



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE BEBIDA ENERGIZANTE NO  
COMPORTAMENTO DE RATOS PRIVADOS DE SONO**

**RAQUEL PINTO CALDEIRA ALMEIDA**

BRASÍLIA-DF

2018

**RAQUEL PINTO CALDEIRA ALMEIDA**

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE BEBIDA ENERGIZANTE NO  
COMPORTAMENTO DE RATOS PRIVADOS DE SONO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, da Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas em Saúde

**Orientador:** Prof. Dr. Carlos Eduardo Ventura Gaio dos Santos

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Vania Moraes Ferreira

BRASÍLIA-DF

2018

**RAQUEL PINTO CALDEIRA ALMEIDA**

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE BEBIDA ENERGIZANTE NO  
COMPORTAMENTO DE RATOS PRIVADOS DE SONO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas em Saúde

Aprovada em 20/02/2018

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Prof. Dr. Raphael Boechat Barros  
(Membro titular)  
Universidade de Brasília

---

Profa. Dra. Lilian Rosana Ferreira Faro  
(Membro externo)  
Universidade de Vigo - Espanha

---

Profa. Dra. Patrícia Santos  
Membro suplente  
Universidade do Contestado, Campus Concórdia (SC)

Brasília-DF  
2018

*Dedico esta Dissertação de Mestrado aos meus colegas de trabalho e profissão que me levaram a pensar sobre as várias formas de privação de sono.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que estando ao meu lado, iluminou e guiou meu caminho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Eduardo Gaio, que me deu a oportunidade de realizar este Mestrado. Sem ele, a possibilidade desse título neste momento seria inviabilizada.

Ao meu marido, Hécio, que sempre esteve ao meu lado, dando apoio que eu precisava e me ajudando sempre que possível.

À minha família e amigos, que me acompanharam nesse período, e compreenderam as várias ausências devido ao estudo e compromissos do mestrado. Com vocês ao meu lado eu tive força para vencer mais esse desafio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas (PPGCM) e ao Laboratório de Psicobiologia pela oportunidade de ter realizado esta pesquisa além de permitir o enriquecimento de meus conhecimentos intelectuais.

Minha gratidão eterna à Fabiana Botta Amaro, que apesar de ser uma amiga, foi minha conselheira nas horas mais difíceis, e me ajudou muito a trilhar neste caminho científico.

À minha co-orientadora, Prof Dra Vania Moraes Ferreira, que compartilhou seus ensinamentos comigo, e teve muita paciência no decorrer desse processo, sem ela essa pesquisa seria inviabilizada.

A minha equipe de apoio, em especial a veterinária Karina Krewer e aos alunos de iniciação científica Josélia Alves e Jonathan Rodrigues, meus mais sinceros agradecimentos.

*“Não seja escravo do seu passado. Mergulhe em mares grandiosos, vá bem fundo e nade até bem longe, e voltará com respeito por si mesmo, com um novo vigor, com experiência a mais que explicará e superará a anterior”.*

**Ralph Waldo Emerson**

## RESUMO

**Introdução:** O sono é uma necessidade básica para a sobrevivência humana e animal. A dificuldade em dormir, decorrente de diferentes causas, altera o bem-estar físico e mental, interferindo na qualidade de vida. Atualmente, alguns estimulantes são consumidos como uma maneira de reduzir a sonolência decorrente da privação do sono e, como consequência, reduzir os níveis de ansiedade e os déficits na aprendizagem e memória. No entanto, muitos são os resultados contraditórios a respeito dessa interação, cabendo nosso interesse nesta investigação. **Objetivo:** Investigar as alterações comportamentais e cognitivas provocadas pela privação de sono em ratos, sob efeito de energético. **Metodologia:** Foram utilizados 42 ratos Wistar, com 2 meses de idade, pesando em torno de 225 g, privados de sono por 24 h, em um modelo de plataforma múltipla. Os ratos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=7 cada): Controle (C), Privação de sono (PS), Bebida energética consumida 24h antes dos testes experimentais (BE<sub>24h</sub>), Bebida energética consumida imediatamente antes de iniciar as 24h de privação de sono (BE<sub>24h</sub>+PS), Bebida energética consumida 1h antes dos testes (BE<sub>1h</sub>), Bebida energética consumida 1h antes dos testes em animais que estavam 24 horas em privação do sono (PS+BE<sub>1h</sub>). A bebida energética (Red Bul®) foi administrada por gavagem (1,8 ml/kg). Os modelos experimentais utilizados foram campo aberto (atividade locomotora), labirinto em cruz elevado (LCE - ansiedade) e esQUIVA inibitória do tipo “step down” (aprendizagem/memória). **Resultados:** Observou-se que os animais privados de sono, reduziram as ambulações quando avaliados no teste do campo aberto e aumentaram nos braços fechados do LCE. No labirinto, observou-se que o grupo PS+BE<sub>1h</sub> foi capaz de aumentar a porcentagem de entradas e do tempo de permanência nos seus braços abertos, sem qualquer interferência na locomoção. Ao contrário, o grupo BE<sub>24h</sub>+PS aumentou, de forma significativa, a frequência de entradas nos braços fechados do labirinto. Ambos os regimes de tratamentos com BE foram capazes de aumentar a latência na plataforma da esQUIVA inibitória, sem qualquer interferência mnemônica intergrupos. A privação de sono interferiu na aprendizagem do animal mesmo quando usado bebida energética. **Conclusões:** As interferências decorrentes da privação do sono podem culminar com alterações nas ambulações dos animais, de tal forma a aumentar ou reduzir suas explorações de uma maneira dependente do teste experimental, sem sofrer interferência mediante o consumo de BE, pelo menos na dose aqui administrada. Entretanto, a mesma dose pode induzir efeito ansiolítico quando administrada 1h antes das avaliações comportamentais em ratos privados de sono, enquanto que quando administrado com 24h, induz efeito excitatório. Não foi observado qualquer alteração na aprendizagem/memória que possa justificar o efeito mnemônico da BE *per se*, no teste da esQUIVA inibitória, e o uso de BE não foi capaz de reverter as respostas de aprendizagem/memória na PS.

**Palavras-Chave:** Bebida Energética, Privação de Sono, Ansiedade, Memória, Locomoção.

## ABSTRACT

**Introduction:** Sleep is a basic need for human and animal survival. The difficulty in sleeping, due to different causes, alters the physical and mental well-being, interfering in the quality of life. Currently, some stimulants are consumed to reduce drowsiness due to sleep deprivation and, therefore, reduce anxiety levels and learning and memory deficits. However, there are many contradictory results regarding this interaction, fitting our interest in this investigation. **Aim of this study:** To investigate behavioral and cognitive deficits caused by sleep deprivation in rats under energetic effects. **Methods:** It was used 42 Wistar rats, 2 months old, weighing around 225 g, deprived of sleep for 24 h, evaluated in a multiple platform model. The rats were randomly divided into 6 groups (n=7): Control (C), Sleep deprivation (SD), Energy drink consumed 24 hours before experimental tests (ED<sub>24h</sub>), Energy drink consumed immediately before starting the 24 hours deprivation of sleep (ED<sub>24h</sub> + SD), Energy drink consumed 1h before the tests (ED<sub>1h</sub>), Energy drink consumed 1h before the tests in animals that were 24 hours in sleep deprivation (SD + ED<sub>1h</sub>). The energy drink (Red Bul®) was administered by gavage (1.8 ml/kg). The experimental models used were open field (locomotor activity), elevated plus maze (EPM - anxiety) and inhibitory avoidance (learning/memory). **Results:** It was observed that sleep-deprived animals reduced the locomotion when evaluated in the open-field test and increased in the closed arms of the EPM. In this apparatus, it was observed that the SD + ED<sub>1h</sub> group was able to increase the percentage of entries and the time spent in their open arms without any interference in locomotion. In contrast, the ED<sub>24h</sub> + SD group significantly increased the frequency of entries in the closed arms of the EPM. Both regimens of ED treatments were able to increase latency on the platform of inhibitory avoidance without any intergroups mnemonic interference. Sleep deprivation interferes with animal learning even when using energy drinks. **Conclusions:** Interference due to sleep deprivation can lead to changes in the locomotion of the animals, in such a way as to increase or reduce their explorations in a manner dependent on the experimental test, without interference by the consumption of ED, at least in the dose here administered. However, the same dose may induce anxiolytic effect when administered 1h before the behavioral evaluations in sleep-deprived rats, whereas when administered with 24h induces excitatory effect. No change in learning/memory was observed to justify the mnemonic effect of ED *per se*, in the inhibitory avoidance test, and the use of ED was not able to revert learning/memory responses in SD.

**Keywords:** Energy Drink, Sleep Deprivation, Anxiety, Memory, Locomotion.



## LISTA DE QUADRO E FIGURAS

<b>Quadro 1.</b> Divisão dos grupos experimentais .....	37
<b>Figura 1:</b> Complicações da insônia .....	17
<b>Figura 2:</b> Exemplos dos tipos de memória e suas extensões. ....	24
<b>Figura 3:</b> Efeitos da privação de sono e cafeína sobre a adenosina.....	31
<b>Figura 4:</b> Efeito da privação de sono e taurina sobre a capacidade cognitiva.....	32
<b>Figura 5:</b> Sala de manutenção dos ratos, com ciclo de luz claro/escuro de 12h e ventilação adequada. ....	35
<b>Figura 6:</b> Caixa plástica com grade de proteção, com locais adequados para ração e água ad libitum. ....	36
<b>Figura 7:</b> Contenção de animal e procedimento de administração de substâncias pelo método de gavagem.....	37
<b>Figura 8:</b> Caixa de privação de sono pelo método de plataforma múltipla e seus suportes.....	38
<b>Figura 9:</b> Ratos se movimentando na Plataforma Múltipla. ....	39
<b>Figura 10:</b> Identificação numérica de ratos na Plataforma Múltipla .....	39
<b>Figura 11:</b> Campo aberto usado para avaliação das movimentações dos animais. ....	40
<b>Figura 12:</b> Labirinto em Cruz Elevado utilizado para avaliação do comportamento relacionado à ansiedade em ratos. ....	41
<b>Figura 13:</b> Esquiva Inibitória utilizada para avaliação de aprendizagem/memória .....	42

<b>Figura 14:</b> Avaliações comportamentais de ratos investigados no teste do campo aberto. ....	43
<b>Figura 15:</b> Avaliações comportamentais de ratos no teste do LCE. ....	45
<b>Figura 16:</b> Resposta de aprendizagem dos animais avaliados no teste da esquia inibitória. ....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA.....	Análise de variância
BE .....	Bebida Energética
BE24h .....	Bebida Energética ingerida 24 horas antes dos testes
BE1h .....	Bebida Energética ingerida 1 hora antes dos testes
C.....	Controle
CEUA .....	Comitê de Ética no Uso Animal
EBA .....	Entradas nos braços abertos
EBF .....	Entradas nos braços fechados
e.p.m .....	erro padrão da média
EROs.....	Espécies Reativas de Oxigênio
GABA .....	Ácido gama amino butírico
LCE .....	Labirinto em cruz elevado
MCD .....	Memória de curta duração
NREM .....	Movimento não rápido dos olhos
PS .....	Privação do sono
REM .....	Movimentos rápidos dos olhos
SNC.....	Sistema Nervoso Central
TBA .....	Tempo nos braços abertos
TBF .....	Tempo nos braços fechados

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1 SONO E PRIVAÇÃO DE SONO .....	16
<b>1.1.1 Modelo de Privação do Sono .....</b>	<b>18</b>
1.1.1.1 <i>Atividade forçada</i> .....	18
1.1.1.2 <i>Manipulação suave</i> .....	18
1.1.1.3 <i>Levantamento da cabeça</i> .....	18
1.1.1.4 <i>Reconhecimento ao novo</i> .....	19
1.1.1.5 <i>Plataforma Múltipla Modificada</i> .....	19
1.2 ASPECTOS COMPORTAMENTAIS NA PRIVAÇÃO DE SONO .....	20
<b>1.2.1 Modelos de testes comportamentais em roedores .....</b>	<b>21</b>
1.2.1.1 <i>Teste de Campo Aberto</i> .....	21
1.2.1.2 <i>Labirinto em Cruz Elevado (LCE)</i> .....	21
1.2.1.3 <i>Labirinto em Y</i> .....	22
1.2.1.4 <i>Campo aberto com orifícios</i> .....	22
1.2.1.4 <i>Caixa Claro-escuro</i> .....	22
1.3 APRENDIZAGEM E MEMÓRIA NA PRIVAÇÃO DE SONO .....	23
<b>1.3.1 Modelo de teste de memória e aprendizagem em roedores.....</b>	<b>25</b>
1.3.1.1 <i>Esquiva Inibitória tipo Step Down</i> .....	25
1.3.1.2 <i>Labirinto Aquático de Morris</i> .....	25
1.3.1.3 <i>Labirinto Radial</i> .....	26
1.3.1.3 <i>Reconhecimento de objetos</i> .....	26
1.4 BEBIDAS ENERGÉTICAS E SEUS EFEITOS COMPORTAMENTAIS .....	27
1.5 BEBIDAS ENERGÉTICAS NA PRIVAÇÃO DE SONO .....	30
<b>2 OBJETIVO .....</b>	<b>34</b>
2.1 GERAL .....	34
2.2 ESPECÍFICOS .....	34

<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>35</b>
3.1 SUJEITOS EXPERIMENTAIS.....	35
3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL:.....	36
<b>3.2.1 Bebida energética.....</b>	<b>37</b>
<b>3.2.2 Privação do Sono .....</b>	<b>38</b>
3.3 ENSAIOS COMPORTAMENTAIS.....	40
<b>3.3.1 Teste de Campo Aberto .....</b>	<b>40</b>
<b>3.3.2 Labirinto em cruz elevado (LCE).....</b>	<b>41</b>
<b>3.3.3 Esquiva Inibitória do tipo “step-down” .....</b>	<b>41</b>
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
4.1 TESTE DO CAMPO ABERTO.....	43
4.3 TESTE DO LCE .....	44
4.4 TESTE DE ESQUIVA INIBITÓRIA.....	46
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>71</b>
DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO CEUA.....	71

## 1. INTRODUÇÃO

O sono é uma necessidade básica para a sobrevivência humana e animal, sendo necessário no processo de restauração de energia do corpo. Além disso, dormir auxilia na recuperação da memória e contribui na regulação do metabolismo do organismo, reduzindo a fadiga mental. O sono se alterna em fases ou períodos denominados movimentos não rápidos dos olhos (NREM, do inglês *Non-Rapid-Eye Movement*) e movimentos rápidos dos olhos (REM – do inglês *Rapid-Eye Movement*) (EUGENE e MASIÁK, 2015; GANHITO, 2001; LENT, 2010).

A sociedade moderna, com a globalização, gera demandas sociais e ocupacionais visando aumentar a produtividade. Logo, sacrificar o sono ou uma parte dele, tornou-se constante. Alguns estudos mostraram os auto-relatos de dificuldade para dormir e/ou pouco sono nos participantes da pesquisa. Isso pode ser exemplificado naqueles realizados em atletas paraolímpicos (ESTEVES *et al.*, 2015; MELLO *et al.*, 2002), jovens estudantes (MESQUITA e REIMÃO, 2010) e maquinistas ferroviários que trabalhavam em turnos (NARCISO *et al.*, 2014).

Muitas vezes a perda de sono acontece por não se conseguir dormir corretamente pela presença de algumas doenças que pioram a qualidade do sono e interferem o prognóstico delas como, por exemplo, insônia e distúrbios do sono que podem ocorrer juntamente com Doença de Parkinson (JACOBS *et al.*, 2016), demência (BROWN *et al.*, 2014), tratamento com hemodiálise (CHAVOSHI *et al.*, 2015), ou após um evento traumático desenvolvendo o transtorno de estresse pós-traumático (PACE-SCHOTT, GERMAIN e MILAD, 2015).

A mínima perda de sono pode gerar ansiedade, irritabilidade, aumento de peso, mudança na temperatura corporal, distúrbios metabólicos e cognitivos em áreas do cérebro envolvidas em aprendizagem, memória e emoção como hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal (ALKADHI *et al.*, 2013; BONNET e ARANT, 2003; ZHANG *et al.*, 2017a).

A dificuldade em dormir decorrente de diferentes causas altera o bem-estar físico e mental, dificultando a recuperação da memória no cérebro, bem como elevando os níveis de estresse (EUGENE e MASIÁK, 2015). Portanto, os efeitos

da privação do sono podem ser variados de acordo com a frequência e grau de sono perdido (BONNET e ARANT, 2003).

Atualmente, muitas são as alternativas químicas utilizadas para compensar a perda de sono e manter o desempenho mental e cognitivo. Os energéticos já causaram grande polêmica no Brasil, mas continuam sendo consumidos, principalmente por adultos jovens e podem ser encontrados para venda em mercado livre (CASUCCIO *et al.*, 2015; ISHAK *et al.*, 2012; SORKIN *et al.*, 2014). Apesar de hoje haver uma diversidade de marcas desses tipos de bebidas, uma das mais consumidas é o Red Bull®. Estudos têm revelado que o seu consumo tem efeitos psicobiológicos que melhoram o tempo de reação, sensação de fadiga, o desempenho no teste imediato de memória, a fluência verbal, a concentração, bem como o desempenho no teste de estresse mental (ALFORD, COX e WESCOTT, 2001; ARDAIS *et al.*, 2014; CAVKA, *et al.*, 2015; GILES, *et al.*, 2012; REYNER e HORNE, 2013; REYNER e HORNE, 2002).

Cabe ressaltar que o uso de bebida energética não oferece alteração somente na sonolência do indivíduo, mas nos sistemas cardíaco, cerebrovascular e respiratório como um todo (ALSUNNI, 2015; CASUCCIO *et al.*, 2015; GRASSER *et al.*, 2014; IBRAHIM e IFTIKHAR, 2014; VAN BATENBURG-EDDES *et al.*, 2014). Essas consequências, entretanto, ocorrem provavelmente devido às alterações causadas no sistema nervoso simpático (CAVKA *et al.*, 2015). Diante disso, essa alternativa tem se mostrado como uma opção para a redução da sonolência em indivíduos que trabalham principalmente durante a noite.

Até onde é de nosso conhecimento, nenhum trabalho avaliou se o consumo de bebidas energéticas melhora o desempenho comportamental e cognitivo, de uma forma integrada, no mesmo sujeito experimental privado de sono. Coube aqui o nosso interesse nessas investigações devido ao fato de que o modelo experimental desse ensaio de privação de sono, em ratos, está sendo proposto como uma possibilidade de relacionar com o que comumente ocorre no dia a dia dos seres humanos.

## 1.1 SONO E PRIVAÇÃO DE SONO

O sono pode ser dividido em duas fases: NREM e REM, sendo o primeiro dividido em estágios. A sonolência é um estágio em que se têm a presença das ondas alfa e que o indivíduo está relaxado com os olhos fechados. O sono realmente começa na presença de ondas tetas e é caracterizado por ser leve ou com baixo limiar de excitação. Com o aprofundamento dele chega-se às ondas deltas, de menor voltagem, também chamado de sono de ondas lentas. Este está associado com aumento da liberação hormonal de cortisol. O estágio mais profundo é chamado de sono REM, caracterizado por baixa voltagem e frequência mista. Nele se observa a atonia muscular e movimento rápido dos olhos e é onde acontece os sonhos e a consolidação da memória (GARCIA e SALLOUM, 2015; PRINCE e ABEL, 2013).

O tempo total de sono no adulto é em torno de 8 horas, no qual acontece vários ciclos oscilando entre as duas fases do sono (ALKADI *et al.*, 2013; PRINCE e ABEL, 2013). Isso acontece devido a diminuição da ventilação alveolar que ocorre durante o sono REM, reduzindo a sua duração (ALKADI *et al.*, 2013; PRINCE e ABEL, 2013). Uma noite de sono possui 5 a 6 ciclos que dura aproximadamente 45 a 90 minutos (ALKADHI, *et al.*, 2013; GARCIA e SALLOUM, 2015).

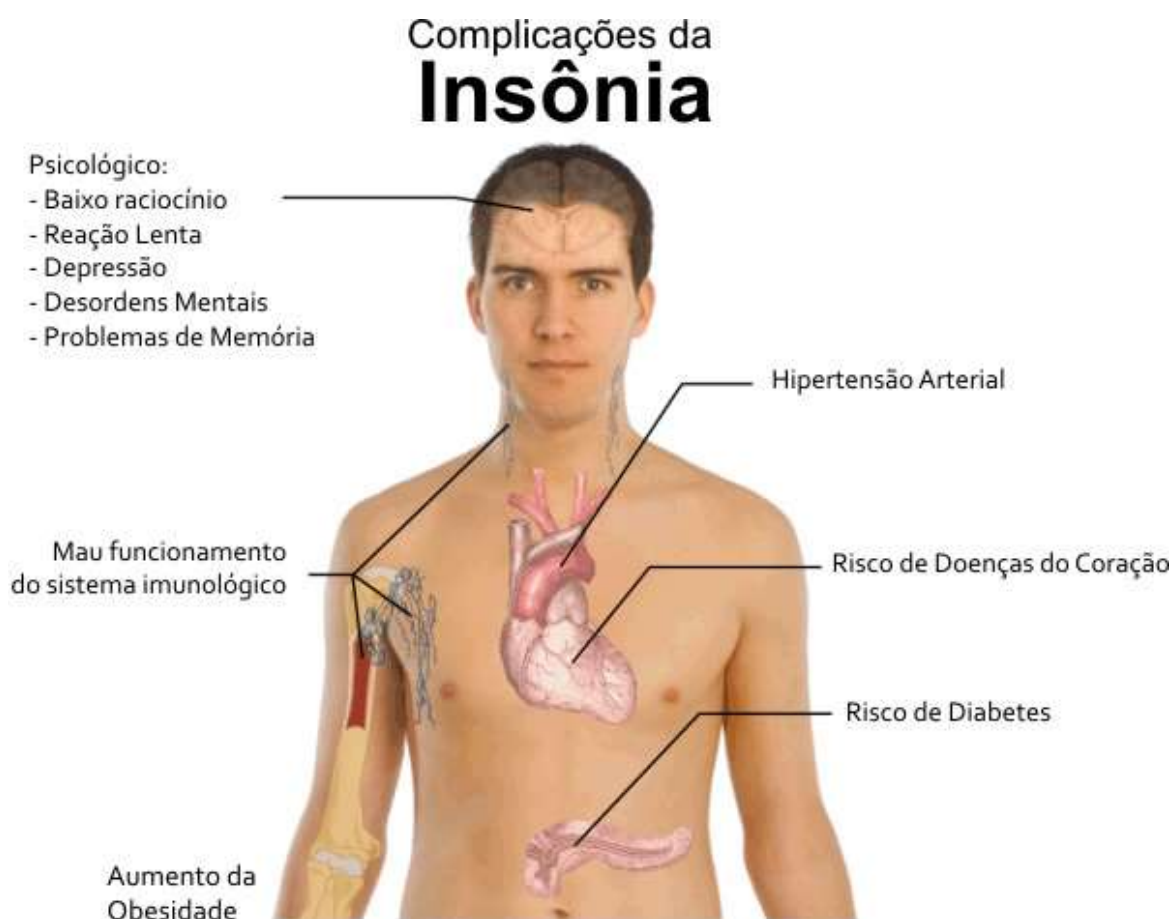
A privação do sono acontece quando durante os ciclos não se chega ao sono REM ou permanece menos tempo que o necessário nele (ALKADHI, *et al.*, 2013; GARCIA e SALLOUM, 2015). Os primeiros estudos sobre esse tipo de privação ocorreram no século 19 utilizando-se cães. Inicialmente foi observado que eles morriam com, no máximo, 2 semanas de privação de sono e, assim, pôde-se fazer a correlação dos indivíduos que tem insônia com as alterações degenerativas encontradas nos cérebros dos cães (BENTIVOGLIO e GRASSI-ZUCCONI, 1997).

Grande parte da população tem algum grau de privação do sono que pode ser decorrente de trabalhos em turnos noturnos (NARCISO *et al.*, 2016; RAJARATNAM, HOWARD e GRUNSTEIN, 2013), trabalhadores como enfermeira (GEIGER-BROWN, *et al.*, 2012; RUGGIERO e AVI-ITZHAK, 2016), parteiras (DORRIAN *et al.*, 2011), médicos hospitalistas (SCHAEFER, WILLIAMS e ZEE,



2012), caminhoneiros (PYLKKÖNEN *et al.*, 2015), maquinistas ferroviários (NARCISO *et al.*, 2014), e atletas olímpicos (ESTEVES *et al.*, 2015).

A má qualidade de sono tem influenciado negativamente na qualidade de vida de adolescentes (LOVATO, *et al.*, 2013; MESQUITA e REIMÃO, 2010), praticantes de esportes (MELLO *et al.*, 2002), e estudantes de medicina (GIRI, BAVISKAR e PHALKE, 2013; MOTA *et al.*, 2013). Como consequência, várias são as complicações que podem interferir na saúde no que refere aos aspectos fisiológicos, bioquímicos, comportamentais e cognitivos, conforme demonstradas na Figura 1.



**Figura 1:** Complicações da insônia (Fonte: <https://supereficientemental.com/2015/09/12/comorbidades-insonia/complicacoes-da-insonia>)

Tentando entender quais mecanismos biológicos poderiam estar implicados nas respostas dessas pessoas, muitos modelos experimentais animais foram

criados com o intuito de fazer a correlação com os seres humanos. A seguir, um breve relato sobre alguns deles.

### **1.1.1 Modelo de Privação do Sono**

Essa privação em roedores é feita por meio de modelos experimentais, que visam abolir determinada fase do sono. Segue alguns exemplos desses modelos:

#### **1.1.1.1 Atividade forçada**

Consiste em uma piscina de água rasa e sobre ela é colocado um disco de metal rotativo ou uma esteira, utilizado para abolir o tempo total de sono (NREM e REM). O disco começa a girar a uma velocidade baixa para que o animal não durma. Pode ser com intervalos de tempo pré-programados ou por monitorização do sono via eletroencefalograma. O viés desse método é que o animal pode apresentar um estresse físico diferente da privação de sono REM (ALKADHI *et al.*, 2013).

#### **1.1.1.2 Manipulação suave**

Envolve a estimulação tátil, sensitiva, visual ou olfativa, a qual deve ser realizada por um examinador. A estimulação é feita para evitar que o animal adormeça. O viés observado neste é que requer uma atenção contínua e delicada dos examinadores, porque pode ocorrer adaptação dos roedores aos estímulos realizados e, por isso, a recomendação de uso deve ser por 2 a 8 horas (ALKADHI *et al.*, 2013). Mais recentemente, esse modelo foi automatizado para uma movimentação automática da gaiola controlado por um computador (MCCOY e STRECKER, 2011).

#### **1.1.1.3 Levantamento da cabeça**

Consiste em uma alavanca acionada pelo examinador, que levanta a cabeça do rato acordando-o, no momento em que os registros polissonográficos dão início

ao sono REM. Seja visto, que a posição do roedor dormir é curvando a cabeça. O viés é a exigência que o examinador necessite da sua atenção máxima para interpretar corretamente todos esses registros polissonográficos (ALKADHI *et al.*, 2013).

#### 1.1.1.4 Reconhecimento ao novo

É usado um ambiente grande o suficiente para que o rato explore o local, visto que é uma tendência natural dele explorar um ambiente novo, assim ele não dorme antes de terminar de conhecer totalmente o local. É usado por até 4 horas e parece ser livre de estresse (ALKADHI *et al.*, 2013). Pode ser usado o mesmo princípio colocando novos objetos no ambiente, no qual a privação será realizada por reconhecimento de objetos (PRINCE e ABEL, 2013).

#### 1.1.1.5 Plataforma Múltipla Modificada

É conhecida também como “tanque de água”, “colunas em água” e “vaso de flor invertido”. Foi projetado para alcançar a privação de sono REM. O protótipo era usado com gatos sobre um pote de flores invertido em um tanque de água, com a sua superfície cerca de 2 centímetros acima do nível dela. Assim, ao entrar no sono REM, e conseqüentemente em atonia muscular, o animal entraria em contato com a água e despertaria. Inicialmente, este método consistia em uma única plataforma. Visando aliviar a imobilidade forçada, foi desenvolvido o método de plataforma múltipla propiciando a livre movimentação do animal no tanque por meio das diversas colunas imersas na água. Denominado, então, o método de plataforma múltipla modificado, no qual vários animais da mesma gaiola já socialmente estáveis, são colocados no mesmo tanque. Isso foi pensado para evitar o estresse psicossocial, de isolamento e de imobilização (ALKADHI *et al.*, 2013; MACHADO *et al.*, 2004).

## 1.2 ASPECTOS COMPORTAMENTAIS NA PRIVAÇÃO DE SONO

O sono inadequado é fator de risco para condições psicológicas e doenças psiquiátricas como transtorno de ansiedade e do humor (ALKADHI *et al.*, 2013; FISCHER e EHLERT, 2018; MCCOY e STRECKER, 2011; PALMER e ALFANO, 2017; PIRES *et al.*, 2016a). O distúrbio de ansiedade é geralmente caracterizado por sentimentos de preocupação exagerada, apreensão, incerteza, medo e tensão (ALKADHI *et al.*, 2013; SUNG, 2017).

A privação de sono é uma importante fonte de estresse, sendo impossível avaliar esses dois fatores de forma independente. Normalmente, o elevado nível de estresse tende a gerar alto nível de ansiedade e vice-versa. Em relação aos métodos experimentais utilizados para privação de sono, a manipulação suave é o modelo considerado menos estressante. Já o mais estressante é a plataforma única gerando estresse quanto à restrição de movimentação, ambiente úmido e isolamento social (PIRES *et al.*, 2016b).

Os fatores observados acima, são desencadeadores da ansiedade e há boa razão para considerar que os mesmos sistemas neuronais estejam envolvidos na geração dos estados de medo fisiológico agudo e o estado de ansiedade patológica, ainda que as situações e condições que as geram sejam diferentes (GRAY, 1977; HAEFELY, 1990). Sabendo-se que os mecanismos neurais das respostas às circunstâncias que induzem medo, são provavelmente similares em humanos e animais, modelos animais de ansiedade podem ter um bom valor preditivo das respostas nas desordens de ansiedade (HANDLEY, 1994).

Pode-se analisar o nível de ansiedade em roedores por seu comportamento ansiolítico e ansiogênico (MCCOY e STRECKER, 2011). Nesse processo de avaliação os machos são mais sensíveis aos efeitos ansiogênicos e tendência a comportamento depressivo (GONZALEZ-CASTAÑEDA *et al.*, 2016). Além disso, estudos têm relatado comportamento de impulsividade e/ou mania, quando eles são avaliados em testes de ansiedade (PIRES *et al.*, 2016b; SUNG, 2017).

Vários são os modelos experimentais de avaliação comportamental em roedores, usados para as investigações neuropsicobiológicas e para fazer analogia com os seres humanos. Cabe ressaltar alguns deles.

### **1.2.1 Modelos de testes comportamentais em roedores**

A ansiedade tem sido avaliada observando comportamento ansiolítico ou ansiogênico em aparelhos como Campo Aberto e Labirinto em Cruz Elevado (LCE).

#### **1.2.1.1 Teste de Campo Aberto**

Este modelo para avaliar locomoção, depende do conflito interno, entre o desejo de explorar a área e o medo de predadores pelo risco gerado por se locomover em áreas abertas (MCCOY e STRECKER, 2011). É possível que muitos achados contraditórios envolvendo locomoção x nível de ansiedade possam ser explicados pela impulsividade aumentada gerada pela supressão do sono que induz a hiperatividade locomotora, e não induzida pela diminuição de ansiedade (MCCOY e STRECKER, 2011; PIRES *et al.*, 2016b).

#### **1.2.1.2 Labirinto em Cruz Elevado (LCE)**

Este modelo experimental é muito utilizado, não somente para o estudo do efeito de drogas ansiolíticas e/ou ansiogênicas, mas também para avaliar os mecanismos neurobiológicos da ansiedade (DA SILVA *et al.*, 1996; IMHOLF *et al.*, 1993; RIBEIRO *et al.*, 2017). Sua validação comportamental para ratos (PELLOW *et al.*, 1985) e camundongos (LISTER, 1987), foi feita a partir dos trabalhos pioneiros de Montgomery (1955) e de Handley e Mithani (1984).

O LCE é baseado, entre outros fatores, na aversão natural que roedores apresentam pelos braços abertos do labirinto, pois quando eles são forçados a permanecerem nesses braços, mostram manifestações comportamentais e fisiológicas de medo, tais como congelamento, defecação e aumento nos níveis de corticosteróides plasmáticos (PELLOW *et al.*, 1985) e, como consequência,

permanecem um tempo maior nos braços fechados. A proporção da exploração total nos braços abertos determina uma medida de ansiedade, de tal modo que o aumento nas porcentagens de tempo e de entradas nos braços abertos é considerado como indicativo de ação ansiolítica de drogas (HANDLEY e MITHANI, 1984; PELLOW *et al.*, 1985).

#### 1.2.1.3 Labirinto em Y

Este modelo é proposto para detecção da preferência entre dois tratamentos um aversivo, outro gentil. Sendo para isso, colocado no final de cada braço diferentes recompensas, comida, outro animal, cheiro, objetos. O animal é colocado no início do labirinto com liberdade para explorar o aparato, sendo contabilizado a quantidade de entrada em cada braço e movimentação (GARCIA e ESQUIVEL, 2018; MARRIOTT e SPENCER, 1965)

#### 1.2.1.4 Campo aberto com orifícios

Também chamado de *holeboard*, que consiste numa caixa fechada com furos no chão, onde o animal pode colocar a cabeça. Essa ação é chamada de mergulho de cabeça (ou *head-dipping*), a frequência e duração dessa ação é caracterizada como neofilia (gosto pela novidade) (GOMEZ e GARCÍA-GARCÍA, 2017; NOLAN e PARKES, 1973; ZHANG *et al.*, 2017b).

#### 1.2.1.4 Caixa Claro-escuro

Consiste numa arena, composta por duas câmaras, onde dois terços da área é iluminado e um terço é escurecido. Contabiliza-se as transições entre uma câmara e outra e a atividade locomotora total no aparelho (CRAWLEY e GOODWIN, 1980; ZHANG *et al.*, 2017b).

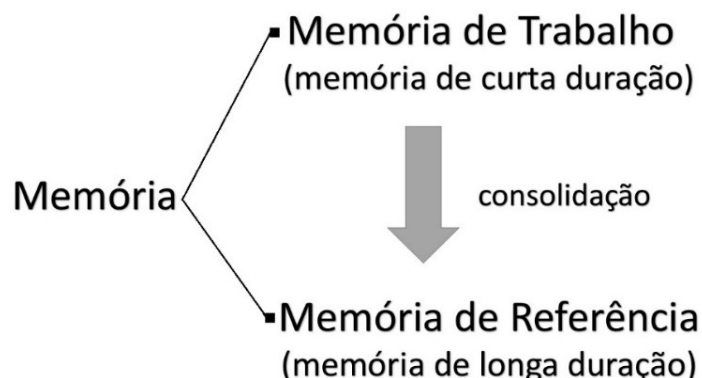
### 1.3 APRENDIZAGEM E MEMÓRIA NA PRIVAÇÃO DE SONO

O aprendizado realizado horas ou minutos antes de dormir é memorizado durante o sono em si (ALKADHI *et al.*, 2013; DIEKELMANN, 2014). Logo, a falta do sono ininterrupto, prejudica a plasticidade do hipocampo, local onde ocorre a consolidação da memória, mesmo em curtos períodos decorrentes de sua privação (PRINCE e ABEL, 2013).

A perda crônica de sono, presente na sociedade moderna, prejudica as regiões cerebrais envolvidas nos processos cognitivos, pois leva a uma diminuição do correto funcionamento cerebral, interrompendo a consolidação da memória (ALKADHI *et al.*, 2013). As pessoas que tem distúrbio do sono apresentam alterações como: maior tempo de reação, dificuldade de atenção e concentração, sonolência, redução da vigília, déficit de desempenho e tomadas decisões, erros de omissão, perda da memória curta, fadiga, estresse, irritabilidade e redução da motivação (ALKADHI *et al.*, 2013; BONNET e ARANT, 2003).

Para fins didáticos, a memória é dividida como exemplificada na figura 2. A de curta duração é chamada por muitos autores como memória de trabalho, definida como informações adquiridas recentemente (ou de caráter transitório) para a realização de tarefas cognitivas. Pode-se exemplificar como a aprendizagem realizada durante uma sessão teste, mas não quando tiver mais de 24 horas de distância entre elas. A memória de trabalho, portanto, é aquela aprendida e utilizada minutos depois (COLAVITO *et al.*, 2013; MCCOY e STRECKER, 2011).

A memória de referência ou de longa duração é observada quando uma lembrança é resgatada após o período de sono. Essa consolidação da memória depende de uma ativação neuronal realizada durante a vigília (fase do aprendizado). Assim, durante o sono NREM e REM ocorrem conexões neurais gerando a consolidação dessas novas informações em memória de longo prazo, também chamada de memória permanente ou de referência. O estágio inicial dessa consolidação acontece no sono NREM, reorganizando-a. Durante o sono REM é que essa memória, adquirida no período acordado, se torna mais estável e permanente (MCCOY e STRECKER, 2011).



**Figura 2:** Exemplos dos tipos de memória e suas extensões (adaptado de Mccoy e Strecker, 2011).

Tem sido observado que a privação de sono afeta principalmente a memória de referência, já que esta é dependente da consolidação realizada durante o sono, e que, neste caso, não ocorreu (MCCOY e STRECKER, 2011; PRINCE e ABEL, 2013). Entretanto, deve ser levado em consideração o estágio do sono interrompido, a duração da perda de sono e os protocolos experimentais empregados (ALKADHI *et al.*, 2013; BEN-YAKOV, DUDAI e MAYFORD, 2015).

Um estudo realizado por Youghblood e colaboradores (1997) utilizando a técnica de plataforma única por 4 dias, observou déficit na memória de referência espacial, sem diferença significativa na memória de trabalho. Em outro estudo, a privação de sono por uma noite não alterou a memória verbal ou viso-espacial de trabalho (NILSSON *et al.*, 2005).

As alterações cerebrais anatomopatológicas apresentadas por uma privação de sono por 36 horas em jovens são semelhantes às observadas em idosos de 60 anos que não tiveram o sono interrompido (HARROSON, HORNE e ROTHWELL, 2000). A privação produz a diminuição da atividade cerebral principalmente na área córtico-talâmica, reduzindo a atenção e alterando a cognição (BOONSTRA *et al.*, 2007; THOMAS *et al.*, 2000).

Existe também a adaptação do organismo, uma vez que os cérebros de pessoas que estão sendo privadas do sono podem recrutar novas regiões, gerando mudanças neuroplásticas, melhorando os desempenhos cognitivos inadequados (ALKADHI *et al.*, 2013; MCCOY e STRECKER, 2011). A ativação do córtex pré-



frontal, por exemplo, aumenta a motivação para a realização de uma tarefa (ALKADHI *et al.*, 2013)

### **1.3.1 Modelos de teste de memória e aprendizagem em roedores**

O aprendizado e a performance do hipocampo na aquisição de memória em roedores podem ser medidos em alguns dos seguintes modelos experimentais citados a seguir:

#### **1.3.1.1 Esquiva Inibitória tipo *Step Down***

O teste é realizado colocando o animal na caixa em cima de uma plataforma que, ao descer e tocar o assoalho com as 4 patas, ele recebe um choque. Na repetição desse procedimento é esperado que ele se lembre do choque e não desça da plataforma por até 3 minutos (LUCENA *et al.*, 2013).

Também tem sido documentado o modelo parecido com este descrito acima, mas chamado Teste de esquiva passiva. Que consiste em duas caixas, uma clara e outra escura, e uma porta tipo guilhotina entre elas. Os animais são colocados na câmara iluminada e ao entrarem na câmara escura é dado um choque em suas patas (COLAVITO *et al.*, 2013).

#### **1.3.1.2 Labirinto Aquático de Morris**

Modelo utilizado para aprendizagem espacial que consiste em um tanque com água dividido em 4 quadrantes e com uma plataforma submersa e posicionada em um dos quadrantes. Para a realização dos testes é colocado dicas visuais na sala e ao redor do tanque, e a água é tornada turva pelo uso de maisena ou tinta diluída. Os animais são colocados em um dos quadrantes e é medido o tempo gasto e a distância percorrida pelo animal nadando até encontrar a plataforma submersa. O teste pode ser repetido horas e até dias depois do primeiro procedimento, mudando o quadrante em que o rato é colocado e até o posicionamento da plataforma (COLAVITO *et al.*, 2013).

### 1.3.1.3 Labirinto Radial

Consiste em uma plataforma central com oito braços. Várias dicas visuais são colocadas ao redor da sala de testes, sendo que no final dos braços do aparato é colocado pelotas de alimentos. O animal é colocado no centro do mesmo e é esperado que eles encontrem os alimentos entrando em cada braço apenas uma vez (COLAVITO *et al.*, 2013).

Para avaliar memória de referência e trabalho espacial pode-se colocar os alimentos em apenas alguns braços. Após a fase de treino, as visitas aos braços sem alimentos são consideradas déficit de memória de referência, enquanto que as visitas aos braços já visitados anteriormente são consideradas déficit de memória de trabalho (COLAVITO *et al.*, 2013; MCCOY e STRECKER, 2011).

Mesclando o Labirinto Aquático de Morris e o Labirinto Radial, foi criado o Labirinto Radial Aquático usado para explorar memória espacial e função hipocampal. Consiste num labirinto de 4 ou 6 braços colocado dentro de um tanque com água, com as paredes submersas e uma plataforma de escape no final de um determinado braço, onde o animal é forçado a nadar para localizá-lo (COLAVITO *et al.*, 2013).

### 1.3.1.3 Reconhecimento de objetos

O princípio deste teste é o mesmo já relatado em “modelo de reconhecimento do novo”, visto que o roedor tem uma tendência espontânea e natural de explorar o novo. Assim, este teste mede a memória de reconhecimento de novos objetos. Os animais podem ter o contato e familiarizarem com um ou mais objetos novos. Depois de um certo tempo, minutos ou horas, são apresentados novamente ao conjunto de objetos em que um entre todos os objetos é novo. Dessa maneira, mede-se o tempo gasto para o reconhecimento deste novo em relação aos outros previamente vistos (COLAVITO *et al.*, 2013).

#### 1.4 BEBIDAS ENERGÉTICAS E SEUS EFEITOS COMPORTAMENTAIS

O primeiro energético criado foi o Red Bull, lançado no mercado em 1987 por Dietrich Mateschitz, cujo o público alvo era os desportistas. Ele foi baseado em uma bebida da Tailândia chamada de Krating Daeng. Atualmente, ele é vendido em 169 países, e já foram vendidas mais de 60 milhões de latas (RED BULL MEDIA HOUSE GMBH, 2017).

Uma lata de Red Bull com 250 mL de bebida contém: 80 mg de cafeína, 1000 mg de taurina, vitaminas do complexo B como: riboflavina (vitamina B2), niacinamida (vitamina B3), ácido pantotênico (vitamina B5), piridoxina (vitamina B6) vitamina B12 (cianocobalamina), além de 28 g de açúcares, proveniente da beterraba e água natural das fontes dos alpes austríacos e suíços (RED BULL MEDIA HOUSE GMBH, 2017). Dessas substâncias, é provável que os efeitos dessa bebida energética se devam, principalmente, à cafeína e taurina.

A cafeína é um composto orgânico cuja nomenclatura é 1,3,7-trimetilxantina, naturalmente encontrado em folhas de mate, grãos de café, cacau e noz de cola. A sua absorção no organismo ocorre rapidamente e chega ao sangue entre 15 e 45 minutos após ter sido ingerida. O tempo de ação da cafeína no corpo depende da idade, sexo, uso de medicações, hormônios e condições de saúde (BODENMANN *et al.*, 2012; CARVALHO *et al.*, 2006).

A cafeína já esteve na lista de substâncias restritas a menos de 12 mg/mL em concentração na urina pelas comissões anti-doping no esporte. Hoje ela se encontra no programa de monitoramento e rastreamento de tendências de uso e eventuais abusos (BURKE, 2008).

Considerando os efeitos da cafeína, cabem mencionar que a sua ação depende da dose utilizada para produzir as respostas biológicas. Uma xícara de chá ou café instantâneo tem em torno de 50 mg de cafeína, já uma xícara de café coado ou torrado tem cerca de 85 mg. Quando se refere a fabricação de bebida pronta, a vigilância sanitária autoriza apenas 35 mg de cafeína para cada 100 mL de bebida pronta para o consumo, ou seja, no máximo 87,5 mg para cada caneca contendo aproximadamente 250 mL. (BURKE, 2008; CARVALHO *et al.*, 2006).

Com o uso crônico de cafeína observa-se sensações de fadiga, sedação, cefaleia e náuseas, quando em abstinência (CARVALHO *et al.*, 2006).

Tem sido relatado um aumento do consumo de bebidas cafeínadas durante a perda de sono visando manter a vigiância e aumentar a concentração, como é observado em trabalhadores em turnos diurnos e noturnos (ALKADHI *et al.*, 2013; DORRIAN *et al.*, 2011; GEIGER-BROWN *et al.*, 2012; SCHAEFER, WILLIAMS e ZEE, 2012; WALIA *et al.*, 2012).

O uso de cafeína provoca estado de alerta, sendo que este explicado por mecanismos que acontecem no cérebro como:

- Inibição dos receptores do neurotransmissor adenosina, sendo que este tem um efeito inibidor na célula, levando ao estado de sonolência, ação anticonvulsivante e neuroprotetora (ALKADHI *et al.*, 2013).
- Ativação de noradrenalina, sendo esta um neurotransmissor estimulante do sistema nervoso central (SNC). Ela possui ação de inibir a depressão e controlar o despertar e o alerta, além de regular a pressão sanguínea (CARVALHO *et al.*, 2006).
- Alteração da liberação de dopamina, que é um neurotransmissor estimulante do SNC. Ela produz sensação de satisfação e prazer, além de possuir a função de controle motor e neuroendócrino (CARVALHO *et al.*, 2006).

A taurina é um aminoácido cuja nomenclatura é 2-amino-etano-sulfônico, que também é encontrada na composição das substâncias energéticas. Ela é produzida pelo organismo humano e pode ser encontrada nos músculos, cérebro, coração e sangue. Na forma de alimentos, podemos encontrá-la em vieiras, peixes e aves (CARVALHO *et al.*, 2006). Esse aminoácido é sintetizado principalmente no fígado e cérebro, por meio das rotas de oxidação da cisteína. Atua como agonista da glicina e dos receptores Ácido Gama-Amino-Butírico (GABA) além de inibir o glutamato (CARVALHO *et al.*, 2006; RIPPS e SHEN, 2012).

Ao contrário da cafeína, a taurina age como um neurotransmissor inibitório no SNC, visto que os neurotransmissores GABA e Glicina são inibitórios, e que o glutamato é excitatório. Ele evita o estresse oxidativo e amenizar certas patologias (CARVALHO *et al.*, 2006; RIPPS e SHEN, 2012).

Apesar dos mecanismos de ação da taurina serem parecidos com os de um neurotransmissor, ainda não foi identificado um receptor específico para ela. Quando liberada após a estimulação elétrica, liga-se à membrana plasmática, por meio de um receptor de GABA ou Glicina, e age regulando o sal e o equilíbrio de água dentro das células. A presença de taurina na fenda sináptica exerce um poderoso efeito inibitório sobre a atividade bioelétrica e, assim, estabiliza as membranas celulares. Outra forma de ação é desintoxicando as células de substâncias estranhas e protegendo do estresse oxidativo, através da melhora da função mitocondrial, pela estabilização da cadeia de transporte de elétrons e inibição de geração de espécies reativas oxigênio - EROs (CARVALHO *et al.*, 2006; RIPPS e SHEN, 2012).

A fabricação de bebidas contendo taurina ficou mais difundida com a produção de bebidas energéticas. Devido isso, vigilância sanitária autorizou apenas 400 mg para cada 100 mL de bebida pronta (BURKE, 2008; CARVALHO *et al.*, 2006). Isto é, a quantidade de taurina utilizada no Red Bull é a máxima permitida para bebidas prontas.

O uso de bebidas energéticas, contendo taurina e cafeína, gera bom impacto na qualidade de vida e bem-estar (ISHAK *et al.*, 2012). O seu maior consumo ocorre em jovens adultos (menores de 30 anos) e por grupos hispânicos e/ou não negros (SORKIN *et al.*, 2014). O principal motivo do uso dessa bebida deve-se ao seu efeito estimulante. Como por exemplo dessa realidade é possível observar o seu consumo associado ao álcool, com intuito de minimizar o efeito depressivo da bebida alcoólica (CASUCCIO *et al.*, 2015; ISHAK *et al.*, 2012; SORKIN *et al.*, 2014). Além do consumo no dia anterior a uma prova para manter acordado ou alerta. Ou, no dia da prova após noite em claro reduzindo os efeitos indesejados da sonolência e para reposição de energia (ISHAK *et al.*, 2012; OWENS, MINDELL e BAYLOR, 2014; USMAN, BHOMBAL e JAWAID, 2015).

## 1.5 BEBIDAS ENERGÉTICAS NA PRIVAÇÃO DE SONO

Uma das formas de combate à sonolência e piora da vigiância, gerada pela privação de sono, é por meio de uso de substâncias químicas como melatonina, modafinil e cafeína, além da utilização de outras medidas como luz intensa e ruídos (HILDITCH, DORRIAN e BANKS, 2016; LIIRA *et al.*, 2014).

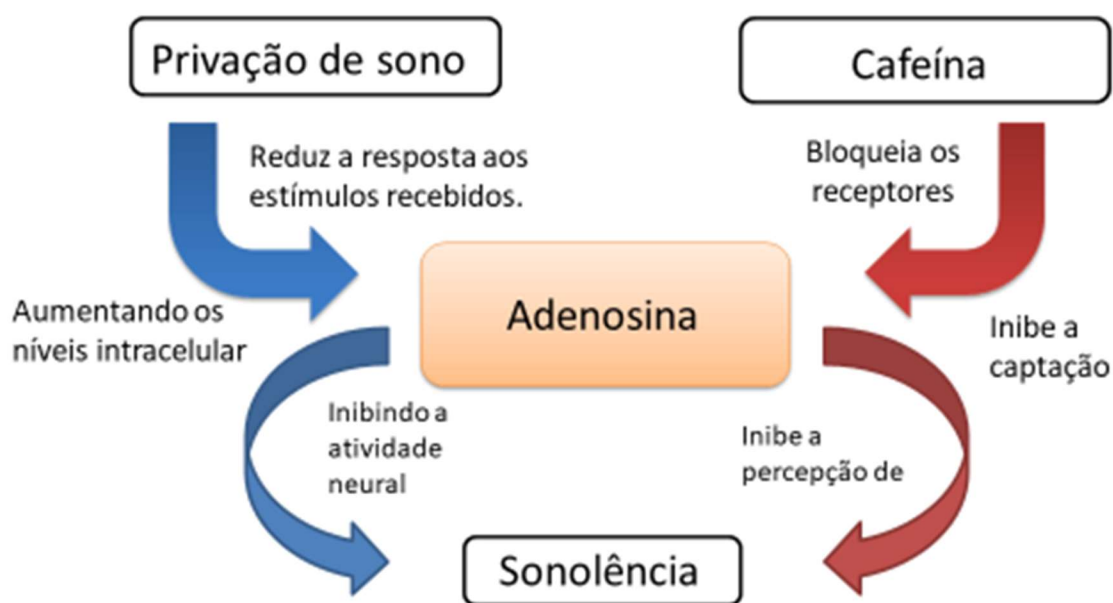
Considerando as pesquisas envolvendo consumo de bebida energética e privação de sono, a literatura é escassa no que diz respeito a esse tipo de associação. Ao contrário, muitas são as informações relatando o uso de cafeína e/ou taurina nesses aspectos relacionados ao sono.

A cafeína tem sido utilizada para combater condições de fadiga e sonolência e eliminar os efeitos da inércia do sono, ainda que piorando a qualidade deste (HILDITCH, DORRIAN e BANKS, 2016; OWENS, MINDELL e BAYLOR, 2014). Existem várias formas de administração de cafeína, sendo que em goma de mascar chega mais rápido ao plasma sanguíneo do que quando ingerido em pílulas (HILDITCH, DORRIAN e BANKS, 2016).

Devido ao efeito de combate à sonolência, essa droga tem sido usada para reduzir os efeitos da restrição de sono. Tem sido observado que o seu uso, mesmo em situação de perda de sono, melhora sintomas de humor, depressão, confusão, fadiga, ansiedade, julgamento, vigiância, tempo de reação, raciocínio lógico rápido, sonolência, desvios na pista durante condução, e também gera aumento da temperatura (CASUCCIO *et al.*, 2015; GILES *et al.*, 2012; HARTLEY *et al.*, 2013; ISHAK *et al.*, 2012, KAMIMORI *et al.*, 2015; KILLGORE, GRUGLE e BALKIN, 2012; KILLGORE *et al.*, 2014; LIIRA *et al.*, 2014; MCHILL, SMITH e WRIGHT, 2014; OWENS, MINDELL e BAYLOR, 2014; SORKIN *et al.*, 2014; SOUISSI *et al.*, 2014; USMAN, BHOMBAL e JAWAID, 2015).

A ingestão de cafeína não interfere na tomada de decisão, que durante a privação de sono induz às escolhas mais arriscadas (KILLGORE, GRUGLE e BALKIN, 2012) e menos acertos (AGGARWAL *et al.*, 2011; KAMIMORI *et al.*, 2015; REYNER e HORNE, 2013). Entretanto pode atrapalhar o sono tardio (KAMIMORI *et al.*, 2015; MCHILL, SMITH e WRIGHT, 2014).

O uso dessa xantina reduz o sono de ondas lentas, a sua eficiência, o seu tempo total; aumenta o despertar após o seu início, a latência, o número de despertar e sua duração (GARCIA e SALLOUM, 2015; MCHILL, SMITH e WRIGHT, 2014). Apesar disso, a ingestão de café ou bebidas cafeinadas algumas vezes não está relacionada à gravidade dos distúrbios do sono (AURORA, *et al.*, 2012), mas o seu uso é aumentado diante de idade avançada, tempo insuficiente de sono, estresse no trabalho (DORRIAN, *et al.*, 2011; WAITS, *et al.*, 2014), e sexo masculino (AURORA, *et al.*, 2012).



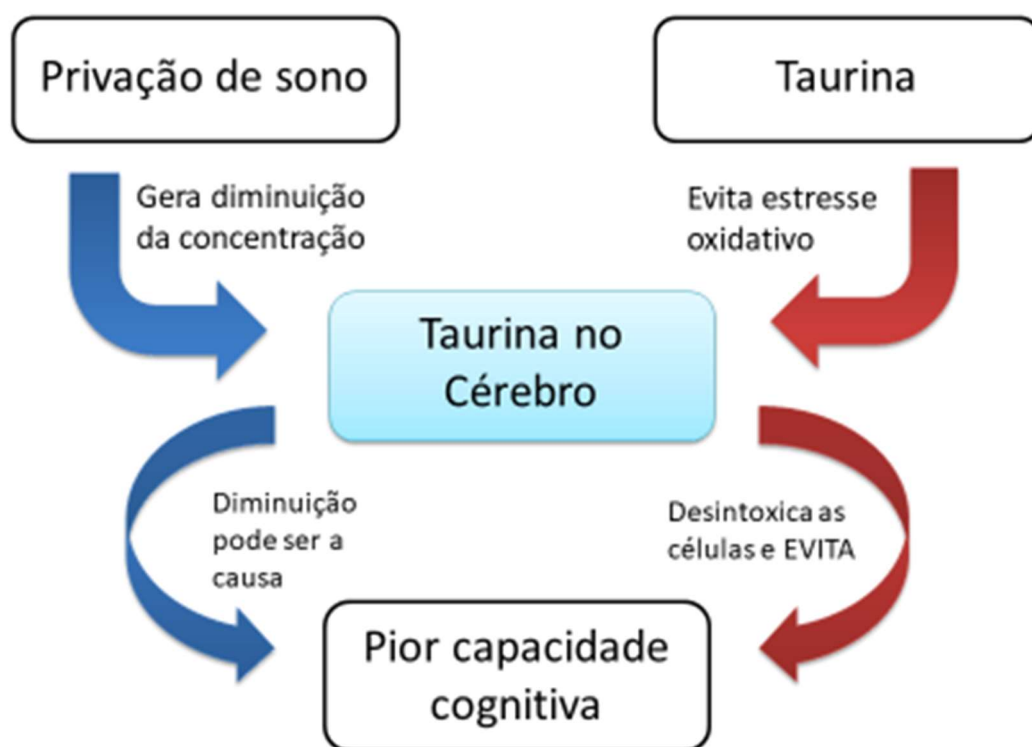
**Figura 3:** Efeitos da privação de sono e cafeína sobre a adenosina.

A privação de sono reduz a resposta cortical aos estímulos recebidos (Figura 3). Os níveis de adenosina passam a ser aumentados nas células gerando um efeito inibitório sobre a atividade neural (BOONSTRA *et al.*, 2007). A cafeína, por sua vez, age inibindo a ação da adenosina, evitando o comprometimento da plasticidade sináptica induzido pela perda de sono. Essa metilxantina age bloqueando os receptores da adenosina, inibindo a sua ação, e diminuindo a percepção de sonolência (ALHAIDER, *et al.*, 2010; PRINCE e ABEL, 2013).

Estudos realizados em ratos privados de sono por 48 horas, a administração de cafeína (60 mg/kg/dia) preveniu a redução, induzida pela privação de sono, da

diferenciação e proliferação neuronal (SAHU *et al.*, 2013), além de prevenir o déficit de desempenho no reconhecimento de objetos (WADHWA *et al.*, 2015). Na privação de sono por 24 horas, o consumo crônico de cafeína (por 4 semanas com 0,3 g/L diluído em água) prevenir a queda dos níveis das proteínas enzimáticas no giro denteado (ALHAIDER e AÇKADHI, 2015), e no hipocampo (ALKADHI e ALHAIDER, 2016).

Existem poucos estudos que relacionam a taurina e a supressão de sono. Primeiro foi observando animais privados do sono onde ocorreu um aumento dos seus níveis no córtex, mas não foi detectado aumento significativo no hipocampo (MOHAMMED *et al.*, 2011). Mais tarde, em um estudo programado computacionalmente para simular a síndrome da apneia obstrutiva do sono, foi observado que os cérebros fantasmas apresentavam uma redução em massa cinzenta do occipital e substância branca frontal esquerda (SARMA *et al.*, 2014).



**Figura 4:** Efeito da privação de sono e taurina sobre a capacidade cognitiva.

Foi observado que crianças com apneia obstrutiva do sono apresentavam uma pior capacidade cognitiva (KHEIRANDISH-GOZAL *et al.*, 2013). Essa



capacidade cognitiva baixa já havia sido bem relatada como efeito da privação de sono (ALKADHI *et al.*, 2013). Isso pode ter relação com a diminuição de taurina no cérebro (Figura 4) e, com isso, redução dos mecanismos de citoproteção, levando a maior toxicidade neuronal e, conseqüentemente, à disfunção cognitiva (RIPPS e SHEN, 2012).

Em crianças com apneia obstrutiva do sono foi observado uma elevação de taurina eliminada na urina (KHEIRANDISH-GOZAL *et al.*, 2013). Isso foi comprovado mais tarde por Giskeødegård e colaboradores, em um estudo realizado com adultos que passaram uma noite sem dormir e foram medidos os níveis de taurina na urina a cada duas horas (GISKEØDEGÅRD *et al.*, 2015).

No sangue, foi observado uma elevação dos níveis de taurina durante a privação de sono. Esse aumento pode significar a inibição da síntese de taurina ou o estímulo à sua degradação (DAVIES *et al.*, 2014), ou regulação do sono/vigília, visto que a taurina é depressora do SNC e pode induzir o sono, ou gerar indício de depressão (GISKEØDEGÅRD *et al.*, 2015).

A privação do sono aumenta a excitabilidade da membrana e altera a função mitocondrial, contribuindo para o déficit de aprendizagem (YANG *et al.*, 2008). A taurina, por sua vez, tem efeito citoprotetor, de tal forma que pode agir modulando a excitabilidade da membrana e protegendo a função mitocondrial (RIPPS e SHEN, 2012).

Com base nas informações relatadas observa-se que muitas lacunas margeiam os estudos envolvendo privação de sono e bebidas energéticas sobre comportamento e aspectos cognitivos. Entretanto, dentro do vasto campo de informações, as pesquisas foram realizadas de forma isolada sem que fossem valorizados os aspectos voltados para a interferência do consumo das bebidas na privação de sono. Coube aqui o nosso interesse nessas investigações fazendo o uso de animais experimentais (ratos) como uma maneira de usar os resultados de forma comparativa ao que acontece com o ser humano.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 GERAL

Avaliar a influência do consumo de bebida energética nos aspectos comportamentais e cognitivos decorrentes da privação de sono, em ratos.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Investigar os possíveis distúrbios de ansiedade decorrente da privação de sono em ratos.
- Analisar o grau de interferência da privação do sono nas respostas de aprendizagem/memória
- Avaliar a influência do consumo de bebida energética nos aspectos acima mencionados.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 SUJEITOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 42 ratos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, machos, com aproximadamente 2 meses de idade. O estudo foi realizado no Laboratório de Psicobiologia, Instituto de Psicologia, da Universidade de Brasília (Figura 5). Antes de dar início aos procedimentos experimentais, esses animais permaneceram em caixas por, pelo menos, 7 dias para adaptação do ambiente.



**Figura 5:** Sala de manutenção dos ratos, com ciclo de luz claro/escuro de 12h e ventilação adequada.

Os animais foram mantidos em caixas plásticas de 50 x 30 x 20 cm, protegidas com grade de metal, com local apropriado para ração e água em garrafas de vidro com bico e com assoalho coberto por maravalha, conforme exemplificado na figura 6. Em cada caixa foram alocados no máximo 4 animais e respeitados os critérios estabelecidos pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), conforme o protocolo UnB Doc nº 9656/2016 (em anexo).



**Figura 6:** Caixa plástica com grade de proteção, com locais adequados para ração e água ad libitum.

### 3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL:

Os ratos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=7): controle (C), Privação de Sono por 24 horas (PS), Bebida Energética 24 horas antes dos testes (BE<sub>24h</sub>), Bebida Energética antes da Privação de Sono (BE<sub>24h</sub>+PS), Bebida Energética uma hora antes dos testes (BE<sub>1h</sub>), Privação de Sono por 24 horas e após administração de Bebida Energética uma hora antes dos testes experimentais (PS + BE<sub>1h</sub>). A Quadro 1 descreve o procedimento experimental de cada grupo.

**Quadro 1.** Divisão dos grupos experimentais, conforme o tipo de tratamento e/ou procedimento

<b>Categorias de tratamento</b>	Sem privação de sono	Com privação de sono
Não receberam nenhum tipo de bebida energética	<b>C</b>	<b>PS</b>
Receberam uma dose de bebida energética 24 horas antes dos testes	<b>BE<sub>24h</sub></b>	<b>BE<sub>24h</sub> +PS</b>
Receberam uma dose de bebida energética 1 hora antes dos testes	<b>BE<sub>1h</sub></b>	<b>PS +BE<sub>1h</sub></b>

### 3.2.1 Bebida energética

A bebida utilizada contém em sua embalagem de 250 mL, 1000 mg de taurina, 80 mg de cafeína além de vitaminas e água. A quantidade de bebida energética administrada foi calculada de acordo com o peso do animal, sendo utilizada a dose de referência de 1,8 mL/kg (HOWARD e MARCZINSKI, 2010). A dose foi única e realizada via oral, pelo método de gavagem, conforme mostrado na figura 7.



**Figura 7:** Contenção de animal e procedimento de administração de substâncias pelo método de gavagem.

A administração da bebida foi realizada conforme grupo inserido; antes de começar a privação do sono ou depois de 24 horas de privação de sono. No caso dos grupos que não eram privados do sono a dose foi ingerida 24 horas ou uma hora antes da realização dos ensaios comportamentais.

### 3.2.2 Privação do Sono

A privação de sono foi efetuada por meio do aparelho de plataforma múltipla para impedir o relaxamento muscular, limitando o sono. O aparelho é feito de acrílico transparente mede 60 x 50 x 30 cm, possui 10 colunas com 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro, como mostrado na figura 8. A superfície das colunas são pequenas, permitindo que o animal sentem nelas, mas não deite ou durma, pois podem cair delas. As colunas são dispostas em 4 fileiras, espaçadas pelo menos 10 centímetros uma da outra, para permitir aos animais saltar de uma plataforma para outra, não impedindo a sua movimentação (MACHADO *et al.*, 2004).



**Figura 8:** Caixa de privação de sono pelo método de plataforma múltipla e seus suportes.

A plataforma foi coberta por 5 a 7 centímetros de água em temperatura ambiente  $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Foi colocada uma superfície áspera, para permitir aos animais saltar de uma plataforma para outra com melhor destreza, como observado na figura 9. Os ratos companheiros de gaiola, foram inseridos juntos na câmara para manutenção da estabilidade social (figura 10) e colocados cada um em cima de uma coluna, deixando pelo menos duas livres para a movimentação. As garrafas de água e ração foram alocadas na grade que tampa o aparelho de plataforma



múltipla. A privação de sono foi realizada por 24 horas consecutivas, sendo iniciada às 07:00hs AM, logo após o ciclo ativo dos ratos (SAADATI *et al.*, 2015).



**Figura 9:** Ratos se movimentando na Plataforma Múltipla.



**Figura 10:** Identificação de ratos na Plataforma Múltipla, observando as numerações nas caudas.

### 3.3 ENSAIOS COMPORTAMENTAIS

Após realizado o experimento, de acordo com o grupo inserido, todos os ratos foram avaliados por meio do Teste de Campo Aberto, do Labirinto em Cruz Elevado e da Esquiva Inibitória.

#### 3.3.1 Teste de Campo Aberto

Esse teste também chamado de *Open Field* (Figura 11), é realizado para avaliar a atividade locomotora do animal e é normalmente utilizado antes do LCE, com o objetivo de aumentar a exploração dos mesmos no labirinto. Consiste em uma arena em madeira (60 x 60 x 35 cm), onde o piso é dividido em nove quadrantes iguais. A atividade locomotora foi considerada quando o animal atravessava com as quatro patas em um dos quadrantes. Cada animal foi testado por um período de 5 minutos e foi contabilizado o número total de quadrantes que cada rato atravessou. Todos os experimentos foram conduzidos pela manhã, com o objetivo de evitar as variações circadianas, que poderiam interferir com os resultados experimentais (LUCENA *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2017).



**Figura 11:** Campo aberto usado para avaliação das movimentações dos animais.



### 3.3.2 Labirinto em cruz elevado (LCE)

O equipamento é feito de madeira, na forma de cruz, elevado 50 cm do chão com dois braços fechados e dois abertos, opostos entre si, medindo 50 x 10 x 40 cm cada e com cor preta na face interna. Neste teste, cada rato foi posicionado no centro do LCE, com a face voltada para um dos braços fechados e livre para explorar o equipamento por 5 min (figura 12). Um observador efetuou as anotações do número de entradas e do tempo de permanência dos animais em ambos os braços (LUCENA *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2017).

Após observar cada animal, o LCE foi limpo com álcool 70%. O efeito ansiolítico ou ansiogênico foi definido pelo aumento ou diminuição, respectivamente, na proporção das entradas nos braços abertos (EBA), relativo ao número total de entradas em ambos os braços, e no tempo de exploração nos braços abertos (TBA), relativo ao tempo dispensado em ambos os braços (PELLOW *et al.*, 1985).



**Figura 12:** Labirinto em Cruz Elevado utilizado para avaliação do comportamento relacionado à ansiedade em ratos.

### 3.3.3 Esquiva Inibitória do tipo “step-down”

É usada para avaliação da aprendizagem, memória de curta e longa duração (LUCENA *et al.*, 2013). O aparelho consiste em uma caixa de metal com uma face de acrílico transparente, medindo 50 x 25 x 25 cm, com uma plataforma à direita de

5 cm de altura, 8 cm de largura e 25 cm de comprimento. No lado esquerdo apresenta uma série de barras de alumínio, que constitui o assoalho da caixa, conectadas a um estimulador elétrico (figura 13).



**Figura 13:** Esquiva Inibitória utilizada para avaliação de aprendizagem/memória, com um monitor na lateral para controlar o tempo em que os animais permanecem na plataforma.

Os animais foram colocados na plataforma, e o tempo de latência para descer sobre a grade com as quatro patas foi medido em segundo com um dispositivo automático. Durante o treinamento, que foi realizado em uma sessão de no máximo 180 segundos, os animais receberam um choque de 0,4 mA, 1,0 seg nas patas, imediatamente após descer na grade. Durante as sessões de teste de memória, nenhum choque na pata foi administrado, e a latência de descida (180 segundos no máximo) foi utilizada como medida de retenção. A fim de avaliar a memória de curta duração (MCD) e aprendizagem, a sessão de testes foi realizada uma hora após o treino (LUCENA *et al.*, 2013).

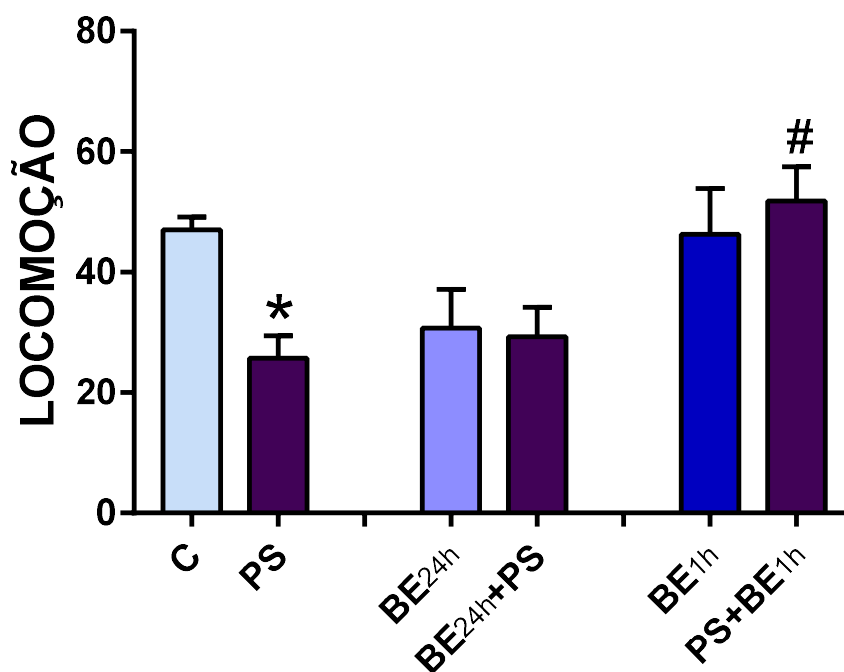
### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram organizados em planilha do Excel, expressos como a média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) de 7 animais por grupo. As comparações estatísticas foram realizadas pela Análise de Variância (ANOVA) de uma via e os grupos comparados entre si pelo teste post-hoc de Tukey ou Bonferroni. O “*p*” estipulado foi menor que 5%. Para tal, foi utilizado o software GraphPad Prism, v. 5.01®, 2010 (San Diego, CA).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 TESTE DO CAMPO ABERTO

A ANOVA de uma via mostrou que os resultados relacionados à locomoção apresentaram uma diferença estatisticamente significativa [ $F_{(5,41)} = 4,695$ ;  $p = 0,0021$ ] quando as avaliações foram feitas intra-categorias e intergrupos. Foi observado (Figura 14) que os animais privados do sono reduziram as locomoções quando comparados com os animais controles ( $p = 0,0472$ ). Na avaliação entre os grupos PS+BE<sub>1h</sub> e PS observou-se que o uso de bebida energética aumentou as ambulações dos animais ( $p = 0,0091$ ).



**Figura 14:** Avaliações comportamentais de ratos investigados no teste do campo aberto. \* $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação aos animais controles C não privados de sono. # $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação ao grupo PS privado de sono. C=Controle, PS= Privação de sono por 24 horas, BE<sub>24h</sub>= Bebida energizante administrada 24 horas antes das avaliações comportamentais, BE<sub>1h</sub>= bebida energizante administrada 1 hora antes das avaliações comportamentais (ANOVA, Teste de Tukey).

Nos animais que receberam bebida energética 24 horas antes dos testes sendo privado ou não do sono, foi observado uma menor movimentação, demonstrando que o efeito estimulante da bebida na hora do teste já tinha passado,

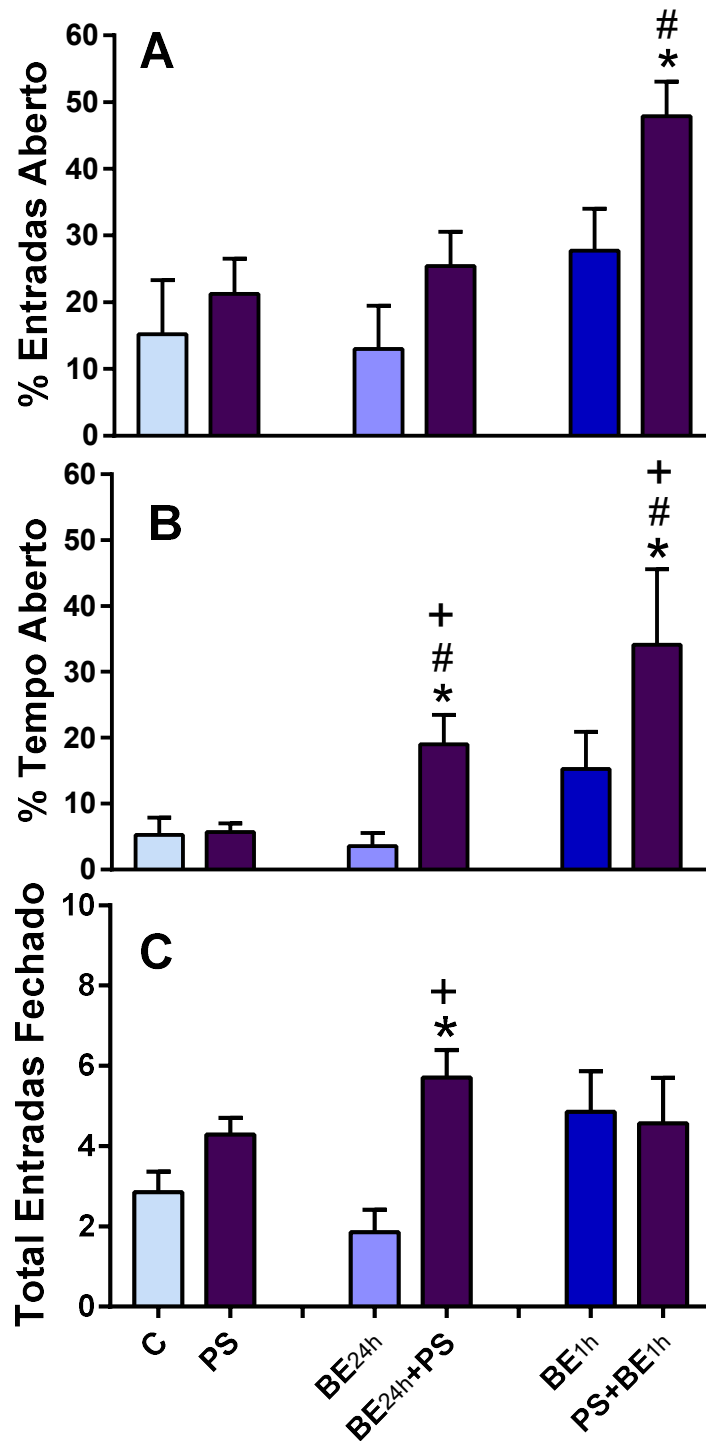
e estes apresentavam-se mais similares ao grupo controle e privação de sono. A análise intra-categorias BE<sub>24h</sub> e BE<sub>1h</sub> quando comparado com e sem a privação de sono, não houve nenhuma diferença significativa.

### 4.3 TESTE DO LCE

A ANOVA de uma via mostrou diferença significativa na análise das três variáveis analisadas no labirinto: porcentagem entradas nos braços abertos [ $F_{(5,41)}=3,271$ ;  $p= 0,0155$ ], porcentagem tempo nos braços abertos [ $F_{(5,41)} = 4,46$ ;  $p= 0,0029$ ] e frequência nos braços fechados [ $F_{(5,41)} = 2,469$ ;  $p= 0,05$ ].

Na porcentagem de entradas nos braços abertos (Figura 15A), os animais privados de sono que receberam a BE com uma hora antes dos testes comportamentais, apresentaram diferença em relação aos grupos C ( $p= 0,0172$ ) e PS ( $p= 0,0249$ ). Apesar de observado um maior registro de EBA dos animais que foram privados de sono essa diferença não foi significativa ( $p < 0,05$ ). Quanto ao uso de bebida energética foi observado que os animais que receberam a bebida com 24 horas antes dos testes tiveram um comportamento mais parecido com o grupo controle que quando comparado com os que receberam a bebida uma hora antes dos testes, contudo não houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

Como consequência dessa maior exploração, os animais do referido grupo PS+BE<sub>1h</sub> também passaram a permanecer mais tempo nos braços abertos (Figura 15B), quando comparados aos grupos controle ( $p= 0,0098$ ), privado de sono ( $p= 0,0114$ ) e ao seu grupo controle *per se* BE<sub>1h</sub> ( $p= 0,0393$ ). Comportamento similar foi observado com o grupo de animais que receberam BE antes da exposição por 24 horas ao aparato de Plataforma múltipla em relação aos grupos: C ( $p= 0,0135$ ), PS ( $p= 0,0175$ ) e BE<sub>24h</sub> ( $p= 0,0046$ ). Em relação a porcentagem de TBA e as demais comparações intergrupos não houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ).



**Figura 15:** Avaliações comportamentais de ratos investigados no teste do LCE. A) Porcentagem de entradas nos braços abertos; B) Porcentagem de tempo de permanência dos animais nos braços abertos; C) Frequência de entradas nos braços fechados. \* $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação ao grupo controle C; # $p \leq 0,05$  diferença em relação aos animais privados de sono PS; + $p \leq 0,05$  diferença em relação aos seus próprios controles BE per se (BE<sub>24h</sub> ou BE<sub>1h</sub>). C=Controle, PS= Privação de sono por 24 horas, BE<sub>24h</sub>= Bebida energizante administrada 24 horas antes das avaliações comportamentais, BE<sub>1h</sub>= bebida energizante administrada 1 hora antes das avaliações comportamentais (ANOVA, Teste de Tukey).

Ao analisar a entrada nos braços fechados (EBF) no LCE (Figura 15C), os animais pertencentes ao grupo PS+BE<sub>24h</sub> estavam muito agitados, o que favoreceu um efeito significativo em relação ao grupo C ( $p= 0,0470$ ) e BE<sub>24h</sub> ( $p= 0,0165$ ). Dessa maneira, esses resultados acabaram por interferir no tempo de permanência dos animais nos braços abertos do LCE. Em relação ao EBF, que representa a movimentação dos animais no aparato, apesar de observar uma maior movimentação dos animais privados de sono em relação ao controle, essa resposta não foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). O mesmo ocorre com os grupos BE<sub>1h</sub> e PS+BE<sub>1h</sub> que apesar de ter um maior número de entradas não houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

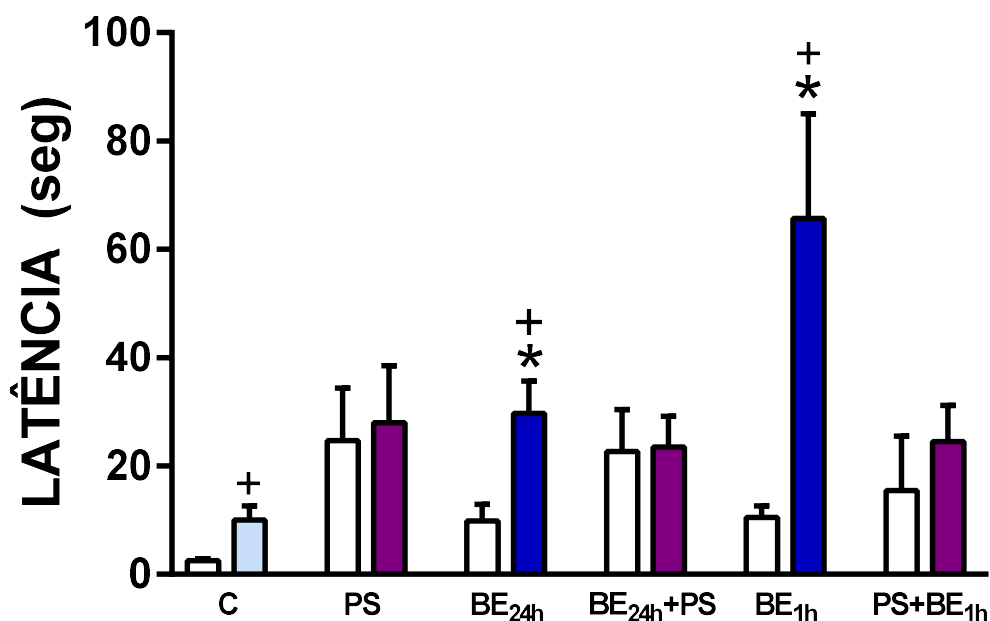
#### 4.4 TESTE DE ESQUIVA INIBITÓRIA

A ANOVA de uma via mostrou que os resultados relacionados à esQUIVA inibitória apresentaram uma diferença estatisticamente significativa [ $F_{(11,72)}= 0,3621$ ;  $p= 0,0003$ ] quando as avaliações foram feitas intragrupos (primeira e segunda medida) e intergrupos.

Analisando os resultados da esQUIVA inibitória (Figura 16) observou-se uma diferença quando as análises foram realizadas entre as duas latências de descida, sendo a primeira relacionada aos treinos (barras claras), onde os animais receberam um choque de 0,4 mA, por 1 segundo, e a segunda medida (barra colorida de cada grupo) refere-se à aprendizagem do animal. Quando se analisou o processo de aprendizagem e MCD, comparando primeira e segunda latência intragrupo, detectou uma diferença estatística para os grupos C ( $p= 0,0166$ ), BE<sub>24h</sub> ( $p= 0,005$ ) e BE<sub>1h</sub> ( $p= 0,0002$ ), sem quaisquer alterações no motor ou locomotor que fossem capazes de interferir na avaliação.

Quando avaliada a etapa de treino dos animais controles em relação a todos os demais grupos, não se detectou diferença ( $p < 0,05$ ) em decorrência da variação de resposta observada principalmente nos animais privados de sono. Esses ratos ao serem colocados na plataforma da esQUIVA permaneciam apáticos na maioria das vezes.

Na etapa da avaliação da aprendizagem, após receberem um choque de 0,4 mA/1 seg, na comparação dessas medidas entre os grupos os únicos que se pode observar diferença em relação aos controles foram os animais que receberam BE, com 24 horas ( $p= 0,0111$ ) ou uma hora ( $p= 0,0014$ ) antes dos testes experimentais.



**Figura 16:** Resposta de aprendizagem dos animais avaliados no teste da esQUIVA INIBITÓRIA, onde para cada tratamento, observa-se que as primeiras barras brancas representam o treino e a segunda barra representa o comportamento de aprendizagem. \* $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação ao controle (etapa da aprendizagem – segunda barra); + $p \leq 0,05$  representa diferença estatística em relação à resposta do treino de cada grupo de BE per se (com 24h ou 1h). C=Controle, PS= Privação de sono por 24 horas, BE<sub>24h</sub>= Bebida energizante administrada 24 horas antes das avaliações comportamentais, BE<sub>1h</sub>= bebida energizante administrada 1 hora antes das avaliações comportamentais (ANOVA, Teste de Bonferroni).

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que a privação de sono somada ao consumo agudo de bebida energética, administrada uma hora antes dos testes experimentais, é eficaz em apresentar efeito ansiolítico, enquanto a administração da bebida antes da privação de sono provoca uma resposta excitatória, caracterizada pelo aumento no número de ambulações nos braços fechados do labirinto. Esses regimes de tratamentos com a bebida *per se* também foram capazes de melhorar a aprendizagem, apesar de não terem sido eficazes para alterar as respostas comportamentais dos grupos privados de sono.

Atualmente os sujeitos experimentais de maior uso nas pesquisas são os ratos. Eles são predominantemente mais ativos durante a noite, dormindo em média 12 horas por dia. Os roedores têm presença de sono paradoxal durante o dia e a noite sendo, a maior parte dele, durante a fase clara. O sono desses animais está dividido em ondas lentas (com 2 estágios) e paradoxal (sono REM), sendo este dependente da postura e da temperatura. Os ciclos entre sono NREM e REM nos roedores dura 10 a 12 minutos. Em humanos ocorre uma prevalência de sono de ondas lentas ou sono NREM na primeira parte da noite e uma ocorrência maior do sono REM na segunda parte da noite. Nos ratos acontece o oposto, sendo no início da manhã maior presença de sono paradoxal e, com o iniciar da tarde aumenta o período de vigília. Apesar das diferenças, a neurobiologia é semelhante e tem sido muito estudada (PRINCE e ABEL, 2013). Tem sido mostrado que a supressão de sono em ratos adequado gera um conjunto complexo de efeitos comportamentais composto por ansiedade, mania, impulsividade, agressão e estresse (PIRES, *et al.*, 2016b; SUNG, 2017).

A ansiedade, principal comportamento avaliado nesta pesquisa, é um termo usado para descrever um estado emocional normal, associado com eventos estressantes ou ameaçadores, ou então associado com dificuldades psicológicas em condições patológicas. Como uma condição clínica, a ansiedade é passível de análise biológica de bases psicológicas e bioquímicas (FISCHER e EHLERT, 2018). Sabendo-se que os mecanismos neurais das respostas às circunstâncias



que induzem medo, provavelmente são similares em humanos e animais, modelos animais de ansiedade podem ter um bom valor preditivo das respostas nas desordens de ansiedade (HANDLEY, 1994).

Na atual pesquisa, a avaliação comportamental foi observada por meio de testes realizados com ratos no Campo Aberto e no LCE. Quando avaliados no labirinto, os ratos têm uma tendência natural a explorar o equipamento, permanecendo a maior parte do tempo em ambiente considerado seguro, no caso, os braços fechados. Baseado nesse tipo de resposta, é possível se avaliar um perfil de resposta relacionada à ansiedade. Um comportamento é considerado ansiolítico quando, o animal explora e/ou passa mais tempo nos braços abertos do labirinto. Ao contrário, o ansiogênico é quando há uma redução nessa exploração. Em ambas as condições (diminuição ou aumento da ansiedade), a frequência nos braços fechados não pode ser afetada (ALKADHI *et al.*, 2013; PIRES *et al.*, 2016b).

As pesquisas sobre privação de sono e ansiedade realizada com humanos tem sido observado um aumento da ansiedade, ou seja, efeito ansiogênico (PIRES *et al.*, 2016a). Entretanto não é isso que acontece com ratos, sendo que nestes o observado é o oposto (PIRES *et al.*, 2016b). Em nossos experimentos, os animais privados de sono não apresentarão efeito ansiolítico claramente, apesar de terem reduzido a ambulação quando avaliados no campo aberto e normalizarem quando expostos ao LCE. Sugere-se que este resultado contraditório pode ter sido em decorrência do tempo de latência que eles precisaram para recuperar suas atividades após 24 horas sem dormir, permanecendo em uma condição de apatia profunda e medo, induzido pela novidade, pode suprimir a exploração ou produzir fuga da nova situação (MONTGOMERY, 1955).

Após 5 minutos de exploração no campo aberto, quando foram expostos ao LCE, frente ao ambiente escuro do equipamento, por meio de suas paredes altas fechadas, e que lhes davam maior segurança, onde esse novo ambiente inibiu o medo inicial e o animal pode aumentar os níveis de exploração, sem afetar a frequência e tempo de exploração nos braços aberto (GRAY, 1977). Essa diminuição da locomoção de ratos privados de sono no campo aberto já foi descrita por Zhang (2017a) e Gonzalez-Castañeda e colaboradores (2016), entretanto no

estudo de Zhang (2017a) quando os ratos foram colocados no LCE estes permaneceram ativos (mantendo o número total de entradas parecido com o controle), mas apresentaram uma redução nas entradas e tempo de permanência nos braços abertos. Fato que pode ser explicado pela privação de sono que foi de maior tempo, 72 horas.

No estudo de Gonzalez-Castañeda e colaboradores (2016), os animais privados de sono por 48 e 96 horas permaneceram maior tempo nos braços abertos do labirinto e não apresentou diferença estatística quando comparado com o grupo controle, sendo semelhante ao presente estudo. Essas diferenças entre os resultados encontrados, sendo que alguns estudos apresentam efeito ansiolítico e outros não, já foi relatado por Pires e colaboradores (2016b) em sua revisão sistemática. Esta sugere que esses resultados contraditórios podem ser devido a privação de sono *per se* provocar um comportamento complexo composto por hiperatividade/mania.

Entende-se que muitos outros modelos envolvendo atividades locomotora e exploratória de roedores têm sido usados para avaliação da ansiedade, incluindo o labirinto em Y (GARCIA e ESQUIVEL, 2018; MARRIOTT e SPENCER, 1965), o campo aberto com orifícios no assoalho para exploração direcionada - “holeboard” (GOMEZ e GARCÍA-GARCÍA, 2017; NOLAN e PARKES, 1973; ZHANG *et al.*, 2017b) e a caixa claro-escuro (CRAWLEY e GOODWIN, 1980; ZHANG *et al.*, 2017b), pela rapidez do uso e não requererem equipamentos complexos e caros. No entanto, frente aos aparatos usados na presente pesquisa, não podemos descartar a possibilidade de resultados contraditórios que poderiam ter sido obtidos, quando da avaliação nesses modelos experimentais previamente citados.

O uso de bebidas contendo cafeína e taurina durante vigília prolongada reduz a sensação de fadiga e aumenta o vigor, inibindo ou bloqueando o impacto provocado pela privação de sono (GILES *et al.*, 2012; REYNER e HORNE, 2002). Em nossos experimentos, foi observado que o total da distância percorrida no teste de campo aberto foi reduzido nos animais privados de sono. Essa resposta, entretanto, foi normalizada, quando estes ingeriram a bebida energética após a privação de sono, corroborando com os achados de Giles e colaboradores (2012)

e de Reyne e Horne (2012). O aumento da locomoção ocorrido no campo aberto pelo grupo PS+BE<sub>1h</sub> e não observado no labirinto pode ser explicado devido a impulsividade aumentada gerada pela supressão de sono que induz a hiperatividade motora e que apenas num segundo momento, quando colocado o animal no labirinto que este apresentou uma diminuição de ansiedade sem impulsividade apresentada anteriormente (MCCOY e STRECKER, 2011; PIRES, *et al.*, 2016b).

Em nossos resultados, o energético somente modificou as respostas provocadas pela privação de sono na locomoção no LCE quando a bebida foi ingerida antes da PS. Sugere-se que o estado estimulante devido ao pico dos efeitos farmacocinético e farmacodinâmicos do grupo BE<sub>24h</sub>+PS já havia passado e que nessa fase estava sofrendo os efeitos da supressão de sono e por isso apresentou uma diminuição da exploração no campo aberto, induzido pelo medo à novidade, e num segundo momento, quando colocado no LCE o interesse pelo novo fez o animal se movimentar pelo aparelho (GRAY, 1977; MONTGOMERY, 1955).

Ardais e colaboradores (2014) encontrou ansiogênese em seu estudo realizado com ratos adolescentes e associado tratamento crônico (período maior que de 24-48 horas) e noturno de cafeína 0,1 (dose baixa), 0,3 (dose moderada) e 1 (dose alta) mg / mL, onde foi observado diminuição do número de entradas e tempo gasto nos braços abertos do LCE para todos os tratamentos com cafeína, e apenas no grupo com dose alta foi observado um aumento da distância total percorrida no campo aberto. Em nossa pesquisa, não foram observadas alterações nos grupos que utilizaram apenas a bebida energética, esses resultados contraditórios podem ser devido a forma de administração utilizada ser aguda de apenas uma dose de 0,3 mg / mL / kg, e no estudo de Ardais o tratamento foi crônico e não se calculou a quantidade de bebida ingerida. Em relação ao comportamento ansioso foi observado claramente um efeito ansiolítico apenas quando a bebida energética foi administrada após a privação de sono, observado devido um aumento da porcentagem de entradas e tempo de permanência nos braços abertos do LCE.

Assim, os efeitos da cafeína são dependentes de cada organismo e da dose consumida, uma vez que alguns organismos são mais suscetíveis que outros (CARVALHO *et al.*, 2006; BODENMANN *et al.*, 2012). O uso prolongado de bebidas contendo cafeína reduz sintomas de alterações da frequência cardíaca, pressão sanguínea ou fluxo de sangue nos tecidos, e quando em abstinência pode-se observar sensações de fadiga, cefaleia e náuseas (CARVALHO *et al.*, 2006). Todavia, essa diferença de concentrações e quantidade de cafeína utilizada nos estudos e a interferência da privação de sono pode ter gerado essas alterações aqui encontradas, visto que a cafeína contida na bebida energética, e sendo esta considerada o principal componente responsável pelo efeito estimulante, de alerta e potencializador de desempenho físico (GILES *et al.*, 2012; OWENS, MINDELL e BAYLOR, 2014) e a privação de sono em ratos responsável por gerar um complexo de efeitos comportamentais compostos por ansiedade, mania e impulsividade (Pires, *et al.*, 2016b).

A formação da memória é formada por três etapas aquisição, consolidação e recuperação. A codificação onde se tem o primeiro contato com a informação a ser aprendida. A consolidação que acontece durante o sono, onde a memória de curta duração se transforma em memória de longa duração. E a recuperação onde se resgata algo aprendido anteriormente (BEN-YAKOV, DUDAI e MAYFORD, 2015; MCCOY e STRECKER, 2011; PRINCE e ABEL, 2013). Neste trabalho utiliza-se apenas as etapas de aquisição e recuperação, configurando um aprendizado e aquisição de MCD, foi observado que a bebida energética foi capaz de intensificar o aprendizado, mas não foi suficiente para reverter a resposta da privação de sono.

É importante destacar que a ingestão de Red Bull melhorou o tempo de reação, desempenho nos testes de estresse mental e imediato de memória, fluência verbal e atenção (CAVKA *et al.*, 2015), Giles e colaboradores (2012) em estudo usando cafeína e taurina, aumenta o tempo de reação de escolha, mas reduz o tempo de reação nas memórias de trabalho, o que corrobora com o presente estudo, onde o uso de bebida energética foi capaz de melhorar a aprendizagem. Ardais e colaboradores (2014) também observou uma melhora na memória de reconhecimento de objetos nos animais que consumiram cafeína (0,3 e 1 mg / mL) por período prolongado, corroborando com o presente estudo apesar

deste ter sido utilizada apenas 1 dose de 0,3 mg / mL / kg administrada 24 ou 1 hora antes dos testes.

Corroborando com o presente estudo, Zhang e colaboradores (2017a), encontraram uma piora no reconhecimento de objetos em animais privados de sono por 72 horas. Contudo tem sido encontrado em diversos estudos que o uso de cafeína crônica ou de forma aguda melhora os sintomas da privação de sono, fato não observado nesta pesquisa.

Estudo de Wadhwa e colaboradores (2015) observou a administração por duas vezes de 60 mg / kg / dia preveniu o déficit no reconhecimento de objetos em ratos privados de sono por 48 horas. No mesmo modelo de estudo Sahu e colaboradores (2013) observou que a cafeína previne a queda da proliferação neuronal no giro denteado em ratos privados de sono. Alhaider e colaboradores (2010), em seu estudo com administração crônica de cafeína (0,3 g / L) diluído em água durante 4 semanas anteriores a privação de sono por 24 horas, observou que o uso crônico de cafeína preveniu o déficit de aprendizado e memória curta hipocampo dependente no labirinto radial aquático.

Com o mesmo modelo de estudo Alkadhi e Alhaider (2016), Alhaider e Açkadhi (2015), relata que a cafeína melhora a neuroplasticidade do hipocampo e giro denteado, respectivamente, de ratos privados de sono. Estudo realizado com laparoscopistas privados de sono, mostraram que o uso de cafeína e taurina restaurou o desempenho em laparoscopia simulada para níveis normais, melhorou o tempo de reação, mas não diminuiu os erros (AGGARWAL *et al.*, 2011). Apesar do uso de cafeína aumentar o estado de alerta e concentração devido a inibição do receptor da adenosina na fenda sináptica e a taurina evitar o estresse oxidativo, sendo um potente citoprotetor (CARVALHO *et al.*, 2006), no presente estudo o uso de cafeína não preveniu o déficit de aprendizagem/memória provocada pela privação de sono.

Esses efeitos contraditórios, podem talvez ser explicados pela presença da cafeína no conteúdo da bebida energética, uma vez que ela é considerada o principal componente responsável pelo efeito estimulante e de alerta (GILES *et al.*, 2012; OWENS, MINDELL e BAYLOR, 2014). Os efeitos da cafeína, entretanto, são

dependentes de cada organismo e da dose consumida, uma vez que alguns organismos são mais suscetíveis que outros (CARVALHO *et al.*, 2006; BODENMANN *et al.*, 2012). E pode-se observar que a dose utilizada foi menor que nos referidos estudo acima citados.

Apesar do que tem sido relatado na literatura, não se observou qualquer tipo de alteração nas respostas produzidas pelos animais privados de sono, quando da administração da bebida energética. Com isso, não se descarta a possibilidade de que as respostas decorrentes da privação de sono entre as espécies podem interferir biologicamente em algum aspecto, de tal forma que o energético na dose administrada, não foi capaz de alterar o perfil de resposta dos animais privados e avaliados no teste da esQUIVA inibitória, quando a avaliação foi realizada intragrupo, ou seja, em relação ao seu basal relacionado ao treino.

Um fator que não se pode deixar de considerar nos resultados aqui obtidos, é o fato dos animais terem sido investigados quando estavam com 2 meses de idade. Essa idade pode ser correlacionada à jovens adultos (menores de 30 anos) nos seres humanos (IMHOF *et al.*, 1993) sendo, portanto, a faixa de idade onde há um dos maiores consumos de energéticos com o intuito de gerar bem-estar, e qualidade de vida (ISHAK *et al.*, 2012; SORKIN *et al.*, 2014). O principal motivo do uso dessa bebida deve-se ao seu efeito estimulante.

Como exemplo dessa realidade é possível observar o seu consumo associado ao álcool, com intuito de minimizar o efeito depressivo da bebida alcoólica (CASUCCIO *et al.*, 2015; ISHAK *et al.*, 2012; SORKIN *et al.*, 2014), além do consumo no dia anterior a uma prova para manter acordado ou alerta ou no dia da prova após noite em claro, reduzindo os efeitos indesejados da sonolência e para reposição de energia (ISHAK *et al.*, 2012; OWENS, MINDELL e BAYLOR, 2014; USMAN, BHOMBAL e JAWAID, 2015). Em outra opção, ela também é utilizada para melhorar o desempenho físico (ALSUNNI, 2015; IBRAHIM e IFTIKHAR, 2014; SORKIN *et al.*, 2014).

No que se refere aos animais com 2 meses de idade, essa escolha foi também em decorrência deles apresentaram respostas sugestivas de baixos níveis de ansiedade, enquanto aqueles testados aos 4 meses de idade ou mais,

apresentaram respostas sugestivas de maiores níveis de ansiedade significativamente mais elevadas, independentemente do sexo. No entanto, aos 3 meses de idade, ratos machos apresentaram comportamento sugestivo de maiores níveis de ansiedade do que fêmeas (IMHOF *et al.*, 1993). Foi também verificado que no LCE, a resposta a drogas ansiolíticas ou ansiogênicas variou de acordo com a idade dos animais. Assim, o diazepam, droga ansiolítica, foi efetiva somente em animais de 4 meses, enquanto que o pentilenotetrazol, droga ansiogênica, foi efetiva preferencialmente em animais testados aos 2 meses, mostrando a dependência da idade nessa resposta (DA SILVA *et al.*, 1996).

Os efeitos colaterais decorrentes do consumo desse tipo de bebidas podem ser palpitações (35%), insônia (21%) e irritabilidade (20%) (CASUCCIO *et al.*, 2015). Estudos realizados com adolescentes em que foram observadas alterações comportamentais (VAN BATENBURG-EDDES *et al.*, 2014) e com possíveis consequências prejudiciais à saúde (ALSUNNI, 2015; IBRAHIM e IFTIKHAR, 2014; SORKIN *et al.*, 2014). Em nossa pesquisa, não consideramos o uso crônico da bebida, mas na dose aqui investigada não se observou nenhum efeito grave que pudesse comprometer os comportamentos avaliados.

## 6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, é possível sugerir que há uma possível interferência do consumo de bebida energizante decorrentes da privação de sono em um período de 24h, com base nos seguintes encontrados:

- As ambulações de animais privados de sono em um campo aberto são reduzidas durante os 5 primeiros minutos após o estresse decorrente de uma privação de 24h;
- O consumo de energético, antes da privação de sono, pode gerar um efeito excitatório no LCE, sem qualquer interferência quando administrado após a PS, conforme os dados observados nos braços fechados do labirinto;
- O consumo dessa substância estimulante, após a PS, foi capaz de induzir um efeito ansiolítico, conforme demonstrado pelo aumento na porcentagem de TBA e EBA no LCE;
- A privação de sono gera déficit na aprendizagem/memória e o uso de BE não foi capaz de reverter essa resposta da PS.
- A bebida energética, tomado em qualquer um dos momentos, pode melhorar significativamente a aprendizagem de animais.

Em nossos experimentos, apesar de tentarmos fazer uma correlação com os seres humanos, entende-se que muitos fatores comprometedores em uma análise comparativa deveriam ser levados em consideração, em uma abrangência muito maior do que as que foram aqui abordadas. Apesar disso podemos relatar que o uso de bebida energética de forma aguda visando minimizar os deficits da privação de sono não é eficaz em relação à memória/aprendizado, entretando gera um efeito ansiolítico quando administrado após o período de privação de sono. Pensando em um trabalhador em turnos pode é possíveln que ele tome um energetico para reduzir a ansiedade, mas observando um estudante que passa a noite revisando a matéria para ir fazer a prova, tomar o energético em qualquer dos momentos não vai ajudá-lo na aprendizagem/memorização.



Em nossos experimentos, trabalhou-se com numero reduzido de animais levando em conta as diretrizes disposta pelo CEUA, o que pode ter limitado alguns aspectos observados. Utilizou-se ratos machos e com aproximadamente 2 meses de idade, as variações entre sexo e idade se fossem mais abrangentes, e seus aspectos hormonais poderiam ser um vies nas respostas observadas e constituir em um leque de alternativas para um estudo muito mais aprofundado do que nossa proposta aqui apresentada. Levando em consideração algumas limitações da pesquisa um leque de alternativas pode ser proposto para experimentos futuros: análise entre machos e fêmeas, adolescentes e adultos, utilizar outros modelos experimentais de analise de comportamento e cognição, e até aprofundar nas análises bioquímicas morfofuncionais das principais áreas cerebrais envolvidas com emoções e cognições.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGARWAL, R.; MISHRA, A.; CROCHET, P RIMANNA, P.; DARZI, A.. Effect of caffeine and taurine on simulated laparoscopy performed following sleep deprivation. **The British journal of surgery**, v. 98, n. 11, p. 1666-72, 2011.

ALFORD, C.; COX, H.; WESCOTT, R. The effects of red bull energy drink on human performance and mood. **Amino acids**, v. 21, n. 2, p. 139-50, 2001.

ALHAIDER , I. A.; ALEISA, A. M.; TRAN, T. T.; ALKANDHI, K. A. Caffeine prevents sleep loss-induced deficits in long-term potentiation and related signaling molecules in the dentate gyrus. **The European journal of neuroscience**, v. 31, n. 8, p. 1368-76, 2010.

ALHAIDER, I. A.; AÇKADHI, K. A. Caffeine treatment prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced impairment of late-phase long-term potentiation in the dentate gyrus. **The European journal of neuroscience**, v. 42, n. 10, p. 2843-50, 2015.

ALKADHI, K. A.; ALHAIDER, I. A. Caffeine and REM sleep deprivation: Effect on basal levels of signaling molecules in area CA1. **Molecular and cellular neurosciences**, v. 71, p. 125-31, 2016.

ALKADHI, K.; ZAGAAR, M.; ALHAIDER, I.; SALIM, S.; ALEISA, A. Neurobiological consequences of sleep deprivation. **Current Neuropharmacology**, v. 11, p. 231-49, 2013.

ALSUNNI, A. A. Energy Drink Consumption: Beneficial and Adverse Health Effects. **International journal of health sciences**, v. 9, n. 4, p. 468-74, 2015.

ARDAIS, A. P.; BORGES, F. M.; ROCHA, A. S.; SALLABERRY, C.; CUNHA, R. A.; PORCIÚNCULA, L. O. Caffeine triggers behavioral and neurochemical alterations in adolescent rats. **Neuroscience**, v. 270, p. 27-39, 2014.

AURORA, R. N. CRAINICEANU, C.; CAFFO, B.; PUNJABI, N. M. Sleep-disordered breathing and caffeine consumption: results of a community-based study. **Chest**, v. 142, n. 3, p. 631-8, 2012.

BENTIVOGLIO, M.; GRASSI-ZUCCONI, G. The pioneering experimental studies on sleep deprivation. **Sleep**, v. 20, n. 7, p. 570-6, 1997.

BEN-YAKOV, A.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. Memory Retrieval in Mice and Men. **Cold Spring Harb Perspect Biol.**, v. 7, n. 12, p. 1-28 , 2015.

BODENMANN, S.; HOROFF, C.; FREITAG, C.; DECKERT, J.; RÉTEY, J. V.; BACHMANN, V.; LANDOLF, H. P. Polymorphisms of ADORA2A modulate psychomotor vigilance and the effects of caffeine on neurobehavioural performance and sleep EEG after sleep deprivation. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 6, p. 1904-13, 2012.

BONNET , M. H.; ARANT, D. L. Clinical Effects of sleep fragmentation versus sleep deprivation. **Sleep Medicine Reviews**, v. 7, p. 297-310, 2003.

BOONSTRA, T. W.; STINS, J. F.; DAFFERTSHOFER, A.; BEEK, P. J. Effects of sleep deprivation on neural functioning: an integrative review. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, n. 7-8, p. 934-46, 2007.

BROWN, C. A.; WIELANDT, P.; WILSON, D.; JONES, A.; CRICK, K. Healthcare providers' knowledge of disordered sleep, sleep assessment tools, and nonpharmacological sleep interventions for persons living with dementia: a national survey. **Sleep Disorders**, v. 2014, n. 286274, p. 1-9, 2014.

BURKE, L. M. Caffeine and sports performance. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 33, n. 6, p. 1319-34, 2008.

CARVALHO, J. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H.; RODRIGUES, S. Perfil dos principais componentes em bebidas energéticas: cafeína, taurina, guaraná e glucoronolactona. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 65, n. 2, p. 78-85, 2006.

CASUCCIO, A.; BONANNO, V.; CATALANO, R.; CRACCHIOLO, M.; GIUGNO, S.; SCIUTO, V.; IMMORDINO, P. Knowledge, Attitudes, and Practices on Energy Drink

Consumption and Side Effects in a Cohort of Medical Students. **Journal of addictive diseases**, v. 34, n. 4, p. 274-83, 2015.

CAVKA, A.; STUPIN, M.; PANDURIC, A.; PLAZIBAT, A.; COSIC, A.; RASIC, L.; DRENJANCEVIC, I. Adrenergic system activation mediates changes in cardiovascular and psychomotoric reactions in young individuals after Red Bull energy Drink consumption. **International Journal of Endocrinology**, v. 2015, p. 751530, 2015.

CHAVOSHI, F.; EINOLLAHI, B.; SADEGHNIAT HAGHIGHI, K.; SARA EI, M.; IZADIANMEHR, N. Prevalence and sleep related disorders of restless leg syndrome in hemodialysis patients. **Nephro-Urology Monthly**, v. 7, n. 2, p. e24611, 2015.

COLAVITO, V.; FABENE, P. F.; GRASSI-ZUCCONI, G.; PIFFERI, F.; LAMBERTY, Y.; BENTIVOGLIO, M.; BERTINI, G. Experimental sleep deprivation as a tool to test memory deficits in rodents. **Frontiers in Systems Neuroscience**, v. 7, n. 106, p. 1-17, 2013.

CRAWLEY, J. N.; GOODWIN, F. K. Preliminary report of a simple animal behavior model for anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 13, n. 2, p. 167-70, 1980.

DA SILVA, N.L.; FERREIRA, V.M.M.; CAROBREZ, A.P.; MORATO, G.S. Social isolation modifies the performance of young rats in the elevated plus maze apparatus. **Physiology & Behavior**, v. 60, p. 1391-6, 1996.

DAVIES, S. K.; ANG, J. E.; REVELL, V. L.; HOLMES, B.; MANN, A.; ROBERTSON, F. P.; SKENE, D. J. Effect of sleep deprivation on the human metabolome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.**, v. 111, n. 29, p. 10761-6, 2014.

DIEKELMANN, S. Sleep for cognitive enhancement. **Frontier in Systems Neuroscience**, v. 8, n. 46, p. 1-12, 2014.

DORRIAN, J.; PATERSON, J.; DAWSON, D.; PINCOMBE, J.; GRECH, C.; ROGERS, A. E. Sleep, stress and compensatory behaviors in Australian nurses and midwives. **Revista de saúde pública**, v. 45, n. 5, p. 922-30, 2011.

ESTEVES, A. M.; SILVA, A.; BARRETO, A.; CAVAGNOLI, D. A.; ORTEGA, L. S.; PARSONS, A.; MELLO, M. T. Avaliação da qualidade de vida e do sono de atletas paralímpicos brasileiros. **Revista Brasileira Medicina Esporte**, v. 21, n. 1, p. 53-6, 2015.

EUGENE, A. R.; MASIAK, L. The Neuroprotective Aspects of Sleep. **MEDtube Science**, v. 3, n. 1, p. 35-40, 2015.

FISCHER S.; EHLERT U. Hypothalamic-pituitary- thyroid (HPT) axis functioning in anxiety disorders. A systematic review. **Depress Anxiety**, v. 35, n. 1, p. 98-110, 2018.

GANHITO, N. C. P. **Distúrbios do sono**. São Paulo: Casa do Psicólogo, v. Coleção Clínica Psicanalítica, 2001.

GARCIA, Y.; ESQUIVEL, N. Comparison of the Response of Male BALB/c and C57BL/6 Mice in Behavioral Tasks to Evaluate Cognitive Function. **Behav Sci (Basel)**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2018.

GARCIA, A. N.; SALLOUM, I. M. Polysomnographic sleep disturbances in nicotine, caffeine, alcohol, cocaine, opioid, and cannabis use: A focused review. **The American Journal on Addictions**, v. 24, n. 7, p. 590-8, 2015.

GEIGER-BROWN, J.; ROGERS, V. E.; TRINKOFF, A. M.; KANE, R. L.; BAUSELL, R. B.; SCHARF, S. M. Sleep, sleepiness, fatigue, and performance of 12-hour-shift nurses. **Chronobiology International**, v. 29, n. 2, p. 211-9, 2012.

GILES, G. E.; MAHONEY, C. R.; BRUNYÉ, T. T.; GARDONY, A. L.; TAYLOR, H. A.; KANAREK, R. B. Differential cognitive effects of energy drink ingredients: caffeine, taurine, and glucose. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 102, n. 4, p. 569-77, 2012.

GIRI, P.; BAVISKAR, M.; PHALKE, D. Study of sleep habits and sleep problems among medical students of pravara institute of medical sciences Ioni, Western maharashtra, India. **Annals of Medical and Health Sciences Research**, v. 3, n. 1, p. 51-4, 2013.

GISKEØDEGÅRD, G. F.; DAVES, S. K.; REVELL, V. L.; KEUN, H.; SKENE, D. J. Diurnal rhythms in the human urine metabolome during sleep and total sleep deprivation. **Scientific reports.**, v. 5, n. 14843, p. 1-11, 2015.

GOMEZ, F.; GARCÍA-GARCÍA, L. Anxiogenic-like effects of fluoxetine render adult male rats vulnerable to the effects of a novel stress. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 153, p. 32-44, 2017.

GONZALEZ-CASTAÑEDA, R. E.; GALVEZ-CONTRERAS, A. Y.; MARTINEZ-QUEZADA, C. J.; JAUREQUI-HUERTA, F.; GARCIA-ESTRADA, J.; RAMOS-ZUÑIGA; GONZALEZ-PEREZ. Sex-related effects of sleep deprivation on depressive- and anxiety-like behaviors in mice. **Experimental Animals**, v. 65, n. 1, p. 97-107, 2016.

GRASSER, E. K.; YEPURI, G.; DULLOO, A. G.; MONTANI, J. P. Cardio-and cerebrovascular responses to the energy drink Red Bull in young adults: a randomized cross-over study. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 7, p. 1561-71, 2014.

GRAY, J. Drug effects on fear and frustration. Possible limbic site of action of minor tranquilizers, in **Handbook of Psychopharmacology: Drugs, Neurotransmitters and Behavior** (Iversen, L.L.; Iversen, S.D. and Snyder, S.H., eds), Plenum, New York, v. 8, p. 433-529, 1977.

HARROSON, J.; HORNE, J. A.; ROTHWELL, A. Prefrontal neuropsychological effects of sleep deprivation in young adults--a model for healthy aging? **Sleep**, v. 23, n. 8, p. 1067-73, 2000.

HAEFELY, W.E. The GABAA-benzodiazepine receptor complex -and anxiety. In: **Anxiety. Psychobiological and Clinical Perspectives**. Sartorius, N.; Andreoli,

V.; Cassano, G.; Eisenberg, L.; Kielholz, P.; Pancheri, P.; Racagni, G. (eds). Hemisphere Publishing Corporation, New York, 23-36, 1990.

HANDLEY, S.L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of "fear"-motivated behavior. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 327, p.1-5, 1984.

HANDLEY, S. Future prospects for the pharmacological treatment of anxiety. **CNS Drugs**, v. 2, p. 397-414, 1994.

HARTLEY, S. L.; BARDOT, F.; MACHOU, M.; LEJAILLE, M.; MOREAU, B.; VAUGIER, I.; QUERA-SALVA, M. A. Combined caffeine and bright light reduces dangerous driving in sleep-deprived healthy volunteers: a pilot cross-over randomised controlled trial. **Neurophysiologie Clinique**, v. 43, n. 3, p. 161-9, 2013.

HILDITCH, C. J.; DORRIAN, J.; BANKS, S. Time to wake up: reactive countermeasures to sleep inertia. **Industrial health.**, v. 54, n. 6, p. 528-41, 2016.

HOWARD, M. A.; MARCZINSKI, C. A. Acute effects of a glucose energy drink on behavioral control. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, v. 18, n. 6, p. 553-61, 2010.

IBRAHIM, N. K.; IFTIKHAR, R. Energy drinks: Getting wings but at what health cost? **Pakistan journal of medical sciences**, v. 30, n. 6, p. 1415-9, 2014.

IMHOF, J.T.; COELHO, Z.M.I.; SCHMITT, M.L.; MORATO, G.S.; CAROBREZ, A.P. Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus-maze apparatus. **Behavioural Brain Research**, 56: 177-180, 1993.

ISHAK, W. W.; UGOCHUKWU, C.; BAGOT, K.; KHALILI, D.; ZAKY, C. Energy drinks: psychological effects and impact on well-being and quality of life-a literature review. **Innovations in clinical neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 25-34, 2012.

JACOBS, M. L.; DAUVILLIERS, Y.; ST LOUIS, E. K.; MCCARTER, S. J.; ROMENETS, S. R.; PELLETIER, A.; POSTUMA, R. B. Risk Factor Profile in Parkinson's Disease Subtype with REM Sleep Behavior Disorder. **Journal of Parkinson's disease**, v. 6, n. 1, p. 231-7, 2016.

KAMIMORI, G. H.; MCLELLAN, T. M.; TATE, C. M.; VOSS, D. M.; NIRO, P.; LIEBERMAN, H. R. Caffeine improves reaction time, vigilance and logical reasoning during extended periods with restricted opportunities for sleep. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 12, p. 2031-42, 2015.

KHEIRANDISH-GOZAL, L.; MCMANUS, C. J.; KELLERMANN, G. H.; SAMIEI, A.; GOZAL, D. Urinary neurotransmitters are selectively altered in children with obstructive sleep apnea and predict cognitive morbidity. **Chest**, v. 143, n. 6, p. 1576-83, 2013.

KILLGORE, ; GRUGLE, L.; BALKIN, T. J. Gambling when sleep deprived: don't bet on stimulants. **Chronobiology international**, v. 29, n. 1, p. 43-54, 2012.

KILLGORE, W. D.; KAMIMORI, G. H.; BALKIN, T. J. Caffeine improves the efficiency of planning and sequencing abilities during sleep deprivation. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 35, n. 5, p. 660-2, 2014.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios?** conceitos fundamentais da neurociência. São Paulo: Atheneu, 2a. edição, 2010.

LISTER, R.G. The use of plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, p. 180-185, 1987.

LIIRA, J.; VERBEEK, J. H.; COSTA, G.; DRISCOLL, T. R.; SALLINEN, M.; ISOTALO, L. K.; RUOTSALAINEN, J. H. Pharmacological interventions for sleepiness and sleepdisturbances caused by shift work (Review). **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 12, n. 8, p. 1-84, 2014.

LOVATO, N.; GRADISAR, M.; SHORT, M.; DOHNT, H.; MICIC, G. Delayed sleep phase disorder in an Australian school-based sample of adolescents. **Journal of clinical Sleep Medicine**, v. 9, n. 9, p. 939-44, 2013.

LUCENA, G. M.; PORTO, F. A.; CAMPOS, E. G.; AZEVEDO, M. S.; CECHINEL-FILHO, V.; PREDIGER, R. D.; FERREIRA, V. M. Cipura paludosa attenuates long-term behavioral deficits in rats exposed to methylmercury during early development. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 6, p. 1150-8, 2010.



LUCENA, G. M.; PREDIGER, R. D.; SILVA, M.; SANTOS, S.; SILVA, J.; SANTOS, A.; FERREIRA, V. Ethanolic extract from bulbs of *Cipura paludosa* reduced long-lasting learning and memory deficits induced by prenatal methylmercury exposure in rats. **Developmental Cognitive Neuroscience**, v. 3, p. 1-10, 2013.

MACHADO, R. B.; HIPÓLIDE, D. C.; BENEDITO-SILVA, A. A.; TUFIK, S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. **Brain Research**, v. 1004, n. 1-2, p. 45-51, 2004.

MARRIOTT, A. S.; SPENCER, P. S. J. Effects of centrally acting drugs on exploratory behaviour in rats. **British Journal Of Pharmacology**, v. 25, n. 2, p. 432-41, 1965.

MCCOY, J. G.; STRECKER, R. E. The cognitive cost of sleep lost. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 96, n. 4, p. 564-82, 2011.

MCHILL, A. W.; SMITH, B. J.; WRIGHT, K. P. J. Effects of caffeine on skin and core temperatures, alertness, and recovery sleep during circadian misalignment. **Journal of Biological Rhythms**, v. 29, n. 2, p. 131-43, 2014.

MELLO, T.; ESTEVES, A. M.; COMPARONI, A.; BENEDITO-SILVA, A. A.; TUFIK, S. Avaliação do padrão e queixas relativas ao sono, cronotipo e adaptação ao fuso horário dos atletas brasileiros participantes da Paraolimpíada em Sidney. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 8, n. 3, p. 122-8, 2002.

MESQUITA, G.; REIMÃO, R. Stress and sleep quality in high school Brazilian adolescents. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 2, p. 545-551, 2010.

MOHAMMED, H. S.; ABOUL EZZ, H. S.; KHADRAWY, Y. A.; NOOR, N. A. Neurochemical and electrophysiological changes induced by paradoxical sleep deprivation in rats. **Behavioural brain research.**, v. 225, n. 1, p. 39-46, 2011.

MONTGOMERY, K.C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 48, p. 254-260, 1955.

MOTA, M. C.; DE-SOUZA, D. A.; ROSSATO, L. T.; SILVA, C. M.; ARAÚJO, M. B.; TUFIK, S.; CRISPIM, C. A. Dietary patterns, metabolic markers and subjective sleep measures in resident physicians. **Chronobiology Internacional**, v. 30, n. 8, p. 1032-41, 2013.

NARCISO, F.; TEIXEIRA, C.; SILVA, L.; KOYAMA, R.; CARVALHO, A.; ESTEVES, A.; MELLO, M. Maquinistas ferroviários: trabalho em turnos e repercussões na saúde. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, São Paulo, v. 39, n. 130, p. 198-209, 2014.

NARCISO, F. V.; BARELA, J. A.; AGUIAR, S. A.; CARVALHO, A.; TUFIK, S.; DE MELLO, M. T. Effects of Shift Work on the Postural and Psychomotor Performance of Night Workers. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, p. 1-11, 2016.

NILSSON, J. P.; SÖDERSTRÖM, M.; KARLSSON, A. U.; LEKANDER, M.; AKERSTEDT, T.; LINDROTH, N. E.; AXELSSON, J. Less effective executive functioning after one night's sleep deprivation. **Journal of Sleep Research**, v. 14, n. 1, p. 1-6, 2005.

NOLAN, N. A.; PARKES, M. W. The effects of benzodiazepines on the behaviour of mice on a hole-board. **Psychopharmacology**, v. 29, n. 3, p. 277-88, 1973.

OWENS, J. A.; MINDELL, J.; BAYLOR, A. Effect of energy drink and caffeinated beverage consumption on sleep, mood, and performance in children and adolescents. **Nutrition Reviews**, v. 72 Suppl 1, p. 65-71, 2014.

PACE-SCHOTT, E. F.; GERMAIN, A.; MILAD, M. R. Sleep and REM sleep disturbance in the pathophysiology of PTSD: the role of extinction memory. **Biology of Mood & Anxiety Disorders**, v. 5, n. 3, p. 1-19, 2015.

PALMER, C. A.; ALFANO, C. A. Sleep and emotion regulation: An organizing, integrative review. **Sleep Medicine Reviews**, v. 31, p. 6-16, 2017.

PELLOW, S. CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plusmaze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, n. 3, p. 149-67, 1985.

PIRES, G. N.; BEZERRA, A. G.; TUFIK, S.; ANDERSEN, M. L. Effects of acute sleep deprivation on state anxiety levels: a systematic review and meta-analysis. **Sleep Medicine**, v. 24, p. 109-18, 2016a.

PIRES, G. N.; BEZERRA, A. G.; TUFIK, S.; ANDERSEN, M. L. Effects of experimental sleep deprivation on anxiety-like behavior in animal research: Systematic review and meta-analysis. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 68, p. 575-89, 2016b.

PRINCE, T.-M.; ABEL, T. The impact of sleep loss on hippocampal function. **Learning & Memory**, v. 20, n. 10, p. 558-69, 2013.

PYLKKÖNEN, M.; SIHVOLA, M.; HYVÄRINEN, H. K.; PUTTONEN, S.; HUBLIN, C.; SALLINEN, M. Sleepiness, sleep, and use of sleepiness countermeasures in shift-working long-haul truck drivers. **Accident Analysis and Prevention**, v. 80, p. 201-10, 2015.

RAJARATNAM, S. ; HOWARD, M. E.; GRUNSTEIN, R. R. Sleep loss and circadian disruption in shift work: health burden and management. **The Medical Journal of Australia**, v. 199, n. 8, p. 11-5, Oct 2013.

RED BULL MEDIA HOUSE GMBH. Red Bull Energy Drink. **Red Bull**, 2017. Disponível em: <<http://energydrink-br.redbull.com/>>. Acesso em: 25 apr 2017.

REYNER, L. A.; HORNE, J. A. Efficacy of a 'functional energy drink' in counteracting driver sleepiness. **Physiology & Behavior**, v. 75, n. 3, p. 331-5, 2002.

REYNER, L. A.; HORNE, J. A. Sleep restriction and serving accuracy in performance tennis players, and effects of caffeine. **Physiology & Behavior**, v. 120, n. 93, p. 93-6, 2013.

RIBEIRO M. C.; BEZERRA T. D. S.; SOARES A. C.; BOECHAT-RAMOS R.; CARNEIRO F. P.; VIANNA L. M. S.; FARO L. R. F.; SILVA M. V. D.; VIEIRA M. P.; MONTEIRO I. O.; FERREIRA V. M. Hippocampal and cerebellar histological changes and their behavioural repercussions caused by brain ischaemic hypoxia

experimentally induced by sodium nitrite. **Behav Brain Res.** 2017 [Epub ahead of print]

RIPPS, H.; SHEN, W. Review: Taurine: A “very essential” amino acid. **Molecular. Molecular Vision**, v. 18, p. 2673-86, 2012.

RUGGIERO, J. S.; AVI-ITZHAK, T. Sleep Patterns of Emergency Department Nurses on Workdays and Days Off. **The Journal of Nursing Research**, v. 24, n. 2, p. 173-80, 2016.

SAADATI, H.; ESMAEILI-MAHANI, S.; ESMAEILPOUR, K.; NAZERI, M.; MAZHARI, S.; SHEIBANI, V. Exercise improves learning and memory impairments in sleep deprived female rats. **Physiology & Behavior**, v. 138, p. 285-91, 2015.

SAHU, S.; KAUSER, H.; RAY, K.; KISHORE, K.; KUMAR, S.; PANJWANI, U. Caffeine and modafinil promote adult neuronal cell proliferation during 48 h of total sleep deprivation in rat dentate gyrus. **Experimental neurology**, v. 248, p. 470-81, 2013.

SARMA, M. K.; NAGARAJAN, R.; MACEY, P. M.; KUMAR, R.; VILLABLANCA, J. P.; FURUYAMA, J.; THOMAS, M. A. Accelerated echo-planar J-resolved spectroscopic imaging in the human brain using compressed sensing: a pilot validation in obstructive sleep apnea. **AJNR. American journal of neuroradiology**, v. 35, n. 6 Suppl, p. S81-9, 2014.

SCHAEFER, E. W.; WILLIAMS, M. V.; ZEE, P. C. Sleep and circadian misalignment for the hospitalist: a review. **Journal of Hospital Medicine**, v. 7, n. 6, p. 489-96, 2012.

SORKIN, B. C.; CAMP, K. M.; HAGGANS, C. J.; DEUSTER, P. A.; HAVERKOD, L.; MARUVADA, P.; COATES, P. Executive summary of NIH workshop on the Use and Biology of Energy Drinks: Current Knowledge and Critical Gaps. **Nutrition reviews**, v. V. 72 Suppl, p. p. 1-8, 2014.

SOUISSI, M.; CHTOUROU, H.; ABEDELMALEK, S.; GHOZLANE, I. B.; SAHNOUN, Z. The effects of caffeine ingestion on the reaction time and short-term maximal

performance after 36 h of sleep deprivation. **Physiology & Behavior**, v. 131, p. 1-6, 2014.

SUNG, Y.-H. Study on emotion by rest time in mice with repetitive sleep deprivation. **Journal of Exercise Rehabilitation**, Seoul, v. 13, n. 2, p. 143-147, 2017.

THOMAS, M.; SING, H.; BELENKY, G.; HOLCOMB, H.; MAYBERG, H.; Dannals, R.; REDMOND, D. Neural basis of alertness and cognitive performance impairments during sleepiness. I. Effects of 24 h of sleep deprivation on waking human regional brain activity. **Journal of Sleep Research**, v. 9, n. 4, p. 335-52, 2000.

USMAN, A.; BHOMBAL, S. T.; JAWAID, A. Energy drinks consumption practices among medical students of a Private sector University of Karachi, Pakistan. **Journal of Pakistan Medical Association**, v. 65, n. 9, p. 1005-7, 2015.

VAN BATENBURG-EDDES, T.; LEE, N. C.; WEEDA, W. D.; KRABBENDAM, L.; HUIZINGA, M. The potential adverse effect of energy drinks on executive functions in early adolescence. **Frontiers in psychology**, v. 5, n. 457, p. 1-9, 2014.

WADHWA, M.; SAHU, S.; KUMARI, P.; KAUSER, H.; RAY, K.; PANJWANI, U. Caffeine and modafinil given during 48 h sleep deprivation modulate object recognition memory and synaptic proteins in the hippocampus of the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 294, p. 95-101, 2015.

WAITS, W. N.; GANZ, M. B.; SCHILLREFF, T.; DELL, P. J. Sleep and the use of energy products in combat environment. **U.S. Army Medical Department Journal**, p. 22-8, 2014.

WALIA, H. K.; HAYES, A. L.; PRZEPYSZNY, K. A.; KARUMANCHI, P.; PATEL, S. R. Clinical presentation of shift workers to a sleep clinic. **Sleep Breath**, v. 16, n. 2, p. 543-7, 2012.

YANG, R. H.; HU, S. J.; WANG, Y.; ZHANG, W. B.; LUO, W. J.; CHEN, J. Y. Paradoxical sleep deprivation impairs spatial learning and effects membrane

excitability and mitochondrial protein in the hippocampus. **Brain Research**, v. 1230, p. 224-32, 2008.


YOUNGBLOOD, B. D.; ZHOU, J.; SMAGIN, G. N.; RYAN, D. H.; HARRIS, R. B. Sleep Deprivation by the "Flower Pot" Technique and Spatial Reference Memory. **Physiology & Behavior**, v. 61, n. 2, p. 249–56, 1997.

ZHANG, K.; LI, Y.; FENG, D.; ZHANG, P.; WANG, Y.; LI, X.; ZHAO, M. Imbalance between TNF $\alpha$  and progranulin contributes to memory impairment and anxiety in sleep-deprived mice. **Scientific Reports**, v. 7, n. 43594, p. 1-12, 2017a.


ZHANG, R.; ASSAI, M.; MAHONEY, C. E.; JOACHIM, M.; SHEN, Y.; GUNNER, G.; MAJZOUB, J. A. Loss of hypothalamic corticotropin-releasing hormone markedly reduces anxiety behaviors in mice. **Mol Psychiatry**, v. 22, n. 5, p. 733-44, 2017b.

## ANEXO

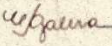
## DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO CEUA

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


Brasília, 17 de maio de 2016.

  
**DECLARAÇÃO**


Declaramos que o projeto intitulado “**INTERFERÊNCIA DO CONSUMO DE BEBIDA ENERGÉTICA NA MODULAÇÃO DAS RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS E COGNITIVAS DECORRENTES DA PRIVAÇÃO DE SONO, EM RATOS.**”, UnBDoC n.º 9656/2016, sob responsabilidade do Professor Carlos Eduardo Ventura Gaio 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*: 24 machos. A presente aprovação é válida pelo período de 07/03/2016 a 08/03/2019.



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.

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

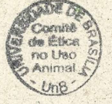
Brasília, 30 de novembro de 2016.

**DECLARAÇÃO (ADENDO)**

Declaramos que o projeto intitulado “**INTERFERÊNCIA DO CONSUMO DE BEBIDA ENERGÉTICA NA MODULAÇÃO DAS RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS E COGNITIVAS DECORRENTES DA PRIVAÇÃO DE SONO, EM RATOS.**”, UnBDoC n.º 9656/2016, sob responsabilidade do Professor Carlos Eduardo Ventura Gaio 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*: 48 machos. A presente aprovação é válida pelo período de 07/03/2016 a 08/03/2019.



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.