



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Renata da Silva Quaresma Rabello

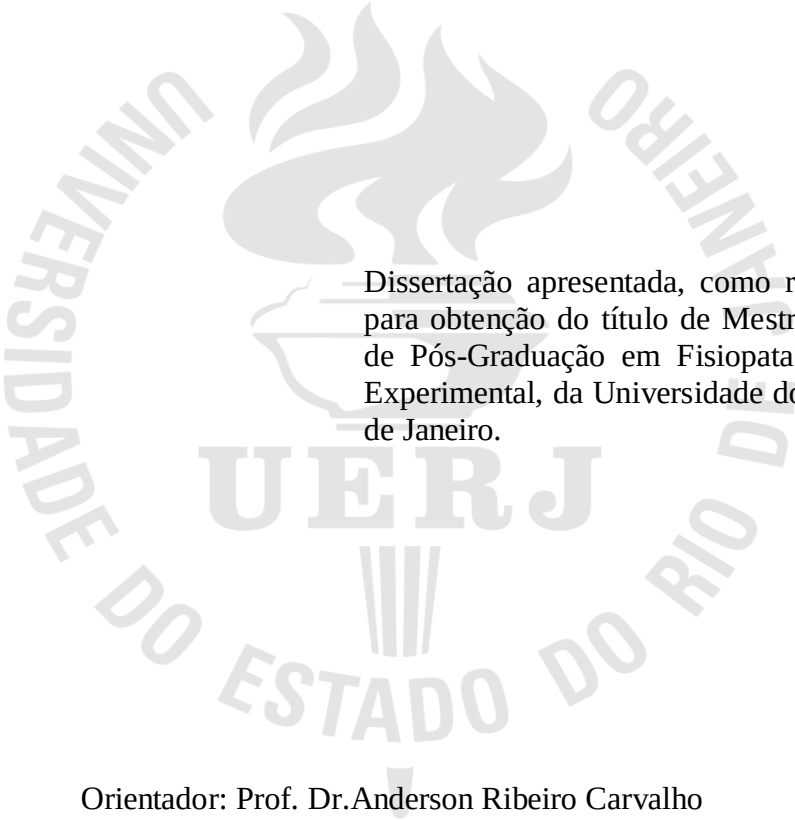
**Qual é o risco do consumo combinado de bebidas energéticas e etanol?
Efeitos comportamentais em camundongos adolescentes**

Rio de Janeiro

2015

Renata da Silva Quaresma Rabello

Qual é o risco do consumo combinado de bebidas energéticas e etanol? Efeitos comportamentais em camundongos adolescentes



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Claudio Carneiro Filgueiras

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

R114 Rabello, Renata da Silva Quaresma.

Qual é o risco do consumo combinado de bebidas energéticas e etanol?
Efeitos comportamentais em camundongos / Renata da Silva Quaresma
Rabello. – 2015.
87 f.

Orientador: Anderson Ribeiro Carvalho.
Coorientador: Claudio Carneiro Filgueiras.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e
Experimental.

1. Álcool - Adolescência - Teses. 2. Etanol. 3. Bebidas energéticas. 4.
Aprendizagem - Teses. 5. Memória - Teses. 6. Atividade motora. I. Carvalho,
Anderson Ribeiro. II. Filgueiras, Claudio Carneiro. III. Universidade do Estado
do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 613.81-053.6

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta
dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Renata da Silva Quaresma Rabello

Qual é o risco do consumo combinado de bebidas energéticas e etanol? Efeitos comportamentais em camundongos adolescentes

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 22 de maio de 2015.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho

Faculdade de Formação de Professores – UERJ

Coorientador: Prof. Dr. Claudio Carneiro Filgueiras

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Paula Campello Costa Lopes

Universidade Federal Fluminense

Dra. Viviane Younes Rapozo

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Yael de Abreu Villaça

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos eternamente amados, Lourdes e Claudio, em memória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela oportunidade de viver esta experiência profissional tão importante e pelo sustento diante de todas as dificuldades que se apresentaram ao longo desta jornada.

Aos meus amados pais, por toda dedicação, amor e apoio. Vocês são minha força para seguir em frente, devo esta e todas as minhas conquistas a vocês.

Ao meu esposo, companheiro e confidente, Guilherme Rabello por estar ao meu lado em todos os momentos, incentivando, compreendendo e me fazendo sorrir. Que possamos sempre nos impulsionar a alcançar o melhor de nós. É um prazer trilhar esta jornada ao teu lado.

À minha querida amiga Karla Cristina Pêpe de Freitas (Karlíha), por seu suporte tanto na minha vida profissional quanto pessoal. Amo você e sua família.

Às minhas queridas amigas Ana Cristina Carvalho (Cris) e Ana Heloísa Medeiros (Ana), pela parceria de todas as horas e pelos incríveis momentos de conversas que sempre terminam em muitas risadas.

À minha querida parceira de trabalho Helen Schiboula, por sua amizade e suporte nas horas mais difíceis. Sua colaboração foi extremamente valiosa para mim. Muito obrigada por tudo.

Aos colegas de trabalho Sávio, Jemima, Fabiana, Silvio e André, que colaboraram compartilhando seu conhecimento. Obrigada.

Aos chefes do laboratório de Neurofisiologia, Yael e Alex, pelo aprendizado e oportunidade de fazer parte dessa equipe.

Ao meu querido orientador Anderson Ribeiro. Sou muito grata por poder realizar esse trabalho sob a sua orientação. Agradeço por toda compreensão e apoio mesmo nos momentos mais complicados. Muito obrigada!

RESUMO

RABELLO, Renata da Silva Quaresma. *Qual é o risco do consumo combinado de bebidas energéticas e etanol? Efeitos comportamentais em camundongos adolescentes*. 2015. 87f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

O uso combinado de etanol e bebidas energéticas tem aumentado entre adolescentes. Além disso, estudos epidemiológicos indicam que o co-uso aumenta a probabilidade de consumo abusivo e dependência de etanol. Apesar disso, pouco se sabe sobre as consequências neurocomportamentais da co-exposição no cérebro adolescente. Este estudo tem como objetivo avaliar o curso temporal dos efeitos agudos da exposição à bebida energética e/ou etanol na atividade motora e ansiedade no teste de campo aberto, como também, os efeitos agudos ou prolongados sobre aprendizagem/memória e coordenação motora em camundongos adolescentes. Camundongos Suíços foram divididos em 4 grupos: bebidas energéticas e etanol, bebida energética, etanol e água. Três estudos separados foram conduzidos para avaliar cada um dos objetivos específicos deste trabalho. No primeiro estudo, realizado em PN40, os animais receberam a administração de bebida energética (8 ml/kg) e/ou etanol (4 g/kg) por gavagem e após 55 minutos foram submetidos ao teste do campo aberto (sessão 1). Outras duas sessões foram realizadas em sequência usando a metade da dose inicial (sessão 2 e 3). Nos estudos 2 e 3, estudamos os efeitos agudos (PN40) e crônicos (exposição de PN30-40) sobre o teste de esquiwa passiva (0,3 mA, 3 s) e sobre o desempenho no teste do cilindro giratório (sessão de treinamento e após 1 e 3 horas da gavagem das drogas). Em ambos os casos, a dose de bebida energética (8 ml/kg) e/ou etanol (4 g/kg) foi administrada. No teste da esquiwa passiva, as sessões de treino e retenção foram realizadas 1 e 24 horas após a administração da droga, respectivamente. No teste do Rotarod, cada sessão foi constituída por 5 tentativas em modelo de aceleração contínuo (4 a 40 rpm/min em uma tentativa de 2 min). Os nossos dados indicam que a exposição concomitante a bebida energética potencializa o efeito de hiperatividade induzido pelo etanol, como também, gera uma resposta ansiogênica no teste do campo aberto. A exposição aguda ao etanol induz déficit de memória/aprendizagem que não é revertida pela BE. A co-exposição aguda a bebida energética e etanol prolongou incoordenação motora induzida pelo etanol. No entanto, a bebida energética reverteu o comprometimento da coordenação motora gerada pela exposição crônica de etanol em camundongos fêmeas. O presente estudo fornece evidência experimental de que bebida energética e etanol interagem durante a adolescência, resultando em padrões de comportamento que poderiam aumentar o risco de desenvolvimento de abuso ou dependência de etanol. Além disso, os dados indicaram que a exposição aguda à bebida energética não atenuou as consequências negativas geradas pelo etanol no desempenho do motor e cognitivo.

Palavras-chave: Adolescência. Etanol. Bebidas energéticas. Memória e aprendizagem. Atividade locomotora.

ABSTRACT

RABELLO, Renata da Silva Quaresma. *What is the risk of the combined consumption of energy drinks and ethanol? Behavioral effects in adolescent mice*. 2015. 87f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The combined use of ethanol and energy drinks has increased among adolescents. Furthermore, epidemiological studies indicate that the co-use increases the likelihood of abuse and ethanol dependence. Nevertheless, little is known about the neurobehavioral effects of co-exposure in adolescent brain. This study aims to evaluate the time course of the acute effects of exposure to energy drink and / or ethanol in motor activity and anxiety in the open field test, but also acute or prolonged effects on learning/memory and motor coordination in mice teens. Swiss mice were divided into 4 groups: ethanol and energy drinks, energy drinks, ethanol and water. Three separate studies were conducted to evaluate each of the specific objectives of this work. In the first study, conducted in PN40, animals received the energy drink administration (8 ml/kg) and / or ethanol (4 g/kg) by gavage and after 55 minutes were subjected to the open field test (session 1). Other two sessions were conducted in sequence using half of the initial dose (session 2 and 3). In trials 2 and 3, we studied the acute effects (PN40) and chronic (exposure PN30-40) on the passive avoidance test (0.3 mA, 3s) and the test performance of the rotary cylinder (training session and 1 and 3 hours after the gavage of drugs). In both cases, the dose of energy drink (8 ml/kg) and / or ethanol (4 g/kg) was administered. In the test of passive avoidance training sessions and the retention were made 1 and 24 hours after drug administration, respectively. In the Rotarod test, each session consisted of 5 trials continuous acceleration model (4 to 40 rpm / min in an attempt to 2 min). Our data indicate that the concurrent exposure to energy drink enhances the effect hyperactivity induced by ethanol, as also, it generates an anxiogenic response in the Open Field test. Acute ethanol exposure induces memory/learning deficits that is not reversed by BE. Acute co-exposure to energy drink and ethanol prolonged incoordination induced by ethanol. However, energy drink reversed the impairment of motor coordination generated by chronic exposure of ethanol in female mice. This study provides experimental evidence that energy drink and ethanol interact during adolescence, resulting in behavioral patterns that could increase the risk of abuse or dependence on ethanol. In addition, the data indicated that acute exposure to energy drink did not attenuate the negative consequences generated by ethanol in motor performance and cognitive.

Keywords: Adolescence. Ethanol. Energy drinks. Memory and learning. Locomotor activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Representação esquemática da molécula de etanol	16
Figura 2 –	Representação esquemática da molécula de cafeína	22
Figura 3 –	Representação esquemática da molécula de taurina	23
Figura 4 –	Foto da caixa de atividade de campo aberto	29
Figura 5 –	Esquema do tratamento e teste de campo aberto	30
Figura 6 –	Foto Rotarod	31
Figura 7 –	Esquema do tratamento e teste de Rotarod.....	31
Figura 8 –	Esquiva Passiva	32
Figura 9 –	Esquema do tratamento e teste de esquiva passiva	33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Concentração plasmática de etanol nos animais submetidos ao modelo de exposição progressiva as drogas.....	35
Gráfico 2 –	Ambulação total por sessão de teste do campo aberto.....	36
Gráfico 3 –	Tempo de latência de saída do centro da arena no teste de campo aberto.....	37
Gráfico 4 –	Ambulação por intervalo na segunda sessão experimental no teste do campo aberto.....	37
Gráfico 5 –	Ambulação por intervalo na terceira sessão experimental no teste do campo aberto.....	38
Gráfico 6 –	Tempo de latência de saída do centro da arena no teste do campo aberto.....	39
Gráfico 7 –	Ambulação total corrigida no centro da arena por sessão de teste do campo aberto (quadrados percorridos no centro/ ambulação total).....	40
Gráfico 8 –	Ambulação corrigida no centro da arena do teste do campo aberto (quadrados percorridos no centro/ ambulação total).....	41
Gráfico 9 –	Concentração plasmática de etanol nos animais submetidos ao modelo de exposição aguda após 1 hora e após 3 horas da gavagem.....	42
Gráfico 10 –	Efeitos da exposição aguda das drogas sobre aprendizado/memória no teste de esquiwa passiva.....	43
Gráfico 11 –	Efeitos da exposição aguda das drogas sobre o desempenho motor no teste do Rotarod.....	45
Gráfico 12 –	Concentração plasmática de etanol nos animais submetidos ao modelo de exposição crônica após 1 hora e após 3 horas da gavagem.....	46
Gráfico 13 –	Massa corporal dos animais ao longo do período de exposição crônica as drogas.....	47
Gráfico 14 –	Efeitos da exposição aguda das drogas sobre aprendizado/memória no teste de esquiwa passiva.....	48
Gráfico 15 –	Efeitos da exposição crônica das drogas sobre o desempenho motor no teste do Rotarod.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A1	Receptores de adenosina do subtipo A1
A2A	Receptores de adenosina do subtipo A2A
ADH	Álcool desidrogenase
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BE	Bebida energética
BE+ETOH	Bebidas energéticas e etanol
BEC	Concentração de etanol em sangue (do inglês: <i>blood ethanol concentration</i>)
CEUA	Comissão de Ética na Utilização de Animais
ETOH	Etanol
FLSD	<i>Fisher's Least Significant Difference Test</i>
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GABAA	Ácido gama-aminobutírico do subtipo A
N	Número amostral
NMDA	Receptores para o glutamato do tipo N-metil-D-aspartato
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Valor de prova
PN21	Dia de vida pós-natal
PN30	21º dia de vida pós-natal
PN40	30º dia de vida pós-natal
PN	40º dia de vida pós-natal
rANOVA	Análise de Variância com repetição
SNC	Sistema Nervoso Central
Tau	Taurina
uANOVA	Análise de Variância univariada
VEH	Animais tratados somente com água

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	12
1	OBJETIVOS	26
2	METODOLOGIA.....	27
2.1	Animais	27
2.2	Tratamento	27
2.3	Testes comportamentais	28
2.3.1	<u>Teste de campo aberto</u>	<u>28</u>
2.3.2	<u>Teste de cilindro giratório</u>	<u>30</u>
2.3.3	<u>Teste de esQUIVA passiva inibitória (<i>Step Down Passive Avoidance</i>)</u>	<u>32</u>
2.4	Dosagem de álcool em sangue	33
2.5	Análise estatística	34
3	RESULTADOS	35
3.1	Estudo 1 - Efeito da exposição aguda progressiva do etanol, bebidas energéticas e sua interação	35
3.1.1	<u>Concentração plasmática de etanol (BEC)</u>	<u>35</u>
3.1.2	<u>Efeitos sobre o comportamento no teste do campo aberto</u>	<u>35</u>
3.2	Estudo 2 - Efeitos agudos do etanol, bebidas energéticas e sua interação ...	42
3.2.1	<u>Concentração plasmática de etanol (BEC)</u>	<u>42</u>
3.2.2	<u>Efeitos sobre aprendizado/memória no teste de esQUIVA passiva</u>	<u>42</u>
3.2.3	<u>Efeitos sobre o desempenho e aprendizado motor no teste do cilindro giratório (Rotarod)</u>	<u>43</u>
3.3	Estudo 3 - Efeitos crônicos do etanol, bebidas energéticas e sua interação .	44
3.3.1	<u>Concentração plasmática de etanol (BEC)</u>	<u>44</u>
3.3.2	<u>Efeito sobre a massa corporal</u>	<u>45</u>
3.3.3	<u>Efeitos sobre aprendizado/memória no teste de esQUIVA passiva</u>	<u>46</u>
3.3.4	<u>Efeitos sobre o desempenho e aprendizado motor no teste do cilindro giratório</u>	<u>48</u>
4	DISCUSSÃO	50
4.1	Resumos dos resultados	50
4.2	Modelo de exposição ao etanol e interações farmacocinéticas entre etanol e bebidas energéticas: Efeitos agudos e da exposição crônica	52
4.3	Interações da exposição crônica ao etanol e BE sobre a massa corporal	54
4.4	Bebidas energéticas potencializam o efeito de hiperatividade	

	desencadeada pelo etanol durante a adolescência	55
4.5	Exposição combinada ao etanol e BE promovem efeito ansiogênico	57
4.6	Bebidas energéticas não foram capazes de reverter amnésia provocada pela exposição aguda e crônica ao etanol	59
4.7	Bebidas energéticas não reverterem prejuízos no aprendizado motor provocado pela exposição aguda ao etanol, mas possuem efeitos protetores sobre o desempenho em administrações crônicas	61
	CONCLUSÕES.....	63
	REFERÊNCIAS	64

INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde indivíduos acima de 15 anos de idade consomem cerca de 6,2 litros de álcool por ano (Global status report on alcohol and health, 2014). A maior taxa de consumo ocorre na Europa e nas Américas (Global status report on alcohol and health, 2014). No Brasil, 52% dos brasileiros beberam pelo menos uma vez no último ano. Entre adolescentes, 35% admitem utilizar bebida alcoólica pelo menos uma vez por ano e 24% bebem pelo menos uma vez por mês (Laranjeira *et al.*, 2007). Apesar da comercialização de bebidas alcoólicas ser proibida para menores de 18 anos (Lei nº 9294, 15 de Julho de 1996), o consumo é comum entre adolescentes e o primeiro contato com o álcool tem acontecido cada vez mais cedo (Pechansky *et al.*, 2004). Sabe-se que o uso precoce do etanol acarreta em prejuízos para a saúde do jovem e aumenta a probabilidade de dependência. Este dado é particularmente importante se considerarmos que o sistema nervoso do adolescente encontra-se em desenvolvimento e tal processo pode ser afetado por fatores externos, incluindo o consumo de etanol e outras substâncias.

As bebidas energéticas foram desenvolvidas com a finalidade de aumentar a disposição física e a concentração, posteriormente, a cafeína e carboidratos foram adicionados à sua composição. Atualmente estas bebidas são vendidas em mais de 160 países e seu consumo tem aumentado, se tornado um hábito frequente e bastante popular entre adolescentes (Heckman *et al.*, 2010. Alford *et al.*, 2001). Apesar da popularidade, ainda existem poucos estudos sobre os efeitos desta bebida em adolescentes na literatura.

Uma prática comum que tem chamado atenção de pesquisadores e profissionais da saúde é o uso combinado de bebidas energéticas com álcool com a finalidade de anular os efeitos depressores do etanol sobre o sistema nervoso central. Muitos usuários destas bebidas relatam a diminuição da sonolência e maior disposição. Porém, alguns estudos têm demonstrado uma forte associação entre a utilização das bebidas energéticas com um consumo mais intenso de álcool e uma maior frequência das consequências do seu uso abusivo, como dirigir embriagado, internação hospitalar e exposição a outras situações de risco (Attwood, 2012; Marczinski, 2010). Apesar disso, são poucos os estudos experimentais em modelos animais que avaliam as possíveis interações entre as bebidas energéticas e o etanol sobre a função cerebral em adolescentes.

Desenvolvimento do sistema nervoso adolescente

A adolescência é um período de oscilações emocionais e comportamentais devido a mudanças hormonais, físicas e das relações sociais. Sabe-se que nesta fase acontecem as primeiras experiências como a iniciação da vida sexual e a experimentação de drogas, e este é um dos períodos em que o sistema nervoso encontra-se mais suscetível à interferência de agentes externos (Spear, 2000). Muitos estudos associam o contato precoce com álcool e outras drogas ao maior risco de dependência na vida adulta e a experiências sexuais desprotegidas ou mesmo violência (Breyer & Winters, 2011.). Neste período do desenvolvimento ocorrem importantes alterações morfológicas e funcionais no cérebro, fator que é determinante para definir as características cerebrais e comportamentais da vida adulta.

Dentre as regiões cerebrais ainda em desenvolvimento durante a adolescência estão o córtex pré-frontal, envolvido na capacidade de fazer julgamentos, de controlar impulsos, prever consequências e no estabelecimento de planos e metas; o núcleo acumbente, responsável direto pelo comportamento motivacional relacionado com o sistema de recompensa; e a amígdala, que atua na integração entre experiências agradáveis e aversivas a reações emocionais (Breyer & Winters, 2011). Tal imaturidade justifica diversas características comportamentais típicas da adolescência, como a preferência por atividades que geram grande excitação e necessitam de pouco esforço, reações desproporcionais a diversas situações, impulsividade e a fraca capacidade de julgamento (Breyer & Winters, 2011).

Na infância o volume da substância cinzenta aumenta atingindo seu nível mais alto em um período próximo a puberdade (Spear, 2000). Ao longo da adolescência o lobo frontal e parietal apresentam um declínio gradual de volume, já a substância branca apresenta crescimento linear que pode durar até os 30 anos de idade. Experimentos mostram que a tendência durante a adolescência é a diminuição da substância cinzenta e o afinamento da zona cortical, o que pode indicar que as sinapses produzidas em excesso na infância estão sendo eliminadas, demonstrando que o cérebro adolescente ainda passa por grande transformação (Spear, 2012).

Outro processo intensificado durante esta fase consiste na mielinização dos axônios (Spear, 2012). A mielina consiste em substância lipoproteica originada por determinados tipos de glíócitos, os oligodendrócitos e as células de Schwann. Os oligodendrócitos e as células de Schwann se enrolam nos axônios formando a bainha de mielina que atua como isolante das

membranas axonais, potencializando a eficiência cerebral do adolescente ao melhorar a velocidade de fluxo de informações entre regiões mais distantes e, desta maneira, apresentando uma relação estreita com o processo de aprendizagem (Paus *et al.*, 2008). O córtex não sofre mielinização homogênea em todas as suas regiões. Sabe-se que as regiões corticais mielinizadas primariamente controlam análises sensoriais e movimentos simples, enquanto as áreas mielinizadas durante as fases mais tardias irão controlar as funções mentais mais complexas (Kolb, 2002). Além destas modificações, foi encontrado que a resposta a estímulos aversivos é menos intensa em adolescentes quando comparados a adultos, isto provavelmente se deve ao fato da amígdala e o córtex serem menos ativados em adolescentes (Spear, 2012). Entretanto, também foi visto que a amígdala do adolescente é mais responsiva a estímulos emocionais (Spear, 2012). Um aspecto adicional é a maior predisposição dos adolescentes a assumir riscos, o que segundo Spear (2012), é uma característica evolutivamente positiva, já que permite ao adolescente a experimentação de comportamentos adultos, porém, também os torna mais suscetíveis a situações perigosas, como dirigir embriagado, praticar sexo sem proteção, iniciar em práticas criminosas e a experimentação de drogas.

Em particular, a vulnerabilidade do adolescente a dependência de drogas associa-se aos neurocircuitos motivacionais imaturos, que incluem o córtex pré-frontal e a amígdala (Potenza, 2013). No entanto, assim como os neurocircuitos, as experiências pessoais e os fatores de predisposição genética não podem ser descartados como fatores fundamentais nesta questão (Potenza, 2013).

Efeitos neurológicos e comportamentais da exposição ao etanol

As bebidas alcoólicas têm origem no período Neolítico com o surgimento da atividade agrícola e a invenção da cerâmica. A partir de então o álcool passou a ser consumido de diferentes maneiras por diversas culturas, sendo observados registros de como produzir e consumir bebidas por parte dos celtas, gregos, romanos, egípcios e babilônios (Bertoni, 2006; Vaillant, 1999). Mediante ao advento da industrialização, o álcool passou a ser comercializado e seu consumo moderado foi aceito socialmente (Bertoni, 2006; Bloomfield *et al.*, 2003). Embora seu consumo tenha ampla aceitação, o álcool é a 3ª causa de mortalidade em países desenvolvidos (OMS, 2005). Ademais, no Brasil, é apontado como

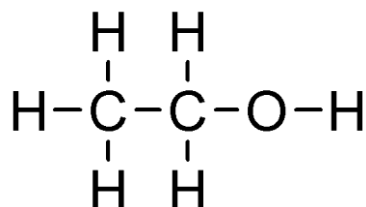
uma das maiores causas de absenteísmo (Nascimento, 2004) no trabalho e responsável por acidentes de trabalho e automobilísticos (Quaglia, 2004; IML-SP, 1999), se tornando uma causa de perdas econômicas além de um problema de saúde pública quando utilizado indiscriminadamente (Bau, 2002; OMS, 2002a).

Atualmente, diversos países estabelecem uma idade mínima para o consumo de álcool, nos EUA é de 21 anos, variando em alguns estados. No Brasil, as vendas são proibidas para menores de 18 anos, ainda assim, pesquisas revelam que cerca de 48,3% de jovens entre 12-17 anos já fizeram uso de álcool (Carlini *et al.*, 2001). Estudos mostram que a iniciação e a manutenção do consumo dessas bebidas por parte dos jovens relaciona-se com expectativas formadas até mesmo antes da primeira experimentação, como a exposição a propagandas, modelos parentais ou de grupos de pares, que levam a uma idealização sobre os efeitos do álcool sobre a sua vida. Embora seja prática comum entre jovens, diversas pesquisas demonstram que há maior tendência ao desenvolvimento de dependência quanto mais cedo ocorre o primeiro uso do etanol (Araújo & Gomes, 1998; Trindade & Correia, 1999; Silva *et al.*, 2012). Além disso, o consumo precoce de etanol também está associado a maior taxa de mortalidade, relações sexuais desprotegidas e acidentes entre adolescentes e adultos jovens (Araújo & Gomes, 1998; Trindade & Correia, 1999; Silva *et al.*, 2012).

O etanol ou álcool etílico é o principal substrato encontrado em bebidas alcoólicas e consiste em uma pequena molécula formada por dois sítios reativos com uma cadeia curta de carbono e um grupamento hidroxila (Figura 1). A cadeia de carbono participa de interações hidrofóbicas fracas, enquanto o grupamento hidroxila forma ligações de hidrogênio, um tipo de interação intermolecular forte. É uma substância hidrossolúvel e com rápida difusão pela barreira hematoencefálica (Goodman & Gilman, 2006; Scivoletto & Malbergier, 2003). Seu mecanismo de ação é complexo e envolve a alteração da fluidez das membranas celulares, sendo capaz de interferir em diferentes sistemas de neurotransmissão. (Ly & Longo, 2004; Pinsky & Bessa, 2008; Rang *et al.* 2007; Katzung, 2006). Seu metabolismo ocorre primariamente no estômago, intestino delgado e fígado (Lieber, 2000). As taxas de absorção do etanol variam de acordo com o tempo de esvaziamento gástrico e do início da absorção intestinal (Lieber, 2000; Scivoletto & Malbergier, 2003) e o pico plasmático da droga também é influenciado pelo sexo, massa e idade do indivíduo (SENAD, 2005). Em sua metabolização o etanol é oxidado principalmente pela álcool desidrogenase (ADh) e uma pequena parte é oxidada pela isoforma do citocromo P450 (Zeigler *et al.*, 2004). Cada um destes passos produzirá metabólitos específicos e resultam na produção de acetaldeído, que é tóxico ao organismo (Vieira, 2012). O acetaldeído pode causar desnaturação de proteínas, peroxidação

lipídica e alterações da exocitose, também resultam na redução dos níveis de glutathiona (um dos sistemas de proteção hepática) e aumenta o efeito tóxico de radicais livres (Vieira, 2012).

Figura 1 - Representação esquemática da molécula de etanol



Fonte: Wikipedia, 2008. Acessado na página https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Ethanol_flat_structure.png

Embora sejam legalmente aceitas, as bebidas alcoólicas são classificadas como drogas psicotrópicas, ou seja, atuam sobre o sistema nervoso central causando alterações no comportamento, cognição e humor, sendo passíveis de causar dependência. Sua ação se dá através de diversos mecanismos, como a interferência sobre canais iônicos, receptores de neurotransmissores e através da sinalização celular (Carlini *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2012; Zeigler *et al.*, 2004), tais ações causam mudanças na função sináptica e na plasticidade (Zorumski *et al.*, 2014; Carlini *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2012; Zeigler *et al.*, 2004). Seus efeitos são conhecidos por potencializar a ação do maior inibidor do sistema nervoso, o ácido gama-aminobutírico (GABA), assim como, inibir a ação do glutamato, neurotransmissor excitatório (Carlini *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2012; Zeigler *et al.*, 2004). Tal dinâmica justifica os efeitos depressores do álcool, sendo dose-dependente. Quando utilizado de maneira aguda seus efeitos aparecem em uma fase estimulante, na qual o indivíduo apresenta desinibição, fica mais falante e eufórico. Já os efeitos depressores são caracterizados por sonolência, descontrole emocional ou dificuldade de julgamento, falta de coordenação motora e, em caso de consumo exacerbado, o indivíduo pode entrar em estado de intoxicação alcoólica aguda (Carlini *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2012; Zeigler *et al.*, 2004). A intoxicação aguda é caracterizada por dificuldade para falar, labilidade emocional e em ocasiões mais drásticas manifesta-se o estado comatoso, caracterizado por: hipotensão, arreflexia, atonia, midriase, pulso lento e hipotermia (Carlini *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2012; Zeigler *et al.*, 2004). Estado este que em muitas vezes leva à morte (Carlini *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2012; Zeigler *et al.*, 2004). Dentre as alterações promovidas a curto e longo prazo pelo etanol destacam-se danos a função cognitiva e sobre o controle motor.

Etanol, memória e aprendizagem.

A memória é o mecanismo pelo qual as informações são codificadas, armazenadas e recuperadas e constitui uma fase da aprendizagem (Kandel, 2000). Esta, por sua vez, é um processo pelo qual adquirimos novas informações e pode ser dividida em etapas distintas: aquisição, retenção por período de tempo determinado e recordação (Sargent & Stafford, 1965). A memória caracteriza-se pelo arquivamento seletivo desses dados e estes podem ser evocados de maneira consciente (explícita) ou inconsciente (implícita), relacionada a funções sensoriomotoras (Lent, 2010; Izquierdo, 2011; Kandel, 2000). A memória também pode ser classificada de acordo com o tempo de disponibilidade das informações, sendo a memória de trabalho aquela que dura de segundos a minutos, memória de curta duração que pode ser acessada em termo de horas, memória de longa duração que dura por dias, meses ou anos (Lent, 2010; Izquierdo, 2011; Kandel, 2000). Os processos envolvidos com a formação e manutenção da memória não são restritos a uma estrutura, na realidade, dependem da integração de diversas regiões cerebrais como o córtex, amígdala, hipotálamo, algumas regiões do mesencéfalo e hipocampo, cada uma delas está envolvida em um ou mais tipos de memória (Lathe, 2001). O hipocampo pertence ao sistema límbico e, além de responder ao estresse (Lathe, 2001), também é responsável pela aquisição da memória explícita enquanto os gânglios da base e a amígdala estão relacionados com a memória implícita (Lombroso, 2004), assim como pelo processamento contextual, memória de trabalho, memória episódica, mapeamento visuo motor arbitrário e memória espacial. Além disso, o hipocampo desempenha papel fundamental na consolidação da memória de curto e longo-prazo (Altman, 1962; Bliss & Collingridge, 1993; Morris *et al.*, 1986; O'Keefe & Dostrovsky, 1971; Riedel & Micheau, 2001).

A administração aguda de etanol em humanos atenua a aquisição e armazenamento de informações, tais efeitos de enfraquecimento da memória são consistentes com a perturbação do hipocampo (Pyapali *et al.*, 1999). Oliveira (2012) demonstrou que a administração crônica de etanol em ratos Wistar no período da adolescência até a fase adulta levou a redução dos volumes das regiões CA1 e CA3 do hipocampo e alteraram aspectos comportamentais relacionados ao sistema límbico. Centanni e colaboradores (2014) apontaram em suas pesquisas que a exposição intermitente ao etanol durante a adolescência diminui a amplitude

de correntes tônicas nas células granulares do hipocampo na idade adulta, além de demonstrarem que este mesmo tipo de exposição produz alterações a longo e curto prazo no RNAm das subunidades do GABA_A e na expressão de proteínas no hipocampo, enquanto a exposição intermitente crônica não produziu alterações a longo prazo. Tais alterações nas correntes tônicas no giro denteado do hipocampo costumam ser maiores em ratos adolescentes do que em adultos (Vidal-Infer *et al.*, 2012). Verificou-se que o etanol atenua de maneira mais intensa a atividade dos receptores de NMDA na região CA1 do hipocampo de ratos mais jovens quando comparados a adultos sugerindo que o hipocampo em desenvolvimento é mais sensível aos efeitos inibitórios do álcool na neurotransmissão glutamatérgica (Markwiese *et al.*, 1998 ; Pyapali *et al.*, 1999).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é essencial nos processos de plasticidade sináptica, sobrevivência, crescimento e maturação de neurônios em diversas fases do desenvolvimento. A exposição ao etanol modula a expressão do RNAm do BDNF em diferentes regiões cerebrais dependendo da dose, da via de administração e da duração da exposição (Kumar *et al.*, 2013). A administração de 1,2 g/kg de álcool por via intraperitoneal em ratos Wistar gerou um decréscimo nos níveis de RNAm de BDNF no hipocampo e uma dose maior de 2,5 g/kg diminui os níveis em áreas como o córtex frontal, *nucleus acumbens* e amígdala ao mesmo tempo que aumenta esses níveis na área tegmentar ventral (Kumar *et al.*, 2013).

Adultos alcoólicos apresentam déficits de memória recente e de longo prazo, podendo perdurar por dias (Schuckit, 2005). Em roedores submetidos ao etanol, foram detectados períodos de amnésia (Schuckit, 2005). Em virtude da imaturidade do SNC quando comparados a adultos, os adolescentes apresentam maior facilidade de intoxicação alcoólica, assim, estão mais suscetíveis aos efeitos amnésicos do etanol ou “*Blackouts*”, onde há uma disfunção aguda da função hipocampal. Apesar de esses episódios ocorrerem também em adultos, parece que adolescentes estão mais propensos a estes eventos (Zeigler *et al.*, 2005).

Alguns dos danos mais graves do álcool no cérebro adolescente acontecem em áreas responsáveis pela memória e aprendizagem (Zeigler *et al.*, 2005). Em adultos dependentes de álcool o volume médio do hipocampo e o volume esquerdo desta estrutura são menores quando comparados a indivíduos não dependentes (Beresford *et al.*, 2006). Adolescentes com problemas alcoólicos apresentam volume do hipocampo 10% menor em relação à adolescentes que nunca consumiram etanol (Zeigler *et al.*, 2005). Diversos dados corroboram a ideia de que o consumo de etanol durante a adolescência causa prejuízos neurocognitivos e que estes prejuízos apresentam-se com maior gravidade em jovens que bebem com maior

frequência ou em grande quantidade quando comparados a bebedores “sociais” e não bebedores (Jocobus *et al.*, 2013). Tais prejuízos são: atenção e memória diminuídas, dificuldade em processar informações, principalmente visuoespaciais, velocidade psicomotora reduzida e habilidade linguística prejudicada (Jocobus *et al.*, 2013).

Etanol e função motora

Dentre os diversos efeitos do etanol sobre o SNC a disfunção motora é um dos mais marcantes por ser claramente perceptível tanto em humanos quanto em animais (Barwick & Dar, 1998). O cerebelo é a principal estrutura envolvida no controle das funções motoras atuando através da coordenação dos movimentos e do controle postural (Lundy-Ekman, 2012). O cerebelo possui conexões com diversas áreas do sistema nervoso central e, devido a isto, participa de outras funções como a memória visual, funções executivas, memória visuo espacial e controle comportamental e motivacional (Cunha, 2014). É composto em sua superfície pelo córtex cerebelar, uma camada de substância cinzenta, abaixo dele encontra-se o corpo medular composto de substância branca (Cosenza, 2005). Seu córtex é formado por uma camada molecular, uma camada com células de Purkinje e outra camada granular (Cosenza, 2005). Na camada molecular estão os dendritos das células de Purkinje e as células estreladas, na camada granular há fibras musgosas, células de Golgi e as células granulares (Cunha, 2014). O etanol, em tratamentos crônicos, estimula as células da glia e regula positivamente citocinas e mediadores inflamatórios no cérebro e nas células astrogliais, o que ativa vias de sinalização e fatores de transcrição relacionados com a morte celular e inflamação. Estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram interferência do álcool na inibição da via de sobrevivência mediada por insulina e na ativação mitocondrial em células neuronais cerebelares, além disso, o etanol prejudica a via de sinalização do NMDA, a via RhoA GTPase (regula a adesão celular, a diferenciação e o rearranjo do citoesqueleto), aumenta a produção de prostaglandinas (responsáveis pelo desenvolvimento do SNC, proliferação neural e sinaptogênese), gera aumento de radicais livres dentre outras interferências (Kumar *et al.*, 2013). Sabe-se a que a administração intermitente de etanol durante a adolescência aumenta a morte celular em diversas regiões do sistema nervoso central, inclusive no cerebelo, resultando em prejuízos na aprendizagem motora (Vidal-Infer *et al.*, 2012). Estruturalmente, o álcool tem relação com a diminuição da densidade e tamanho de células do vérmis cerebelar,

tal mudança estrutural resulta na ataxia de marcha (Ornelas *et al.*, 2015). A degeneração cerebelar consiste no conjunto de lesões no cerebelo por intoxicação alcoólica e pode se manifestar por alterações nos movimentos oculares, na postura (Cunha, 2014), na perturbação da capacidade de equilíbrio e coordenação motora, na capacidade de direção de automóveis (White *et al.*, 2002) e de maneira mais branda, na capacidade de coordenar os músculos da fala e dos braços (Diener *et al.*, 1984).

Existem estudos que demonstram diferentes efeitos do etanol sobre as funções motoras como sendo dose-dependente e também com maior ou menor interferência de acordo com a idade (Ornelas *et al.*, 2015; White *et al.*, 2002). Animais e humanos mais idosos apresentam maiores danos nas capacidades motoras quando comparados a adolescentes (Ornelas *et al.*, 2015; White *et al.*, 2002). Em adultos alcoólicos foram encontradas evidências de atrofia cerebelar assim como, cerebelo apresentando menor dimensão e menor massa quando comparados a indivíduos adultos não alcoólicos (Diener *et al.*, 1984; Cunha, 2014). Há também a hipótese de que a atrofia cerebelar pode ser causada pela desnutrição e deficiência de tiamina resultante do consumo excessivo de bebidas alcoólicas (Diener *et al.*, 1984; Cunha, 2014).

Efeitos da exposição a bebidas energéticas

As bebidas energéticas tiveram sua origem no Japão em 1962, o Lipovitan-D foi o primeiro energético a entrar em circulação no mercado e continha em sua composição uma mistura vitamínica que intentava incrementar a concentração e a energia. Em 1987, Dietrich Mateschitz adicionou às tradicionais bebidas energéticas a cafeína e carboidratos, criando a marca mais comercializada de energéticos, o *Red Bull* (Cavalcante, 2007). Atualmente este tipo de bebida é comercializada em mais de 160 países (Alford *et al.*, 2012).

Atualmente, a maioria das bebidas energéticas (BEs) consiste de uma combinação de carboidratos (cerca de 11 g/dl), taurina (cerca de 400 mg/dl), cafeína (cerca de 32 mg/dl), gluconolactona (cerca de 240 mg/dl) e vitaminas do complexo B. Apesar deste tipo de bebidas ser consumido por um grupo etário heterogêneo, elas são particularmente populares entre jovens adultos e adolescentes (Mac Donald, 2013; Babu *et al.*, 2008; Attila *et al.*, 2011; Seifert *et al.*, 2011). Estima-se que, nos Estados Unidos, cerca de 50% dos estudantes universitários usam este tipo de bebida frequentemente (Malinauskas *et al.*, 2007; Giles *et al.*, 2012). Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas (ABIR), houve um crescimento no consumo de energético de 325% entre os anos de 2006 e

2010 no Brasil. As razões mais comuns para o uso deste tipo de bebidas são a diminuição do sono e aumento de energia, a manutenção do estado de alerta durante os estudos ou na direção de veículos e na redução dos sintomas da ressaca (Giles *et al.*, 2012; Seifert *et al.*, 2011). De fato, alguns estudos encontraram como efeito das bebidas energéticas a capacidade de melhora da atenção, como também há relatos de melhora do desempenho psicomotor e de humor (Attila *et al.*, 2011; Giles *et al.*, 2012). Dentre as substâncias presentes nas BEs, a cafeína e a taurina tem sido reportadas como os principais componentes psicoativos. Outras pesquisas revelam que a combinação de cafeína e glicose pode melhorar o desempenho cognitivo e diminuir a sensação de cansaço em períodos que exigem grandes demandas cognitivas (Attila *et al.*, 2011).

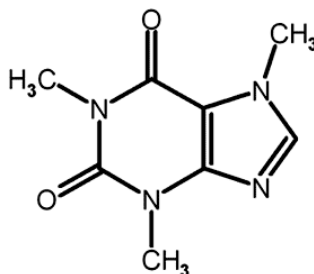
Apesar da correlação com efeitos positivos, alguns dados revelam repercussões negativas relacionadas com o consumo de BEs. Unal e colaboradores (2014) sugerem que o consumo agudo de bebidas energéticas é capaz de aumentar a agregação plaquetária e diminuir a função endotelial. A cafeína e a taurina podem gerar aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial, gerar distúrbios do sono e desidratação (Attila *et al.*, 2011). Também há relatos de enxaquecas, distúrbios gastrointestinais, palpitações cardíacas e morte relacionados a bebidas energéticas durante a vida adulta (Costa *et al.*, 2014). Em crianças e adolescentes que não são usuários habituais de cafeína, a vulnerabilidade à intoxicação por cafeína pode ser significativamente aumentada, devido à ausência de tolerância farmacológica. Existem poucos estudos a respeito do consumo abusivo de BEs (Kponee, 2014), como também, não há estudos sobre os efeitos do uso continuado destas bebidas durante o período da adolescência.

Cafeína

A cafeína é um alcaloide pertencente a classe das xantinas, com fórmula química $C_8H_{10}N_4O_2$ (Figura 2) com potencial neuroativo e é encontrado em algumas sementes, alimentos derivados do cacau, alguns medicamentos e na composição de diversas bebidas (refrigerantes, chás, café, e energéticos) (Brenelli *et al.*, 2003; Altimari *et al.*, 2006).

Mundialmente o consumo de cafeína é estimado, em média, entre 70 a 76 mg por dia, mas chega a 168 mg/dia nos EUA e 40 mg/kg no Brasil (Fredholm *et al.*, 1999).

Figura 2 - Representação esquemática da molécula de cafeína



Fonte: Wikipedia, 2007. Acessado na página https://en.wikipedia.org/wiki/File:Koffein_-_Caffeine.svg

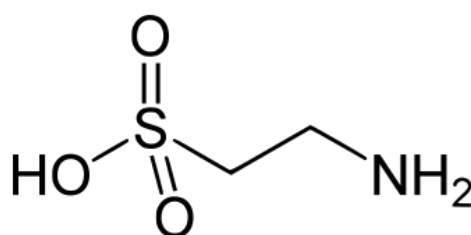
A absorção de cafeína ocorre de maneira rápida em humanos e sua alta solubilidade lipídica e baixa ligação às proteínas plasmáticas permitem fácil passagem pelas membranas celulares, atravessando livremente a barreira hematoencefálica (Fredholm *et al.*, 1999). O metabolismo da cafeína é realizado em maior parte no fígado pelo citocromo P450 1A 2, fatores como o peso corporal, gênero, frequência do consumo, dentre outros podem interferir neste metabolismo (Altimari *et al.*, 2006). O pico de concentração de cafeína no sangue varia entre 15 e 120 minutos após a sua ingestão e sua meia vida varia entre 4 e 6 horas em adultos, entretanto em crianças a eliminação da cafeína ocorre de maneira mais lenta e seus efeitos podem persistir por até 3 ou 4 dias (Agnol, 2006; Reis, 2013).

Os efeitos estimulantes da cafeína se devem a sua ação sobre o sistema nervoso central através da inibição dos receptores de adenosina e liberação de catecolaminas como a adrenalina. Tais ações são responsáveis pela diminuição da sensação de fadiga, melhor desempenho em atividades físicas, redução da sensação de sono, manutenção da atenção e da vigilância (Ballone & Moura, 2008; Agnol, 2006). Embora seja amplamente utilizada a cafeína pode apresentar toxicidade quando consumida em excesso, resultando em irritabilidade, taquicardia, hipertensão, dor abdominal, diarreia, tensão muscular e em casos extremos pode causar úlceras, arritmias, delírios, coma e morte (Agnol, 2006; Carvalho *et al.*, 2006).

Taurina

A Taurina (Tau) ou ácido beta- aminossulfônico, de fórmula química $C_2H_7NO_3S$ (Figura 3), é encontrada naturalmente em diversos organismos. Em humanos está presente em variados órgãos e desempenha importantes funções (Vohra & Hui, 2000; Giles *et al.*, 2012; Agnol, 2006; Agnol & Souza, 2008). Está presente em altas concentrações em algas e animais. Em humanos sua síntese é limitada, sendo necessária a ingestão de fontes externas dessa substância (Agnol & Souza, 2008). É encontrada em maiores concentrações intracelulares no coração, leucócitos, músculo esquelético, retina e sistema nervoso central, incluindo o tronco cerebral e o hipocampo (Agnol, 2006; Giles *et al.*, 2012). A sua síntese se dá a partir dos aminoácidos sulfurados, cisteína e metionina, principalmente no fígado e no cérebro (Carvalho *et al.*, 2006). Este processo ocorre através reações enzimáticas de oxidação e transulfuração e depende da vitamina B6 como cofator (Agnol & Souza, 2008).

Figura 3 - Representação esquemática da molécula de taurina



Fonte: Wikipedia, 2008. Acessado na página <https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Taurine.svg>

No que diz respeito a sua função fisiológica a Tau começou a ser pesquisada a partir da observação de gatos com deficiência nutricional de taurina apresentando cardiomiopatias e degeneração da retina (Wu & Prentice, 2010). Existem evidências de que a taurina participa de importantes funções fisiológicas como a osmorregulação, neuroproteção, neurotransmissão, associa-se aos sais biliares contribuindo para a emulsificação e absorção de lipídios, mantém a integridade estrutural das membranas celulares, atua na neuromodulação, possui efeitos antiapoptótico e antioxidante (Carvalho *et al.*, 2006; Giles *et al.*, 2012; Vohra & Hui, 2000; Agnol, 2006; Agnol & Souza, 2008; Wu & Prentice, 2010).

Uso combinado de bebidas energéticas e etanol

Uma conduta muito comum entre jovens adultos e adolescentes consiste no consumo combinado de energético com bebidas alcoólicas com o objetivo de melhorar o sabor da bebida e diminuir os efeitos depressores do etanol (Ferreira *et al.*, 2004). Muitos usuários relatam uma demora maior para sentir os efeitos agudos do álcool, como, por exemplo, a sonolência comum causada por bebidas alcoólicas (Alford *et al.*, 2012;). No entanto, esta prática merece destaque, pois alguns estudos recentes tem mostrado que as bebidas energéticas podem mascarar os efeitos subjetivos do consumo de etanol e que isso pode limitar a consciência do estado de intoxicação, o que conseqüentemente, aumenta a ingestão de álcool (Alford *et al.*, 2012; Ferreira *et al.*, 2004; Marczinski *et al.*, 2013). O consumo abusivo do álcool pode aumentar a probabilidade do jovem de assumir riscos como dirigir embriagado, se submeter a relações sexuais desprotegidas, além de aumentar as chances de sofrer/praticar atos violentos e, em casos mais graves, internação hospitalar e coma alcoólico (Attila *et al.*, 2011; Snipes *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2004; Miller, 2012). A combinação do álcool com bebidas energéticas também tem sido associada a maior risco de desenvolver dependência etílica (Arria *et al.*, 2011; Emond *et al.*, 2014).

Além da diminuição da percepção sobre o estado alcoólico, o consumidor desta combinação pode sofrer desidratação, o que irá interferir na capacidade de metabolização do álcool, aumentando sua toxicidade (Cunha, 2014). Existem pesquisas que associam a combinação entre álcool, bebida energética e atividade física a mortes súbitas por sobrecarga cardíaca (Reis, 2013). Também há relação entre esta combinação e casos de isquemia miocárdica e vasoespasmo coronariano (Snipes, 2014; Attila *et al.*, 2011). Indivíduos predispostos a distúrbios de arritmia cardíaca parecem ter o risco de arritmia aumentado (Wiklund *et al.*, 2009). Devido ao curto tempo no mercado e ao aumento alarmante do consumo de bebidas energética e, conseqüentemente, do co-abuso não se sabe ao certo as conseqüências deste consumo combinado de forma aguda e em longo prazo no período da adolescência.

Uso de roedores para o estudo dos mecanismos envolvidos com a manifestação dos distúrbios neurocomportamentais causados pela exposição ao etanol e bebidas energéticas

O uso de roedores como modelo experimental para melhor compreensão de fenômenos neurofisiológicos relacionados com a exposição a droga, como o etanol, é de extrema importância, já que o fornecimento de etanol para menores de idade é ilegal e antiético (Zeigler *et al.*, 2004). Desta forma, modelos animais de exposição ao etanol propiciam o entendimento mais profundo dos mecanismos dos efeitos do etanol sobre o adolescente. A validade da utilização de roedores também se justifica pela presença de características comportamentais e neurológicas de desenvolvimento cerebral semelhante ao encontrado em humanos (Spear, 2000). Pesquisadores sugerem que estas semelhanças comportamentais podem ter evoluído para permitir ao jovem passar pela transição de um modo de vida dependente para a conquista da autonomia. Da mesma forma que humanos, roedores adolescentes apresentam um aumento significativo na quantidade de tempo gasto na investigação social e interação com os pares, apresentam maior predisposição a assumir riscos e maior busca por novidades quando comparados a animais adultos (Spear, 2000). Além disso, os roedores são animais de baixo custo de manutenção, fácil criação e manipulação, como também, tem sua biologia bem conhecida.

Já é bem estabelecido que, assim como em humanos, roedores também apresentam resposta dose-dependente ao etanol e as consequências da exposição ao álcool variam de acordo com a fase do desenvolvimento do indivíduo (Becker *et al.*, 1996; Hannigan, 1996). Ferreira e colaboradores (2004), evidenciam estudos com animais de laboratório mostrando que a administração prévia ou concomitante de taurina afeta os efeitos farmacológicos e comportamentais do etanol reduzindo o sono induzido pelo etanol em camundongos e também revertendo os demais efeitos depressivos causados por altas doses da ingestão de álcool.

Apesar de haver um grande número de estudos em modelos animais a respeito dos efeitos do etanol e de componentes isolados das bebidas energéticas, não existem estudos experimentais em modelo animal que avaliem as possíveis interações entre BEs e o etanol sobre a função cerebral em adolescentes.

1 OBJETIVOS

Objetivos específicos

Avaliar os efeitos agudos e da exposição prolongada de bebidas energéticas e/ou etanol no comportamento de camundongos adolescentes.

Objetivos específicos

Avaliar o curso temporal dos efeitos da administração progressiva de BEs e/ou etanol na atividade motora e ansiedade no teste do campo aberto.

Avaliar os efeitos agudos e da exposição prolongada de BEs e/ou etanol no aprendizado/memória através do teste da esquiva passiva.

Avaliar os efeitos agudos e da exposição prolongada de BEs e/ou etanol na coordenação motora e equilíbrio através do teste do cilindro giratório (Rotarod).

2 METODOLOGIA

2.1 Animais

Esse estudo foi realizado sob aprovação do Comitê de Ética Para Uso Animal do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Todos os experimentos estão de acordo com a declaração de Helsinque e com o Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório adotado e promulgado pelo Instituto Nacional de Saúde.

Neste estudo foram utilizados camundongos Suíços cujas matrizes foram geradas no próprio laboratório. Foram utilizadas ninhadas que apresentaram no dia do nascimento (PN1) entre 7 e 14 animais. Os animais foram criados e mantidos no biotério do Laboratório de Neurofisiologia da UERJ em um ciclo de luminosidade de 12 horas (início do período escuro = 14 horas) a uma temperatura controlada em torno de 22 °C. Os animais tiveram livre acesso a comida e água.

2.2 Tratamento

As ninhadas foram desmamadas no vigésimo primeiro dia pós-natal (PN21) e separadas por sexo. Os animais foram alojados nas caixas em pares. Para o estudo completo dos efeitos da co-exposição, o trabalho possui quatro grupos experimentais presentes em todas as ninhadas: animais expostos a bebida energética e etanol (BE+ETOH), animais que receberam somente a bebida energética (BE), animais que receberam somente etanol (ETOH) e animais que receberam água (VEH). Foram conduzidos 3 estudos em separado para avaliação de cada um dos objetivos específicos desta dissertação.

A fim de avaliar o curso temporal dos efeitos da administração progressiva de BEs e/ou etanol na atividade motora e ansiedade, os animais foram expostos 3 vezes as drogas por gavagem com o intervalo de 1 hora em PN40. Após 55 minutos da gavagem foram realizados os testes de campo aberto. Foi utilizada uma bebida energética contendo por 100 ml uma mistura de: sacarose e glucose (11,3 g), taurina (400 mg), cafeína (32 mg), gluconolactona

(240 mg), inositol (20 mg), niacina (7,2 mg), pantenol (2,4 mg), B2 (0,64 mg), vitamina B12 (0,4 mcg), ácido cítrico, corante caramelo, aroma artificial e água com gás. Na primeira gavagem foi administrado uma dose de bebida energética definida em 8 ml/kg (grupo BE). O etanol foi diluído em água ou em bebida energética na concentração de 40% na dose de 4g/kg (grupos ETOH e BE+ETOH). Nas gavagens seguintes os animais foram expostos a metade da dose. Desta forma, ao final deste experimento os animais foram expostos numa dose total de 16 ml/kg de BE e de 8 g/kg de etanol.

Para avaliar os efeitos agudos da exposição a BEs e/ou etanol sobre o aprendizado e desempenho motor, os animais foram expostos uma única vez as drogas em PN40. A dose de bebida energética foi definida em 8 ml/kg (grupo BE). O etanol foi diluído em água ou em bebida energética na concentração de 40% na dose de 4 g/kg (grupos ETOH e BE+ETOH). Os animais de todos os grupos experimentais foram pesados e passaram pelo procedimento de gavagem. As ninhadas foram divididas de maneira que metade dos animais fosse designada ao teste do rotarod e os demais animais ao teste de esquiva passiva.

Para avaliar os efeitos da exposição prolongada de BEs e/ou etanol, os animais da exposição prolongada receberam as drogas um vez por dia durante dez dias seguidos a partir de PN30 e até PN40, período no qual os camundongos exibem características comportamentais típicas da adolescência (Spear, 2000). Em PN40 deu-se o início aos testes comportamentais.

2.3 Testes comportamentais

2.3.1 Teste de campo aberto (*Open Field*)

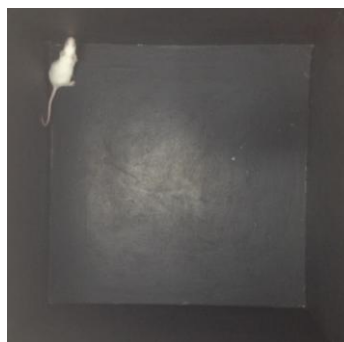
O teste de campo aberto é largamente adotado como método de observação da atividade locomotora e comportamento exploratório (Walsh, 1976). Sua popularidade deve-se ao uso de um aparato simples, a facilidade na quantificação dos dados, já que os comportamentos são bem estabelecidos, e a sua ampla aplicabilidade para detecção de variáveis comportamentais (Vasques- Araújo *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2008).

Em PN40 os animais foram submetidos ao teste de campo aberto. A caixa de teste (45 cm x 45 cm x 45 cm) apresenta as paredes e o assoalho pretos (Figura 4). Os animais foram

manipulados e testados durante o período claro (entre 8 e 12 horas) sob a iluminação de luz branca. Antes da primeira sessão de teste os animais eram gavados e suas gaiolas transportadas para a sala de testes com a finalidade de ambientação. Após 55 minutos da gavagem, os animais eram postos individualmente no centro da caixa e podiam explorar o ambiente livremente por 5 minutos registrados em vídeo para posterior análise do comportamento. Após o fim de cada sessão, a caixa era limpa com papel toalha umedecido, com o intuito de eliminar odores e excretas que poderiam interferir no comportamento dos animais testados subsequentemente. Foram realizadas 3 sessões com um intervalo de 1 hora entre elas.

Para a avaliação do teste a caixa foi dividida em 16 quadrados iguais com o auxílio de transparência sobreposta à imagem da caixa e cada quadrado atravessado pelas quatro patas do animal foi utilizado como medida de atividade locomotora. Os registros realizados foram o da ambulação total, a ambulação no centro corrigida (quadrados percorridos no centro/ambulação total) e a latência para saída do centro no início do teste.

Figura 4 - Foto caixa de atividades de campo aberto



Fonte: O autor, 2014.

Figura 5 - Esquema do tratamento e teste de campo aberto

4 ml/kg
grupo BE
2 g/kg
grupos ETOH
e BE+ETOH

Fonte: O autor, 2014.

2.3.2 Teste do Cilindro Rotatório - Rotarod

O teste de Rotarod é amplamente utilizado para avaliar o equilíbrio e a coordenação motora em roedores, principalmente em modelos animais experimentais de transtornos neurológicos e dos efeitos de drogas (Karl *et al.*, 2008; Paes-Branco *et al.*, 2012 ; Novier *et al.*, 2012). O protocolo utilizado neste estudo avaliou a habilidade do camundongo em permanecer sobre o cilindro giratório que acelerava continuamente de 4 para 40 RPM/min em uma sessão de 5 minutos. A variável avaliada foi a latência para a queda do animal.

Para avaliação da exposição aguda, um dia antes da administração das drogas, em PN39, foi realizada uma sessão de treino, onde os animais foram submetidos pela primeira vez ao Rotarod. Em PN40, a sessão teste foi realizada 1 e 3 horas após a gavagem. Cada sessão era composta por cinco avaliações consecutivas com um intervalo mínimo de dez segundos entre cada avaliação.

Para avaliação da exposição prolongada, os animais também foram submetidos ao treinamento em PN39, antes da gavagem do dia. O procedimento em PN40 foi igual ao dos animais da exposição aguda, onde a sessão de teste era realizada 1 e 3 horas após a gavagem.

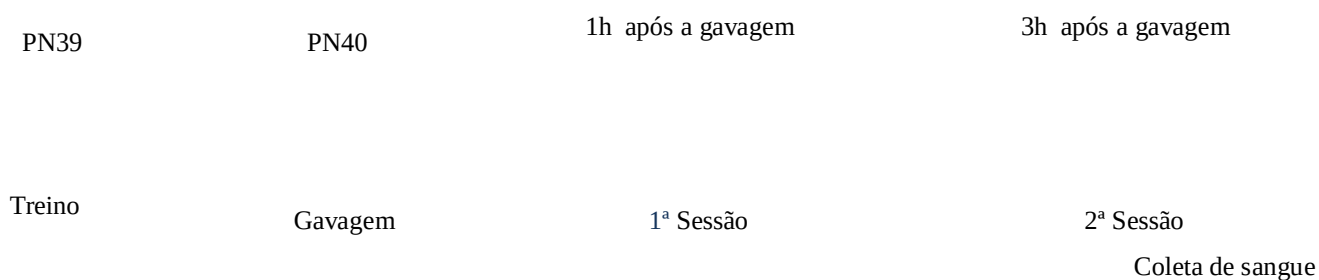
Figura 6 - Foto Rotarod



Fonte: O autor, 2014.

Todos os testes no rotarod foram realizados entre 8:00 e 13:00 horas (período claro) sob iluminação com luz branca em uma sala com temperatura mantida aproximadamente a 22°C. Para a realização do teste, cada camundongo foi colocado em um dos cilindros com o dorso voltado para o pesquisador. Ao final de cada sessão, antes do próximo animal ser colocado no aparelho, todo o aparato era limpo com toalha de papel descartável embebida com álcool. A latência de queda de cada animal nas 5 tentativas foi anotada.

Figura 7 - Esquema do tratamento e teste de rotarod



Fonte: O autor, 2014.

2.3.3 Teste da esquiva passiva inibitória (*Step Down Passive Avoidance*)

O teste da esquiva inibitória foi realizado em uma caixa (25cm x 25cm) com uma plataforma circular com diâmetro de 6,5cm e altura de 2cm, posicionada centralmente sobre uma grade metálica (espaçamento de 1 cm entre as barras de 2 mm de diâmetro) (Figura 3). Todos os animais foram submetidos a duas sessões realizadas entre 8:00 e 12:00 horas (período claro).

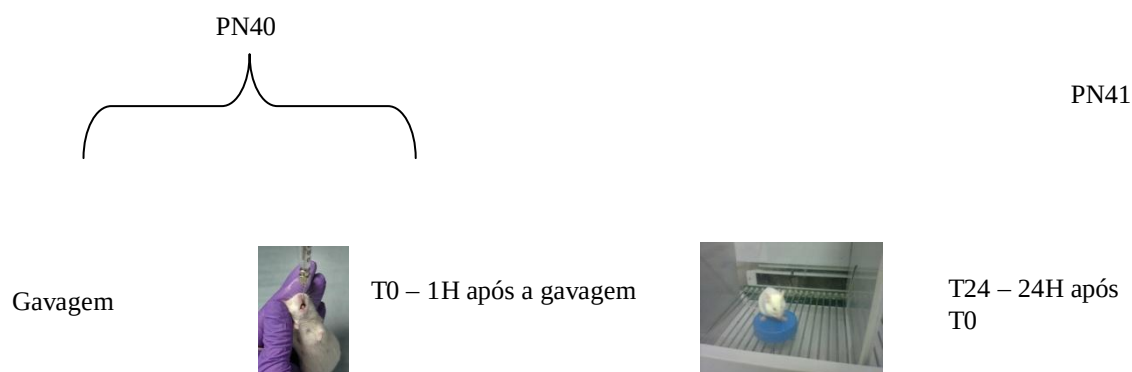
Figura 8 - Esquiva passiva



Fonte: O autor, 2014.

Em PN40, os animais foram submetidos ao primeiro teste na esquiva (T0) 1 hora após a gavagem. No primeiro teste, os animais foram individualmente colocados sobre a plataforma e imediatamente após colocarem as quatro patas sobre a grade metálica, recebiam um choque de 0,3 mA durante 3 segundos (Teste de aquisição). Na segunda sessão (T24), realizada com a finalidade de avaliar a memória de longo prazo, os animais foram recolocados na plataforma 24h após a primeira sessão. Nesta sessão (Testes de retenção), os animais não receberam choques após descenderem da plataforma. O tempo que os animais levavam para descer com as quatro patas da plataforma (latência de descida) foi o parâmetro utilizado para avaliar o aprendizado e memória. Além disso, com objetivo de visualizar de maneira mais clara as diferenças entre os grupos, o aprendizado/memória foi também avaliado através do seguinte índice: $(L24 - L0)/L0$, onde L0 e L24 representam o tempo de latência para descida da plataforma nas sessões T0 e T24 respectivamente.

Figura 9 - Esquema do tratamento e teste de esquiva passiva



Fonte: O autor, 2014.

2.4 Dosagem de álcool em sangue

Após o teste de Rotarod e *Open Field*, os animais dos grupos experimentais que utilizaram álcool, foram sacrificados pelo método de guilhotina e tiveram o sangue coletado e centrifugado por 20 minutos, após a centrifugação o soro foi coletado e armazenado em geladeira para análise posterior de dosagem de álcool em sangue. A coleta foi realizada em dois momentos diferentes, um grupo de animais foi sacrificado 1 hora após a gavagem e outro grupo foi sacrificado 3 horas após a gavagem.

A dosagem de álcool em sangue foi realizada através de ensaio enzimático (Pointe Scientific Inc.). O método foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante. Brevemente, o princípio desse ensaio é baseado na reação realizada pela álcool desidrogenase (ADH). A ADH cataliza a oxidação do etanol a acetaldeído com concomitante redução do NAD a NADH (reação demonstrada abaixo). A mudança na absorbância de 340 nm é diretamente proporcional a concentração de etanol na amostra.

Para o ensaio, foram pipetados 1 ml do reagente (álcool desidrogenase de levedura 200 U/L) nos tubos de ensaio. Nos respectivos tubos foram adicionados 5 µl de padrão, amostras de teste e amostras controle. Nos tubos referentes ao branco foram adicionados 5 µl de solução de cloreto de sódio. Após agitar os tubos, os mesmos foram incubados por 5 minutos. No final do período de incubação, as amostras foram lidas em 340 nm. A absorbância do branco foi subtraída dos valores finais de leitura.

2.5 Análise estatística

Os dados são apresentados como média e erro padrão da média. A análise de resultados foi realizado através do software *Statistical Package for the Social Sciences* (IBM, USA). Para análise de massa corporal foi utilizado inicialmente análises de variância com medidas repetidas (rANOVAs), considerando DIA como fator de repetição e TRATAMENTO (VEH, ETOH, BE e BE+ETOH) e SEXO como fatores. Caso houvesse interações significativas entre DIA×TRATAMENTO eram realizadas comparações através do teste post-hoc *Fisher's Protected Least Significant Difference* (FPLSD).

Para a análise da concentração de etanol em sangue (BEC), rANOVAs foram realizadas para cada um dos experimentos estudados, considerando INTERVALO (1 hora ou 3 horas após a gavagem) como fator de repetição e considerando como fatores TRATAMENTO e SEXO. Para análise do BEC na avaliação dos efeitos da exposição progressiva as drogas foram apenas coletados sangue após o último teste, logo, neste caso, realizamos uma ANOVA univariada considerando apenas TRATAMENTO e SEXO como fator. ANOVAs de menor ordem foram utilizadas toda vez que interações de TRATAMENTO com SEXO foram detectadas. Diferenças entre grupos individuais foram analisadas utilizando FPLSD como teste post-hoc. Entretanto, toda vez que não houve interação entre TRATAMENTO e outros fatores, apenas o efeito do TRATAMENTO foi considerado.

Para as análise comportamentais também foram utilizadas rANOVAs seguidas por ANOVAs de menor ordem utilizadas toda vez que interações de TRATAMENTO com SEXO foram detectadas. Da mesma forma, diferenças entre grupos individuais foram analisadas utilizando FPLSD como teste post-hoc. Entretanto, toda vez que não houve interação entre TRATAMENTO e outros fatores, apenas o efeito do TRATAMENTO foi considerado.

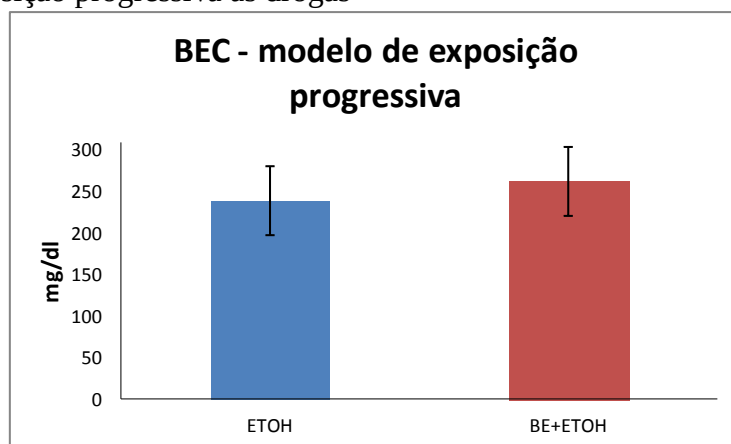
3 RESULTADOS

3.1 Estudo 1 - Efeito da exposição aguda progressiva do etanol, bebidas energéticas e sua interação

3.1.1 Concentração plasmática de etanol (BEC)

Não foram observados efeitos da exposição à BE sobre a concentração plasmática de etanol (Figura 7), como também não foi observada interação entre TRATAMENTO×SEXO.

Gráfico 1 - Concentração plasmática de etanol nos animais submetidos ao modelo de exposição progressiva as drogas



Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média.

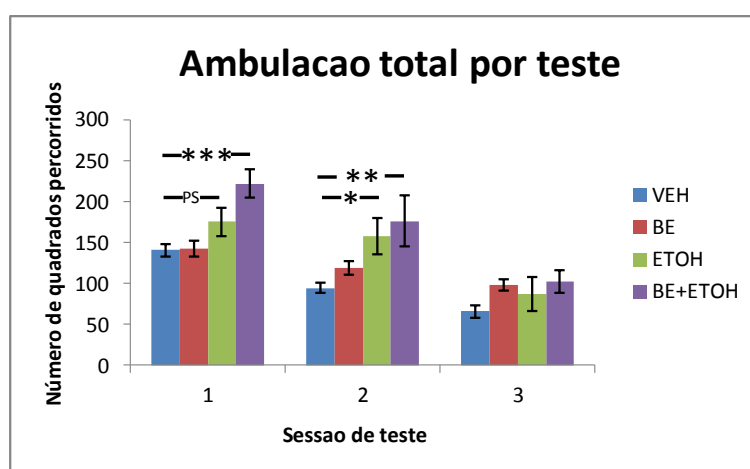
Fonte: O autor, 2014.

3.1.2 Efeitos sobre o comportamento no teste do campo aberto

A avaliação da atividade ambulatoria no teste do campo aberto indicou efeito do TESTE ($F_{(2,146)} = 43,0$; $P < 0,001$), explicado pelo fato de existir de modo geral redução da atividade motora ao longo das 3 sessões experimentais (Figura 8). Além disso, foi observado interação significativa entre TESTE×GRUPO ($F_{(6,146)} = 2,0$; $P < 0,06$). Observamos que

durante o primeiro teste, os animais expostos concomitantemente a BE e etanol apresentaram aumento da ambulação quando comparados aos controles ($P < 0,001$), enquanto que animais expostos somente ao etanol o aumento tendeu a significância ($P = 0,06$). No segundo teste, ambos os grupos que receberam a administração de etanol (ETOH e BE+ETOH) apresentaram aumento significativo da ambulação total ($P < 0,05$ e $P < 0,01$, respectivamente). Este efeito não foi mais observado para a ambulação total no teste 3 (Gráfico 2).

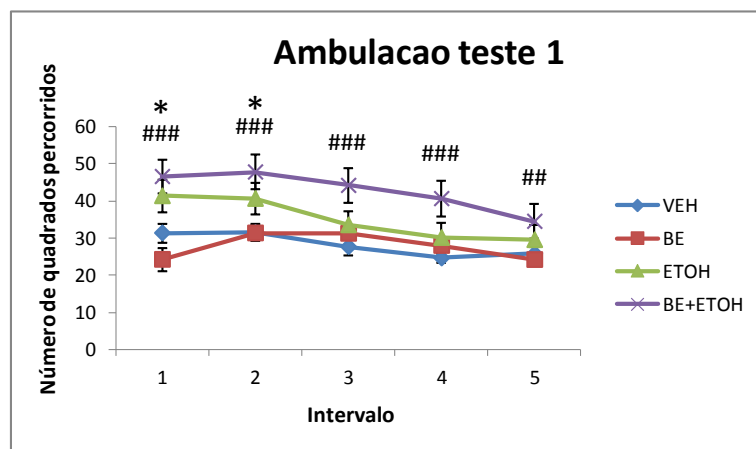
Gráfico 2 - Ambulação total por sessão de teste do campo aberto



Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; PS = 0,06. Fonte: O autor, 2014.

ANOVAs foram realizadas para a avaliação da ambulação por intervalo em cada uma das sessões experimentais. No primeiro teste, foi observado um efeito do INTERVALO ($F_{(2,9; 221,8)} = 16,9$, $P < 0,001$), devido ao fato de ocorrer redução da atividade ao longo da sessão experimental. Também foi observado interação entre INTERVALO $\times$ TRATAMENTO ($F_{(8,9; 221,8)} = 2,8$, $P < 0,01$). Quando comparado ao grupo controle a exposição ao etanol promoveu hiperatividade durante os dois primeiros minutos de teste (ETOH > VEH, $P < 0,05$ em ambos os intervalos; Figura 9). Este efeito da exposição ao etanol foi prolongado por toda a sessão experimental quando houve a co-exposição com a BE (BE+ETOH > VEH, $P < 0,001$ do 1º ao 4º intervalo, $P < 0,01$ no 5º intervalo; Figura 9).

Gráfico 3 - Ambulação por intervalo na primeira sessão experimental no teste do campo aberto

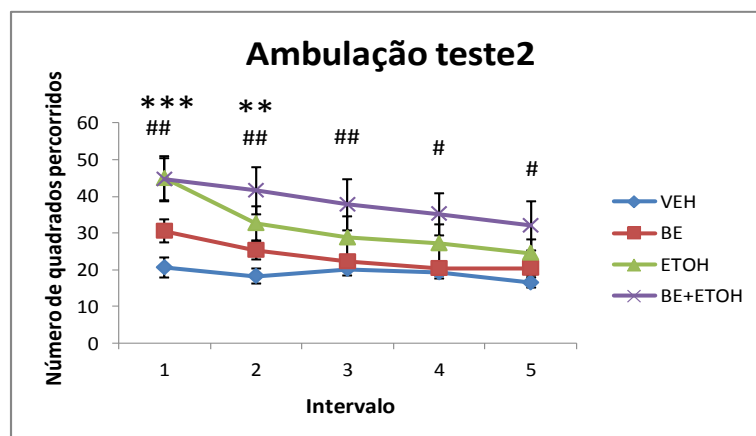


Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. * $P < 0,05$ em comparações entre VEH $\times$ ETOH; ## $P < 0,01$; ### $P < 0,001$ em comparações entre VEH $\times$ BE+ETOH.

Fonte: O autor, 2014.

Na segunda sessão experimental também observamos redução da atividade ao longo da sessão experimental (Efeito do INTERVALO: $F_{(3,2; 238,5)} = 16,1$; $P < 0,001$), como também foi observada interação significativa entre INTERVALO $\times$ TRATAMENTO ($F_{(9,8; 238,58)} = 1,9$, $P < 0,05$). Da mesma forma que observado na primeira sessão, a exposição ao etanol promoveu hiperatividade durante os dois primeiros minutos de teste (ETOH $>$ VEH, $P < 0,001$ no 1º intervalo e $P < 0,05$ no segundo; Gráfico 1), enquanto que os animais co-expostos BE+ETOH a hiperatividade foi mantida por toda sessão experimental (BE+ETOH $>$ VEH, $P < 0,01$ no 1º e 2º intervalos, $P < 0,05$ nos intervalos seguintes; Gráfico 1).

Gráfico 4 - Ambulação por intervalo na segunda sessão experimental no teste do campo aberto

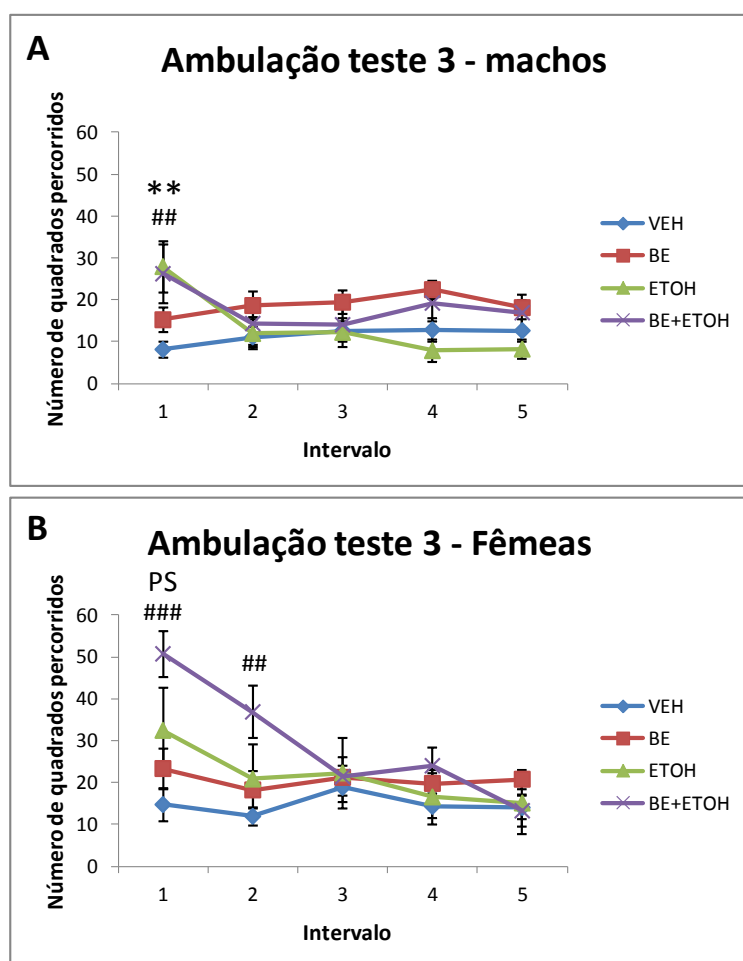


Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. *** $P < 0,001$, ** $P < 0,01$ em comparações entre VEH $\times$ ETOH; ## $P < 0,01$; # $P < 0,05$ em comparações entre VEH $\times$ BE+ETOH.

Fonte: O autor, 2014.

Na terceira sessão de teste também foi observado efeito do INTERVALO ($F_{(2,7; 201,4)} = 13,9$; $P < 0,001$), as alterações da ambulação ao longo do teste foram dependentes do TRATAMENTO e do SEXO (Interação INTERVALO $\times$ TRATAMENTO $\times$ SEXO: $F_{(8,3; 201,4)} = 2,4$; $P < 0,05$). Neste sentido, foram realizadas análises em separado para ambos os sexos. Tanto para machos como para fêmeas a interação entre TRATAMENTO e SEXO foi mantida ($F_{(7,6; 94,2)} = 3,6$; $P < 0,01$ e $F_{(8,7; 94,2)} = 5,7$; $P < 0,001$, respectivamente). Em machos (Gráfico 2A), ambos os grupos expostos ao etanol expressaram hiperatividade no primeiro minuto de teste (ETOH $>$ VEH e BE+ETOH $>$ VEH, $P < 0,01$ em ambos os casos). Já para as fêmeas, somente animais que receberam a exposição combinada permaneceram hiperativos no primeiro e segundo intervalos (BE+ETOH $>$ VEH, $P < 0,01$ em ambos os intervalos), já animais expostos ao etanol tenderam ($P = 0,06$) ser hiperativos somente no primeiro intervalo da sessão (Gráfico 2B).

Gráfico 5 - Ambulação por intervalo na terceira sessão experimental no teste do campo aberto

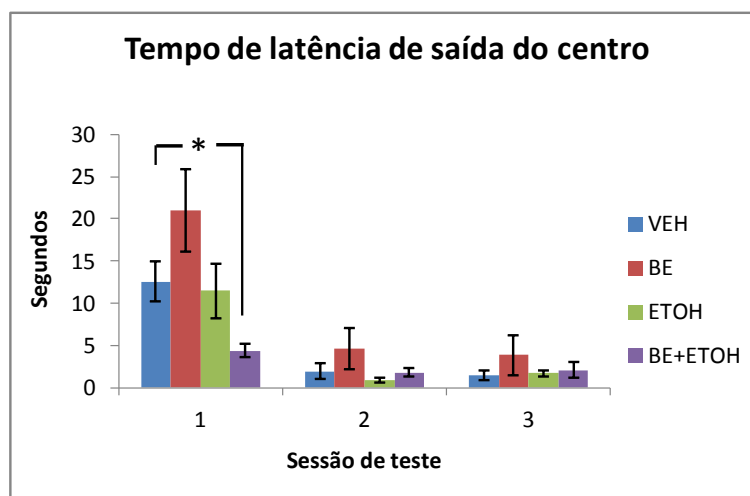


Legenda: (A) Ambulação em machos; (B) Ambulação em fêmeas. Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. ** $P < 0,01$ em comparações entre VEH $\times$ ETOH; PS = 0,06 na comparação entre ETOH $\times$ VEH; ### $P < 0,001$; ## $P < 0,01$ em comparações entre VEH $\times$ BE+ETOH.

Fonte: O autor, 2014.

Para avaliação dos níveis de ansiedade utilizamos as variáveis tempo de latência para a saída do centro no início do teste e ambulação corrigida no centro da arena. No primeiro teste, a ANOVA indicou efeito do TRATAMENTO ($F_{(3; 64)} = 6,0$; $P < 0,01$) para tempo de latência para saída do centro (Gráfico 3), onde animais que de exposição combinada apresentaram redução da latência quando comparados aos controles ($P < 0,05$). Além disso, observamos efeito do TRATAMENTO ($F_{(3; 63)} = 2,6$; $P < 0,05$) para ambulação total no centro. Esta variável indicou um efeito ansiogênico da exposição combinada a BE e etanol ($BE+ETOH < VEH$, $P < 0,05$; Gráfico 4). Na segunda sessão de teste não foi observado efeito ou interação significativa para a o tempo de latência de saída do centro da arena (Gráfico 3), entretanto a ANOVA indicou efeito do TRATAMENTO ($F_{(3; 63)} = 2,9$; $P < 0,05$) para a medida de ambulação no centro. Animais expostos a BE apresentaram aumento da ambulação no centro da arena ($P < 0,05$ em todas as comparações), indicando um efeito ansiolítico (Gráfico 4). Na terceira sessão não observamos alterações significativas para nenhuma das variáveis associadas ansiedade estudadas.

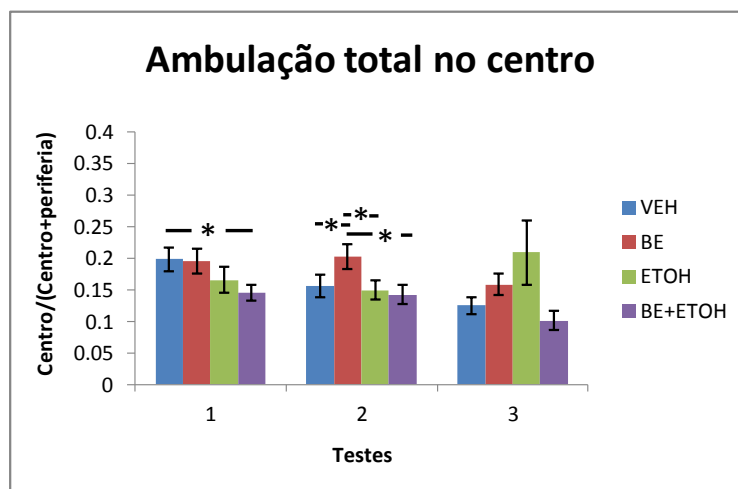
Gráfico 6 - Tempo de latência de saída do centro da arena no teste do campo aberto



Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. * $P < 0,05$

Fonte: O autor, 2014.

Gráfico 7 - Ambulação total corrigida no centro da arena por sessão de teste do campo aberto (quadrados percorridos no centro/ ambulação total)

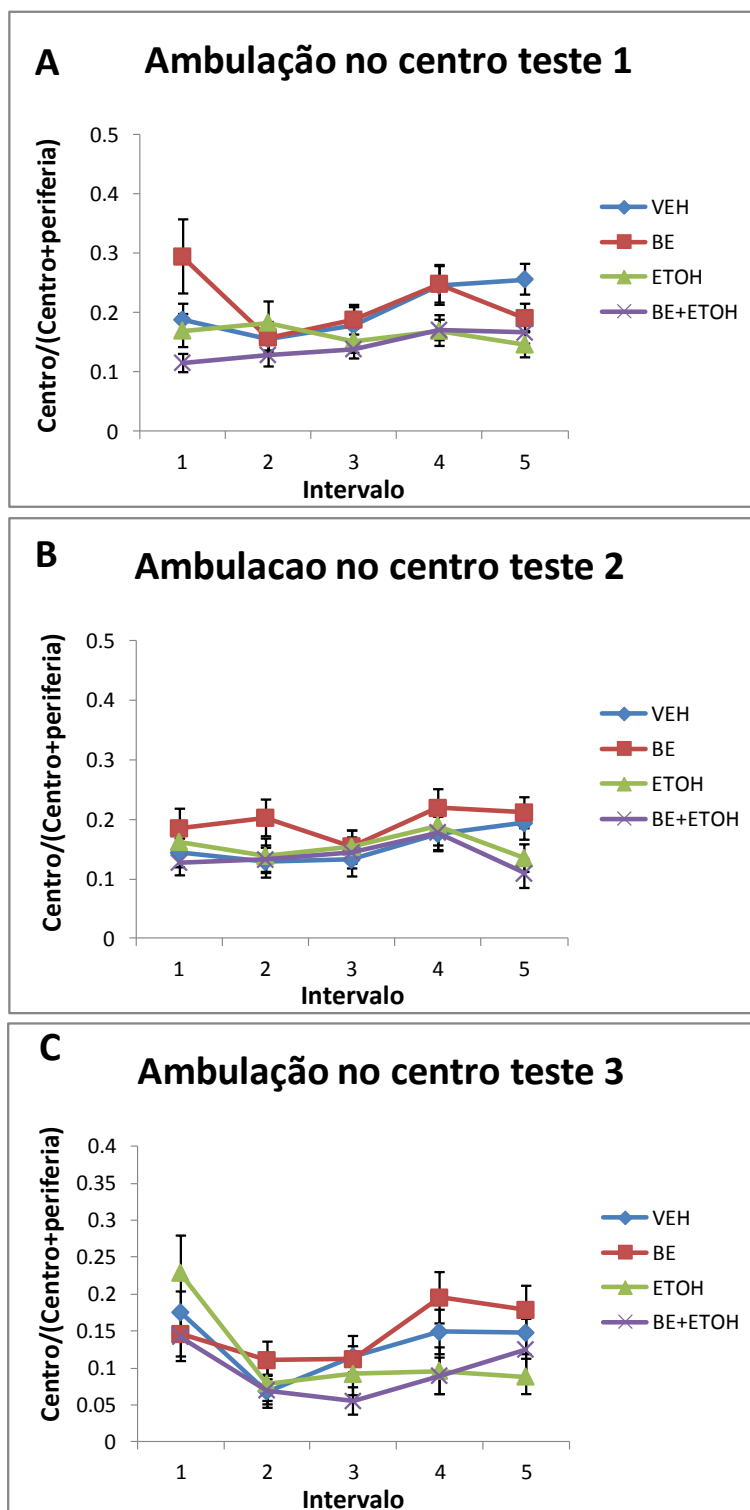


Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. * $P < 0,05$.

Fonte: O autor, 2014.

As ANOVAr não indicaram interações significativas para ambulação no centro da arena em nenhum dos testes avaliados (Gráfico 5).

Gráfico 8 - Ambulação corrigida no centro da arena do teste do campo aberto (quadrados percorridos no centro/ambulação total)



Legenda: (A) Por intervalo na 1ª sessão de teste; (B) Por intervalo na 2ª sessão de teste; (C) Por intervalo na 3ª sessão de teste. Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média.

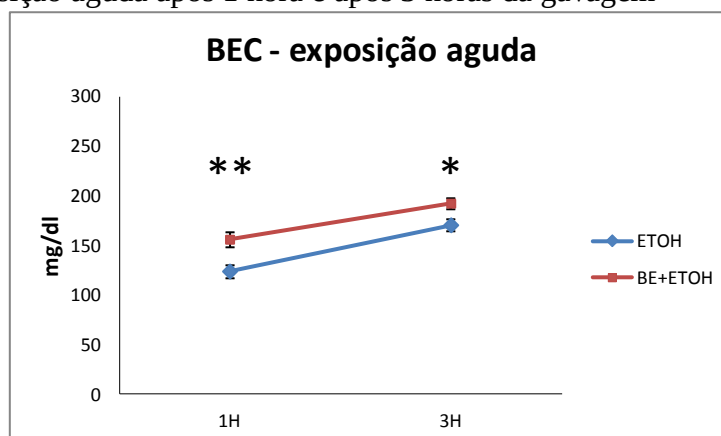
Fonte: O autor, 2014.

3.2 Estudo 2 - Efeitos agudos do etanol, bebidas energéticas e sua interação.

3.2.1 Concentração plasmática de etanol (BEC)

Observamos um efeito do PERÍODO (ANOVA: $F_{(1,61)}$; d.f.=35,1; $P<0,001$), sendo este efeito devido ao fato de BEC aumentar após 3 horas de gavagem das drogas. Além disso, em ambos os períodos avaliados, observamos efeito do TRATAMENTO. Animais expostos ao energético de forma concomitante ao etanol apresentaram maior BEC quanto comparados ao animais que só receberam etanol (1hora: $F_{(1,34)}$; d.f.=9,9; $P<0,01$; 3 horas: $F_{(1,26)}$; d.f.=5,8; $P<0,05$) (Gráfico 6).

Gráfico 9 - Concentração plasmática de etanol nos animais submetidos ao modelo de exposição aguda após 1 hora e após 3 horas da gavagem



Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. Asterístico indica comparação entre os grupos ETOH e BE+ETOH. * $P<0,05$; ** $P<0,01$.

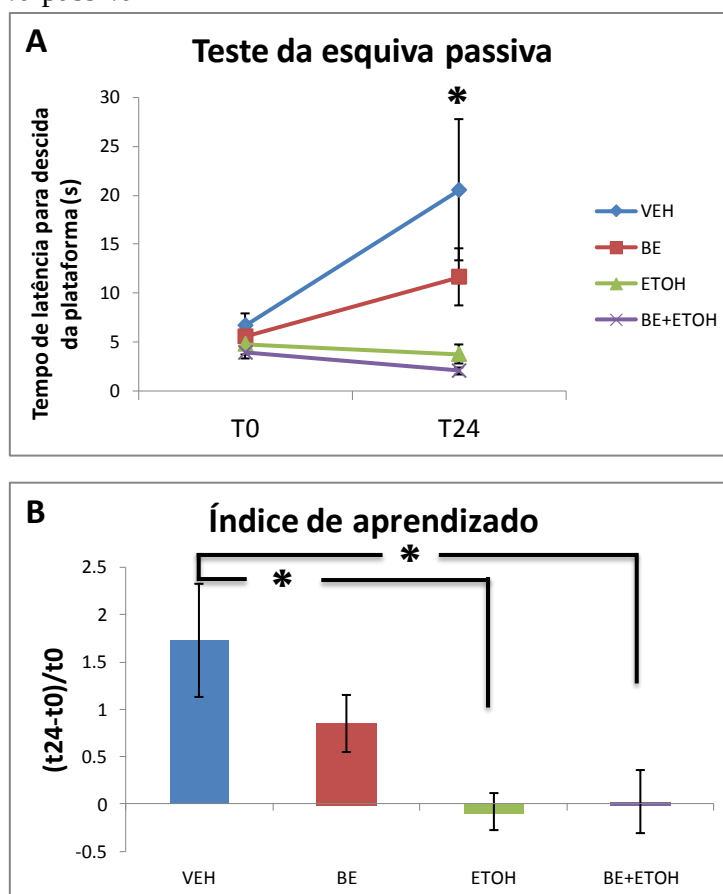
Fonte: O autor, 2014.

3.2.2 Efeitos sobre aprendizado/memória no teste de esquiva passiva

A ANOVA indicou interação TESTE $\times$ TRATAMENTO ($F_{(3,70)}$; d.f.=3,3; $P<0,05$). Esta interação se deve ao fato de somente os animais VEH e do grupo BE apresentaram aumento no tempo de latência para descer da plataforma do primeiro (T0) para o segundo

teste (T24) da esQUIVA passiva. A ANOVA de menor ordem ($F_{(3,77)}$; d.f.=4,2; $P<0,01$) confirmou este efeito, como indicado pela diferença na média de tempo em T24 (Gráfico 7A). A análise do índice de aprendizado também indicou efeito do TRATAMENTO ($F_{(3,78)}$; d.f.=3,0; $P<0,05$). Da mesma forma, observamos que a exposição ao etanol promoveu amnésia, não sendo revertida pela exposição combinada à BE (VEH > ETOH e VEH > BE+ETOH, em ambos $P<0,05$) (Gráfico 7B).

Gráfico 10 - Efeitos da exposição aguda das drogas sobre aprendizado/memória no teste de esQUIVA passiva



Legenda: (A) Latência para descer da plataforma na primeira (T0) e segunda sessão experimental (T24). * $P<0,05$, VEH×ETOH e VEH×BE+ETOH (B) $T24-T0/T0$, índice de aprendizado corrigido pela latência encontrada na primeira sessão experimental. * $P<0,05$.

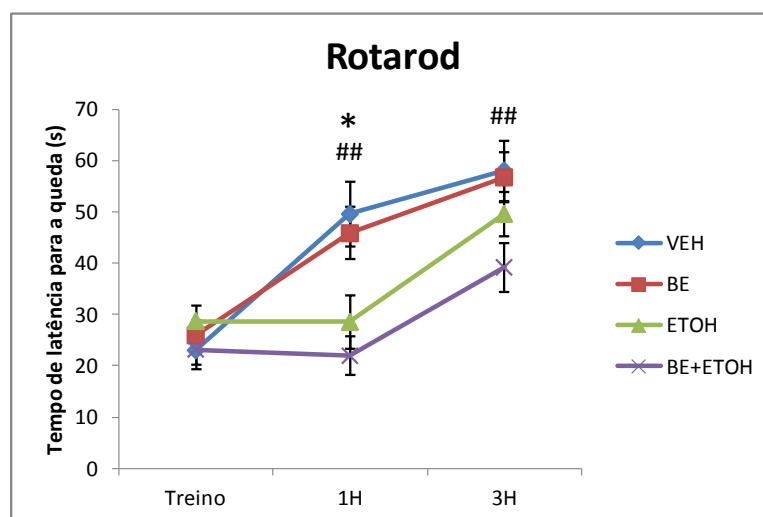
Fonte: O autor, 2014.

3.2.3 Efeitos sobre o desempenho e aprendizado motor no teste do cilindro giratório (Rotarod)

A ANOVA, considerando o desempenho médio em cada teste como fator de repetição, indicou efeito do TESTE ($F_{(2,98)} = 80,9$; $P<0,001$) e interação significativa entre TESTE×TRATAMENTO ($F_{(6,98)} = 8,1$; $P<0,001$). O efeito do TESTE é explicado pelo fato de

que os animais melhoram o desempenho com a repetição dos testes (Gráfico 8). Análises para avaliação do desempenho médio para cada sessão de teste indicaram alteração do TRATAMENTO tanto 1 hora como após 3 horas da gavagem ($F_{(3,98)} = 10,2$; $P < 0,001$ e $F_{(3,99)} = 6,0$; $P < 0,001$, respectivamente). Em 1 hora após a gavagem, ambos os grupos de animais expostos ao etanol apresentaram menor latência para queda do cilindro giratório (ETOH < VEH, $P < 0,05$ e BE+ETOH < VEH, $P < 0,01$). Após três horas, apenas os animais do grupo co-exposto (BE+ETOH) apresentaram redução significativa do desempenho médio no teste do rotarod ($P < 0,01$, Gráfico 8).

Gráfico 11 - Efeitos da exposição aguda das drogas sobre o desempenho motor no teste do Rotarod



Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. * $P < 0,05$ para a comparação entre VEH×ETOH; ## $P < 0,01$ para as comparações entre VEH×BE+ETOH.

Fonte: O autor, 2014.

3.3 Estudo 3 - Efeitos crônicos do etanol, bebidas energéticas e sua interação.

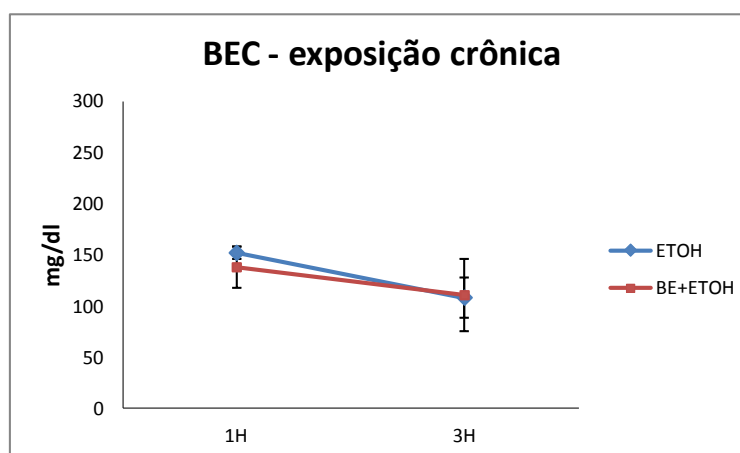
3.3.1 Concentração plasmática de etanol (BEC)

Não foram observados efeito da exposição à BE sobre a concentração plasmática de etanol (Gráfico 9) em nenhum dos períodos estudados (1 ou 3 horas após a gavagem), como

também não foram observadas diferenças entre os períodos estudados ou interações entre PERÍODO e TRATAMENTO.

Quando consideradas as comparações entre a concentração plasmática de etanol obtidas no modelo de exposição aguda, observamos uma interação do MODELO×PERÍODO (ANOVA: $F_{(1,105)}$; d.f.=18,2; $P<0,001$), que pode ser explicada pelo fato de que houve aumento na BEC de 1 para 3 horas somente em animais que receberam a exposição aguda (Gráfico 6), enquanto os animais expostos cronicamente possuem uma tendência a redução da BEC após 3 horas da gavagem (Efeito do PERÍODO: $F_{(1,43)}$; d.f.=3,6; $P=0,06$) (Gráfico 9).

Gráfico 12 - Concentração plasmática de etanol nos animais submetidos ao modelo de exposição crônica após 1 hora e após 3 horas da gavagem

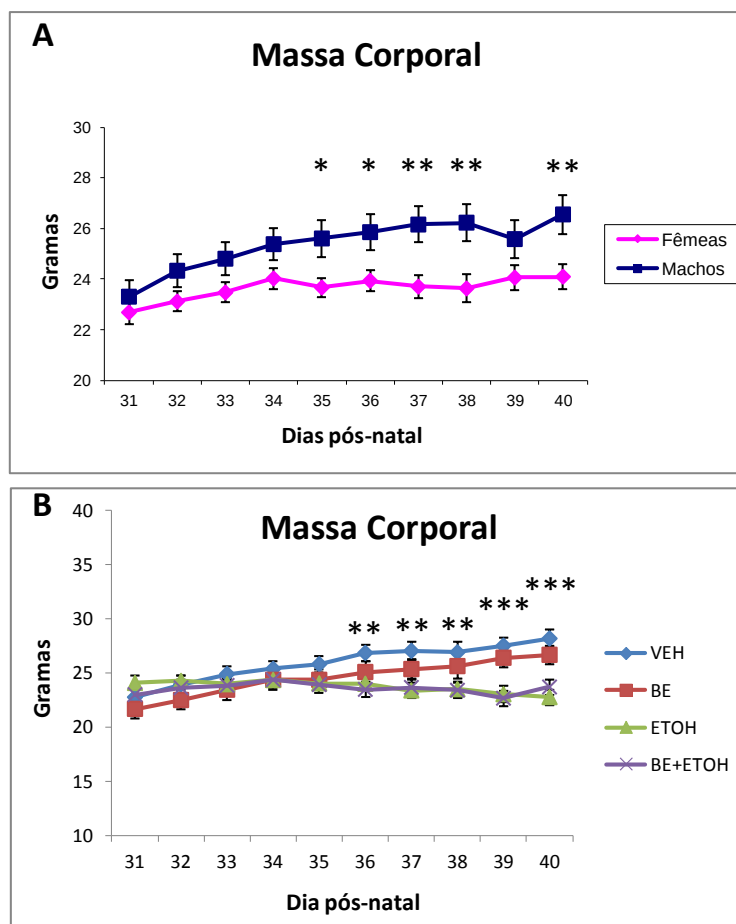


Legenda: Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média.
Fonte: O autor, 2014.

3.3.2 Efeito sobre a massa corporal

ANOVA indicou aumento da massa corporal ao longo do período de exposição as drogas (Efeito do DIA: $F_{(9,9; 438,9)} = 25,8$; $P < 0,0001$), sendo esse aumento dependente do sexo (DIA $\times$ SEXO: $F_{(9,9; 438,9)} = 3,3$; $P < 0,01$) e do TRATAMENTO (Interação DIA $\times$ TRATAMENTO: $F_{(14,9;438,9)} = 14,5$; $P < 0,001$). Animais machos apresentam maior ganho de massa corporal quando comparados com as fêmeas (Gráfico 10A). Além disso, a análise pós-hoc indicou que animais expostos ao etanol (ETOH e BE+ETOH) apresentam menor ganho de massa corporal quando comparados aos animais controles, sendo as diferenças significativas a partir do sexto dia de exposição (PN36) (Gráfico 10B).

Gráfico 13 - Massa corporal dos animais ao longo do período de exposição crônica as drogas



Legenda: (A) Diferenças entre machos e fêmeas; (B) Efeito do TRATAMENTO no ganho de massa corporal. Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média. * $P < 0,05$; em (B) ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ para comparações entre VEH $\times$ ETOH e VEH $\times$ BE+ETOH.

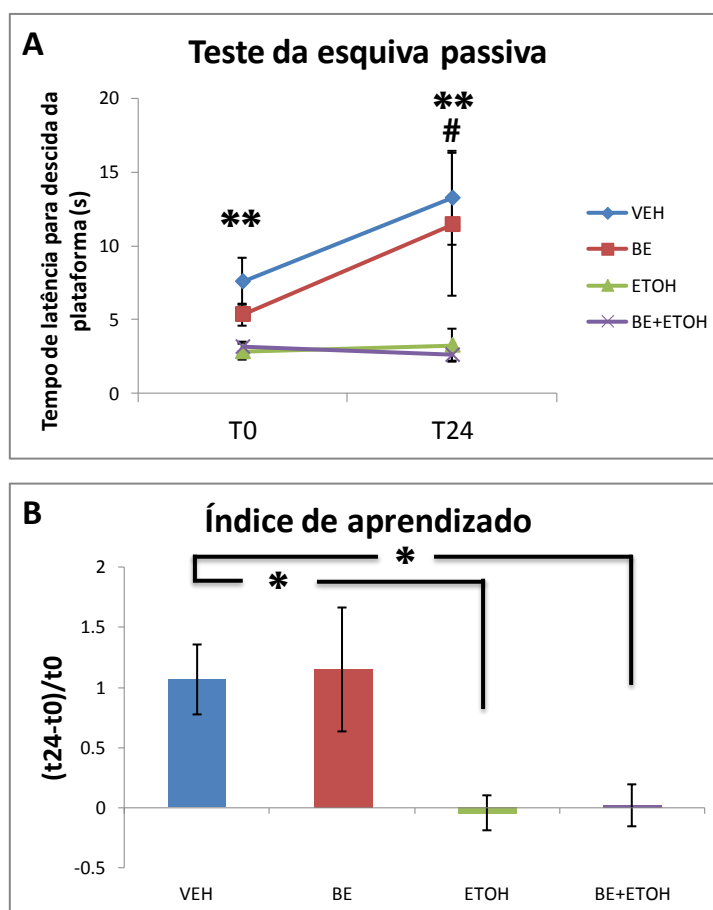
Fonte: O autor, 2014.

3.3.3 Efeitos sobre aprendizado/memória no teste de esQUIVA passiva

Da mesma forma que observado na exposição aguda, a ANOVA indicou interação entre TESTE $\times$ TRATAMENTO ($F_{(3,84)}$; d.f.=2,6; $P < 0,05$). Esta interação se deve ao fato de somente os animais controles e do grupo BE apresentarem aumento no tempo de latência para descer da plataforma do primeiro (T0) para o segundo teste (T24) da esQUIVA passiva. A ANOVA de menor ordem (TRATAMENTO: $F_{(3,84)}$; d.f.=4,5; $P < 0,01$) indicou diferenças no tempo de latência de descida da plataforma já em T0 (Gráfico 11A). Os animais expostos cronicamente ao etanol (ETOH e BE+ETOH) apresentaram menor tempo de latência quando comparados aos controles ($P < 0,01$ em ambas as comparações). No dia do teste de retenção (t24) (TRATAMENTO: $F_{(3,84)}$; d.f.=3,3; $P < 0,05$), os animais expostos ao etanol

apresentaram redução do tempo de latência de descida da plataforma quando comparados aos controles ($P<0,01$ em ambas as comparações) e aos animais BE ($P<0,05$ em ambas as comparações) (Gráfico 11A). A análise do índice de aprendizado confirmou o efeito de amnésia provocado pelo etanol (TRATAMENTO: $F_{(3,84)}$; d.f.=3,1; $P<0,05$). Da mesma forma que observado durante a exposição aguda, a amnésia gerada pela exposição ao etanol não foi revertida pela exposição combinada à BE (VEH > ETOH, VEH > BE+ETOH, BE > ETOH e BE > BE+ETOH, em todos os casos $P<0,05$) (Gráfico 11B).

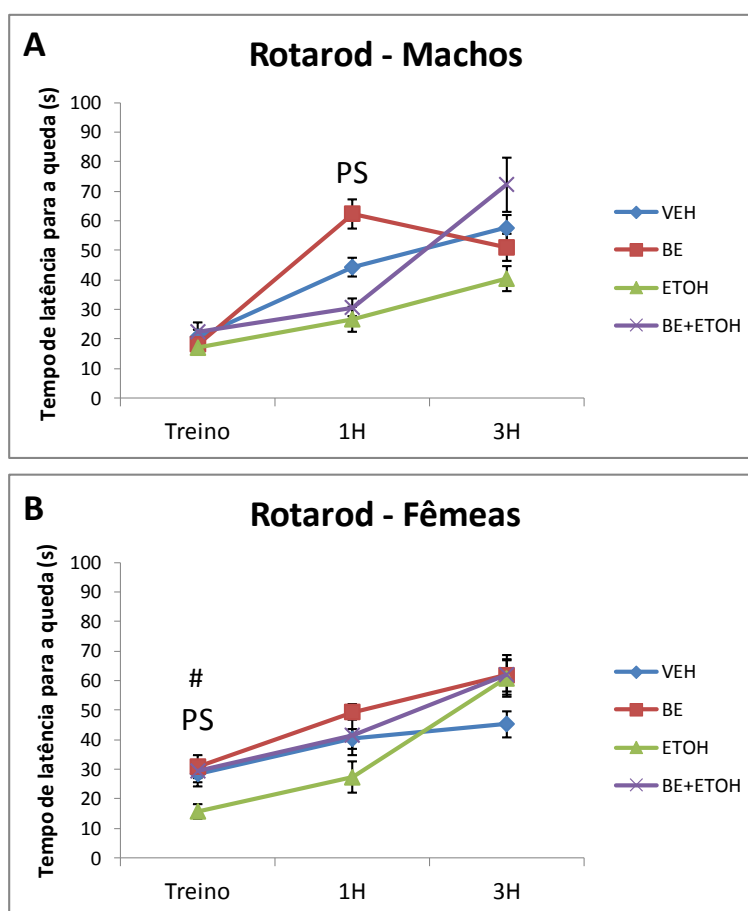
Gráfico 14 - Efeitos da exposição aguda das drogas sobre aprendizado/memória no teste de esquiiva passiva



Legenda: (A) Latência para descer da plataforma na primeira (T0) e segunda sessão experimental (T24). ** $P<0,01$, VEH×ETOH e VEH×BE+ETOH; # $P<0,05$ BE×ETOH e BE×BE+ETOH. (B) $T_{24}-T_0/T_0$, índice de aprendizado corrigido pela latência encontrada na primeira sessão experimental. * $P<0,05$.
Fonte: O autor, 2014.

3.3.4 Efeitos sobre o desempenho e aprendizado motor no teste do cilindro giratório

A ANOVAr, considerando o desempenho médio em cada teste como fator de repetição, indicou efeito do TESTE ($F_{(2,152)} = 85,2$; $P < 0,001$) e interação significativa entre TESTE×TRATAMENTO×SEXO ($F_{(6,152)} = 3,3$; $P < 0,01$). O efeito do TESTE é explicado pelo fato dos animais melhorarem o desempenho com a repetição dos testes (Gráfico 12A e B). Após a separação pelo sexo, machos e fêmeas apresentaram interações significativas entre TESTE×TRATAMENTO (machos: $F_{(6,96)} = 2,3$, $P < 0,05$ e fêmeas: $F_{(6,56)} = 4,5$, $P < 0,01$). Para machos só observamos diferenças após 1 hora de gavagem das drogas. Animais expostos a BE apresentaram tendência a melhora de desempenho quando comparados com os animais VEH (BE>VEH, $P = 0,06$), enquanto que animais expostos ao ETOH possuíram tendência a pior desempenho (ETOH<VEH, $P = 0,06$). Apesar da aparente redução de desempenho no grupo co-exposto, não observamos diferenças significativas quando comparados aos animais controle (Gráfico 12A). Após 3 horas não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Em fêmeas somente observamos diferenças significativas durante a sessão de treino do rotarod (Gráfico 12B), onde fêmeas expostas somente ao etanol apresentaram prejuízo no desempenho quando comparados com aos grupos expostos a BE (ETOH<BE e ETOH<BE+ETOH, $P < 0,05$ em ambas comparações), apresentando tendência quando comparados ao animais controle (ETOH<VEH, $P = 0,06$). Com a repetição do teste não foram mais observadas diferenças significativas.



Legenda: (A) Em machos, diferenças próximas da significância (PS, $P=0,06$) foram encontradas 1 hora após a gavagem entre os grupos VEH×BE e VEH×ETOH; (B) Em fêmeas, # $P<0,05$ em comparações entre ETOH×BE e ETOH×BE+ETOH; PS indicam $P=0,06$ para a comparação entre ETOH×VEH. Valores representam médias $\pm$ erro padrão da média.

Fonte: O autor, 2014.

4 DISCUSSÃO

A adolescência é caracterizada como um período de transição da infância para a vida adulta em que ocorrem diversas modificações físicas e comportamentais, dentre estas mudanças está o amadurecimento do sistema nervoso central que tem sido associado ao aumento da propensão ao uso de drogas (Spear, 2000; Paus *et al.*, 2008). É durante este período que costumam ocorrer os primeiros contatos com drogas de abuso, sendo o etanol uma das substâncias mais utilizadas (Marque e Cruz, 2000). Uma prática que tem crescido entre jovens e adolescentes é a combinação de bebidas alcoólicas, principalmente as destiladas, com bebidas energéticas (BEs) à base, principalmente, de taurina, cafeína e vitaminas do complexo B. Os efeitos deletérios do etanol sobre o sistema nervoso já são bem estabelecidos, porém pouco se sabe sobre a ação das BEs associadas a bebidas alcoólicas sobre a função cerebral do adolescente. Estudos epidemiológicos indicam que jovens universitários apresentam maior probabilidade de realizar consumo abusivo de etanol quando este é usado de forma concomitante as BEs (Marczinski, 2011). Além disso, o uso das BEs tem sido relacionado até mesmo a maior probabilidade de geração de dependência pelo álcool (Marczinski, 2011). Apesar da importância do conhecimento dos efeitos do uso combinado de bebidas energéticas e etanol, as interações entre estas substâncias têm recebido pouca atenção em estudos experimentais. No presente estudo avaliamos se a exposição ao etanol e/ou a bebidas energéticas afetam a atividade locomotora, ansiedade, coordenação motora e a memória /aprendizado de camundongos adolescentes. Para tanto, avaliamos o curso temporal dos efeitos da exposição aguda progressiva de etanol e BE no comportamento de camundongos no teste do campo aberto, como também, avaliamos os efeitos da exposição aguda e prolongada sobre o desempenho no teste do cilindro giratório e no teste da esQUIVA passiva.

4.1 Resumos dos resultados

No modelo de exposição progressiva as drogas, observamos que a exposição à BE potencializou a hiperatividade causada pela exposição ao etanol. Nos animais expostos somente ao etanol, a hiperatividade pode ser observada apenas no início das 2 primeiras

sessões experimentais, enquanto que em animais que receberam concomitantemente a BE este efeito se manteve durante toda a sessão experimental. Na terceira sessão de teste não houve mais diferenças entre animais ETOH e BE+ETOH para os machos, onde ambos apresentaram hiperatividade apenas no primeiro intervalo. Já em fêmeas, somente os animais que receberam BE de forma combinada ao etanol permaneceram hiperativos nos primeiros minutos da terceira sessão, indicando que as fêmeas foram mais sensíveis ao efeito da co-exposição. A avaliação da ansiedade mostrou que os animais que receberam a exposição combinada se mostravam mais ansiosos na primeira sessão de teste, indicando alteração da resposta emocional durante a co-exposição em doses de etanol que geram efeito estimulante.

Tem sido amplamente proposto que o uso de BE reduzem alguns efeitos agudos da exposição ao etanol, sendo a principal hipótese para explicar o porquê do consumo de etanol pelos indivíduos que co-abusam seja maior, gerando uma maior probabilidade de intoxicação mais intensa (Rossheim e Thombs, 2011). Alterações no desempenho motor e no aprendizado/memória estão entre as consequências negativas mais bem conhecidas do consumo abusivo e crônico de etanol. Neste sentido avaliamos, em modelo de exposição aguda e crônica, os efeitos do uso combinado de BE e etanol sobre o desempenho dos animais no teste do rotarod e de esquiva passiva. No teste da esquiva passiva observamos que a co-exposição não foi capaz de reverter à amnésia causada pelo etanol independente do modelo (agudo ou crônico) de exposição. No teste do cilindro giratório, a exposição aguda ao etanol gerou um pior desempenho após uma hora da gavagem que foi revertido com a repetição do teste 3 horas após. Já os animais expostos ao tratamento combinado apresentaram redução de desempenho tanto uma hora quanto após três horas da gavagem. No modelo de exposição prolongada, os efeitos foram dependentes do sexo. Em fêmeas que foram expostas ao etanol durante a adolescência apresentaram redução do desempenho somente na primeira sessão do teste (sem estar sob o efeito agudo da droga). Neste caso, a exposição à BE reverteu este efeito. Em machos, na segunda sessão de teste, após 1 hora de gavagem das drogas, animais expostos a BE apresentaram tendência a melhor desempenho no teste do rotarod, enquanto que animais expostos ao etanol apresentaram tendência ao pior desempenho.

4.2 Modelo de exposição ao etanol e interações farmacocinéticas entre etanol e bebidas energéticas: Efeitos agudos e da exposição crônica

Para a utilização de modelos animais de exposição ao etanol durante o desenvolvimento, é fundamental considerar a dose e o período de exposição. Nos parágrafos seguintes abordaremos estas questões sob a ótica do modelo utilizado no presente trabalho.

A adolescência inclui todo processo de transição da infância para a idade adulta. O limite temporal da adolescência não é de fácil definição. Em algumas espécies é difícil caracterizar quando a transição para adolescência começa a acontecer e quando o indivíduo passa de adolescente a adulto. Em roedores como ratos e camundongos, as primeiras alterações associadas à adolescência podem ocorrer já a partir do vigésimo dia de vida pós-natal (PN20) e as últimas mudanças podem ocorrer até PN55 (Spear, 2000). Neste sentido, a fim de estudar o efeito da exposição ao etanol durante essa fase do desenvolvimento (período no qual comumente se inicia o consumo em humanos) decidimos em nosso modelo estabelecer como período de exposição aguda PN40 e de exposição crônica de PN30 a PN40. Desta forma, a avaliação comportamental sempre foi realizada em PN39/40, evitando os períodos de transição entre idades que podem variar de acordo com o estabelecimento da maturidade sexual de cada animal.

Níveis de exposição devem ser adequados de forma a serem reproduzidos, e assim extrapolados a dados encontrados na população humana. A dosagem da concentração de álcool em sangue é o melhor preditor de danos cerebrais, pois a dose administrada de maneira intragástrica passa por metabolização (Livy *et al.*, 2003). Livy *et al.* (2003), demonstrou que camundongos metabolizam o etanol a uma taxa de 550 mg/kg/h enquanto em humanos esta taxa está em torno de 100 mg/kg/h e o pico de álcool em sangue, em camundongos, ocorre por volta de 60 minutos após a administração da droga, atingindo concentrações próximas de zero após 6 horas, isto ocorreu tanto em administração intraperitoneal quanto por gavagem, demonstrando uma metabolização relativamente rápida quando administrado apenas uma vez de maneira aguda. Em nossos resultados encontramos concentrações plasmáticas (BEC) que variaram em média de 108 mg/dl (após 3hs no modelo de exposição aguda) até 262 mg/dl (no modelo de exposição progressiva). Considerando as diferenças entre humanos e roedores, estas doses são compatíveis a um consumo episódico abusivo (*binge drinking*) que ocorre durante a adolescência (Eckardt *et al.*, 1998).

Outra questão importante é a possibilidade de, em estudos de interação, outras drogas quando administradas conjuntamente com o etanol gerarem alterações farmacocinéticas que alterem os efeitos principais estudados. No presente estudo, apesar de não encontrarmos diferenças significativas no modelo de exposição progressiva de BE e etanol, observamos

valores maiores de BEC em animais também expostos a BE após 1 hora da exposição aguda, sendo esta diferença mantida após 3 horas. Este resultado pode indicar que a exposição aguda a bebidas energéticas pode alterar o padrão de absorção/metabolismo do etanol gerando doses maiores, desta forma, ser um fator que poderia explicar as evidências epidemiológicas de que a exposição a bebidas cafeínadas pode gerar níveis de intoxicação pelo etanol mais intensas (Rossheim e Thombs, 2011). Considerando que a presença de glicose na BE pode diminuir o esvaziamento gástrico, seria esperado que a exposição combinada de etanol e BE gerasse menor valor de BEC (Rossheim e Thombs, 2011). Neste sentido, acreditamos que a exposição aguda de BE pode afetar o metabolismo do etanol através da competição de componentes da BE com as vias enzimáticas que degradam o etanol. O fígado é o órgão responsável por cerca de 90% da oxidação do etanol e neste órgão ocorrem três rotas enzimáticas, a principal ocorre através da enzima álcool desidrogenase (ADh), as demais rotas ocorrem através da catalase e do sistema microssomal de oxidação do etanol que é composto pelo citocromo P450 e pelo NADPH-citocromo-c-redutase. As três vias de oxidação resultam no acetaldeído como metabólito (Fang *et al.*, 2011). Diversas classes de ADh são encontradas também no cérebro em fases distintas do desenvolvimento e em regiões variadas (Galter *et al.*, 2003). Já a catalase localiza-se nos peroxissomos do hepatócito e não contribui de maneira significativa para o metabolismo do etanol em situações fisiológicas normais (Livy *et al.*, 2003; Sies, 1997), enquanto o citocromo P450 e NADPH-citocromo-c-redutase são encontrados no retículo endoplasmático e apresentam maior participação em exposições crônicas ao etanol (Livy *et al.*, 2003). Um dos principais componentes das BEs, a cafeína, é desmetilada em 1,7-dimetilxantina (paraxantina) pela isoforma do citocromo P450, posteriormente pode ser desmetilada novamente por esta enzima (Grant, 1982). Desta forma, a competição pelo citocromo P450 pode ser um dos possíveis mecanismos envolvidos na alteração dos níveis de etanol observados no presente estudo em animais que receberam BE de forma concomitante. Vale ressaltar que no modelo de exposição progressiva, não observamos mais aumento significativo do BEC em animais do grupo BE+ETOH, indicando que em doses maiores qualquer alteração no metabolismo que possa existir é insuficiente para gerar valores de BEC diferentes entre os grupos.

No modelo de exposição prolongada as drogas não observamos mais aumento do BEC de 1 para 3 horas após a gavagem, como também, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ETOH e BE+ETOH. Acreditamos que as diferenças encontradas entre o modelo de exposição aguda e crônica podem estar relacionados ao aumento da atividade das vias de metabolização do etanol que ocorrem quando há exposição

prolongada de etanol e/ou BE. De fato, esta bem consolidado na literatura que após a exposição crônica de etanol há o aumento hepático tanto da ADh como do sistema microssomal (Lieber, 1997). Além disso, estudos mostram que a exposição crônica à cafeína pode aumentar a capacidade de metabolismo das enzimas do tipo P450 (Grant, 1982; Fredholm *et al.*, 1999; Nehlig e Debry, 1994). Neste sentido, na presença de um maior *pool* enzimático, a conversão de etanol à acetaldeído seria mais rápida, como também, a possível competição entre o etanol e componentes da BE pelas enzimas seria mitigada.

4.3 Interações da exposição crônica ao etanol e BE sobre a massa corporal

Como descrito anteriormente, sabe-se que a adolescência é um período em que o indivíduo ainda está em desenvolvimento, isto inclui crescimento ósseo e corpóreo em geral. Também sabemos que esta é uma fase de maior vulnerabilidade a influências de fatores externos. Nossos resultados indicaram um aumento de massa progressivo nos animais dos grupos de controle, o que é coerente com o crescimento natural dos camundongos nesta fase da vida. A diferença de massa entre os sexos também já é bem conhecida, machos apresentam maior massa corporal quando comparados a fêmeas. Durante a exposição, o etanol administrado isoladamente ou concomitante a BE foi capaz de causar redução do ganho de peso corporal dos animais, tanto machos como fêmeas. Este efeito foi observado a partir do sexto dia de tratamento. Estudo anterior do nosso grupo de pesquisa, realizado durante a fase da adolescência de camundongos expostos ao etanol, também demonstrou que a exposição reduziu significativamente o ganho de peso corporal (Abreu-Villaça *et al.*, 2013). O uso de álcool de maneira aguda abusiva ou cronicamente pode provocar alterações no metabolismo energético afetando também o estado nutricional (Lieber, 1976). Além disso, o álcool possui valor energético que tende a suprimir as necessidades calóricas diárias do indivíduo (Kachani *et al.*, 2008), o que pode acarretar um menor consumo nutricional e pode resultar em prejuízos nos processos de absorção e digestão de nutrientes (Lieber, 1988; Lieber, 1991; Lieber, 1976).

4.4 Bebidas energéticas potencializam o efeito de hiperatividade desencadeada pelo etanol durante a adolescência

O teste de campo aberto foi desenvolvido por Hall (1934) no intuito de avaliar a atividade exploratória de roedores. Estudos realizados em roedores têm sugerido que o período do desenvolvimento em que ocorre a exposição ao etanol é determinante para a manifestação da hiperatividade (Teixeira *et al.*, 2014; Spear, 2014; Guerri e Pascual, 2010). Está bem consolidado na literatura que a exposição ao etanol durante a adolescência produz alterações neurocomportamentais diferentes das observadas em indivíduos adultos (Teixeira *et al.*, 2014) e adolescentes são mais sensíveis aos efeitos cognitivos do etanol, enquanto possuem sensibilidade diminuída aos efeitos sedativos e deficiências motoras quando expostos agudamente à droga (Spear, 2014; Guerri e Pascual, 2010; Desikan *et al.*, 2014). A hiperatividade induzida pelo etanol é bem conhecida e está relacionada a efeito dose-dependente, em baixas doses o etanol atua como estimulante do SNC sendo responsável por reações como a desinibição e maior atividade locomotora (Giffin *et al.*, 2010; Jerlhag, 2008; Middaugh *et al.*, 1992). O mecanismo pelo qual a hiperatividade do álcool é gerada tem sido relacionado com a ativação dos neurônios dopaminérgicos (King *et al.*, 2002; Pohorecky 1977) envolvendo principalmente o receptor D2 (Martin, 2011), além disso, também pode ter relação com os prejuízos nas vias de sinalização mediadas pelos nucleotídeos cíclicos AMPc e GMPc em roedores (Paine *et al.*, 2009; Pascoli *et al.*, 2005; Russell, 2003). Interessantemente, tem sido descrito que indivíduos mais susceptíveis aos efeitos estimulantes do etanol possuem maior risco de fazer uso abusivo e se tornar dependentes (King *et al.*, 2011).

Poucos trabalhos experimentais estudam a combinação de bebidas energéticas com o consumo de álcool. Ferreira e colaboradores (2004) encontraram uma redução no efeito depressor do etanol quando este foi administrado em dose de 2,5 g/kg associado à cafeína, porém em doses menores de álcool não houve aumento da atividade locomotora. A maior parte dos estudos conduzidos em roedores leva em consideração a interação apenas entre um dos componentes das bebidas energéticas. A cafeína e a taurina são os principais componentes psicoestimulantes destas bebidas. Hilbert e colaboradores (2013) mostraram que a cafeína é capaz de aumentar a atividade locomotora em camundongos atuando de maneira dose-dependente, assim como o etanol. Os efeitos estimulantes da cafeína estão relacionados com os receptores de adenosina A_{2A}, receptor expresso em neurônios gabaérgicos e que também expressam receptores dopaminérgicos do tipo D₂ (Yacoub *et al.*, 2000). Marin e colaboradores (2013) demonstraram que os efeitos da cafeína no aumento da atividade locomotora é maior em camundongos adolescentes quando comparados a adultos. Com relação à taurina, Aragon e colaboradores (1992) submeteram camundongos a diferentes doses intraperitoneais de etanol (g/kg), salina ou anfetamina e também a diferentes doses de

salina ou taurina (mg/kg) e posteriormente, avaliaram a atividade locomotora no teste de campo aberto. Eles encontraram um efeito complexo de interação bifásico dose-dependente onde, em doses de 2,0 g/kg de etanol, a taurina era capaz de aumentar a atividade locomotora (exercendo um efeito agonista), enquanto que em dose menor (1,0 g/kg) a atividade locomotora do grupo tratado foi menor que no grupo controle (efeito antagonista). Em estudo para avaliar o efeito estimulante da taurina, em modelos animais de transtornos afetivos, não foi observada resposta estimulatória, pelo contrário, a taurina agiu reduzindo a atividade locomotora (Whirkley & Einat, 2008). Enquanto Idrissi e colaboradores (2009) encontraram diferenças da ação da taurina quando administrada oralmente como suplemento (tratamento crônico) e intraperitonealmente (tratamento agudo), a suplementação aumentou a atividade locomotora no *Open field* enquanto que a injeção suprimiu tal atividade. A taurina é estruturalmente semelhante ao neurotransmissor inibitório GABA podendo mimetizar seus efeitos se ligando ao receptor GABAA e seus efeitos podem ser revertidos por um antagonista do GABAA. A taurina também pode se ligar ao receptor GABAB, porém as consequências desta ligação ainda são desconhecidas (Olive, 2002). Não foram encontradas pesquisas voltadas para os demais componentes das BEs na literatura voltados para estas questões comportamentais. Nossos resultados mostraram uma hiperatividade locomotora aumentada em animais co-expostos BE+ETOH, onde o efeito estimulante do etanol foi potencializado, o que pode estar relacionado às ações dose-dependente da cafeína e taurina. Nossos resultados indicam que a co-exposição potencializa prolongando o efeito de hiperatividade gerado pelo etanol, suprimindo o efeito de habituação (redução da atividade locomotora ao longo dos intervalos do teste). Considerando que tem sido descrito que indivíduos mais susceptíveis aos efeitos estimulantes do etanol possuem maior risco de fazer uso abusivo e se tornar dependentes (King *et al.*, 2011), nossos resultados sugerem que a potencialização dos efeitos estimulantes do etanol gerado pela exposição à BE pode ser um fator que predispõe ao uso problemático de etanol.

4.5 Exposição combinada ao etanol e BE promovem efeito ansiogênico

A ansiedade 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 (Ferreira, 1996). Como dito anteriormente, o teste de campo aberto

também é utilizado para observar componentes emocionais como a ansiedade, isto ocorre pela exposição do animal a um novo ambiente, sendo a região central do aparelho considerada um ambiente ansiogênico. Neste sentido, o tempo de latência de saída do centro do campo aberto no início do teste e a ambulação no centro da arena tem sido utilizados como variáveis para avaliação de comportamento associado a ansiedade (Prut e Belzung, 2003). A menor atividade locomotora na região central da arena de teste, observada em nosso estudo, está em acordo com uma série de trabalhos que mostram que em testes de campo aberto os roedores passam a maior parte do tempo próximos às paredes dos recipientes de teste (Choleris *et al.*, 2001; Prut e Belzung, 2003). Em geral, assume-se que este fenômeno está associado a resposta de medo ou ansiedade relacionada as situações de risco potencial, como por exemplo, os espaços abertos (Choleris *et al.*, 2001; Palanza, 2001). O aumento do trânsito na parte central da caixa de atividade pode ser interpretado como um efeito ansiolítico, enquanto que uma diminuição desta medida pode ser vista como um efeito ansiogênico (Choleris *et al.*, 2001; Prut e Belzung, 2003).

O consumo excessivo de álcool por pacientes ansiosos ocorre provavelmente devido às propriedades ansiolíticas do álcool, o que leva a hipótese de que a ansiedade pode ser um fator crítico na etiologia do consumo de etanol (Colombo *et al.*, 1995). Entretanto, os efeitos do etanol relacionados a comportamentos como ansiedade ainda são controversos. Particularmente, estudos têm demonstrado que o etanol causa uma resposta ansiogênica durante a adolescência (Popovic *et al.*, 2004; Slawecki *et al.*, 2004; Slawecki e Ehlers, 2005). No entanto, no presente estudo, a exposição ao etanol não gerou nenhum efeito sobre as variáveis relacionadas a comportamento associado à ansiedade no campo aberto nos camundongos adolescentes.

A exposição à BE promoveu efeito ansiolítico na segunda sessão de teste, o que sugere que os efeitos da BE sobre a função emocional pode ser dose-dependente. De fato, não são bem conhecidos os efeitos agudos da exposição à mistura de componentes que formam as BEs. De forma geral, tem sido aceito que a cafeína é o principal componente psicoativo capaz de alterar as respostas emocionais. Frequentemente tem sido observado que altas doses de cafeína podem induzir ansiedade tanto em humanos (Loke *et al.*, 1988) como em modelos animais (Braun *et al.*, 2011; Jain *et al.*, 2005). Alsene e colaboradores (2003) sugeriram que um polimorfismo no gene do receptor de adenosina pode estar relacionado à resposta ansiogênica gerada pela administração aguda de cafeína. Camundongos *knockout* para o receptor de adenosina A_{2A} são ansiosos e com resposta paradoxal à cafeína, o que reforça a ideia do envolvimento deste receptor no processo de ansiogênese (Deckert, 1998). Apesar

desses efeitos, tem sido descrito que em baixas doses a cafeína pode ter efeitos ansiolíticos (Hughes *et al.*, 2014). Entretanto, outros componentes da BE podem gerar interações significativas aos efeitos da cafeína alterando a resposta esperada. Por exemplo, a taurina exerce efeito ansiolítico quando administra intraperitonealmente de maneira aguda e atua como ansiogênico quando administrada de forma crônica, mostrando que a taurina pode modular os efeitos sobre a ansiedade (Idrissi *et al.*, 2009).

Interessantemente, os animais expostos ao tratamento combinado BE+ETOH apresentaram na primeira sessão de teste um efeito ansiogênico que não foi mais observado nas sessões seguintes, indicando que este efeito ocorre sob situação de apresentação à ambiente novo. O uso de drogas de abuso é motivado por diversos fatores, incluindo experimentação, influencia de amigos e tem sido proposto que pode ocorrer como automedicação para problemas psicológicos, onde, por exemplo, o consumo de etanol estaria associado ao “tratamento” de ansiedade (Little, 2000). De fato, a ansiedade tem sido associada ao consumo abusivo de etanol tanto em humanos (Castaneda *et al.*, 1996) como em modelos animais (Pelloux *et al.*, 2015; Izídio e Ramos, 2007). Considerando que são necessárias altas doses de etanol para efeito sedativo/ ansiolítico, a presença de efeito ansiogênico em indivíduos co-expostos à BE+ETOH poderia ser uma condição que favorecesse o consumo abusivo de etanol. O papel da alteração da resposta emocional na exposição combinada à BE+ETOH pode ser, desta forma, um componente etiológico importante no uso problemático de etanol, sendo necessário uma melhor investigação desta questão em estudos nos modelos animais e humanos.

4.6 Bebidas energéticas não foram capazes de reverter amnésia provocada pela exposição aguda e crônica ao etanol

Está comprovado que a exposição ao etanol durante a adolescência produz alterações neurocomportamentais diferentes das observadas em indivíduos adultos e induz alterações na estrutura de regiões específicas, como o córtex cerebral e hipocampo, que são intimamente relacionadas com deficiências cognitivas e comportamentais, entretanto tais modificações estruturais são mais comuns diante de exposição crônica ao álcool (Teixeira *et al.*, 2014; Spear, 2014). Modelos de estudo da memória e aprendizado partem do princípio que a formação e armazenamento da memória possuem várias fases iniciando-se com a memória de

trabalho (que dura segundos), passando pela memória de curto prazo (duração de minutos) até consolidar-se em memória de longo prazo, tal processo é altamente influenciado pelo nível de entendimento e manipulação do conhecimento, atenção e motivação (White, 2003). Indivíduos sob efeito do álcool são capazes de reproduzir uma informação nova e armazená-la por curtos períodos (alguns minutos) caso não estejam distraídos, embora o etanol impeça o armazenamento em longo prazo (White, 2003). Em situações de consumo agudo em que a concentração de álcool em sangue é muito alta, o usuário apresenta lentidão de raciocínio, processamento cognitivo alterado e pode apresentar “*blackouts*”. Já o abuso crônico do álcool pode gerar a demência alcoólica que consiste em danos persistentes na memória e cognição (Zorumski *et al.*, 2014). O etanol perturba a capacidade de formação de memória a longo prazo o que causa um rompimento na evocação das informações previamente estabelecidas ou na capacidade de reter novas informações ativas na memória de curto prazo (Zorumski *et al.*, 2014). Conforme o consumo de álcool aumenta a magnitude dos danos causados na função cognitiva cresce proporcionalmente (Zorumski *et al.*, 2014). Os *blackouts* são mais comuns em bebedores sociais em consequência de uma intoxicação aguda. O etanol interrompe a atividade no hipocampo através de várias rotas, diretamente através dos efeitos sobre os circuitos do hipocampo, e indiretamente, por interferir com interações entre outras regiões do cérebro e do hipocampo. O etanol interage com dois alvos principais de receptores de neurotransmissores, NMDA e receptores de GABA_A (Kumar *et al.*, 2009), que existem em concentração elevada no hipocampo (Pirker *et al.*, 2000) e potencializa os efeitos inibitórios de sistema GABAérgico no hipocampo especialmente via receptores GABA_A (Kumar *et al.*, 2004) e antagoniza a ativação dos receptores de NMDA do hipocampo (Nagy 2008). O álcool perturba severamente a capacidade dos neurônios no estabelecimento da memória de longa duração através de alterações na potenciação em longo prazo (LTP) em concentrações equivalentes aos produzidos pelo consumo de apenas um ou dois drinques (White, 2003). Alijanpour e colaboradores (2011) mostraram em experimentos na esQUIVA passiva em camundongos que a administração prévia de etanol causa amnésia e seus danos não são recuperados. Em nosso estudo, a realização da sessão de retenção sob efeito do etanol no teste de esQUIVA passiva, em doses que promovem resposta de hiperatividade no teste do campo aberto, já é capaz de promover amnésia tanto em situações de primeira exposição ou após exposição crônica.

Apesar de diversos relatos sobre os efeitos do energético na melhora do desempenho motor, na velocidade de resposta e até mesmo na memória, ainda não existem evidências experimentais de que as BEs antagonizem os efeitos do álcool na função cognitiva (Ferreira *et*

al., 2004; Bichler *et al.*, 2005). Em estudos em humanos, há a afirmação de que a cafeína utilizada tanto agudamente como cronicamente tem a capacidade de melhorar o desempenho de memória em voluntários saudáveis, enquanto outros estudos mostram pouco ou nenhum efeito da cafeína sobre a memória (Cunha & Agostinho, 2010). A cafeína é um antagonista não seletivo dos receptores de adenosina A_1 e A_{2A} , estes receptores, principalmente o A_{2A} , tem sido apontados como principais alvos farmacológicos nos efeitos positivos da cafeína na memória (Almeida, 2014). A taurina também tem sido reconhecida como uma suplementação que pode ter efeito positivo sobre a memória, revertendo danos provocando por neurotoxinas (Lu *et al.*, 2014). Entretanto, no presente estudo a exposição de BE não reverteu o efeito do etanol sobre a memória/aprendizado. Apesar de cafeína e taurina serem apontadas como substâncias que facilitam o processo de memória e aprendizagem, o presente estudo sugere que a dose de energético administrada em situações compatíveis com o uso em humanos não é suficiente para reverter, mesmo que parcialmente, os danos cognitivos causados pelo etanol.

4.7 Bebidas energéticas não revertem prejuízos no aprendizado motor provocado pela exposição aguda ao etanol, mas possuem efeitos protetores sobre o desempenho em administrações crônicas

A coordenação motora é um domínio comportamental complexo e pode refletir o equilíbrio, força muscular, marcha padronizada e competência sensorial. A ataxia pode ser causada por disfunção cerebelar, no córtex motor, estriato ou na medula espinal (Rustay *et al.*, 2003). O teste de cilindro giratório se popularizou através de Dunham e Miya (1957) com o intuito de testar déficits neurológicos em camundongos e ratos e atualmente é reconhecido como um bom teste para avaliar déficits motores cerebelares (Shiotsuki *et al.*, 2010). Inicialmente o teste era aplicado com uma velocidade constante, no entanto, a aceleração do rotarod eliminou a necessidade da utilização de um tempo máximo e mínimo de teste e de um treinamento longo (Rustay *et al.*, 2003).

O etanol durante a adolescência induz danos marcantes na função motora a longo prazo avaliada em diferentes tarefas comportamentais, tais danos tem sido associado a alterações celulares no córtex cerebral (Guerri *et al.*, 2010). Deficiências de coordenação motora geradas por doses agudas de etanol são mais evidentes em animais adultos do que em adolescentes, enquanto a exposição crônica costuma ser mais danosa ao indivíduo mais jovem e tende a perdurar mesmo após a retirada da droga (Guerri *et al.*, 2010). Os efeitos motores do etanol são bem estabelecidos em humanos: variam de acordo com a dose e a cronicidade da exposição à droga (Carpenter, 1962; Tafiand & Kasschau, 1965), incluem déficits na coordenação motora, aumento do tempo de reação, perda de equilíbrio e são observados quando o organismo está submetido à ação direta do etanol (Wallgren & Barry, 1970). Além disso, apesar de tais efeitos terem sido bem demonstrados em roedores (Boyce-Rustay & Holmes, 2006; Little *et al.*, 1996; Quoilin *et al.*, 2010; Silveri & Spear, 1998; White *et al.*, 2002), a sensibilidade à droga parece sofrer uma grande variabilidade em função das diferenças espécie/cepa-específica, bem como do modelo de exposição empregado (Boyce-Rustay & Holmes, 2006; Çelik *et al.*, 2005; Hefner & Holmes, 2007). No presente estudo, a exposição aguda ao etanol gerou um pior desempenho no rotarod após uma hora da gavagem, não sendo este efeito revertido pela BE. Em acordo, Ferreira e colaboradores (2004) em seu estudo com humanos demonstrou que o uso de bebida energética não melhorou o desempenho dos participantes no teste de esforço, assim como não foi capaz de reduzir os efeitos induzidos pela ingestão aguda de álcool. De forma oposta ao esperado, os animais expostos ao tratamento combinado apresentaram redução de desempenho na terceira sessão de teste após três horas da gavagem. Desta forma, este resultado indica que a exposição a BE pode prolongar alterações motoras geradas pelo uso do etanol.

A exposição crônica ao etanol gerou prejuízo motor somente nas fêmeas, indicando que estas são mais susceptíveis aos danos motores gerados pelo uso crônico do etanol durante a adolescência. Em machos expostos cronicamente, somente após 1 hora da gavagem de etanol observamos tendência a prejuízo motor. Interessantemente, em animais tratados cronicamente, a exposição ao etanol não gerou prejuízo no aprendizado motor, visto que, até mesmo nas fêmeas que apresentavam alteração na sessão de teste anterior a gavagem (treino), com a repetição do teste as diferenças entre os grupos foram totalmente mitigadas. Inversamente ao observado na administração aguda, a exposição crônica à BE reverteu o prejuízo motor gerado pelo etanol em adolescentes fêmeas. Desta forma, nossos resultados sugerem que a exposição BE pode gerar alterações relevantes quando administradas cronicamente que podem proteger das consequências motoras do uso do etanol à longo prazo.

CONCLUSÕES

O estudo da interação entre BE e etanol possui fundamental importância durante a adolescência, período no qual se inicia e estabelece o hábito do co-abuso destas drogas. O presente estudo aponta resultados que, se da mesma forma acontecessem com humanos, poderiam explicar a relação epidemiológica entre o co-uso e a maior incidência de uso problemático de etanol em adolescente, além de alertar sobre os possíveis efeitos adversos deste co-uso.

REFERÊNCIAS

- ABREU-VILLAÇA, Y; FILGUEIRAS, C. C.; MANHÃES, A. C. Developmental aspects of the cholinergic system. *Behavioral Brain Research*, v. 221, n. 2, p. 367-378, 2011.
- ABREU-VILLAÇA, Y; DE CARVALHO GRAÇA, A.C.; RIBEIRO-CARVALHO, A.; NAIFF, V. F.; MANHÃES, A. C.; FILGUEIRAS, C.C. Combined exposure to tobacco smoke and ethanol in adolescent mice elicits memory and learning deficits both during exposure and withdrawal. *Nicotine & Tobacco Research*, v. 15, n. 7, p. 1211-1221, 2013.
- ABREU-VILLAÇA, Y; MEDEIROS, A. H.; LIMA, C. S.; FARIA, F. P.; FILGUEIRAS, C. C.; MANHÃES, A. C. Combined exposure to nicotine and ethanol in adolescent mice differentially affects memory and learning during exposure and withdrawal. *Behavioral Brain Research*, v. 181, n. 1, p. 136-146, 2007.
- DALL'AGNOL, T.; SOUZA, P. F. A. Efeitos fisiológicos agudos da taurina contida em uma bebida energética em indivíduos fisicamente ativos. *Rev. Bras. Med. Esporte*, v. 15, n. 2, p. 123-126, 2009.
- AGUIAR, A. S.; DA-SILVA, V. A.; BOAVENTURA, G. T. Can calories from ethanol contribute to body weight preservation by malnourished rats? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 37, n. 6, p. 841-846, 2004.
- ALFONSO-LOECHES, S.; GUERRI, C. Molecular and behavioral aspects of the actions of alcohol on the adult and developing brain. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, v. 48, n. 1, p. 19-47, 2011.
- ALFORD S.; FRENGUELLI B. G.; SCHOFIELD J. G.; COLLINGRIDGE G. L. Characterization of Ca²⁺ signals induced in hippocampal CA1 neurones by the synaptic activation of NMDA receptors. *The Journal of Physiology*, v. 469, n. 1, p. 693-716, 1993.
- ALFORD, C.; HAMILTON-MORRIS, J.; VERSTER, J. C. The effects of energy drink in combination with alcohol on performance and subjective awareness. *Psychopharmacology*, v. 222, n. 3, p. 519-532, 2012.
- ALIJANPOUR, S.; REZAYOF, A.; ZARRINDAST, M. R. Dorsal hippocampal cannabinoid CB1 receptors mediate the interactive effects of nicotine and ethanol on passive avoidance learning in mice. *Addiction Biology*, v. 18, n. 2, p. 241-251, 2013.
- ALTMAN, J.; BAYER, S. A. Migration and distribution of two populations of hippocampal granule cell precursors during the perinatal and postnatal periods. *Journal of Comparative Neurology*, v. 301, n. 3, p. 365-381, 1990.
- ALTMAN, J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals?. *Science*, v. 135, n. 3509, p. 1127-1128, 1962.
- ALUQMANY, R.; MANSOOR, U.; SAAD, R.; ABDULLAH, R.; AHAMD, A. Consumption of Energy drinks among female secondary school students, Almadinah Almunawwarah,

Kingdom of Saudi Arabia, 2011. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, v. 8, n. 1, p. 60-65, 2013.

ANDERSEN, P.; SUNDBERG, S. H.; SVEEN, O.; WIGSTRÖM, H. Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices. *Nature* 266, 736 - 737 (21 April 1977)

ANDERSEN, S. L. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 27, n. 1, p. 3-18, 2003.

ANDERSON, C. M.; BRIDGES, R. J.; CHAMBERLIN, A. R.; SHIMAMOTO, K.; YASUDA-KAMATANI, Y.; SWANSON, R. A. Differing effects of substrate and non-substrate transport inhibitors on glutamate uptake reversal. *Journal of Neurochemistry*, v. 79, n. 6, p. 1207-1216, 2001.

ANDERSON, S. A.; CLASSEY, J. D.; CONDÉ, F.; LUND, J. S.; LEWIS, D. A. Synchronous development of pyramidal neuron dendritic spines and parvalbumin-immunoreactive chandelier neuron axon terminals in layer III of monkey prefrontal cortex. *Neuroscience*, v. 67, n. 1, p. 7-22, 1995.

ARAGON, C. M. G.; TRUDEAU, L.-E.; AMIT, Z. Effect of taurine on ethanol-induced changes in open-field locomotor activity. *Psychopharmacology*, v. 107, n. 2-3, p. 337-340, 1992.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behaviour*, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.

ARRIA, A. M.; CALDEIRA, K. M.; KASPERSKI, S. J.; VINCENT, K. B.; GRIFFITHS, R. R.; O'GRADY, K. E. Energy drink consumption and increased risk for alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 35, n. 2, p. 365-375, 2011.

ATTILA, S.; ÇAKIR, B. Energy-drink consumption in college students and associated factors. *Nutrition*, v. 27, n. 3, p. 316-322, 2011.

ALTIMARI, L. R.; MORAES, A. C.; TIRAPEGUI, J.; MOREAU, R. L. M. Caféina e performance em exercícios anaeróbios. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v. 42, n. 1, 2006.

ATTWOOD, A. S. Alcohol and Caffeine Caffeinated Alcohol Beverages: A Public Health Concern. *Alcohol and Alcoholism*, v. 47, n. 4, p. 370-371, Maio 2012.

BABU, K. M.; CHURCH, R. J.; LEWANDER, W. Energy drinks: the new eye-opener for adolescents. *Clinical Pediatric Emergency Medicine*, v. 9, n. 1, p. 35-42, 2008.

BALAK, K. J.; KEITH, R. H.; FELDER, M. R. Genetic and developmental regulation of mouse liver alcohol dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*, v. 257, n. 24, p. 15000-15007, 1982.

BANDEIRA, F.; LENT, R.; HERCULANO-HOUZEL, S. Changing numbers of neuronal and non-neuronal cells underlie postnatal brain growth in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 106, n. 33, p. 14108-14113, 2009.

BAO, X.; HUI, D.; NÄASSILA, M.; MICHAELIS E. K. Chronic ethanol exposure increases gene transcription of subunits of an N-methyl-D-aspartate receptor-like complex in cortical neurons in culture. *Neuroscience Letters*, v. 315, n. 1, p. 5-8, 2001.

BARDO, M. T.; DWOSKIN, L. P. Biological connection between novelty-and drug-seeking motivational systems. In: *Nebr Symp Motiv*. 2004. p. 127-158.

BARWICK, V. S.; DAR, M. S. Adenosenergetic modulation of ethanol-induced motor incoordination in the rat motor cortex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 22, n. 4, p. 587-607, 1998.

BAU, C. H. D. Estado atual e perspectivas da genética e epidemiologia do alcoolismo. *Cienc Saúde Coletiva*, v. 7, n. 1, p. 183-90, 2002.

BAUDRY, M.; MASSICOTTE, G. Physiological and pharmacological relationships between long-term potentiation and mammalian memory. *Concepts in Neuroscience*, v. 3, p. 79-98, 1992.

BAYER, S. A.; YACKEL, J. W.; PURI, P. S. Neurons in the rat dentate gyrus granular layer substantially increase during juvenile and adult life. *Science*, v. 216, n. 4548, p. 890-892, 1982.

BERGER, L. K.; FENDRICH, M.; CHEN, H. Y.; ARRIA, A. M.; CISLER, R. A. Sociodemographic correlates of energy drink consumption with and without alcohol: results of a community survey. *Addictive Behaviors*, v. 36, n. 5, p. 516-519, 2011.

BERGER, L.; FENDRICH, M.; FUHRMANN, D. Alcohol mixed with energy drinks: Are there associated negative consequences beyond hazardous drinking in college students?. *Addictive Behaviors*, v. 38, n. 9, p. 2428-2432, 2013.

BLOOMFIELD, K.; STOCKWELL, T.; GMEL, G.; REHN. International comparisons of alcohol consumption. *Alcohol Research and Health*, v. 27, n. 1, p. 95-109, 2003.

BLUM, K.; BRAVERMAN, E. R.; HOLDER, J. M.; LUBAR J. F.; MONASTRA, V. J.; MILLER, D.; LUBAR, J. O.; CHEN, T. J.; COMINGS, D. E. Reward deficiency syndrome: a biogenetic model for the diagnosis and treatment of impulsive, addictive, and compulsive behaviors. *J Psychoactive Drugs*, n. 32, p. 1-112, 2000.

BLUM, K.; NOBLE, E. P.; SHERIDAN, P. J.; MONTGOMERY, A; RITCHIE, T; JAGADEESWARAN, P; NOGAMI, H; BRIGGS, A. H.; COHN, J. B. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *Jama*, v. 263, n. 15, p. 2055-2060, 1990.

BOGGAN, W. O.; MEDBERRY, C.; HOPKINS, D. H. Effect of taurine on some pharmacological properties of ethanol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 9, n. 4, p. 469-472, 1978.

BOYCE-RUSTAY, J. M.; HOLMES, A. Ethanol-related behaviors in mice lacking the NMDA receptor NR2A subunit. *Psychopharmacology*, v. 187, n. 4, p. 455-466, 2006.

BRABANT, C.; GUARNIERI, D. J.; QUERTEMONT, E. Stimulant and motivational effects of alcohol: Lessons from rodent and primate models. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 122, p. 37-52, 2014.

BRACHE, K.; STOCKWELL, T. Drinking patterns and risk behaviors associated with combined alcohol and energy drink consumption in college drinkers. *Addictive Behaviors*, v. 36, n. 12, p. 1133-1140, 2011.

BRAGA, L. C.; ALVES, M. P. A cafeína como recurso ergogênico nos exercícios de endurance. *Rev. Bras. Ciên. e Mov. Brasília* v, v. 8, n. 3, 2000.

BRAUN, A. A.; SKELTON, M. R.; VORHEES, C. V.; WILLIAMS, M. T. Comparison of the elevated plus and elevated zero mazes in treated and untreated male Sprague–Dawley rats: effects of anxiolytic and anxiogenic agents. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 97, n. 3, p. 406-415, 2011.

BROOKS, D. C. Alcohol ataxia tolerance: extinction cues, spontaneous recovery, and relapse. *International Journal of Comparative Psychology*, v. 18, n. 2, 2005.

BUITRAGO, M. M.; SCHULZ, J. B.; DICHGANS, J.; LUFT, A. R. Short and long-term motor skill learning in an accelerated rotarod training paradigm. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 81, n. 3, p. 211-216, 2004.

CAMPBELL, B.; WILBORN, C.; LA BOUNTY, P.; TAYLOR, L.; NELSON, M. T.; GREENWOOD, M.; ZIEGENFUSS, T. N.; LOPEZ, H. L.; HOFFMAN, J. R.; STOUT, J. R.; SCHMITZ, S.; COLLINS, R.; KALMAN, D. S.; ANTONIO, J.; KREIDER, R. B. International Society of Sports Nutrition position stand: energy drinks. *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, v. 10, n. 1, p. 1, 2013.

CARDINAL, R. N.; PENNICOTT, D. R.; SUGATHAPALA, C. L.; ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science*, v. 292, n. 5526, p. 2499-2501, 2001.

CARLINI, E. A.; NAPPO, S. A.; GALDURÓZ, J. C. F.; NOTO, A. R. Drogas psicotrópicas: o que são e como agem. *Revista Imesc*, v. 3, p. 9-35, 2001.

CARLINI, E. A.; GALDURÓZ, J. C. F.; NOTO, A. R.; NAPPO, S. A. *I Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 107 maiores cidades do país*. Cebrid/Unifesp, São Paulo: 2002.

CARVALHO, J. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; RODRIGUES, S. Major compounds profiles in energetic drinks: caffeine, taurine, guarana, and glucoronolactone. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, v. 65, n. 2, p. 78-85, 2006.

CAVALCANTE, M. B. P. T.; MARIA DALVA SANTOS, A.; BARROSO, M. G. T. Adolescence, alcohol and drugs: a reflection in the health promotion perspective. *Escola Anna Nery*, v. 12, n. 3, p. 555-559, 2008.

CASTANEDA, R.; SUSSMAN, N.; WESTREICH, L.; LEVY, R.; O'MALLEY, M. A review of the effects of moderate alcohol intake on the treatment of anxiety and mood disorders. *The Journal of Clinical Psychiatry*, v. 57, n. 5, p. 207-212, 1996.

CENTANNI S. W.; TEPPEN, T.; RISHER, M. L.; FLEMING, R. L.; MOSS, J. L.; ACHESON, S. K.; MULHOLLAND P. J.; PANDEY S. C.; CHANDLER L. J.; SWARTZWELDER, H. S. Adolescent Alcohol Exposure Alters GABAA Receptor Subunit Expression in Adult Hippocampus. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 38, n. 11, p. 2800-2808, 2014.

CHIN, V. S.; VAN SKIKE, C. E.; MATTHEWS, D. B. Effects of ethanol on hippocampal function during adolescence: a look at the past and thoughts on the future. *Alcohol*, v. 44, n. 1, p. 3-14, 2010.

CLANCY, B.; FINLAY, B. L.; DARLINGTON, R. B.; ANAND, K. J. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology*, v. 28, n. 5, p. 931-937, 2007.

CHOLERIS, E.; THOMAS, A. W.; KAVALIERS, M.; PRATO, F. S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 25, n. 3, p. 235-260, 2001.

COLEMAN, L. G. JR.; LIU, W.; OGUZ, I.; STYNER, M.; CREWS, F. T. Adolescent binge ethanol treatment alters adult brain regional volumes, cortical extracellular matrix protein and behavioral flexibility. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 116, p. 142-151, 2014.

COLEMAN L. G. JR.; HE, J.; LEE, J.; STYNER, M.; CREWS, F. T. Adolescent binge drinking alters adult brain neurotransmitter gene expression, behavior, brain regional volumes, and neurochemistry in mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 35, n. 4, p. 671-688, 2011.

COLLINS, A. C.; YEAGER, T. N.; LEBSACK, M.E.; PANTER, S. S. Variations in alcohol metabolism: Influence of sex and age. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 3, n. 6, p. 973-978, 1975.

CORSETTI, G.; PASINI, E.; ASSANELLI, D.; SALIGARI, E.; ADOBATI, M.; BIANCHI, R. Acute caffeine administration decreased NOS and Bcl2 expression in rat skeletal muscles. *Pharmacological Research*, v. 55, n. 2, p. 96-103, 2007.

COSTA, B. M.; HAYLEY, A.; MILLER, P. Young adolescents perceptions, patterns, and contexts of energy drink use. A focus group study. *Appetite*, v. 80, p. 183-189, 2014.

COSENZA, R. M. *Fundamentos de Neuroanatomia*. Guanabara Koogan, 2014.

CRUZ, J. G. P.; DELWING, D; BRUNELLI, A. S., OLIVEIRA, G. C. Efeitos da administração crônica de etanol sobre a aprendizagem no reconhecimento de objetos em camundongos nadadores. *Revista Dynamis*, v. 15, n. 2, p. 26-31, 2010.

CUNHA, R. A.; AGOSTINHO, P. M. Chronic caffeine consumption prevents memory disturbance in different animal models of memory decline. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 20, p. 95-116, 2010.

CUNHA, P. A. Avaliação das alterações cerebelares decorrentes da exposição ao etanol da adolescência à fase adulta. 2014. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Belém, 2014. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

DALY, J. W.; BRUNS, R. F.; SNYDER, S. H. Adenosine receptors in the central nervous system: relationship to the central actions of methylxanthines. *Life Sciences*, v. 28, n. 19, p. 2083-2097, 1981.

DAR, M. S. The Biphasic Effects of Centrally and Peripherally Administered Caffeine on Ethanol-induced Motor Incoordination in Mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 40, n. 7, p. 482-487, 1988.

DAR, M. S. Central adenosinergic system involvement in ethanol-induced motor incoordination in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 255, n. 3, p. 1202-1209, 1990.

DAR, M. S. Antagonism by intracerebellar Ro15-4513 of acute ethanol-induced motor incoordination in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 52, n. 1, p. 217-223, 1995.

DE LA PUERTA, C.; ARRIETA, F.J.; Balsa J. A.; BOTELLA-CARRETERO, J. I.; ZAMARRÓN, I.; VÁZQUEZ, C. Taurine and glucose metabolism: a review. *Nutr Hosp*, v. 25, n. 6, p. 910-919, 2010.

DESIKAN, A.; WILLS, D. N.; EHLERS, C. L. Ontogeny and adolescent alcohol exposure in Wistar rats: open field conflict, light/dark box and forced swim test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 122, p. 279-285, 2014.

DEVI, S. L.; VISWANATHAN, P.; ANURADHA, C. V. Taurine enhances the metabolism and detoxification of ethanol and prevents hepatic fibrosis in rats treated with iron and alcohol. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 27, n. 1, p. 120-126, 2009.

DAVIS, J. M.; ZHAO, Z.; STOCK, H. S.; MEHL, K. A.; BUGGY, J.; HAND, G. A. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 284, n. 2, p. R399-R404, 2003.

DIENER, H. C.; DICHGANS, J.; BACHER, M.; GUSCHLBAUER, B. Improvement of ataxia in alcoholic cerebellar atrophy through alcohol abstinence. *Journal of Neurology*, v. 231, n. 5, p. 258-262, 1984.

DE SOUZA, E. G. Consumo de álcool e alcoolismo entre adolescentes. *Revista Eletrônica Interdisciplinar*, v. 2, n. 4, 2010.

DE HAAN, L.; DE HAAN H. A.; OLIVIER, B.; VERSTER, J. C. Alcohol mixed with energy drinks: methodology and design of the Utrecht Student Survey *International Journal of General Medicine*, v. 5, p. 889-898, 2012.

DE HAAN, L.; DE HAAN H. A.; VAN DER PALEN, J.; OLIVIER B.; VERSTER, J. C. Effects of consuming alcohol mixed with energy drinks versus consuming alcohol only on overall alcohol consumption and negative alcohol-related consequences. *International Journal of General Medicine*, v. 5, p. 953, 2012.

ECKARDT, M. J.; FILE S. E.; GESSA G. L.; GRANT, K. A.; GUERRI, C.; HOFFMAN, P. L.; KALANT, H.; KOOB, G. F.; LI, T. K.; TABAKOFF, B. Effects of Moderate Alcohol Consumption on the Central Nervous System. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 22, n. 5, p. 998-1040, 1998.

EL IDRISSE, A.; BOUKARROU, L.; HEANY, W.; MALLIAROS, G.; SANGDEE, C.; NEUWIRTH, L. Effects of taurine on anxiety-like and locomotor behavior of mice. In: *Taurine* 7. Springer New York, 2009. p. 207-215.

EMOND, J. A.; GILBERT-DIAMOND, D.; TANSKI, S. E.; SARGENT, J. D. Energy drink consumption and the risk of alcohol use disorder among a national sample of adolescents and young adults. *The Journal of Pediatrics*, v. 165, n. 6, p. 1194-1200, 2014.

ENOCH, M. A.; BAGHAL, B.; YUAN, Q.; GOLDMAN, D. A factor analysis of global GABAergic gene expression in human brain identifies specificity in response to chronic alcohol and cocaine exposure. *PloS one*, v. 8, n. 5, p. e64014, 2013.

EHLERS, C. L.; CRIADO, J. R. Adolescent ethanol exposure: does it produce long-lasting electrophysiological effects?. *Alcohol*, v. 44, n. 1, p. 27-37, 2010.

ERICSON, M.; CHAU P.; ADERMARK L.; SÖDERPALM. B. Rising taurine and ethanol concentrations in nucleus accumbens interact to produce dopamine release after ethanol administration. *Addiction Biology*, v. 16, n. 3, p. 377-385, 2011.

FANG Y. J., CHIU C. H.; CHANG Y. Y.; CHOU C. H.; LIN H. W.; CHEN M. F.; CHEN, Y. C. Taurine ameliorates alcoholic steatohepatitis via enhancing self-antioxidant capacity and alcohol metabolism. *Food Research International*, v. 44, n. 9, p. 3105-3110, 2011.

FEIJÓ, R. B.; OLIVEIRA, E. A. Risk behavior in adolescence. *Jornal de Pediatria*, v. 77, n. Supl 2, p. S125-S134, 2001.

FERKO, A. P. Ethanol-induced sleep time: interaction with taurine and a taurine antagonist. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 27, n. 2, p. 235-238, 1987.

FERRARI, E. A. M.; TOYODA, M. S. S.; FALEIROS, L.; CERUTTI, S. M. Plasticidade neural: relações com o comportamento e abordagens experimentais. *Psicol. Teor. Pesqui*, v. 17, n. 2, p. 187-194, 2001.

FERREIRA, S. E.; ABRAHAO, K. P.; SOUZA-FORMIGONI, M. L. O. Expression of behavioral sensitization to ethanol is increased by energy drink administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 110, p. 245-248, 2013.

FERREIRA, S. E.; DE MELLO M. T.; POMPEIA S.; DE SOUZA-FORMIGONI M. L. Effects of energy drink ingestion on alcohol intoxication. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 30, n. 4, p. 598-605, 2006.

FERREIRA, S. E.; DE MELLO M. T.; ROSSI M.V.; SOUZA-FORMIGONI, M. L. Does an energy drink modify the effects of alcohol in a maximal effort test?. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 28, n. 9, p. 1408-1412, 2004.

FERREIRA, S. E.; MELLO, M. T.; FORMIGONI, M. L. O. S. O efeito das bebidas alcoólicas pode ser afetado pela combinação com bebidas energéticas? Um estudo com usuários. *Rev Assoc Med Bras*, v. 50, n. 1, p. 48-51, 2004.

FERREIRA, V. M. M. Influência da idade, do sexo e do complexo receptor NMDA no comportamento de ratos tratados com etanol no labirinto em cruz elevado. 1996. 90 f Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

FRYE, G. D.; BREESE, G. R. An evaluation of the locomotor stimulating action of ethanol in rats and mice. *Psychopharmacology*, v. 75, n. 4, p. 372-379, 1981.

GALTER, D.; CARMINE, A.; BUERVENICH, S.; DUESTER, G.; OLSON, L. Distribution of class I, III and IV alcohol dehydrogenase mRNAs in the adult rat, mouse and human brain. *European Journal of Biochemistry*, v. 270, n. 6, p. 1316-1326, 2003.

GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; BARTOLINI, A. Caffeine induces central cholinergic analgesia. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, v. 356, n. 5, p. 590-595, 1997.

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. 569-577, 2012.

GINSBURG, B. C.; LAMB, R. J. Taurine and ethanol interactions: behavioral effects in mice. *European Journal of Pharmacology*, v. 578, n. 2, p. 228-237, 2008.

GRAHAM, T. E.; RUSH, J. W. E.; SOEREN, M. H. v. Caffeine and exercise: metabolism and performance. *Canadian Journal of Applied Physiology*, v. 19, n. 2, p. 111-138, 1994.

GRAHAME, N. J.; GROSE, A. M. Blood alcohol concentrations after scheduled access in high-alcohol-preferring mice. *Alcohol*, v. 31, n. 1, p. 99-104, 2003.

GRANT, D. M.; TANG, B. K.; KALOW, W. Variability in caffeine metabolism. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 33, n. 5, p. 591-602, 1983.

GRUCHOW, H. W.; SOBOCINSKI, K. A.; BARBORIAK J. J.; SCHELLER, J. G. Alcohol consumption, nutrient intake and relative body weight among US adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 42, n. 2, p. 289-295, 1985.

GRZESIUK, A. K. Ataxia episódica não familiar possivelmente associada com o uso de nicotina. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 58, n. 3-A, p. 756-759, 2000.

GUERRI, C.; PASCUAL, M. Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive, and neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence. *Alcohol*, v. 44, n. 1, p. 15-26, 2010.

HATTACHARYA, S. K.; SATYAN, K. S.; CHAKRABARTI, A. Anxiogenic action of caffeine: an experimental study in rats. *Journal of Psychopharmacology*, v. 11, n. 3, p. 219-224, 1997.

HAORAH, J.; RAMIREZ, S. H.; FLOREANI, N.; GORANTLA, S.; MORSEY, B.; PERSIDSKY, Y. Mechanism of alcohol-induced oxidative stress and neuronal injury. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 45, n. 11, p. 1542-1550, 2008.

HAES, T. M.; CLÉ D. V.; NUNES T. F.; RORIZ-FILHO, J. S.; MORIGUTI, J. C. *Simpósio: Condutas em enfermagem de clínica médica de hospital de média complexidade*, Ribeirão Preto, v. 43, n. 2, p. 153-63, 2010.

HEFNER, K.; HOLMES, A. An investigation of the behavioral actions of ethanol across adolescence in mice. *Psychopharmacology*, v. 191, n. 2, p. 311-322, 2007.

HILBERT, M. LT; MAY, C. E.; GRIFFIN, W. C. Conditioned reinforcement and locomotor activating effects of caffeine and ethanol combinations in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 110, p. 168-173, 2013.

HOLLOWAY JR, W. R.; THOR, D. H. Caffeine: effects on the behaviors of juvenile rats. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, v. 5, n. 1, p. 127-134, 1982.

HEFNER, K.; HOLMES, A. An investigation of the behavioral actions of ethanol across adolescence in mice. *Psychopharmacology*, v. 191, n. 2, p. 311-322, 2007.

HSIEH, Y. L.; YEH Y. H.; LEE Y. T.; HUANG, C. Y. Effect of taurine in chronic alcoholic patients. *Food & Function*, v. 5, n. 7, p. 1529-1535, 2014.

HUANG, C.; TITUS J. A.; BELL, R. L.; KAPROS, T.; CHEN, J.; HUANG, R. A mouse model for adolescent alcohol abuse: stunted growth and effects in brain. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 36, n. 10, p. 1728-1737, 2012.

HUGHES, R.N.; HANCOCK, N. J.; HENWOOD, G. A.; RAPLEY, S. A. Evidence for anxiolytic effects of acute caffeine on anxiety-related behavior in male and female rats tested with and without bright light. *Behavioural Brain Research*, v. 271, p. 7-15, 2014.

IORIO, K. R.; REINLIB, L.; TABAKOFF, B.; HOFFMAN, P. L. Chronic exposure of cerebellar granule cells to ethanol results in increased N-methyl-D-aspartate receptor function. *Molecular Pharmacology*, v. 41, n. 6, p. 1142-1148, 1992.

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, 2012.

IZÍDIO, G. S.; RAMOS, A. Positive association between ethanol consumption and anxiety-related behaviors in two selected rat lines. *Alcohol*, v. 41, n. 7, p. 517-524, 2007.

IZQUIERDO, I.; BEVILAQUA, L. R.; ROSSATO, J. I.; BONINI, J. S.; MEDINA, J. H.; CAMMAROTA, M.. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends in Neurosciences*, v. 29, n. 9, p. 496-505, 2006.

IZQUIERDO, I.; DA CUNHA, C.; ROSAT, R.; JERUSALINSKY, D.; FERREIRA M. B.; MEDINA J. H. Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behavioral and Neural Biology*, v. 58, n. 1, p. 16-26, 1992.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 68, n. 3, p. 285-316, 1997.

IZQUIERDO, I. Long-term potentiation and the mechanisms of memory. *Drug Development Research*, v. 30, n. 1, p. 1-17, 1993.

IZQUIERDO, I. Pharmacological evidence for a role of long-term potentiation in memory. *The FASEB Journal*, v. 8, n. 14, p. 1139-1145, 1994.

IZUMI, Y.; NAGASHIMA, K.; MURAYAMA, K.; ZORUMSKI, C. F. Acute effects of ethanol on hippocampal long-term potentiation and long-term depression are mediated by different mechanisms. *Neuroscience*, v. 136, n. 2, p. 509-517, 2005.

JAIN, N. S.; HIRANI, K.; CHOPDE, C. T. Reversal of caffeine-induced anxiety by neurosteroid 3-alpha-hydroxy-5-alpha-pregnane-20-one in rats. *Neuropharmacology*, v. 48, n. 5, p. 627-638, 2005.

JORDÃO JR, A. A.; CHIARELLO, P. G.; BERNARDES, M. S. M.; VANNUCCHI, H. *Lipid peroxidation and ethanol: role of vitamin-E and glutathione*. *Medicina (Ribeirão Preto)*, v. 31, p. 434-49, 1998.

KACHANI, A. T.; BRASILIANO, S.; HOCHGRAF, P. B. The impact of alcohol consumption on weight gain. *Archives of Clinical Psychiatry*, v. 35, p. 21-24, 2008.

KALEV-ZYLINSKA, M. L.; DURING, M. J. Paradoxical facilitatory effect of low-dose alcohol consumption on memory mediated by NMDA receptors. *The Journal of Neuroscience*, v. 27, n. 39, p. 10456-10467, 2007.

KAMMERER, M.; JARAMILLO, J. A.; GARCÍA, A.; CALDERÓN, J. C.; VALBUENA, L. H. Effects of energy drink major bioactive compounds on the performance of young adults in fitness and cognitive tests: a randomized controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 11, n. 1, p. 44, 2014.

KANDEL, E.R., SCHWARTZ, J.H., JESSELL, T.M. 4º Ed. *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill, 2000.

KAPOOR, N.; PANT, A. B.; DHAWAN, A.; DWIEVEDI, U. N.; GUPTA, Y. K.; SETH, P. K.; PARMAR, D. Differences in sensitivity of cultured rat brain neuronal and glial cytochrome P450 2E1 to ethanol. *Life Sciences*, v. 79, n. 16, p. 1514-1522, 2006.

KARL, T.; PABST, R.; VON HÖRSTEN, S. Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research. *Experimental and Toxicologic Pathology* 55.1 (2003): 69-83.

KARLSSON, R. M.; TANAKA, K.; SAKSIDA, L. M.; BUSSEY, T. J.; HEILIG, M.; HOLMES, A. Assessment of glutamate transporter GLAST (EAAT1)-deficient mice for phenotypes relevant to the negative and executive/cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, v. 34, n. 6, p. 1578-1589, 2009.

KENDLER, K. S.; SCHMITT, E.; AGGEN S. H.; PRESCOTT C. A. Genetic and environmental influences on alcohol, caffeine, cannabis, and nicotine use from early adolescence to middle adulthood. *Archives of General Psychiatry*, v. 65, n. 6, p. 674-682, 2008.

KERAI, M. D. J.; WATERFIELD C. J.; KENYON, S. H.; ASKER, D. S.; TIMBRELL, J. A. Taurine: protective properties against ethanol-induced hepatic steatosis and lipid peroxidation during chronic ethanol consumption in rats. *Amino Acids*, v. 15, n. 1-2, p. 53-76, 1998.

KING, A. C.; HOULE, T.; DE WIT, H.; HOLDSTOCK, L.; SCHUSTER, A. Biphasic alcohol response differs in heavy versus light drinkers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 26, n. 6, p. 827-835, 2002.

KING, A. C.; DE WIT, H.; MCNAMARA, P. J.; CAO, D. Rewarding, stimulant, and sedative alcohol responses and relationship to future binge drinking. *Archives of General Psychiatry*, v. 68, n. 4, p. 389-399, 2011.

KLIETHERMES, C. L. Anxiety-like behaviors following chronic ethanol exposure. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 28, n. 8, p. 837-850, 2005.

KOCAK, F. E.; ISIKLAR, O. O.; KOCAK, H.; MERAL, A. Comparison of blood ethanol stabilities in different storage periods. *Biochemia Medica*, v. 25, n. 1, p. 57, 2015.

KOLB, B.; WHISHAW, I. Q. Plasticity in the neocortex: mechanisms underlying recovery from early brain damage. *Progress in Neurobiology*, v. 32, n. 4, p. 235-276, 1989.

KONG, W. X.; CHEN, S.W.; LI, Y. L.; ZHANG, Y. J.; WANG, R.; MIN, L.; MI, X. Effects of taurine on rat behaviors in three anxiety models. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 83, n. 2, p. 271-276, 2006.

KOT, M.; DANIEL, W. A. Relative contribution of rat cytochrome P450 isoforms to the metabolism of caffeine: the pathway and concentration dependence. *Biochemical Pharmacology*, v. 75, n. 7, p. 1538-1549, 2008.

KOVACS, E. M. R.; STEGEN, J. H. C. H.; BROUNS, F. Effect of caffeinated drinks on substrate metabolism, caffeine excretion, and performance. *Journal of Applied Physiology*, v. 85, n. 2, p. 709-715, 1998.

KPONEE, K. Z.; SIEGEL, M.; JERNIGAN, D. H. The use of caffeinated alcoholic beverages among underage drinkers: results of a national survey. *Addictive Behaviors*, v. 39, n. 1, p. 253-258, 2014.

KUJIRAI, T.; CARAMIA, M. D.; ROTHWELL, J. C.; DAY, B. L.; THOMPSON, P. D.; FERBERT, A.; WROE, S.; ASSELMAN, P.; MARSDEN, C. D. Corticocortical inhibition in human motor cortex. *The Journal of Physiology*, v. 471, n. 1, p. 501-519, 1993.

KUMAR, A.; LAVOIE, H.A.; DIPETTE, D.J.; SINGH, U.S. Ethanol neurotoxicity in the developing cerebellum: underlying mechanisms and implications. *Brain Sciences*, v. 3, n. 2, p. 941-963, 2013.

LAL, H.; PRATHER, P. L.; REZAZADEH, S. M. Anxiogenic behavior in rats during acute and protracted ethanol withdrawal: reversal by buspirone. *Alcohol*, v. 8, n. 6, p. 467-471, 1991.

LAND, C.; SPEAR, N. E. Ethanol impairs memory of a simple discrimination in adolescent rats at doses that leave adult memory unaffected. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 81, n. 1, p. 75-81, 2004.

LANE, J. D. Caffeine, glucose metabolism, and type 2 diabetes. *Journal of Caffeine Research*, v. 1, n. 1, p. 23-28, 2011.

LARANJEIRA, R.; PINSKY, I.; ZALESKI, M.; CAETANO, R.. *I levantamento nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira*. Brasília: Secretaria Nacional Antidrogas, v. 70, 2007.

LATCHOUMYCANDANE, C.; NAGY, L. E.; MCINTYRE, T. M. Chronic ethanol ingestion induces oxidative kidney injury through taurine-inhibitable inflammation. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 69, p. 403-416, 2014.

LATINOAMERICANA, Adolescência. Uso e abuso de drogas na adolescência: o que se deve saber e o que se pode fazer. *Adolesc. Latinoam.*, v. 1, n. 3, 1998.

LEE, J. H.; TAJUDDIN, N. F.; DRUSE, M. J. Effects of ethanol and ipsapirone on the expression of genes encoding anti-apoptotic proteins and an antioxidant enzyme in ethanol-treated neurons. *Brain Research*, v. 1249, p. 54-60, 2009.

LENT, R. *Cem Bilhões de Neurônios? Conceitos fundamentais de neurociência*. 2ª edição, São Paulo: Atheneu, 2010.

LEVY, M.; ZYLBER-KATZ, E. Caffeine metabolism and coffee-attributed sleep disturbances. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 33, n. 6, p. 770-775, 1983.

LI, Q.; FLEMING R. L.; ACHESON S. K.; MADISON R. D.; MOORE, S. D.; RISHER, M. L.; WILSON, W. A.; SWARTZWELDER, H. S. Long-Term Modulation of A-Type K⁺ Conductances in Hippocampal CA1 Interneurons in Rats After Chronic Intermittent Ethanol Exposure During Adolescence or Adulthood. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 37, n. 12, p. 2074-2085, 2013.

LIEBER, C. S. The influence of alcohol on nutritional status. *Nutrition Reviews*, v. 46, n. 7, p. 241-254, 1988.

LIEBER, C. S. Perspectives: do alcohol calories count?. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 54, n. 6, p. 976-982, 1991.

LITTLE, P. J.; KUHN, C. M.; WILSON, W. A.; SWARTZWELDER, H. S. Differential effects of ethanol in adolescent and adult rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 20, n. 8, p. 1346-1351, 1996.

PAULE, M. G. Animal Models and the Cognitive Effects of Ethanol. In: LEVIN, E. D.; BUCCAFUSCO, J. J.; editors. *Animal Models of Cognitive Impairment*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2006. Chapter 5.

LIVY, D. J.; MAIER, S. E.; WEST, J. R. Long-term alcohol exposure prior to conception results in lower fetal body weights. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, v. 71, n. 3, p. 135-141, 2004.

LIVY, D. J.; PARNELL, S. E.; WEST, J. R. Blood ethanol concentration profiles: a comparison between rats and mice. *Alcohol*, v. 29, n. 3, p. 165-171, 2003.

LOMBROSOA, P. Aprendizagem e memória. Learning and memory. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, v. 26, n. 3, p. 207-10, 2004.

LÓPEZ-CANEDA, E.; MOTA, N.; CREGO, A.; VELASQUEZ, T.; CORRAL, M.; RODRÍGUEZ HOLGUÍN, S.; CADAVEIRA, F. [Neurocognitive anomalies associated with the binge drinking pattern of alcohol consumption in adolescents and young people: A review]. *Adicciones*, v. 26, n. 4, p. 334-359, 2013.

LOURENCO, R.; CAMILO M. E. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr. Hosp.*, v. 17, n. 6, p. 262-270, 2002.

LOKE, W. H. Effects of caffeine on mood and memory. *Physiology & Behavior*, v. 44, n. 3, p. 367-372, 1988.

LU, C. L.; TANG, S.; MENG, Z. J.; HE, Y. Y.; SONG, L. Y.; LIU, Y. P.; MA, N.; LI, X. Y.; GUO, S. C. Taurine improves the spatial learning and memory ability impaired by sub-chronic manganese exposure. *J. Biomed. Sci.*, v. 21, p. 51, 2014.

MACDONALD, J. The potential adverse health effects of energy drinks. *American Family Physician*, v. 87, n. 5, p. 321-321, 2013.

MALDONADO-DEVINCCI, A. M.; BADANICH, K. A.; KIRSTEIN, C. L. Alcohol during adolescence selectively alters immediate and long-term behavior and neurochemistry. *Alcohol*, v. 44, n. 1, p. 57-66, 2010.

MALINAUSKAS, B. M.; AEBY, V. G.; OVERTON, R. F.; CARPENTER-AEBY, T.; BARBER-HEIDAL, K. A survey of energy drink consumption patterns among college students. *Nutr. J.*, v. 6, n. 1, p. 35-41, 2007.

MANIR, M. M.; KIM J. K.; LEE B. G.; MOON S. S. Tea catechins and flavonoids from the leaves of *Camellia sinensis* inhibit yeast alcohol dehydrogenase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 20, n. 7, p. 2376-2381, 2012.

MARCZINSKI, C. A.; FILLMORE, M. T. Letter to the Editor in Response to The Alcohol Mixed with Energy Drinks Debate: Masking the Facts!. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 37, n. 4, p. 706, 2013.

MARCZINSKI, C. A.; FILLMORE M. T.; HENGES, A. L.; RAMSEY, M. A.; YOUNG, C. R. Effects of energy drinks mixed with alcohol on information processing, motor coordination and subjective reports of intoxication. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, v. 20, n. 2, p. 129, 2012.

MARCZINSKI, C. A. Alcohol mixed with energy drinks: consumption patterns and motivations for use in US college students. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 8, n. 8, p. 3232-3245, 2011.

MARCZINSKI, C. A.; FILLMORE, M. T.; HENGES, A. L.; RAMSEY, M. A.; YOUNG C. R. Mixing an energy drink with an alcoholic beverage increases motivation for more alcohol in college students. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 37, n. 2, p. 276-283, 2013.

MARIN, M. T.; ZANCHETA, R.; PARO, A. H.; POSSI, A. P.; CRUZ, F. C.; PLANETA, C. S. Comparison of caffeine-induced locomotor activity between adolescent and adult rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 660, n. 2, p. 363-367, 2011.

MARKWIESE, B. J.; ACHESON, S. K.; LEVIN, E. D.; WILSON, W. A.; SWARTZWELDER, H. S. Differential effects of ethanol on memory in adolescent and adult rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 22, n. 2, p. 416-421, 1998.

MARTIN, A. L. A. R. Efeitos comportamentais e neuroquímicos induzidos pelo etanol em camundongos e suas relações com o sistema colinérgico e dopaminérgico. 2011. 78f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2011.

MATTUCCI-SCHIAVONE, L.; FERKO, A. P. Acute effects of taurine and a taurine antagonist on ethanol-induced central nervous system depression. *European Journal of Pharmacology*, v. 113, n. 2, p. 275-278, 1985.

MAYER, M. L.; WESTBROOK, G. L. The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate central nervous system. *Progress in Neurobiology*, v. 28, n. 3, p. 197-276, 1987.

MCCOOL, B. A. Ethanol modulation of synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, v. 61, n. 7, p. 1097-1108, 2011.

MEDINA, A. E.; KRAHE, T. E. Neocortical plasticity deficits in fetal alcohol spectrum disorders: lessons from barrel and visual cortex. *Journal of Neuroscience Research*, v. 86, n. 2, p. 256-263, 2008.

MEDINA, A. E. Therapeutic utility of phosphodiesterase type I inhibitors in neurological conditions. *Frontiers in Neuroscience*, v. 5, p. 21, 2011.

MENDES, V.; LOPES, P. Hábitos de consumo de álcool em adolescentes. *Toxicodependências*, 13 (2), p. 25-40, 2007.

MESSIHA, F. S. Taurine, analogues and ethanol elicited responses. *Brain Research Bulletin*, v. 4, n. 5, p. 603-607, 1979.

MIDDAUGH, L. D.; FRACKELTON, W. F.; BOGGAN, W. O.; ONOFRIO, A.; SHEPHERD, C. L. Gender differences in the effects of ethanol on C57BL/6 mice. *Alcohol*, v. 9, n. 3, p. 257-260, 1992.

MIDDAUGH, L. D.; BOGGAN, W. O. Postnatal Growth Deficits in Prenatal Ethanol-Exposed Mice: Characteristics and Critical Periods. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 15, n. 6, p. 919-926, 1991.

MIDDAUGH, L. D.; RANDALL, C. L.; FAVARA, J. P. Prenatal ethanol exposure in C57 mice: effects on pregnancy and offspring development. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 10, n. 2, p. 175-180, 1988.

MILLER, K. E. Energy drinks, race, and problem behaviors among college students. *Journal of Adolescent Health*, v. 43, n. 5, p. 490-497, 2008.

MILLER, K. E. Alcohol mixed with energy drink use and sexual risk-taking: casual, intoxicated, and unprotected sex. *Journal of Caffeine Research*, v. 2, n. 2, p. 62-69, 2012.

MINCIS, M.; MINCIS, R. Álcool e o fígado. *Gastroenterol. Endosc. Dig.*, v. 30, n. 4, p. 152-162, 2011.

MITCHELL, M. C.; HERLONG, H. F. Alcohol and nutrition: caloric value, bioenergetics, and relationship to liver damage. *Annual Review of Nutrition*, v. 6, n. 1, p. 457-474, 1986.

MORRIS, R. G. M.; MOSER, E. I.; RIEDEL, G.; MARTIN, S. J.; SANDIN, J.; DAY, M.; O'CARROLL, C. Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 358, n. 1432, p. 773-786, 2003.

MORRIS, R. G. M.; FREY, U. Hippocampal synaptic plasticity: role in spatial learning or the automatic recording of attended experience?. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 352, n. 1360, p. 1489-1503, 1997.

MORRIS, R. G. M.; GARRUD, P.; RAWLINS J. N.; O'KEEFE, J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, v. 297, n. 5868, p. 681-683, 1982.

MORRIS, R. G. M. Long-term potentiation and memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 358, n. 1432, p. 643-647, 2003.

MOST, D.; WORKMAN, E.; HARRIS, R. A. Synaptic adaptations by alcohol and drugs of abuse: changes in microRNA expression and mRNA regulation. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 7, 2014

NASCIMENTO, E. W.; MORAES, E. O. Avaliação da função motora de ratos Wistar submetidos à ingestão de álcool. 2009. 37f. Monografia (Bacharel em Fisioterapia) - Faculdade de Pindamonhangaba, São Paulo, 2009.

NEHLIG, A.; DAVAL, J. L.; DEBRY, G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Research Reviews*, v. 17, n. 2, p. 139-170, 1992.

NIKODIJEVIĆ, O.; JACOBSON, K. A.; DALY, J. W. Locomotor activity in mice during chronic treatment with caffeine and withdrawal. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 44, n. 1, p. 199-216, 1993.

NOVIER, A.; VAN SKIKE C. E.; CHIN V. S.; DIAZ-GRANADOS, J. L.; MATTHEWS D. B. Low and moderate doses of acute ethanol do not impair spatial cognition but facilitate accelerating rotarod performance in adolescent and adult rats. *Neuroscience Letters*, v. 512, n. 1, p. 38-42, 2012.

NOVIER, A.; VAN SKIKE, C. E.; DIAZ-GRANADOS, J. L.; MITTLEMAN, G.; MATTHEWS, D. B. Acute alcohol produces ataxia and cognitive impairments in aged animals: a comparison between young adult and aged rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 37, n. 8, p. 1317-1324, 2013.

OLIVE, M. F. Interactions between taurine and ethanol in the central nervous system. *Amino Acids*, v. 23, n. 4, p. 345-357, 2002.

OLIVEIRA, R. B.; NASCIMENTO, M. V. M.; VALADARES, M. C.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A.; CUNHA, L. C. Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 44, n. 3, 2008.

OLIVEIRA, M. C. S. P. *Efeitos da exposição crônica ao etanol da adolescência à fase adulta em ratos sobre o processo mnemônico e na densidade celular no hipocampo*. 2012. 68 f Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacológicas) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Informe sobre la salud en el mundo. Reducir los riesgos y promover una vida sana. *World Health Organization*, Ginebra, 2002a.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Global status report on alcohol and health. *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data*, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Neuroscience of psychoactive substance use and dependence. *World Health Organization*, Ginebra, 2004.

ORNELAS, L. C.; NOVIER, A.; VAN SKIKE, C. E.; DIAZ-GRANADOS, J. L.; MATTHEWS, D. B. The effects of acute alcohol on motor impairments in adolescent, adult, and aged rats. *Alcohol*, 2014.

OWENS, A. H.; MARSHALL, E. K. The metabolism of ethyl alcohol in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 115, n. 3, p. 360-370, 1955.

PALANZA, P. Animal models of anxiety and depression: how are females different?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 25, n. 3, p. 219-233, 2001.

PAIVA, F. S.; RONZANI, T. M. Parental styles and consumption of drugs among adolescents. *Psicologia em Estudo*, v. 14, n. 1, p. 177-183, 2009.

PAES-BRANCO, D. ABREU-VILLAÇA, Y.; MANHÃES, A. C.; FILGUEIRAS, C. C. Unilateral hemispherectomy at adulthood asymmetrically affects motor performance of male Swiss mice. *Experimental Brain Research* 218.3, 465-476, 2012

PIERCE, D. R.; WILLIAMS, D. K.; LIGHT, K. E. Purkinje cell vulnerability to developmental ethanol exposure in the rat cerebellum. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 23, n. 10, p. 1650-1659, 1999.

PÄIVÄRINTA, P.; KORPI, E. R. Voluntary ethanol drinking increases locomotor activity in alcohol-preferring AA rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 44, n. 1, p. 127-132, 1993.

PYAPALI, G. K.; TURNER, D. A.; WILSON, W. A.; SWARTZWELDER, H. S. Age and dose-dependent effects of ethanol on the induction of hippocampal long-term potentiation. *Alcohol*, v. 19, n. 2, p. 107-111, 1999.

PANTOJA, M. S.; LOPES, V. G.; LEÃO, R. V.; SILVA, C. A.; CARVALHO, K. C.; LEMOS, M. V. V. Evaluation of the ethanol metabolism in rats undergone different temperatures. *Revista Paraense de Medicina*, 2012. 26(3), jul.-set. 2012. ilus.

PAUS, T.; KESHAVAN, M.; GIEDD, J. N. Why do many psychiatric disorders emerge during adolescence?. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 9, n. 12, p. 947-957, 2008.

PASCUAL, M.; BLANCO, A. M.; CAULI, O.; MIÑARRO, J.; GUERRI, C. Intermittent ethanol exposure induces inflammatory brain damage and causes long-term behavioural alterations in adolescent rats. *European Journal of Neuroscience*, v. 25, n. 2, p. 541-550, 2007.

PASTINO, G. M.; SULTATOS, L. G.; FLYNN, E. J. Development and application of a physiologically based pharmacokinetic model for ethanol in the mouse. *Alcohol and Alcoholism*, v. 31, n. 4, p. 365-374, 1996.

PATRICK, M. E.; MAGGS, J. L. Energy drinks and alcohol: links to alcohol behaviors and consequences across 56 days. *Journal of Adolescent Health*, v. 54, n. 4, p. 454-459, 2014.

PECHANSKYA, F.; SZOBOTA, C. M.; SCIVOLETTOB, S. Alcohol use among adolescents: concepts, epidemiological characteristics and etiopatogenic. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, v. 26, n. Supl I, p. 14-17, 2004.

- PECK, R. C.; GEBERS, M. A.; VOAS R. B.; ROMANO, E. The relationship between blood alcohol concentration (BAC), age, and crash risk. *Journal of Safety Research*, v. 39, n. 3, p. 311-319, 2008.
- PELLOUX, Y.; COSTENTIN, J.; DUTERTE-BOUCHER, D. Differential involvement of anxiety and novelty preference levels on oral ethanol consumption in rats. *Psychopharmacology*, p. 1-11, 2015.
- PENNAY, A.; LUBMAN, D. I. Alcohol and energy drinks: a pilot study exploring patterns of consumption, social contexts, benefits and harms. *BMC Research Notes*, v. 5, n. 1, p. 369, 2012.
- PERSAD, L. A. B. Energy drinks and the neurophysiological impact of caffeine. *Frontiers in Neuroscience*, v. 5, 2011.
- PHILLIPS, D. P.; BREWER, K. M. The relationship between serious injury and blood alcohol concentration (BAC) in fatal motor vehicle accidents: BAC= 0.01% is associated with significantly more dangerous accidents than BAC= 0.00%. *Addiction*, v. 106, n. 9, p. 1614-1622, 2011.
- PIVETTA, L. A. *Efeitos tóxicos do etanol e sua relação com o estresse oxidativo*. 2005. 123f Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Bioquímica Toxicológica). Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria. 2005.
- PLANT, T. M.; BARKER-GIBB, M. L. Neurobiological mechanisms of puberty in higher primates. *Human Reproduction Update*, v. 10, n. 1, p. 67-77, 2004.
- POHORECKY, L. A. Biphasic action of ethanol. *Biobehavioral Reviews*, v. 1, n. 4, p. 231-240, 1978.
- POPOVIĆ, M.; CABALLERO-BLEDA, M.; PUELLES, L.; GUERRI, C. Multiple binge alcohol consumption during rat adolescence increases anxiety but does not impair retention in the passive avoidance task. *Neuroscience Letters*, v. 357, n. 2, p. 79-82, 2004.
- PRINS, S. A.; PRZYBYCIEN-SZYMANSKA M. M.; RAO Y. S.; PAK T. R. Long-term effects of peripubertal binge EtOH exposure on hippocampal microRNA expression in the rat. *PloS one*, v. 9, n. 1, p. e83166, 2014.
- PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, v. 463, n. 1, p. 3-33, 2003.
- QUAGLIA, G.; LACKS, V. Termino de Tratamento. In: Moreira, F.G & Silveira, D. X. (Org.). *Panorama Atual de Drogas e Dependências*. São Paulo: Atheneu, 2005, v. único.
- QUINTANILLA, M. E. Effect of low doses of ethanol on spontaneous locomotor activity in UChB and UChA rats. *Addiction Biology*, v. 4, n. 4, p. 443-448, 1999.

RAMADOSS, J.; LUNDE E. R.; CHEN, W. J.; WEST, J. R.; CUDD, T. A. Temporal vulnerability of fetal cerebellar Purkinje cells to chronic binge alcohol exposure: ovine model. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 31, n. 10, p. 1738-1745, 2007.

RAOUI, N.; PIRI M.; MOSHFEGH, A.; SHAHIN, M. S. Nicotine improves ethanol-induced impairment of memory: possible involvement of nitric oxide in the dorsal hippocampus of mice. *Neuroscience*, v. 219, p. 82-91, 2012.

REISSIG, C. J.; STRAIN, E. C.; GRIFFITHS, R. R. Caffeinated energy drinks—a growing problem. *Drug and Alcohol Dependence*, v. 99, n. 1, p. 1-10, 2009.

REYNER, L. A.; HORNE, J. A. Efficacy of a 'functional energy drink' in counteracting driver sleepiness. *Physiology & Behavior*, v. 75, n. 3, p. 331-335, 2002.

REZAYOF, A.; ALIJANPOUR, S.; ZARRINDAST, M. R.; RASSOULI, Y. Ethanol state-dependent memory: involvement of dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 89, n. 4, p. 441-447, 2008.

RAJENDRAN, P.; SPEAR, L. P. The effects of ethanol on spatial and nonspatial memory in adolescent and adult rats studied using an appetitive paradigm. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1021, n. 1, p. 441-444, 2004.

RISTUCCIA, R. C.; SPEAR, L. P. Autonomic responses to ethanol in adolescent and adult rats: a dose-response analysis. *Alcohol*, v. 42, n. 8, p. 623-629, 2008.

RIZZOLATTI, G.; FADIGA, L.; GALLESE, V.; FOGASSI, L. Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Cognitive Brain Research*, v. 3, n. 2, p. 131-141, 1996.

ROBERTS, C.; ROBINSON, S. P. Alcohol concentration and carbonation of drinks: the effect on blood alcohol levels. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, v. 14, n. 7, p. 398-405, 2007.

RODIER, P. M. Environmental causes of central nervous system maldevelopment. *Pediatrics*, v. 113, n. Supplement 3, p. 1076-1083, 2004.

ROLIM DE LIMA, C. *Álcool: efeitos nutricionais e metabólicos em ratos adolescentes*. 2007. 86f. Dissertação (Mestrado em Nutrição). Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco. 2007.

ROSSHEIM, M. E.; THOMBS, D. L. Artificial sweeteners, caffeine, and alcohol intoxication in bar patrons. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 35, n. 10, p. 1891-1896, 2011.

RUSTAY, N. R.; WAHLSTEN, D.; CRABBE, J. C. Influence of task parameters on rotarod performance and sensitivity to ethanol in mice. *Behavioural Brain Research*, v. 141, n. 2, p. 237-249, 2003.

SANBERG, P. R.; FIBIGER, H. C. Impaired acquisition and retention of a passive avoidance response after chronic ingestion of taurine. *Psychopharmacology*, v. 62, n. 1, p. 97-99, 1979.

SANTOFIMIA-CASTAÑO, P.; SALIDO, G. M.; GONZALEZ, A. Ethanol reduces kainate-evoked glutamate secretion in rat hippocampal astrocytes. *Brain Research*, v. 1402, p. 1-8, 2011.

SCHAFFER, S. W.; SHIMADA, K.; JONG, C. J.; ITO, T.; AZUMA, J.; TAKAHASHI, K. Effect of taurine and potential interactions with caffeine on cardiovascular function. *Amino Acids*, v. 46, n. 5, p. 1147-1157, 2014.

SCHENKER, M.; MINAYO, M. C. S. Risk and protective factors and drug use among adolescence. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 10, n. 3, p. 707-717, 2005.

SHIOTSUKI, H.; YOSHIMI, K.; SHIMO, Y.; FUNAYAMA, M.; TAKAMATSU, Y.; IKEDA, K.; TAKAHASHI, R.; KITAZAWA, S.; HATTORI, N. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *Journal of neuroscience methods*, v. 189, n. 2, p. 180-185, 2010.

SILVA, L. V. E.; MALBERGIER, A.; STEMPLIUK, V. A.; DE ANDRADE, A. G. Factors associated with drug and alcohol use among university students. *Revista de Saúde Pública*, v. 40, n. 2, p. 280-288, 2006.

SILBER, J. T.; SOUZA, R. P. Uso y abuso de sustancias en la adolescência. Lo que se debe saber y lo que se puede hacer. *Adolescencia Latinoamericana*, S. p. 148-162.

SKEWES, M. C.; DECOU, C. R.; GONZALEZ, V. M. Energy drink use, problem drinking and drinking motives in a diverse sample of Alaskan college students. *International Journal of Circumpolar Health*, v. 72, 2013.

SCIVOLETTO, S.; MALBERGIER, A.; OGA, S. *Fundamentos de toxicologia – parte 4: Toxicologia social e medicamentos*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

SCOTT, A. M.; KELLOW, J. E.; SHUTER, B.; COWAN, H.; CORBETT, A. M.; RILEY, J. W.; LUNZER, M. R.; ECKSTEIN, R. P.; HÖSCHL, R.; LAM, S. K.; JONES, M. P. Intragastic distribution and gastric emptying of solids and liquids in functional dyspepsia. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 38, n. 12, p. 2247-2254, 1993.

SEIFERT, S. M.; SCHAECHTER, J. L.; HERSHORIN, E. R.; LIPSHULTZ, S. E. Health effects of energy drinks on children, adolescents, and young adults. *Pediatrics*, p. peds. 2009-3592, 2011.

SMOLEN, T. N.; SMOLEN, A. Blood and brain ethanol concentrations during absorption and distribution in long-sleep and short-sleep mice. *Alcohol*, v. 6, n. 1, p. 33-38, 1989.

SNIPES, D. J.; GREEN, B. A.; JAVIER, S. J.; PERRIN, P. B.; BENOTSCH, E. G. *The use of alcohol mixed with energy drinks and experiences of sexual victimization among male and female college students*. *Addictive Behaviors*, v. 39, n. 1, p. 259-264, 2014.

SNIPES, D. J.; JEFFERS, A. J.; GREEN, B. A.; BENOTSCH, E. G. Alcohol mixed with energy drinks are robustly associated with patterns of problematic alcohol consumption among young adult college students. *Addictive Behaviors*, v. 41, p. 136-141, 2015.

SPEAR, L. Modeling Adolescent Development and Alcohol Use in Animals. *Alcohol Res Health*. 24(2):115-23. 2000.

SPEAR, L. P; BRAKE, S. C. Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats. *Developmental Psychobiology*, v. 16, n. 2, p. 83-109, 1983.

SPEAR, L. P. Adolescents and alcohol: Acute sensitivities, enhanced intake, and later consequences. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 41, p. 51-59, 2014.

SPEAR, L. P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 24, n. 4, p. 417-463, 2000.

SPEAR, L. P. Neurodevelopment during adolescence. *Neurodevelopmental Mechanisms in Psychopathology*, p. 62-83, 2003.

SPEAR, L. P. Adolescent neurodevelopment. *Journal of Adolescent Health*, v. 52, n. 2, p. S7-S13, 2013.

SPEAR, L. P; VARLINSKAYA, E. I. Sensitivity to ethanol and other hedonic stimuli in an animal model of adolescence: implications for prevention science?. *Developmental Psychobiology*, v. 52, n. 3, p. 236-243, 2010.

SPENCER, P. S.; PALMER, V. S. Interrelationships of undernutrition and neurotoxicity: food for thought and research attention. *Neurotoxicology*, v. 33, n. 3, p. 605-616, 2012.

STRAUCH, E. S.; PINHEIRO R. T.; SILVA, R. A.; HORTA B. L. Alcohol use among adolescents: a population-based study. *Revista de Saúde Pública*, v. 43, n. 4, p. 647-655, 2009.

TAKIGUCHI, A.; MASUOKA, T.; YAMAMOTO, Y.; MIKAMI, A.; KAMEI, C. Potentiation of ethanol in spatial memory deficits induced by some benzodiazepines. *Journal of Pharmacological Sciences*, v. 101, n. 4, p. 325-328, 2006.

TASSANEYAKUL, W.; BIRKETT D.J.; MCMANUS. ME.; TASSANEYAKUL, W.; VERONESE, M. E., ANDERSSON, T.; TUKEY, R. H.; MINERS, J. O. Caffeine metabolism by human hepatic cytochromes P450: contributions of 1A2, 2E1 and 3A isoforms. *Biochemical Pharmacology*, v. 47, n. 10, p. 1767-1776, 1994.

TAVARES, B. F.; BÉRIA, J. U.; LIMA, M. S. Factors associated with drug use among adolescent students in southern Brazil. *Revista de Saúde Pública*, v. 38, n. 6, p. 787-796, 2004.

TEIXEIRA, F. B.; SANTANA L N.; BEZERRA, F. R.; DE CARVALHO, S.; FONTES-JÚNIOR E. A.; PREDIGER R. D.; CRESPO-LÓPEZ, M. E.; MAIA, C. S.; LIMA, R. R. Chronic ethanol exposure during adolescence in rats induces motor impairments and cerebral cortex damage associated with oxidative stress. *PloS one*, v. 9, n. 6, p. e101074, 2014.

TURNER, P. V.; BRABB, T.; PEKOW, C.; VASBINDER, M. A. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, v. 50, n. 5, p. 600, 2011.

TRABULO, D.; MARQUES, S.; PEDROSO, E. Caffeinated energy drink intoxication. *BMJ Case Reports*, v. 2011, p. bcr0920103322, 2011.

TSIEN, J. Z.; LI, M.; OSAN, R.; CHEN, G.; LIN, L.; WANG, P. L.; FREY, S.; FREY, J.; ZHU, D.; LIU, T.; ZHAO, F.; KUANG, H. On initial Brain Activity Mapping of episodic and semantic memory code in the hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 105, p. 200-210, 2013.

ÜNAL, S.; ŞENSOY, B.; YILMAZ, S.; ÜNAL, G. G.; SÜLEYMANOĞLU, M.; ŞEN, F.; AÇAR, B.; BALCI M. M. Left main coronary artery thrombosis and acute anterior myocardial infarction related to energy drink. *International Journal of Cardiology*, v. 179, p. 66-67, 2015.

ULBRICH, A.; HEMBERGER, S. H.; LOIDL, A.; DUFEK, S.; PABLIK, E.; FODOR, S.; HERLE, M.; AUFRICHT, C. Effects of alcohol mixed with energy drink and alcohol alone on subjective intoxication. *Amino Acids*, v. 45, n. 6, p. 1385-1393, 2013.

VAILLANT, G. E. *The Natural History of Alcoholism Revisited*. Revised Edition. Cambridge: Harvard University Press, 2009.

VAN SKIKE, C. E.; BOTTA, P.; CHIN, V. S.; TOKUNAGA, S.; MCDANIEL, J. M.; VENARD, J.; DIAZ-GRANADOS, J. L.; VALENZUELA, C. F.; MATTHEWS, D. B. Behavioral effects of ethanol in cerebellum are age dependent: potential system and molecular mechanisms. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 34, n. 12, p. 2070-2080, 2010.

VARVIL-WELD, L.; MARZELL, M.; TURRISI, R.; MALLET, K. A.; CLEVELAND, M. J. Examining the Relationship Between Alcohol-Energy Drink Risk Profiles and High-Risk Drinking Behaviors. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 37, n. 8, p. 1410-1416, 2013.

VASQUES-ARAÚJO, T.; PRIANTI-JUNIOR, A. C. G. Estudo do comportamento de camundongos Wistar decorrente da influência do estresse sonoro e luminoso. *XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica*. p. 1-4, 2008.

VERSTER, J. C.; ALFORD, C.; SCHOLEY, A. The alcohol mixed with energy drink debate: masking the facts! A commentary on "Mixing an energy drink with an alcoholic beverage increases motivation for more alcohol in college students" by Marczynski and colleagues (in press). *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 37, n. 4, p. 703-705, 2013.

VERSTER, J. C.; AUFRICHT, C.; ALFORD, C. Energy drinks mixed with alcohol: misconceptions, myths, and facts. *Int. J. Gen. Med.*, v. 5, p. 187-198, 2012.

VETRENO, R.; CREWS, F. Binge ethanol exposure during adolescence leads to a persistent loss of neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus that is associated with impaired adult cognitive functioning. *Frontiers in Neuroscience*, v. 9, p. 35, 2015.

VIDAL-INFER, A.; AGUILAR, M. A.; MIÑARRO, J.; RODRÍGUEZ-ARIAS, M. Effect of intermittent exposure to ethanol and MDMA during adolescence on learning and memory in adult mice. *Behav. Brain Funct.*, v. 8, n. 1, p. 32-32, 2012.

VIEIRA, J. M. F. *Metabolismo do etanol*. 2012. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto. 2012.

VOHRA, B. P. S; HUI, X. Improvement of impaired memory in mice by taurine. *Neural Plasticity*, v. 7, n. 4, p. 245-259, 2000.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*, v. 83, n. 3, p. 482, 1976.

WALKER, B. M.; EHLERS, C. L. Age-related differences in the blood alcohol levels of Wistar rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 91, n. 4, p. 560-565, 2009.

WAKITA, M.; SHIN, M. C.; IWATA, S.; NONAKA, K.; AKAIKE, Effects of ethanol on GABAA receptors in GABAergic and glutamatergic presynaptic nerve terminals. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 341, n. 3, p. 809-819, 2012.

WARD, R. J.; KEST, W; BRUYEER, P; LALLEMAND, F; DE WITTE, P. Taurine modulates catalase, aldehyde dehydrogenase, and ethanol elimination rates in rat brain. *Alcohol and Alcoholism*, v. 36, n. 1, p. 39-43, 2001.

WAZLAWIK, E.; MORATO, G. S. *Participação do receptor NMDA e do óxido nítrico na tolerância à incoordenação motora e à hipotermia induzidas por etanol*. 2003. 249p. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina. 2003

WELDY, D. L. Risks of alcoholic energy drinks for youth. *The Journal of the American Board of Family Medicine*, v. 23, n. 4, p. 555-558, 2010.

WHIRLEY, B. K.; EINAT, H. Taurine trials in animal models offer no support for anxiolytic, antidepressant or stimulant effects. *Israel Journal of Psychiatry and Related Sciences*, v. 45, n. 1, p. 11, 2008.

WHITE, A M.; SWARTZWELDER, H. S. Hippocampal function during adolescence: a unique target of ethanol effects. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1021, n. 1, p. 206-220, 2004.

WHITE, A. M.; TRUESDALE, M. C.; BAE, J. G.; AHMAD, S.; WILSON, W. A.; BEST, P. J.; SWARTZWELDER, H. S. Differential effects of ethanol on motor coordination in adolescent and adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 73, n. 3, p. 673-677, 2002.

WHITE, A. M. What happened? Alcohol, memory blackouts, and the brain. *Alcohol Research and Health*, v. 27, n. 2, p. 186-196, 2003.

WONG, D. V. T.; FERREIRA, J. R. O.; FONTELES, M. M. F.; VIANA, G. S. B.; DE SOUZA, F. C. F.; VASCONCELOS S. M. M. Álcool e neurodesenvolvimento: aspectos genéticos e farmacológicos. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 5, n. 1, 2008.

WU, J. Y.; PRENTICE, H. Role of taurine in the central nervous system. *J. Biomed. Sci.* 17 Suppl 1:S1. 2010.

YACOUBI, M. E.; LEDENT, C.; MÉNARD, J. F.; PARMENTIER, M.; COSTENTIN, J.; VAUGEOIS, J. M. The stimulant effects of caffeine on locomotor behaviour in mice are mediated through its blockade of adenosine A2A receptors. *British Journal of Pharmacology*, v. 129, n. 7, p. 1465-1473, 2000.

ZEIDÁN-CHULIÁ, F.; GELAIN, D. P.; KOLLING, E. A.; RYBARCZYK-FILHO, J. L.; AMBROSI, P.; RESENDE TERRA, S.; PIRES, A. S.; DA ROCHA, J. B. T.; ANTÔNIO BEHR, G.; FONSECA MOREIRA, J. C. Major components of energy drinks (caffeine, taurine, and guarana) exert cytotoxic effects on human neuronal SH-SY5Y cells by decreasing reactive oxygen species production. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2013, 2013.

ZORUMSKI, C. F.; MENNERICK, S.; IZUMI, Y. Acute and chronic effects of ethanol on learning-related synaptic plasticity. *Alcohol*, v. 48, n. 1, p. 1-17, 2014.