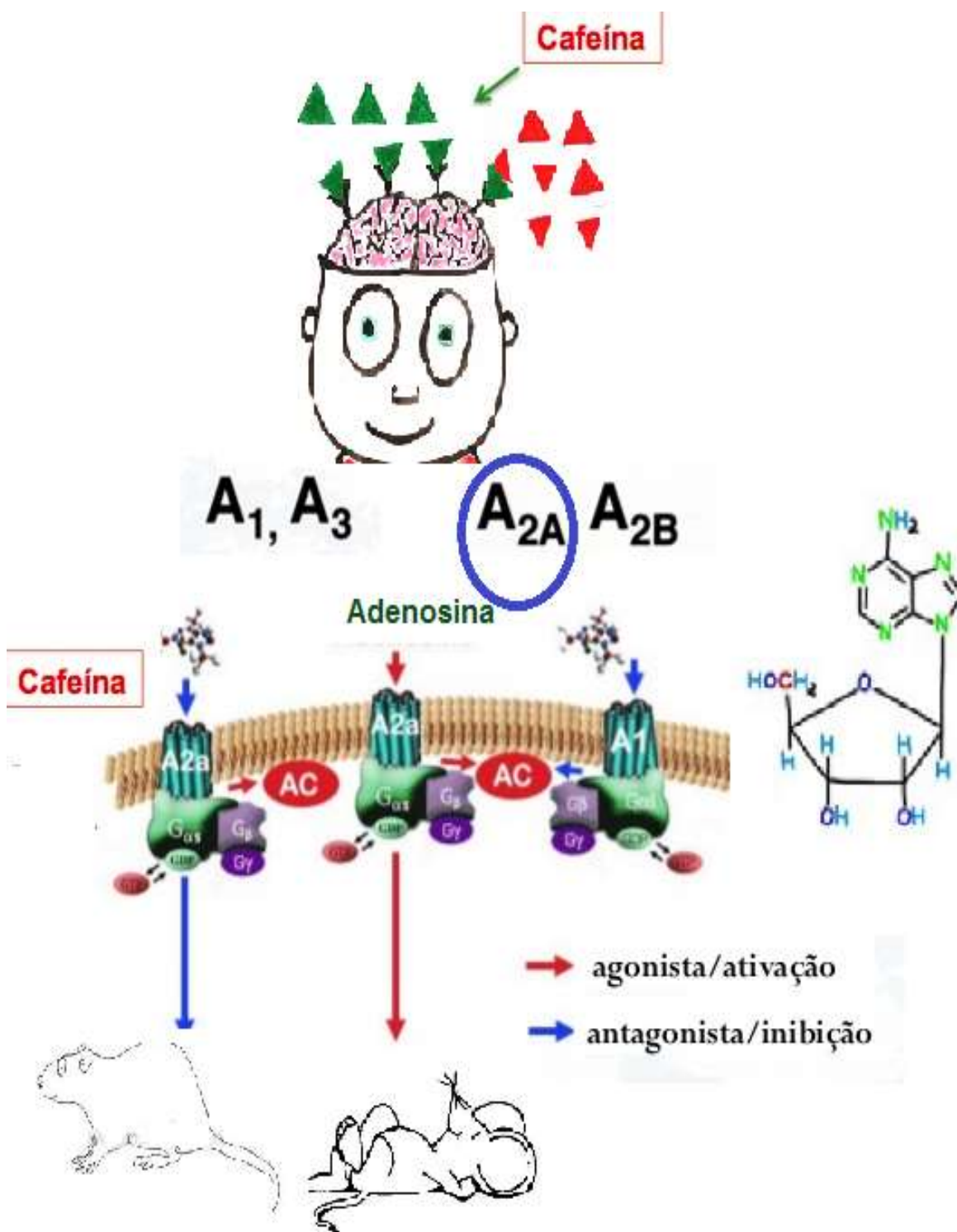


Figura 4 - Mecanismo de ação da CAF no SNC (modificado de SCORZA et al., 2005).

Os receptores  $A_{2A}$  com localização mais restritiva no estriado estão presentes também no bulbo olfatório, neurônios, microglia, oligodendrócitos, possivelmente astrócitos, espinhas dendríticas, regiões pós-sinápticas dos gânglios basais e em regiões pré-sinápticas no hipocampo, onde modulam a liberação de neurotransmissores, tais como o glutamato, a acetilcolina e a noradrenalina. Em níveis moleculares, esses tipos de receptores como: dopamina  $D_2$ , adenosina  $A_1$ , canabinóides  $CB_1$ , glutamato metabotrópico subtipo-5 e nicotínico de acetilcolina, amplia o leque de possibilidades utilizadas pela adenosina para interferir com a comunicação da função neuronal (SHETH et al., 2014).

Os receptores de adenosina  $A_{2B}$  exibem uma baixa afinidade para o agonista endógeno em comparação com os subtipos  $A_1$ ,  $A_{2A}$  e  $A_{3A}$ . Eles são expressos no trato gastrointestinal, bexiga, pulmão, mastócitos, olhos, tecido adiposo, cérebro, rins, fígado e outros tecidos, sendo encontrados em níveis baixos em células neuronais e gliais, tais como microglia e astrócitos (KON et al., 2017; KUN et al., 2018; SHETH et al., 2014; WOODEN et al., 2014).

Os  $A_3$ , por sua vez, estão presentes em níveis baixos no hipocampo, córtex, cerebelo, estriado, astrócitos e microglia, sendo alvos promissores de drogas para uma série de doenças e, atualmente, várias pesquisas têm procurado desenvolver agonistas e antagonistas seletivos desses receptores, porém seu papel fisiológico merece ser mais investigado (SPAETH et al., 2014; TOOSSI et al., 2016).

A sincronização neuronal anormal é um dos aspectos centrais da fisiopatologia de doenças neurológicas, onde a adenosina parece estar envolvida na homeostasia cerebral quando atua como modulação de transmissão sináptica e tem um papel ainda não totalmente esclarecido em vários desses tipos de doenças psiquiátricas (SIEGEL, 2009; VANINI, 2016). Apesar disso, muitas terapias à base desse neurotransmissor, estão evoluindo rapidamente em estudos pré-clínicos e clínicos para o tratamento de doenças neurológicas (ALKADHI et al., 2013; GOTTLIEB et al., 2018).

### 1.3.1.2 Taurina

É um aminoácido natural inibitório que no SNC atua como neuromodulador. Um dos mais abundantes no organismo, quer na forma livre em muitos tecidos de mamíferos, quer produzido pelo músculo esquelético por meio da ativação dos receptores ácido gama-amino butírico do tipo A (GABA<sub>A</sub>) ou glicina. Ele foi incluído nas BE devido a sua interação com a CAF, tendendo a diminuir alguns efeitos cardiovasculares (CAPPELLETTI et al., 2015; MEHTA et al., 2017).

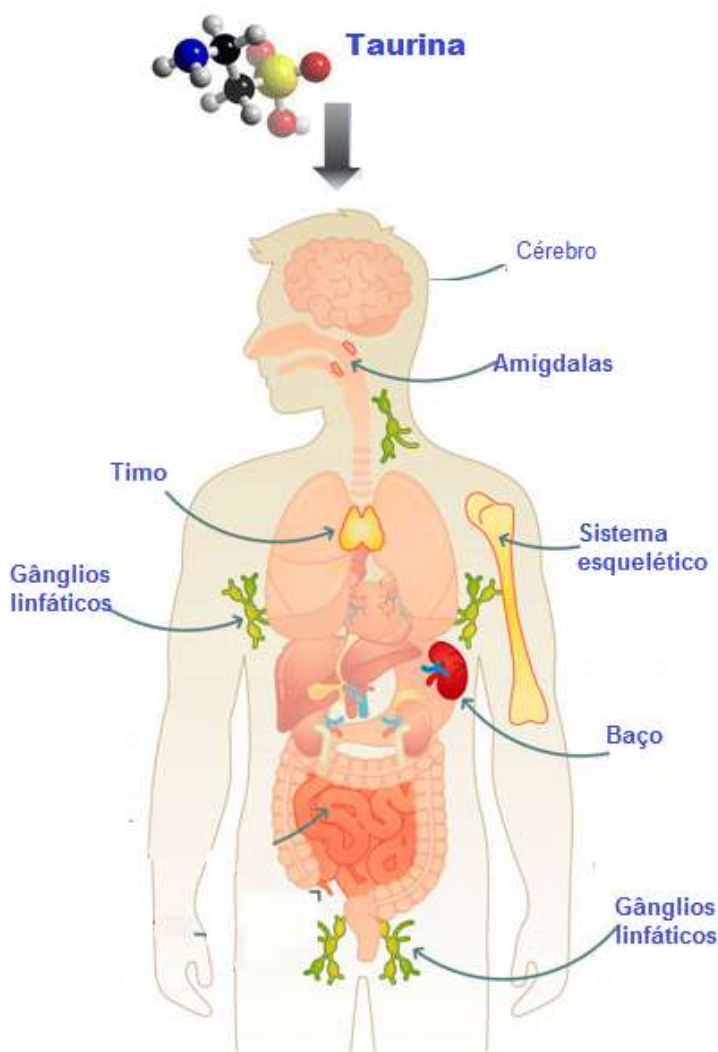
As substâncias à base de TAU são usadas, frequentemente, em muitas condições em que o nível de estresse é acentuado, visando restabelecer uma homeostasia neuronal, provavelmente por ação modulatória da adenosina. Quando os seus níveis aumentam diante do estresse, ela apresenta interações com vários receptores e segundos mensageiros intracelulares, cujas respostas podem variar conforme seus subtipos que são classificados de acordo com o seu acoplamento diferencial na adenilato ciclase para regular os níveis de adenosina monofosfato cíclico - AMPc (ONAOLAPOA et al., 2016; SHETH et al., 2014).

Com isso, a ativação desses receptores também modula a excitabilidade neuronal e plasticidade sináptica, estando no centro de uma rede neuromoduladora que afeta uma gama de funções neuropsiquiátricas por interagir com vários sistemas de neurotransmissores e integrá-los, especialmente aos sistemas de via de neurotransmissão dopaminérgica e a glutamatérgica, as quais suas integrações ocorrerem em vários níveis afetando diversos tipos de comportamentos, como a atividade locomotora, o ciclo sono-vigília, ansiedade, depressão, aprendizagem e memória (BATENBURG-EDDES et al., 2014).

Esta substância possui potentes propriedades fisiológicas que protegem as células do corpo, controlando o metabolismo muscular, estabilização da membrana, osmoregulação, efeitos citoprotetores, ações antioxidantes e antiinflamatórias, bem como modulação da concentração e função de cálcio intracelular e canal iônico (FROGER et al., 2012; LAMBUK et al., 2018; SPAETH et al., 2014).

A TAU atua em vários órgãos, favorecendo a manutenção da bÍlis do fÍgado, na integridade estrutural da membrana, na regulação da ligação e transporte de cálcio, aumentando a tonicidade muscular e o desempenho fÍsico, podendo prevenir também a excitotoxicidade neuronal como agente neuroprotetor, o que pode produzir um efeito anti-apoptótico. Além disso, desempenha também a função de neurotransmissor do SNC melhorando a cognição (CURRAN e MARCZINSKI, 2017; DEL OLMO et al., 2000; LIU et al., 2017).

Estudos importantes correlacionados a PS apresentaram dados experimentais com alterações hormonais, aumento na taxa metabólica do organismo, perdas excessivas de calor e peso, além de provocar alterações em vários aspectos do funcionamento comportamental, como memória, ansiedade, comportamento sexual, assim como danos no sistema imunológico. A **Figura 5** ilustra alguns dos alvos de ao da TAU no organismo.



**Figura 5** – Vias de ao da TAU no corpo humano (Adaptado de LIU et al., 2017)

### 1.3.2 Etanol

O álcool (etanol - EtOH) é regularmente consumido por grande parte da população mundial. Em 2010, estimou-se o consumo de 6,2 litros por pessoa, sendo seu uso crônico um dos principais fatores prejudiciais à saúde da população. Embora sejam evidentes as consequências deletérias provocadas por esse tipo de consumo, são as alterações decorrentes da ingestão aguda que apresentam grandes divergências na literatura (GOTTLIEB et al., 2018).

O Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID, 2010) realizou uma pesquisa domiciliar de caráter nacional em 107 cidades brasileiras com população superior a 200.000 habitantes na faixa etária compreendida entre 12 e 65 anos. Esse estudo mostrou a prevalência do uso ilícito de drogas, álcool e tabaco e o uso não médico de medicamentos psicotrópicos e esteróides anabolizantes. Observou-se que 77,3% dos homens e 60,6% das mulheres já fizeram uso de álcool na vida, em todas as faixas etárias estudadas, sendo que os indivíduos do sexo masculino fizeram mais uso de álcool na vida do que os indivíduos do sexo feminino.

É bem sabido que a ingestão aguda e crônica de EtOH afeta a modulação glutamatérgica e gabaérgica em diferentes intensidades, contribuindo para a intoxicação, tolerância ou dependência, podendo ter suas respostas farmacológicas potenciadas ou neutralizadas, dependendo da dose e cronicidade de uso (KRYSTAL et al., 2003; WANG et al., 2018) conforme esquematizado conforme demonstrado na **Figura 6 abaixo**.





**Figura 6** - Mecanismo de ação gabaérgica e glutamatérgica do EtOH de acordo com o tempo de consumo (Adaptado de GOTTLIEB et al., 2018).

Os problemas de saúde relacionados ao consumo de EtOH mostram mais de 60 tipos de doenças de desenvolvimento agudo ou crônico, perfazendo cerca de 4% das classificações mundiais de doenças e gerando um custo significativo para seus sistemas de saúde (NALPAS et al., 2003). O consumo de bebida alcoólica é preocupante, pois está cada vez mais atingindo aos jovens, visto que algumas vezes ele vem associado ao uso dos energéticos, que além de alterar o sabor, favorecem a ingestão na quantidade de álcool (ALFORD et al., 2015).

Acredita-se que o EtOH consumido de forma contínua pode ser um potencial agente de doença e mortalidade, representando mundialmente 4% de morte anualmente, embora padrões mais leves de consumo também possam fazê-lo, principalmente quando associados a co-fatores como deficiência da tiamina (vitamina B1), fatores genéticos e infecções virais (GUNZERATH et al., 2004; WHO, 2015).

## 1.4 EFEITO DAS SUBSTÂNCIAS MODULATÓRIAS DO SNC NA PRIVAÇÃO DO SONO

### 1.4.1 Bebidas energizantes

O uso dessas bebidas é um dos recursos mais utilizados para favorecer uma sensação de reposição de energia com vista ao bem-estar, sendo o seu efeito estimulante um dos motivos principais para seu consumo (CAPPELLETTI et al., 2015; SORKIN et al., 2014). Por conta dessa peculiaridade é uma das bebidas de escolha para reduzir os efeitos indesejados da sonolência que antecede situações envolvendo realizações de provas e outras situações como uma forma de reposição de energia (COHEN et al., 2014).

O consumo de BE quase sempre vem associadas às alcoólicas e têm tornando-se cada vez mais popular entre os jovens. Isto deve-se ao fato de que a BE tem ação excitatória sobre o SNC e que parece ser justificada pela CAF de ordem estimulante e, assim muitos creditarem que essa CAF pode antagonizar ou diminuir a intensidade desencadeadas com déficits cognitivos e motores causados pelo consumo excessivo de BE e/ou EtOH em combinação, causando desde o processo de intoxicação até quadros neurológicos de natureza graves (LOPES-CRUZ et al., 2016).

#### 1.4.1.1 Cafeína

O uso dessa xantina reduz o sono de ondas lentas, a sua eficiência e o seu tempo total; aumenta o despertar após o seu início, a latência e sua duração (GARCIA e SALLOUM, 2015; MCHILL et al., 2014). Apesar disso, a ingestão de café ou bebidas cafeinadas, algumas vezes, não está relacionada diretamente à gravidade dos distúrbios do sono (AURORA et al., 2012), mas sim para reduzir o nível de estresse no trabalho e reduzir o tempo do sono, mantendo o consumidor mais tempo em alerta (DORRIAN et al., 2011; WAITS et al., 2014).

A CAF tem sido utilizada para combater condições de fadiga e sonolência e eliminar os efeitos da inércia do sono, ainda que reduzindo a sua qualidade. Existem várias formas de administração dessa xantina, sendo que em goma de

mascar chega mais rápido ao plasma sanguíneo do que quando ingerido em pílulas (HILDITC et al., 2016; OWENS et al., 2014). A ingestão de CAF não interfere na tomada de decisão, que durante a PS induz escolhas mais arriscadas (KILLGORE et al., 2012), menos acertos (AGGARWAL et al., 2011; KAMIMORI et al., 2015; REYNER e HORNE, 2013), podendo atrapalhar o sono tardio (KAMIMORI et al., 2015; MCHILL et al., 2014).

A PS, portanto, reduz a resposta cortical aos estímulos recebidos e os níveis de adenosina passam a ser aumentados nas células gerando um efeito inibitório sobre a atividade neural (BOONSTRA et al., 2007). A CAF, por sua vez, age inibindo a ação da adenosina, evitando o comprometimento da plasticidade sináptica induzido pela perda de sono (ALHAIDER et al., 2010; PRINCE e ABEL, 2013).

#### 1.4.1.2 Taurina

Devido ao efeito de combate à sonolência, essa droga também tem sido usada para reduzir as consequências deletérias da falta de sono. Por exemplo, tem sido observado que o seu uso melhora sintomas de humor, depressão, confusão, fadiga, ansiedade, julgamento, vigilância, tempo de reação, raciocínio lógico rápido, desvios na pista durante condução, e também gera aumento da temperatura (KAMIMORI et al., 2015; SOUISSI et al., 2014; USMAN et al., 2015).

Apesar desses efeitos, poucos estudos correlacionam a TAU e a supressão de sono, sendo um dos mais importantes na área foi o que demonstrou que a PS pode aumentar os níveis de TAU no córtex, mas não foi detectado aumento significativo no hipocampo (MOHAMMED et al., 2011; SARMA et al., 2014). Estes resultados contraditórios, portanto, faz com que se possa sugerir diferentes respostas comportamentais dependentes do nível de TAU em áreas específicas no cérebro.

#### 1.4.2 Etanol

Dados epidemiológicos do uso de álcool nos Estados Unidos revelam que 81% dos indivíduos já fizeram uso de álcool na vida a partir dos 08 anos de idade (primeira infância), no Chile a porcentagem cai para 70,8% e na Colômbia pesquisa

constatou o índice de 35,5%. Assim como no Brasil, em todos os países citados o consumo crônico de álcool tende a ser mais prevalente em homens, com perfil de diferencial entre indivíduos do sexo masculino e feminino.

Vários acidentes com graves consequências têm sido imputados à PS, que também exacerba os efeitos do álcool no organismo, assim como a fadiga que é responsável por 100.000 acidentes com veículos motorizados e 1.500 mortes a cada ano, segundo a National Highway Traffic Safety Administration, nos EUA. Muitos motoristas, sentindo-se sonolentos, consomem produtos à base de CAF e outros estimulantes numa tentativa de vencer o sono. No entanto, esses agentes não são capazes de superar os efeitos da severa PS (MAGALHÃES e MATURANA, 2007).

A dependência ao EtOH é uma doença crônica recidivante com várias consequências negativas. Dois milhões e meio de pessoas morrem cada ano em decorrência do abuso de álcool, correspondendo por 4% de todas as mortes em todo o mundo (ALFORD et al., 2001). O alcoolismo é uma doença multifatorial com risco para o desenvolvimento da dependência determinada pela interação entre a composição individual, fatores ambientais e neuroadaptações que ocorrem após exposição aguda e repetida de droga (JIANG et al., 2017; SWEENEY et al., 2017).

Desse modo, selecionou-se artigos cuja correlação contêm as combinações de BE e/ou EtOH em grupos experimentais reunidos no **Quadro 3**, com apresentação dos seus efeitos moduladores.

**Quadro 3:** Efeitos moduladores de bebidas energéticas, cafeína, taurina, etanol e suas associações, com e sem privação de sono.

Referência	Tipo de estudo e sujeitos experimentais	Objetivo	Metodologia	Resultados e Conclusões
ALFORD et al., 2001	Experimental 36 voluntários	Avaliar os efeitos da BE (Red Bull®) no desempenho psicomotor e humor	<ul style="list-style-type: none"> <li>Foram examinados os efeitos das substâncias: CAF, TAU dentro da BE em três estudos.</li> <li>As avaliações incluíram desempenho psicomotor (tempo de reação, concentração, memória), alerta subjetivo e resistência física.</li> </ul> <p>G1: Controle G2: BE</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>O Red Bull® <b>melhorou</b> a resistência aeróbica (mantendo 65-75% da frequência cardíaca máxima) e o desempenho anaeróbico (mantendo a velocidade máxima) em ciclo-ergômetros.</li> <li>O desempenho <b>mental</b> melhorou - o tempo de reação da escolha, a concentração e a memória (recordação imediata) foram refletidos no aumento do estado de alerta subjetivo.</li> <li>Essas melhorias no desempenho foram interpretadas como sendo efeitos da combinação de ingredientes.</li> </ul>
COOK et al., 2012	Estudo cruzado, duplo-cego 16 Jogadores profissionais de rugby	Verificar se a ingestão aguda de CAF aumentaria a carga de treinamento de resistência após a limitação do sono	<ul style="list-style-type: none"> <li>Os atletas classificaram-se em estados não-privados (8 h ou mais) ou PS (6 h ou menos).</li> <li>Foram realizados exercícios de resistência (4 séries de supino, agachamento e linhas curvas a 85% no máximo de 1 repetição).</li> <li>A saliva foi coletada antes do placebo ou CAF e novamente antes e imediatamente após o exercício e testada para testosterona e cortisol no grupo de PS, resultando em carga total semelhante àquelas observadas na condição de placebo</li> </ul> <p>G1: placebo G2: CAF (4 mg/kg) 1h antes G3: CAF (4 mg/kg) 1h após G4: PS 6h</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>A PS produziu uma diminuição muito grande na carga total de treinamento.</li> <li>A ingestão de CAF 1h antes resultou em um <b>aumento</b> moderado na carga total.</li> <li>A testosterona basal foi maior e o cortisol foi menor em atletas não PS.</li> <li>Alterações nos hormônios da pré-dose ao pré-exercício correlacionaram-se às respostas individuais da carga de trabalho foram aumentadas à CAF.</li> <li>A CAF aumentou a carga de trabalho voluntária em atletas profissionais, assim parece que a CAF pode ser ter efeito positivo quando os atletas estiverem fatigados (cansados), especialmente naqueles identificados como respondedores.</li> </ul>
WADHWA et al., 2018	Experimental Ratos Sprague-Dawley machos adultos	Observar o papel da CAF e modafinil durante a privação do sono como possível melhoria sob a neuroinflamação e suas consequências nos aspectos comportamentais	Foram administrados: CAF e/ou modafinil por via oral uma 1x/dia durante a PS por 48h. Os animais foram avaliados nos testes: campo aberto (ansiedade) e labirinto em cruz elevado (depressão). Foram coletados sangue e cérebro para estudos bioquímicos, imuno-histoquímicos e moleculares.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Os animais PS apresentaram <b>aumento</b> do número de entradas e tempo nos braços fechados no teste do LCE e <b>diminuição</b> da distância total percorrida no teste do campo aberto.</li> <li>A CAF ou MOD <b>melhoraram</b> o humor e restauraram as alterações inflamatórias durante a PS.</li> <li>O tratamento com CAF/MOD <b>apresentou</b> efeito ansiolítico. Sem mudanças substanciais na imobilidade e anedonia em ratos PS.</li> </ul>

			<p>G1: controle  G2: CAF (60 mg/kg/dia)  G3: MOD (100 mg/kg/dia)  G4:PS (48h)  G5: CAF+PS (48h)  G6:MOD+PS (48h)  G7:CAF+MOD  G8: CAF+MOD+PS (48h)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– A CAF/MOD regulou de forma significativa a expressão de mRNA anti-inflamatório de citocinas e proteínas no hipocampo durante a PS (48h).</li> <li>– Os resultados sugeriram que o papel da CAF ou do MOD podem ter melhora da resposta inflamatória induzida por PS e do comportamento ansioso em ratos.</li> </ul>
ONAOAPOA et al., 2016	<p>Experimental</p> <p>Camundongos suíços pré-púberes de ambos sexos</p>	<p>Investigar os efeitos da CAF e PS nas mudanças comportamentais, estresse e resposta antioxidante</p>	<p>Foram administrados por vias orais doses de CAF durante 14 dias. No dia 14, um grupo principal foi submetido a 6 h de privação aguda de sono por "manejo suave".</p> <p>Animais foram avaliados no teste de campo aberto em ambos os grupos, e no final foram eutanasiados, para mensuração dos níveis de corticosterona, superóxido dismutase e glutathiona peroxidase.</p> <p>G1: controle  G2: CAF (10, 20, 40, 80 e 120 mg/kg/dia)  G3: Privação aguda de sono 6h  G2: CAF+PS 6h</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– O consumo repetido de CAF e/ou PS aguda (6h) levaram a mudanças significativas no padrão de comportamento no teste do campo aberto e na resposta ao estresse/antioxidante nos animais.</li> <li>– O aumento na locomoção foi significativamente maior no grupo CAF nas doses mais altas, em comparação com o controle do que em relação aos animais PS.</li> <li>– A corticosterona plasmática aumentou com doses crescentes de CAF em animais PS e não PS.</li> </ul>
LIGUORI e ROBINSON, 2001	<p>Experimental, randomizado, duplo-cego</p> <p>Adultos saudáveis não fumantes</p>	<p>Observar o papel antagonístico da CAF na condução de automóveis em seus consumidores com a simulação induzida com o álcool no menor limite legal (0,08%)</p>	<p>As substâncias foram administradas pela ingestão de 1 cápsula e, uma bebida contendo álcool. Os indivíduos foram instruídos a abster-se de alimentos por 12h que contivessem CAF e/ou álcool por 24h antes de cada sessão e/ou drogas psicoativas durante o período do estudo.</p> <p>Após a ingestão de CAF e/ou álcool 45 minutos depois, os participantes completaram uma bateria de teste de escalas de efeitos subjetivos, posturografia dinâmica, fusão de cintilação crítica, escolha tempo de reação, atenção dividida (teste de Stroop) e condução simulada.</p> <p>G1: CAF (0, 200 ou 400 mg)  G2: EtOH (0,0 ou 0,6 g/kg)  G3: Controle placebo  G4: CAF+EtOH</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– O grupo EtOH <b>aumentou</b> as classificações de "tonturas", "efeito da droga", "alta " lentidão, latência de freio, e aumento do balanço do corpo.</li> <li>– O grupo CAF <b>aumentou</b> as classificações de "alerta" e "nervosa", mas <b>não</b> afetou a oscilação corporal ou o desempenho psicomotor.</li> <li>– Ambas as doses de CAF comparativamente compensaram o enfraquecimento do EtOH da latência do freio, mas não com a combinação CAF+EtOH permaneceu significativamente mais longa do que com o placebo.</li> <li>– Os resultados sugeriram que a CAF pode <b>aumentar</b> o estado de alerta e <b>melhorar</b> o tempo de reação após o uso de EtOH, mas <b>não</b> neutralizar completamente prejuízo do álcool em um motorista.</li> </ul>

DRAKE et al., 2003	Experimental  13 indivíduos saudáveis	Avaliar a possível reversão da CAF sobre os efeitos do EtOH no teste de latência múltipla do sono, memória e desempenho psicomotor	<p>Receberam CAF e EtOH. Testes: latência múltipla do sono (vigilância/sonolência fisiológica); teste de memória; bateria de teste para desempenho psicomotor e questionários de humor/sonolência.</p> <p>G1: Placebo G2: CAF (0, 150 e 300 mg) G3: EtOH (0,5 g/kg) G4: CAF+EtOH (0, 5 g/kg e 150 mg) G5: CAF+EtOH (0, 5 g/kg e 300 mg)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– A CAF <b>reverteu</b> alguns dos efeitos prejudiciais ao desempenho do EtOH.</li> <li>– A CAF (300 mg) <b>restaurou</b> as medidas de desempenho e memória em relação aos níveis de placebo.</li> <li>– A menor dose de CAF <b>reverteu</b> o efeito de alerta e a dose mais alta <b>aumentou</b> a latência média (maior alerta) além dos níveis de placebo.</li> <li>– O EtOH <b>reduziu</b> a latência média e <b>prejudicou</b> o desempenho psicomotor e a memória.</li> <li>– As classificações analógicas visuais de tontura foram aumentadas pelo EtOH, e <b>não</b> foram diminuídas pela dose de CAF.</li> <li>– A <b>baixa</b> dose de CAF <b>impediu</b> a sonolência e o prejuízo no desempenho associados a uma dose moderada de EtOH.</li> <li>– A CAF reverteu os efeitos fisiológicos do EtOH, ainda que permanecendo outros efeitos negativos.</li> </ul>
FERREIRA et al., 2004	Experimental  Camundongos albinos suíços	Avaliar os efeitos de diferentes doses de BE combinadas ou não com EtOH, sobre a atividade locomotora	<p>As BE foram administradas por via oral no n=20/dose e no volume de 250 mL com 14,3 mg/kg de TAU e 1,14 mg/kg de CAF e que foram equivalentes à ingestão de 1 lata de 250 mL (3,57 mL/kg), 3 latas (10,71 mL/kg), 5 latas (17,86 mL/kg) e 10 latas (35,70 mL/kg) todas diluídas em água ou na BE, em concentrações que variam de 6% v/v (0,5 g/kg) a 23% v/v (2,5 g/kg), de acordo com a dose. Após 45 min da administração os animais foram observados em um período total de 24 h, sendo contínuo nas primeiras 4 h.</p> <p>Oito e 24 horas após a administração da droga, os animais foram observados por um período de 10 min, sendo testados na atividade locomotora em gaiolas por barra de metal no tempo de 10 min, somente uma vez, cujos dados foram agrupados (idade, peso e atividade locomotora), seguidos de análises bioquímicas.</p> <p>G1: controle G2: BE G3: EtOH G4: BE+EtOH</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Em todas as doses avaliadas, <b>não</b> foram detectadas diferenças na atividade locomotora nos grupos que receberam BE e o controle, bem como em relação ao EtOH quando administrado, de forma isolada ou combinada com BE (10,71 mL/kg)</li> <li>– Doses mais baixas de EtOH (0,5 e 1,0 g/kg) <b>reduziram</b> o efeito estimulante da BE aos 15-30 minutos e reduziram-no após 30-45 min.</li> <li>– Os dados obtidos para a dose de BE (10,71 mL/kg) sugeriram antagonizar o efeito depressor do EtOH sobre a atividade locomotora de camundongos.</li> <li>– É importante notar que a alteração dos níveis de atividade locomotora em camundongos com níveis semelhantes aos observados nos grupos controles <b>não</b> pode ser interpretado como uma reversão total dos sintomas dos efeitos agudos do EtOH, sendo necessário investigar a possível contribuição de cada um dos seus componentes para os efeitos observados.</li> <li>– Deve-se considerar a possibilidade de que a combinação de drogas poderia aumentar as propriedades de reforço do EtOH, e tende a aumentar o seu poder de abuso.</li> </ul>

BALLISTRERI e CORRADI-WEBSTER, 2008	Estudo quantitativo, descritivo e transversal  Estudantes do quarto ano de Educação Física	Checar o padrão de consumo de BE por meio de um questionário autoaplicável	Questionário autoaplicável, baseado na experiência profissional do autor e o questionário sobre o padrão de consumo de BE, utilizado em um estudo do departamento de Psicobiologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Um instrumento final foi composto por duas partes: uma parte referente aos dados sociodemográficos e esportivos praticados pelos sujeitos, com onze perguntas sim/não estruturadas, dicotômicas e de múltipla escolha, e uma segunda parte referente ao padrão de consumo das bebidas, com doze perguntas sim/não estruturadas e de múltipla escolha.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Padrão de consumo (n = 137): 2,2% uma vez na vida, 9,5% pelo menos uma vez nos últimos 12 meses, 38% pelo menos uma vez no último mês, 39,4% seis vezes ou mais no último mês, 10,9% 20 vezes ou mais no último mês.</li> <li>– 54% dos estudantes usavam BE para melhorar o sabor das bebidas alcoólicas, 27,7% para prolongar os períodos de lazer noturnos, 13,9% para melhorar o desempenho esportivo, 9,5% para estimulação, 8,8% para saborear, 6,6% para curiosidade e 4,4% para estudo.</li> <li>– Daqueles que consumiram BE, 87,6% misturaram com álcool e 25,9% dos estudantes relataram consumir mais álcool quando misturados a BE.</li> <li>– Os registros confirmaram a crescente combinação de BE em associação ao EtOH. Esses resultados denotaram a importância e a necessidade de intervenções para prevenir esse consumo de BE, com orientações simples para reduzir seu uso direcionado aos jovens, além de reforçar a importância de hábitos alimentares adequados e de hidratação para alcançar um bom desempenho esportivo, como bem como prevenir os riscos associados à ingestão de BE misturadas com EtOH.</li> </ul>
METS et al., 2011	Experimental, duplo-cego  24 voluntários saudáveis	Examinar os efeitos positivos da BE (Red Bull®) como neutralizador da sonolência no desempenho de condução e o comprometimento da direção durante a condução prolongada.	Os distúrbios do sono foram avaliados com o questionário SLEEP-50, a Escala de Sonolência de Epworth foi administrada para avaliar os níveis gerais de sonolência diurna. Após 2 h de condução na estrada no simulador de condução, os participantes fizeram uma pausa de 15 min e consumiram Red Bull® (250 mL) ou placebo (Red Bull® sem os ingredientes funcionais: CAF, TAU, glucuronolactona, B vitaminas (niacina, ácido pantotênico, B6, B12) e inositol) antes de dirigir por mais duas horas. Uma terceira condição compreendeu 4 h de condução ininterrupta. Em cada visita, amostras de urina foram coletadas para testar drogas de abuso e um teste de gravidez em mulheres.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Nenhuma diferença foi observada durante as primeiras 2 horas de condução.</li> <li>– O Red Bull® <b>melhorou</b> a direção em relação ao placebo, e <b>melhorou</b> a qualidade subjetiva de condução e reduziu o esforço mental para realizar o teste durante a 3ª hora de condução.</li> <li>– Em relação à condução ininterrupta, o Red Bull® <b>melhorou</b> cada parâmetro, no que diz respeito ao desempenho de condução e redução da sonolência do motorista durante a condução prolongada na estrada.</li> <li>– Este estudo mostrou que o Red Bull® melhora significativamente o desempenho de condução e reduz a sonolência subjetiva ou em casos sem PS e durante a condução subsequente, quando consomem uma lata padrão de 250 mL de Red Bull®.</li> <li>– Red Bull® parece melhorar a capacidade de condução em relação ao placebo e condução ininterrupta. Para o parâmetro primário, esse efeito foi significativo por 2 h após a sua ingestão.</li> </ul>



			<p>O consumo de álcool não foi permitido a partir de 24 h antes do início do dia do teste e nos dias de teste. Desde o despertar até o final dos testes, não foram permitidas bebidas com CAF e fumo.</p> <p>G1: placebo + pausa G2: Red Bull® + pausa G3: sem intervalo + sem condição de tratamento</p>	
CURRAN e MARCZINSKI, 2017	Revisão	Avaliar os efeitos isolados e combinados da CAF e/ou TAU comparados entre cérebros de camundongos adolescentes e adultos nos aspectos cognitivos e comportamentais	<p>Foram realizadas 3 grandes pesquisas que envolviam experimentos animais:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Efeitos da TAU em ambos camundongos adolescentes e adultos: 23 artigos</li> <li>– Efeitos da CAF em ambos camundongos adolescentes e adultos: 20 artigos;</li> <li>– As combinações da CAF e TAU em ambos camundongos adolescentes e adultos dentro das BE: 30 artigos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Sob os efeitos da CAF: pode prejudicar ou influenciar o desempenho cognitivo e consequentemente comportamental mediante ingestão diária acima do limite tolerável (&gt;200mg/dia) ainda no período de desenvolvimento (adolescência);</li> <li>– Como a TAU é encontrada e produzida pelo próprio organismo, ocorre uma diminuição significativa com a idade, de modo que níveis relatados de até 45mmol/kg iniciam uma deficiência cognitiva e comportamental na fase mais adulta.</li> <li>– Com relação ao uso de BE o seu consumo abusivo associado ao EtOH pode levar ao excitotoxicidade no cérebro e comprometimentos cognitivos.</li> </ul>
RECHTSCHAFFEN et al., 1999	Experimental Ratos Wistar adultos	Observar os efeitos do método, duração e estágio do sono em rebotes de PS	<p>Método de disco sobre água onde a PS de ratos foi realizada durante 24 horas, como treinamento, sendo a PS no protocolo de 96horas. A PS era considerada com base na redução da locomoção (efeito rebote) reflexo brusco de se manter acordado frente a sonolência, atividade de EEG para avaliação do sono NREM.</p> <p>G1: controle G2: PS 24 h G3: PS 96 h</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– A PS 96horas, bem antes do desenvolvimento de sintomas graves de PS, demonstraram principalmente <b>rebotes</b> de sono REM.</li> <li>– A PS 24horas mostraram elevados <b>rebotes</b> de sono REM que <b>não</b> foram induzidos pelo estresse do método de PS.</li> <li>– A pesquisa apontou armadilhas na designação de qualquer padrão específico como sono intenso.</li> </ul>
PREDIGER et al., 2004	Experimental Ratos albinos suíços machos	Investigar a ação do bloqueio dos receptores de adenosina A2A como uma possível reversão para os problemas de memória social de curto prazo em ratos	<p>Substâncias administradas: EtOH, CAF e receptor antagonista de adenosina. Aparato: labirinto em cruz elevado</p> <p>G1: CAF (3,0, 10,0 e 30,0 mg/kg, ip); G2: EtOH (0,6, 1,2 ou 2,4 g/kg),</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Os presentes achados reforçaram a ideia do envolvimento da adenosina na ansiedade, uma vez que confirmam existência de <b>respostas ansiogênicas</b> induzidas pela CAF (30,0 mg/kg) e o antagonista de receptor seletivo de adenosina A1 (6,0 mg/kg) no LCE, enquanto o agonista de receptor adenosina A1 CCPA (0,25 mg/kg) mostrou um perfil tipo <b>ansiolítico</b> para esse paradigma.</li> </ul>

		espontaneamente hipertensos.	G3: receptor antagonista de adenosina A1 (0,125, 0,25, 0,5, 1,0 e 3,0 e 6,0 mg/kg, i.p)	<ul style="list-style-type: none"> <li>– O efeito ansiolítico induzido por EtOH (1,2 g/kg) foi modulado pelos receptores de adenosina A1 (mas não por receptores A2A), uma vez que esta foi bloqueado pela administração anterior de doses de CAF (10,0 mg/kg) e (3,0 mg/kg).</li> <li>– O efeito após a administração de doses ansiolíticas CCPA (0,125 mg/kg) e EtOH (0,6 g/kg) no desenvolvimento apresentaram respostas do tipo ansiolítica em ratos.</li> </ul>
MACHADO et al., 2004	Experimental  Ratos Wistar machos	Quantificar a natureza e extensão das alterações do sono induzidas pela técnica de plataforma múltipla modificada e propor procedimentos de controle, por gravação contínua durante 4 dias de PS e recuperação.	<p>Os animais foram habituados ao sistema de gravação por 3 dias antes de um registro de linha de base de 24 horas.</p> <p>O status de vigilância foi continuamente monitorado em grupos socialmente estáveis de ratos expostos à técnica de plataforma múltipla modificada (PMM) para PS.</p> <p>As gravações da linha de base foram realizadas em gaiolas por grupo (n = 5) para animais submetidos ao PMM (Experimento 1) ou em gaiolas domésticas individuais (Experiência 2).</p> <p>Seguindo a gravação da linha de base, os animais foram adaptados ao procedimento de PS por 30 min em 3 dias consecutivos.</p> <p>Parâmetros do sono foram obtidos em minutos e depois convertidos em porcentagem de tempo total de gravação (geralmente 23 h) para cada dia.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Em todos os casos, o sono foi registrado continuamente durante o período basal, durante 96 h de PS e durante 4 dias de recuperação, ambas as técnicas de plataforma múltipla e única aboliram completamente o sono paradoxal durante o período de privação, mas também resultaram em decréscimos significativos no sono de ondas lentas (-31% e -37%, respectivamente).</li> <li>– Outra preparação de controle, ratos colocados em redes de malha de arame no tanque de privação, também mostraram <b>redução</b> de PS (-39%).</li> <li>– A repercussão paradoxal do sono foi observada nas primeiras 24 horas em todos os grupos, com exceção dos controles da grade.</li> <li>– No geral, <b>não</b> foram encontradas diferenças significativas entre os procedimentos de plataforma única e múltipla durante os quatro dias de privação. No entanto, a recuperação do sono foi mais pronunciada em ratos privados de PMM do que em ratos privados de PS.</li> <li>– A perda de sono em ambos os grupos de controle pode refletir o efeito residual do estresse que permanece na técnica de plataforma.</li> <li>– Estes resultados indicam que a técnica PMM é eficaz na indução de PS. No entanto, o fato de ondas lentas também ser afetado pode ter implicações para as conclusões sobre a função do sono paradoxal com base na PS paradoxal.</li> </ul>
VOLLERT et al., 2011	Experimental  Ratos Wistar machos	Investigar a importância do exercício como preventivo da ansiedade	Os animais foram testados em grupos de 5 com o exercício moderado na esteira, testes para comportamento semelhante à ansiedade, PS (24h),	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Os resultados sugeriram que a PS (24 h) de aumentaram o comportamento semelhante à ansiedade de ratos avaliados por meio de testes de comportamento em campo aberto e claro-escuro.</li> </ul>

		sobre o comportamento associado à PS em ratos: o papel potencial dos mecanismos de estresse oxidativo	teste do campo aberto, exploração claro-escuro, Western blotting, dissecação do cérebro, avaliação dos índices de estresse oxidativo e mensuração de corticosterona.  G1: controle G2: PS (24h) G3: Exercício (esteira) G3: PS (24h)+ Exerc	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Relataram que a PS (24h) parece ter aumentado o estresse oxidativo no córtex, no hipocampo e na amígdala, enquanto exercícios anteriores impedem esse aumento.</li> <li>– As corticosteronas séricas também aumentam com PS, mas seus níveis foram normalizados em ratos PS.</li> <li>– Além disso, o comportamento semelhante à ansiedade de ratos aumentou significativamente com PS enquanto exercícios anteriores impediram esse aumento.</li> <li>– A expressão proteica de duas enzimas envolvidas na defesa antioxidante, glicoxalase (GLO) -1 e glutathione redutase (GSR) -1 aumentaram após PS24h no hipocampo, córtex e amígdala, enquanto seus níveis foram normalizados em ratos PS.</li> <li>– É plausível que o estresse oxidativo via regulação de GLO1 e GSR1 pareça estar envolvido no comportamento semelhante à ansiedade induzido pela PS de ratos.</li> </ul>
KNOWLES et al., 2018	Revisão sistemática  17 estudos incluídos e classificados como 'moderados' ou 'fracos' para a qualidade global.	Revisar o efeito da privação do sono (isto sem sono) e a restrição do sono (uma duração reduzida do sono) no desempenho do exercício com resistência física sobre os indicadores hormonais ou marcadores do metabolismo protéico muscular.	Uma busca sistemática em cinco bases de dados eletrônicas foi realizada com termos relacionados a três conceitos combinados: sono inadequado; exercício resistido; desempenho e resultados fisiológicos.  A qualidade do estudo e os vieses foram avaliados usando a ferramenta de avaliação da qualidade do Projeto de Prática de Saúde Pública Eficaz.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– A PS teve <b>pouco</b> efeito na força muscular durante o exercício resistido. Em contraste, noites consecutivas de restrição de sono poderiam <b>reduzir</b> a força de saída de movimentos articulares, mas não de articulação única.</li> <li>– Os resultados foram conflitantes em relação às respostas hormonais ao treinamento de resistência, de modo que o sono inadequado pode <b>prejudicar</b> a força muscular máxima em movimentos compostos quando realizada sem intervenções específicas destinadas a aumentar a motivação.</li> <li>– Sugerem-se adotar estratégias para ajudar os grupos que enfrentavam o sono inadequado a realizar efetivamente o treinamento de resistência que podem incluir a motivação, treinar grupos ou educação sob a ingestão de CAF; ou seus consumos antes de treinar nos períodos prolongados de vigília.</li> </ul>
ZAGAAR et al., 2012	Experimental  Ratos Wistar machos	Verificar os efeitos benéficos do exercício regular sobre a cognição na privação do sono REM pelas evidências comportamentais,	Foram examinados o impacto de 4 semanas de exercícios regulares em esteira sobre a aprendizagem espacial induzida por PS e memória, plasticidade sináptica e moléculas de sinalização relacionadas na área CA1 do hipocampo de ratos. Os ratos foram exercitados em esteira e, posteriormente, PS (24 h), utilizando a técnica de plataforma múltipla modificada.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– O registro extracelular da área CA1 de ratos anestesiados revelou que a LTP em fase precoce prejudicou os animais sedentários PS, mas permaneceu normal no grupo de PS exercitado.</li> <li>– A análise de imunoblot da área de CA1 antes (basal) e após expressão de E-LTP indicou que a regulação negativa significativa do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e os níveis de proteína cinase II dependentes de cálcio-calmodulina fosforilada</li> </ul>

		eletrofisiológicas e moleculares	G1: controle sedentário, G2: controle de exercício G3: sedentário /PS (24h) G4: exercício /PS (24h).	(P-CaMKII) que os animais PS foram impedidos pelo regime de exercícios regulares. <ul style="list-style-type: none"> <li>– Testes de desempenho de aprendizagem e memória de curto prazo no labirinto aquático do braço radial mostraram que, embora os ratos sedentários PS estivessem gravemente comprometidos, o desempenho de ratos exercício PS foi normal.</li> <li>– Os resultados sugeriram que o protocolo de exercício regular parece ter prevenção nas deficiências induzidas pela PS na memória de curto prazo e na E-LTP, prevenindo alterações deletérias nos níveis basais e pós-estimulação de P-CaMKII e BDNF associados à PS.</li> </ul>
MEHTA et al., 2017	Experimental  Ratos Wistar machos	Analisar as mudanças recíprocas nos níveis de noradrenalina e GABA em regiões discretas do cérebro após a privação do sono de movimentos oculares rápidos em ratos	Foram avaliados pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para quantificar os níveis de noradrenalina e ácido gama-amino-butírico (GABA) em locus coeruleus, rafe dorsal, tegmento pedunculo-pontino (PPT), lobo frontal, córtex e hipocampo (Hippo) no controle e após PS (96 h) em ratos. Os níveis de NA e GABA em regiões discretas do cérebro após o PS foram estatisticamente comparados com todos os controles.  G1: controle G2: PS (96h)	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Na PS (96h), embora os níveis de noradrenalina aumentassem e os níveis de GABA diminuíssem no locus coeruleus, no PPT e no córtex, em Hippo, os seus níveis apresentavam respostas opostas.</li> <li>– Apenas os níveis de NA aumentaram, enquanto apenas os níveis de GABA foram diminuídos após PS.</li> <li>– A maioria dos níveis alterados de neurotransmissores retornou aos níveis normais dos ratos. As descobertas ajudam a entender a base neuroquímica do PS e seus efeitos associados.</li> </ul>
ZOU et al., 2017	Experimental  Ratos machos Sprague-Dawley	Observar os efeitos de Jiao-Tai-Wan no sono em ratos resistentes à obesidade com PS, investigando a inflamação no intuito de esclarecer seu possível mecanismo.	O JTW foi preparado e os principais componentes contidos nos grânulos foram identificados por ensaio de Cromatografia Líquida de Alta Resolução 3D, a PS (4 h) por ruído ambiental e o tratamento com doses baixas e altas de JTW por via oral durante 4 semanas, respectivamente. Em seguida, a estrutura do sono foi analisada por eletroencefalografia (EEG). Marcadores de inflamação incluindo níveis de proteína C reativa de alta sensibilidade, fator de necrose tumoral- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6) foram examinados no plasma de ratos. Paralelamente, foram medidos parâmetros	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Os resultados mostraram que a administração de JTW aumentou significativamente o tempo total de sono e o tempo total de sono de ondas lentas em ratos com PS.</li> <li>– Além disso, o tratamento com JTW reverteu o aumento dos marcadores de inflamação sistêmica e resistência à insulina causados pela perda de sono.</li> <li>– Este estudo sugeriu que o JTW tem os efeitos benéficos na melhoria do sono, processo de inflamação e em relação a sensibilidade à insulina</li> <li>– O mecanismo parece estar relacionado à modulação das expressões dos genes do relógio circadiano e do processo de inflamação.</li> </ul>

			metabólicos como taxa de aumento de peso corporal, glicemia de jejum, insulina de jejum e índice de resistência à insulina.	
WANG et al., 2018	Experimental Camundongos transgênicos Glud1	Avaliara os efeitos da exposição por EtOH no perfil neuroquímico de um modelo de camundongo transgênico com liberação aprimorada de glutamato usando in vivo 1H MRS (espectroscopia de ressonância magnética)	Foram mensuradas as alterações neuroquímicas no hipocampo e estriado de camundongos e tipo selvagem usando espectroscopia de ressonância magnética de prótons antes e depois dos animais serem alimentados com dieta do álcool (EtOH): Primeira semana, foram ingeridas: de 1 a 3 dia: 2,1% calorias; de 4 a 7 dia: 4,3% calorias; do dia 8 e a seguir, o EtOH constituiram 6,4% do total de calorias até a 24 semana.  GE:0 EtOH GE:2 EtOH 2,1 % GE:12 4,3 % GE:24 6,4%	<ul style="list-style-type: none"> <li>– No hipocampo, a dieta EtOH levou a <b>umentos</b> significativos nas concentrações de EtOH, glutamina (Gln), Glu, fosfocolina (PCho), TAU e Gln + Glu, quando comparados com as concentrações de base.</li> <li>– No estriado, a dieta EtOH levou a um aumento significativo nas concentrações de GABA, Gln, Gln + Glu e PCho.</li> <li>– Em geral, as alterações neuroquímicas foram mais pronunciadas no corpo estriado do que no hipocampo nos camundongos selvagens.</li> <li>– As alterações neuroquímicas globais devido à exposição ao EtOH foram muito semelhantes em ambos animais.</li> <li>– Este estudo descreveu cursos de tempo de perfis neuroquímicos antes e durante a exposição crônica ao EtOH, que podem servir como referência para futuros estudos que investigam alterações neuroquímicas induzidas pelo EtOH.</li> </ul>

A PS, conforme visto anteriormente, chama interesse porque pode induzir uma resposta ao estado de estresse no organismo sob influência de fatores externos e internos, que alteram a sua homeostase e que envolve mudanças adaptativas comportamentais, cognitivas e corporais, estando associada a grandes modificações na bioquímica cerebral e nos sistemas endócrino e imunológico, que podem depender da sua duração (ALKADHI et al., 2013; ANGELUCCI et al., 1999; 2014).

Há também grande interesse no entendimento do sono, PS e suas correlações com o consumo de substâncias porque estas apresentam um papel modulatório no SNC, interferindo com a resposta final dessa condição fisiológica. Com base nesses principais pontos abordados, observa-se que é vasta a literatura sobre os efeitos dos componentes ativos (CAF, TAU e EtOH) em relação aos aspectos neuropsicocomportamentais e fisiológicos de forma isolada, mas não associados em organismos avaliados em um modelo de plataforma múltipla, que melhor reproduz a PS. Além disso, no que se refere às substâncias moduladoras do SNC, com sem PS e PS observa-se que essas variáveis em combinação com o consumo de BE está se tornando cada vez mais popular entre os jovens.

Em complementaridade ao seu uso racional, várias questões, aqui abordadas, são baseadas em algumas premissas: *primeiro*: o avanço da cronobiologia do sono tem identificado sistemas de neurotransmissores que contribuem para o aumento ou privação. *Segundo*: diversas BE oriundas de novas substâncias vêm com a proposta de melhorar o condicionamento físico, o estado mental e até social, reduzindo as condições desfavoráveis de uma noite mal dormida. *Terceiro*, o número alarmante de medicamentos à base dessas substâncias para a PS sugere novas resoluções ou sanar fatos ainda não esclarecidos pelo avanço de novas farmacoterapias.

Portanto, há cada vez mais interesse em procurar desvendar de que modo alguns dos déficits comportamentais e cognitivos são desencadeados, cujos paradigmas são adequados para seres humanos e animais experimentais, por meio de métodos validados de investigação. A diminuição da função cognitiva associada à interrupção do sono causada por seus distúrbios e/ou fatores ocupacionais é cada vez mais reconhecida como uma questão importante de saúde pública, que tem grandes custos financeiros e sociais. Coube aqui se explorar de forma mais minuciosa essa problemática.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL:

Avaliar a interferência do consumo de substâncias moduladoras do SNC nas respostas psicocomportamentais e cognitivas de ratos decorrentes da PS.

### 2.2 ESPECÍFICOS:

- ❖ Fazer uma análise comparativa entre energéticos e seus dois principais componentes ativos (CAF e TAU) no desempenho comportamental e cognitivo;
- ❖ Analisar a resposta farmacológica do energético eleito frente ao uso do EtOH;
- ❖ Demonstrar o perfil de resposta comportamental e cognitiva de ratos PS por meio de uma curva tempo-resposta de 24, 48 e 96 horas;
- ❖ Investigar os aspectos comportamentais e cognitivos de ratos submetidos à PS, sob a influência de substâncias moduladoras do SNC (BE e EtOH);
- ❖ Observar a atividade espontânea, resposta ao manuseio e sinais neurológicos de todos os grupos avaliados por meio de protocolo pré-padronado.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 TIPO DE PESQUISA

Experimental, qualitativa e quantitativa, cujo referencial teórico foi catalogado de fontes provenientes das bases BIREME, PubMed, Lilacs e BVS.

#### 3.2 ANIMAIS

Foram utilizados *Rattus norvegicus*, Wistar, fêmeas, com 3 meses de idade, com cerca de 250 g, os quais foram alocados em gaiolas apropriadas, com até 3-4 animais em cada uma, somando-se o total de 112 ratos. Eles foram mantidos sob ciclos de luz claro–escuro com duração de 12 horas cada, temperatura de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  sob ventilação ambiental, com livre acesso à ração e a água de torneira *ad libitum*.

Os animais foram pesados em balança digital (Filizola Baby, SP, Brasil) em um dia anterior à atividade experimental para evitar o estresse de manipulação que poderia ocorrer quando realizado no dia do experimento propriamente dito. Os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Psicobiologia, Departamento de Processos Psicológicos Básicos, do Instituto de Psicologia (IP), da Universidade de Brasília (UnB).

Todos os critérios da pesquisa estiveram de acordo com as normas estabelecidas por Guias de Cuidado e Uso de Animais Laboratoriais validados. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), do Instituto de Biologia/UnB (protocolo UnBDOC nº66742/2016- Anexo 1).

Foram utilizados o total de 16 grupos experimentais para os procedimentos realizados com PS e seus controles, conforme demonstrado no **Quadro 4** a seguir:



**Quadro 4**– Grupos de animais tratados com diferentes substâncias químicas e suas interações, com e sem privação do sono

	<b>GRUPOS</b>	<b>TRATAMENTOS</b>	<b>SIGLAS</b>
<b>Pré-tratamento: 1h</b>	G1	Controle	C
	G2	Bebida Energizante (Burn) (1,62 mL/Kg)	Burn
	G3	Bebida Energizante (Red Bull®) (3,57 mL/Kg)	Red Bull®
	G4	Cafeína (6 mg/dL)	CAF 6
	G5	Cafeína (32 mg/dL)	CAF 32
	G6	Taurina (25,36 mg/dL)	TAU 25,36
	G7	Taurina (400 mg/dL)	TAU 400
	G8	Etanol (1,2 g/Kg)	EtOH
	G9	Bebida Energizante (Red Bull®) + Etanol	RedBull®+EtOH
<b>Pré-tratamento: 48 h</b>	G10	Bebida Energizante (Red Bull®)	Red Bull®
	G11	Etanol (1,2 g/Kg)	EtOH
	G12	Bebida Energizante (Red Bull®) + Etanol	Red Bull®+EtOH
	G13	Privação de Sono	PS
	G14	Bebida Energizante (Red Bull®) + Privação de Sono	RedBull®+PS
	G15	Etanol (1,2 g/Kg) + Privação de Sono	EtOH+PS
	G16	Bebida Energizante (Red Bull®) + Etanol (1,2 g/Kg) + Privação de Sono	RedBull®+EtOH+PS

### 3.3 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

O Burn foi usado nas concentrações de 3,54 mg/dL, enquanto o Red Bull® 3,57 mg/mL. A CAF (6 e 32 mg/mL) e TAU (25,36 e 400 mg/dL) foram obtidas da Sigma® e administradas nas mesmas concentrações nos volumes contidos nas latas dos dois energéticos. O EtOH (Sigma®) foi administrado na dose de 1,2 g/Kg, via oral. As preparações foram realizadas em água de torneira, por se tratar do líquido consumido diariamente pelos ratos mantendo-se, portanto, nos seus mesmos padrões de consumo de líquido habitual. Os volumes administrados sempre tinham proporcionalidade aos pesos dos animais (1 mL/100g).

### 3.4 PRIVAÇÃO DO SONO

A PS foi realizada por meio do aparelho de plataforma múltipla (**Figura 7**) para impedir o relaxamento muscular, limitando assim o sono e cujo protocolo promove aproximadamente 90% de perda de sono paradoxal (SAADIT et al., 2015; SUCHECKI e TUFIK, 2000; WOODEN et al., 2014; ZAGER et al., 2009). Este aparato foi confeccionado em acrílico cujas medidas foram 60x50x30 cm, com 10 colunas cilíndricas de 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro, dispostas em 5 fileiras de maneira fixa, espaçadas 10 cm entre si. Para cada experimento, era usado no máximo 8 animais na plataforma, para permiti-los saltar de uma plataforma para outra, não impedindo as suas movimentações entre elas (ALMEIDA et al., 2018).

Observa-se que a plataforma foi coberta por 6 cm de água em temperatura ambiente (**Figura 7A**). Os ratos pertencentes ao mesmo grupo experimental sempre eram colocados juntos na câmara, a fim de reduzir as intercorrências provocadas por outros tipos de tratamentos, caso os animais fossem agrupados fora de seus respectivos grupos. Na parte superior do equipamento havia locais adequados para o acoplamento de mamadeiras com água (**Figura 6B**) e pelotas de ração (**Figura 6C**). No protocolo de PS adotado nesta pesquisa, os animais apresentavam completa supressão de sono de acordo com metodologias prévias adotadas por outros pesquisadores (KAHAN et al., 2014; MACHADO et al., 2017; WOODEN et al., 2014).



**Figura 7** – Plataforma múltipla para privação do sono, mostrando na parte superior (A) o dispositivo adequado para acoplamento da mamadeira com água; na parte central (B) o dispositivo das pelotas de ração nos locais apropriados e na parte inferior (C) animais alocados sobre as plataformas múltiplas (Fonte: o Autor, 2018).

### 3.5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

#### 3.5.1 Análises comportamentais e cognitivas

##### 3.5.1.1 Teste do campo aberto para atividade locomotora espontânea

*Aparato:* Arena em madeira (60x60x35 cm), com nove quadrantes pintados de preto com 10x10 cm de cada lado contendo 09 quadrantes demarcados em brancos (**Figura 8**).

*Fundamento:* A avaliação neste teste é um procedimento que tem a finalidade de se observar a locomoção de animais de pequeno porte. Em um primeiro momento, sabe-se que ratos, assim como os seres humanos, podem reagir ao ambiente considerado “novo” e apresentar uma resposta aversiva, característica de congelamento (do inglês *freezing*), que é um comportamento típico que, muitas vezes, os animais usam como forma de diminuir as detecções auditivas por parte dos predadores, para situações de luta e/ou fuga. No entanto, em um segundo momento, ele tende a explorar o ambiente onde se encontra. A locomoção era considerada quando o animal atravessava com as quatro patas de um quadrante a para outro (LUCENA et al., 2010).

*Procedimento experimental:* cada animal foi testado individualmente de forma sequenciada por um período de 5 min, sendo que após sua retirada o aparato foi assepsiado com álcool a 10%. O observador fez a contagem das deambulações do animal nos quadrantes com mínimo possível de barulho ou movimento no local do experimento que estavam sendo avaliados. Todos os experimentos foram conduzidos no mesmo período do dia, com o objetivo de evitar as variações circadianas, que poderiam interferir com os resultados experimentais (LUCENA et al., 2010; 2013).



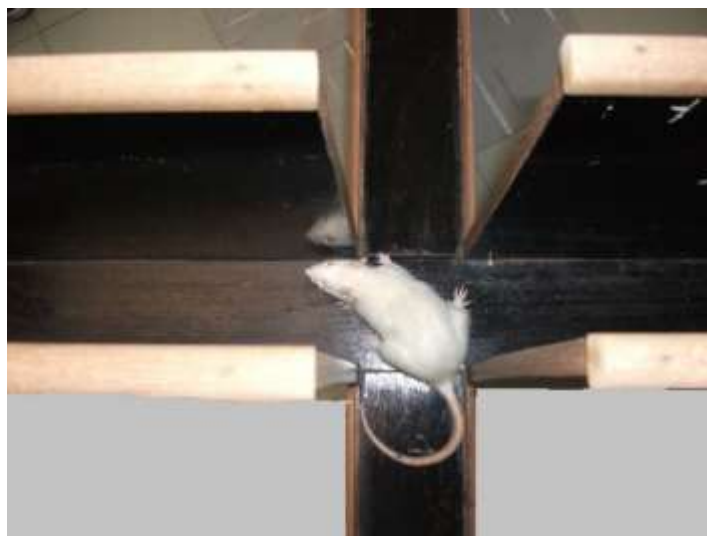
**Figura 8** – Arena usada no teste do campo aberto, para avaliar a atividade locomotora dos ratos. Inicialmente, o animal é posicionado no centro da arena para, posteriormente, explorar o equipamento durante 5 min (Fonte: o Autor).

### 3.5.1.2 Teste do Labirinto em cruz elevado (LCE)

*Aparato:* Equipamento em madeira, na forma de cruz, elevado 50 cm do chão, com dois braços fechados (50x10x40 cm) e dois abertos (50x10 cm), opostos entre si (HANDLEY e MITHANI, 1984). Uma proteção de acrílico transparente de 1 cm de altura circundava os braços abertos com o objetivo de impedir a queda dos animais do LCE (**Figura 9**).

*Fundamento:* O LCE é baseado na aversão natural que roedores apresentam pelos braços abertos do labirinto. Quando são forçados a permanecerem nesses braços mostram manifestações fisiológicas e comportamentais de medo, tais como congelamento, defecação e aumento nos níveis de corticoides plasmáticos (CRUZ et al., 1994; MONTGOMERY, 1955). O fator de maior contribuição para esta “reação de medo” foi indicado como pela “falta” das paredes altas nos braços abertos, que impediria a tigmotaxia. Como consequência, eles permaneceriam em um tempo maior nos braços fechados (PELLOW et al., 1985; TREIT et al., 1993). A proporção da exploração total nos braços abertos determinava uma medida de ansiedade, de tal modo que o aumento nas porcentagens de tempo e de entradas nos braços abertos era considerado como indicativo de ação ansiolítica de drogas (HANDLEY e MITHANI, 1984; PELLOW et al., 1985).

*Procedimento experimental:* Cada rato foi posicionado no centro do LCE, com a face voltada para um dos braços fechados e colocado para explorar o equipamento por 5 min. O pesquisador munido de três cronômetros digitais fez as anotações do número de entradas e do tempo de permanência dos animais nos braços abertos (EBA e TBA) respectivamente e, o número de entradas e o tempo de permanência deles nos braços fechados (EBF e TBF) concomitantemente. Após observar cada animal, o LCE era limpo também com álcool 10%. As porcentagens de EBA (%EBA) foram calculadas em relação ao número total de entradas nos dois braços e ao tempo de exploração nesses braços em relação ao tempo total do experimento. Essas porcentagens (%) da EBA e TBA foram calculadas de acordo com as fórmulas:  $(EBA/EBA+EBF) \times 100$  e  $(TBA/TBA+TBF) \times 100$ , respectivamente. O efeito ansiolítico ou ansiogênico foi definido pelo aumento ou diminuição, respectivamente, na proporção das EBA, relativo ao número total de entradas em ambos os braços, e no tempo de exploração naqueles braços, relativo ao tempo total experimental (PELLOW et al., 1985).



**Figura 9** – Aparato do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) para avaliação de comportamento sugestivo de ansiedade em ratos, com dois braços fechados (50x10x40cm) e dois braços abertos (50x10cm) opostos em si (Fonte: o Autor).

### 3.5.1.3 Teste de esquiiva inibitória do tipo step-down

*Aparato:* O aparelho (EP-104 INSIGHT®) consiste em uma caixa de vidro e metal medindo 50x25x25 cm com uma plataforma de 5 cm de altura, com 8 cm de largura e 25 cm comprimento. No canto esquerdo apresenta uma série de barras de alumínio, distribuídas com uma distância de 1 cm entre si, o que constitui o assoalho

da caixa, conectadas a um estimulador elétrico. Os animais foram colocados na plataforma cuja base é sólida, e foi contabilizado seus tempos de latência para descer sobre a grade com as quatro patas, quando era acionado um dispositivo automático (**Figura 10**). Durante o treinamento, que foi realizado em uma sessão, imediatamente após descer a grade, os animais receberam um choque de 0,4 mA por 1,0 seg nas patas.

*Fundamento:* A medida da latência avaliada neste teste tem sido usada na avaliação dos estudos envolvendo aprendizagem e memória. Para tal, os parâmetros envolvidos consistem em uma fase de treino e pós-treino e um choque de baixa intensidade, que serve de estímulo aversivo para que o animal deixe de executar uma determinada tarefa que foi a ele apresentada. Nessa habituação as quais foram nomeadas sessões de teste (treino), nenhum choque nas patas foi administrado, e o tempo de latência de descida (180s máximo) foi usado como medida de retenção. A fim de avaliar a memória de curta duração (MCD), a sessão de testes foi realizada 1,0 h após o treino. Esse procedimento deveria ser lembrado quando da realização de um teste proposto, como mecanismo também de retenção da memória (LUCENA et al., 2013; MAIA et al., 2009).



**Figura 10** – Esquiva inibitória do tipo *step-down*, usada para avaliação de memória em ratos. O tempo de permanência na plataforma foi considerado parâmetro indicativo de aprendizagem e memória (Fonte: o Autor).

*Procedimento experimental:* As etapas apresentadas a seguir são padronizadas na área de investigação de memória para este teste específico.

- Etapa 1 (treino): os animais foram cuidadosamente colocados na plataforma em frente ao canto esquerdo da caixa de treino, com a face virada para o lado

oposto ao do observador permanecendo no interior do mesmo por 3 min. Assim que o animal desceu da plataforma e colocou as quatro patas na grade recebeu um choque de 0,4 mA por 1 seg, sendo retirado imediatamente da caixa de treino e retornado à gaiola com maravalha.

- Etapa 2 (teste): os resultados foram considerados como indicativo de MCD propriamente dita, realizada 1 h após o treino, porém sem a aplicação do choque. Nessa etapa, o tempo máximo de latência foi de 180 seg para que os animais descessem na plataforma, parâmetro utilizado como indicativo de retenção de memória.
- Etapa 3: após 24h do treino os animais foram novamente colocados cuidadosamente na plataforma, cujos resultados foram considerados como memória de longa duração (MLD). Da mesma forma que na MCD, o tempo máximo de latência foi de 180 seg. Para os animais do grupo PS, essa etapa foi omitida, em decorrência da debilidade comportamentais e fisiológicas apresentadas pelos animais após a retirada da plataforma múltipla.

Após observar cada animal nos testes, os aparatos foram limpos com álcool a 10% (v/v) para evitar que o odor do rato recém-testado interferisse no comportamento dos demais que seriam avaliados sequencialmente.

#### 3.5.1.4 Análises neurológicas e de manuseio

Para essas avaliações foi utilizada a escala de Lal et al. (1988) com algumas adaptações para o modelo apresentado, ou seja, antes da retirada dos animais do aparato da plataforma múltipla, a pesquisadora fazia a observação da atividade espontânea dos sujeitos experimentais durante 15 seg que antecediam o manuseio. Nessa avaliação, eram considerados a atividade geral; espasmos, sacudidas, contorções e tremores na cabeça. Em um segundo momento, após a retirada do aparato, eram observadas as respostas ao manuseio em especial a vocalização e esquiva. Os sinais neurológicos foram observados em uma terceira fase onde se faziam as seguintes observações: rigidez dos músculos axiais por palpação, tremor na cauda, tremores gerais, tarefas motoras, posturas de apoio



sob as patas e tremores ao levantar o animal pela cauda conforme apresentando no **Quadro 5**.

**Quadro 5-** Análise comportamental dos animais privados de sono (Modificado de Lal et al., 1988)

<b>ATIVIDADE ESPONTÂNEA AVALIADA 15 SEG ANTES DO MANUSEIO</b>				
Atividade Geral	Imobilidade=0	Sem locomoção=1	Locomoção Ocasional=2	Locomoção contínua ou rápida=3
Espasmos, sacudidas e contorções	Nenhum=0	Uma vez=1	Duas ou mais=2	Severos ou continuados=3
Tremores na cabeça	Nenhum=0	Alguns movimentos fásicos da cabeça e vibração das vibrissas=1	Maior que o normal=2	Tremores severos ou contínuos=3
<b>RESPOSTA AO MANUSEIO</b>				
Vocalização	Sem som=0	Um som de baixa intensidade=1	Vocalização alta=2	Vocalizações altas, repetitivas e contínuas no início do manuseio=3
Esquiva	Nenhuma=0	Esquiva rápida=1	Move-se para trás da gaiola e emite movimentos evasivos=2	Pressiona o corpo firmemente contra a parede de trás da gaiola=3
<b>SINAIS NEUROLÓGICOS</b>				
Rigidez dos músculos axiais por palpação	Flácido=0	Tônus muscular normal=1	Tensão elevada=2	Rigidez=3
Tremor na cauda	Flácida=0	Tensão normal=1	Tremores e rigidez=2	Rigidez e sacudidas=3
Tremores gerais	Nenhum=0	Normal=1	Tremor=2	Tremores constantes=3
Tarefas motoras (colocar na borda da caixa e observar a descida)	O rato cai imediatamente dentro da caixa=0	Descida suave=1	Descida descoordenada=2	Gasta mais que 5seg para descer=3
Postura de apoio sobre as patas	Corpo relaxado=0	Sentar normal, agachado ou apoiado sobre as 4 patas=1	Patas afastadas=2	Corpo abaixado e patas posteriores estendidas=3
Tremores das patas ao levantar o animal pela cauda	Nenhum=0	Tremores das patas anteriores ao girar 180 graus=1	Tremores e extensão das patas anteriores ao girar 180 graus=2	Tremores e extensão das patas anteriores sem girar 180 graus=3

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram expressos como a média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.) de 07 animais por grupo, pelas comparações estatísticas realizadas com a Análise de Variância (ANOVA) de uma via, e os grupos foram comparados entre si pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls (comparações múltiplas), Dunnett (comparações de duas amostras em três diferentes espaços de tempo) e Bonferroni (duas amostras). A probabilidade indicativa de diferença estatisticamente significativa foi de  $p \leq 0,05$ . Para tal, foi utilizado o software GraphPad Prism, v. 10.01®, 2015 (San Diego, CA).

## 4 RESULTADOS

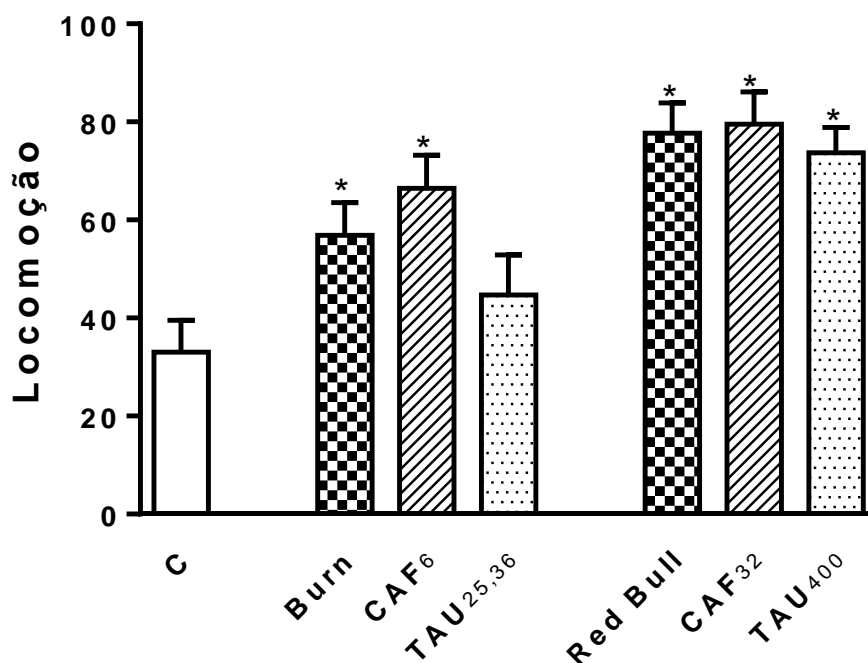
### 4.1 SEM PRIVAÇÃO DO SONO

Uma primeira avaliação foi feita considerando-se o efeito correspondente ao consumo do líquido total contido na lata de dois tipos de bebidas energizantes (Burn e Red Bull®) de forma pura, como uma maneira de analisá-los comparativamente e juntamente com dois de seus principais componentes ativos (CAF e TAU), em conformidade com suas concentrações especificadas em cada recipiente, cujo volume total por lata eram de 250 e 260 mL, respectivamente. Dessa maneira, em um contexto geral, por meio de análise comparativa entre os dois energéticos, a melhor resposta farmacológica observada na locomoção, ansiedade e memória, serviu de parâmetro para escolha de somente um energético para todos os demais experimentos da proposta aqui apresentada.

#### 4.1.1 Bebida energizante, cafeína e taurina

##### 4.1.1.1 Teste do campo aberto

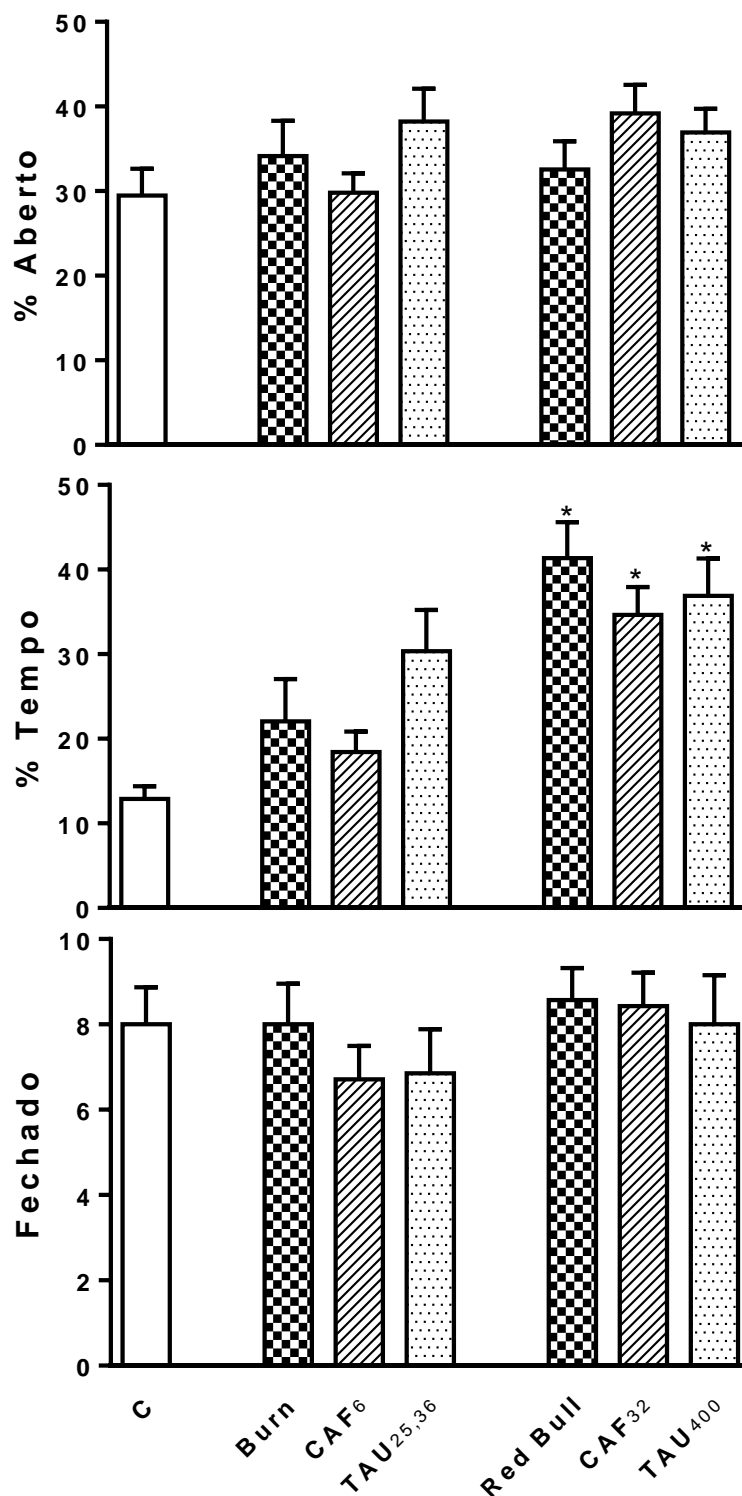
Neste teste, foi investigado a atividade locomotora dos animais considerando-se o número total de quadrantes percorridos em um período de tempo de 5 minutos. Foram observados nos animais tratados com a BE Burn um pequeno aumento na atividade locomotora o que se atribui a um efeito estimulatório, provavelmente em decorrência da CAF. Nos animais tratados com o Red Bull®, observou-se um efeito mais acentuado, onde neste primeiro contato, é provável ser em decorrência da associação da CAF e TAU (**Figura 11**).



**Figura 11** – Avaliação da atividade locomotora de ratos administrados com água de torneira (Controle), energéticos (Burn ou Red Bull®), CAF ou TAU em um campo aberto, durante 5 min. Os animais foram testados uma hora após a administração por via oral (gavagem). Cada barra representa a média  $\pm$ e.p.m de 7 animais. \* $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação aos animais controles (ANOVA, Teste de Newman Keuls). C= controle, CAF<sub>6</sub>= cafeína 6 mg/dL, CAF<sub>32</sub>= cafeína 32 mg/dl, TAU<sub>25,36</sub> = taurina 25,36 mg/dL; TAU<sub>400</sub> = taurina 400 mg/dL.

#### 4.1.1.2 Labirinto em Cruz Elevado

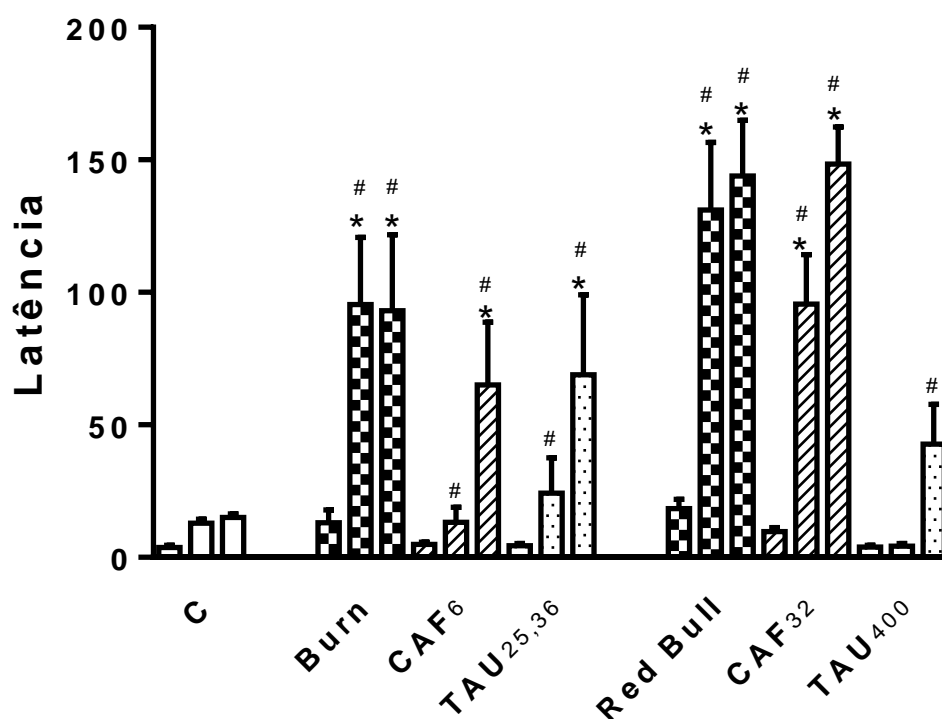
Nesta etapa, procurou-se investigar os percentuais de frequência dos animais nos braços abertos e do tempo em que eles permaneciam nos referidos braços, considerando a frequência de entradas nos braços fechados, como parâmetro natural dos animais na investigação para o comportamento sugestivo de efeitos ansiolítico ou ansiogênico. Observou-se alteração estatística nos parâmetros investigados no percentual de tempo de permanência nos braços abertos do LCE para os animais que receberam o Red Bull® e seus princípios ativos CAF e TAU em relação ao controle (**Figura 12**).



**Figura 12** – Avaliação do nível de ansiedade de ratos administrados com água de torneira (Controle), energéticos (Burn ou Red Bull®), CAF ou TAU em um labirinto em cruz elevado, durante 5 min. Os animais foram testados uma hora após a administração por via oral (gavagem). Cada barra representa a média±e.p.m de 7 animais. Painel superior: porcentagem de entradas nos braços abertos do labirinto; Painel intermediário: porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos do labirinto; Painel inferior: frequência de entradas nos braços fechados do labirinto. \* $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação aos animais controles (ANOVA, Teste de Newman Keuls). C= controle, CAF<sub>6</sub>= cafeína 6 mg/dL, CAF<sub>32</sub>= cafeína 32 mg/dl, TAU<sub>25,36</sub> = taurina 25,36 mg/dL; TAU<sub>400</sub> = taurina 400 mg/dL

#### 4.1.1.3 Teste da esQUIVA inibitória

Entre os tratamentos investigados, no teste da esQUIVA inibitória com investigação para a memória, os animais que receberam os energéticos e seus princípios ativos aumentaram o tempo de latência na plataforma da esQUIVA (**Figura 13**). Ambos os energéticos mostraram resultados sugestivos de MCD e MLD em uma mesma intensidade. No que se refere aos seus princípios ativos, é provável que o maior efeito observado no Burn se deveu à CAF e TAU, enquanto que para o Red Bull®, o efeito parece ser atribuído muito mais à CAF.

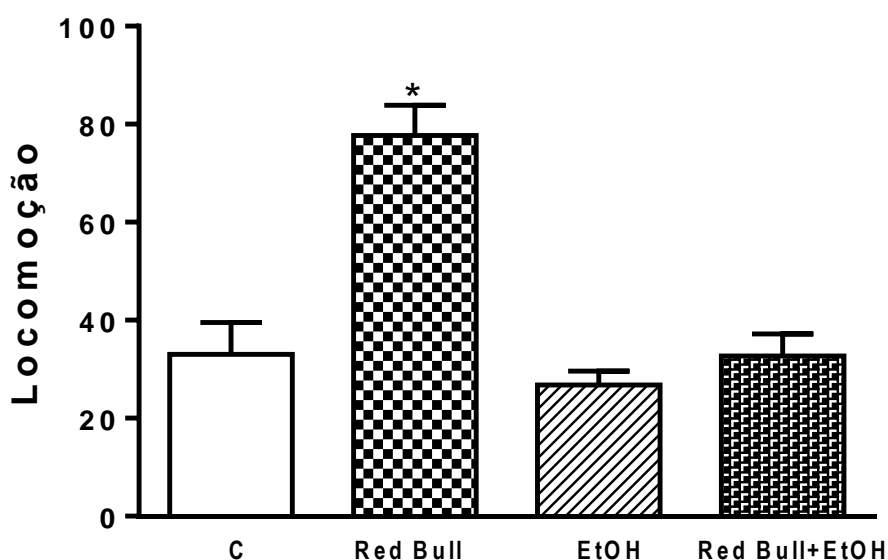


**Figura 13** – Avaliação das memórias de curta e longa duração de ratos administrados com água de torneira (Controle), energéticos (Burn ou Red Bull®), CAF ou TAU em um aparato de esQUIVA inibitória do tipo “step down”, durante o período máximo de 3 min (180 seg). Os animais foram testados uma hora após a administração por via oral (gavagem). Cada barra representa a média±e.p.m de 7 animais. 1ª barra de cada tratamento = treino; 2ª barra = memória de curta duração; 3ª barra = memória de longa duração. \* $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação aos respectivos resultados dos animais controles C. # $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação aos resultados do treino de cada tratamento específico (ANOVA, Teste de Newman Keuls). C= controle, CAF<sub>6</sub>= cafeína 6 mg/dL, CAF<sub>32</sub>= cafeína 32 mg/dl, TAU<sub>25,36</sub> = taurina 25,36 mg/dL; TAU<sub>400</sub> = taurina 400 mg/dL

## 4.1.2 Bebida energizante e etanol

### 4.1.2.1 Teste do campo aberto

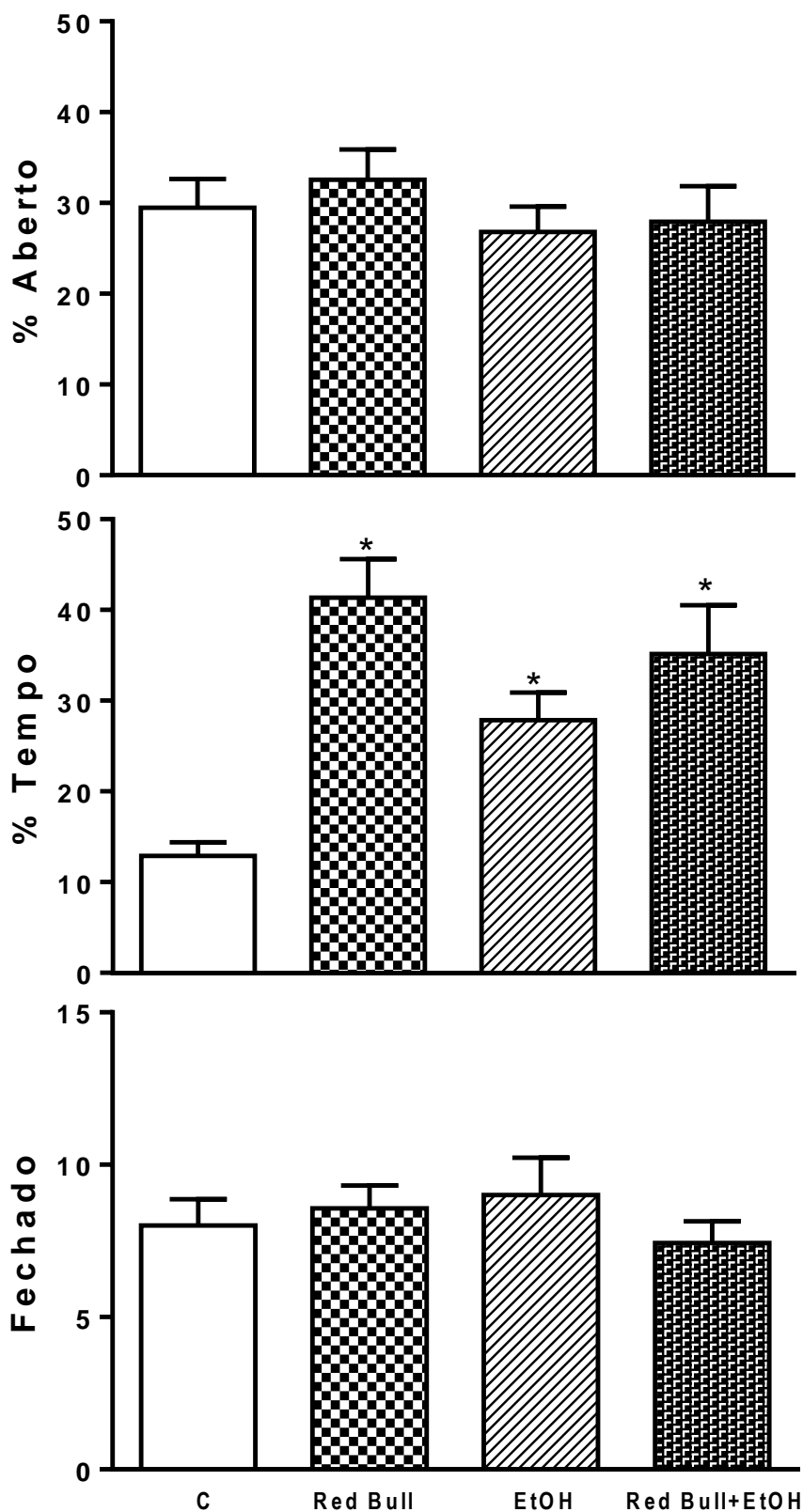
Os resultados relacionados à locomoção apresentaram uma diferença estatisticamente significativa quando as avaliações foram feitas intergrupos. Foi observado (**Figura 14**) que os animais do grupo Red Bull® aumentaram as locomoções quando comparados com os animais controles. Na avaliação entre os grupos EtOH e Red Bull®+EtOH não foi observado nenhum aumento nas ambulações dos animais.



**Figura 14** – Avaliação da atividade locomotora de ratos administrados com Red Bull Bull® e/ou EtOH no teste do campo aberto. Cada barra representa a média±e.p.m de 7 animais. Os animais foram testados uma hora após a administração por via oral (gavagem). \* $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação aos animais controles C (ANOVA, Teste de Newman-Keulls). C=Controle, EtOH=Etanol administrada 1 hora antes das avaliações comportamentais.

### 4.1.2.2 Labirinto em Cruz Elevado

Demostramos que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos grupos que receberam as administrações de Red Bull®, EtOH e Red Bull®+EtOH quando analisados no teste do LEC em relação a porcentagem de entradas nos braços abertos e tempo nos braços abertos, substâncias que foram administradas 1 hora antes das avaliações comportamentais conforme demonstrado na **Figura 15**.

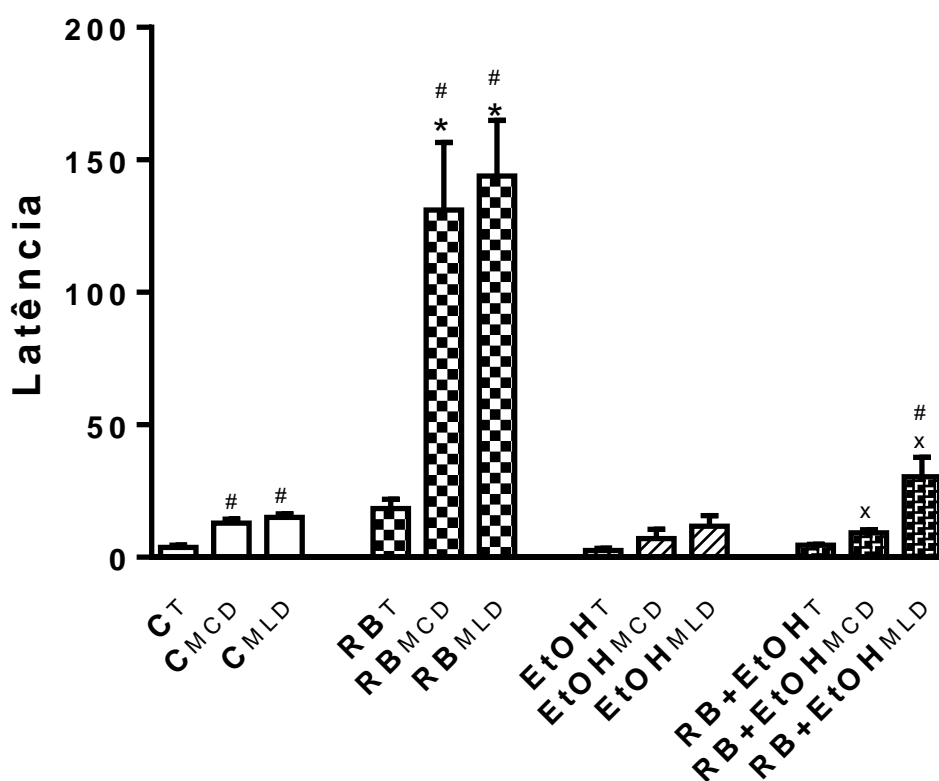


**Figura 15** – Avaliação comportamental de ratos administrados com Red Bull Bull® e/ou EtOH no teste do LCE. Painel superior representa a porcentagem de entradas nos braços abertos; Painel intermediário representa a porcentagem de tempo de permanência dos animais nos braços abertos; Painel inferior representa a frequência de entradas nos braços fechados. Cada barra representa a média±e.p.m de 7 animais. As substâncias foram administradas 1 hora antes das avaliações comportamentais (ANOVA, Teste de Tukey). \* $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação ao grupo controle C. C=Controle, RB= Red Bull®, EtOH= Etanol.



#### 4.1.2.3 Teste da esquiva inibitória

Considerando-se as respostas do consumo de BE e/ou EtOH sobre a aprendizagem e memória, observou-se que a BE Red Bull® demonstrou resposta significativa na MCD e MLD quando comparada aos seus respectivos controles C ou intragrupo quando comparada ao seu treino. Apesar do choque de 1 mA ser aversivo, os animais administrados com a BE, se mantiveram em um alto patamar de resposta de permanência na plataforma da esquiva. Este resultado, entretanto, não se manteve na mesma intensidade quando administrada com EtOH, exceto a observada para MLD, que se manteve significativa, apesar de branda, não atingindo o mesmo teto apresentado quando da administração da BE *per se* (Figura 16).



**Figura 16** – Avaliação da memória dos animais administrados com Red Bull Bull® e/ou EtOH no teste da esquiva inibitória, onde para cada tratamento observa-se que as primeiras barras representam o treino, a segunda barra representa o comportamento de memória de curta duração e a terceira barra representa a memória de longa duração. Cada barra representa a média±e.p.m de 7 animais. \* $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação aos respectivos controles;  $x p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação aos respectivos controles do Red Bull®, # $p \leq 0,05$  representa diferença estatística intragrupo em relação à resposta do treino. C=Controle, RB= Red Bull®, EtOH= Etanol e RB+EtOH= RedBull+Etanol, as substâncias eram administradas 1 hora antes das avaliações comportamentais (ANOVA, Teste de Bonferroni).

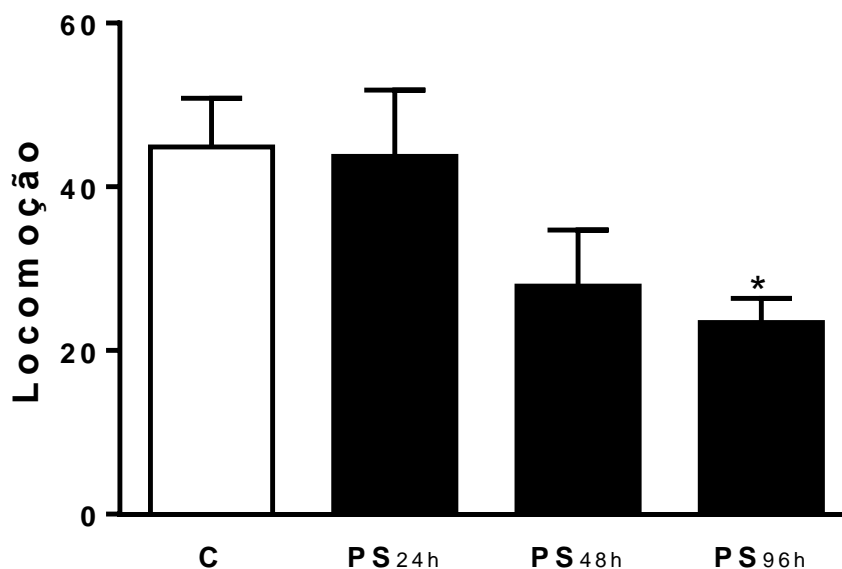
## 4.2 COM PRIVAÇÃO DO SONO

Nesta etapa, o primeiro procedimento foi importante para que a realização da determinação de uma curva tempo-resposta para a privação do sono pudesse ser inferida. Assim, os grupos onde foram avaliados os mesmos comportamentos descritos anteriormente, foram analisados nos períodos de tempo de 24, 48 e 96h, de tal forma que a obter melhor resposta das substâncias ativas: BE, CAF (32 mg/dL) e EtOH (1,2 mL/Kg).

### 4.2.1 Curva tempo-resposta para Privação do sono

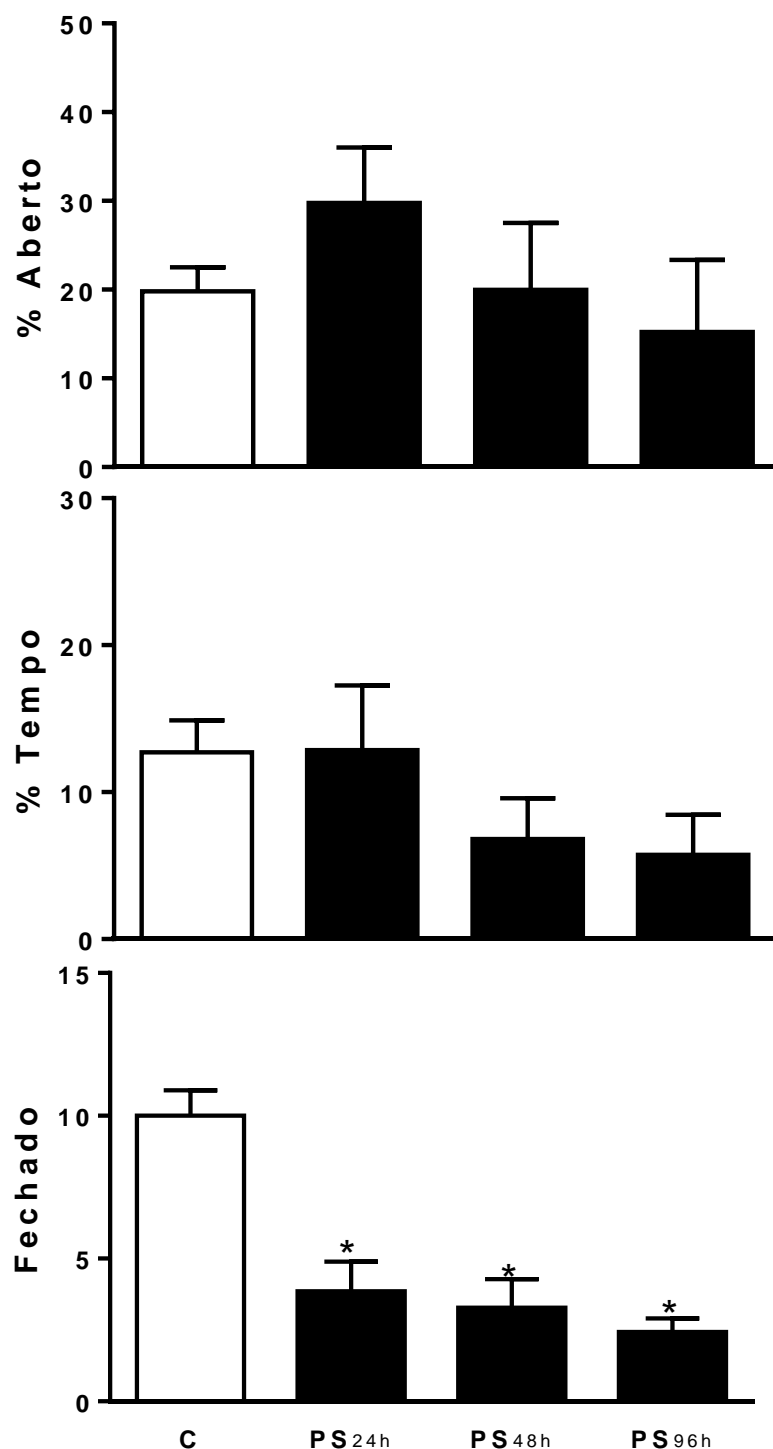
#### 4.2.1.1 Teste do campo aberto

Os animais avaliados na locomoção dos protocolos de PS por 24 ou 48h não apresentaram alteração nesse comportamento, apesar de apresentarem um grau de debilidade com comprometimento motor visualmente observado pela escala de Lal. O grupo de PS por 96h apresentou uma significativa redução na locomoção, com características de imobilidade e sugestivo de apatia (**Figura 17**).



**Figura 17** – Atividade locomotora de ratos avaliados no teste do campo aberto, após a PS de 24, 48 e 96h. Cada barra representa a média ± e.p.m. de 7 animais. \* $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação ao grupo controle (ANOVA, teste de Dunnett). C= controle, PS<sub>24h</sub> = animais PS por 24h, PS<sub>48h</sub> = animais PS por 48h, PS<sub>96h</sub> = animais PS por 96h.

## 4.2.1.2 Teste do Labirinto em cruz elevado

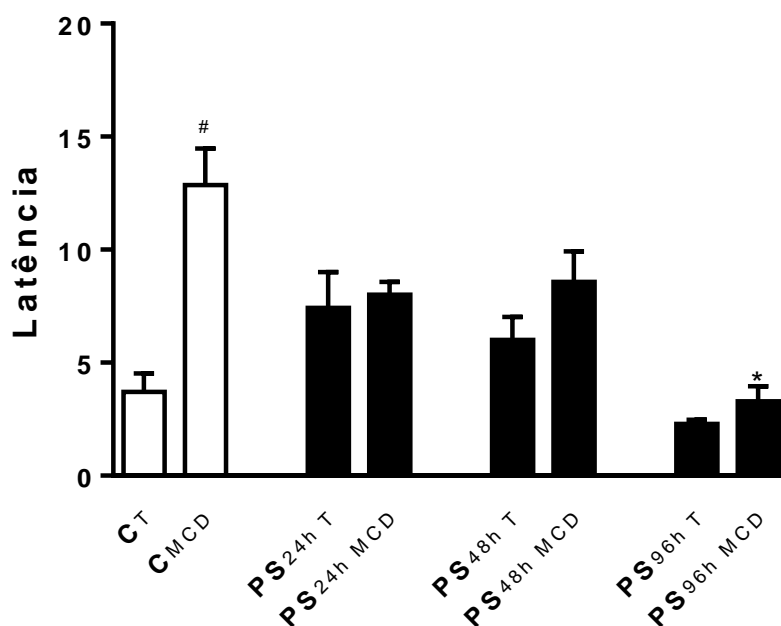


**Figura 18** – Comportamento sugestivo de ansiedade de ratos avaliados no teste do labirinto em cruz elevado, após a PS de 24, 48 e 96h. Cada barra representa a média  $\pm$ e.p.m. de 7 animais. \* $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação ao grupo controle (ANOVA, Teste de Dunnett). C= controle, PS<sub>24h</sub> = animais PS por 24h, PS<sub>48h</sub> = animais PS por 48h, PS<sub>96h</sub> = animais PS por 96h.

Considerando os parâmetros indicativos sugestivos de ansiedade (aberto e % tempo), não se observou alterações dos animais PS nos braços abertos do labirinto, independentemente do tempo em que eles tiveram seus sons prejudicados conforme demonstrado na **Figura 18**. No entanto, quando avaliados os seus desempenho nos braços fechados, observou-se uma nítida redução nos braços fechados do LCE em todos os tempos de PS.

#### 4.2.1.3 Teste da esQUIVA inibitória

Os resultados mostraram que os ratos PS não apresentaram diferença em relação aos resultados do treino, provavelmente por conta do esgotamento físico em que encontravam, onde a apatia favoreceu as suas permanências na plataforma. Os resultados na PS de 96h foram os únicos que apresentaram diferença em relação aos animais controles na MCD (**Figura 19**).



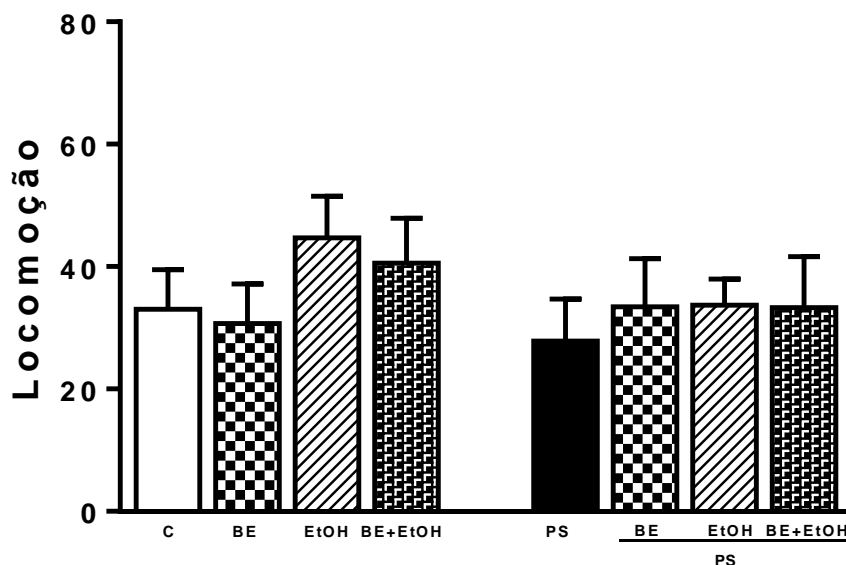
**Figura 19** – Memória de ratos avaliados no teste da esQUIVA inibitória, após a PS de 24, 48 e 96h. Cada barra representa a média  $\pm$ e.p.m. de 7 animais, sendo que as barras às esquerdas representam a resposta do treino (choque), enquanto as barras seguidas representam a memória. \* $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação ao respectivo grupo controle MCD. # $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação aos resultados do treino intragrupo (ANOVA, Teste de Dunnett). C= controle, PS<sub>24h</sub> = animais PS por 24h, PS<sub>48h</sub> = animais PS por 48h, PS<sub>96h</sub> = animais PS por 96h.

Com base nos resultados da curva do tempo resposta da PS, usou-se o período de 48h para considerar a interação BE e/ou EtOH nas próximas etapas experimentais, onde os mesmos parâmetros foram observados:

### 4.3.1 Bebida energizante e Etanol

#### 4.3.1.1 Teste do campo aberto

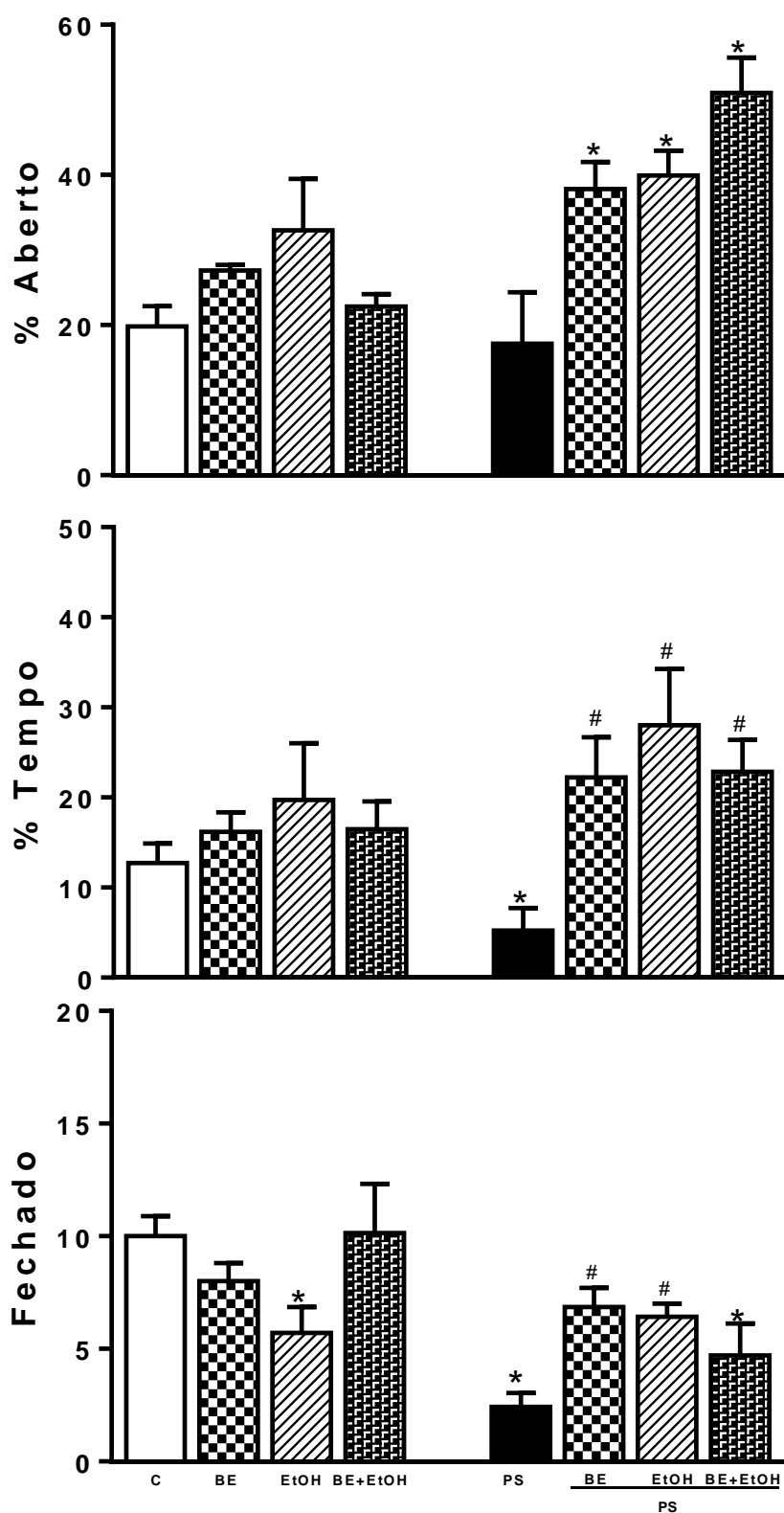
Nenhuma resposta significativa foi observada para os animais tratados com diferentes substâncias. Os parâmetros avaliados locomotores, apesar de não terem demonstrado diferença estatística, pela escala de Lal observou-se uma certa apatia dos animais PS (**Figura 20**).



**Figura 20** – Atividade locomotora de ratos avaliados no teste do campo aberto, com e sem PS<sub>48h</sub>. Os gráficos plotados ao lado esquerdo representam os animais não PS; os do lado direito são animais PS. Com exceção dos controles, todos receberam BE e/ou EtOH<sub>48h</sub> antes dos testes experimentais. Cada barra representa a média ± e.p.m. de 7 animais. C= controle, PS = privação do sono, BE= Bebida energética (Red Bull®), EtOH = Etanol.

#### 4.3.1.2 Teste do Labirinto em cruz elevado

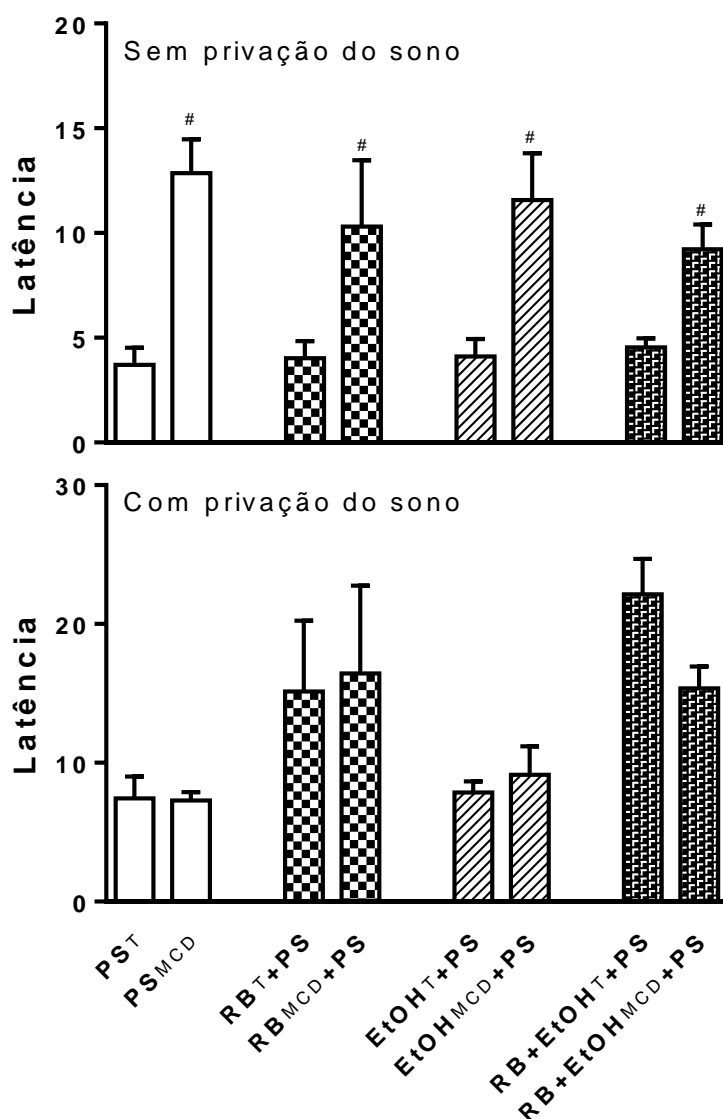
A PS<sub>48h</sub> reduziu o percentual de tempo dos animais nos braços abertos no LCE e as suas frequências no fechado, comportamentos estes sugestivos de depressão. Os tratamentos com BE e/ou EtOH e/ou a associação entre eles demonstrou um aumento no percentual de entradas nos braços abertos do LCE para os animais PS. Estes resultados provavelmente são em decorrência sugestivo do efeito ansiolítico, pelo menos em parte, visto que a associação BE+EtOH apresentou uma redução dos animais quando comparados aos sem PS (**Figura 21**).



**Figura 21** – Nível de ansiedade de ratos avaliados no teste do labirinto em cruz elevado, com e sem PS<sub>48h</sub>. Painel superior representa a porcentagem de entradas nos braços abertos; Painel intermediário representa a porcentagem de tempo de permanência dos animais nos braços abertos; Painel inferior representa a frequência de entradas nos braços fechados. Cada barra representa a média  $\pm$ e.p.m. de 7 animais. \* $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação ao grupo controle sem PS. # $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação ao grupo PS (ANOVA, Teste de Newman Keuls). C= controle, PS = privação do sono, BE= Bebida energética, EtOH = Etanol.

#### 4.3.1.3 Teste da esQUIVA inibitória

Considerando os tratamentos administrados aos animais sem e com PS, nos primeiros grupos eles apresentaram um aumento da permanência dos animais da plataforma da esQUIVA semelhantes aos animais controles. Em contrapartida, nos segundos grupos, a PS interferiu nesse tempo de latência fazendo com as respostas dos animais quanto ao treino e memória fossem similares intragrupos (**Figura 22**).



**Figura 22** – Memória de ratos avaliados no teste da esQUIVA inibitória, com e sem PS<sub>48h</sub>. Cada barra representa a média  $\pm$ e.p.m. de 7 animais. As primeiras barras representam a resposta do treino (choque), enquanto as segundas barras representam a memória. # $p < 0,05$  representa diferença estatística em relação aos resultados do treino intragrupo (ANOVA, Teste de Bonferroni). C= controle, RB= Red Bull, PS = privação do sono, BE= Bebida energética, EtOH = Etanol.

## 5 DISCUSSÃO

Considerando os resultados obtidos observou-se que, dentro das condições normais, o energético Red Bull® apresentou melhores respostas comportamentais e cognitivas do que o Burn. É provável que essas respostas se devam à presença principalmente da CAF. Ao contrário de muitos relatos encontrados na literatura, o Red Bull® não interferiu nos efeitos do EtOH sem PS. Entretanto, quando avaliados dentro das condições de PS<sub>48h</sub> esse tipo de energético melhorou as respostas em relação a memória decorrentes do consumo alcoólico e suas substâncias isoladas.

No que se refere à ansiedade, sabe-se que esta contribui para antecipar e avaliar o potencial perigo em situações ambíguas, principalmente quando envolve expectativa (ROBINSON et al., 2019). Ela é uma das mais prevalentes condições psiquiátricas dos estados emocionais em seres humanos e outros animais, com déficits comportamentais e fisiológicos (BALDWIN et al., 2014; DILUCA e OLESEN, 2014; PENG et al., 2016). Elementos comuns em suas definições apontam para um estado que envolve excitação biológica ou manifestações autonômicas e musculares (taquicardia, respostas galvânicas da pele, hiperventilação, sensações de afogamento ou sufocamento, sudorese, dores e tremores), redução na eficiência comportamental (decréscimo em habilidades sociais, dificuldade de concentração), respostas de esquiva e/ou fuga (o que sugere expectativa ou um controle por eventos futuros) e relatos verbais de estados internos desagradáveis (angústia, apreensão, medo, insegurança, mal-estar indefinido) (CERQUEIRA et al., 2010; RODGERS et al., 2012).

Considerando este tipo de comportamento, investigou-se dois tipos de BE, de tal forma que os seus consumos fizeram com que os animais aumentassem o número de exploração em um campo aberto. Os sujeitos administrados com Red Bull® aumentaram o tempo de permanência do LCE, comportamento sugestivo de efeito ansiolítico, típicos de drogas da classe dos benzodiazepínicos, visto que não houve diferença estatística nos braços fechados do LCE. No que diz respeito ao desempenho dos animais com relação ao Burn



Além disso, chama-se atenção também à importância da tigmotaxia do animal de explorar o ambiente. Graças a esse tipo de comportamento, ele pode usar esses artifícios como sinalizadores e antecipar e avaliar o potencial perigo em situações ambíguas (SUNIL et al., 2019; ROBINSON et al., 2019).

O circuito neural de medo, provável ansiedade subjacente e distúrbios relacionados ao medo, como fobia específica e social, transtorno do pânico e transtorno de estresse pós-traumático, podem ser tratados por meios de recursos farmacológicos primários, atualmente utilizados para estes distúrbios, atuando principalmente sobre o sistema de receptores GABAérgicos (BOWERS et al., 2012; MACHADO et al., 2017). Na presente pesquisa não foi possível avaliar os aspectos moleculares das respostas aqui observadas, entretanto supõe-se que esses receptores possam estar implicados neuroquimicamente com os resultados obtidos com as respostas farmacológicas das drogas e suas associações.

No que se refere as substâncias CAF e/ou TAU avaliadas no teste do LCE, elas mostraram significativos efeitos ansiolíticos, similares aqueles apresentados pelas BE estudadas nas mesmas condições experimentais. Sabe-se que a CAF após o consumo oral, é rapidamente, e quase que completamente, absorvida pelo trato gastrointestinal, atingindo picos plasmáticos em cerca de 30 minutos após o consumo, com um tempo de meia vida de eliminação variando de 2,5 a 10 horas (HECKMAN et al., 2013; VERMA et al., 2013). É distribuída no corpo e encéfalo, sendo metabolizada no fígado, enquanto que uma pequena fração (menos de 5% da dose ingerida) é excretada de forma não alterada na urina (SETH et al., 2014). Dessa maneira, é provável que os dados similares encontrados para CAF e/ou TAU deveu-se a esses efeitos farmacocinéticos.

Considerou-se o LCE para avaliação do comportamento relacionado a ansiedade visto que ele é um modelo experimental animal bem estabelecido para as investigações de drogas ansiolíticas/ansiógenicas (TAIWO et al., 2012). O presente trabalho corrobora com os resultados da pesquisa na qual utilizou-se a CAF e TAU como alvos de investigações, e nossos dados demonstraram comportamento ansiolítico similar ao diazepam, uma vez que aumentou a porcentagem de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos do

referido labirinto, tanto diante do tratamento agudo quanto crônico, sem alterar a atividade locomotora dos animais (RODGERS et al., 2012).

Em relação à aquisição de memória, os animais que receberam os energéticos e seus componentes aumentaram o tempo de latência na plataforma. Dessa maneira, os energéticos demonstraram resultados sugestivos de MCD e MLD, ainda que em diferentes concentrações. Em relação aos seus princípios ativos, é provável que o maior efeito observado no Burn se deveu à CAF e TAU, enquanto que para o Red Bull®, o efeito parece ser atribuído muito mais à CAF. Corroborando os resultados presentes, estudos de Ito et al. (2009) e Junyent et al. (2011) observaram melhorias nas MCD e MLD de ratos administrados oralmente com 400 mg/dL (TAU), mostrando que esse aminoácido apresenta um possível papel neuroprotetor no SNC.

Considerando-se esses aspectos e investigando-se o comprometimento da avaliação do sono, notou-se que ratos privados em intervalos de tempos que variaram de 24 a 96 horas apresentaram vários comportamentos sugestivos de alterações nas atividades espontâneas, respostas ao manuseio e déficits neurológicos. Em relação aos ratos PS<sub>96h</sub>, referenciando-se Lal et al. (1988), analisados pelo grau 3, para todos os aspectos previamente citados, entre eles destacando-se: com tremores severos, espasmos, sacudidas, contorções e tremores na cabeça, vocalizações altas ao manuseio, pressionando o corpo firmemente contra a parede de trás da gaiola. Neurologicamente, ao colocar os animais na borda da caixa e observar sua decida, os corpos eram abaixados, as patas posteriores mantinham-se em extensões anteriores sem girar 180 graus e rigidez no corpo. Para os animais PS 24 e 48 h observou-se muitas dessas alterações, porém em graus 2 e 1, respectivamente.

No que diz respeito ao sono e suas restrições, sabe-se que esse assunto engloba vários tipos de preocupações, uma vez que o sono é um estado funcional, reversível e cíclico, com algumas manifestações comportamentais e neurológicas características, como uma imobilidade relativa e o aumento do limiar de resposta aos estímulos externos. Em termos orgânicos, ocorrem variações dos parâmetros biológicos, acompanhados por uma modificação da atividade mental, que correspondem ao comportamento de dormir (WOODEN et al., 2014).

Frente à curva tempo-resposta, a PS<sub>48h</sub> apresentou um efeito em relação as respostas deletérias comparadas com a ansiedade e memória. As análises mostraram que todos os animais PS independentemente do tempo de privação mostraram redução na frequência dos braços abertos do LCE. Além disso, os animais PS<sub>96h</sub> reduziram, de forma significativa, a latência da plataforma da esquiiva inibitória. Sugere-se que esses resultados podem ter sido em decorrência do maior grau de debilidades dos animais após terem sido PS.

Apesar de alguns estudos descreverem a prevalência de reclamações de sono em subpopulações brasileiras, nenhuma tem sido abrangente o suficiente para fornecer perfis. Considerando esses achados, nota-se que muitos consumidores das substâncias contidas nas BEs as utilizam com o intuito de se manterem em estado de alerta, pelo fato dele relatar melhora do desempenho, redução na sonolência e fadiga. Dados epidemiológicos importantes sobre a insuficiência ou má qualidade de sono no Brasil trouxeram um conjunto de mais de dois mil brasileiros distribuídos em 150 cidades pelo país, apresentando 63% deles sofriam de algum distúrbio de sono (BITTENCOURT et al., 2009; SOLDATOS e PAPARRIGOPOULOS, 2005). Bastante relevante essa premissa quando desencadeia muitos prejuízos comportamentais e cognitivos correlacionados com aos aspectos neurológicos e seus sinais, quando acabam levando a muitas outras complicações fisiológicas (AGUIRRE, 2016).

O fato dos problemas do sono e suas intercorrências terem se tornado tão alarmantes à saúde pública, nos últimos cinco anos pesquisas chamaram a atenção do alto índice de sono inadequado nos EUA, o que representa cerca de 7 -19% dos adultos, onde 50 a 70 milhões deles sofrem de doenças crônicas relacionados aos distúrbios do sono. Quando ele é insuficiente, a comorbidade surge com problemas crônicos, tais como: doenças cardíacas, renais, hipertensão arterial, diabetes, obesidade e distúrbios mentais (CAPPUCCIO e MILLER, 2017; ENGEDA et al., 2013; NAJAFIAN et al., 2013; PALAGINI et al., 2013).

No Brasil, pesquisadores compararam três levantamentos de queixas de sono obtidos nas últimas décadas, e demonstraram que a prevalência de sonolência diurna aumentou consideravelmente, especialmente na cidade de São Paulo. Eles acreditavam que o sono dava chance aos neurônios usados durante a

vigília de se desligarem e serem reparados. Sem sono, os neurônios podem sofrer depleção de energia ou então, ser poluídos por subprodutos da atividade celular normal que os levavam a funcionar imperfeitamente (SANTOS-SILVA et al., 2009; 2012).

Os achados presentes, divergem dos resultados realizados com ratos machos obtidos pelo nosso grupo de pesquisa (ALMEIDA et al., 2018). Os dados atuais, entretanto, ainda que com fêmeas, corroboram com aqueles que, normalmente, apresentam maior sensibilidade ao estresse do que os ratos machos ou devido às interferências hormonais, o que não foi por nós investigado porém, corroboram com estudos realizados em ratos PS<sub>48h</sub>, cujas respostas obtidas com a administração de CAF (60 mg/kg/dia) promoveu efeito preventivo no déficit de desempenho quanto a avaliação do reconhecimento de objetos que houve redução da diferenciação e proliferação neuronal (SAHU et al., 2013; WADHWA et al., 2015). Da mesma forma que ratos PS por 24 horas, que receberam consumo crônico de CAF (por 4 semanas com 0,3 g/mL diluído em água) mostraram uma queda dos níveis das proteínas no giro denteado e no hipocampo (ALKADHI et al., 2015; 2016; OONK et al., 2016).

Embora nem todos precisem do mesmo número de horas de sono, os especialistas acreditam que horas insuficientes ou de baixa qualidade, numa base contínua, podem ter consequências negativas para o corpo e para o cérebro (RICHARDS e SMITH, 2016). Dormir na medida certa pode afastar problemas como cansaço, falta de concentração, depressão e ansiedade. Uma pesquisa recente revisou 320 publicações sobre sono para atualizar a recomendação de quantas horas são necessárias diariamente para ficar com a saúde em dia, de acordo com cada faixa etária (HIRSHKOWITZ et al., 2015). Fontes variadas de pesquisas recentes concluíram que recém-nascidos precisam dormir de 14 a 17 horas por dia. Entre os bebês de quatro a onze meses, a necessidade passou a ser de 12 a 15 horas, até o mínimo de 14 horas recomendado para essa faixa etária antes do estudo. A orientação não mudou para adultos de 18 a 64 anos: de 7 a 9 horas. Acima dessa idade, a quantidade diminui para 7 a 8 horas (BUENO e MENNA-BARRETO, 2016; HIRSHKOWITZ et al., 2015).

No Brasil, uma pesquisa intitulada Estudo Epidemiológico do Sono de São Paulo catalogou uma amostra de 1.101 indivíduos com faixa etária de 20 a 80 anos, os quais relataram significativos números sobre os distúrbios provocadas pelo sono ou sua privação. A prevalência maior foi pela síndrome de apneia obstrutiva com 32,9% dos casos, que é um distúrbio caracterizado pela interrupção da respiração durante o sono, o que pôde ser um preditor potencial de comorbidade e mortalidade, retificados como um considerável problema de saúde pública (SANTOS-SILVA et al., 2012; WANG et al., 2017).

Considerando-se as respostas do consumo de BE e/ou EtOH sobre a aprendizagem e memória, observou-se que o Red Bull® demonstrou resposta significativa na MCD e MLD quando comparada aos seus respectivos controles (C) ou intragrupo quando comparada ao seu treino. Entretanto, não se manteve na mesma intensidade quando administrada com EtOH, exceto a observada para MLD, que se manteve significativa, apesar de branda, não atingindo o mesmo teto apresentado quando da administração da BE *per se*.

É comum o consumo agudo de álcool (EtOH) na população em geral, para avaliar sintomas relacionados a ansiedade e/ou dependendo da dose ingerida e do teor de álcool, presentes nesses tipos de bebidas, pode-se observar um prejuízo do desempenho físico, principalmente no que se refere ao controle motor (mecanismos de manutenção da postura corporal) sobre o desempenho aeróbio e neuromuscular (FAN et al., 2019; MENYA et al., 2019; ZOU et al., 2017). Apesar de vários estudos clínicos sugerirem que o EtOH reduz o estado de ansiedade, frustração e estresse (SUNIL et al., 2019; ROBINSON et al., 2019), o beber excessivo tem sido influenciado por alguns pesquisadores ao meio particular, bem como ansiedade, depressão e a problemas situacionais (ROBINSON et al., 2019).

Estimulantes parecem ser importantes gatilhos da PS. Já houve vários relatos de casos que documentam a Red Bull® como a causa de interferência nos distúrbios e/ou PS. É interessante diferenciar os estimulantes com base em fontes naturais ou artificiais. A PS ou simplesmente não dormir o suficiente, pode ser outro fator de risco modificável para a ingestão com o Red Bull. Mesmo que os consumidores de energéticos não sofram de PS, o não dormir o suficiente pode contribuir para uma péssima qualidade de vida. Por exemplo, um estudo mostrou

que a PS aumenta o risco de doenças (cardiovasculares) em 3,36 vezes (SABZWARI et al., 2018).

Dentre os resultados obtidos, a aprendizagem aconteceu provavelmente por meio deste sistema, visto que os animais receberam um estímulo aversivo (choque) assim que eles descerem a plataforma de esquiva inibitória. Após isto, para avaliar a memória/aprendizado, era esperado que no teste eles demonstrassem aprendizado se esquivando do estímulo aversivo, que não ia mais ser disparado. A maior latência observada deveu-se mais pelo estado debilitante dos animais após 48 ou 96h de terem sido PS. Para o tempo de 48h, as substâncias em estudo não foram capazes de melhorar os aspectos cognitivos.

Há uma necessidade em desenvolver medidas terapêuticas que tenham custos benefícios de cuidados médicos, sociais e estratégias de prevenção baseadas na evidência para o tocante a associação do EtOH na PS. Os esforços para melhorar a qualidade e disponibilidade de cuidados, assim como para procurar tratamentos mais eficazes para o seu uso contínuo devem ser realizados em conjunto com um investimento em medidas de prevenção primária. É necessária mais investigação de forma a identificar fatores protetores ou de risco no que diz respeito aos danos causados pela PS e uso abusivo de EtOH.

Diante dessas informações, cabe investigar os aspectos celulares e moleculares envolvidos com essas respostas comportamentais e cognitivas apresentadas pela CAF e TAU, que possam também justificar os efeitos em humanos, visto que as alterações positivas ou negativas relatadas por alguns usuários dessas substâncias podem ser dependentes da dose e do tempo de consumo. Considerando os protocolos aqui utilizados, deve-se levar em considerações também os modelos experimentais, a idade e linhagem dos ratos.

## 6 CONCLUSÕES

Em um contexto geral, considerando os resultados obtidos foi possível concluir:

- Em uma análise comparativa entre dois energéticos observou-se que o Red Bull® apresentou melhor resposta comportamental e cognitiva;
- É provável que a CAF e a TAU sejam os princípios ativos relacionados com os efeitos ansiolíticos, enquanto que a CAF responde pelos efeitos mnemônicos;
- Quando associado ao EtOH, o Red Bull® não interferiu de forma sinérgica nos efeitos dessa droga depressora do SNC;
- Frente a uma curva tempo-resposta, observou-se que a PS<sub>48h</sub> apresentou um efeito intermediário em relação as respostas deletérias em relação a ansiedade e memória. Por conta desses efeitos, tornou-se o tempo de restrição de sono ideal para a proposta investigada;
- No que se refere a ansiedade em ratos PS, o Red Bull® e/ou EtOH e/ou associação dessas duas substâncias apresentaram um comportamento sugestivo de efeito ansiolítico, uma vez que aumentaram o percentual de frequência nos braços abertos do LCE;
- Em relação aos efeitos relacionados a memória, é provável que as interferências farmacocinéticas do consumo das substâncias frente a PS<sub>48h</sub>, falharam em apresentar respostas mnemônicas.

Com isso, buscou-se correlacionar os resultados obtidos com a prática clínica, no tocante ao uso cada vez mais crescente de bebidas energéticas, ao se entender que muitos fatores envolvidos nas suas interações podem interferir para análise comparativa, em uma abrangência muito maior do que as que foram aqui abordadas.

Apesar disso, cabe aqui a reflexão sobre o assunto podendo-se inferir que o consumo de BEs parece minimizar os deficits da PS, fadiga muscular e desempenho cognitivo, no entanto deve-se considerar vários aspectos

relacionados a dose e tempo de consumo. Pensando nas diversas situações de trabalhos e nos inúmeros consumidores desses tipos de substâncias, é provável que ao consumi-las haja redução na ansiedade, melhora no humor, aumento do estado de alerta, mas observando um “concurseiro” ou um trabalhador noturno plantonista, cujo ciclo de sono sofre alteração e ultrapassa a noite, tomar a BE em qualquer um desses momentos poderá não provocar o efeito esperado quando se busca maior aprendizagem/memorização.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS RM. Sleep Deprivation. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 42(3): 493 – 506, 2015.

AGUIRRE CC. Sleep deprivation: a mind-body approach. *Curr Opin Pulm Med*, 22(6): 583 – 588, 2016.

ALEXANDRE C, LATREMOLIERE A, FERREIRA A, MIRACCA G, YAMAMOTO M, SCAMMELL ALEXANDRE TE, WOOLF CJ. Decreased alertness due to sleep loss increases pain sensitivity in mice. *Nat Med*, 23(6): 768 – 774, 2017.

ALFORD C, COX H, WESCOTT R. The effects of red bull® energy drink on human performance and mood. *Amino Acids*, 21(2): 139 – 150, 2001.

ALFORD VM, EWEN S, WEBB GR, MCGINLEY J, BROOKES A, REMEDIOS LJ. The use of the International Classification of Functioning, disability and health to understand the health and functioning experiences of people with chronic conditions from the person perspective: a systematic review. *Disabil Rehabil*, 37(8): 655 – 666, 2015.

ALKADHI K, ZAGAAR M, ALHAIDER I, SALIM S, ALEISA A. Neurobiological Consequences of Sleep Deprivation. *Curr Neuropharmacol*, 11(3): 231 – 249, 2013.

ALMEIDA RPC. Efeito da administração de bebida energizante no comportamento de ratos privados de sono. 2018. 71 f., il. Dissertação de Mestrado em Ciências Médicas—UnB, 2018.

ALÓE F, AZEVEDO AP, HASAN R. Sleep-wake cycle mechanisms. *Rev Bras Psiquiatr*, 27 Suppl 1: 33 – 39, 2005.

ALÓE F, AMZICA F, HENING W, MENNA-BARRETO L, PINTO LR JR, VELLUTI R, VERTES R, TIMO-IARIA C. The brain decade in debate: VII. Neurobiology of sleep and dreams. *Braz J Med Biol Res*, 34(12): 1509 – 1519, 2001.

ANGELUCCI ME, VITAL MA, CESÁRIO C, ZADUSKY CR, ROSALEN PL, DA CUNHA C. The effect of caffeine in animal models of learning and memory. *Eur J Pharmacol*, 373(2-3): 135 – 140, 1999.

BALDWIN DS, ANDERSON IM, NUTT DJ, ALLGULANDER C, BANDELOW B, DEN BOER JA, CHRISTMAS DM, DAVIES S, FINEBERG N, LIDBETTER N, MALIZIA A, MCCRONE P, NABARRO D, O'NEILL C, SCOTT J, VAN DER WEE

N, WITTCHEN HU. Evidence-based pharmacological treatment of anxiety disorders, post-traumatic stress disorder and obsessive-compulsive disorder: a revision of the 2005 guidelines from the British Association for Psychopharmacology. *J Psychopharmacol*, 28: 403 – 439, 2014.

ASTLEY C, SOUZA D, POLITO M. Acute Caffeine Ingestion on Performance in Young Judo Athletes. *Pediatr Exerc Sci*, 29(3): 336 – 340, 2017.

BALLISTRERI MC, CORRADI-WEBSTER CM. Consumption of energy drinks among physical education students. *Rev Lat Am Enfermagem*, 16 (Spec): 558 – 464, 2008.

BATENBURG-EDDES TV, LEE NC, WEEDA WD, KRABBENDAM L, HUIZINGA M. The potential adverse effect of energy drinks on executive functions in early adolescence. *Front Psychol*, 5: 457 – 460, 2014.

BELZUNG C, PHILIPPOT P. Anxiety from a phylogenetic perspective: is there a qualitative difference between human and animal anxiety? *Neural Plast*, 2007: 59676, 2007.

BITTENCOURT LR, SANTOS-SILVA R, TADDEI JA, ANDERSEN ML, DE MELLO MT, TUFIK S. Sleep complaints in the adult Brazilian population: a national survey based on screening questions. *J Clin Sleep Med*, 5(5): 459 – 463, 2009.

BLACK SW, MORAIRTY SR, FISHER SP, CHEN TM, WARRIER DR, KILDUFF TS. Almorexant promotes sleep and exacerbates cataplexy in a murine model of narcolepsy. *Sleep*, 36(3): 325 – 336, 2013.

BLANCHARD DC, GRIEBEL G, BLANCHARD RJ. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neurosci Biobehav Rev*, 25: 205 – 218, 2001.

BORBÉLY AA, ACHERMANN P. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J Biol Rhythms*, 14(6): 557 – 568, 1999.

BOWERS ME, CHOI DC, RESSLER KJ. Neuropeptide regulation of fear and anxiety: Implications of cholecystokinin, endogenous opioids, and neuropeptide Y. *Physiol Behav*, 107(5): 699 – 710, 2012.

BRANDÃO GS, CAMELIER FWR, SAMPAIO AAC, BRANDÃO GS, SILVA AS, GOMES GSBF, DONNER CF, OLIVEIRA LVF, CAMELIER AA. Association of sleep quality with excessive daytime somnolence and quality of life of elderlies of community. *Multidiscip Respir Med*, 13: 1 – 8, 2018.

BRIANZA-PADILLA M, SÁNCHEZ-MUÑOZ F, VÁZQUEZ-PALACIOS G, HUANG F, ALMANZA-PÉREZ JC, BOJALIL R, BONILLA-JAIME H. Cytokine and microRNA levels during different periods of paradoxical sleep deprivation and sleep recovery in rats. *PeerJ*, 6:e5567. eCollection 2018, 2018.

BUENO C, MENNA-BARRETO L. Environmental factors influencing biological rhythms in newborns: From neonatal intensive care units to home. *Sleep Sci*, 9(4): 295 – 300, 2016.

CAPPELLETTI S, PIACENTINO D, SANI G, AROMATARIO M1. Caffeine: cognitive and physical performance enhancer or psychoactive drug? *Curr Neuropharmacol*, 13(1): 71 – 88, 2015.

CAPPUCCIO FP, MILLER MA. Sleep and Cardio-Metabolic Disease. *Curr Cardiol Rep*, 19(11): 110 – 118, 2017.

CASTRO AA, GHISONI K, LATINI A, QUEVEDO J, TASCA CI, PREDIGER RD. Lithium and valproate prevent olfactory discrimination and short-term memory impairments in the intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) rat model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res*, 229(1): 208 – 215, 2012.

CERQUEIRA CT, ALMEIDA JRC, SATO JR, GORENSTEIN C, GENTIL V, LEITE CC, AMARO JRE, BUSATTO GG. Cognitive control associated with irritability induction: an autobiographical recall fMRI study. *Rev Bras Psiquiatr*, 32(2): 109 – 118, 2010.

COHEN SD, CUKOR D, KIMMEL PL. Anxiety in Patients Treated with Hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*, 11(12): 2250 – 2255, 2016.

COHEN LJ, ARDALAN F, TANIS T, HALMI W, GALYNKER I, VON WYL A, HENGARTNER MP. Attachment anxiety and avoidance as mediators of the association between childhood maltreatment and adult personality dysfunction. *Attach Hum Dev*, 19(1): 58 – 57, 2017.

COOK C, BEAVEN CM, KILDUFF LP, DRAWER S. Acute caffeine ingestion's increase of voluntarily chosen resistance-training load after limited sleep. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 22(3): 157 – 164, 2012.

CRUZ AP, FREI F, GRAEFF FG. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*, 49(1): 171 – 176, 1994.

CURRAN CP, MARCZINSKI CA. Taurine, caffeine, and energy drinks: reviewing the risks to the adolescent brain. *Birth Defects Res*, 109 (20): 1640 – 164, 2017.

DEL OLMO N, BUSTAMANTE J, DEL RIO RM, SOLIS JM. Taurine activates GABAA but not GABAB receptors in rat hippocampal C1 area. *Brain Res*, 864: 298 – 307, 2000.

DILUCA M, OLESEN J. The cost of brain diseases: a burden or a challenge? *Neuron*, 82: 1205 – 1208, 2014.

DONALD CM, MOORE J, MCINTYRE A, CARMODY K, DONNE B. Acute Effects of 24-h Sleep Deprivation on Salivary Cortisol and Testosterone Concentrations and Testosterone to Cortisol Ratio Following Supplementation with Caffeine or Placebo. *Int J Exerc Sci*, 10(1): 108 – 120, 2017.

DRAKE CL, ROEHRS T, TURNER L, SCOFIELD HM, ROTH T. Caffeine reversal of ethanol effects on the multiple sleep latency test memory, and psychomotor performance. *Neuropsychopharmacology*, 28: 371 – 378, 2003.

ENGEDA J, MEZUK B, RATLIFF S, NING Y. Association between duration and quality of sleep and the risk of pre-diabetes: evidence from NHANES. *Diabet Med*, 30(6): 676 – 680, 2013.

FAN AZ, RUAN WJ, CHOU SP. Re-examining the relationship between alcohol consumption and coronary heart disease with a new lens. *Prev Med*, 118: 336 – 343, 2019.

FERNANDES GB, CREMASCHI RC, POYARES D, TUFIK S, COELHO FM. Prevalence of nocturnal sleep onset rapid movement sleep period (SOREMP) in narcolepsy type 1 and type 2. *Sleep Med*, 38: 162 – 163, 2017.

FERREIRA SE, MELLO MT, FORMIGONI MLOS. Can energy drink affect the effects of alcoholic beverages? A study with users. *Rev Assoc Med Bras*, 50: 48 – 51, 2004.

FERREIRA SE, QUADROS IMH, TRINDADE AA, TAKAHASHI S, KOYAMA RG, FORMIGONI MLOS. Can energy drinks reduce the depressor effect of ethanol? An experimental study in mice. *Physiol Behav*, 82: 841 – 847, 2004.

FRITZ BM, BOEHM, SL. Adenosinergic regulation of binge-like ethanol drinking and associated locomotor effects in male C57BL/6J mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 135: 83 – 89, 2015.

FROGER N, CADETTI L, LORACH H, MARTINS J, BEMELMANS AP, DUBUS E, PICAUD S. Taurine Provides Neuroprotection against Retinal Ganglion Cell Degeneration. *PLoS One*, 7(10): 1 – 12, 2012.

GOTTLIEB DJ, ELLENBOGEN JM, BIANCHI MT, CZEISLER CA. Sleep deficiency and motor vehicle crash risk in the general population: a prospective cohort study. *BMC Med*, 16(1): 44 – 52, 2018.

GUNZERATH L, FADEN V, ZAKHARI S, WARREN K. National institute on alcohol abuse and alcoholism report on moderate drinking. *Alcohol Clin Exp Res*, 28(6): 829 – 847, 2004.

HANDLEY SL, MITHANI S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 327(1): 1 – 5, 1984.

HASAN S, FOSTER RG, VYAZOVSKIY VV, PEIRSON SN. Effects of circadian misalignment on sleep in mice. *Sci Rep*, 8(1): 15343 – 15355, 2018.

HAYES KC, CAREY RE, SCHMIDT SY. Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat. *Science*, 188(4191): 949 – 951, 1975.

HIRSHKOWITZ M, WHITON K, ALBERT SM, ALESSI C, BRUNI O, DONCARLOS L, HAZEN N, HERMAN J, ADAMS HILLARD PJ, KATZ ES, KHEIRANDISH-GOZAL L, NEUBAUER DN, O'DONNELL AE, OHAYON M, PEEVER J, RAWDING R, SACHDEVA RC, SETTERS B, VITIELLO MV, WARE JC. National Sleep Foundation's updated sleep duration recommendations: final report. *Sleep Health*, 1(4): 233 – 243, 2015.

HONG H, KIM BS, IM HI. Pathophysiological role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Int Neurol J*, 20: S2 – S7, 2016.

IMAKI H, MORETZ R, WISNIEWSKI H, NEURINGER M, STURMAN J. Retinal degeneration in 3-month- old rhesus monkey infants fed a taurine-free human infant formula. *J Neurosc Res*, 18(4): 602 – 614, 1987.

JIANG H, CALLINAN S, LASLETT A, ROOM R. Measuring Time Spent Caring For Drinkers and Their Dependents. *Alcohol*, 52: 112 – 118, 2018.

JOHNSON SJ, ALFORD C, STEWART K, VERSTER JC. Are energy drinks unique mixers in terms of their effects on alcohol consumption and negative alcohol-related consequences? *Int J Gen Med*, 15 – 23, 2018.

KAHAN VA, RIBEIRO DAB, EGYDIO FA, BARROS LAA, TOMONIRI JC, TUFIK SA, ANDERSEN MLA. Is Lack of Sleep Capable of Inducing DNA Damage in Aged Skin? *Skin Pharmacol Physiol*, 27: 127 – 131, 2014.

KANDEL ER, DUDAI Y, MAYFORD MR. The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 157(1): 163 – 186, 2014.

KIM SY, SIM S, CHOI HG. High stress, lack of sleep, low school performance, and suicide attempts are associated with high energy drink intake in adolescents. *PLoS One*, 12(11): e0187759, 2017.

KNOWLES OE, DRINKWATER EJ, URWIN CS, LAMON S, AISBETT B. Inadequate sleep and muscle strength: Implications for resistance training. *J Sci Med Sport*, 21(9): 959 – 968, 2018.

KON K, ODE KL, UEDA HR. Molecular mechanisms of circadian rhythm and sleep homeostasis. *Brain Nerve*, 69(3): 257 – 264, 2017.

KRYSTAL JH, PETRAKIS IL, MASON G, TREVISAN L, D'SOUZA. N-methyl-d-aspartate glutamate receptors and alcoholism: reward, dependence, treatment, and vulnerability. *Pharmacol Ther*, 99: 79 – 94, 2003.

KUNZ D, BES F. Twenty years after: another case report of melatonin effects on REM sleep behavior disorder, using serial dopamine transporter imaging. *Neuropsychobiology*, 76(2): 100 – 104, 2018.

LAMBUK L, IEZHITSA I, AGARWAL R, BAKAR NS, AGARWAL P, ISMAIL NM. Antiapoptotic effect of taurine against NMDA-induced retinal excitotoxicity in rats. *Neurotoxicology*, 1 – 29, 2018.

LEON R, WU H, JIN Y, WEI J, BUDDHALA C, PRENTICE H, WU JY. Protective function of taurine in glutamate-induced apoptosis in cultured neurons. *J Neurosci Res*, 87(5): 1185 – 1194, 2009.

LIGUORI A, ROBINSON JH. Caffeine antagonism of alcohol-induced driving impairment. *Drug Alcohol Depend*, 63: 123 – 129, 2001.

LIU CL, WATSON AM, PLACE AR, JAGUS R. Taurine Biosynthesis in a Fish Liver Cell Line (ZFL) Adapted to a Serum-Free Medium. *Mar Drugs*, 15(6): pii: E147, 2017.

LÓPEZ-CRUZ L, SAN-MIGUEL N, BAYARRI P, BAQI, Y, MÜLLER CE, SALAMONE JD, CORREA M. Ethanol and Caffeine Effects on Social Interaction and Recognition in Mice: Involvement of Adenosine A2A and A1 Receptors. *Front Behav Neurosci*, eCollection 2016, 2016.

LUCENA GM, PORTO FA, CAMPOS EG, AZEVEDO MS, CECHINEL-FILHO V, PREDIGER RD, FERREIRA VM. *Cipura paludosa* attenuates long-term behavioral deficits in rats exposed to methylmercury during early development. *Ecotoxicol Environ Saf*, 73(6): 1150 – 1158, 2010.

LUCENA GM, PREDIGER RD, SILVA MV, SANTOS SN, SILVA JFB, SANTOS AR, AZEVEDO MS, FERREIRA VM. Ethanol extract from bulbs of *Cipura paludosa* reduced long-lasting learning and memory deficits induced by prenatal methylmercury exposure in rats. *Dev Cogn Neurosci*, (3): 1 – 10, 2013.

MACHADO NJ, SIMÕES AP, SILVA HB, ARDAIS AP, KASTER MP, GARÇÃO P, RODRIGUES DI, POCHMANN D, SANTOS AI, ARAÚJO IM, PORCIÚNCULA LO, TOMÉ ÂR, KÖFALVI A, VAUGEOIS JM, AGOSTINHO P, EL YACOUBI M, CUNHA RA, GOMES CA. Caffeine Reverts Memory But Not Mood Impairment in a Depression-Prone Mouse Strain with Up-Regulated Adenosine A2A Receptor in Hippocampal Glutamate Synapses. *Mol Neurobiol*, 54(2): 1552 – 1563, 2017.

MACHADO RB, HIPÓLIDE DC, BENEDITO-SILVA AA, TUFIK S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res*, 1004(1-2): 45 – 51, 2004.

MAGALHÃES F, MATARUNA, J. Sono. In: JANSEN, JM, orgs. *Medicina da noite: da cronobiologia à prática clínica* [online]. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 103 – 120, 2007.

MAIA CS, LUCENA GM, CORRÊA PB, SERRA RB, MATOS RW, MENEZES FC, SANTOS SN, SOUSA JB, COSTA ET, FERREIRA VM. Interference of ethanol and methylmercury in the developing central nervous system. *Neurotoxicology*, 30(1): 23 – 30, 2009.

McEWEN BS. Sleep deprivation as a neurobiologic and physiologic stressor: allostasis and allostatic load. *Metabolism: Clin Experimental*, 55: S20 – S23, 2006.

McNAUGHTON N, CORR PJ. A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. *Neurosci Biobehav Rev*, 28: 285 – 305, 2004.

MEHTA R, SINGH S, KHANDAY MA, MALLICK BN. Reciprocal changes in noradrenaline and GABA levels in discrete brain regions upon rapid eye movement sleep deprivation in rats. *Neurochem Int*, 108: 190 - 198, 2017.

MENNA-BARRETO L. Chronobiology in Latin America: XIII Latin American Symposium on Chronobiology. *Sleep Sci*, 9(4): 261 – 266, 2016.

MENYA D, KIGEN N, ODUOR M, MAINA SK, SOME F, CHUMBA D, AYUO P, OSANO O, MIDDLETON DR, SCHÜZ J, MCCORMACK VA. Traditional and commercial alcohols and esophageal cancer risk in Kenya. *Int J Cancer*, 144(3): 459 – 469, 2019.

METS MAJ, KETZER S, BLOM C, VAN GERVEN MH, VAN WILLIGENBURG GM, OLIVIER B, VERSTER JC. Positive effects of red bull® energy drink on driving performance during prolonged driving. *Psychopharmacology*, 214(3): 737–745, 2011.

MONTGOMERY KC. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. *J Comp Physiol Psychol*, 48(4): 254 – 260, 1955.

NAJAFIAN J, MOHAMADIFARD N, SIADAT ZD, SADRI G, RAHMATI MR. Association between sleep duration and diabetes mellitus: Isfahan Healthy Heart Program. *Niger J Clin Pract*, 16(1): 59 – 62, 2013.

NALPAS B, COMBESURE C, PIERRE B, LEDENT T, GILLET C, PLAYOUST D, DANIEL T, BOZONNAT MC, MARTIN S, BALMÈS JL, DAURÈS JP. Financial costs of alcoholism treatment programs: a longitudinal and comparative evaluation among four specialized centers. *Alcohol Clin Exp Res*, 27(1): 51 – 56, 2003.

OHAYON MM, CHEN MC, BIXLER E, DAUVILLIERS Y, GOZAL D, PLAZZI G, VITIELLO MV, PASKOW M, ROACH A, HIRSHKOWITZ M. A provisional tool for the measurement of sleep satisfaction. *Sleep Health*, 4(1): 6 – 12, 2018.

ONAOLAPOA JO, ONAOLAPOB YA, AKANMUC AM, OLAYIWOLAD G. Caffeine and sleep-deprivation mediated changes in open-field behaviours stress response and antioxidant status in mice. *Sleep Science*, 9: 236 – 243, 2016.

PALAGINI L, ROSENLICHT N. Sleep, dreaming, and mental health: a review of historical and neurobiological perspectives. *Sleep Med Rev*, 15(3): 179 – 186, 2011.

PALAGINI L, BAGLIONI C, CIAPPARELLI A, GEMIGNANI A, RIEMANN D. REM sleep dysregulation in depression: state of the art. *Sleep Med Rev*, 17(5): 377 – 390, 2013.

PANAYIOTOU G, KAREKLA M, PANAYIOTOU M. Direct and indirect predictors of social anxiety: The role of anxiety sensitivity, behavioral inhibition, experiential avoidance and self-consciousness. *Compr Psychiatry*, 55(8): 1875 – 1882, 2014.



PARK S, LEE Y, LEE JH. Association between energy drink intake, sleep, stress, and suicidality in Korean adolescents: energy drink uses in isolation or in combination with junk food consumption. *Nutr J*, 15: 87 – 93, 2016.

PELLOW S, CHOPIN P, FILE SE, BRILEY M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Meth*, 14(3): 149 – 167, 1985.

PORKKA-HEISKANEN T, ALANKO L, KALINCHUK A, STENBERG D. Adenosine and sleep. *Sleep Med Rev*, 6(4): 321 – 332, 2002.

PREDIGER RS, BATISTA LC, TAKAHASHI RN. Adenosine A1 receptors modulate the anxiolytic-like effect of ethanol in the elevated plus-maze in mice. *Eur Journ Pharmacol*, 499: 147 – 154, 2004.

PREDIGER RS, FERNANDES D, TAKAHASHI RN. Blockade of adenosine A2A receptors reverses short-term social memory impairments in spontaneously hypertensive rats. *Behav Brain Res*, 159: 197 – 205, 2005.

RECHTSCHAFFEN A, BERGMANN BM, GILLILAND MA, BAUER K. Effects of method, duration, and sleep stage on rebounds from sleep deprivation in the rat. *Sleep*, 22(1): 11 – 31, 1999.

RICHARDS G, SMITH AP. A review of energy drinks and mental health, with a focus on stress, anxiety, and depression. *J Caffeine Res*, 6(2): 49 – 63, 2016.

ROBINSON SL, MARRERO IM, PEREZ-HEYDRICH CA, SEPULVEDA-ORENGO MT, REISSNER KJ, THIELE TE. Medial prefrontal cortex neuropeptide Y modulates binge-like ethanol consumption in C57BL/6J mice. *Neuropsychopharmacology*, 2019 [Epub ahead of print].

RODEGRS KM, BERCUJ FM, MCCALLUM DL, RUDY JW, FREY LC, JOHNSON KW, WATKINS LR, BARTH DS. Acute neuroimmune modulation attenuates the development of anxiety-like freezing behavior in an animal model of traumatic brain injury. *J Neurotraum*, 29 (10): 1886 – 1897, 2012.

SAADATI H, ESMAEILI-MAHANI S, ESMAEILPOUR K, NAZERI M, MAZHARI S, SHEIBANI V. Exercise improves learning and memory impairments in sleep deprived female rats. *Physiol Behav*, 138: 285 – 291, 2015.

SANCHEZ SE, MARTINEZ C, ORIOL RA, YANEZ D, CASTAÑEDA B, SANCHEZ E, GELAYE B, WILLIAMS MA. Sleep quality, sleep patterns and consumption

of energy drinks and other caffeinated beverages among peruvian college students. *Health (Irvine Calif)*, 5(8B): 26 – 35, 2013.

SANTOS-SILVA R, CASTRO LS, TADDEI JA, TUFIK S, BITTENCOURT LR. A sleep disorders and demand for medical services: evidence from a population-based longitudinal study. *PLoS One*, 7(2): e30085, 2012.

SANTOS-SILVA R, TUFIK S, CONWAY SG, TADDEI JA, BITTENCOURT LR. Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study: rationale, design, sampling, and procedures. *Sleep Med*, 10(6): 679 – 685, 2009.

SAPER CB, SCAMMELL TE, LU J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*, 437: 1257 – 1263, 2005.

SCORZA FA, ARIDA RM, CYSNEIROS RM, SCORZA CA, ALBUQUERQUE M, CAVALHEIRO EA. Estudo qualitativo da formação hipocampal de animais hipertensos com epilepsia. *Arquivos de Neuro – Psiquiatria. Academia Brasileira de Neurologia - ABNEURO*, 63(2-A): 283 – 288, 2005.

SHETH S, BRITO R, MUKHERJEA D, RYBAK LP, RAMKUMAR V. Adenosine receptors: expression, function and regulation. *Int J Mol Sci*, 15(2): 2024 – 2052, 2014.

SIEGEL JM. The neurobiology of sleep. *Semin Neurol*, 29(4): 277 – 296, 2009.

SILVA BA, GROSS CT, GRÄFF J. The neural circuits of innate fear: detection, integration, action, and memorization. *Learn Mem*, 23(10): 544 – 555, 2016.

SOLDATOS CR, PAPARRIGOPOULOS TJ. Sleep physiology and pathology: pertinence to psychiatry. *Int Rev Psychiatry*, 17(4): 213 – 228, 2005.

SOUZA JC, PAIVA T, REIMÃO R. Sleep habits, sleepiness and accidents among truck drivers. *Arq Neuropsiquiatr*, 63(4): 925 – 930, 2005.

SPAETH AM, GOEL N, DINGES DF. The cumulative neurobehavioral and physiological effects of chronic caffeine intake: individual differences and implications for the use of caffeinated energy products. *Nutr Rev*, 72(1): 34 – 47, 2014.

STEPHENSON R, CARON AM, FAMINA S. Significance of the zero sum principle for circadian, homeostatic and allostatic regulation of sleep-wake state in the rat. *Physiol Behav*, 167: 35 – 48, 2016.

SUNIL MA, SUNITHA VS, ASHITHA A, NEETHU S, MIDHUN SJ, RADHAKRISHNAN EK, JYOTHIS M. Catechin rich butanol fraction extracted from *Acacia catechu* L. (a thirst quencher) exhibits immunostimulatory potential. *J Food Drug Anal*, 27(1):195 – 207, 2019.

SWEENEY MM, MEREDITH SE, EVATT DP, GRIFFITHS RR. Effects of caffeine on alcohol reinforcement: beverage choice, self-administration, and subjective ratings. *Psychopharmacology*, 234(5): 877 – 888, 2017.

TAIWO AE, LEITE FB, LUCENA GM, BARROS M, SILVEIRA D, SILVA MV, FERREIRA VM. Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) extract in rats: Influence of administration and gender. *Indian J. Pharmacol*, 44: 189 – 192, 2012.

TEMPLE JL, BERNARD C, LIPSHULTZ SE, CZACHOR JD, WESTPHAL JA, MESTRE MA. The safety of ingested caffeine: a comprehensive review. *Front Psychiatry*, 8: 80 – 85, 2017.

TOOSI H, DEL CID-PELLITERO E, JONES BE. GABA receptors on orexin and melanin-concentrating hormone neurons are differentially homeostatically regulated following sleep deprivation. *eNeuro*, 3(3). pii: ENEURO.0077-16, 2016.

TREIT D, ROBINSON A, ROTZINGER S, PESOLD C. Anxiolytic effects of serotonergic interventions in the shock-probe burying test and the elevated plus-maze test. *Behav Brain Res*, 54(1): 23 – 34, 1993.

VANINI G. Sleep deprivation and recovery sleep prior to a noxious inflammatory insult influence characteristics and duration of pain. *Sleep*, 39(1): 133 – 142, 2016.

VIJAYAN VK. Morbidities associated with obstructive sleep apnea. *Expert Rev Respir Med*, 6(5): 557 – 566, 2012.

VOLLERT C, ZAGAAR M, HOVATTA I, TANEJA M, VU A, DAO A, LEVINE A, ALKADHI K, SALIM S. Exercise prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: potential role of oxidative stress mechanisms. *Behav Brain Res*, 224(2): 233 – 240, 2011.

WADHWA M, CHAUHAN G, ROY K, SAHU S, DEEP S, JAIN V, KISHORE K, RAY K, THAKUR L, PANJWANI U. Caffeine and modafinil ameliorate the neuroinflammation and anxious behavior in rats during sleep deprivation by inhibiting the microglia activation. *Front Cell Neurosci*, 12: 49 – 56, 2018.

WANG WT, LEE P, HUI D, MICHAELIS EK, CHOI IY. Effects of ethanol exposure on the neurochemical profile of a transgenic mouse model with enhanced glutamate release using in vivo 1H MRS. *Neurochem Res*, 1 – 14, 2018.

WANG YQ, LI R, WANG DR, CHERASSE Y, ZHANG Z, ZHANG MQ, LAVIELLE O, MCEOWN K, SCHIFFMANN SN, DE KERCHOVE D'EXAERDE A, QU WM, LAZARUS M, HUANG ZL. Adenosine A<sub>2A</sub> receptors in the olfactory bulb suppress rapid eye movement sleep in rodents. *Brain Struct Funct*, 222(3): 1351 – 1366, 2017.

WANG YZ, ZHANG FS. Circadian rhythm of serum erythropoietin in obstructive sleep apnea/hypoventilation syndrome]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 84(16): 1379 – 1380, 2004.

WOODEN JI, PIDO J, MATHEWS H, KIELTYKA R, MONTEMAYOR BA, WARD CP. Sleep deprivation impairs recall of social transmission of food preference in rats. *Nat Sci Sleep*, 6: 129 – 133, 2014.

World Health Organization – WHO. Global status report on alcohol and health 2015. Geneva: WHO, 2015.

WU JY, PRENTICE H. Role of taurine in the central nervous system. *J Biomed Sci*, 17(1): S1 - S10, 2010.

ZAGAAR M, ALHAIDER I, DAO A, LEVINE A, ALKARAWI A, ALZUBAIDY M, ALKADHI K. The beneficial effects of regular exercise on cognition in REM sleep deprivation: behavioral, electrophysiological and molecular evidence. *Neurobiol Dis*, 45(3): 1153 – 1162, 2012.

ZAGAAR M, LEVINE A, ALHAIDER I, ALKADHI K. Regular exercise prevents sleep deprivation associated impairment of long-term memory and synaptic plasticity in the CA1 area of the hippocampus. *Sleep*, 36(5): 751 – 761, 2013.

ZAMIGNANI DR, BANACO RA. An analytical-behavioral panorama on the anxiety disorders. *Rev Bras Ter Comp e Cogn*, 1: 77 – 92, 2005.

ZOU X, HUANG W, LU F, FANG K, WANG D, ZHAO S, JIA J, XU L, WANG K, WANG N, DONG H. The effects of Jiao-Tai-Wan on sleep, inflammation and insulin resistance in obesity-resistant rats with chronic partial sleep deprivation. *BMC Complement Altern Med*, 17: 165 – 172, 2017.

## ANEXOS



**Universidade de Brasília**  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 14 de dezembro de 2016.

**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto intitulado "INTERFERÊNCIA DE SUBSTÂNCIAS MODULADORAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA PRIVAÇÃO DE SONO.", UnBDoC n.º 66742/2016, sob responsabilidade da Professora Vânia Moraes Ferreira foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *Rattus norvegicus* (60 machos). A presente aprovação é válida pelo período de 15/12/2016 a 12/12/2020.



Prof. Dra. Paula Diniz Galera  
Coordenadora da CEUA - UnB



\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

## Effects of Caffeine on Behavioural and Cognitive Deficits in Rats

Melissa S. Assis<sup>1</sup>, Aluizio C. Soares<sup>1</sup>, Dirclei N. Sousa<sup>1</sup>, João Eudes-Filho<sup>1</sup>, Lílian Rosana F. Faro<sup>2</sup>, Fabiana P. Carneiro<sup>1</sup>,  
Mônica V. Silva<sup>1</sup>, Andrea B. Motoyama<sup>1</sup>, Greice Maria R. Souza<sup>1</sup>, Stéphanie Marchiori<sup>1</sup>, Nadyelle T. Lima<sup>1</sup>,  
Raphaël Boéchat-Barron<sup>1</sup> and Vania M. Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, Postgraduate Program in Medical Sciences, University of Brasília, Brasília, Brazil and <sup>2</sup>Department of Functional Biology and Health Sciences, Faculty of Biology, University of Vigo, Vigo, Spain

(Received 30 September 2016; Accepted 23 April 2018)

**Abstract:** There are many studies that have sought to find drug therapies to prevent harm arising from sepsis. Such studies have represented a progress in the support to septic patients and also in the development of new pharmacological alternatives. Our interest was to investigate the caffeine effect on sepsis behavioural and memory impairments. Male rats were anesthetized and the surgery was made to allow exposure of the caecum, which was then squeezed to extrude a small amount of faeces from the perforation site, which was later placed back into the peritoneal cavity. This procedure, which served to generate experimental sepsis, is herein referred to as caecum ligation and perforation (CLP). The caffeine (10 mg/kg) was administered by gavage route, once daily, during 7 or 14 consecutive days to investigate the effects of acute or subchronic caffeine treatment on long-term behavioural and cognitive deficits induced by CLP. On the last day, 1 h after caffeine administration, the animals were submitted to open-field, elevated plus maze (EPM), forced swimming and step-down inhibitory avoidance tests. The results showed that caffeine increased the percentage of open arm entries and open arm time in the EPM test, and reduced the immobility time when compared to the sham-operated group. The caffeine also increased the latency in the inhibitory avoidance test platform. Our results demonstrated that the caffeine improved behavioural changes and improved the neurocognitive deficits of sepsis-surviving animals. It is possible that blockage of the adenosine receptors may be responsible for the results here observed.

Sepsis is defined as a systemic inflammatory response syndrome and is characterized by an extensive inflammation of the host to infection. Due to its severity, this type of infection is one of the leading causes of death in the Intensive Care Unit, with a mortality rate of over 40–50% [1,2]. According to the World Health Organization (WHO), sepsis is a major public health problem in Brazil, being regarded with high prevalence among hospitalized patients, emerging as a major cause of delayed hospital mortality, surpassing acute myocardial infarction and malignancy. Sepsis has high mortality in this country, reaching 65% of cases, while the world average is around 30–40%. Based on these results, a survey made by Progress study showed that mortality by sepsis in Brazil is higher than other countries such as India and Argentina [3].

Because of its severity and the economic and social impact that is generated in the world, this type of infection and its clinical implications deserve to be studied and knowledge on sepsis should be further investigated. Thus, with regard to the problems of public health, the severity of the septic syndrome has drawn much attention from multidisciplinary research. Such research not only aims to meet the demand of public hospitals to reduce expenses, but also seeks to find solutions and establish procedures to deal with the sequelae of organic responses to systemic infections that leads to sepsis [1,4,5].

The resulting conditions of sepsis, which disrupt the homeostasis of inflammatory cells, are associated with the factors that affect the individual defence cells. Thus, in its more

advanced stages, the septic syndrome disturbs the body immune system, involving the inflammatory mechanisms and the clotting cascade [5–7]. Furthermore, this inflammatory response can lead to impairment of the central nervous system (CNS), which can trigger severe behavioural and cognitive changes [2,8].

Given the severe psychocognitive changes that sepsis may trigger, a major focus of behavioural pharmacology research in this area involves seeking alternative therapies to treat psychobehavioural disorders (such as anxiety and depression) and cognitive deficits that characterize septic encephalopathy, one of the most serious manifestations observed in survivors to sepsis [9]. Among the patients who survive sepsis, about 70% of them develop some degree of acute brain dysfunction with persistent cognitive damage, compromising memory, dysfunction in intellectual and visual function, and an evolutionary prognosis for dementia [10]. Also, it is possible to observe a putative role of inflammatory mechanisms in the pathophysiology of depression, posttraumatic stress-related and anxiety disorders [11,12].

Studies conducted in the area of septic response and its possible therapies are quite comprehensive and end up involving several known pathways of the immune system and inflammatory response. Emphasis is being given to adenosinergic system, as this system acts as a homeostatic regulator of energy network, in that adenosine plays an important role in modulating immune functions, including inflammatory processes involving cytokines in the brain [13].

Under stressful conditions, adenosine levels are elevated to protect the tissue by interaction with G-coupled receptors. In recent years, research has shown that investigations focused

Author for correspondence: Vania M. Ferreira, University of Brasília, Postgraduate Program in Behavioral Sciences, Postgraduate Program in Medical Sciences, Campus Universitário Darcy Ribeiro, s/n, Asa Norte, Brasília, Distrito Federal 70910-900, Brazil (e-mail: vmmf@unb.br).

on the metabolism of adenosine seem to have a promising future for discoveries aimed at the treatment of sepsis. Adenosine has strong immunosuppressive effects, many of which are mediated by A2A receptors expressed on immune cells. The activation of adenosine A2A receptor inhibits the proliferation of T cells and production of proinflammatory cytokines, which contributes to the activation of the synthesis of anti-inflammatory cytokines, thereby suppressing the systemic response [14,15].

It is known that caffeine is involved directly to adenosine receptors, acting on different biological systems, especially the CNS [16,17]. It is one of the most widely consumed psychoactive substances in the world, appearing on various sources of beverages (e.g. guarana, tea, coffee and chocolate) as primary daily consumption and also in different types of food [18,19].

Caffeine is one of the components of many combinations of medications marketed for the relief of pain symptoms (e.g. headaches) and muscle relaxants [20]. Many studies have documented its effects as an alternative to behavioural and cognitive sequelae. However, although there are several studies in the literature showing its stimulant properties, no research so far has investigated its effects on central nervous changes resulting from sepsis. Studies about improving the sequelae of sepsis survivors are of great value, especially when there is the possibility of being an easily acceptable social substance. Thus, the aim of the work described herein was to evaluate the effects of caffeine on behavioural and cognitive functions of male rats subjected to experimental sepsis.

#### Material and Methods

**Animals.** Adult male Wistar rats, 2.5 months old, 300 g, provided by the animal facility of the College Sena Aires (Valparaíso de Goiás-GO, Brazil), were housed in 5 per group in a cage with food and water available *ad libitum* and were maintained on a 12-hr light/dark cycle (lights on at 7:00 a.m.) under controlled temperature ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) and humidity (40–50%). The animals were allowed to adapt to the laboratory conditions for at least 1 week before the behavioural assessment. All procedures used in this study complied with the guidelines on animal care of the UNB Ethics Committee on the Use of Animals (protocol number 33880/2009) which follows the 'Principles of laboratory animal care'.

**Caecal ligation and perforation surgery.** The animals were subjected to Caecal ligation and perforation (CLP) as previously described [21–23]. Briefly, rats were anaesthetized with a mixture of ketamine (80 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg), given intraperitoneally. Under aseptic conditions, a 2-cm midline laparotomy was performed to allow exposure of the caecum with the adjoining intestine. The caecum was tightly ligated with a 2.0-silk suture at its base, below the ileocaecal valve, and was perforated once with a 14-gauge needle. The caecum was then gently squeezed to extrude a small amount of faeces from the perforation site, returned to the peritoneal cavity, and the laparotomy was closed with 4.0-silk sutures. Animals were resuscitated with normal saline (50 ml/kg subcutaneously) immediately after CLP. All animals were returned to their home cages with free access to food and water. In the sham-operated group, the rats were submitted to all surgical procedures but the caecum was neither ligated nor perforated. After surgery, the sepsis group received 'basic support' (3 mg/kg gentamycin and 25 mg/kg clindamycin intraperitoneal route for 3 days).

**Caffeine treatment.** Caffeine (Sigma-Aldrich, St Louis, Missouri, USA) was dissolved in NaCl 0.9% (saline). The control solution consisted of saline (vehicle). The caffeine dose was administered by gavage route in a volume of 10 mg/kg of body-weight once daily during 7 or 14 consecutive days. Considering previous results from our laboratory, the dose of 10 mg/kg was the most effective in the behavioural responses. The time of 7 and 14 days was adopted as the time in which it would have discarded the most critical period of the infectious process through the use of caffeine/antibiotics. All the behavioural experiments were carried out 1 hr after the last administration. The present treatment schedule was designed to investigate the effects of acute or subchronic caffeine treatment on long-term behavioural and cognitive deficits induced by CLP.

**Experimental groups.** In a first study (study 1), we evaluated the effects of treatment with caffeine (10 mg/kg, gavage) during 14 consecutive days (1 week before and 1 week after sepsis induction) on the behavioural and cognitive deficits induced by sepsis. Hence, four groups of rats ( $n = 10$  survival rats per group) were studied: (i) saline plus sham surgery, (ii) caffeine (10 mg/kg) plus sham surgery, (iii) saline plus sepsis and (iv) caffeine (10 mg/kg) plus sepsis. In a separate study (study 2), we addressed the effects of post-surgery treatment with caffeine (10 mg/kg, gavage) during 7 consecutive days (caffeine treatment started at 24 hr after sepsis induction) in the behavioural and cognitive deficits induced by sepsis. Hence, four groups of rats ( $n = 10$  survival rats per group) were studied: (i) sham surgery plus saline, (ii) sham surgery plus caffeine (10 mg/kg), (iii) sepsis plus saline and (iv) sepsis plus caffeine (10 mg/kg). Survival rates were 100% in the sham-operated groups and 50% in the sepsis groups that received vehicle solution, which are in accordance with previous literature [24]. The repeated caffeine treatment (regardless of the schedule of administration utilized in the studies 1 and 2) did not affect the survival rate in sepsis groups.

**Behavioural tests.** On the day of the experiments, the animals were acclimatized in a sound-isolated room under low-intensity light (12 lux) for at least 1 hr before the experimental procedures, which were carried out between 08:00 and 12:00 to avoid circadian influence and any kind of stress that could have interfered with the animals' behaviour. The behavioural tests were conducted in independent groups of animals by an experienced experimenter who was unaware of the experimental group of the animals tested. After each trial, the apparatus was cleaned with ethanol solution (10% v/v) and dried with paper towels to avoid odour impregnation [21–23].

**Open-field test.** The animals were individually placed in the centre of a wooden arena ( $60 \times 60 \times 35$  cm<sup>3</sup>) divided into nine quadrants ( $20 \times 20$  cm<sup>2</sup>) to evaluate the number of sections crossed by the animal during 5 min. Immediately after the animal was placed in the centre of the arena, its movements were scored. Locomotor activity was considered only when the animal placed its four paws into one square [21–23].

**Elevated plus maze test.** The elevated plus maze was used on the basis of its documented ability to detect both anxiolytic- and anxiogenic-like drug effects in rats [25]. Briefly, the apparatus was made of wood covered with impermeable formica and was placed 50 cm above the floor. The four arms were 50 cm long and 10 cm wide. Two opposite arms were surrounded by walls (40 cm high, closed arms), while the other two were devoid of enclosing walls (open arms) surrounded by a 1-cm high Plexiglas edge. The four arms were connected by a central platform ( $10 \times 10$  cm<sup>2</sup>). Each rat was placed in the centre of the maze facing a closed arm. Whenever a rat placed all four paws onto an arm, one entry was recorded. The animals were observed for a 5-min, test period and the anxiogenic-like

effects were defined as a decrease in the proportion of open arm entries divided by the total number of arm entries, and a decrease in the time spent on open arms relative to the total time spent on both arms. The total number of closed arm entries was utilized as a measure of locomotor activity.

**Forced swimming test.** A modified version of the forced swimming (FS) test described by Porsolt *et al.* [26,27] was used. The animal was placed in a glass cylinder (30 cm in diameter and 50 cm high) containing 40 cm of water at  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  for 5 min., forcing the rat to either swim or float. The time spent immobile during the last 3 min. of the test was recorded. Immobility occurred when the animal stopped swimming and floated, making only small limb movements necessary to keep its head above water. After 5 min., the animal was removed from the apparatus and dried.

**Inhibitory avoidance task.** This apparatus was an acrylic box ( $50 \times 25 \times 25 \text{ cm}^3$ ), whose floor consisted of parallel stainless-steel bars (1 mm diameter) spaced 1 cm apart. A platform (7 cm wide  $\times$  2.5 cm high) was placed on the floor against the left wall. The animals were placed on the platform, and their latency to step down on the grid with the four paws was measured with an automatic device. The animals were submitted to the inhibitory avoidance task using a protocol similar to that described previously [21,23,28]. During training sessions, immediately after stepping down on the grid, the animals received a 0.4-mA, 1.0-sec. scrambled foot shock. After this procedure, the animals received saline or caffeine by gavage. During test sessions, no foot shock was administered and the step-down latency (maximum 180 sec.) was used as measure of retention. For evaluation of memory acquisition, saline or caffeine was administered prior to all these procedures, 1 hr before training sessions. To evaluate short-term memory (STM) and long-term memory (LTM), test sessions were performed 1.0 and 24 hr after training, respectively.

**Statistical analysis.** Data for inhibitory avoidance task are shown as median (interquartile range) of step-down latencies. Comparisons between groups were performed by Kruskal-Wallis nonparametric test followed by Dunn's multiple comparison test using the Graph Pad Prism 4.1 software (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA). The rest of data was checked by mean  $\pm$  S.E.M., and the statistical analysis was carried out using one-way analysis of variance (ANOVA), following multiple post hoc comparisons of Newman-Keuls test. The accepted level of significance for the tests was  $p \leq 0.05$ .

## Results

In the open-field test, the animals' locomotion was evaluated considering the total number of quadrants traversed in a period of 5 min. Caffeine showed no statistical difference compared to controls that were administered with 2 weeks [ $F_{(3,39)} = 1.406$ ,  $p = 0.2568$ ] or with 1 week [ $F_{(3,39)} = 2.735$ ,  $p = 0.0578$ ], as demonstrated in fig. 1.

In the EPM test (fig. 2), the animals that survived sepsis showed significant differences compared to controls and when caffeine was administered with 2 weeks (%OAE: [ $F_{(3,39)} = 9.728$ ],  $p < 0.0001$ ); %TBA: [ $F_{(3,39)} = 9.680$ ],  $p < 0.0001$ ) or with 1 week (%OAE: [ $F_{(3,39)} = 5.805$ ],  $p < 0.0024$ ); %OAT [ $F_{(3,39)} = 3.481$ ],  $p = 0.0256$ ). No change was observed with two [ $F_{(3,39)} = 1.778$ ],  $p < 0.1689$ ] or 1 week [ $F_{(3,39)} = 2.181$ ],  $p = 0.1071$ ] of administration with caffeine.

In the forced swimming test, the animals were evaluated for their ability to achieve the minimum movements necessary to keep properties in water (fig. 3). One-way ANOVA detected statistical difference between the groups with 2 weeks [ $F_{(3,39)} = 4.321$ ],  $p = 0.0106$ ] and with 1 week [ $F_{(3,39)} = 9.410$ ],  $p < 0.0001$ ] of administration of caffeine.

The inhibitory avoidance results showed that the animals that survived the experimental sepsis showed a loss of both the acquisition and retention of memory, demonstrated by decreased residence time of the animals on the platform (figs 4 and 5). Caffeine, in turn, increased the time of the animals that survived sepsis in platform with similar response observed in the controls animal sham + caffeine ( $p \leq 0.05$ ), regardless of treatment time.

## Discussion

The results showed that the psychostimulant effects of caffeine can reduce levels of anxiety, depression and impairment of STM and LTM of animals that have survived the experimental sepsis without any interference on locomotor activity, suggesting that adenosinergic receptors should probably contribute, in some way, to the obtained results.

The adenosinergic system produces an effect of high complexity and has multifaceted properties in the CNS, exerting its influence on neuronal communication, so that their ligands, as an adenosine, for example, act as a universal modulator, being the main molecule involved in the co-ordination, control and synchronization of release of many synaptic mediators [16]. Under normal physiological conditions, levels of adenosine in the tissue microenvironment are relatively small and certainly less than the sensitivity threshold of the immune cells [29]. These results could probably be influencing the responses observed in this study.

In humans, several studies have shown that patients who survive sepsis have emotional symptoms such as anxiety and depression [30]. The prevalence and severity of these affective disorders in ICU survivors vary from 10 to 58% [31]. Our results with experimental animals also showed suggestive symptoms of these psychobehavioural and cognitive status. The surviving sepsis rats showed anxiety levels suggestive of anxiogenic responses which were characterized by reduced %OAE and %OAT.

Even though in the present study, neither of the schedules of caffeine treatment utilized affected the survival rate in sepsis group (50%); caffeine, in turn, when administered for 2 weeks (1 week before and 1 week after surgical procedures), blocked this anxiety response. These results appeared to be specific to the anxiolytic property, as the animals that survived sepsis increased the percentage of %OAE and %OAT without interference in locomotion test evaluated in the open field and neither in the frequency of EAE of the EPM. However, these effects were not observed when caffeine was administered only during a post-surgical procedures week.

Depression levels of the animals were also evaluated in the forced swimming test. Sepsis survivor animals displayed



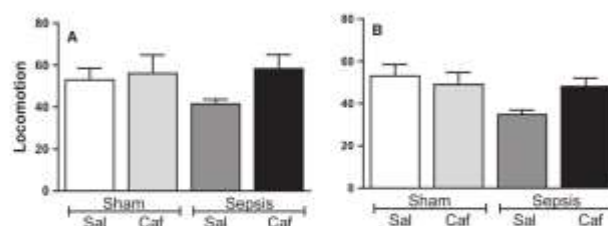


Fig. 1. Effects of caffeine (10 mg/kg) given to rats during (A) 1 week before surgical treatment and 1 week after treatment or (B) 1 week after surgical procedures. The number of displacements was evaluated in the open-field test for 5 min. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 10 animals per group (ANOVA, Newman-Keuls test). Sal = saline; Caf = caffeine.

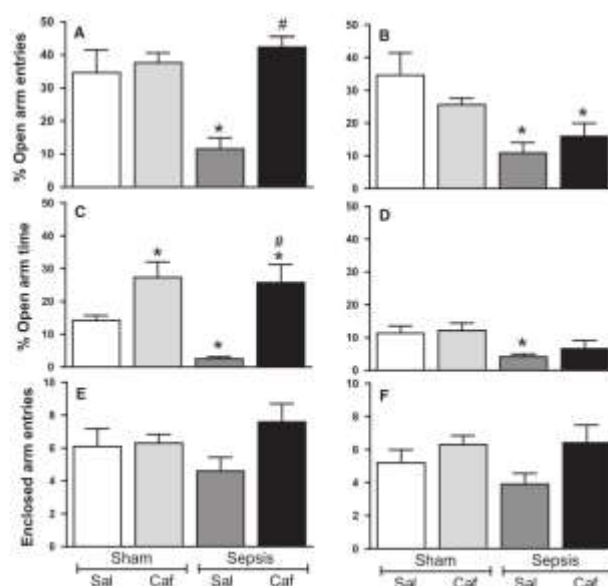


Fig. 2. Effects of caffeine (10 mg/kg) on anxiety behaviour of rats evaluated in the elevated plus maze test (EPM). Panels on the left represent the results of caffeine administered during 1 week before and 1 week after surgical procedures. Right panels represent the results of caffeine administered during 1 week after surgical procedures. (A, B) represent the percentage of entries in the open arms of the EPM; (C, D) represent the percentage of time spent in the open arms of the EPM; (E, F) represent the frequency of animals in closed arms. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 10 animals per group. \* $p < 0.05$  represents statistical difference from respective controls group - Sham + Sal, # $p < 0.05$  represents statistical difference from Sepsis + Sal group (ANOVA, Newman-Keuls test). Sal = saline; Caf = caffeine.

increased immobility time in this test, while caffeine prevented this response both when administered as an acute treatment regimen or under a subchronic treatment. These results corroborate those observed by Taon *et al.* [32] that have shown similar results in their animals with 10 days after the CLP.

Comin *et al.* [33] also evaluated the parameters suggestive of depression in sepsis survivor rats. Therein, after the third day of surgery, the animals were treated with imipramine (10 mg/kg) for 14 days. On the 17th day, the animals were

anaesthetized and blood was taken for analysis of the corticosterone and adrenocorticotropic hormone (ACTH). The adrenal gland and hippocampus were isolated and weighed, and hippocampus was used to determine the levels of neutrophil-derived factors in the brain. It was observed that septic mice had increased levels of corticosterone and ACTH and decreased levels of BDNF in the hippocampus. Treatment with imipramine reversed all parameters evaluated, suggesting that the animals presented evidence of depression, with consequent

## CAFFEINE ON BEHAVIOURAL AND COGNITIVE DEFICITS

439

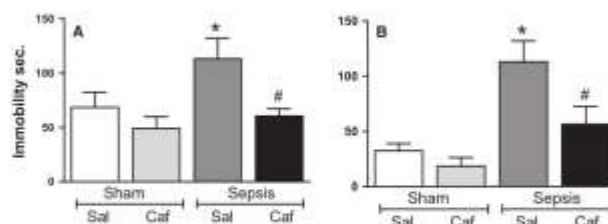


Fig. 3. Effects of caffeine (10 mg/kg) given to rats during (A) 1 week before and 1 week after surgical procedures or (B) 1 week after surgical procedures. The immobility time of the animals was evaluated in the forced swimming test for 3 min. (180 sec.). Each bar represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 10 animals per group. \* $p \leq 0.05$  represents statistical difference from respective controls group - Sham + Sal, # $p \leq 0.05$  represents statistical difference from Sepsis + Sal group (ANOVA, Newman-Keuls test). Sal = saline; Caf = caffeine.

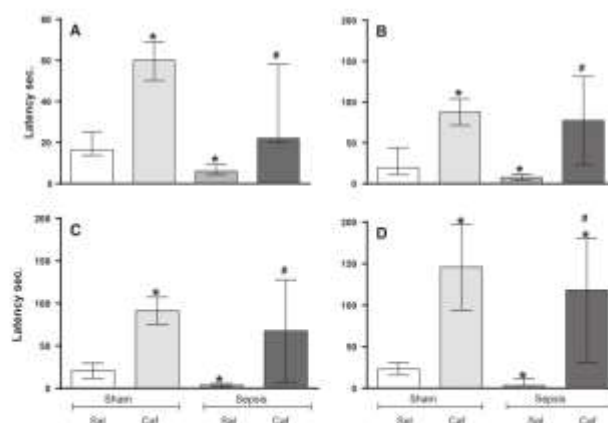


Fig. 4. Effects of caffeine (10 mg/kg) given to rats for 1 week before and 1 week after surgical procedures. The experiment was made in the inhibitory avoidance test for 3 min. (180 sec.) for the evaluation of the acquisition (A, B) and retention (C, D) of the short-term (STM - A and C) and long-term memory (LTM - B and D). The data are represented with the medians (ranges interquartile) of latency on the platform. \* $p \leq 0.05$  represents statistical difference from respective controls group - Sham + Sal, # $p \leq 0.05$  represents statistical difference from Sepsis + Sal group (Kruskal-Wallis, Mann-Whitney test). Sal = saline; Caf = caffeine.

changes in the hypothalamic-pituitary adrenal axis and in the levels of BDNF in the hippocampus.

In the last five decades, the psychopharmacology of depression has evolved very rapidly. According to the monoamine theory of depression, depressive disorders may be the result of low concentrations of monoamines such as norepinephrine, serotonin and dopamine in brain areas. These various neurotransmitters are also involved in a variety of behavioural and physiological changes such as anxiety, amnesia, motor incoordination, depression, mood and seizure [34,35]. Our results suggest that caffeine could probably have raised the level of monoamines, which favoured the antidepressant responses observed. This hypothesis, considered here, is founded on the basis of findings of adenosine probably acting on the same targets of the above-mentioned neurotransmitters, considering that when adenosine levels are reduced indicate a relation with

the functional impairment caused by this disorder, which could demonstrate a potential relation in worsening of symptoms [36].

A recent study evaluated patients who survived sepsis for 3 months after being admitted to intensive care units. It was observed that 80% of them had some degree of cognitive impairment which decreased over the course of a year. The main alteration observed was memory impairment [37]. With regard to this memory aspects, caffeine alters positively the cognitive function [38].

The interference of caffeine in adenosinergic system, especially in the hippocampus, is due to high concentration of adenosine receptors A1 in this area. Probably, this type of receptors contributes to the increase in the potentiation of certain types of memories resulting from caffeine [39]. Based on this information, the interest also lay on evaluating the

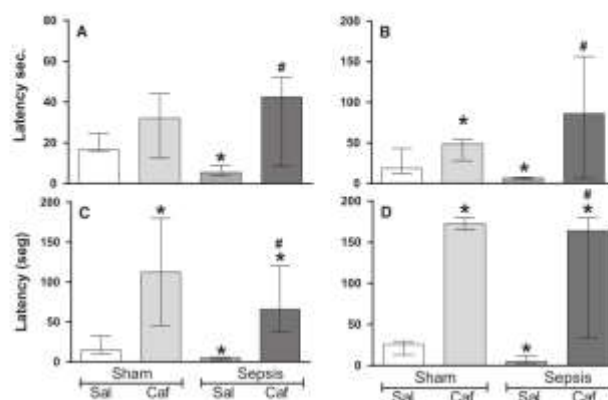


Fig. 5. Effects of caffeine (10 mg/kg) given to rats for 1 week after the surgical procedure that induced sepsis. The experiment was made in the inhibitory avoidance test for a period of 3 min. (180 sec.) for the evaluation of the acquisition (A, B) and retention (C, D) of the short-term (STM – A and C) and long-term memory (LTM – B and D). Data are represented with the medians (ranges interquartiles) latency on the platform. \* $p \leq 0.05$  represents statistical difference from respective controls group – Sham + Sal. # $p \leq 0.05$  represents statistical difference from Sepsis + Sal group (Kruskal-Wallis, Mann-Whitney test). Sal = saline; Caf = caffeine.

acquisition and retention of memory in rats that underwent surgical procedures. The rats surviving sepsis showed losses in both the acquisition and retention of STM and LTM, which was characterized by the reduction in the latency in the inhibitory avoidance test platform when the animals were evaluated in the maximum time of 180 sec. Caffeine prevented the deleterious responses of cognitive deficits in sepsis survivors' rats. Regardless of the time of administration of this psychoactive, the sham + caffeine animals spent more time on the platform than the sham animals that received saline.

Several other studies have also shown positive effects of caffeine in healthy animals. However, Angelucci *et al.* [40] observed that acute administration of low dose of the caffeine only improved the memory retention, but not the acquisition of in rats tested in the Morris water maze. In a series of studies using transgenic rats, caffeine also protected and reversed memory loss in Alzheimer's disease and its pathologies [41]. Furthermore, caffeine and caffeinated (but not decaffeinated) coffee affect plasma levels of beta-amyloid protein in rats and humans with this disease [42]. These studies concluded that the clinical trials are deficient to test the use of caffeine and caffeinated coffee, but its consumption is considered safe, low-cost and an effective therapy against Alzheimer's disease [41].

The acute intraperitoneal treatment with caffeinated coffee, but not with decaffeinated coffee or caffeine alone increased plasma levels of stimulating factors of the granulocyte colony (FCG), interleukins 6 and 10 (IL 6 and IL 10). Only these factors increased in plasma, an observation that correlated with increased cognitive performance followed by long-term treatment with decaffeinated coffee. It was then suggested that another component of coffee potentiates caffeine to increase plasma levels of FCG, resulting in multiple therapeutic actions of coffee against Alzheimer's disease [43].

In contrast to the results observed in this study, other authors have shown that caffeine does not appear to be responsible for the neuroprotective effects that justify the cognitive behaviour, as these can be assigned to other bioactive components such as polyphenols present in coffee, which probably can complement or enhance the effects of caffeine in the production of their beneficial actions [43]. These observations were based on a study in which a diet containing 0.165% coffee (3 cups) and 0.55% (10 cups) given to rats improved the tasks of working memory in the Morris water maze compared to rats fed controlled diets [44].

Caffeine can improve the performance of their consumers on simple tasks, but it is unclear whether it can affect complex tasks or can interfere with alertness and orientation. Given this lack of consensus, a controlled double-blind placebo study examined the influence of this psychoactive in healthy adults. It was noted that caffeine improved the performance of both the complex as simple tasks. Furthermore, there was no conclusive evidence that caffeine's effects were dose-related, or if the influence of the habitual uses itself was involved in performance [45].

Given the close relationship between caffeine and adenosine receptors in neuromodulation, there is a possibility that their consumption throughout life may protect against cognitive deficits associated with sequelae of survivors of sepsis [44]. Muenzer *et al.* [46] undertook an animal study to investigate the modulation of the immunosuppressive phase of sepsis, they used a two-step model for sepsis, or the CLP, followed by the induction of the pneumonia-causing *Pseudomonas aeruginosa*. It was observed that apoptosis constitutes one of the key mechanisms in the pathogenesis of sepsis leading to extensive death of lymphocytes and dendritic cells, thereby contributing to the immunosuppression that characterizes septic disorder.

The current state of knowledge of the adenosinergic neuro-modulator and its antagonists such as caffeine system paves the way for future research in the area of systemic infectious diseases. Although there are still open questions, it appears to be a great potential for exploring the role of receptors in adenosinergic sequelae resulting from sepsis, to develop strategies for prevention and/or treatment for this setting of systemic infection. This is based on the fact that in sepsis, the extracellular adenosine levels are in high quantities. One study hypothesis to reduce adenosine levels is aimed at adenosine receptor signalling  $A_{2A}$ .

### Conclusions

The knowledge gathered on the impact of caffeine in systemic infectious diseases leads to the conclusion that acute or sub-chronic moderate consumption of caffeine dose (10 mg/kg) appears to have prophylactic and/or palliative benefits. Researches involving the adenosinergic receptors by interference of caffeine are a useful tool to investigate the pharmacological brain diseases. The current state of the art in the field of our research aim lies in understanding the targets responsible for the deleterious consequences of sepsis, especially septic encephalopathy. As such, there is still room for further research, particularly in molecular and cellular processes involving brain dysfunction.

### References

- Kumar V. Targeting macrophage immunometabolism: dawn in the darkness of sepsis. *Int Immunopharmacol* 2018;**58**:173–85.
- Sarhanović M, Veljović M, Jevđić J, Popović N, Džonđević D, Radaković S. Immunoinflammatory response in critically ill patients: severe sepsis and/or trauma. *Mediators Inflamm* 2013;**2013**:362793.
- World Health Organization (WHO). mhGAP Intervention Guide for Mental, Neurological and Substance Use Disorders in Non-Specialized Health Settings: Mental Health Gap Action Programme (mhGAP). WHO, Geneva, 2010.
- Kingsley SM, Bhat BV. Differential paradigms in animal models of sepsis. *Curr Infect Dis Rep* 2016;**18**:26.
- Yao YM, Luan YY, Zhang QH, Sheng ZY. Pathophysiological aspects of sepsis: an overview. *Methods Mol Biol* 2015;**1237**:5–15.
- Galen BT, Sankey C. Sepsis: an update in management. *J Hosp Med* 2015;**10**:746–52.
- Gheorghita V, Barbu AE, Gheorghiu ML, Cărunta FA. Endocrine dysfunction in sepsis: a beneficial or deleterious host response? *Germi* 2015;**5**:17–25.
- Singer BH, Newstead MW, Zeng X, Cooke CL, Thompson RC, Singer K *et al*. Cecal ligation and puncture results in long-term central nervous system myeloid inflammation. *PLoS One* 2016;**11**:e0149136.
- Pytel P, Alexander JJ. Pathogenesis of septic encephalopathy. *Curr Opin Neurol* 2009;**22**:283–7.
- Sheth S, Brito R, Mukherjee D, Rybak LP, Ramkumar V. Adenosine receptors: expression, function and regulation. *Int J Mol Sci* 2014;**15**:2024–52.
- Lasselin J, Elsenbruch S, Lekander M, Axelsson J, Karshikoff B, Grigoleit JS *et al*. Mood disturbance during experimental endotoxaemia: predictors of state anxiety as a psychological component of sickness behavior. *Brain Behav Immun* 2016;**57**:30–7.
- Prescott HC, Angus DC. Enhancing recovery from sepsis: a review. *JAMA* 2018;**319**:62–75.
- Di Virgilio F, Vuerich M. Purinergic signaling in the immune system. *Auton Neurosci* 2015;**191**:117–23.
- Bao R, Shui X, Hou J, Li J, Deng X, Zhu X *et al*. Adenosine and the adenosine A2A receptor agonist, CGS21680, upregulate CD39 and CD73 expression through E2F-1 and CREB in regulatory T cells isolated from septic mice. *Int J Mol Med* 2016;**38**:969–75.
- Sivak KV, Vasin AV, Egorov VV, Tsevtikov VB, Kozmich NN, Savina VA *et al*. Adenosine A2A receptor as a drug target for treatment of sepsis. *Mol Biol (Mosk)* 2016;**50**:231–45.
- Azab L, Khan F, Lam H. Epidemiologic evidence of a relationship between tea, coffee, or caffeine consumption and cognitive decline. *Adv Nutr* 2013;**1**:115–22.
- Szopa A, Poleszak E, Wyska E, Serefko A, Wośko S, Wład A *et al*. Caffeine enhances the antidepressant-like activity of common antidepressant drugs in the forced swim test in mice. *Nauyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2016;**389**:211–21.
- Butt MS, Sultan MT. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2011;**51**:363–73.
- Fredholm LM, Walker WC, Cifu DX, Ochs AL, Lew HL. Sensor-integrative dysfunction underlying vestibular disorders after traumatic brain injury: a review. *J Rehabil Res Dev* 2012;**49**:985–94.
- Marin MT, Zancheta R, Faro AH, Possi AP, Cruz FC, Planeta CS. Comparison of caffeine-induced locomotor activity between adolescent and adult rats. *Eur J Pharmacol* 2011;**660**:363–7.
- Eudes-Filho J, Silveira D, Soares AC, Carneiro FP, Assis MS, Leite FB *et al*. Effects of lemon balm (*Melissa officinalis*) on behavioral deficits and memory impairment of rats surviving sepsis. *J Med Plant Res* 2017;**11**:153–60.
- Leite FB, Prediger RD, Silva MV, de Sousa JB, Carneiro FP, Gasbarral A *et al*. Role of nicotine on cognitive and behavioural deficits in sepsis-surviving rats. *Brain Res* 2013;**1507**:74–82.
- Soares AC, Carneiro FP, Faro LRF, Silva MV, Eudes-Filho J, Assis MS *et al*. Therapeutic property of propolis extract in systemic infection induced in rats. *Int J Dev Res* 2017;**6**:13381–7.
- Ritter C, Andrade M, Frota Junior ML, Bonatto F, Pinho RA, Polydoro M *et al*. Oxidative parameters and mortality in sepsis induced by cecal ligation and perforation. *Intensive Care Med* 2003;**29**:1782–9.
- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 1985;**14**:149–67.
- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977;**266**:730–2.
- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. "Behavioural despair" in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur J Pharmacol* 1978;**3**:291–4.
- Lucena GM, Prediger RD, Silva MV, Santos SN, Silva JF, Santos AR *et al*. Ethanolic extract from bulbs of *Cipura paludosa* reduced long-lasting learning and memory deficits induced by prenatal methylmercury exposure in rats. *Dev Cogn Neurosci* 2013;**3**:1–10.
- Longhi MS, Robson SC, Bernstein SH, Serra S, Deaglio S. Biological functions of ectoenzymes in regulating extracellular adenosine levels in neoplastic/inflammatory disease states. *J Mol Med (Berl)* 2013;**91**:165–72.
- Jones C, Griffiths RD. Mental and physical disability after sepsis. *Minerva Anesthesiol* 2013;**79**:1306–12.
- Jackson KC II, St Onge EL. Antidepressant pharmacotherapy: considerations for the pain clinician. *Pain Pract* 2003;**2**:135–43.
- Tuon T, Aguiar AS Jr, Soares FS, da Rocha LG, Silveira PC, Pinho RA. The effect of n-acetylcysteine and deferoxamine on exercise-induced oxidative damage in striatum and hippocampus of mice. *Neurochem Res* 2008;**5**:729–36.

- 33 Comin CM, Omar J, Cassol O Jr, Constantino C, Petronilho F, Constantino LS *et al.* Depressive-like parameters in sepsis survivor rats. *Neurotox Res* 2011;**17**:279–86.
- 34 Duman RS. Neurobiology of stress, depression, and rapid acting antidepressants: remodeling synaptic connections. *Depress Anxiety* 2014;**31**(4):291–6.
- 35 Haase J, Brown E. Integrating the monoamine, neurotrophin and cytokine hypotheses of depression—a central role for the serotonin transporter? *Pharmacol Ther* 2015;**147**:1–11.
- 36 Gabert C, Jacintho Moritz CE, Vasconcelos-Moreno MP, Qsados Dos Santos BTM, Sartori J, Fijman A *et al.* Peripheral adenosine levels in euthymic patients with bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2016;**246**:421–6.
- 37 Álvaro-Meca A, Jiménez-Sousa MA, Micheloud D, Sánchez-Lopez A, Heredia-Rodríguez M, Tamayo E *et al.* Epidemiological trends of sepsis in the twenty-first century (2000–2013): an analysis of incidence, mortality, and associated costs in Spain. *Popul Health Metr* 2018;**16**:4.
- 38 Chen JF. Adenosine receptor control of cognition in normal and disease. *Int Rev Neurobiol* 2014;**119**:257–307.
- 39 Borota D, Murray E, Keceli G, Chang A, Watabe JM, Ly M *et al.* Post-study caffeine administration enhances memory consolidation in humans. *Nat Neurosci* 2014;**17**:201–3.
- 40 Angelucci ME, Cesário C, Hiroi RH, Rosalen PL, Cunha C. Effects of caffeine on learning and memory in rats tested in the Morris water maze. *Braz J Med Biol Res* 2002;**35**:1201–8.
- 41 Arendash GW, Cao C. Caffeine and coffee as therapeutics against Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2010;**20**:117–26.
- 42 Cao C, Cirrito JR, Lin X, Wang L, Verges DK, Dickson A *et al.* Caffeine suppresses amyloid-beta levels in plasma and brain of Alzheimer's disease transgenic mice. *J Alzheimers Dis* 2009;**17**:681–97.
- 43 Cao C, Wang L, Lin X, Mamcarz M, Zhang C, Bai G *et al.* Caffeine synergizes with another coffee component to increase plasma GCSE: linkage to cognitive benefits in Alzheimer's mice. *J Alzheimers Dis* 2011;**25**:323–35.
- 44 Shukitt-Hale B, Miller GM, Chu YF, Lyle BJ, Joseph JA. Coffee, but not caffeine, has positive effects on cognition and psychomotor behavior in aging. *Age (Dordr)* 2013;**35**:2183–92.
- 45 Einöther SJ, Giesbrecht T. Caffeine as a attention enhancer: reviewing existing assumptions. *Psychopharmacology (Berl)* 2013;**225**:251–74.
- 46 Muenzer JT, Davis CG, Chang K, Schmidt RE, Dunne WM, Coopersmith CM *et al.* Characterization and modulation of the immunosuppressive phase of sepsis. *Infect Immun* 2010;**4**:1582–92.