

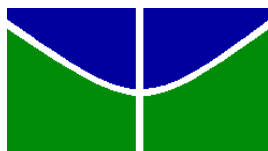


Universidade de Brasília
Instituto de Psicologia
Departamento de Processos Psicológicos Básicos
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

**Efeito modulador do consumo alcoólico no comportamento de ratos
privados do sono**

Raquel Elisabeth Dumaszk

Brasília, Julho de 2018.



Universidade de Brasília
Instituto de Psicologia
Departamento de Processos Psicológicos Básicos
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

**Efeito modulador do consumo alcoólico no comportamento de ratos
privados do sono**

Raquel Elisabeth Dumaszak

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vania Moraes Ferreira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento, Departamento de Processos Psicológicos Básicos do Instituto de Psicologia, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciências do Comportamento – Área de concentração: Cognição e Neurociências.

Brasília, julho de 2018.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento (PPG-CdC), do Instituto de Psicologia, Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, na área de Ciências do Comportamento - área de concentração: Cognição e Neurociências.

Aprovada em 03/07/2018.

Comissão Examinadora

Profa. Dra. Vania Moraes Ferreira
(Presidente)
Departamento de Processos Psicológicos Básicos
Universidade de Brasília

Profa. Dra. Wânia Cristina de Souza
(Membro interno)
Departamento de Processos Psicológicos Básicos
Universidade de Brasília

Profa. Dra. Mara Cláudia Ribeiro
(Membro externo)
Curso de Fisioterapia
Universidade Católica de Brasília

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

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.

Carl G. Jung

Agradecimentos

- Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento (PPG-CdC), pela oportunidade que me foi concedida na obtenção deste título de Mestrado.
- A todos professores do PPG- CdC, em especial a professora Rachel Cunha que, apesar de tantas demandas acadêmicas, me orientou de forma tão honrosa e rica na licenciatura.
- Aos Servidores do programa Bruna, Daniel e Rodolfo, agradeço pela atenção sempre simpática e espontânea.
- Á minha mãe Elisabeth, que se alegra com minhas conquistas e me apoia incondicionalmente em qualquer situação.
- Ao meu pai Dirceu, meus irmãos Edir e Melchior...Minha família sempre cúmplice e companheira
- Ao meu amor Wander, que me acompanha e me alegra em qualquer lugar, a qualquer momento, não importando o que aconteça, e sempre me deixando mais feliz.
- Á minha família de Goiás, vó Rosa – meu exemplo de vida, que tem a melhor comida e conversa, e ainda meus queridos e divertidos tios e primos...
- Á minha família que está longe, em especial a Beatriz, Iadia e Mara.
- Aos amigos mais maravilhosos do mundo Alessandra, Ana Paula, Cleide, “Galega e Valdir”, Lana, Lívia, Loyanne, Luara, Melissa e Sr. Wander... que me confortam, me alegram, me apoiam e me tranquilizam frente a tomada de minhas atitudes, quando necessário.
- Ao Residencial Colina da UnB, e todas as amigadas que lá se iniciaram, fazendo parte da minha vida de maneira tão especial.
- Aos animais experimentais que contribuem com a vida para o crescimento da ciência.
- A todas as pessoas que de maneira direta ou indireta fizeram parte deste trabalho.

Sumário

Lista de tabelas, quadro e figuras	VII
Lista de abreviaturas	VIII
Resumo	IX
Abstract.....	X
Introdução	11
Sono: aspectos gerais.....	12
Privação de Sono - PS	14
Ansiedade x PS	16
Aprendizagem e Memória x PS	18
Álcool x PS.....	20
Objetivos	24
Metodologia	25
Sujeitos experimentais.....	25
Delineamento experimental	25
Protocolo Experimental	26
Protocolo de PS	27
Administração do EtOH	28
- Teste do campo aberto.....	28
- Teste do labirinto em cruz elevado	29
- Teste da esQUIVA inibitória do tipo <i>step-down</i>	30
- Avaliações bioquímicas.....	31
Análise estatística	31
Resultados	32
- Teste do campo aberto.....	32
-Teste do labirinto em cruz elevado	33
- Teste da esQUIVA inibitória do tipo <i>step-down</i>	35
-Avaliações bioquímicas.....	36
Discussão	38
Conclusões	42
Referências	44
Anexo	53
Comprovante do Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA).....	53

Lista de Tabelas, Quadro e Figuras

Tabela 1 – Estágios do sono, frequência no EEG, tempo e atividade cerebral	13
Tabela 2 – Avaliação bioquímica de cortisol	37
Quadro 1 – Grupos experimentais.....	25
Figura 1 – Efeitos da ansiedade no organismo.....	16
Figura 2 – Memória de longa duração.....	19
Figura 3 – Ações do álcool no SNC	21
Figura 4 – Sequência dos experimentos	27
Figura 5 – Caixa de PS	27
Figura 6 - Campo aberto.....	29
Figura 7 – Labirinto em cruz elevado.....	30
Figura 8 – Caixa de esquiva inibitória.....	31
Figura 9 – Teste do campo aberto	32
Figura 10 – Teste do Labirinto em cruz elevado.....	34
Figura 11 - Teste da esquiva inibitória	36
Figura 12 – Análise comparativa dos níveis de cortisol em ratos	37

Lista de abreviaturas

ANOVA.....	Análise de variância
CEUA	Comitê de Ética no Uso Animal
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders
EBA	Entrada nos braços abertos
EBF.....	Entrada nos braços fechados
EtOH.....	Etanol
GABA.....	Ácido gama amino butírico
EEG	Eletroencefalograma
LCE.....	Labirinto em cruz elevado
MCD	Memória de curta duração
NMDA.....	N-metil-D-aspartato
OMS	Organização Mundial da Saúde
PS.....	Privação de Sono
REM	Movimento rápido dos olhos
NREM.....	Movimento não rápido dos olhos
SNC	Sistema nervoso central
TBA	Tempo nos braços abertos
TBF.....	Tempo nos braços fechados

Resumo

O sono é essencial para saúde mental e física, sendo que suas alterações ou privações podem alterar vários aspectos comportamentais e cognitivos, interferindo na qualidade de vida. Nos últimos anos muito tem se observado em relação a diversidade de alternativas usadas para interferir no tempo de sono. O álcool, por exemplo, está relacionado a este cenário, uma vez que é consumido como alternativa para induzir o sono e, nos momentos de lazer, é usado para reduzir os níveis de ansiedade e estresse. No entanto, muitas são as evidências contraditórias a respeito dessa interação álcool x sono, sendo este o objeto de estudo deste trabalho. O objetivo desta pesquisa, portanto, foi investigar as alterações comportamentais e cognitivas decorrentes do consumo de etanol (EtOH) em ratos privados de sono. Para tal, foram utilizados 49 ratos Wistar, fêmeas, com cerca de 3 meses de idade, pesando em torno de 300 g, privados de sono por 24 h ou 48h, em um modelo de plataforma múltipla. Os ratos foram divididos aleatoriamente em 7 grupos (n=7 cada): Controle (C), Privação de sono (PS), EtOH administrado 24h (EtOH24h) ou 48h (EtOH48h) antes dos testes experimentais, Privação de Sono durante 24h (PS24h) ou 48h (PS48h), e EtOH + Privação de Sono durante 24h (EtOH+PS24h) ou 48h (EtOH+PS48h). O EtOH (1 g/kg) foi administrado por gavagem, tendo como controle a água de torneira. Os modelos experimentais utilizados foram campo aberto (locomoção), labirinto em cruz elevado (LCE - ansiedade) e esQUIVA inibitória do tipo “step down” (aprendizagem/memória de curta duração - MCD). Após essas avaliações, os animais foram anestesiados para a coleta de amostras sanguíneas por punção cardíaca para a dosagem bioquímica de cortisol. Em um contexto geral, observou-se que os animais privados de sono se apresentaram em uma condição de relaxamento, decorrente do cansaço físico que mascarou os resultados obtidos mostrando, desta maneira, resultados sugestivos de redução de níveis de ansiedade/estresse e aumento da aprendizagem. O EtOH, independente da dose e do tempo de administração, aumentou o percentual de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, sem alterar a atividade locomotora, mostrando especificidade da resposta ansiolítica, que contribuiu, até certo ponto, para a maior latência na plataforma da esQUIVA inibitória. Esta resposta, entretanto, não foi observada nos animais privados de sono, visto que EtOH prejudicou ainda mais a performance dos animais no teste da esQUIVA inibitória. Dessa maneira, conclui-se que, dependendo dos testes experimentais investigados, o modelo de plataforma múltipla constitui uma boa alternativa para se avaliar a PS comparada ao que acontece em humanos. O EtOH, por sua vez, afeta a performance dos sujeitos privados de sono, de uma maneira dependente do tempo da privação.

Palavras chave: Aprendizagem, EtOH, Memória, Privação de sono, Sono.

Abstract

Sleep is essential for mental and physical health, and their issues or deprivations are protected by behavioral and cognitive behavior, interfering with quality of life. In recent years much has been seen in relation to a diversity of alternatives used to interfere in sleep time. Alcohol, for example, is related to this scenario as it is consumed as an alternative to induce sleep and, in leisure times, it is used to reduce levels of anxiety and stress. However, many contradictory variables refer to the exchange of alcohol x sleep, being this the object of study of this work. The objective of this research, therefore, was to investigate the behavioral and cognitive alterations on the consumption of ethanol (EtOH) in deprived rats of sleep. For this, 49 female Wistar rats, about 3 months old, weighing around 250 g, deprived of sleep for 24 hours or 48 hours, were used in a multiple platform model. The rats were randomly divided into 7 groups (n = 7 each): Control (C), Sleep Deprivation (SD), EtOH administered 24h (EtOH24h) or 48h (EtOH48h) before the experimental tests, Sleep Deprivation for 24h (SD_{24h}) or 48h (SD_{48h}), and EtOH + Sleep Deprivation for 24h (EtOH + SD_{24h}) or 48h (EtOH + SD_{48h}). EtOH (1 g/kg) was administered by gavage, having tap water as the control. The experimental models used in this research were open field (locomotion), elevated plus maze (EPM - anxiety) and “step down” inhibitory avoidance (learning/short term memory). After these evaluations, the animals were anesthetized to collect blood samples by cardiac puncture for the biochemical measurement of cortisol. In a general context, it was observed that sleep-deprived animals presented a relaxation condition due to physical fatigue, which masked the results obtained, thus showing suggestive results of reduction of anxiety/stress levels and increase of learning. EtOH, regardless of dose and time of administration, increased the percentage of open arms entries and time spent in those arms, without altering the locomotor activity, showing specificity of the anxiolytic response, which contributed, to some extent, to the higher latency in the platform of inhibitory avoidance. This response, however, was not observed in sleep deprived animals, since EtOH further impaired the performance of the animals in the inhibitory avoidance test. In this way, it is concluded that, depending on the experimental tests investigated, the multiple platform model is a good alternative to evaluate SD compared to what happens in humans. EtOH, in turn, affects the performance of sleep-deprived subjects, in a manner dependent on the time of deprivation.

Key words: Learning, EtOH, Memory, Sleep deprivation, Sleep.

O sono é um dos componentes fundamentais para promover a qualidade da saúde mental e física. É sabido que em humanos ele é importante para restaurar o sistema imunológico, regenerar tecidos cerebrais e manter em funcionamento alguns hormônios fundamentais para a saúde como o cortisol e dopamina (Ferrara & De Gennaro, 2001; Reimão, 1996). As perturbações do sono, portanto, podem acarretar alterações no funcionamento físico, cognitivo e social do indivíduo (Reite, Ruddy & Nagel, 2004).

Para que o indivíduo seja beneficiado em termo de estabilidade emocional, ele precisa dormir o sono reparador, aquele que realmente descansa e recompõe as necessidades básicas do organismo. Este é constituído por alterações entre fases dos movimentos rápidos dos olhos - REM (do inglês – *Rapid eyes movements*) e não REM (NREM) (Rocha, 2000). Observa-se, entretanto, que para evitar os efeitos aversivos da insônia, muitas pessoas utilizam substâncias químicas como soníferos e até mesmo o álcool como tentativa de estimular o sono (Nascimento, Nascimento & Silva, 2007).

O consumo do álcool faz parte desta esfera por ser utilizado por algumas pessoas, como estratégia de enfrentamento do estresse, facilitando a adaptação às situações que geram tensão e sofrimento. É utilizado também devido seus efeitos farmacológicos próprios (calmante, euforizante, estimulante, relaxante, indutor do sono). O fato de a bebida alcoólica provocar sonolência, produz forte sensação de relaxamento e sedação, mas apresenta um sono perturbado, isto porque a administração aguda reduz a latência do sono REM e aumenta o sono NREM (Poe, Washl & Bjorness, 2010). Por esses fatores, o consumo alcoólico tem sido cada vez mais incorporado ao cotidiano de insones (Nascimento & Nascimento, 2007; Vieira, 2012).

Dessa maneira, entende-se relevante avaliar as ações do álcool em vários aspectos relacionados à privação do sono de uma maneira mais integrativa com a bioquímica do cortisol, descartando, assim, viés decorrente de uma análise isolada de cada parâmetro.

Sono: Aspectos Gerais

O sono é fundamental para o equilíbrio do organismo, ele preserva a saúde mental, física e psicológica do indivíduo, a má qualidade de sono pode prejudicar a saúde em curto, médio e longo prazo (Silva, 2018). Este complexo processo biológico é mediado por atividades cerebrais e hormonais, e é fundamental para a restauração das funções orgânicas e cognitivas do organismo (Ropke et al, 2017).

O ciclo sono-vigília é controlado pelos ritmos circadiano e homeostático, que se caracterizam como uma série de fatores biológicos endógenos que ocorrem no organismo durante um intervalo de 24h, induzindo então ao sono e a vigília. Sua regulação é devida ao núcleo supraquiasmático, que recebe estímulos de luz por meio da retina e envia para a glândula pineal, produtora de melatonina. A melatonina, e o cortisol são os principais agentes responsáveis pela regulação do ciclo circadiano bem como também, por promover o sono (Bombois, 2010; Da Silva, 2018).

A regulação de alguns processos biológicos, fundamentais para a saúde do organismo acontecem enquanto o indivíduo dorme, dentre eles está a síntese de hormônios como o cortisol por exemplo, que é importante por ser o principal agente regulador do estresse, pressão sanguínea, função imunológica e processos anti-inflamatórios do corpo (Adamowicz, 2010).

Conforme relatado previamente, o sono é dividido em duas fases - REM e NREM, sendo esta última dividida em 4 estágios: N1, N2, N3 e N4, e em cada um há uma atividade cerebral diferente. O sono REM, é o sono reparador, nesta fase estão presentes os sonhos, e por isso ele também é chamado de sono paradoxal (Carlson, 2002; Tafner, 1999).

Para o sono reparador é necessário a contemplação de um ciclo, que começa no estágio N1 e segue até a fase REM, após este primeiro ciclo, os estágios de sono vão se

alternando, até o despertar matinal. Estes estágios são caracterizados por produzirem diferentes atividades cerebrais que podem ser medidas pela frequência (Hz) pós-sináptica cerebral por meio de um eletroencefalograma - EEG (McCarley, 2007).

Tanto na vigília quanto em cada estágio de sono, o EEG registra diferentes padrões de atividade cerebral. Podendo na vigília serem registradas as atividades *alfa* e *beta*, enquanto que no sono são encontradas as atividades *alfa*, *beta*, *teta*, *delta* e o *complexo K* (Rossow, Salles & Côco, 2010). No sono o cérebro está em pleno funcionamento e em alguns momentos encontra-se ativo, assemelhando-se ao estágio de vigília (Balbani & Formigoni, 1999).

A tabela 1 esquematiza as passagens da fase de vigília e estágios do sono, demonstrando as atividades elétricas presentes em cada estágio.

Tabela 1: Estágios do sono, frequência no EEG, tempo e atividade cerebral

Estágio	Atividade (Ondas)	Frequência	Tempo* (min)
Vigília	Alfa	8 a 12 Hz	0 min
	Beta	13 a 30 Hz	
N1	Teta	3,5 a 7,5 Hz	10 min
N2	Fuso do sono Complexo K	12 a 14 Hz	
N3	Delta	4 Hz	15 min
N4	Delta	4 Hz	45 min
Sono REM	Teta	3,5 a 7,5 Hz	90 a 120 min
	Beta	13 a 30 Hz	

*O tempo se refere ao ciclo sono REM e vigília, sendo que se passam 90 minutos desde o fechar dos olhos até a primeira entrada da fase REM. Após esse primeiro ciclo, o sono se alterna entre outros estágios durante todo o comportamento de dormir (Fonte: Carlson, 2002).

Privação de Sono – PS

Os transtornos do sono podem trazer prejuízos para a saúde física e mental, emocionais, no trabalho, estudo, além de estarem associados ao risco aumentado de acidentes, tanto de trabalho quanto automobilísticos (Silva, 2018). As mudanças de turnos, excesso de trabalho, obrigações ou hábitos cotidianos, fazem com as pessoas durmam menos ou fiquem privadas de sono, tais condições afetam a ritmicidade circadiana, prejudicando as condições fisiológicas que dependem deste ciclo (Perdomo, 2002).

O sono normalmente varia ao longo do desenvolvimento humano quanto à duração, distribuição de estágios e ritmo circadiano (Thorleifsdottir, Björnsson, Benediktsdottir, Gislason & Kristbjarnarson, 2002). O tempo recomendado para um adulto são oito horas por dia, este tempo é suficiente para que o organismo realize suas funções de fortalecimento e restauração, o que fica mais difícil com o avanço da idade, pois ocorrem naturalmente perdas na duração, manutenção e qualidade do sono (Da Costa, 1990; Geib, Cataldo Neto, Wainberg & Nunes, 2003; Vignochi, Teixeira & Nader, 2010;).

A PS está muito relacionada a um declínio na saúde no indivíduo. Um estudo de revisão de Steenland (2000) verificou que alguns trabalhadores noturnos, passavam por condições de PS, e apresentavam maiores taxas de transtornos psicossociais e do sono. Além disso, Moreno & Louzada (2004) demonstraram que trabalhadores noturnos aumentaram o uso de café, álcool e drogas para se manterem acordados durante o serviço, o que lhes acarretou problemas fisiológicos e psicológicos.

De acordo com o Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders - DSM V (2013), os transtornos do sono se classificam desde os primários até os do ciclo sono-vigília. Os primários incluem a insônia primária, hiperssonia, sonambulismo, terror noturno, ocasionado por uma condição médica geral, devido a substâncias

neuromoduladoras. Os transtornos do ciclo sono-vigília, causam dificuldades para adormecer e se manter acordado, impossibilitando o indivíduo de realizar suas atividades.

A insônia está muito ligada a fatores emocionais, que geram ansiedade e estresse, na maioria das vezes são os desencadeadores do processo, e mesmo após sua extinção o estado fisiológico de alerta permanece, causando a insônia crônica (Easton, Meerlo, Begmman, Turek, 2004). Um estudo realizado na Filadélfia, verificou que os distúrbios do humor e ansiedade estavam presentes em 30% a 50% de seus pacientes com insônia (Weilburg, 2009). No Brasil, estima-se que em 2016, 1,6% dos adultos eram usuários de benzodiazepínicos, medicamentos hipnóticos e ansiolíticos muito utilizados em prática clínica para insônia, ansiedade e transtornos de humor (Mendes, 2017).

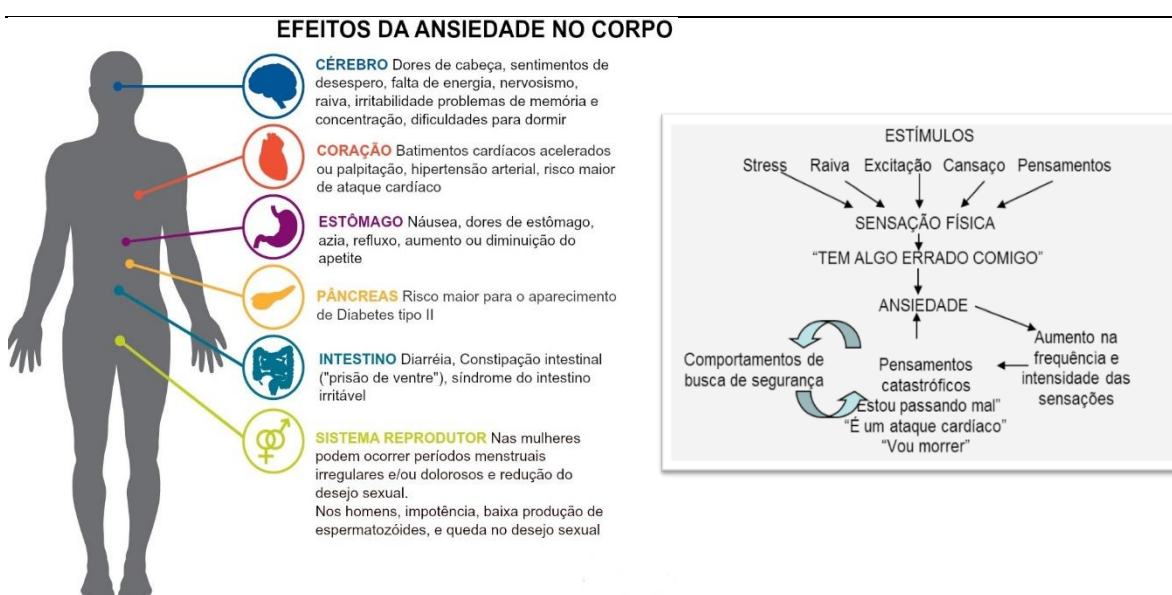
Vários são os fatores que podem afetar a qualidade e quantidade do sono, dentre eles destacam-se a dor, uso de substâncias químicas e condições clínicas (Cardoso et al, 2009). Além da qualidade de vida, os distúrbios do sono também comprometem a segurança pública, porque aumentam o número de acidentes industriais e de tráfego (Souza, Magna & Reimão, 2002).

A PS compromete a manutenção da atenção, concentração e o desempenho da memória. Dessa maneira, observa-se que por conta desses aspectos, outros comprometimentos podem se tornar uma consequência inevitável, culminando em níveis de ansiedade. Este sintoma fisiológico é fundamental para a sobrevivência, mas é prejudicial se permanecer contínuo. Quando o mecanismo de alerta para os perigos internos ou externos se torna excessivo e desproporcional, leva o indivíduo ao sofrimento intenso. Assim, observa-se que há também relações diretas entre os níveis de ansiedade e PS, sendo que o estresse, causado pelo excesso de cortisol, pode influenciar na qualidade do sono aumentando sua latência, prejudicando o relaxamento, por exemplo (Belcher, Gumenyuk & Roth, 2017).

Ansiedade x PS

A ansiedade é um estado emocional natural do ser humano, é imprescindível para a sobrevivência da espécie pois é um aviso de situações perigosas que demandam respostas comportamentais rápidas de fuga ou luta, ou ainda antecipa a atenção e apreensão do indivíduo para que ele busque sua proteção prévia. De forma crônica, é prejudicial para o organismo como um todo – Figura 1 (Amorim, Moraes, Sá, Silva & Camara Filho, 2018).

Figura 1 - Efeitos da ansiedade no organismo



Consequências da ansiedade crônica (Fontes: <http://gatda.com.br/index.php/2016/03/19/caracteristicas-da-ansiedade> e <https://www.academiaemocional.com.br/ansiedade-medo-e-panico>).

De acordo com o DSM V (2013) a ansiedade patológica inclui transtornos psicológicos que compartilham características de medo e ansiedade excessivos, resultantes em perturbações comportamentais. Dentre os comportamentos gerados pela ansiedade estão a diminuição da atenção e memória, apreensão, inquietação, hipervigilância, apreensão, agitação, tensão muscular, insônia, dentre outros (Panerari, & Galende, 2018).

O hormônio relacionado ao estresse é o cortisol, quando há qualquer estímulo estressante, o corpo envia impulsos nervosos ao hipotálamo. Este, por sua vez, libera o fator liberador de corticotropina (CRH), que chega a hipófise, cujas células secretam

hormônio adrenocorticotrópico fluindo pelo sangue até o córtex suprarrenal, onde será produzido e secretado o cortisol (Leite, Silva, Vieira, Funghetto & Farias, 2018).

Quando os níveis de cortisol estão muito altos a taxa metabólica aumenta, ocasionando perda de massa corporal, tolerância à glicose, maior frequência de apneias e transtornos do sono, além da elevação da pressão intracraniana que pode causar hemorragia intraventricular, ocorre também a diminuição na percepção de estímulos dolorosos e aumento da irritabilidade e do choro (Pereira, Anacleto & Louzada, 2018).

Na condição de PS, a produção de cortisol e outros hormônios associados ao estresse (adrenalina e noradrenalina), aumentam e mantêm o corpo num estado constante de alerta, não permitindo o relaxamento dos músculos e o descanso adequado. Em contrapartida, quando os níveis de cortisol baixam, o corpo fica mais sensível à dor e desenvolve um cansaço intenso (Pereira, Anacleto & Louzada, 2018).

Alterações na duração e na qualidade do sono, no ciclo sono-vigília e nos níveis de cortisol são verificados em pacientes com transtornos de humor, por isso, a investigação entre ansiedade, insônia e cortisol é válida (Araújo et al, 2016). Além disso, assim como ocorre em outros estados emocionais, a ansiedade também é, na maioria das vezes, causada por fatores psicossociais, ou de causas endógenas, como o uso de álcool e outras drogas, por exemplo (Botega & Sponholz Júnior, 2012).

Frente a esta realidade, cabe destacar a preocupação desta problemática, visto que a prevalência da insônia e episódios de ansiedade no Brasil é cerca de 12% a 76% da população, dependendo do tipo de pesquisa e do critério utilizado no levantamento (Rocha, 2000). Essa condição está presente na atualidade devido aos hábitos cotidianos, em especial o consumo de substâncias neuromoduladoras (Júnior et al, 2017). Há, portanto, necessidade de investigações correlacionando o cenário cotidiano, no que engloba os comportamentos, a esfera emocional e social e suas consequências no sono.

Aprendizagem e memória x PS

A memória é o processo de armazenar informações, enquanto a aprendizagem é o processo de se apropriar das informações que serão armazenadas, ou seja, para memorizar algo é preciso primeiramente decodificar a informação e conserva-la. Posteriormente esta informação pode ser recuperada, sendo assim chamada de lembrança, caso esta informação não seja acessada e utilizada, ela possivelmente será esquecida (Lent, 2010).

O processo de memorização pode ser pela vivencia consciente de códigos, como a linguagem, por exemplo, recebendo o nome de memória explícita ou declarativa. Há também a memória implícita ou não declarativa, que é a capacidade de adquirir habilidades motoras ou cognitivas, por meio da exposição repetida a um estímulo ou atividade (Lent, 2010; Miotto, 2015).

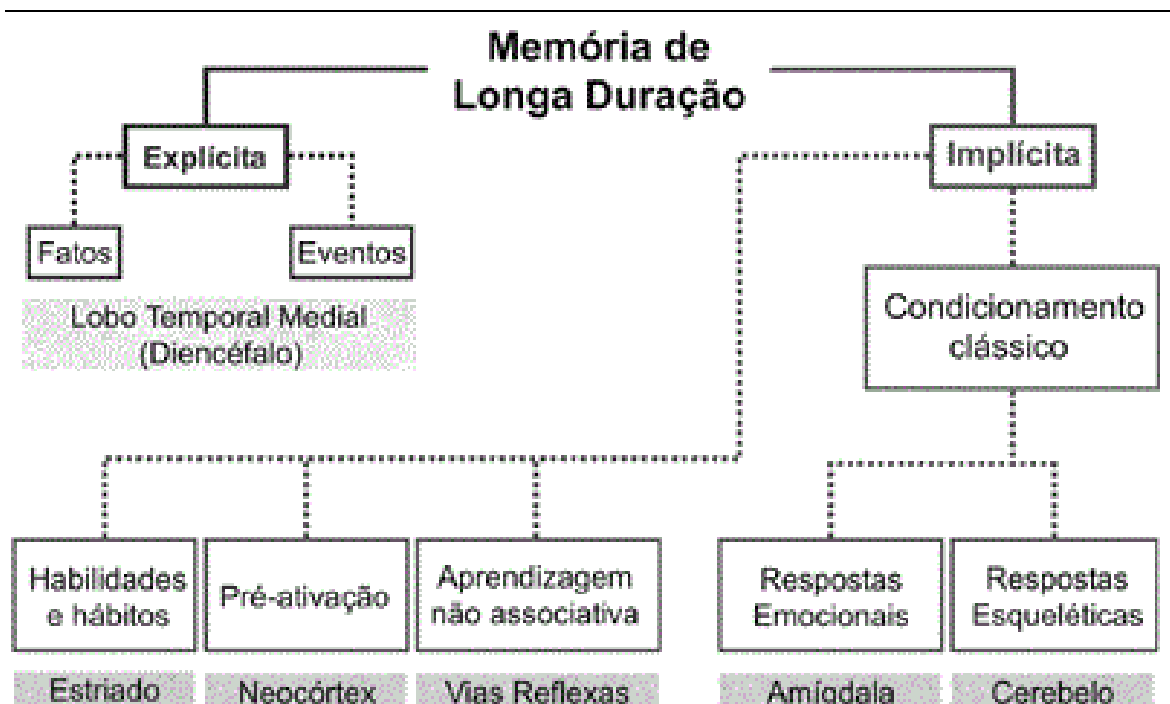
A memória pode ser classificada em subtipos de acordo com o seu tempo de retenção. A memória sensorial é a mais curta, dura menos de um segundo e está muito relacionada a atenção e percepção, enquanto a memória de curta duração - MCD dura de minutos a poucas horas (Dias, Pessanha & Nicolau, 2018). Se a MCD for retida ela se converte em memória de longo prazo, e o nome dado a este processo é consolidação da memória (Cheniaux, 2005).

No sono acontece a consolidação da memória, durante este período há uma reorganização do aprendizado cognitivo ocorrido na vigília, desse modo, a PS ou dormir pouco, alteram a qualidade da memória e aprendizagem. Além disso, sono insatisfatório contribui para prejuízos das atividades diurnas, como desatenção, falta de interesse e dificuldade de retenção do conhecimento, ou seja, todo o processo de memorização fica comprometido (Klaym & Nunes, 2003).

A amígdala, hipocampo e as demais estruturas que compõe o sistema límbico, estão envolvidas no processo memória implícita, desse modo, o aprendizado ocorre a partir da vivência de uma situação considerada positiva ou negativa, pareada com a sensação fisiológica, resultando no aprendizado e posteriormente, na “lembrança” da sensação, seja ela de medo, recompensa ou raiva, por exemplo, esse processo é chamado de memória associativa (Albuquerque & Silva, 2009; Mapurunga & Carvalho, 2018).

Apesar de existirem diversos tipos de classificação para a Memória, conforme ela tenha uma duração rápida ou longa, chama-se atenção para a primeira, devida uma maior complexidade e parecer ter uma distinção entre memória explícita (ou declarativa) e memória implícita (ou considerada de "procedimentos"), ambas consideradas como memórias de longa duração – MLD, com melhores subdivisões ilustradas na Figura 2 (Squire, 1992).

Figura 2 – Memória de longa duração



Subdivisões e estruturas envolvidas com a duração prolongada da memória (Fonte: adaptado de Squire & Knowlton, 1995).

Álcool x PS

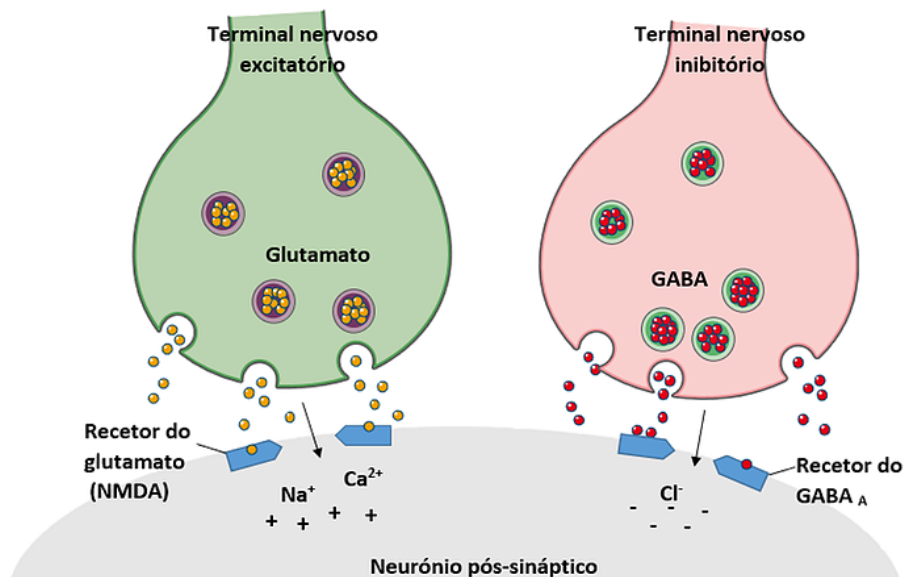
Utilizado como indutor de sono, o etanol (EtOH), é considerado farmacologicamente como um depressor do sistema nervoso central - SNC, provocando sonolência e sedação, apesar das primeiras doses ingeridas gerarem um efeito excitatório (Laranjeira, Nicastri, Jerônimo & Marques, 2000). Tais efeitos contraditórios podem ser explicados por duas vias de atuação, a dopaminérgica- que proporciona uma rápida sensação de prazer e desinibição, e a gabaérgica - inibitória do SNC (Lemos & Zaleski, 2004). Além disso, chama-se também a atenção para a participação dos receptores glutamatérgicos nas respostas decorrentes do consumo alcoólico (Figura 3).

Os receptores do ácido gama-amino-butírico (GABA) atuam como agonistas direto do SNC, inibindo o comportamento. O EtOH potencializa o GABA, ou seja, estimula a liberação de neurotransmissores gabaérgicos na fenda pré-sináptica, que serão fundidos a um receptor pós-sináptico. Existem dois tipos de receptores gabaérgicos pós-sinápticos, o GABA-alfa e o GABA-beta, dos quais, apenas o primeiro é estimulado pelo EtOH. Esses canais estão envolvidos em muitos aspectos da função cognitiva, incluindo sono, sensação de dor, aprendizado e memória (Carlson, 2002; Vieira, 2012).

Os receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), atuam como antagonista do SNC, promovendo um efeito excitatório, contrário ao GABA. Estes receptores têm sua ação sináptica reduzida quando há ingestão de EtOH. Apesar do conhecimento dessas vias de atuação, farmacodinamicamente o EtOH não possui um receptor específico, mas existem evidências científicas demonstrando sua atuação em diversos neurotransmissores monoaminérgicos, como a dopamina - que está envolvida no controle de movimentos, aprendizado, humor, emoções, cognição e memória; a noradrenalina e adrenalina - são as que mais influenciam o humor, ansiedade, sono e alimentação; a serotonina (5-HT) - atua

na inibição da ira, agressão, temperatura corporal, humor, sono, vômito e apetite (Matsumoto, 1998; Sasaki, Matsuzaki, Nakagawa, Sekizawa, Maruyama, 1995; Tabakoff, Hellevuo, Hoffman, 2005).

Figura 3 - Ações do Álcool no SNC



Liberação de GABA e Glutamato nas fendas sináptica por fusão das vesículas com a membrana pré-sináptica. O álcool reduz a ação sináptica do glutamato no cérebro e estimula a ação do GABA (Fonte: Jones, 2003).

Os neurotransmissores monoaminérgicos são abundantes SNC, e quando o EtOH é ingerido, há uma estimulação da via mesolímbica, também conhecida como sistema de recompensa, porque nela se localizam as estruturas cerebrais responsáveis por decodificar estímulos e atribuir a eles sensações de incentivo, motivação, e aprendizagem de reforço e medo (Frederico, Oga, Pequeno & Taniguchi, 2006).

Observa-se, entretanto, que para evitar a insônia, muitas pessoas utilizam o EtOH como tentativa de induzir o sono (Nascimento, Nascimento & Silva, 2007). Essa substância provoca sonolência, mas estimula as regiões do cérebro responsáveis pelas atividades de ondas cerebrais Delta e Alfa, ou seja, a pessoa tem uma forte sensação de relaxamento e sedação, porém apresentam um sono perturbado com despertares noturnos,

isto porque a administração aguda aumenta a latência do sono REM e posterga o estágio NREM (Poe, Washl & Bjorness, 2010).

Acidentes de trânsito têm sido imputados à PS, e é ainda mais grave quando acontece concomitantemente ao uso de álcool. Um estudo de caráter exploratório e descritivo com caminhheiros abordados em um posto de combustíveis, constatou que muitos trafegam de dia e a noite, motivados por situações de dívidas, crise no setor de transportes e exigências de entrega de cargas em curto prazo, por isso muitos caminhoneiros chegam a rodar mais de 18 horas por dia para cumprir horários. Além disso, uma grande parte dos entrevistados afirmaram que recorrem ao uso álcool e anfetaminas para aliviar a ansiedade e sono, respectivamente (Nascimento & Nascimento, 2007).

Em suma, o consumo de álcool e PS está fortemente relacionado, devido a causas sociais e fisiológicas como, por exemplo, um estudante que precisa passar a noite em claro, pode recorrer a esta bebida como estratégia de reforço negativo, ou seja, para diminuir a sensação de ansiedade e depressão causadas por aquela situação (Hockenbury & Hockenbury, 2011; Silva et al, 2011).

Muitas pessoas acreditam que beber uma pequena quantidade de álcool, como uma taça de vinho, por exemplo, promove o adormecimento e descanso, porém este fato é muito contraditório, pois, apesar das propriedades sedativas do álcool, que se traduzem em menor latência para dormir, ele provoca excitação sináptica das regiões cerebrais responsáveis pelas ondas de atividade Alfa, o que resulta em prolongamento do sono NREM (Matos, 2003; Tribl et al, 2002).

Quando há consumo crônico dessa droga, há uma maior tendência a interrupções do sono, culminando em perturbações do ciclo sono-vigília (Mesquita, Rossini, Soares & Reimão, 2011). Além das funções cotidianas que prejudicam o sono, para uma grande

parte dos jovens e adultos os momentos de lazer também ocupam o horário de dormir, muitos associam lugares de descontração e o consumo de álcool (Marques, 2001).

Dessa maneira, o presente trabalho procurou relacionar consumo de EtOH condicionado ou não à PS. O interesse nessa pesquisa deveu-se ao fato de que muitas pessoas sofrem devido aos hábitos cada vez mais intensos de trabalho e/ou estudo, ocupando um tempo necessário para descansar, com atividades que exigem concentração, atenção e responsabilidade. A escolha por protocolos de PS24 e 48h se justifica por ser uma condição presente na vida cotidiana, tanto pelo tempo sem dormir relatados por insones, quanto o que se vê em profissões que rodam turno, como vigias, médicos, enfermeiros, motoristas, entre outros.

A hipótese levantada foi de que os efeitos do álcool poderiam não interferir de forma tão significativa nas respostas de PS, devido a algumas peculiaridades dependentes de seus processos farmacocinéticos e farmacodinâmicos. Tais argumentos devem-se ao fato de que é bem conhecido na literatura que o álcool administrado de forma aguda, em somente uma dose, pode ter rapidamente metabolizado, de tal maneira que não seja capaz de modificar as respostas produzidas pela PS. Por outro lado, entende-se que seus metabólitos perpetuam pelo organismo por um tempo mais prolongado que podem agir de maneira mais discreta, modulando respostas em diferentes sítios de atuação.

Objetivos

Geral:

Avaliar os efeitos comportamentais e cognitivos gerados pelo consumo de álcool com e sem interferência da Privação de sono.

Específicos:

- Investigar as possíveis alterações na locomoção e ansiedade decorrentes da Privação de sono em ratos.
- Analisar o grau de interferência da privação do sono nas respostas de aprendizagem/memória
- Observar a influência do consumo de álcool nos aspectos acima mencionados.
- Considerar o tempo de Privação de sono associado ou não ao consumo alcoólico, nos intervalos de 24 e 48h, períodos normalmente observados em humanos
- Avaliar a interferência do cortisol nas respostas observadas.

Metodologia

Sujeitos experimentais

Foram utilizadas 49 ratas da espécie *Rattus norvegicus*, Wistar, fêmeas, com aproximadamente 3 meses de idade, peso aproximado de 300g, divididas aleatoriamente em 7 grupos de 7 animais (Quadro 1), conforme o tipo de tratamento. Cada grupo foi separado e mantido em gaiolas plásticas de 50x30x20cm, protegidas com grade de metal, com local apropriado para ração e água em garrafas de vidro com bico e com assoalho coberto por maravalha.

Quadro 1 – Grupos experimentais

Grupos	Tratamento
Controle	Recebeu água de torneira e foram submetidos aos testes experimentais
EtOH _{24h}	Administração de álcool, retornou para a gaiola e após 24h foram submetidos aos testes
EtOH _{48h}	Administração de substância, retornou para a gaiola e após 48h foram submetidos aos testes
PS _{24h}	PS de 24h, e assim que essa se finalizou os animais foram imediatamente submetidos aos testes experimentais
PS _{48h}	PS de 48h, e assim que essa se finalizou os animais foram imediatamente submetidos aos testes experimentais
EtOH+ PS _{24h}	Imediatamente após terem recebido álcool foram submetidos a PS de 24h, seguidos dos testes experimentais
EtOH + PS _{48h}	Imediatamente após terem recebido álcool foram submetidos a PS de 48h, seguidos dos testes experimentais

Delineamento experimental

Trata-se de um delineamento experimental, cuja variáveis dependentes (VD) são: o comportamento de mobilidade, mudanças nos parâmetros de cortisol, relação de aumento ou diminuição da MCD/aprendizagem e número e tempo de permanência nos braços do

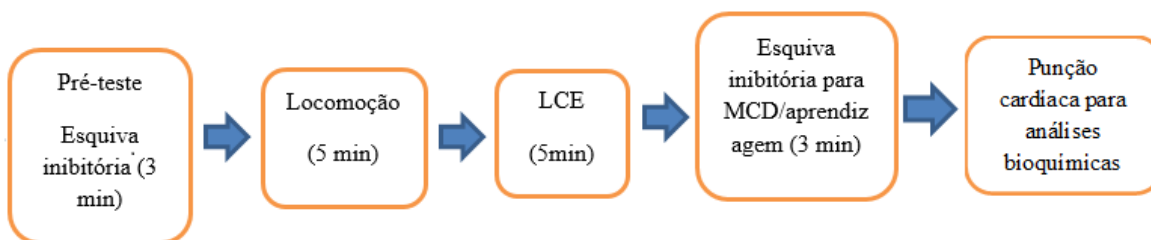
labirinto. Para avaliar a VDs nos grupos experimentais, cada um deles passou por uma condição de testagem (variáveis independentes -VIs): tempo de PS sem ou com influência do álcool, que foram agrupadas de modo que pudessem ser comparadas entre e intra grupo, além do grupo controle, totalizando sete grupos. Após a definição dos grupos, os animais foram submetidos aos testes comportamentais. Antes de dar início aos procedimentos experimentais, os animais foram habituados ao ambiente do teste durante uma semana. Todos os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Psicobiologia, Instituto de Psicologia, da Universidade de Brasília (IP/UnB) e obedeceram aos critérios estabelecidos pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), conforme o protocolo UnBDOC nº66742/2016 (Anexo).

Protocolo Experimental

Os modelos animais utilizados foram escolhidos para esse experimento porque o método experimental permite o controle do tempo de PS, além disso, os testes do campo aberto (locomoção), LCE (ansiedade) e MCD (esquiva inibitória) são padronizados internacionalmente para este fim, e não foi encontrada na literatura científica, qualquer restrição para o uso destes testes para investigação de tais comportamentos. Os animais experimentais foram escolhidos porque além de terem cascatas de sinalização química similares em muitos aspectos ao seu humano, também permitem uma melhor observação e manipulação, facilitando a analogia com o comportamento. Para uma execução adequada com a redução mínima de fatores que pudessem comprometer os resultados obtidos, os animais foram avaliados individualmente, alternando os grupos, para que a influência circadiana não se constituísse em viés, mascarando os resultados obtidos.

Os testes comportamentais se deram na ordem ilustrada pelo fluxograma abaixo (Figura 4).

Figura 4 – Sequência dos experimentos



No treino ocorreu aplicação de choque assim que o rato desceu na grade; na locomoção e no LCE os animais permaneceram o tempo total de cinco minutos; no teste, o tempo foi contabilizado até o momento de descida do rato, cuja latência máxima poderia ser de no máximo 3 min.

Protocolo de PS

A PS foi atingida com o uso do aparelho de plataforma múltipla para impedir o relaxamento muscular dos animais (Figura 5). O aparelho foi feito de acrílico transparente medindo 60 x 50 x 30cm, com 10 colunas de 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro. A superfície das colunas permitia que o animal sentasse nelas, mas não permitia que deitasse ou dormisse. As colunas eram dispostas em 4 fileiras, espaçadas pelo menos 10 centímetros uma da outra, para permitir aos animais saltar de uma plataforma para outra, não impedindo a sua movimentação (Almeida, 2018).

Figura 5 - Caixa de PS



Aparato de plataforma múltipla para PS, com animais expostos nas superfícies das colunas individuais (Fonte: arquivo pessoal, 2018).

A parte interna do aparato da plataforma múltipla foi coberta por cerca de 5 cm de água em temperatura ambiente $\pm 22^{\circ}\text{C}$. Foi colocada uma superfície áspera em cima das colunas, para permitir os animais se movimentarem entre elas com melhor destreza, sem que escorregassem das mesmas. Os ratos de um mesmo grupo experimental foram inseridos juntos na câmara para manutenção da estabilidade social e colocados cada um em cima de uma coluna, deixando pelo menos duas colunas livres para a movimentação. As garrafas de água e ração foram alocadas na grade que tampava o aparato.

Administração do EtOH

O EtOH (1.0 g/kg) foi administrado via oral, por meio de gavagem. Os volumes foram preparados individualmente e sempre tinham proporcionalidade aos pesos dos animais. A dose escolhida foi baseada em resultados prévios obtidos por nosso grupo de pesquisa, mostrando ser ideal para não comprometer o comportamento motor dos animais e ter efeito de redução de comportamento sugestivo de ansiedade (dados não publicados). Para o grupo controle, as preparações foram realizadas em água de torneira, por se tratar do líquido consumido diariamente pelos ratos mantendo-se, portanto, nos seus mesmos padrões de consumo de líquido habitual.

Teste de Campo Aberto

Também chamado de *Open Field* (Figura 6), é realizado para avaliar a atividade locomotora do animal. Consiste em uma arena em madeira (60x60x35 cm), onde o piso é dividido em nove quadrantes (Lucena et al., 2013; Ribeiro et al., 2017). A atividade locomotora foi considerada quando o animal atravessava com as quatro patas em um dos quadrantes. Cada animal foi testado por um período de cinco minutos e foi contabilizado o número total de quadrantes que cada rato percorreu.

Figura 6 - Campo aberto



Modelo usado para avaliar a locomoção dos animais (Fonte: arquivo pessoal, 2018).

Teste do Labirinto em cruz elevado (LCE)

É um equipamento de madeira, na forma de cruz, elevado 50 cm do chão com dois braços fechados e dois abertos, opostos entre si, medindo 50x10x40 cm cada e com cor preta na face interna. Este modelo animal consiste em uma plataforma em forma de cruz, com elevação de 50 cm em relação ao solo, é considerado como padrão-ouro para avaliar comportamentos análogos a ansiedade. Neste teste, cada rato foi posicionado no centro do LCE, com a face voltada para um dos braços fechados e livre para explorar o equipamento por cinco min (Figura 7). Um observador efetuou as anotações do número de entradas e do tempo de permanência dos animais nos braços abertos e fechados. Deste modo, mediu-se o número de entradas nos braços abertos (EBA) e fechados (EBF), como também o tempo que o animal permaneceu nos braços abertos (TBA) e fechados (TBF). Após observar cada animal, o LCE foi limpo com álcool 70% (Lucena et al., 2013, Ribeiro et al., 2017).

Figura 7 - Labirinto em cruz elevado



Modelo animal utilizado para testes sugestivos de ansiedade (Fonte: arquivo pessoal, 2018).

Teste da Esquiva Inibitória

A Esquiva Inibitória do tipo *step-down* é usada para avaliação da memória de curta – MCD e longa duração - MLD (Lucena et al., 2013; Sampaio et al., 2017). O aparelho consiste em uma caixa de metal com uma face de acrílico transparente, medindo 50 x 25 x 25 cm com uma plataforma à direita de cinco cm de altura, oito cm de largura e 25 cm de comprimento. No canto esquerdo apresenta uma série de barras de alumínio, que constitui o assoalho da caixa, conectadas a um estimulador elétrico (Figura 8).

O treino (ou pré-teste) se consistiu em colocar o animal na plataforma de esquiva, e assim que ele descesse no assoalho receberia um choque de 0,4 mA nas patas, durante 1 segundo. As sessões de teste de memória foram idênticas ao treino, porém nenhum choque na pata foi administrado, apenas a latência de descida foi contabilizada. Entre o treino e o teste de MCD houve um intervalo de 15 min.

Figura 8 - Caixa de esQUIVA inibitória



Avaliação de aprendizagem/memória, com um monitor na lateral para controlar o tempo em que os animais permanecem na plataforma durante o período máximo de três minutos (Fonte: arquivo pessoal, 2018).

Análises bioquímicas

Ao final das análises comportamentais, os animais foram anestesiados com ketamina (80 mg/kg) + xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal, e tiveram as amostras sanguíneas coletadas por punção cardíaca, sendo alocadas em tubos de exames específicos para avaliações das dosagens de cortisol. Posteriormente, as amostras foram identificadas e encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas, do Hospital Universitário de Brasília (HuB/UnB). O conteúdo sanguíneo foi centrifugado, sendo o plasma sanguíneo processado e analisado com técnicas e kits específicos, em conformidade com os seus fornecedores.

Análise estatística

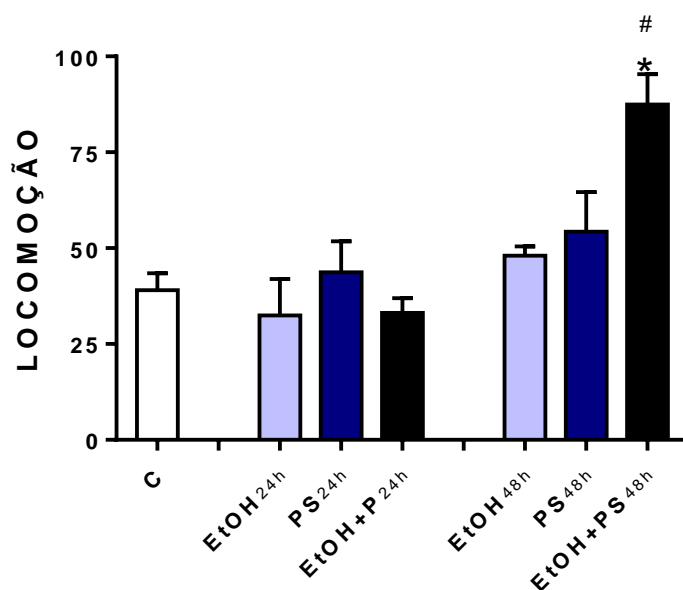
Os dados foram organizados na planilha do Excel, expressos como a média \pm erro padrão de média (EPM) de sete animais por grupo. As comparações estatísticas foram realizadas pela Análise de Variância (ANOVA) de uma via e os grupos comparados entre si pelo teste post-hoc de Tukey ou Bonferroni. O “p”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

Resultados

Teste do campo aberto

A ANOVA de uma via [$F_{(6,48)} = 6.856$, $p = 0,0001$] mostrou que nos resultados relacionados à locomoção os animais do grupo EtOH+PS_{48h} aumentaram o número de ambulações no teste do campo aberto, durante 5 min, quando comparados aos animais controles C, não privados de sono ($p = 0,0005$). Além disso, notou-se também que esses resultados foram diferentes dos controles tratados com EtOH *per se* ($p = 0,0067$) ou somente privados de sono ($p = 0,0352$) durante um período de 48h (Figura 9).

Figura 9 - Teste do campo aberto

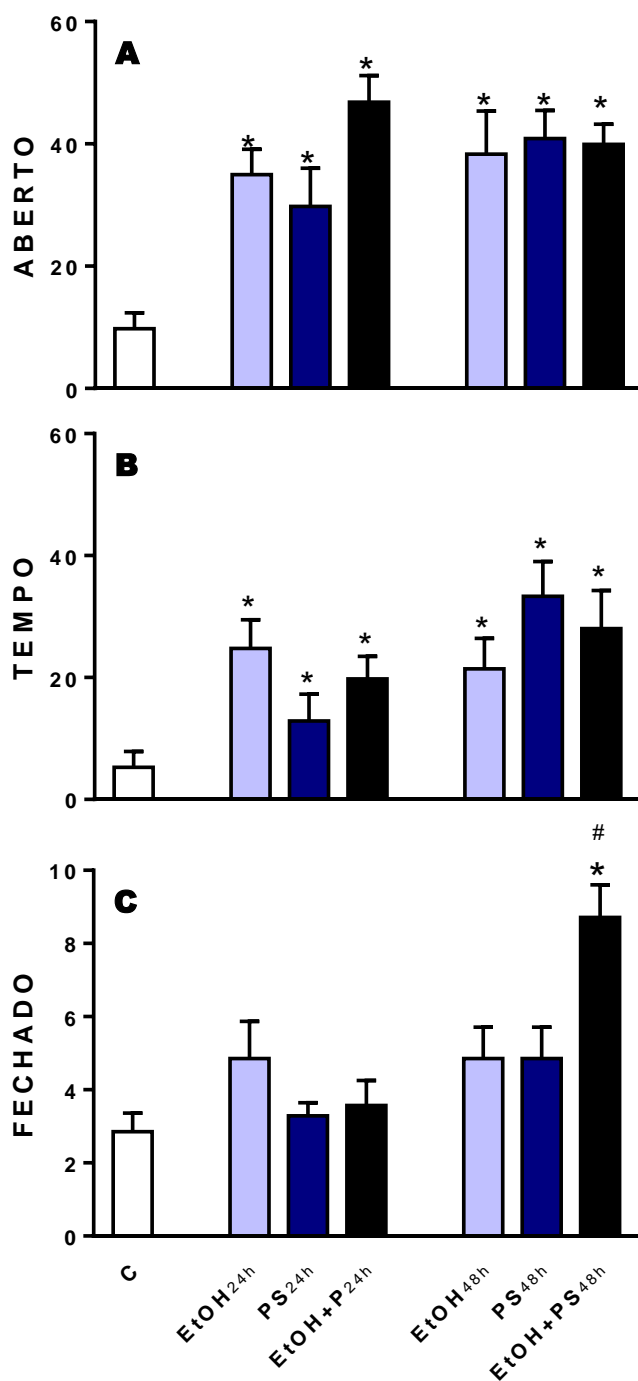


Efeitos da pré-administração do EtOH em animais submetidos à privação do sono durante 24 ou 48h e avaliados comportamentalmente quanto à locomoção no teste do campo aberto por 5 min. * $p \leq 0,05$ representa diferença estatística em relação aos animais controles C não privados de sono. # $p \leq 0,05$ indica diferença estatística em relação aos grupos EtOH_{48h} e PS_{48h} (ANOVA, Teste de Tukey).

Teste do Labirinto em Cruz Elevado

O comportamento sugestivo de ansiedade foi avaliado com base nos parâmetros da porcentagem de EBA (Figura 10A) e da porcentagem de TBA (Figura 10B), além do número de EBA no LCE (Figura 10C). Observou-se que os animais apresentaram os parâmetros todos alterados, em decorrência de estarem mais debilitados pela PS (Aberto: $[F_{(6,48)} = 3.282, p = 0,0097]$; Tempo: $[F_{(6,48)} = 3,901, p = 0,0035]$; e Fechado: $[F_{(6,48)} = 6.437, p = 0,0001]$

Figura 10 – Teste do labirinto em cruz elevado

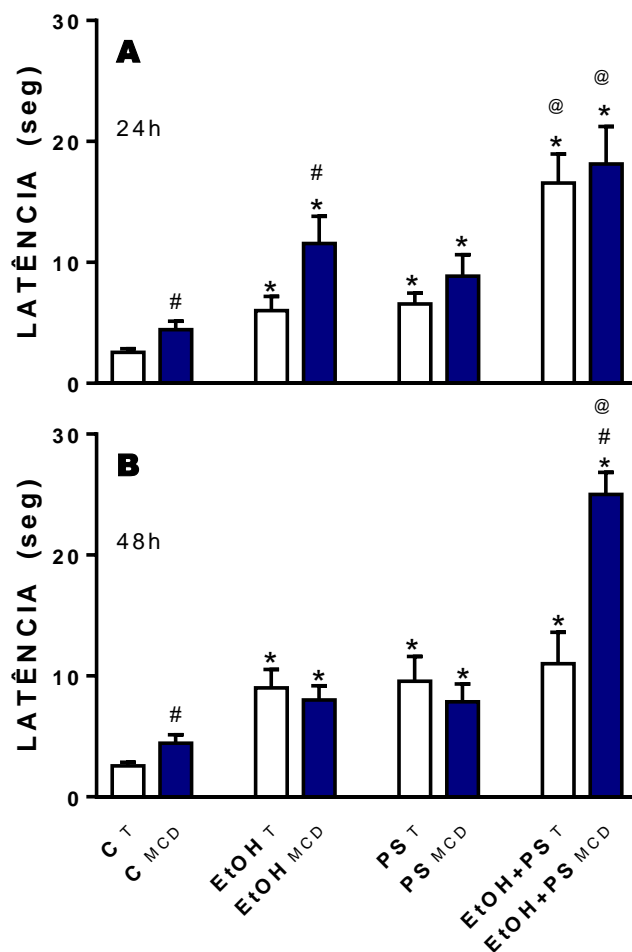


Efeitos da pré-administração do EtOH em animais submetidos à privação do sono durante 24 ou 48h e avaliados quanto ao comportamento sugestivo de ansiedade, quando avaliados no Teste do LCE, por 5 min. A) Percentual de entradas nos braços abertos, B) Percentual de tempo de permanência dos animais nos braços abertos, e C) Número de entradas nos braços fechados. * $p \leq 0,05$ representa diferença estatística em relação aos animais controles C não privados de sono. # $p \leq 0,05$ indica diferença estatística em relação aos grupos EtOH_{48h} e PS_{48h} (ANOVA, Teste de Tukey).

- Teste da Esquiva Inibitória do tipo *step down*

Analisando os resultados da esquiva inibitória (Figura 11), todos os tratamentos/procedimentos realizados nos animais com ou sem PS, apresentaram diferença estatisticamente diferente em comparação aos respectivos animais controles C (Treino ou MCD) durante 24h [$F_{(6,48)} = 9,744$, $p \leq 0,0001$] ou 48h [$F_{(6,48)} = 17,64$, $p \leq 0,0001$].

Chama-se atenção ao pré-tratamento do EtOH de 24h, apresentando diferença em relação ao seu treino ($p \leq 0,005$). Esse resultado, entretanto, não refletiu nos demais tratamentos durante este período de PS. Quando associado o EtOH + PS durante os dois períodos de 24 e 48h, os animais passaram mais tempo na plataforma pelas condições debilitantes que se encontravam, mostrando, inclusive, diferença em relação ao seu treino ($p \leq 0,0001$), situação não observada com 24h.

Figura 11 - Teste da Esquiva inibitória

Aprendizagem/memória dos animais tratados com EtOH, submetidos à privação do sono e avaliados no teste da esquiva inibitória, durante 24h (A) ou 48h (B). As barras claras representam a fase de treino e as barras escuras representam o teste. * $p \leq 0,05$ representa diferença estatística em relação aos respectivos animais controles C_T ou C_{MCD} não privados de sono. # $p \leq 0,05$ indica diferença estatística intragrupo em relação ao EtOH+ PS_T . @ $p \leq 0,05$ indica diferença estatística intergrupo em relação aos respectivos animais dos grupos EtOH e PS (T ou MCD) (ANOVA, Teste de Tukey). EtOH= Etanol; PS= Privação do sono; T= Treino; MCD= memória de curta duração.

Análises bioquímicas

Considerando as amostras sanguíneas coletadas, os níveis de cortisol mostraram diferença estatística quando comparados aos animais controles C tratados somente com água de torneira (Tabela 2 e Figura 12). Houve uma redução significativa nesses parâmetros para os tratamentos/ procedimentos realizados em um período de 24h ($p \leq 0,05$).

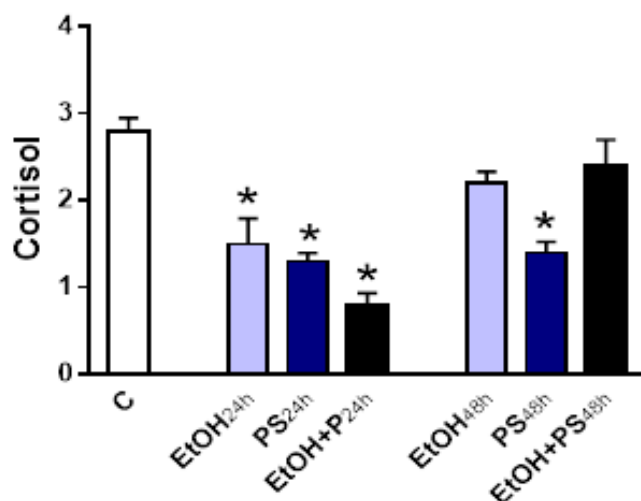
Para as investigações realizadas com 48h, somente os animais privados de sono mostraram significância em comparação aos controles, tanto nas avaliações do cortisol, quanto da glicose ($p \leq 0,05$).

Tabela 2 - Avaliação bioquímica de cortisol

Grupos Experimentais	Cortisol
C	2,80 ± 0,75
EtOH _{24h}	1,5 ± 0,29
PS _{24h}	1,3 ± 0,09
EtOH+PS _{24h}	0,8 ± 0,13
EtOH _{48h}	2,2 ± 0,13
PS _{48h}	1,4 ± 0,52
EtOH+PS _{48h}	2,4 ± 0,30

Investigação plasmática dos níveis de cortisol de ratos tratados com EtOH e/ou privados de sono.

Figura 12 – Análise comparativa dos níveis de cortisol em ratos



Dosagens de Cortisol avaliadas em ratos administrados com EtOH e/ou privados de sono, por um período de 24 ou 48h. * $p \leq 0,05$ representa diferença estatística em relação aos respectivos animais controles C administrados com água de torneira.

Discussão

Os resultados obtidos com o presente estudo mostraram que a PS nas condições apresentadas na Plataforma múltipla, favoreceram alguns resultados contraditórios à literatura, em decorrência dos animais, na maioria das vezes, terem se apresentados debilitados após terem sido privados de sono por 24 ou 28h, mascarando alguns resultados obtidos, em especial aqueles relacionados à aprendizagem/MCD.

A avaliação do comportamento relacionado à ansiedade de ratos é realizada em LCE a partir da observação da tendência natural do animal explorar o ambiente, ação que denota ansiólise, representada pela maior proporção de entradas nos braços abertos (EBA). A condição de permanecer em um ambiente seguro, por sua vez, representada pela maior frequência de permanência nos braços fechados, sugere-se como sendo relacionada à resposta ansiogênica (Leite et al., 2013; Lucena et al., 2013; Ribeiro et al., 2017).

Considerando outros resultados realizados por nosso grupo de pesquisa, observou-se que animais privados de sono reduziram as ambulações, sem alteração nos níveis de ansiedade, quando avaliados por um período de 24h (Almeida, 2018). Na atual pesquisa, os animais não apresentaram alterações na locomoção quando avaliados em dois modelos experimentais diferentes. Em contrapartida, eles aumentaram os parâmetros relacionados aos %EBA e %TBA, tanto com 24 quanto em 48h de PS, conforme descritos previamente. Sugere-se que esses resultados podem ter sido em decorrência do maior grau de debilidades dos animais após terem sido privados e/ou em decorrência da idade dos animais e/ou do sexo. Ao contrário dos resultados apresentados por Almeida (2018), realizados com ratos machos, a presente pesquisa foi realizada com ratos fêmeas que, normalmente, apresentam maior sensibilidade ao estresse do que os ratos machos ou devido às interferências hormonais, o que não foi por nós investigado.

Em relação ao número de EBF, conforme relatado previamente, não houve diferença significativa dos grupos em relação ao controle, exceto no grupo EtOH+PS_{48h} que apresentou maior número em relação ao controle e intragrupo, quando comparado ao EtOH+PS_{24h}. Considerando este parâmetro de locomoção importante para avaliação previamente mencionada por nosso grupo de pesquisa, os resultados com EtOH sugerem um efeito ansiolítico para a dose administrada, visto que a locomoção dos animais não foi afetada no campo aberto e nem no LCE.

Um estudo de Thakkar, Sharma & Sahota (2015) demonstrou, por meio de experimentos com ratos, que o consumo de álcool elevou os níveis de adenosina, o que gerou uma sensação de sono, e quando a ingestão de álcool terminou, essa também cessou rapidamente, provocando a vigília. Esse estudo sugeriu que o consumo agudo de álcool prejudica o sono imediatamente, e o consumo crônico pode prejudicar o ciclo sono-vigília, provocando a insônia durante a noite.

Em nossos experimentos, foi avaliado somente o nível de cortisol, cujos resultados apontaram para uma diminuição significativa dos níveis plasmáticos desse hormônio em quase todos os grupos, com exceção do grupo envolvendo EtOH_{48h}. É provável que esta resposta tenha sido próxima aos valores apresentados pelos animais controles em decorrência de um maior período para o álcool ter sido metabolizado do organismo. No entanto, também não se descarta a possibilidade de que os metabólitos do EtOH possam ter modulado, de alguma maneira, alguns alvos moleculares de tal maneira a preservar o desempenho dos animais privados de sono por um período muito superior ao de 24h.

Nossos achados compartilham os de Steiger (2002), que verificou que existe uma interação entre o cortisol e o sono, ou seja, variações nos níveis hormonais podem alterar o sono, e alterações a nível do sono podem trazer consequências no padrão de secreção hormonal. Quando há PS as estruturas responsáveis pela secreção do cortisol ficam

hiperativadas, resultando em estresse e ansiedade. O ciclo circadiano é fundamental para secreção regular deste hormônio, e a insônia é um dos possíveis sintomas e fator de risco para a depressão (Saraiva, Fortunato, & Gavina, 2005).

Para reforçar essas informações, os níveis de cortisol também foram medidos em alguns voluntários que relataram problemas de sono e autocontrole. Observou-se maiores concentrações de cortisol em participantes que relatavam tais dificuldades (Doan, Deyoung, Fuller-Rouwell, Liu & Meyer, 2018). O excesso de cortisol prejudica a qualidade do sono (Kirchner & Reis, 2018) e, conseqüentemente, devido à falta de reparação que acontece ao dormir, pode afetar a qualidade de vida dos indivíduos.

O presente estudo teve foco também na capacidade cognitiva dos animais, buscando encontrar diferenças nos resultados da MCD, tal habilidade foi verificada pelo teste de esquiva inibitória. A memória associativa ocorre pelo disparo das emoções. No caso do medo, por exemplo, a amígdala recebe informações sensoriais, avalia e comanda as respostas comportamentais respondentes a esta situação, como fuga ou luta por exemplo (Lent, 2010). Neste estudo, a aprendizagem aconteceu provavelmente por meio deste sistema, visto que os animais receberam um estímulo aversivo (choque) assim que eles descerem a plataforma de esquiva inibitória. Após isto, para avaliar a memória/aprendizado, era esperado que no teste eles demonstrassem aprendizado se esquivando do estímulo aversivo, que não ia mais ser disparado. A maior latência observada deveu-se mais pelo estado debilitante dos animais após 24 ou 4h de terem sido privados de sono.

Segundo Giacobbo (2015), protocolos de PS sempre afetam o hipocampo, além disso, o tempo de PS é diretamente proporcional aos efeitos da performance cognitiva, sendo prejudicada. O efeito da MCD em nossas avaliações foi observado na comparação entre o treino e teste. Os achados mostram que apenas as condições EtOH_{24h} e EtOH+PS_{48h}

tiveram resultados que poderiam ter sido sugestivos de retenção na MCD, o que foi demonstrado pelo aumento da latência no teste de esQUIVA inibitória. Devido a metodologia experimental utilizada para essa pesquisa, tais animais frente ao cansaço físico apresentaram provavelmente uma alteração de percepção e apatia comportamental, o que favoreceram mais tempo na plataforma da esQUIVA.

Esses resultados podem ser comparados aos dados obtidos por outra pesquisa em que constatou uma relação entre a melhora na qualidade de sono e sintomas depressivos aos exercícios físicos e menor tempo de sedentarismo, que sugeria que a manutenção do sono e hábitos saudáveis são fundamentais para a regulação de hormônios relacionados ao sistema mesolímbico, refletindo no comportamento físico e cognitivo (Rosenbaum, Sherrington & Tiedemann, 2015).

Fazendo-se uma analogia dos dados aqui obtidos com a esfera que ultrapassa a pesquisa básica, entende-se que muitos fatores podem comprometer a esfera cognitiva e comportamental de quem está sob a condição de insônia e faz uso de EtOH, mesmo que em dose única. Portanto, se faz necessário investigações futuras, principalmente nos processos celulares e moleculares inerentes às alterações neurais provocada por essas variáveis. Há, entretanto, uma necessidade em desenvolver medidas terapêuticas que tenham custos benefícios de cuidados médicos, sociais e estratégias de prevenção baseadas na evidência para o tocante a associação do EtOH na PS.

Os esforços para melhorar a qualidade e disponibilidade de cuidados, assim como para procurar tratamentos mais eficazes para o uso contínuo do EtOH, devem ser realizados em conjunto com um investimento em medidas de prevenção primária. É necessária mais investigação de forma a identificar fatores protetores ou de risco no que diz respeito aos danos causados pela PS e uso abusivo de EtOH.

Conclusões

Considerando os resultados obtidos, sugere-se que o EtOH pode modular, direta ou indiretamente, as respostas comportamentais e cognitivas decorrentes da PS em ratos, dependendo do modelo experimental usado nas avaliações e do tempo em que se encontravam privados de sono, com base nas seguintes conclusões:

- A PS apresentou resultados similares aos de resposta ansiolítica, em decorrência de ter sido mascarados pela debilidade física apresentada pelos animais após 24 e 48h em que foram privados de sono;
- Frente às condições físicas, os animais também apresentaram maior latência na plataforma da esquiiva inibitória, quando comparada aos dos animais controles não privados de sono. Não se descarta a influência da debilidade física ter interferido nos resultados, visto que animais controles não apresentaram os mesmos resultados;
- Os animais tratados com EtOH apresentaram resposta ansiolítica aparentemente específica de substâncias benzodiazepínicas, tendo em vista que os aspectos motores dos ratos se encontravam íntegros e suas ambulações não foram afetadas no teste do campo aberto e nem no LCE;
- O pré-tratamento do EtOH parece modular diretamente somente as respostas locomotoras decorrentes da PS de 48h, visto que este estimulante aumentou os parâmetros de ambulação dos animais no teste do campo aberto e no LCE, em decorrência do maior nível de estresse;
- Considerando os aspectos relacionados à aprendizagem/MCD, o EtOH favoreceu uma maior debilidade dos animais PS por 48h, demonstrado pela maior latência na

plataforma da esquiwa. Na maioria dos resultados não se observou diferença entre treino e teste frente às condições físicas apresentadas pelos animais;

- Era de se esperar que o nível de cortisol pudesse estar elevado em todos os grupos experimentais, quando comparados aos controles, por conta do elevado nível de estresse apresentado pelos animais avaliados no teste da plataforma múltipla.

Frente aos resultados obtidos, sugere-se que avaliações bioquímicas mais criteriosas de outros parâmetros, como glicose e colesterol, por exemplo, possam ser consideradas para melhor entendimento dos resultados aqui obtidos.

Referências

- Adamowicz, T. (2010). *Estudo dos efeitos da acupuntura sobre os padrões de sono e a secreção de cortisol em mulheres com dor crônica*. Dissertação de mestrado. UFPR, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. Curitiba. 99 p.
- Albuquerque, F. S. & Silva, R. H. (2009). A amígdala e a tênue fronteira entre memória e emoção. *Rev. psiquiatr. Rio Gd. Sul*, 31(3), (suppl.) 0101-8108.
- Almeida, R. P. C. (2018) *Efeito da administração de bebida energizante no comportamento de ratos privados de sono*. Dissertação de mestrado. UnB- Faculdade de medicina. 71p.
- American Psychiatry Association (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders - DSM-5*. Washington: American Psychiatric Association, 5th.ed.
- Amorim, B. B., Moraes, L., Sá, I. C. G., Silva, B. B. G., & Camara Filho, J. W. S. (2018). Saúde Mental do Estudante de Medicina: Psicopatologia, Estresse, Sono e Qualidade de Vida. *Revista Psicologia, Diversidade e Saúde*, 7(2).
- Araújo, M. F. M., Vasconcelos, H. C. A., Marinho, N. B. P., Freitas, R. W. J. F. & Damasceno, M. M. C. (2016). Níveis plasmáticos de cortisol em universitários com má qualidade de sono. *Cadernos Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, 24 (1), pp. 105-110.
- Balbani, A. P. S., & Formigoni, G. G. S. (1999). Ronco e síndrome da apnéia obstrutiva do sono. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 45(3), 273-278.
- Belcher, R., Gumenyuk, V., Roth, T. (2015) Insomnia in Shift Work Disorder Relates to Occupational and Neurophysiological Impairment. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 11(4), 457-465.
- Bombois, S., Derambure, P., Pasquier, F., Monaca, C. (2010) Doenças do sono no envelhecimento e demência. *Journal Nutrition Health Aging*. 14(3), pp. 212-217.

- Cardoso, H. C., Bueno, F. C. D. C., Mata, J. C. D., Alves, A. P. R., Jochims, I., Vaz Filho, I. H. R., & Hanna, M. M. (2009). Avaliação da qualidade do sono em estudantes de Medicina. *Revista Brasileira de Educação Médica*, 33(3), pp. 349-355.
- Carlson, N. R. (2002). *Fisiologia do Comportamento*. Editora: Manole, 7ª ed. Cap 09.
- Cheniaux, E. (2005). *Manual de psicopatologia*. 2ª Ed. Rio de Janeiro. Editora: Guanabara Koogan. 116 p.
- Da Costa, J. C. (1990). *O sono em recém-nascidos: aspectos polissonográficos*. Em Reimão R. Sono: aspectos atuais. Ed. Atheneu, São Paulo. pp. 133-61.
- Da Silva, B. G., Coimbra, C. C. B. E., & Carrara, M. A. (2018). interferentes cronobiológicos do tratamento da insônia. *Research Uningá Review*, 29(3).
- Dias, F. M. A., Pessanha, R.G.B.A., Nicolau, C.C.B.A. (2018). A Inter-relação entre memória e aprendizagem. *Perspectivas Online: Humanas & Sociais Aplicadas*, 8(21), pp. 15-27.
- Doan, N. S., Deyoung, G., Fuller-Rowell, E. T., Liu, C. & Meyer, J. (2018) Investigating relations among stress, sleep and nail cortisol and DHEA. *Journal Stress - The International Journal on the Biology of Stress*, 21(2), pp. 188-193.
- Easton, A., Meerlo, P., Begmman B, Turek, F. W. (2004) The Suprachiasmatic Nucleus regulates Sleep Timing and Amount in Mice. *Sleep*, 27(7), pp. 1307-18.
- Ferrara, M., & De Gennaro, L. (2001). How much sleep do we need? *Sleep Medicine*, 5(2), pp. 155- 179.
- Frederico, W. A., S. Oga, Pequeno, M. L., & Taniguchi, S. F. (2006). Efeitos extrapiramidais como consequência de tratamento com neurolépticos. *Einstein* (São Paulo), 6(1), pp. 51-5.
- Geib, L. T. C., Cataldo Neto, A., Wainberg, R., & Nunes, M. L. (2003). Sleep and aging. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, 25(3), pp. 453-465.

- Giacobbo, B. L. (2015). Efeitos da privação de sono sobre aspectos cognitivos e sua relação com níveis de BDNF. (Dissertação de mestrado). PPG- Biologia celular e molecular, PUC- RS. Porto Alegre. 32p.
- Hockenbury, D. H., & Hockenbury, S. E. (2001). *Descobrendo a Psicologia* (J. H. Keeling & E.L. Keeling, Trad.). São Paulo: Manole (Cap. 1).
- Jones, A.W. (2003) Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Alcohol. *Presented at meeting of the California Association of Toxicologists*, Santa Rosa, CA, 1-2 August.
- Júnior, E. B. A., Bezerra, E. R., Diniz, A. F. A., Alves, L. P., Nobrega, R. O., Felício, I. M., Alves, H., S., & Queiroz, M. D. S. R. (2017). Utilização de benzodiazepínicos por usuários do sistema único de saúde. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, 13(3).
- Klaym, R. F. & Nunes, C. M. (2013). Sono, aprendizagem e tecnologia: uma abordagem sobre a influência do sono nas atividades educacionais. *XI Congresso Nacional de Educação, II Seminário internacional de Representações Sociais, subjetividade e educação- SIRSSE, IV Seminário internacional sobre profissionalização docente – SIPD/ Cátedra Unesco*. PUC-PR, Curitiba.
- Kirchner, L. F., & Reis, M. D. J. D. (2018). Efeitos de uma intervenção analítico-comportamental e do treino de relaxamento em mulheres com Fibromialgia e má qualidade do sono: Um estudo piloto. *Revista Interação em Psicologia*, 22(1).
- Laranjeira, R., Nicastri, S., Jerônimo, C., & Marques, A. C. (2000). Consenso sobre a Síndrome de Abstinência do Álcool (SAA) e o seu tratamento. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 22(2), pp. 62-71.
- Leite, F. B., Prediger, R. D., Silva, M. V., Sousa, J. B. de, Carneiro, F. P., Gasbarri, A., Tomaz, C., Queiróz, A. J. R., Martins, N. T., Ferreira, V. M. (2013). Role of nicotine

on cognitive and behavioral deficits in sepsis-surviving rats. *Brain Research*, (1507), pp. 74-82.

Leite, M., Silva. A., O., Vieira, V. B., Funghetto, S. S., & de Farias, D. L. (2018).

Treinamento de força excêntrico e a produção de marcadores de dano muscular e marcadores inflamatórios em mulheres obesas. *Programa de Iniciação Científica-PIC/UniCEUB-Relatórios de Pesquisa*, (1).

Lemos, T., & Zaleski, M. (2004). As principais drogas: Como elas agem e quais os seus efeitos. Em: Pinsky & M. Bessa. *Adolescência e Drogas*. Editora Contexto, São Paulo. pp 16-29.

Lent. R. (2010). *Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência*. São Paulo, editora Atheneu. 2.ed.

Lucena, G. M., Ferreira, V. M., Tessele, P., Azevedo, M.S., Cechinel-Filho, V., Prediger, R.

D., Matheus, F. C. (2013). Effects of the ethanolic extract and naphthoquinones obtained from the bulbs of *Cipura paludosa* on short-term and long-term memory: involvement of adenosine A1 and A2A receptors. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, (112), pp. -229-235.

Mapurunga, L. A. & Carvalho, E. B. (2018) A Memória de Longo Prazo e a Análise Sobre sua Função no Processo de Aprendizagem. *Revista Ensino Educação Ciências Humanas*. 19 (1), p. 66-72.

Margis R., Picon P., Cosner A.F., Silveira R.O. (2003) Relação entre estressores, estresse e ansiedade. *Revista de psiquiatria do Rio Grande do Sul*, 25(1), pp 65-74, (suppl.1).

McCarley, R. W. (2007). Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Medicine*, 8, pp. 302–330.

- Marinho, S. E., Soares, F. J. & Gavina, C. (2005). Ascilações do cortisol na depressão e sono / vigília. *Revista Portuguesa de Psicossomática*, 7 (1-2), pp. 89-100.
- Marques, A. C. P. R. (2001). O uso do álcool e a evolução do conceito de dependência de álcool e outras drogas e tratamento. *Revista IMESC*, 3, pp 73-86.
- Matos, L. C. (2003). Doença Hepática Alcoólica (DHA). *Revista Sociedade Portuguesa Medicina Interna*, 13(3), pp.307-316.
- Matsumoto, I. (1998). Molecular neurobiology of alcohol withdrawal. *Journal Neurochemichal*. 70 (2), p 45.
- Mendes, R. L. F (2017). *Proposta de intervenção em higiene do sono voltada a usuários crônicos de benzodiazepínicos para tratamento de insônia em Marechal Deodoro/al.* (TCC especialização em Estratégia Saúde da Família), UFMG, campus - Alagoas, Maceió, 30p.
- Mesquita, G., Ferreira, S., Rossini, S., Soares, E. A., & Reimão, R. (2011). Efeitos do tabaco e o consumo de álcool sobre a qualidade do sono dos estudantes universitários. *Revista Neurobiologia*, 74(1), pp. 19-27.
- Miotto, C. E., (2015). *Reabilitação Neuropsicológica e Intervenções Comportamentais*. Rio de Janeiro, Editora: Roca, 236 p.
- Moreno, C. R. C. & Louzada, F., M. (2004) What happens to the body when one works at night? *Cadernos de Saúde Pública*; 20(6), pp. 102-08.
- Nascimento, E. C. D., Nascimento, E., & Silva, J. D. P. (2007). Uso de álcool e anfetaminas entre caminhoneiros de estrada. *Revista de Saúde Pública*, 41, pp. 290-293.
- Panerari, J., & Galende, S. B. (2018). Corticosteroides utilizados no tratamento da asma brônquica. *Revista UNINGÁ Review*, 24(1).

- Perdomo, C. (2002). *Estudo do cortisol salivar e ciclo vigília-sono em trabalhadores da área da saúde do turno noturno*. (Dissertação de mestrado). Faculdade de Ciências Médicas, Unicamp- Campinas. 98p.
- Pereira, E. F., Anacleto, T. S., & Louzada, F. M. (2018). Interação entre sincronizadores fóticos e sociais: repercussões para a saúde humana. *Revista da Biologia*, 9(3), pp. 68-73.
- Poe, G. R., Walsh, C. M., & Bjorness, T. E. (2010). Cognitive Neuroscience of Sleep. *Progress in Brain Research*, 185, pp. 1–19.
- Reimão, R. (1996). *Sono: estudo abrangente* (2a. ed.). São Paulo, editora Atheneu.
- Reite, M., Ruddy, J., & Nagel, K. (2004). *Transtornos do sono* (3a. ed.). Porto Alegre: Artes Médicas.
- Ribeiro, M. C., Bezerra, T. S., Soares, A.C., Boechat-Ramos, R., Carneiro, F.P., Vianna, L. M. S., Faro, L. R., Silva, M. V., Vieira, M. P., Monteiro, I. O., Ferreira, V.M. (2017). Hippocampal and cerebellar histological changes and their behavioural repercussions caused by brain ischaemic hypoxia experimentally induced by sodium nitrite. *Behavioural Brain Research*, (332), pp. 223-232.
- Rocha, F. L. (2000) *Projeto Bambuí: Um Estudo com Base Populacional de Hábitos de Sono, Prevalência e Fatores Associados a Insônia*. [Tese]. UnB - Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Brasília-DF. 135p.
- Ropke, L. M., Souza, A. G., Bertoz, A. P. M., Adriazola, M. M., Ortolan, E. V. P., Martins, R. H., Lopes, W. C., Rodrigues, C. D. B., Bigliuzzi, R., Weber, A. T. S. (2017) Efeito da atividade física na qualidade do sono e qualidade de vida: revisão sistematizada. *Archives of Health Investigation*, 6(12), pp 561-566.


- Rosenbaum, S., Sherrington, C., Tiedemann, A. (2015). Exercise augmentation compared with usual care for post-traumatic stress disorder: a randomized controlled trial. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 131(5), pp. 350-9.
- Rossow, A. B., Salles, E. O. T., & Côco, K. F. (2010). Classificação Automática de Estágios do Sono pela Análise do Sinal de EEG Através de Wavelet Packet. *Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Automática*, pp. 3825-3832.
- Sampaio, W. C., Ribeiro, M. C., Costa., L. F., Souza, W. C., Castilho, G. M., Assis, M. S., Carneiro, F. P., Marchiori, D., Melo, N. T., Cavalcanti, P. P., Ferreira, V.M. (2017). Effect of music therapy on the developing central nervous system on rats. *Psychology & Neuroscience*, (10). pp.176-188.
- Sasaki, H., Matsuzaki, T., Nakagawa, H. A., Sekizawa, K., Maruyama, Y. (1995) Cognitive function in rats with alcohol ingestion. *Research Pharmacology Biochemistry Behavior*. 52(4), pp. 845-8.
- Saraiva, M. E., Fortunato, JM. S., Gavina, C. (2005). Oscilações do cortisol na depressão e sono / vigília. *Revista Portuguesa de Psicossomática*, (7) pp.1-2.
- Silva, D. A. S., Pereira, I. M. M., de Almeida, M. B., dos Santos, Silva, R. J., & de Oliveira, A. C. C. (2011). Estilo de vida de acadêmicos de educação física de uma universidade pública do estado de Sergipe, Brasil. *Revista Brasileira de Ciências do Esporte*, 34(1).
- Silva, J. N. D. (2018). *Impactos dos Transtornos do Sono na Qualidade de Vida de Médicos Plantonistas de Serviços de Urgência e Emergência no município de São Luís*. (Dissertação de mestrado). PPG-CCBS- UFMA, São Luis, 96p.
- Souza, J. C., Magna, L. A. & Reimão, R. (2002). Sonolência diurna excessiva em motoristas de ônibus urbanos de Campo Grande, MS. *Revista Brasileira de Neurologia Psiquiátrica*, 6 (3), pp. 85- 89.

- Sponholz Jr., A. (2006). *Ansiedade e Insônia*. In: Botega, N.J. (Org.) *Prática Psiquiátrica no Hospital Geral: Interconsulta e Emergência*. 3ª ed. Artmed. Porto Alegre.
- Squire L.R. (1992). Declarative and nondeclarative memory: multiple brain systems supporting learning and memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 99, pp. 195-231.
- Squire, L. R., & Knowlton, B. J. (1995) Memory, hippocampus, and brain systems. In: Gazzaniga MS, editor. *The cognitive neurosciences*. Cambridge: A Bradford Book; p. 825-37.
- Steiger A. (2002) Sleep and the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system. *Sleep Medicine Research*, 6, pp. 125-38
- Steenland, K. (2000). Shift work, long hours, and cardiovascular disease: a review. *Occupational Medicine*, 15(4), pp. 7-17.
- Tabakoff B, Hellevo K, Hoffman P. L. (1995). Alcohol. In: *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin -Germany, p. 373-458.
- Tafner, M. A. (1999). Estagiamento automático do sono utilizando um canal de EEG e uma rede neural artificial com alta representação cortical. *IV Congresso Brasileiro de Redes neurais*. ITA, São José dos Campos – SP, Brasil.
- Thakkar, M. M., Sharma, R., Sahota, P. (2015). Alcohol disrupts sleep homeostasis. *Research Alcohol*. 49(4), pp. 299-310.
- Thorleifsdottir, B., Björnsson, J. K., Benediktsdottir, B., Gislason, Th., & Kristbjarnarson, H. (2002). Sleep and sleep habits from childhood to young adulthood over a 10-year period. *Journal of Psychosomatic Research*, 53 (1), pp. 529-537.
- Tribl, G., Schmeiser-Rieder, A., Rosenberger, A., Saletu, B., Bolitschek, J., Kapfhammer, G., Katschnig, H., Holzinger, B., Popovic, R., Kunze, M., & Zeitlhofer, J. (2002). Sleep habits in the Austrian population. *Sleep Medicine*, 3 (1), pp. 21-28.

- Vieira, J., M., F. (2012). *Metabolismo do EtOH*. (Dissertação de mestrado) Universidade Fernando Pessoa. Faculdade Ciências da Saúde. Porto – Portugal. (55 p.)
- Vignochi, C., Teixeira, P. P., & Nader, S. S. (2010). Efeitos da fisioterapia aquática na dor e no estado de sono e vigília de recém-nascidos pré-termo estáveis internados em unidade de terapia intensiva neonatal. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, 14(3), pp. 214-20.
- Weilburg J. (2009). *Approach to the patient with insomnia*. Em: Primary care medicine: office evaluation and Management of the adult patient. Organizadores: Allan H. Goroll, Albert G. Mulley Jr. Editora: Wolters Kluwer/ Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 6th ed.

Anexo


Declaração de aprovação do projeto de pesquisa pelo CEUA




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

Brasília, 14 de dezembro de 2016.

DECLARAÇÃO

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


Profa. Dra. Paula Diniz Galera
Coordenadora da CEUA – UnB

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