

CAFEÍNA Y COMPORTAMIENTO ANIMAL. ANÁLISIS SOBRE CONDICIONES EXPERIMENTALES

JOHN FABER MORALES¹; FRANCIA RESTREPO DE MEJÍA²; LUZ DARY RODRÍGUEZ SOTELO³;
JHONNY FERNANDO GARCÍA⁴ YÉSSICA PAOLA LÓPEZ⁵; MARY ORREGO CARDOZO⁶

Recibido para publicación: 29-05-2017 - Versión corregida: 24-03-2018 - Aprobado para publicación: 07-05-2018

Resumen

Objetivo: realizar una revisión teórica relacionada con el efecto de la cafeína en el comportamiento animal en estudios que incluyen tareas de aprendizaje, memoria y/o actividad motora, con el fin de analizar algunas condiciones experimentales. **Materiales y métodos:** búsqueda de artículos publicados entre los años 1995 a 2018 en las bases de datos Pubmed y Scopus por medio de la relación de palabras clave: cafeína, café, ratas, ratones, atención, memoria y aprendizaje. Se revisaron las tareas de aprendizaje y/o actividad motora, el tipo y género de cepas, así como el tratamiento con cafeína. También se incluyeron artículos de revisión de años anteriores al rango de tiempo, con el fin de ampliar el estado del arte de la cafeína y sus efectos. **Resultados:** mientras algunos estudios indican que la cafeína ejerce un efecto positivo sobre actividades motoras y cognitivas, otros estudios concluyen lo contrario. La variación en las condiciones experimentales de los estudios analizados puede incidir en los resultados obtenidos. **Conclusión:** el amplio rango de condiciones experimentales en una misma tarea de memoria no permite que se delimite el espectro de variables en los protocolos de investigación con cafeína, por ello no se logra identificar variables biológicamente importantes que, al ser identificadas, pueden convergen hacia un conjunto de procedimientos estandarizados en paradigmas específicos de aprendizaje.

Palabras clave: cafeína, experimentación animal, actividad motora, aprendizaje, memoria, atención.

Archivos de Medicina (Manizales), Volumen 18 N° 1, Enero-Junio 2018, ISSN versión impresa 1657-320X, ISSN versión en línea 2339-3874. Morales J.F.; Restrepo De Mejía F.; Rodríguez Sotelo L.D.; García J.F.; López Y.P.; Orrego Cardozo M.

- 1 Licenciado en Biología y Química; Master online en Neurociencias y Biología del Comportamiento. Universidad Autónoma de Manizales. Docente Ciencias Básicas Biológicas; Grupo en Neuroaprendizaje. jmorales@autonoma.edu.co
- 2 Médica fisiatra; Magister en Investigación y Desarrollo Educativo y Social; Doctora en Ciencias Sociales, Niñez y Juventud. Docente Doctorado en Ciencias Cognitivas. Universidad Autónoma de Manizales. Docente Ciencias Básicas Biológicas; Grupo en Neuroaprendizaje. franci46@gmail.com
- 3 Fisioterapeuta; Especialista en Neurorehabilitación; Magister en Neurorehabilitación. Docente Ciencias Básicas Biológicas; Grupo en Neuroaprendizaje. luzdary180@gmail.com
- 4 Médico cirujano. Docente Ciencias Básicas Biológicas; Grupo en Neuroaprendizaje. jofe16@gmail.com
- 5 Ingeniera Biomédica. Joven Investigadora. Universidad Autónoma de Manizales. Grupo en Neuroaprendizaje. yessipaloe@gmail.com
- 6 Licenciada en Biología y Química; Magister en Bioquímica y Biología Molecular; Doctora en Bioquímica y Biología Molecular. maryorrego@autonoma.edu.co

Morales JF, Restrepo-de-Mejía F; Rodríguez-Sotelo LD, García JF, López YP, Orrego-Cardozo M. Cafeína y comportamiento animal. Análisis sobre condiciones experimentales. Arch Med (Manizales) 2018; 18(1):152-71. DOI: <https://doi.org/10.30554/archmed.18.1.1997.2018>.

Caffeine and animal behavior. Analysis of experimental conditions

Summary

Objective: the aim is realize theoretical review related to the effect of caffeine on animal behavior in studies that include task learning, memory and motor activity, with the purpose of study some experimental conditions. **Materials and methods:** searching of articles published since 1997-2013 in the PubMed and Scopus databases, through the relationship of keywords: caffeine, coffee, rats, mice, attention, memory and learning. The tasks of learning and/or motor activity were reviewed; the type and genus of strains, as well as the treatment with caffeine were analyzed. **Results:** while some studies indicate that caffeine have a positive effect on motor and cognitive activities, other studies conclude otherwise. The variation in the experimental conditions of the analyzed studies may influence the results obtained. **Conclusion:** the wide range of experimental conditions in the same memory task does not allow the spectrum of variables to be delineated in the caffeine research protocols, accordingly is not possible to identify biologically important variables that, when identified, may converge towards a Set of standardized procedures in specific learning paradigms.

Key words: caffeine, animal experimentation, motor activity, learning, memory, attention.

Introducción

La cafeína es una de las sustancias psicoactivas más consumidas en el mundo y su ingesta en la dieta, se debe principalmente al consumo de café. El conocimiento actual sobre los efectos de esta sustancia se debe en gran parte a la experimentación animal, principalmente en ratas y ratones, aunque muchos estudios se han realizado en humanos. Los biomodelos han brindado la posibilidad de evaluar con el tiempo respuestas biológicas que son difíciles de seguir en cortos ensayos realizados en humanos, sin embargo, algunos estudios atribuyen efectos positivos y otros negativos de la cafeína en una misma tarea cognitiva o motora y, ante estas diferencias, poco se ha

indagado sobre cómo inciden las condiciones experimentales en los resultados de estos estudios. El objetivo de este estudio es realizar una revisión teórica relacionada con el efecto de la cafeína en el comportamiento animal, en estudios que incluyen tareas de aprendizaje, memoria o actividad motora, con el fin de analizar los test y/o aparatos empleados, las tareas de aprendizaje, el tipo y género de cepas, y el tratamiento con cafeína.

1. Experimentación animal

Muchos bioterios alrededor del mundo han implementado la normatividad necesaria para la investigación con modelos animales, y han solucionado aspectos bioéticos exclusivamente pensados en el bienestar animal.

A estas comunidades se les otorga validez y relevancia científica, ya que el animal cuenta con un ambiente enriquecido en condiciones óptimas que respaldan los resultados obtenidos en una investigación. Esta consolidación de ambientes enriquecidos logra eliminar el estrés en los animales durante estas investigaciones. Por razones éticas y científicas, los experimentos con animales de laboratorio deben ser adecuadamente diseñados y rigurosamente ejecutados, de modo que puedan ser reportados con suficiente detalle como para reproducir o juzgar críticamente sus hallazgos [1]. El estudio realizado por Kilkenney *et al* 2009 [2] a solicitud del centro nacional para el reemplazo, refinamiento y reducción de animales en investigación del Reino Unido (NC3Rs, por sus siglas en inglés) evaluó la calidad de las publicaciones de experimentos con animales de laboratorio que habían sido financiados por instituciones de Estados Unidos o del Reino Unido. De acuerdo con los hallazgos del estudio, 87% de los estudios no reportó aleatorización; 86%, enmascaramiento; 41%, hipótesis claras; 30%, métodos estadísticos adecuados, entre otras omisiones.

Los resultados del estudio indican que es difícil evaluar la validez de los experimentos con animales de laboratorio, se aumenta el riesgo de duplicidad y ocurren fallas frecuentes al transferir los resultados de estudios preclínicos a tratamientos de enfermedades humanas [1-3]. El estudio de Kilkenney *et al* 2009 [2] derivó en las directrices ARRIVE [4] que guía el reporte científico de experimentos con animales de laboratorio, con énfasis en la racionalidad del experimento, la elección de los modelos experimentales, el diseño (grupos, control de sesgos, aleatorización, unidad experimental), los procedimientos (cuánto, cuándo, dónde y por qué), los animales utilizados (características, cepas, crianza), el tamaño de muestra, los efectos experimentales y los métodos estadísticos.

2. Centros de investigación que indagan sobre los efectos de la cafeína

En la búsqueda realizada se encontraron artículos publicados en gran parte por investigadores de Brasil, Estados Unidos, Suecia y Portugal; otros fueron publicados por universidades o centros de investigación de Bélgica, Italia, España, Rusia, China, México, Alemania, Argentina, Bulgaria, Jordania, Francia y Reino Unido (Tabla 1). Algunos estudios se realizaron de manera interinstitucional e interdisciplinaria. Este aspecto es importante ya que puede favorecer el refinamiento de los diseños experimentales siempre y cuando cada centro de investigación genere aportes en el rediseño sobre protocolos y técnicas instrumentales. Además, puede otorgar mayor consenso y discusión sobre resultados obtenidos, al establecerse comunicación personal entre científicos que trabajan sobre un mismo objeto de investigación.

3. Análisis de condiciones experimentales en la investigación con cafeína

La medición del comportamiento animal ofrece un vistazo a la actividad neuronal del animal sin los inconvenientes invasivos de insertar electrodos en el cerebro [10]. Es posible observar el movimiento para determinar los ritmos circadianos, el comportamiento exploratorio, la ansiedad, la capacidad y la motivación para aprender un vínculo entre dos señales, la capacidad de navegar en un laberinto y los cambios en el comportamiento locomotor resultante de las manipulaciones farmacológicas [10].

3.1 Pruebas de Comportamiento

La prueba de campo abierto (OFT) es una de las pruebas de comportamiento más utilizada para investigar los efectos de la cafeína en la actividad motora [6,7,11,23] en la memoria de reconocimiento de objetos [20,21,25-29],

Tabla 1: Países y centros de investigación que evalúan los efectos de la cafeína

Referencia	Universidades; Escuelas; Institutos; Hospitales; Centros de Investigación; Facultades, Departamentos		Países	Nombre del artículo	Palabras clave
[5]	Universidad Federal de Paraná	Laboratorio de Fisiología y Farmacología del Sistema Nervioso Central	Curitiba, Brasil	Efecto de la cafeína en modelos de aprendizaje y memoria en ratones.	<i>Memoria; Aprendizaje; Cafeína; Evitación inhibitoria; Ratón; Habitación</i>
	Universidad Estatal de Campinas	Departamento de Farmacología	Sao Paulo, Brasil		
		Facultad de Odontología de Piracicaba			
[6]	Instituto Karolinska	Departamento de Fisiología y Farmacología	Estocolmo Suecia	El receptor de adenosina A1 contribuye a la estimulación, pero no al efecto inhibitor de la cafeína sobre la locomoción: estudio en ratones que carecen de receptores A1 y /o A2A de adenosina	<i>Receptores A₁ y A_{2A} de Adenosina; Cafeína; Locomoción; Eliminación Directa; Ratones</i>
		Sección de Farmacología Molecular	Bruselas Bélgica		
	Universidad Libre de Bruselas	Departamento de Salud de la Mujer y el Niño			
		Instituto de Investigaciones Interdisciplinarias en Biología Humana y Molecular			
[7]	Universidad Autónoma de Yucatán	Laboratorio de Neurofisiología	Yucatán, México	El tratamiento con dosis subumbrales de cafeína más trihexifenidilo restaura totalmente la locomoción y la actividad exploratoria en ratas con reserpina	<i>Enfermedad de Parkinson; Sinergismo; Anticolinérgicos; Adenosina; Antagonistas</i>
		Departamento de Neurociencias			
		Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”			
[8]	Universidad del Estado de Kansas	Departamento de Psicología	Estados Unidos	La cafeína aumenta la motivación para obtener refuerzos no farmacológicos en ratas	<i>Cafeína; Reforzamiento; Motivación</i>
[9]	Universidad Federal de Santa Catarina	Departamento de Farmacología	Florianópolis, Brasil	La cafeína revierte los déficits relacionados con la edad en la discriminación olfativa y memoria de reconocimiento social en ratas: Implicación de los receptores de adenosina A1 y A2A	<i>Cafeína; Adenosina; Envejecimiento; Memoria a Corto Plazo; Memoria de Reconocimiento Social; Discriminación Olfativa; Rata</i>
		Centro de Ciencias Biológicas			

así como en la memoria de reconocimiento al olor [30]. Algunas de las pruebas de comportamiento comúnmente empleadas en estudios experimentales que evalúan el efecto de la cafeína se resumen en la (Tabla 2).

El aparato a campo abierto se compone de una arena grande, de paredes altas que a menu-

do se utilizan para controlar el comportamiento de ratas [51]. En esta prueba se aprovecha la tendencia natural de las ratas para mostrar tigmotaxis, que se refiere a su preferencia para explorar la periferia de un ambiente nuevo [51]. Las cámaras de plexiglás o cámaras especiales instrumentales también son comúnmente utilizadas para evaluar la actividad motora ante

Tabla 2: Pruebas de comportamiento y aparatos comúnmente empleados en estudios con cafeína

Test y/o aparatos	Finalidad	Parámetros	Referencia
Prueba de Campo Abierto	Habitación; Exploración; Actividad Locomotora Espontánea; Emotividad	Sistemas de fotocélulas para el registro de movimiento; rearing (actividad vertical); actividad Horizontal (movimiento horizontal y determinación del número de líneas cruzadas); actividad Central y Periférica; Timogtaxis; Comportamiento de Ansiedad	[6, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, , 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26]
Cámara de plexiglas transparente; cámara especial instrumental; cajas individuales cuadradas; cajas individuales triangulares; jaulas equipadas; cajas de madera negras individuales	Actividad Locomotora (Horizontal y Vertical)	Número de Crossings por sistemas de fotocélulas; número de líneas cruzadas; latencia	[31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 41, 42]
Aprendizaje asociativo; aparato de evitación pasiva o inhibitoria: prueba con placa caliente en un cilindro de plexiglas	Aprendizaje de hábitos (los animales evitan daños) Respuesta al dolor	Tendencia a responder de forma intensa a las señales y estímulos aversivos, por lo que se aprende a inhibir la conducta con el fin de evitar el castigo, la novedad y la frustración. Medición de la latencia de paso de un compartimento al otro con un estímulo eléctrico plantar; rearing	(5,17,28,31,37)
Memoria espacial; Laberinto de Agua de Morris	Comportamiento de aprendizaje espacial y memoria de trabajo	Latencia de escape de la plataforma; distancia recorrida desde el punto de partida de la plataforma; velocidad de natación (distancia recorrida y la velocidad de nado de las ratas en la piscina)	[27, 43, 44, 45]
Memoria no espacial Reconocimiento social; aparato de discriminación olfativa para tareas de reconocimiento al olor; pruebas de habituación	Memoria de Reconocimiento social	Tiempo invertido en el paso de un compartimento familiar a uno no familiar. Novedad de Estímulos Condicionados e Incondicionados; Asociación de estímulos de olor; (en pruebas de habituación más exploración a olores novedosos que a olores familiares se considera como evidencia relevante para el olor novedoso; tiempo de exploración por medio del olor a objetos novedosos)	[9,30]
Memoria espacial; Laberinto de brazos radiales; Laberinto de agua de brazo radial	Trabajo espacial y memoria de referencia; Memoria espacial a corto plazo	Sistema de fotocélulas para medición de actividad motora; número de diferentes brazos que el animal explora; número de callejones cortos y número de reentradas (repeticiones) en los brazos; localización de plataformas ocultas bajo la superficie de agua	[44, 46, 47]
Prueba en laberinto Elevado en Cruz	Comportamiento de ansiedad	Se registran los siguientes índices: número total de entradas en los brazos abiertos y en los brazos cerrado; tiempo total empleado en cada tipo de brazo. Se calcula el porcentaje de tiempo empleado en los brazos abiertos proporcionados como las medidas de ansiedad para cada animal.	[17, 19, 20]
Prueba de Transición Luz, Oscuridad	Comportamiento de ansiedad	La prueba se realiza utilizando una cámara dividida en dos compartimentos luz, oscuridad. Hay una abertura que permite el paso de los animales entre los dos compartimentos. Una transición se cuenta cuando los animales cruzan con sus cuatro patas de un lado a otro, independientemente de la dirección de la transición.	[17]
Memoria no espacial; tarea de reconocimiento de objetos	Memoria de Reconocimiento	En una pequeña cámara de madera, se mide el tiempo dedicado a la interacción con el objeto novedoso en comparación con el objeto familiar; en tareas de reconocimiento de objetos se suele utilizar el aparato a campo abierto.	[21, 22, 25, 27, 28]
Memoria espacial; Laberinto en Y	Memoria de Reconocimiento Espacial	La tarea en el laberinto consiste en ensayos separados para evaluar la respuesta a la novedad y la memoria de reconocimiento espacial. En el primer ensayo a las ratas se les permite explorar sólo dos brazos (inicio y otro brazo), con el tercer brazo (brazo nuevo) cerrado. En el segundo ensayo la rata se coloca de nuevo en el mismo brazo de partida, con el libre acceso a los tres brazos durante 5 minutos.	[19, 23]

Test y/o aparatos	Finalidad	Parámetros	Referencia
Memoria espacial; Prueba de Natación Forzada; Ejercicio en Recipiente con agua	Desesperación conductual (depresión); Intensidad del ejercicio; Entrenamiento de Salto Vertical para determinar la composición de masa corporal magra	En las pruebas de ejercicio las ratas se familiarizan primero con la profundidad del agua, para posteriormente incrementar de forma progresiva la duración y la carga del ejercicio. En el entrenamiento de Salto Vertical se utilizan 4 series de 10 saltos intercalados con intervalos de 1 min de descanso, 5 días/ semana, durante 6 semanas	[20, 48, 49]
Paradigma de Aversión Condicionada al Sabor	Inhibición Latente mediante condicionamiento sensorial	En una cámara de acrílico, la Inhibición Latente expresada como la relación de supresión de sacarosa (SSR), se evalúa mediante la comparación de la cantidad de sacarosa frente al agua que se consume hasta el quinto día de estudio.	[50]

la administración de cafeína [31-42], donde tradicionalmente la actividad horizontal y vertical se evalúa por el número de crossings por un sistemas de fotocélulas, el número de líneas cruzadas y la latencia. La prueba de evitación pasiva también conocida como prueba de evitación inhibitoria, es otra opción que permite estudiar el efecto de la cafeína sobre el aprendizaje adquirido y la memoria [5,17,29,31,37].

La evitación pasiva es una prueba unidireccional en la que el animal se condiciona con un estímulo aversivo y posteriormente se valora si recuerda esa experiencia [52]. La inhibición latente mediante condicionamiento sensorial también se ha estudiado en un paradigma de aversión al sabor [50]. El concepto de inhibición latente hace referencia al retraso que se produce en el condicionamiento a un estímulo cuando ese estímulo ha sido presentado previamente sin ninguna consecuencia [53]. Por otra parte, el laberinto acuático de Morris es una prueba muy usada en el estudio de la memoria espacial, y es ampliamente adaptada en estudios que evalúan el efecto de la cafeína sobre el comportamiento de aprendizaje espacial y la memoria de trabajo [28,43,44,45]. También la exploración preferencial de lugares y objetos novedosos por roedores se ha utilizado para probar los efectos de varias manipulaciones en la memoria de reconocimiento de objetos [54].

Algunos estudios han evaluado el efecto de la cafeína en la memoria de reconocimiento espacial utilizando un laberinto en Y [19,23], o por medio de pruebas de natación forzada

[20,48,49]. También se ha evaluado el efecto de la cafeína sobre la memoria no espacial de reconocimiento social [9,30], la memoria de referencia espacial y a corto plazo en laberinto de brazo radial y laberinto de agua de brazo radial [28,44,46,47], el aprendizaje asociativo en una prueba con placa caliente para evaluar la respuesta al dolor [17], el comportamiento de ansiedad en una laberinto elevado en cruz [17,19,20], y el aprendizaje mediante una prueba de transición luz-oscuridad [17]. En la (tabla 3) se encuentra el tipo de estudio, el objetivo y las principales conclusiones de algunos estudios.

3.2. Tipo de cepa en la investigación con cafeína

Una amplia variedad de cepas están ahora disponibles para la investigación farmacológica, lo que puede plantear problemas sobre cómo las diferencias inherentes entre las cepas pueden afectar la línea base de estudio [55]. La (Tabla 4) resume el tipo de cepas empleadas en investigación con cafeína. En la mayoría de estudios se utilizaron ratas Wistar [7,9,15,18,19,20,21,36,43,45,46,47,48,49,50], seguidas de la cepa Sprague,Dawley [11,12,14,32,37,17,28]. Esto es consistente con el tipo de cepa que se emplea en estudios sobre los efectos de la cafeína en el hipocampo, en el metabolismo y en los parámetros farmacológicos.

La rata Wistar fue desarrollada en el Wistar Institute en 1906 para fines de investigación biomédica, y se trata de la primera rata empleada como organismo modelo en estu-

Tabla 3: Tipo de estudios y principales conclusiones

Referencia	Tipo de estudio	Objetivo	Principales conclusiones
[11]	Conductual (actividad motora); hibridación in situ	Examinar mediante hibridación in situ el curso temporal de la expresión de ARNm para los genes NGFI-A y NGFI-B en ratas administradas con cafeína sometidas a pruebas de actividad motora	La estimulación locomotora inducida por cafeína está relacionada con un incremento de entrada dopaminérgica en neuronas estriatopalidales.
[31]	Conductual (paradigma de evitación pasiva)	Estudiar las consecuencias conductuales permanentes y/o latentes de la exposición neonatal de cafeína	La administración crónica de un antagonista del receptor de adenosina altera el aprendizaje espacial y la memoria en ratones neonatales y adultos. La exposición de cafeína puede ocasionar secuelas bioquímicas y alteraciones en el comportamiento a largo plazo.
[5]	Conductual (Paradigma de evitación pasiva)	Estudiar el efecto de la cafeína sobre tareas de memoria de evitación inhibitoria y la habituación a un nuevo entorno.	La cafeína afecta diferencialmente las diferentes etapas del procesamiento de memoria y este efecto depende de las particularidades de la tarea de memoria en estudio.
[12]	Actividad locomotora; niveles plasmáticos de metilxantinas; Hibridación in situ; Autorradiografía de unión a ligandos	Buscar correlaciones neuroquímicas de la acción estimulante de la cafeína y las adaptaciones durante el desarrollo de tolerancia en ratas	Los cambios en la expresión del gen temprano inmediato probablemente refleje una alteración en la actividad neuronal; en algunas áreas específicas se correlacionan con la acción estimulante de la cafeína en animales no tolerantes y tolerantes. Se sugiere que las alteraciones en la expresión génica en el cuerpo estriado son cruciales para el desarrollo de la tolerancia a la cafeína.
[13]	Conductual (actividad motora)	Investigar las funciones de los receptores A1 y A2A de adenosina en la actividad motora de ratones usando un actímetro Digiscan	El efecto estimulante de dosis bajas de cafeína se debe al bloqueo del receptor A2A, mientras que el efecto depresor visto en dosis más altas en algunas condiciones se explica por el bloqueo del receptor A1.
[32]	Conductual (actividad ambulatoria); medición de niveles plasmáticos de nicotina y cotinina.	Examinar los efectos de la exposición crónica de cafeína en la respuesta conductual ante la administración aguda de drogas psicoestimulantes en la actividad ambulatoria y sobre las características farmacológicas de la discriminación de nicotina en ratas.	El consumo en la dieta de dosis moderadas de cafeína puede estar asociado con un aumento en las reacciones a algunos psicoestimulantes.
[33]	Liberación de GABA in vitro; niveles de AMP cíclico; conductual (actividad locomotora); autorradiografía cuantitativa de receptores; hibridación in situ	Examinar la importancia de las interacciones de los receptores de Adenosina A2A y los receptores de dopamina D2 usando animales deficientes del receptor D2.	La alteración dirigida del receptor D2R reduce el acoplamiento de los receptores A2A sobre las neuronas estriatopalidales y de ese modo las respuestas a los fármacos que actúan sobre los receptores de adenosina.
[43]	Conductual (memoria espacial)	Estudiar algunas de las características del efecto de mejora del antagonista no específico del receptor de adenosina (cafeína) utilizando un modelo animal de aprendizaje y memoria.	La cafeína mejora la retención de memoria pero no la adquisición de la misma, explicando con esto algunas discrepancias entre los informes presentes en la literatura.
[14]	Conductual (Actividad motora); experimentos de microdiálisis in vivo	Examinar mediante el uso de microdiálisis in vivo el efecto de la administración sistémica de cafeína sobre los niveles extracelulares de dopamina y glutamato en depósitos del Núcleo Accumbens.	La administración sistémica de dosis conductualmente relevantes de cafeína puede aumentar preferentemente los niveles extracelulares de dopamina y glutamato en los depósitos del núcleo accumbens (NAc).

Referencia	Tipo de estudio	Objetivo	Principales conclusiones
[34]	Conductual (ansiedad)	Estudiar los efectos de la ingesta aguda y crónica de cafeína en el patrón de comportamiento e intensidad de la auto-administración de morfina intravenosa en ratas WAG/G y Fisher 344.	Aumento de la ansiedad en ratas que reciben cafeína.
[35]	Conductual (actividad motora); Rendimiento alternancia espontánea; evitación inhibitoria.	Evaluar la hiperlocomoción inducida por Dizocilpina (MK-801) y los déficits cognitivos después del tratamiento crónico de cafeína en ratones. MK-801: Antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) (receptor de glutamato)	La hiperlocomoción inducida por MK-801 puede estar mediada por la reducción de la actividad adenosinérgica. Los resultados sugieren que los efectos motores y cognitivos de MK-801 pueden ser disociados y son claramente modulados.
[15]	Acclimatación en caminadora e implantación de cánula; conductual (actividad locomotora espontánea); (tiempo de ejecución en caminadora a la fatiga)	Este estudio fue diseñado para probar la hipótesis de que el bloqueo de los receptores de adenosina del sistema nervioso central puede explicar el efecto beneficioso de la cafeína en la fatiga.	Los resultados sugieren que la cafeína puede retrasar la fatiga a través de mecanismos del sistema nervioso central, al menos en parte mediante el bloqueo de los receptores de adenosina.
[16]	Conductual (actividad locomotora)	Se estudió el efecto del tratamiento único con nicotina, etanol y morfina sobre la actividad locomotora de ratas WAG/G y Fischer-344 que consumen crónicamente una solución potable de cafeína.	El tratamiento crónico de cafeína modula más significativamente los efectos de la nicotina, el etanol y la morfina en ratas.
[6]	Conductual (actividad locomotora)	Evaluar el papel del receptor de adenosina A1 (A1R) en la mediación de los efectos locomotores de dosis crecientes de la cafeína con ratones de tipo salvaje (A1RWT), ratones heterocigotos (A1RHET), y ratones que carecen del receptor de adenosina A1 (A1RKO).	El receptor A1 (A1R) no es crucial para el efecto estimulante de la cafeína, pero parece modular el efecto de la cafeína ejercida a través del bloqueo del receptor A2A (A2AR). Los resultados sugieren que el efecto inhibitorio de altas dosis de cafeína se debe al bloqueo de la A1R y no de A2AR, ya que es probable un efecto independiente de estos receptores de adenosina.
[7]	Conductual (actividad locomotora espontánea)	Evaluar el sinergismo entre la cafeína y el Trihexifenidilo (THP) en ratas con reserpina en un modelo preclínico de la enfermedad de Parkinson.	Las dosis bajas de cafeína, más dosis subumbrales de Trihexifenidilo (THP) tienen el potencial de aliviar las discapacidades motoras en pacientes con Parkinson, con bajo riesgo de causar ansiedad o deterioro de la memoria.
[9]	Conductual (tareas de discriminación olfatoria; tareas de reconocimiento social)	Evaluar la discriminación olfativa y la memoria social a corto plazo de ratas con 3, 6, 12 y 18 meses de edad, en tareas de discriminación y reconocimiento social.	Los resultados sugieren la participación de los receptores de adenosina en el control de las funciones olfativas y confirman el potencial de cafeína para el tratamiento de la disminución cognitiva relacionada con la edad.
[36]	Conductual (evaluación de la actividad locomotora)	Estudiar los efectos de la ingesta de cafeína materna en la hiperlocomoción inducida por MK-801 en crías de rata.	El efecto permanente después de la abstinencia de cafeína sugiere cambios duraderos o de adaptación durante el desarrollo neurológico, principalmente sobre los receptores de adenosina o sistemas de neurotransmisores modulados por la adenosina, tales como el sistema glutamatérgico.
[37]	Conductual (actividad locomotora; Evitación pasiva)	Desarrollar y validar un método sencillo para determinar simultáneamente el contenido de cafeína y piroglutamato en el café. Medir el contenido de estos compuestos en las marcas habituales de los cafés instantáneos y finalmente evaluar el efecto de éstos cafés con diferentes cantidades de cafeína y piroglutamato en la actividad locomotora y memoria.	El hallazgo más relevante fue la reversión parcial de la amnesia inducida por escopolamina en el paradigma de evitación pasiva después de la administración oral de un café con contenido de cafeína.

Tabla 4: Tipo de cepas en investigación con cafeína

Referencia	Cepa empleada
[7, 9, 15, 18, 19, 20, 1, 24, 36, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50]	Ratas macho Wistar adultas y jóvenes
[36]	Ratas embarazadas Wistar
[22]	Ratas hembras Wistar apareadas; ratas macho Wistar
[11, 12, 14, 32, 37, 38]	Ratas macho Sprague,Dawley
[17]	Ratas embarazadas Sprague,Dawley
[28]	Ratas hembras Sprague,Dawley; Ratas macho para apareamiento
[30, 31]	Ratas macho Long Evans
[5]	Ratones machos Swiss
[13]	Ratones machos albinos Swiss CD1; ratones Knockout carentes de receptores A2A y controles de tipo silvestre
[37]	Ratones macho albinos Swiss OF1
[27, 35]	Ratones machos albinos (CF1)
[29]	Ratones macho CF1
[33]	Ratones machos y hembras congénitos N5
[34]	Ratas machos WAG/G (30); ratas machos Fisher,344 (30)
[16]	Ratas macho WAG (64); ratas Fischer,344 (64)
[6]	Ratones de tipo salvaje (A1RWT); ratones heterocigotos para (A1RHET), y ratones que carecen del receptor de adenosina A1 (A1RKO)
[21, 26]	Ratas espontáneamente hipertensas (SHR)
[45]	Rats machos C57BL/6J
[23]	Ratas machos endogámicos SHR; ratas Wistar Kyoto (WKY); subcepas NCRL y NcoCrI

dios de comportamiento. Según el estudio realizado por Simpson y Kelly [51], las ratas Sprague,Dawley es la cepa que más se utiliza en estudios farmacológicos para el análisis del comportamiento, aunque en esta revisión es frecuente el uso de la cepa Wistar en estudios con cafeína. Otros estudios emplearon ratas Long Evans [30,31], ratas Swiss [5,13,37], ratas CFI [27,29,35] y Fisher 344 [16,34]. Algunos estudios utilizan varias cepas; en dos estudios realizados por Sudakov *et al*, [34] y Sudakov *et al* [16] se evaluó el efecto de la cafeína en la

cepa Fisher 344 y en ratas WAG/G. El Yacoubi *et al* [13] emplearon ratones albinos Swiss CD1 además de ratones que carecen del receptor de adenosina A1 (A1RKO); Halldner *et al* [6] incluyeron ratones de tipo salvaje (A1RWT), ratones heterocigotos para el receptor de adenosina 1 (A1RHET) y ratones A1RKO. Pires *et al* [21] utilizan ratas Wistar y ratas espontáneamente hipertensas (SHR); Sousa *et al* [45] experimentan con ratas Wistar adicional a la cepa C57BL/6J y Pandoldo *et al* [23] incluyen ratas endogámicas SHR, ratas Wistar Kyoto (WKY) y subcepas NCRL y NcoCrI.

Aunque los estudios suministran información precisa sobre el tipo de cepa empleada, es posible que algunos no indiquen las variantes genéticas de los animales en estudio. En el caso de la cepa Wistar y según los Modelos de Laboratorio Harlan (Harlan Laboratories Models, S.L.) en su documento del 2012: Modelos de Investigación y Servicios [56], existe una serie de ratas consanguíneas como WAG, Wistar Furth y Wistar Kyoto; también ratas no consanguíneas como Wistar; Wistar Han y Wistar Unilever. A pesar de que estas cepas son genéticamente uniformes, las diferencias en consanguinidad y los tamaños morfológicos relativos pueden incidir en el comportamiento ante la administración de cafeína.

3.2.1. Género de cepas

Según Hughes [57], a pesar de la abundante evidencia de las diferencias sexuales en los efectos de las drogas sobre el comportamiento no sexual en ratas y ratones, la mayoría de investigadores continúan usando machos exclusivamente. El estudio de Hughes se realizó durante el período febrero 2005 a septiembre 2006 y hoy en día se sigue investigando principalmente con machos en estudios que miden el comportamiento. En la investigación con cafeína se emplea principalmente ratas macho [5,6,7,9, 12,13,14,15,16,18,19,20,24, 25,27,29,30,31,32, 34,35,37,39,41,43,45,46,48,49,50,58,59,60], y se utiliza con menos frecuencia ratas hembras [17,22,28,33,36]. Algunos estudios emplean

animales de ambos géneros. Zahniser *et al* [33] utilizan ratones machos y hembras congénicas N5; da Silva *et al* [36] experimentan con ratas embarazadas Wistar y machos de la misma cepa; Soellner *et al* [28] emplean ratas hembras y machos Sprague,Dawley para apareamiento así como Abreu *et al* [22] que usan ratas macho y hembras Wistar. En un estudio reciente, se emplearon ratas espontáneamente hipertensas de ambos géneros para estudiar el efecto de la cafeína suministrada desde la infancia [26].

Según Frye *et al* [61], la razón principal de la omisión de hembras en estudios que miden el comportamiento, es que su ciclo estral puede tener efectos sobre el comportamiento, además, la inclusión de un grupo de hembras adicional al grupo de machos aumenta al doble el tamaño de la muestra. Así como las diferencias de género en el comportamiento han sido documentadas [62], es importante que en un análisis posterior sobre el tipo de cepa y género se indague sobre el efecto que

Tabla 5. Vías de administración de cafeína.

Referencia	Vía de administración	Dosis y algunas condiciones de administración de acuerdo al estudio
5	Intraperitoneal	Volumen de 0,1 ml/10 g de peso corporal.
43	Intraperitoneal	Volumen de 0,1 ml/100 g de peso corporal.
16	Oral	Los animales recibieron dosis crónicas de cafeína (0,1%) en agua potable durante 30 días. También se administró por vía subcutánea e intraperitoneal otras drogas como nicotina, alcohol etílico y clorhidrato de morfina.
6	Intraperitoneal	Volumen de 10 ml/kg. Se disolvió cafeína (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EE.UU.) en solución salina al 0,9% el día del experimento en concentraciones de 3,75, 7,5, 15, 30 y 100 mg/kg.
9	Intraperitoneal	Volumen de 1 ml/kg de peso corporal 30 minutos antes de la realización de experimentos.
17	Sonda	20 mg/kg en el día 2 y 15 mg/kg en el día 3-6, administrados en un volumen de 0,05 ml/10 g de peso corporal.
39	Intraperitoneal	Volumen de 3 ml/Kg de peso corporal
28	Oral	(6,75 ± 0,243 g)
21	Intraperitoneal	Volumen de 1 ml / kg de peso corporal
19	Oral	Se monitoreó continuamente la ingesta de cafeína, lo que permitió estimar un cantidad diaria de consumo de 69 ± 3 mg /kg/día
29	Intraperitoneal	Volumen de 10 ml kg
46	Oral	0,3 g/L de cafeína en botellas de agua ad libitum. En promedio, la cantidad de agua con cafeína y sin cafeína consumida por las ratas fue similar. La cantidad estimada de cafeína que consume diariamente cada rata es de 16-20 mg.
22	Oral	El suplemento de la dieta contenía cafeína a una concentración de 0,04% o 0,08% correspondiente al contenido de cafeína en la dieta con el café al 3% y 6%, respectivamente.
50	Intraperitoneal	30 mg/kg a un volumen de 1 ml/kg.
45	Intraperitoneal	3 mg/kg/día en un volumen de 2 ml/kg de peso
47	Oral	0,3 g/L de cafeína en agua ad libitum. En promedio, la cantidad de agua consumida por las ratas con cafeína y sin cafeína fue similar. La cantidad estimada de cafeína consumida diariamente por cada rata fue de 16-20 mg
27	Oral	1 mg/mL de solución de cafeína en botellas de agua. La solución de cafeína es equivalente a 220 mg/kg/día y la ingesta para cada animal se promedió en 5 ml/día, lo que significa que cada ratón consume aproximadamente 5 mg/día de cafeína.
25	Oral	1 g/L de cafeína en agua ad libitum potable
51	Oral	0,3 g/L de cafeína en botellas de agua ad libitum. En promedio, la cantidad de agua con cafeína y sin cafeína consumida por las ratas fue similar. La cantidad estimada de cafeína que consume diariamente cada rata es de 16-20 mg.
24	Oral	20 mg/kg/d de cafeína en agua por dos semanas
26	Oral	0,3 g/L de cafeína
38	Oral	1.0 g/L de cafeína en agua ad libitum

tienen las variables genéticas y las condiciones morfofisiológicas, así como el efecto en el comportamiento ante la utilización de cepas a diferente edad y los tiempos establecidos para el alojamiento de los animales.

3.3. Tratamientos con cafeína en animales

La (Tabla 5) presenta las principales vías de administración de cafeína en estudios de experimentación animal. Es común la administración de este fármaco de forma intraperitoneal [5,6,9,21,29,39,43,45,50], aunque la administración oral también es frecuente debido al tipo de consumo en humanos [16,19,22,25,26,27,28,46,47,51]. En el desarrollo del protocolo sobre la vía de administración farmacológica en biomodelos, es importante manejar adecuadamente las dosis y considerar todas las variables que nacen de factores como el ángulo o profundidad de la jeringa en la inyección peritoneal, o la preparación de suplementos con cafeína en el caso de administración oral. Sin embargo, la medición de las dosis de cafeína intraperitoneal o por vía oral puede que no sean exactas, más cuando se realizan tratamientos frecuentes, ya que dentro de cada fuente de variabilidad la cafeína existe en una cantidad por volumen, adicional al volumen total en cada dosis (o su equivalencia en la concentración por taza en el consumo humano); además, la dosificación por días y semanas puede generar algún tipo de estrés o aversión independiente de si la administración de cafeína es oral o intraperitoneal.

Algunos estudios utilizan café como fuente de cafeína en estudios con animales. La preparación y el tiempo de exposición al café (con presencia de cafeína) en el caso de la administración oral, incide en la cantidad de cafeína consumida por los animales; incluso, cuando estas condiciones se mantienen constantes, puede haber variaciones sustanciales en la concentración de cafeína entre raciones. La concentración real puede diferir enormemente de contenidos de cafeína estandarizados [63]. En estudios de autoadministración oral en ratas, la preferencia por solución de cafeína sobre el agua se demos-

tró sólo en concentraciones extremadamente bajas resultando en muy baja ingesta [64]. La preferencia por la cafeína en alta concentración, ingerida en agua potable en cantidades activas, se demostró conductualmente sólo después de un período de 14 días de exposición forzada [65]. La autoadministración oral puede ser aumentada por la privación de alimentos o la exposición crónica de nicotina [64]. El estudio de Shukitt-Hale *et al* [58] señala que los efectos del consumo de café sobre actividades motoras y cognitivas, no se debe exclusivamente a la presencia de cafeína sino también a la presencia de polifenoles y otros compuestos bioactivos del café. Estos compuestos pueden complementar o sinergizar con la cafeína para producir sus acciones beneficiosas [69]. Los resultados de dicho estudio en ratas indican que el café puede reducir tanto el déficit motor y cognitivo presente durante el envejecimiento, similar a estudios previos con bayas [66,67] y frutos secos [68]. Sin embargo, la presente revisión se concentra en las metodologías que analizan el efecto de la cafeína administrada de forma intraperitoneal o por vía oral en ratas sobre actividades motoras y cognitivas, omitiendo estudios que indagan el efecto de otros compuestos bioactivos presentes en el café.

También sigue siendo tema de debate si el sabor del café y la cafeína pueden influir en su ingesta [70]. Si el agua contiene cafeína y se da de forma crónica a ratas entre 29 y 40 días de vida postnatal, las ratas beben agua con cafeína en mayor cantidad que agua sin cafeína. Asimismo, la administración previa de un agonista de adenosina aumenta la ingesta de cafeína. Por lo tanto, parece que la ingesta de cafeína podría estar al menos en parte relacionada con sus propiedades farmacológicas, aunque la influencia del sabor no puede ser eliminada [71].

Un aspecto importante del uso de cafeína es que el margen para el aumento de dosis puede estar limitado por los efectos bifásicos del fármaco. Las dosis bajas de cafeína causan refuerzo en los animales mientras que las dosis

altas producen aversión. Por lo tanto, el refuerzo se puede observar con dosis incluso inferiores a 1 mg/kg, mientras que dosis por encima de 10 a 15 mg/kg son generalmente aversivas. Las dosis que son estimulantes del comportamiento (por ejemplo aumento de la conducta motora) están por debajo de aproximadamente 30 mg/kg y dosis superiores a 50 mg/kg son generalmente depresoras en paradigmas de comportamiento motor. Una curva de dosis-respuesta bifásica similar se observa en humanos, con dosis bajas que se perciben como estimulantes y agradables, mientras que dosis más altas con frecuencia se asocian con disforia o en casos extremos con claros efectos tóxicos [72].

4. Estudios sobre atención y memoria

Investigaciones recientes en humanos y animales relacionan a la cafeína con procesos de atención y memoria. Muchos estudios con ratas indican que la cafeína ejerce un efecto sobre actividades motoras y cognitivas y, aunque su consumo sirve para disminuir el cansancio, aumentar la energía y mejorar el estado de ánimo [73], los resultados en cuanto a su capacidad para mejorar el rendimiento cognitivo son más complejos [3,74], y se cuestiona sobre los reales efectos en las actividades motoras. Los estudios indican que la cafeína influye en procesos de atención y memoria en ratas [5, 8,9,19,21,22,23,27,28,29,43,50], en humanos [73,74,75,76,77,78,79,80], incluso en abejas [81]. Angelucci *et al* [5] indican que la administración de cafeína antes de la sesión de entrenamiento de una tarea de memoria incide sobre el rendimiento, la atención, la adquisición de la memoria y la distinción del proceso [5]. En este sentido, muchos estudios sugieren un efecto positivo sobre la atención y memoria en animales [5,9,21,22,23,25,27,29,30,35,42,43,46,47,58,60,82,83,84,85,86,87,89], mientras otras investigaciones concluyen que la cafeína no influye o altera el rendimiento cognitivo en ratones [17,19,28,31,44,45,88,90,91].

4.1 Efectos positivos de la cafeína en atención y memoria

Si bien los tratamientos con cafeína son en general de tipo crónico, muchos estudios se han efectuado para analizar el efecto agudo de este fármaco sobre la memoria. A menudo se administra cafeína en cantidades de 50,150 mg [72], aunque algunos estudios emplean dosis mayores [92]. Muchas respuestas biológicas a la cafeína presentan una forma de campana, es decir, el efecto va aumentado con la dosis, hasta que, a dosis elevadas, disminuye de manera significativa [72]. Los estudios en roedores realizados por Takahashi *et al* [93] indican que dosis moderadas de cafeína mejoran la capacidad memorística; las dosis elevadas (30,100 mg/kg), en cambio, interfieren en los procesos de adquisición de memoria. La administración de cafeína con frecuencia provoca una mejora en el rendimiento cognitivo, incluyendo en animales de edad avanzada [9,94]. Se encontró que la sola administración intraperitoneal de cafeína (10 o 30 mg/kg), 30 minutos antes de la realización de las tareas conductuales, invierte los déficits relacionados con la edad en las funciones olfativas y en la memoria de reconocimiento social [9].

Según Costa *et al* [27] animales de edad avanzada tratados con cafeína muestran un rendimiento similar al de animales adultos en la tarea de nueva preferencia. Abreu *et al* [22] analizaron la relación entre la edad de roedores, la dosis y las tareas de memoria. Los investigadores indican que la cafeína genera un mejoramiento en los procesos cognitivos medido en varias pruebas, como la memoria espacial, memoria de trabajo y el reconocimiento de objetos [22]. También afirman que la administración de cafeína en ratones adultos impide el deterioro de la memoria de reconocimiento de objetos asociada con la edad. Swenson *et al* [95] indican que las crías de ratas adultas tratadas con cafeína presentan una mejora significativa en la retención a los 25 días después de la adquisición de la memoria, en compa-

ración con ratas de grupo control. El estudio realizado por Fisher y Guillet [31] señala que la exposición neonatal de cafeína puede alterar el aprendizaje en una forma dependiente de género en un paradigma de evitación pasiva. Ante la administración de 15,20 mg/Kg/día de cafeína, las ratas hembras adultas exhiben un mejoramiento de la retención de memoria a las 24 y 72 h después del entrenamiento, pero los machos exhiben una retención significativamente reducida en ambos períodos de tiempo en el mismo paradigma [31]. Según los investigadores, el mismo tratamiento neonatal con cafeína no causa efectos específicos de género en ratas jóvenes [31].

Entre estos estudios, las evidencias de Angelucci *et al* [43] indican que la cafeína mejora la retención de la memoria, pero no la adquisición de la misma; según los autores esto explica algunas discrepancias entre los informes en la literatura. Los investigadores sugirieron que la cafeína afecta diferencialmente las diferentes etapas del procesamiento de memoria y que este efecto depende de particularidades en la tarea de estudio [43]. Otros estudios han evaluado el efecto de la cafeína en el tratamiento del trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) en humanos pero también en animales [21]. Algunos resultados sugieren que la cafeína puede representar una importante herramienta terapéutica para el TDAH; se ha demostrado que la administración aguda de cafeína mejora el aprendizaje y varios deterioros de la memoria en tareas de reconocimiento de objetos [21]. Pandolfo *et al* [23] encontraron mejoría en los déficits de atención y memoria cuando se administró cafeína a ratas en un modelo de TDAH.

Por su parte Botton *et al* [29] afirman que el tratamiento previo con cafeína es eficaz en la prevención del deterioro de la memoria de corto y largo plazo en tareas de reconocimiento de objetos. Esto confirma el efecto positivo de la administración de cafeína en la tarea de reconocimiento de objetos cuando se evaluó en la memoria a corto plazo [27]. Cognato *et al* [19]

reportan que la cafeína o los antagonistas de adenosina (A2AR) impiden el déficit de memoria causado por citotoxicidad glutamatérgica. Estos hallazgos proporcionan información sobre el potencial de la cafeína frente al deterioro cognitivo completo que muestran las mujeres en el modelo de TDAH. El estudio de Nunes *et al* [26] revela que la ingesta de cafeína desde la infancia atenúa las alteraciones del comportamiento en un modelo de TDAH asociadas con cambios en los receptores del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y del receptor TrkB en el hipocampo. Según los autores, estos hallazgos proporcionan información sobre el potencial de la cafeína frente al deterioro cognitivo completo que muestran las mujeres en el modelo de TDAH [26]. A pesar de estos hallazgos, algunos estudios afirman que la cafeína no confiere ningún efecto y que incluso puede representar un efecto negativo en la atención y memoria.

4.1.2 Efectos negativos de la cafeína en atención y memoria

El estudio realizado por Loke WH [90] señala que la cafeína no genera un efecto significativo en el desarrollo cognitivo, el aprendizaje y el rendimiento de la memoria. En estudios con ratas adultas Long Evans, se ha afirmado que la administración postnatal de la cafeína deteriora la capacidad espacial de aprendizaje [96]. También se afirma que la administración de 0,03 g/L de cafeína durante la gestación y lactancia, puede generar un déficit en el rendimiento de ratones adultos en un laberinto en Y por medio de tareas de memoria espacial y de reconocimiento de objetos, entre otras tareas de memoria [91]. En otro estudio, se indica que la administración de cafeína a ratas neonatales genera un rendimiento deteriorado de la memoria en tareas de evasión [17].

Soellner *et al* [28] encontraron que la exposición prenatal crónica de una dosis moderada de cafeína altera el reconocimiento de nuevos objetos y el comportamiento en el laberinto de brazos radiales en ratas machos y hembras

adultas; los investigadores también indican que la ingesta oral crónica de cafeína durante toda la gestación puede alterar los procesos cognitivos en ratas adultas. Por su parte Sousa *et al* [45] afirman que la cafeína provoca alteraciones en el sistema canabinoide en la corteza y el hipocampo, con implicaciones funcionales en la memoria espacial. El estudio de Blaise *et al* [38] señala que ratas tratadas con cafeína presentan una reducción en la inducción de la potenciación a largo plazo (LTP), significativamente menor en comparación con los controles. Este hallazgo, que revela una disminución en el mecanismo de LTP en ratas tratadas con cafeína, contrasta con un estudio realizado en el 2015 que indicaba que la exposición a la cafeína no alteraba significativamente la LTP [40].

4.1.3 Efectos de la cafeína en la actividad motora.

Hoy en día persiste el debate sobre el efecto de la cafeína en la actividad motora. Algunos estudios señalan que la cafeína aumenta o mejora la actividad motora en animales [7,35,47, 58,60,97] mientras que otros indican lo contrario [22,101]. Marin *et al* [97] sugieren que la cafeína induce mayor estimulación en la actividad locomotora en ratas adolescentes que en adultas cuando los animales se habitúan al entorno del ensayo; las ratas adolescentes y adultas muestran un efecto locomotor bifásico de estimulación por cafeína, con una mayor actividad locomotora durante la adolescencia y una evidente disminución durante la edad adulta. Dosis pequeñas a moderadas de cafeína generan un aumento en el comportamiento locomotor en ratas adolescentes, mientras que en animales adultos dosis altas no aumenta o disminuye la actividad locomotora [6]. Porciúncula *et al* [47] también consideran que los animales adultos tratados con bajas dosis de cafeína generan un perfil de hiperlocomoción, mientras que a dosis más altas predomina el estado de hipolocomoción. Según los investigadores, en estudios de actividad motora las crías jóvenes de ratas trata-

das con cafeína durante el embarazo a menudo exhiben alteraciones en la actividad locomotora, comparados con sujetos control [47].

En una serie de estudios, la cafeína fue ingerida en agua por parte de ratas durante la gestación o lactancia, o en ambos periodos de tiempo, y la actividad locomotora de la descendencia se evaluó 1, 2, 4 y 6 meses después del nacimiento. Todas las ratas expuestas a cualquiera de las combinaciones de dosis de cafeína durante la gestación y lactancia mostraron menos actividad locomotora [98,96,99]. Hughes y Beveridge [100] sugieren que el efecto de la cafeína depende de la edad. Estos investigadores hallaron que la exposición prenatal de cafeína (20 o 40 mg/kg/día) administrada intraperitonealmente, aumenta la actividad locomotora en el día postnatal 61, aunque no encontraron algún efecto en el día postnatal 145; también reportaron disminución de la actividad motora en el día 188. Sin embargo, Glavin y Krueger [101] no hallaron efecto alguno de (12,5, 25 o 35 mg/kg/día) de cafeína en los días posnatales 48, 68 y 196, a través del consumo en agua potable y con actividades de exploración en un campo abierto.

En esta misma línea de estudio, Tchekalova *et al* [102] confirmaron que la cafeína también puede causar diferentes efectos cuando se administra en diferentes días posnatales. La administración de cafeína (10 y 20 mg/kg) entre los días posnatales 7 y 11 genera un estado de hiperlocomoción; cuando se inyecta entre los días posnatales 13 y 17, las ratas fueron menos activas que los controles entre los 25 y 32 días posnatales. En otro estudio, la cafeína fue administrada por sonda entre los días posnatales 2 y 6 y la actividad locomotora se incrementó a los 12 días de edad [103], pero no a los 28, 70 o 90 días de edad [104]. Angelucci *et al* [5] indican que ratas administradas con cafeína incrementan su conducta exploratoria en un campo abierto; sin embargo, mediante una prueba de campo abierto, se encontró que

la suplementación de la dieta con cafeína no tuvo efecto sobre las actividades locomotoras y exploratorias de ratas, es decir, la mejora en el rendimiento cognitivo de los animales por la ingestión de cafeína no se acompañó por un aumento de las funciones motoras y sensoriales [22]. Todos los grupos experimentales mostraron menor actividad locomotora y exploratoria en algunas etapas de los experimentos; según los autores, esto demuestra la poca relación de los efectos de la cafeína en la memoria no asociativa (implícita).

Es así como los beneficios cognitivos de la memoria a largo plazo no muestra efectos secundarios significativos en las funciones sensoriales y motoras que se pueden afectar por la administración aguda de cafeína [22]; sin embargo, aunque el estudio de Abreu y colegas comprueba que dosis bajas de cafeína no inciden en el comportamiento locomotor de ratas adultas, los resultados de Angelucci *et al* [5] parecen indicar lo contrario; esto representa una de varias inconsistencias en la investigación sobre el efecto de la cafeína en la actividad motora. La prueba de campo abierto se emplea con frecuencia en estudios con cafeína; el aparato se usa para registrar actividad motora vertical, horizontal, central y periférica [6,7,11,12,13,14,15], así como para el estudio de la memoria de reconocimiento de objetos [25,27,28,21,22]. Algunos estudios han reportado efectos positivos de la cafeína en la actividad motora [6,7,11,12,13] donde los investigadores han empleado parámetros que de acuerdo con otros estudios, no se modifican o incluso se alteran ante el consumo de cafeína [17,19]. Se han registrado efectos positivos de la cafeína sobre el aprendizaje asociativo usando aparatos de evitación pasiva o inhibitoria [5,37], sin embargo, otros estudios indican bajo parámetros similares en las mismas tareas, efectos nocivos o baja actividad motora [17,28,31]. Finalmente, en un estudio publicado en el 2016, se investigó el efecto de un tratamiento crónico con cafeína en dosis moderadas sobre la actividad motora en ratas Wistar diabéticas [24]. Los resultados

indican que la exposición crónica a la cafeína perjudica la actividad locomotora en ratas control pero no en ratas diabéticas [24], resaltando con ello el posible potencial terapéutico de este **fármaco sobre el síndrome metabólico** relacionado con la diabetes, pero no el impacto de su uso recreativo con fines de mejoras en el rendimiento motor.

Conclusiones

Se evidencian algunos resultados contradictorios en la investigación con cafeína en ratas y faltan estudios concluyentes sobre su efecto en la memoria y el aprendizaje. Los factores bioquímicos relacionados con el mecanismo de acción y la farmacocinética de la cafeína están bien establecidos, pero se requieren más estudios que profundicen sobre el efecto de este fármaco en la neuroanatomía, en tareas de actividad motora y en funciones cognitivas. Esta revisión confirma que no existen procedimientos estandarizados en paradigmas específicos de aprendizaje y esto puede ser una de las causas de los hallazgos contradictorios.

Al parecer, las variables conductuales de ratas sometidas a diferentes tareas de memoria demuestran un efecto en el comportamiento que varía ante el tipo de paradigma empleado, las dosis de cafeína y las condiciones experimentales del estudio. A pesar del creciente interés en investigación con cafeína y memoria, se conoce poco sobre su efecto en el procesamiento de la memoria de reconocimiento de objetos y no se cuenta aún con un conocimiento que sea coherente con la evidencia experimental. Así mismo, los estudios que indagan sobre el efecto de la cafeína en la actividad motora, señalan que ésta incide en un aumento de las funciones locomotrices mientras que otras investigaciones afirman lo contrario.

Conflictos de interés: No presentamos conflictos de interés.

Fuentes de financiación: Financiación propia.

Literatura citada

1. Soto-Becerra P, Wong P. **El 1, 2, 3... y 4 de la experimentación con animales de laboratorio: las directrices ARRIVE** [carta]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2016; 33(4):836-7. DOI: 10.17843/rpmesp.2016.334.2579.
2. Kilkenny C, Parsons N, Kadyszewski E, Festing MFW, Cuthill IC, Fry D, et al. **Survey of the quality of experimental design, statistical analysis and reporting of research using animals.** *PloS One* 2009; 4(11):e7824. DOI: 10.1371/journal.pone.0007824.
3. Baker D, Lidster K, Sottomayor A, Amor S. **Two years later: journals are not yet enforcing the ARRIVE guidelines on reporting standards for pre-clinical animal studies.** *PLoS Biol* 2014; 12(1):e1001756. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001756.
4. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. **Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research.** *PLOS Biol* 2010; 8(6):e1000412. DOI: 10.1371/journal.pbio.1000412.
5. Angelucci ME, Vital MA, Cesário C, Zadusky CR, Rosalen PL, Da Cunha C. **The effect of caffeine in animal models of learning and memory.** *Eur J Pharmacol* 1999; 373(2-3):135-40. DOI: 10.1016/S0014-2999(99)00225-3.
6. Halldner L, Adén U, Dahlberg V, Johansson B, Ledent C, Fredholm BB. **The adenosine A1 receptor contributes to the stimulatory, but not the inhibitory effect of caffeine on locomotion: a study in mice lacking adenosine A1 and/or A2A receptors.** *Neuropharmacology* 2004; 7:1008-17. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2004.01.014.
7. Moo RE, Villanueva J, Arankowsky G, Alvarez F, Góngora JL. **Treatment with subthreshold doses of caffeine plus trihexyphenidyl fully restores locomotion and exploratory activity in reserpinized rats.** *Neurosci Lett* 2004; 367(3):327-31. DOI: 10.1016/j.neulet.2004.06.022.
8. Sheppard AB, Gross SC, Pavelka SA, Hall MJ, Palmatier MI. **Caffeine increases the motivation to obtain non-drug reinforcers in rats.** *Drug Alcohol Depend* 2012; 124(3):216-222. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2012.01.008.
9. Prediger RD, Batista LC, Takahashi RN. **Caffeine reverses age-related deficits in olfactory discrimination and social recognition memory in rats Involvement of adenosine A1 and A2A receptors.** *Neurobiol Aging* 2005; 6:957-64. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2004.08.012.
10. Ramazani R.B., Krishnan H.R, Bergeson SE, Atkinson NS. **Computer automated movement detection for the analysis of behavior.** *J Neurosci Methods* 2007; 162:171-179. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2007.01.005.
11. Svenningsson P, Nomikos GG, Fredholm BB. **Biphasic changes in locomotor behavior and in expression of mRNA for NGFI-A and NGFI-B in rat striatum following acute caffeine administration.** *J Neurosci* 1995; 15(11):7612-24. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.15-11-07612.1995.
12. Svenningsson P, Nomikos GG, Fredholm BB. **The stimulatory action and the development of tolerance to caffeine is associated with alterations in gene expression in specific brain regions.** *J Neurosci* 1999; 19(10):4011-22. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-10-04011.1999.
13. El Yacoubi M, Ledent C, Ménard JF, Parmentier M, Costentin J, Vaugeois JM. **The stimulant effects of caffeine on locomotor behaviour in mice are mediated through its blockade of adenosine A(2A) receptors.** *Br J Pharmacol* 2000; 129(7):1465-73. DOI 10.1038/sj.bjp.0703170.
14. Solinas M, Ferré S, You ZB, Karcz-Kubicha M, Popoli P, Goldberg SR. **Caffeine induces dopamine and glutamate release in the shell of the nucleus accumbens.** *J Neurosci* 2002; 22(15):6321-4. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-15-06321.2002.
15. Davis JM, Zhao Z, Stock HS, Mehl KA, Buggy J, Hand GA. **Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284(2):R399-404. DOI: 10.1152/ajpregu.00386.2002.
16. Sudakov SK, Rusakova IV, Medvedeva OF. **Effect of chronic caffeine consumption on changes in locomotor activity of WAG/G and Fischer-344 rats induced by nicotine, ethanol, and morphine.** *Bull Exp Biol Med* 2003; 136(6):563-5. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.15-11-07612.1995.
17. Pan HZ, Chen HH. **Hyperalgesia, low-anxiety, and impairment of avoidance learning in neonatal caffeine-treated rats.** *Psychopharmacology (Berl)* 2007; 191(1):119-25. DOI: 10.1007/s00213-006-0613-y.
18. Boeck CR, Marques VB, Valvassori SS, Constantino LC, Rosa DV, Lima FF, et al. **Early long-term exposure with caffeine induces cross-sensitization to methylphenidate with involvement of DARPP-32 in adulthood of rats.** *Neurochem Int* 2009; 55(5):318-22. DOI: 10.1016/j.neuint.2009.03.015.
19. Cognato GP, Agostinho PM, Hockemeyer J, Müller CE, Souza DO, Cunha RA. **Caffeine and an adenosine A(2A) receptor antagonist prevent memory impairment and synaptotoxicity in adult rats triggered by a convulsive episode in early life.** *J Neurochem* 2010; 112(2):453-62. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06465.x.

20. Pechlivanova D, Tchekalarova J, Nikolov R, Yakimova K. **Dose-dependent effects of caffeine on behavior and thermoregulation in a chronic unpredictable stress model of depression in rats.** *Behav Brain Res* 2010; 209(2):205-11. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.01.037.
21. Pires VA, Pamplona FA, Pandolfo P, Prediger RD, Takahashi RN. **Chronic caffeine treatment during prepubertal period confers long-term cognitive benefits in adult spontaneously hypertensive rats (SHR), an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD).** *Behav Brain Res* 2010; 215(1):39-44. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.06.022.
22. Abreu RV, Silva-Oliveira EM, Moraes MF, Pereira GS, Moraes-Santos T. **Chronic coffee and caffeine ingestion effects on the cognitive function and antioxidant system of rat brains.** *Pharmacol Biochem Behav* 2011; 99(4):659-64. DOI: 10.1016/j.pbb.2011.06.010.
23. Pandolfo P, Machado NJ, Köfalvi A, Takahashi RN, Cunha RA. **Caffeine regulates frontocortical dopamine transporter density and improves attention and cognitive deficits in an animal model of attention deficit hyperactivity disorder.** *Eur Neuropsychopharmacol* 2013; 23(4):317-28. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2012.04.011.
24. Bădescu SV, Tătaru CP, Kobylinska L, Georgescu EL, Zăhău DM, Zăgrean AM, et al. **Effects of caffeine on locomotor activity in streptozotocin-induced diabetic rats.** *J Med Life* 2016; 9(3):275-279.
25. Espinosa J, Rocha A, Nunes F, Costa MS, Schein V, Kazlauskas V, et al. **Caffeine consumption prevents memory impairment, neuronal damage, and adenosine A2A receptors upregulation in the hippocampus of a rat model of sporadic dementia.** *J Alzheimers Dis* 2013; 34(2):509-18. DOI: 10.3233/JAD-111982.
26. Nunes F, Pochmann D, Almeida AS, Marques DM, de Oliveira Porciúncula L. **Differential Behavioral and Biochemical Responses to Caffeine in Male and Female Rats from a Validated Model of Attention Deficit and Hyperactivity Disorder.** *Mol Neurobiol* 2018. DOI: 10.1007/s12035-018-1000-5.
27. Costa MS, Botton PH, Mioranza S, Souza DO, Porciúncula LO. **Caffeine prevents age-associated recognition memory decline and changes brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor (TrkB) content in mice.** *Neuroscience* 2008; 153(4):1071-8. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.03.038.
28. Soellner DE, Grandys T, Nuñez JL. **Chronic prenatal caffeine exposure impairs novel object recognition and radial arm maze behaviors in adult rats.** *Behav Brain Res* 2009; 14; 205(1):191-9. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.08.012.
29. Botton PH, Costa MS, Ardais AP, Mioranza S, Souza DO, da Rocha JB, et al. **Caffeine prevents disruption of memory consolidation in the inhibitory avoidance and novel object recognition tasks by scopolamine in adult mice.** *Behav Brain Res* 2010; 25; 214(2):254-9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.05.034.
30. Spinetta MJ, Woodlee MT, Feinberg LM, Stroud C, Schallert K, Cormack LK, Schallert T. **Alcohol-induced retrograde memory impairment in rats: prevention by caffeine.** *Psychopharmacology* 2008; 201(3): 361-371. DOI: 10.1007/s00213-008-1294-5.
31. Fisher S, Guillet R. **Neonatal caffeine alters passive avoidance retention in rats in an age- and gender-related manner.** *Brain Res Dev Brain Res* 1997; 98(1):145-9. DOI: https://doi.org/10.1016/S0165-3806(96)00158-7.
32. Gasior M, Jaszyna M, Peters J, Goldberg SR. **Changes in the Ambulatory Activity and Discriminative Stimulus Effects of Psychostimulant Drugs in Rats Chronically Exposed to Caffeine: Effect of Caffeine Dose.** *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295(3):1101-11.
33. Zahniser NR, Simosky JK, Mayfield RD, Negri CA, Hanania T, Larson GA, et al. **Functional uncoupling of adenosine A(2A) receptors and reduced response to caffeine in mice lacking dopamine D2 receptors.** *J Neurosci* 2000; 20(16):5949-57. DOI: https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-16-05949.2000.
34. Sudakov SK, Papazov IP, Lyupina YV, Medvedeva OF, Figurina IV, Rusakova IV. **Effects of acute and chronic caffeine intake on intravenous self-administration of morphine in two rat strains.** *Bull Exp Biol Med* 2002; 134(4):400-2. DOI: https://doi.org/10.1023/A:1021980919850.
35. Dall'Igna OP, Da Silva AL, Dietrich MO, Hoffmann A, de Oliveira RV, Souza DO, et al. **Chronic treatment with caffeine blunts the hyperlocomotor but not cognitive effects of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 in mice.** *Psychopharmacology (Berl)* 2003; 166(3):258-63. DOI: 10.1007/s00213-002-1362-1.
36. da Silva RS, Hoffman A, de Souza DO, Lara DR, Bonan CD. **Maternal caffeine intake impairs MK-801-induced hyperlocomotion in young rats.** *Eur J Pharmacol* 2005; 509(2-3):155-9. DOI: 10.1016/j.ejphar.2005.01.001.
37. Maeso N, del Castillo C, Cornejo L, García-Acicollar M, Alguacil LF, Barbas C. **Capillary electrophoresis for caffeine and pyroglutamate determination in coffees Study of the in vivo effect on learning and locomotor activity in mice.** *J Pharm Biomed Anal* 2006; 41(4):1095-100. DOI: 10.1016/j.jpba.2006.01.062.

38. Blaise JH, Park JE, Bellas NJ, Gitchell TM, Phan V. **Caffeine consumption disrupts hippocampal long-term potentiation in freely behaving rats.** *Physiol Rep* 2018; 6(5): e13632. DOI: 10.14814/phy2.13632.
39. Simola N, Tronci E, Pinna A, Morelli M. **Subchronic-intermittent caffeine amplifies the motor effects of amphetamine in rats.** *Amino Acids* 2006; 31(4):359-63. DOI: 10.1007/s00726-006-0373-3.
40. Alhaider IA, Alkadhi KA. **Caffeine treatment prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced impairment of late-phase long-term potentiation in the dentate gyrus.** *Eur J Neurosci* 2015; 42(10):2843-50. DOI: 10.1111/ejn.13092.
41. Zancheta R, Possi AP, Planeta CS, Marin MT. **Repeated administration of caffeine induces either sensitization or tolerance of locomotor stimulation depending on the environmental context.** *Pharmacol Rep* 2012; 64(1):70-7. DOI: 10.1016/S1734-1140(12)70732-6.
42. Moy GA, McNay EC. **Caffeine prevents weight gain and cognitive impairment caused by a high-fat diet while elevating hippocampal BDNF.** *Physiol Behav* 2013; 109:69-74. DOI: 10.1016/j.physbeh.2012.11.008.
43. Angelucci ME, Cesário C, Hiroi RH, Rosalen PL, Da Cunha C. **Effects of caffeine on learning and memory in rats tested in the Morris water maze.** *Braz J Med Biol Res* 2002; 35(10):1201-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2002001000013>.
44. Giménez-Llort L, Masino SA, Diao L, Fernández-Teruel A, Tobeña A, Halldner L, et al. **Mice lacking the adenosine A1 receptor have normal spatial learning and plasticity in the CA1 region of the hippocampus, but they habituate more slowly.** *Synapse* 2005; 57(1):8-16. DOI: 10.1002/syn.20146.
45. Sousa VC, Assaife-Lopes N, Ribeiro JA, Pratt JA, Brett RR, Sebastião AM. **Regulation of hippocampal cannabinoid CB1 receptor actions by adenosine A1 receptors and chronic caffeine administration: implications for the effects of Δ9-tetrahydrocannabinol on spatial memory.** *Neuropsychopharmacology* 2011; 36(2):472-87. DOI:10.1038/npp.2010.179.
46. Alhaider IA, Aleisa AM, Tran TT, Alzoubi KH, Alkadhi KA. **Chronic caffeine treatment prevents sleep deprivation-induced impairment of cognitive function and synaptic plasticity.** *Sleep* 2010; 33(4):437-44.
47. Alzoubi KH, Abdul-Razzak KK, Khabour OF, Al-Tuweiq GM, Alzubi MA, Alkadhi KA. **Caffeine prevents cognitive impairment induced by chronic psychosocial stress and/or high fat-high carbohydrate diet.** *Behav Brain Res* 2013; 237:7-14. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.09.018.
48. da Costa Santos VB, Ruiz RJ, Vettorato ED, Nakamura FY, Juliani LC, Polito MD, et al. **Effects of chronic caffeine intake and low-intensity exercise on skeletal muscle of Wistar rats.** *Exp Physiol* 2011; 96(11):1228-38. DOI: 10.1113/expphysiol.2011.060483.
49. Franco FS, Costa NM, Ferreira SA, Carneiro-Junior MA, Natali AJ. **The effects of a high dosage of creatine and caffeine supplementation on the lean body mass composition of rats submitted to vertical jumping training.** *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2011; 8:3. DOI: 10.1186/1550-2783-8-3.
50. de Aguiar MJ1, de Aguiar CR, Guedes RC. **Caffeine/nutrition interaction in the rat brain: Influence on latent inhibition and cortical spreading depression.** *Eur J Pharmacol* 2011; 650(1):268-74. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.10.036.
51. Simpson J, Kelly JP. **The impact of environmental enrichment in laboratory rats--behavioural and neurochemical aspects.** *Behav Brain Res* 2011; 222(1):246-64. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.04.002.
52. Navarrete F, Pérez-Ortiz JM, Femenía T, García-Gutiérrez MS, García-Payá ME, Leiva-Santana C, et al. **Methods to evaluate cognitive disorders in animal models.** *Rev Neurol* 2008; 47(3):137-45.
53. Lubow RE, De la Casa LG. **There is a time and a place for everything: bidirectional modulations of latent inhibition by time-induced context differentiation.** *Psychon Bull Rev* 2005; 12(5):806-21.
54. Benice TS, Raber J. **Object recognition analysis in mice using nose-point digital video tracking.** *J Neurosci Methods* 2008; 168(2):422-30. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2007.11.002.
55. McDermott C, Kelly JP. **Comparison of the behavioural pharmacology of the Lister-Hooded with 2 commonly utilised albino rat strains.** *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32(8):1816-23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.08.004>.
56. Klein HJ, Mickelson B, Wineinger A. **Tarifa de Precios. Modelos de Investigación y Servicios.** Indianapolis. Harlan Laboratories Models, S.L. 2012.
57. Hughes RN. **Sex does matter: comments on the prevalence of male-only investigations of drug effects on rodent behaviour.** *Behav Pharmacol* 2007; 18(7):583-9. DOI: 10.1097/FBP.0b013e3282eff0e8.
58. Shukitt-Hale B, Miller MG, Chu YF, Lyle BJ, Joseph JA. **Coffee, but not caffeine, has positive effects on cognition and psychomotor behavior in aging.** *Age (Dordr)* 2013; 35(6):2183-92. DOI: 10.1007/s11357-012-9509-4.

59. Cechella JL, Leite MR, da Rocha JT, Dobrachinski F, Gai BM, Soares FA. et al. **Caffeine suppresses exercise-enhanced long-term and location memory in middle-aged rats: Involvement of hippocampal Akt and CREB signaling.** *Chem Biol Interact* 2014; 223:95-101. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.09.001.
60. Sandner G, Angst MJ, Guiberteau T, Guignard B, Nehlig A. **Effects of caffeine or RX821002 in rats with a neonatal ventral hippocampal lesion.** *Front Behav Neurosci* 2014; 8:15. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00015.
61. Frye CA, Duffy CK, Walf AA. **Estrogens and progestins enhance spatial learning of intact and ovariectomized rats in the object placement task.** *Neurobiol Learn Mem* 2007; 88(2):208-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.04.003>.
62. Fernandes C, González MI, Wilson CA, File SE. **Factor analysis shows that female rat behaviour is characterized primarily by activity, male rats are driven by sex and anxiety.** *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 64(4):731-8. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(99\)00139-2](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(99)00139-2).
63. Bracken MB, Triche E, Grosso L, Hellenbrand K, Belanger K, Leaderer BP. **Heterogeneity in assessing self-reports of caffeine exposure: implications for studies of health effects.** *Epidemiology* 2002; 13(2):165-71.
64. Heppner CC, Kemble ED, Cox WM. **Effects of food deprivation on caffeine consumption in male and female rats.** *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 24(6):1555-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90484-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90484-3).
65. Vitiello MV, Woods SC. **Evidence for withdrawal from caffeine by rats.** *Pharmacol Biochem Behav* 1977; 6(5):553-5. DOI: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(77\)90116-2](https://doi.org/10.1016/0091-3057(77)90116-2).
66. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Bielinski D, Martin A, McEwen JJ, Bickford PC. **Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation.** *J Neurosci* 1999; 19(18):8114-8121.
67. Shukitt-Hale B, Cheng V, Joseph JA. **Effects of blackberries on motor and cognitive function in aged rats.** *Nutr Neurosci* 2009; 12(3):135-140. DOI: 10.1179/147683009X423292.
68. Willis LM, Shukitt-Hale B, Cheng V, Joseph JA. **Dose dependent effects of walnuts on motor and cognitive function in aged rats.** *Br J Nutr* 2009; 101:1140-1144. DOI: 10.1017/S0007114508059369.
69. Cao C, Wang L, Lin X, Mamcarz M, Zhang C, Bai G, et al. **Caffeine synergizes with another coffee component to increase plasma GCSF: linkage to cognitive benefits in Alzheimer's mice.** *J Alzheimers Dis* 2011; 25(2):323-335. DOI: 10.3233/JAD-2011-110110.
70. Nehlig A. **Are we dependent upon coffee and caffeine? A review on human and animal data.** *Neurosci Biobehav Rev* 1999; 23(4):563-76. DOI: 10.1016/S0149-7634(98)00050.
71. Newland MC, Brown K. **Oral caffeine consumption by rats: the role of flavor history, concentration, concurrent food, and an adenosine agonist.** *Pharmacol Biochem Behav* 1992; 42:651-659.
72. Fredholm BB, Bättig K, Holmén J, Nehlig A, Zvartau EE. **Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use.** *Pharmacol Rev* 1999; 51(1):83-133.
73. Herz RS. **Caffeine effects on mood and memory.** *Behav Res Ther* 1999; 37: 869-879. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0005-7967\(98\)00190-9](https://doi.org/10.1016/S0005-7967(98)00190-9).
74. Klaassen EB, de Groot RH, Evers EA, Snel J, Veerman EC, Ligtenberg AJ, et al. **The effect of caffeine on working memory load-related brain activation in middle-aged males.** *Neuropharmacology* 2013; 64:160-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.06.026>.
75. Brunyé TT, Mahoney CR, Lieberman HR, Giles GE, Taylor HA. **Acute caffeine consumption enhances the executive control of visual attention in habitual consumers.** *Brain Cogn* 2010; 74(3):186-92. DOI: 10.1016/j.bandc.2010.07.006.
76. Foxe JJ, Morie KP, Laud PJ, Rowson MJ, de Bruin EA, Kelly SP. **Assessing the effects of caffeine and theanine on the maintenance of vigilance during a sustained attention task.** *Neuropharmacology* 2012; 62(7):2320-7 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.01.020>.
77. Osada JE, Rojas MO, Rosales CE, Vega J. **Consumo de cafeína en estudiantes de medicina y su coexistencia con sintomatología ansiosa y depresiva.** *Rev Med Hered* 2008; 19 (3):102-107. DOI: <https://doi.org/10.20453/rmh.v19i3.964>.
78. Giles GE, Mahoney CR, Brunyé TT, Gardony AL, Taylor HA, Kanarek RB. **Differential cognitive effects of energy drink ingredients: Caffeine, taurine, and glucose.** *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 102(4):569-77. DOI: 10.1016/j.pbb.2012.07.004.
79. Calev A. **Neuropsychology and ECT: past and future research trends.** *Psychopharmacol Bull* 1994; 30(3):461-9.
80. Mednick SC, Cai DJ, Kanady J, Drummond SP. **Comparing the benefits of Caffeine, Naps and Placebo on Verbal, Motor and Perceptual Memory.** *Behav Brain Res* 2008; 193(1):79-86. DOI: 10.1016/j.bbr.2008.04.028.
81. Mustard JA, Dews L, Brugato A, Dey K, Wright GA. **Consumption of an acute dose of caffeine reduces acquisition but not memory in the honey bee.** *Behav Brain Res* 2012; 232(1):217-24. DOI: 10.1016/j.bbr.2012.04.014.

82. Molinengo L, Orsetti M, Pastorello B, Scordo I, Ghi P. **Habituation of exploratory activity in rats: action of N6phenylisopropyladenosine, caffeine and their combination.** *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1995; 19(7):1189-200.
83. Cestari V, Castellano C. **Caffeine and cocaine interaction on memory consolidation in mice.** *A Arch Int Pharmacodyn Ther* 1996; 331(1):94-104.
84. Howell LL, Coffin VL, Spealman RD. **Behavioral and physiological effects of xanthines in non-human primates.** *Psychopharmacology (Berl)* 1997; 129(1):1-14. DOI: 10.1007/s002130050155.
85. Smith A, Maben A, Brockman P. **Effects of evening meals and caffeine on cognitive performance, mood and cardiovascular functioning.** *Appetite* 1994; 22(1):57-65. DOI: 10.1006/appe.1994.1005.
86. Green JM, Olenick A, Eastep C, Winchester L. **Caffeine influences cadence at lower but not higher intensity RPE-regulated cycling.** *Physiol Behav* 2017; 169:46-51. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.11.007.
87. Wilhelmus MM, Hay JL, Zuiker RG, Okkerse P, Perdrieu C, Sauser J, et al. **Effects of a single, oral 60 mg caffeine dose on attention in healthy adult subjects.** *J Psychopharmacol* 2017; 31(2):222-232. DOI: 10.1177/026988111666859.
88. Furusawa K. **Drug effects on cognitive function in mice determined by the non-matching to sample task using a 4-arm maze.** *Jpn J Pharmacol* 1991; 56(4): 483-93.
89. Han K, Jia N, Li J, Yang L, Min LQ. **Chronic caffeine treatment reverses memory impairment and the expression of brain BDNF and TrkB in the PS1/APP double transgenic mouse model of Alzheimer's disease.** *Mol Med Rep* 2013; 8(3):737-40. DOI: 10.3892/mmr.2013.1601.
90. Loke WH. **Effects of caffeine on mood and memory.** *Physiol Behav* 1988; 44(3):367-72. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(88\)90039-X](https://doi.org/10.1016/0031-9384(88)90039-X).
91. Silva CG, Métin C, Fazeli W, Machado NJ, Darmopil S, Launay PS, et al. **Adenosine receptor antagonists including caffeine alter fetal brain development in mice.** *Sci Transl Med* 2013; 5(197):197ra104. DOI: 10.1126/scitranslmed.3006258.
92. Cunha RA. **Cafeína, receptores de adenosina, memoria y enfermedad de Alzheimer.** *Med Clin (Barc)* 2008; 131(20):790-5. DOI: 10.1016/S0025-7753(08)75506-4.
93. Takahashi RN, Pamplona FA, Prediger RD. **Adenosine receptor antagonists for cognitive dysfunction: a review of animal studies.** *Front Biosci* 2008; 13:2614-32.
94. Higgins GA, Grzelak ME, Pond AJ, Cohen-Williams ME, Hodgson RA, Varty GB. **The effect of caffeine to increase reaction time in the rat during a test of attention is mediated through antagonism of adenosine A2A receptors.** *Behav Brain Res* 2007; 185(1):32-42. DOI: 10.1016/j.bbr.2007.07.013.
95. Swenson RR, Beckwith BE, Lamberty KJ, Krebs SJ, Tinius TP. **Prenatal exposure to AVP or caffeine but not oxytocin alters learning in female rats.** *Peptides* 1990; 11(5):927-32. DOI: [https://doi.org/10.1016/0196-9781\(90\)90011-S](https://doi.org/10.1016/0196-9781(90)90011-S).
96. Zimmerberg B, Carr KL, Scott A, Lee HH, Weider JM. **The effects of postnatal caffeine exposure on growth, activity and learning in rats.** *Pharmacol Biochem Behav* 1991; 39(4):883-8. DOI: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90048-7](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90048-7).
97. Marin MT, Zancheta R, Paro AH, Possi AP, Cruz FC, Planeta CS. **Comparison of caffeine-induced locomotor activity between adolescent and adult rats.** *Eur J Pharmacol* 2011; 660(2-3):363-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.03.052>.
98. Concannon JT, Braughler JM, Schechter MD. **Pre- and postnatal effects of caffeine on brain biogenic amines, cyclic nucleotides and behavior in developing rats.** *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 226(3):673-9.
99. Hughes RN, Beveridge IJ. **Behavioral effects of exposure to caffeine during gestation, lactation or both.** *Neurotoxicol Teratol* 1991; 13(6):641-7. DOI: [https://doi.org/10.1016/0892-0362\(91\)90048-2](https://doi.org/10.1016/0892-0362(91)90048-2).
100. Hughes RN, Beveridge IJ. **Sex-and age-dependent effects of prenatal exposure to caffeine on open-field behavior, emergence latency and adrenal weights in rats.** *Life Sci* 1990; 47(22):2075-88. DOI: 10.1016/0024-3205(90)90443-U.
101. Glavin GB, Krueger H. **Effects of prenatal caffeine administration on offspring mortality, open-field behavior and adult gastric ulcer susceptibility.** *Neurobehav Toxicol Teratol* 1985; 7(1):29-32.
102. Tchekalarova J, Kubova H, Mares P. **Postnatal caffeine exposure: effects on motor skills and locomotor activity during ontogenesis.** *Behav Brain Res* 2005; 160(1):99-106. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.11.018>.
103. Guillet R. **Neonatal caffeine exposure alters adenosine receptor control of locomotor activity in the developing rat.** *Dev Pharmacol Ther* 1990; 15(2):94-100. DOI: <https://doi.org/10.1159/000457627>.
104. Fisher S, Guillet R. **Neonatal caffeine alters passive avoidance retention in rats in an age- and gender-related manner.** *Brain Res Dev Brain Res* 1997; 98(1):145-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(96\)00158-7](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(96)00158-7).

