

Безалкогольные кофеинсодержащие тонизирующие напитки: экспериментальное исследование

ПРОСКУРЯКОВА Т.В. д.б.н., главный научный сотрудник лаборатории психофармакологии; e-mail: tproskuryakova48@yandex.ru
ШОХОНОВА В.А. к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории психофармакологии
АНОХИН П.К. младший научный сотрудник лаборатории психофармакологии
ШАМАКИНА И.Ю. к.б.н., руководитель лаборатории психофармакологии

ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П.Сербского» Минздрава России;
119991, Москва, Кропоткинский пер., 23

Исследовали влияние потребления безалкогольного кофеинсодержащего тонизирующего напитка крысами-самцами с 30-го по 60-й дни жизни на их поведение и предпочтение алкоголя во взрослом возрасте. Для этого была использована модель «свободный выбор», т.е. животные содержались в индивидуальных клетках в условиях свободного доступа к двум поилками — с напитком и водой, что позволило определять индивидуальные характеристики предпочтения напитка и поведения животных. Показано, что употребление крысами 30—60 г напитка в сутки не влияло на динамику роста массы тела и не приводило к повышению потребления алкоголя во взрослом возрасте по сравнению с контрольными животными. Среднесуточная двигательная активность животных, потребляющих напиток, была повышена по сравнению с контрольными животными и коррелировала с объемом потребляемого напитка, оставаясь при этом на постоянном уровне на всем протяжении эксперимента, что свидетельствует об отсутствии феномена сенситизации к стимулирующему действию напитка, характерному для психоактивных веществ, вызывающих зависимость. Тестирование в модели «темная/светлая камера» выявило снижение уровня тревоги и страха у животных, потреблявших напиток. При этом у животных, потреблявших напиток, сохранялся обычный для грызунов паттерн поведения, характерный для норных животных, и не нарушались циркадные ритмы «сон—бодрствование».

Ключевые слова: безалкогольный тонизирующий (энергетический) напиток, кофеин, таурин, подростковый период, поведение, циркадные ритмы, тревожность, алкоголь

Введение

Энергетические напитки впервые появились на европейском рынке в 60-е годы прошлого столетия, а к 2006 г. в мире было зарегистрировано около 500 наименований напитков [24, 44]. В ЕС и других странах «энергетическими» могут быть только безалкогольные напитки. Слабоалкогольные коктейли с кофеином, именуемые в России «слабоалкогольными энергетическими напитками», в ЕС именуются *alcopops* и являются разновидностью алкогольных напитков. Данная работа не рассматривает слабоалкогольные коктейли.

Согласно требованиям ГОСТа Р52844-2007, в состав безалкогольных тонизирующих напитков (БТН) входит кофеин (до 400 мг/л), а также такие компоненты как глюкоза, таурин, глюкуронолактон, инозитол, витамины. Различные напитки уникальны по своему составу, однако два компонента — кофеин и таурин, присутствуют практически во всех из них. При этом возможное взаимодействие кофеина и таурина до сих пор недостаточно исследовано и является предметом активных дискуссий [4, 45, 63].

Оценка безопасности БТН и входящих в их состав ингредиентов проводилась Европейским Управлением по безопасности пищевых продуктов EFSA [66]. На основании исследования были сделаны следующие выводы:

- регулярное употребление кофеина в количестве 400 мг в день из всех источников безопасно для здоровых взрослых людей, за исключением беременных и кормящих матерей;
- регулярное употребление кофеина в количестве 200 мг в день из всех источников безопасно для беременных женщин и плода;
- регулярное употребление кофеина 200 мг в день из всех источников безопасно для кормящих матерей и для младенца;
- дети (3—10 лет) и подростки (10—18 лет) могут регулярно употреблять кофеин безопасно в количестве 3 мг на кг веса в день.
- однократная доза кофеина 200 мг (соответствующая 3 мг на кг для 70 кг взрослого) безопасна для здоровых взрослых людей;
- нежелательные взаимодействия кофеина с компонентами БТН (таурин, глюкуронолактон и др.) отсутствуют.

Вместе с тем, в научной литературе практически отсутствуют экспериментальные исследования отставленных эффектов длительного потребления БТН. Важно подчеркнуть, что экспериментальные исследования физиологических и поведенческих эффектов отдельных компонентов БТН, прежде всего, кофеина, проводились, в основном, на взрослых животных [57], тогда как в человеческой популяции активными потребителями БТН являются подростки и люди молодого возраста [34, 47].

Период полового созревания, как известно, является переломным периодом адаптации подростка к «взрослой» жизни [53]. Для этого периода характерны активные перестройки гормональной системы, приводящие к изменениям функций мозга и, как следствие этого, поведения. Экспериментальные исследования показали, что в этот период наблюдаются изменения в развитии префронтальной коры и лимбических структур мозга, смещение баланса активности мезокортикальной и мезолимбической дофаминовых систем мозга, что, как полагают, лежит в основе поведения риска, поиска новизны («novelty seeking»), эмоциональной лабильности и др. [3]. Для этого периода характерна повышенная чувствительность в отношении одних эффектов психоактивных веществ (ПАВ) [51, 52, 59, 62] или/и сниженная в отношении других [17, 32, 54, 55]. Так, в подростковом периоде по сравнению со взрослым возрастом более выражен нейротоксический эффект таких ПАВ, как этанол [11] и никотин [51], что позволяет связывать наблюдаемые нарушения когнитивных функций (обучение, память и др.) с приёмом этих ПАВ [35].

Представляет интерес не достаточно изученная проблема отставленных эффектов потребления ПАВ в подростковом периоде на поведение и предрасположенность к формированию зависимости во взрослом возрасте.

Исследования на людях в этой области имеют целый ряд ограничений, связанных как с этическими проблемами, так и с длительностью наблюдений, невозможностью исключить или оценить влияние всех дополнительных факторов (генетических и средо-

вых, в том числе, социальных) на развитие, поведение, предрасположенность к потреблению ПАВ во взрослом возрасте. Экспериментальные исследования проводились на грызунах и были сфокусированы, главным образом, на эффектах опиатов [46, 62], алкоголя [49, 50] и никотина [51]. Что касается кофеина, употребляемого подростками в составе БТН, то его отставленные эффекты практически не изучены [8].

В связи с этим понятна озабоченность общественности разных стран по поводу растущего потребления подростками кофеина в составе, в том числе, кофеинсодержащих «энергетических» напитков [6, 7, 27, 42, 44, 47, 58].

Начиная с 90-х годов прошлого века и до настоящего времени в научной и медицинской литературе ведутся дискуссии о том, вызывает ли кофеин зависимость и, соответственно, синдром отмены [9, 20]. На сегодняшний день кофеин не включен в DSM-5 как психоактивное вещество, вызывающее зависимость [2]. Следует отметить, что исследования физиологического действия кофеина и кофеинсодержащих напитков в период полового созревания, их возможного негативного влияния на организм при длительном потреблении практически не проводились. Открытым остается и вопрос о возможных отдаленных эффектах на поведение и предрасположенность к формированию зависимости от ПАВ во взрослом возрасте.

В связи с этим представляется целесообразным проведение экспериментального исследования кофеинсодержащих напитков с привлечением взаимодополняющих моделей и методов, широко используемых в современной психофармакологии.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в соответствии с действующими методическими рекомендациями и указаниями [1].

Экспериментальные животные

Работа выполнялась на 60 крысах-самцах линии Wistar (питомник лабораторных животных «Столбо-

Таблица 1

Исследуемый напиток: безалкогольный, тонизирующий (энергетический) кофеинсодержащий (энергетическая ценность — 45 кКал)

Состав напитка в пересчёте на 100 г продукта			
Углеводы, г	11	Ниацин (В3), мг	8
Таурин-D, мг	400	Рибофлавин (В2), мг	0,64
Кофеин, мг	32	Сахароза, г	10
В12	0,002	Инозитол, мг	20
Пантотеновая кислота (В5), мг	2	Глюкуронолактон, мг	24
Пиридоксин (В6), мг	2	Лимонная кислота, мг	700

вая» ФГБУ «Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»). Перед проведением экспериментов животные помещались в недельный карантин: животные содержались в стандартных клетках (тип: Т/4В Код: 555/4), по 8 крыс в клетке, в условиях естественной освещенности, при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и свободном доступе к пище и воде. В качестве пищевого рациона на всех этапах работы использовался гранулированный корм, произведённый в соответствии с нормативными документами (ГОСТ Р 50258-92).

Возраст крыс в начале экспериментов составлял 30 дней, что является серединой пубертатного периода и, по различным оценкам, соответствует возрасту 12—14 лет у людей [48].

Контроль массы тела животных

Для контроля физического состояния животных и точного расчета объема потребления напитков и воды регистрировали массу животных. Взвешивание проводилось при поступлении животных из питомника, в конце периода карантина и ежедневно в процессе эксперимента.

Описание экспериментальных моделей

В возрасте 30 дней животные были помещены в индивидуальные клетки (460 x 300 x 160 мм) в условия «свободного выбора» между двумя поилками (рис. 1).

Все животные были случайным образом разделены на две группы. У опытной группы животных ($n = 40$) одна поилка содержала напиток, вторая — воду. У контрольной группы ($n = 20$) обе поилки содержали воду.

На фоне «свободного выбора» в течение 32 дней были проведены следующие виды исследований.



Рис. 1. Индивидуальная клетка для тестирования потребления напитка в условиях «свободного выбора».

1. Регистрация потребления напитка в условиях «свободного выбора»

Потребление напитка и воды измеряли ежедневно путем взвешивания поилок и расчета уровня потребления напитка (в граммах). Проведение тестирования в индивидуальных (домашних) клетках позволило выделить животных с различными объемами среднесуточного потребления напитка и, соответственно, с разным уровнем его предпочтения.

2. Исследование суточных ритмов двигательной активности

Для постоянной регистрации двигательной активности животных в их домашних клетках использовалась установка («Activiscop», New Behavior, Zurich, Switzerland). Клетка располагалась на стенде, оснащенном датчиками движения и освещенности. Регистрация суточных ритмов активности осуществлялась автоматически в течение всего периода исследований.

3. Оценка уровня тревожности: тест «приподнятый крестообразный лабиринт»

«Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) был использован для изучения поведения крыс в условиях стресса: оценки ориентировочно-исследовательской реакции и уровня тревожности. Лабиринт состоит из закрытых (темных) и открытых (светлых) рукавов. Крестообразная арена лабиринта приподнята на 55 см. Продолжительность тестирования составляла 3 минуты. Латентный период захода и длительность пребывания регистрировались для центрального сектора, открытого и закрытого рукавов по отдельности. Визуально фиксировали число стоек в открытых лучах, суммарное время гриминга, число дефекаций, число выглядываний из закрытых лучей в открытые, «свешиваний» на концах открытых рукавов. Основным показателем анксиолитического/анксиогенного эффекта в этом тесте считается изменение числа заходов в открытые (светлые) рукава и времени нахождения в них.

4. Оценка уровня тревожности: тест «темная/светлая камера»

Для оценки двигательной активности и уровня тревожности в новой обстановке в течение более длительного промежутка времени была использована камера, состоящая из стартового отсека, имеющего выходы в отсеки с разной освещенностью, т.е. в темный и светлый (TSE, Германия). В течение 30 мин эксперимента у животного автоматически регистрировалась двигательная активность. Уровень тревоги оценивался по времени нахождения животного в темном и светлом отсеках камеры, а также по показателям его двигательной активности в каждом отсеке.

5. *Выяснение возможного «подкрепляющего эффекта» напитка с использованием модели «предпочтение места»*

Этот метод основан на естественных формах врожденного поведения грызунов — ориентировочно-исследовательской активности и избегании ярко освещенного пространства [60].

В эксперименте были использованы животные с высоким уровнем потребления напитка ($n = 12$). За 3 дня до начала исследования животные опытной группы переводились на воду. Эксперименты проводились в автоматизированной камере, состоящей из центрального отсека размером 13 x 21 x 35 см, и соприкасающихся с ним двух отсеков размером 21 x 21 x 35 см (рис. 2). Отсеки различаются цветом стен и пола и освещенностью (светлый — темный), а также тактильно отличающимися материалами дна отсеков. Камера снабжена автоматической системой распознавания нахождения экспериментального животного в каждом из отсеков, что позволяет регистрировать время пребывания животного в темном и светлом отсеках экспериментальной камеры и общую двигательную активность.

Первый этап исследования заключается в предварительном тестировании крыс в экспериментальной камере. Животное помещали в центральный (стартовый) отсек камеры при открытых входах в светлый и темный отсеки. Время нахождения крыс в светлом и темном отсеках автоматически регистрировалось в течение 30 мин. Эту процедуру повторяли в течение трёх последующих дней. Цель этой фазы эксперимента — выявление предпочитаемого и отвергаемого отсека камеры для каждого животного.

Второй этап исследования (7 последовательных дней) направлен на выявление у подопытных животных возможного влечения к исследуемому напитку. Для этого животных опытных и контрольной групп помещали в не предпочитаемый отсек камеры (по данным предварительного тестирования), сочетая их пребывание в этом отсеке с запахом потребляемого ранее напитка. Животные находились в выбранном отсеке экспериментальной камеры 30 мин при закрытом выходе из отсека.

Третий этап, то есть собственно тестирование «предпочтения места» проводился на 11-й день эксперимента по схеме, используемой при предварительном тестировании. Животное помещали в центральный отсек камеры при открытых входах в светлый и темный отсеки. Затем в течение 30 мин регистрировали время нахождения крыс в светлом и темном отсеках. Увеличение времени нахождения в изначально не предпочитаемом отсеке камеры служит показателем развития влечения к исследуемому напитку.

6. *Изучение мотивации потребления алкоголя взрослыми животными, употреблявшими напиток в подростковом периоде*

Тестирование животных осуществлялось в течение 14 дней в условиях «свободного выбора» при одновременном предоставлении воды и 10% раствора этанола у животных с 63 по 77 дни жизни. Среднесуточное потребление алкоголя рассчитывали в граммах на 1 кг веса животного, а также как процентное отношение массы выпитого этанола к общей массе потреблённой жидкости.

Статистический анализ данных

Полученные результаты обрабатывали с помощью компьютерных программ «Statistica 6» и «Excel». При исследовании поведения для сравнения данных контрольной и опытной групп использовали параметрические и непараметрические критерии: тест Стьюдента, критерии Манна—Уитни, парный критерий χ^2 . Проверку экспериментальных данных на нормальность распределения проводили с помощью специализированных критерия Колмогорова—Смирнова, теста и метода графического анализа (Statistica). Соответствие распределения сравниваемых выборок нормальному распределению является условием применения t-критерия Стьюдента. Однако при анализе независимых выборок должно соблюдаться дополнительное условие — равенство дисперсий сравниваемых групп. При несоблюдении этого требования использовали непараметрические методы, в частности, критерий Манна—Уитни.

Результаты исследования

Изучение динамики массы тела животных при употреблении напитка в условиях «свободного выбора»

Для контроля физического состояния животных и точного расчета потребления напитка регистрировали массу животных. На рис. 3 показана динамика роста средней массы тела животных на протяжении всего

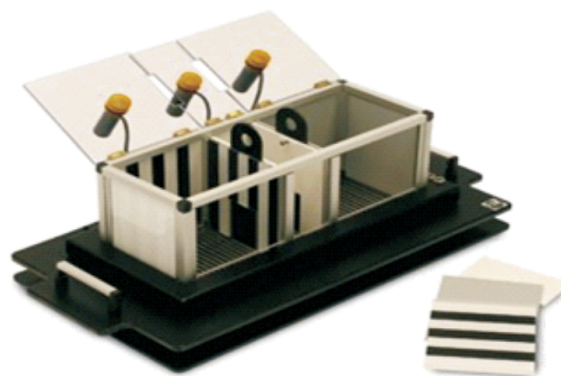


Рис. 2. Экспериментальная камера для изучения поведения животных в модели «предпочтение места» (TSE, Германия).

эксперимента в опытной ($n = 40$) и контрольной ($n = 20$) группах. Достоверных различий между группами по массе тела животных установлено не было. Как в группе животных, потреблявших напитков, так и в группе контрольных животных прирост массы тела за 30 дней эксперимента составил в среднем 180 г.

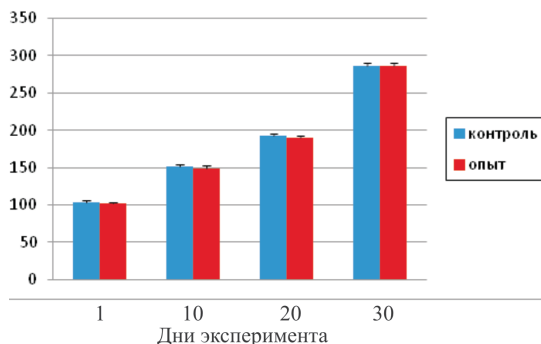


Рис. 3. Динамика массы тела животных в течение эксперимента. «Опыт» — группа животных, находившихся на питьевом рационе «напиток/вода» ($n = 40$), «контроль» — животные, потреблявшие только воду ($n = 20$). По оси ординат — средняя масса тела животных (в граммах) по группе на 1-й, 10-й, 20-й и 30-й дни эксперимента.

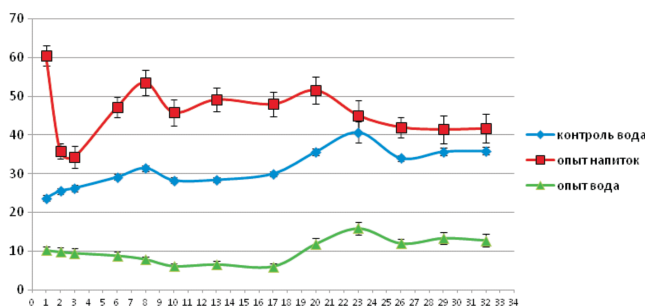


Рис. 4. Потребление напитка и воды (в граммах) в двух группах животных: опыт — животные, имевшие на протяжении всего эксперимента выбор между двумя поилками — с напитком и водой ($n = 40$); контроль — животные, потреблявшие только воду ($n = 20$). По оси ординат — масса потребляемой жидкости в граммах; по оси абсцисс — дни эксперимента.

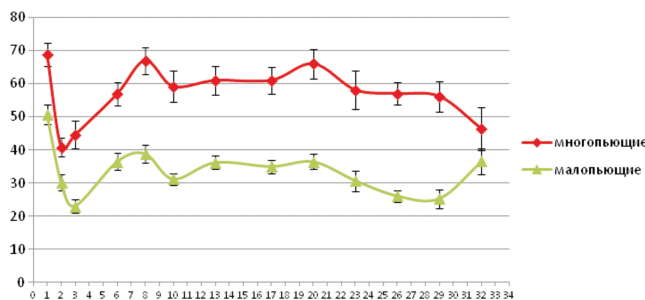


Рис. 5. Потребление напитка (в граммах) в двух группах животных: с высокими ($n = 21$, «многопьющие») и низкими ($n = 19$, «малопьющие») среднесуточными показателями потребления напитка. По оси ординат — масса потребляемого напитка в граммах, по оси абсцисс — дни эксперимента.

Изучение динамики потребления напитка в условиях «свободного выбора»

На рис. 4. представлена динамика потребления напитка и воды в группе опытных животных и воды в контрольной группе.

Можно видеть, что с 1-го и по 20-й день эксперимента потребление напитка в опытной группе значимо превышало потребление воды в этой группе ($p < 0,001$) и воды в контроле ($p < 0,005$). После 20-го дня и до конца эксперимента в опытной группе наблюдалось падение потребления напитка до уровня потребления воды в контроле. Падение потребления напитка в опытной группе сопровождалось повышением уровня потребления воды (рис. 4). Таким образом, изучая динамику потребления напитка, мы не обнаружили роста его потребления во времени в опытной группе, что косвенно свидетельствует об отсутствии формирования толерантности к исследуемому напитку и росту мотивации к его употреблению.

Выполненное тестирование позволило выделить группы животных с различными объемами среднесуточного потребления напитка и, соответственно, с разным уровнем его предпочтения. Для дальнейшего анализа поведения были выделены две группы животных — с высокими суточными показателями потребления напитка (в среднем $55,5 \pm 10,4$ г напитка в сутки) и низкими (в среднем $32,9 \pm 6,0$ г) (рис. 5).

Изучение влияния напитка на двигательную активность животных

На рис. 6. представлены результаты регистрации среднесуточной двигательной активности у крыс с высоким и низким уровнем предпочтения напитка по сравнению с контрольной группой.

Как видно на рис. 6, среднесуточная активность животных, потребляющих напитков, повышена по сравнению с контрольными животными. Наибольший уровень активности был у животных с высоким уровнем потребления напитка и, соответственно кофеина. В группе «многопьющих» животных количество кофеина составило в среднем $17,8 \pm 4,1$ мг/животное/сутки, а в группе «малопьющих» животных — $10,5 \pm 2,0$ мг/животное/сутки. При этом двигательная активность на всем протяжении эксперимента в этих группах оставалась на постоянном уровне, что может говорить об отсутствии феноменов сенситизации или толерантности к стимулирующему действию напитка. Известно, что для психоактивных стимуляторов (амфетамин, кокаин), вызывающих зависимость, одним из типичных эффектов является именно сенситизация, т.е. усиление активирующего действия препарата на двигательную активность при его хроническом применении [10, 19, 65].

Изучение влияния кофеинсодержащего напитка на циркадные ритмы («сон—бодрствование»)

Важным аспектом при изучении суточной двигательной активности животных является анализ циклической смены фаз — сон/бодрствование [5]. Особое значение имеет анализ циркадных ритмов «сон—бодрствование» при изучении эффектов психоактивных веществ, обладающих стимулирующей активностью, в том числе кофеина [41]. Показано, что высокие дозы кофеина изменяют продолжительность циклических фаз активности животных [39]. Анализ циркадных ритмов при изучении влияния кофеинсодержащего напитка, длительно потребляемого в режиме «свободного выбора», ранее не проводился.

На рис. 7 и 8 представлена запись двигательной активности в начале (сутки 1—2) и конце (сутки 30—32) эксперимента у животных, потреблявших напиток в условиях «свободного выбора» ($n = 40$), и контрольных животных.

Компьютерная обработка и анализ полученных данных не выявил нарушений циркадных ритмов у животных, потреблявших напиток, по сравнению с контрольными животными. При более высокой общей двигательной активности в фазу «бодрствования», соответствующую ночным часам, ритмическая смена фаз у опытных животных не была нарушена или смещена по отношению к показателям контрольной группы.

Изучение влияния напитка на эмоциональное состояние животных: тесты на «тревожность»

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Как отмечалось в «Материалах и методах исследования», основным показателем, характеризующим уровень тревоги, в этом тесте является время, проведенное крысами на светлых рукавах лабиринта. Результаты эксперимента представлены на рис. 9 и 10. Можно видеть, что у животных опытной группы, употреблявших исследуемый напиток в режиме «свободного выбора», при сравнении с контрольными животными не наблюдалось достоверных изменений времени пребывания на светлых рукавах лабиринта (рис. 9), числа переходов из темного в светлый рукав, выглядываний из темных отсеков и свешиваний в открытых рукавах (рис. 10).

Таким образом, полученные данные позволяют судить о том, что длительное потребление напитка в режиме «свободного выбора» не влияет на показатели тревожности животных. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» наблюдение ведется в течение короткого промежутка времени (3 мин), и полученные результаты отражают особенности раннего реагирования животного на новую среду.

Для оценки уровня тревоги в работе также использовался другой тест — «темная/светлая камера» с автоматической регистрацией двигательной активности животного в течение 30 мин эксперимента. Этот тест дает исчерпывающую информацию о поведении животного в новой для него среде, отражает его общую локомоторную активность, уровень тревоги, скорость привыкания (адаптации) к новой среде,

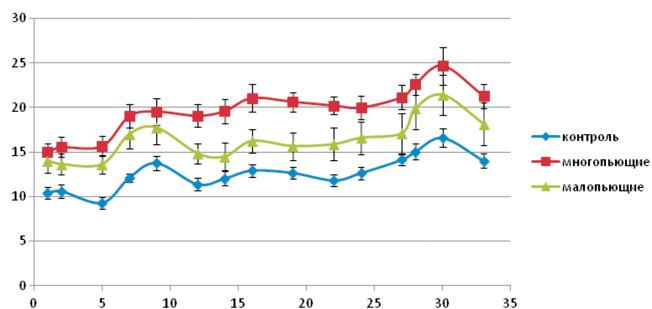


Рис. 6. Динамика среднесуточной двигательной активности у крыс с высоким ($n = 21$, «многопьющие») и низким ($n = 19$, «малопьющие») уровнем потребления напитка и контрольных животных ($n = 20$). По оси ординат — среднесуточная двигательная активность (в условных единицах), по оси абсцисс — дни эксперимента.

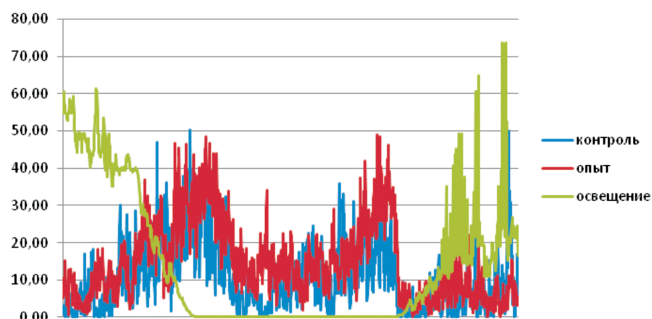


Рис. 7. Запись двигательной активности (Activiscop) в начале (1—2 сутки) эксперимента у животных, потреблявших напиток в условиях «свободного выбора» (опытная группа, $n = 40$) и контрольных животных ($n = 20$). По оси ординат — двигательная активность (в условных единицах). Зеленым обозначена естественная смена освещенности, где нулевые значения соответствуют ночному времени суток.

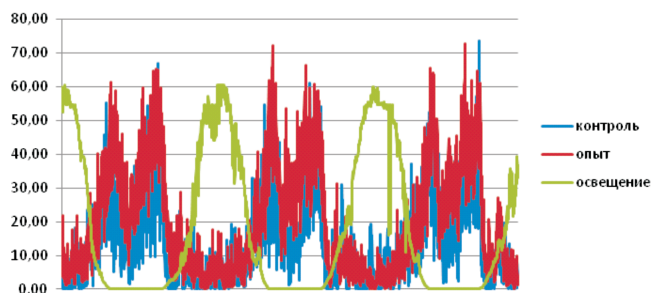


Рис. 8. Запись двигательной активности в конце (30—32-е сутки) эксперимента у животных, потреблявших напиток в условиях «свободного выбора» (опытная группа, $n = 40$) и контрольных животных ($n = 20$). Обозначения как на рис. 7.

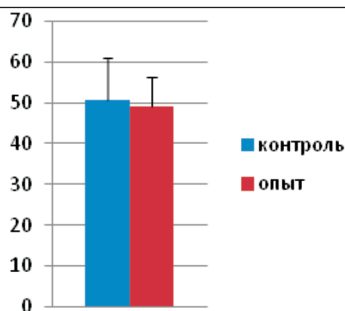


Рис. 9. Время (с), проведенное животными опытной (n = 40) и контрольной (n = 10) групп на светлых рукавах в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». По оси ординат — время (с).

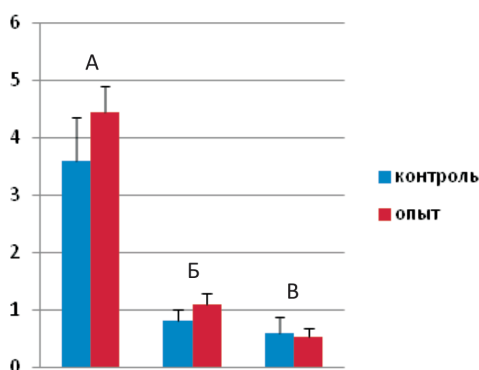


Рис. 10. Количество выглядываний из тёмных рукавов (А), свешиваний на светлых рукавах (Б) и переходов между темными и светлыми рукавами (В) в опытной (n = 40) и контрольной (n = 10) группах в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

стрессоустойчивость. В этой модели тестировались три группы животных: с высоким уровнем потребления напитка в условиях «свободного выбора», с низким уровнем потребления напитка и контрольная группа (табл. 2—5).

Результаты, представленные в табл. 2—5, наглядно свидетельствуют о снижении уровня тревоги и страха у животных, потреблявших напиток:

1) животные опытных групп чаще заходят и проводят больше времени в светлом отсеке камеры, чем контрольные животные.

2) двигательная активность животных опытных групп достоверно выше в светлом отсеке камеры по сравнению с контрольными животными.

При этом у крыс, потреблявших напиток, сохранялся обычный для грызунов паттерн поведения, характерный для норных животных, т.е. предпочтение темного отсека камеры. В данном случае достоверных различий между группами с высоким и низким потреблением напитка ни по одному из показателей выявлено не было.

Изучение возможного «подкрепляющего» эффекта напитка в тесте «предпочтение места»

По результатам предварительного тестирования поведения животных в экспериментальной камере (см. «Материалы и методы исследования») для каждого животного был выявлен не предпочитае-

Таблица 2

Показатели поведения в тесте «темная/светлая камера»: число заходов в темный, светлый и центральный (стартовый) отсеки камеры

Группы животных	Показатели			
	Заходы в темный отсек	Заходы в стартовый отсек	Заходы в светлый отсек	Суммарный показатель
Контроль (n = 20)	51,0 ± 12,4	76,4 ± 16,0	25,40 ± 4,36	152,85 ± 32,11
Высокий уровень потребления напитка (n = 21)	49,4 ± 5,06	87,8 ± 11,6	38,28 ± 6,88*	175,56 ± 23,24
Низкий уровень потребления напитка (n = 19)	49,3 ± 7,66	87,6 ± 16,4	38,16 ± 9,31*	175,11 ± 32,88

Примечание. Время тестирования — 30 мин. Данные представлены как среднее по группе с учетом ошибки среднего. * — p<0,05 по отношению к контрольной группе

Таблица 3

Показатели поведения в тесте «темная/светлая камера»: двигательная активность в темном, светлом и центральном (стартовом) отсеках камеры

Группы животных	Показатели			
	Пробег в темном отсеке (у.е.)	Пробег в стартовом отсеке (у.е.)	Пробег в светлом отсеке (у.е.)	Суммарный показатель (у.е.)
Контроль (n = 20)	4022,4 ± 205	1075,5 ± 201,9	1172,6 ± 215,1	6270,6 ± 504,0
Высокий уровень потребления напитка (n = 21)	4022,4 ± 258	1229,6 ± 190,0	1962,9 ± 373,3*	7215,0 ± 605,8*
Низкий уровень потребления напитка (n = 19)	3808,5 ± 232,3	1204,5 ± 223,7	1915,05 ± 311,5*	6928,1 ± 635,1

Примечание. * — p<0,05 по отношению к контрольной группе; * — p<0,05 по отношению к контрольной группе

мый отсек и определено относительное время пребывания в этом отсеке.

Данные предварительного тестирования не выявили достоверных различий между группами по относительному времени пребывания в не предпочитаемом (избегаемом) отсеке до обусловливания. Для всех животных избегаемым был светлый отсек камеры.

Для проверки возможности формирования влечения к напитку в течение следующих 7 дней животных опытных (с высоким и низким уровнем потребления напитка) и контрольной групп помещали на 30 мин в не предпочитаемый отсек камеры, которым по данным предварительного тестирования для всех животных оказался светлый отсек камеры, сочетая их пребывание в этом отсеке с запахом потребляемого ранее напитка. Заключительное тестирование (после обусловливания) «предпочтения места» проводилось на 11-й день эксперимента и, как можно видеть на рис. 11, не выявило увеличения относительного времени пребывания в ранее не предпочитаемом отсеке как у животных с высокими показателями потребления напитка ($17,63 \pm 4,6\%$), так и в группе с низким потреблением напитка ($18,47 \pm 5,2\%$). В контроле показатели предпочтения также оставались на том же уровне, что и до обусловливания ($14,33 \pm 5,4\%$). Относительное время пребывания (k_i) в не предпочитаемом отсеке рассчитывалось по формуле (%):

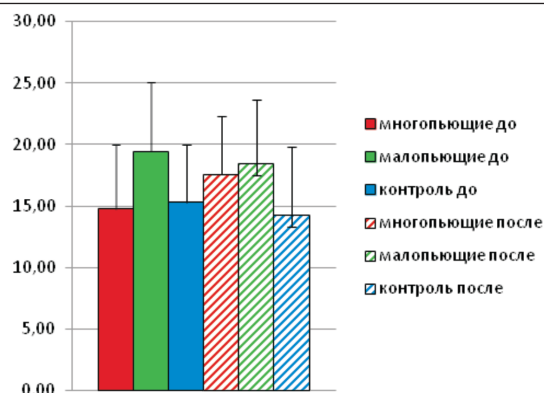


Рис. 11. Изменение относительного времени пребывания животных в не предпочитаемом отсеке камеры до и после обусловливания. Время тестирования — 30 мин. Данные представлены как среднее по группе с учетом ошибки среднего. По оси ординат — относительное время пребывания (k_i) в не предпочитаемом отсеке (%).

$$k_i = \frac{T_i^1}{T_i^1 + T_i^2},$$

где:

i — номер животного;

T_i^1 — время, проведенное им в не предпочитаемом отсеке;

T_i^2 — время, проведенное в предпочитаемом отсеке.

Для более детального анализа результатов эксперимента была проведена дополнительная статисти-

Таблица 4

Показатели поведения в тесте «темная/светлая камера»: время, проведенное в темном, светлом и центральном (стартовом) отсеках камеры

Группы животных	Показатели			
	Время в темном отсеке (с)	Время в стартовом отсеке (с)	Время в светлом отсеке (с)	Суммарный показатель (с)
Контроль (n = 20)	1326,9 ± 85,0	280,4 ± 31,93	186,10 ± 31,93	1793,45 ± 1,6
Высокий уровень потребления напитка (n = 21)	1150,6 ± 108,1*	287,2 ± 75,51	355,96 ± 75,51*	1793,84 ± 1,2
Низкий уровень потребления напитка (n = 19)	1134,6 ± 114,2*	270,0 ± 87,62	390,32 ± 87,62*	1794,95 ± 1,39

Примечание. * — $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе; * — $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе

Таблица 5

Поведение в тесте «темная/светлая камера»: соотношение показателей поведения в темном и светлом отсеках камеры (%)

Группы животных	Показатели (%)					
	Входы		Пробег		Время	
	Темный	Светлый	Темный	Светлый	Темный	Светлый
Контроль (n = 20)	33,7 ± 1,4	16,2 ± 1,4	68,4 ± 3,8	16,3 ± 2,1	73,9 ± 4,7	10,4 ± 1,7
Высокий уровень потребления напитка (n = 21)	31,5 ± 1,9	18,4 ± 1,9*	61,4 ± 4,8*	23,1 ± 3,4*	64,1 ± 6,0*	19,9 ± 4,2*
Низкий уровень потребления напитка (n = 19)	31,9 ± 1,9	18,1 ± 1,9*	60,8 ± 5,2*	23,3 ± 3,8*	63,2 ± 6,3*	21,8 ± 4,8*

Примечание. * — $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе

ческая обработка данных. Важным показателем при оценке «подкрепляющего» эффекта фармакологических препаратов является количество животных в группе с так называемой «инверсией» предпочтения, т.е. тех животных, для которых ранее «избегаемый» отсек камеры после обусловливания стал «предпочитаемым». Однако, в данном эксперименте ни у одного из животных как в опытных, так и в контрольной группе инверсии предпочтения выявлено не было.

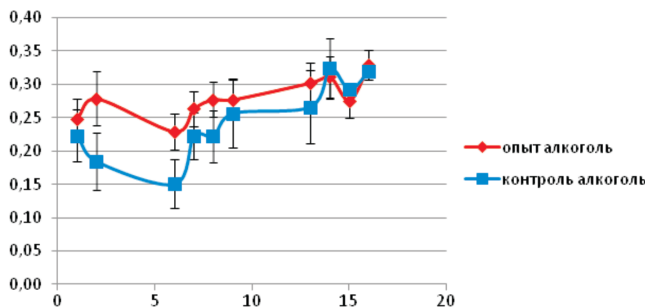


Рис. 12. Динамика предпочтения этанола в тесте «свободный выбор» животными опытной и контрольной групп. По оси ординат — среднесуточное потребление алкоголя (10%) по отношению к общему объему потребляемой жидкости. По оси абсцисс — дни проведения эксперимента. Число животных: 10 — в контрольной группе; 28 — в опытной.

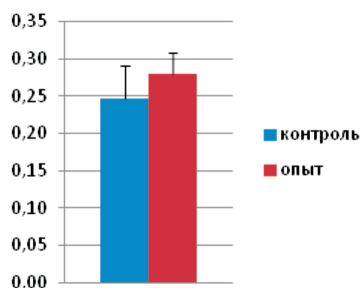


Рис. 13. Потребление 10%-ного этанола по отношению к общему потреблению жидкости животными опытной и контрольной групп — усредненное значение за весь период тестирования. Число животных: в контрольной группе — 10; в опытной — 28.

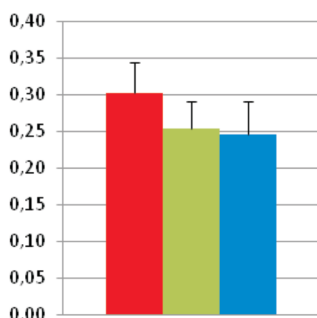


Рис. 14. Потребление 10%-ного этанола по отношению к общему потреблению жидкости животными с высоким (красный, $n = 15$, «многопьющие»), низким ($n = 13$, зеленый, «малопьющие») уровнем потребления напитка и контрольной группы (синий, $n = 10$) — усредненное значение за весь период тестирования.

Изучение возможного влияния напитка на уровень предпочтения алкоголя

Для тестирования животных на предпочтение алкоголя был использован уже описанный тест «свободный выбор» при одновременном предоставлении воды и 10% раствора этанола. Полученные результаты представлены на рис. 12.

Незначительные различия в предпочтении алкоголя между опытной и контрольной группами были обнаружены в начале тестирования (2—6 дни), однако они не достигали уровня достоверности.

На рис. 13. представлены усредненные по всем дням тестирования данные предпочтения этанола у животных опытной и контрольной групп.

При выделении внутри опытной группы животных с высоким и низким уровнем потребления напитка нам также не удалось получить достоверных различий в средних значениях предпочтения этанола (рис. 14).

Таким образом, хроническое потребление напитка крысами, начиная с 30-го дня жизни и до наступления половой зрелости (62-й день жизни) не приводило к повышению такого показателя, как предпочтение алкоголя у этих животных во взрослом возрасте. Это даёт основание предполагать, что длительное употребление исследуемого напитка не способствует формированию алкогольной мотивации.

Обсуждение результатов исследования

Одним из компонентов БТН, как уже говорилось, является кофеин — одно из самых распространенных и широко употребляемых психоактивных веществ [7, 27]. Несмотря на многочисленные исследования и клинические наблюдения, ученые и врачи до сих пор не пришли к полному согласию о включении кофеина в список наркотических препаратов, вызывающих зависимость. Вместе с тем, в DSM-5, вышедшем в 2013 г., был включен диагноз «синдром отмены кофеина» [2], что вызвало множество возражений и критических публикаций в литературе [8].

Эффекты кофеина и механизмы его действия подробно исследовались в экспериментальных моделях на грызунах и приматах [12, 15, 28]. У человека хорошо изучена фармакокинетика кофеина. Он быстро всасывается в желудочнокишечном тракте с периодом полувыведения от 2,5 до 10 часов [15, 33]. В микросомальной фракции печени кофеин метаболизируется, образуя более 25 производных и только около 5% кофеина экскретируется с мочой в неизменном виде. Метаболизм кофеина, прежде всего, определяется генетическими факторами, хотя существенное значение в этом процессе отводится и средовым факторам. Было показано, что кофеин вызывает освобождение

ионов Ca^{2+} из саркоплазматической сети в мышечной ткани, снижает активность фосфодиэстеразы и накопление цАМФ, подавляет фосфорилирование ферментов обмена гликогена в печени и мышцах и др. [13]. Свое психостимулирующее свойство кофеин проявляет за счет блокады аденозиновых рецепторов. В 2001 г. были клонированы и охарактеризованы фармакологически 4 подтипа аденозиновых рецепторов (A_1 , A_{2A} , A_{2B} , A_3) [16]. Открытие A_{2A} подтипа высокоаффинных рецепторов, локализованных преимущественно в стриатуме мозга, и ряд поведенческих экспериментов с использованием селективных агонистов и антагонистов A_{2A} , показали, что взаимодействие кофеина именно с этим подтипом аденозиновых рецепторов лежит в основе его стимулирующего эффекта на двигательную активность [14]. Эта гипотеза была впоследствии подтверждена в экспериментах, показавших способность селективных антагонистов A_{2A} , но не A_1 , воспроизводить биохимические и поведенческие эффекты кофеина [31, 36, 56]. Кроме того, оказалось, что кофеин не обладает эффектом стимуляции двигательной активности у мышей с нокаутированным геном A_{2A} -рецептора [29, 64]. В настоящее время наиболее вероятным представляется механизм стимуляторного действия кофеина, основанный на его синергизме в отношении двух подтипов аденозиновых рецепторов — A_1 и A_{2A} [22, 36, 38]. Предполагают, что в основе толерантности к двигательному стимулирующему эффекту кофеина лежат процессы, инициируемые его взаимодействием с A_1 -рецепторами, в то время как остаточный эффект стимуляции у толерантных животных может быть связан с блокадой кофеином A_{2A} [25]. Действительно, биохимические эксперименты показали, что хроническое введение кофеина приводит к увеличению плотности A_1 , но не A_{2A} рецепторов в стриатуме [23, 25]. Многие авторы рассматривают роль активации дофаминовых рецепторов в опосредовании стимуляторного эффекта кофеина [43]. Было показано снижение мест связывания с лигандом D1 дофаминовых рецепторов в прилежащем ядре и дорзальном стриатуме и повышение в префронтальной коре крыс, хронически потреблявших кофеин крыс [43], что, возможно, также вносит свой вклад в формирование феномена поведенческой толерантности.

В наших экспериментах было показано, что животные, получающие напиток, активнее в ночные часы, причем показатели активности коррелировали с количеством потребляемого напитка и, соответственно, дозой содержащегося в напитке кофеина. В группе «многопьющих» животных количество кофеина составило в среднем $17,8 \pm 4,1$ мг/животное/сутки ($72,0 \pm 16,1$ мг/кг), а в группе «малопьющих» животных — $10,5 \pm 2,0$ мг/животное/сутки

($42,0 \pm 8,0$ мг/кг). Так как метаболизм кофеина различается у человека и грызунов [15], то по самым приблизительным расчетам эти показатели соответствуют потреблению 15–25 мг/кг кофеина у человека. Согласно результатам исследований Olini с соавт., потребление $16,0 \pm 1,4$ мг/кг кофеина в сутки крысами в возрасте 30–34 дней приводило к обратимым изменениям медленно-волновой активности на ЭЭГ и угнетению ориентировочно-исследовательского поведения [40].

Можно предполагать, что отсутствие анксиогенного эффекта, а также влияния на циркадные ритмы при употреблении кофеинсодержащего напитка может быть связано с «нейтрализацией» эффектов кофеина благодаря входящим в его состав компонентам, прежде всего таурину. Таурин — сульфокислота, образующаяся в организме из аминокислоты цистеина. В экспериментальных моделях убедительно показано, что таурин обладает анксиолитическим эффектом [21, 26]. Кроме того, установлен нейропротекторный эффект таурина [18]. В настоящее время крайне мало исследований сочетанного влияния кофеина и таурина на физиологические функции и поведение. Показано, что таурин предотвращает негативное действие кофеина на сердечно-сосудистую систему [45]. Сочетанный эффект кофеина и таурина на циркадный ритм «сон-бодрствование» изучался американскими учеными в элегантных модельных экспериментах на *Drosophila melanogaster* [30], показавшими, что таурин в высоких концентрациях обладает противоположным кофеину эффектом на сон, т.е. способствует засыпанию, нейтрализуя таким образом стимуляторное действие кофеина. Авторы предполагают, что этот эффект таурина связан с его фармакологическими свойствами агониста тормозных ГАМК-рецепторов в центральной нервной системе. Очевидно, что механизмы сочетанного действия кофеина и таурина нуждаются в дальнейшем исследовании.

Заключение

Исследование физиологического действия длительного потребления безалкогольных тонизирующих (энергетических) напитков на поведение животных, возможного негативного влияния на организм, особенно в период полового созревания, а также отдаленные эффекты на предрасположенность к формированию алкогольной зависимости во взрослом возрасте ранее не проводилось. В связи с этим представлялось целесообразным экспериментальное исследование с привлечением взаимодополняющих моделей и методов, широко используемых в современной психофармакологии.

В результате выполненного исследования было показано:

1. Длительное употребление напитка не влияло на динамику роста массы тела животных.

2. Среднесуточная двигательная активность животных, потребляющих напиток, была повышена по сравнению с контрольными животными и коррелировала с уровнем потребления напитка. При этом двигательная активность на всем протяжении эксперимента у животных опытной группы оставалась на постоянном уровне, что свидетельствует об отсутствии феномена сенситизации к стимулирующему действию напитка, характерному для психоактивных веществ, вызывающих зависимость.

3. Анализ циркадных ритмов «сон-бодрствование» не выявил нарушений у животных, потреблявших напиток, по сравнению с контрольными животными. При более высокой общей двигательной активности в фазе «бодрствования», соответствующей ночным часам, ритмическая смена фаз у опытных животных не была нарушена или смещена по отношению к показателям контрольной группы.

4. Тестирование в экспериментальных моделях тревоги выявило снижение уровня тревоги и страха у животных, потреблявших напиток, что позволяет говорить о наличии у напитка анксиолитического эффекта. При этом у животных, потреблявших напиток, сохранялся обычный для грызунов паттерн поведения, характерный для норных животных.

5. У животных не наблюдалось роста потребления напитка во времени, что может свидетельствовать об отсутствии развития толерантности к напитку и, как следствие этого, мотивации к увеличению его употребления.

6. Употребление напитка животными, начиная с 30 дня жизни и до наступления половой зрелости (62-й день жизни) не приводило к повышению потребления алкоголя этими животными во взрослом возрасте. Эти данные позволяют говорить, что употребление напитка не способствует формированию алкогольной мотивации.

Таким образом, длительное (в течение 1-го месяца) употребление безалкогольного тонизирующего (энергетического) напитка в режиме «свободного выбора» между напитком и водой не приводит к формированию влечения к напитку, а также не способствует формированию алкогольной мотивации. При этом употребление безалкогольного тонизирующего (энергетического) напитка в данном режиме сопровождается повышением двигательной активности без нарушения циркадных ритмов, снижением уровня тревоги и страха, что позволяет говорить о наличии у напитка анксиолитического эффекта.

Список литературы

1. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ МЗ РФ. — М., 2005.
2. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edn. — Arlington VA: American Psychiatric Association, 2013.
3. Adriani W., Chiarotti F., Laviola G. Elevated novelty seeking and peculiar d-amphetamine sensitization in periadolescent mice compared with adult mice // *Behav. Neurosci.* — 1998. — Vol. 112. — P. 1152—1166.
4. Ali F., Rehman H., Babayan Z., Stapleton D., Joshi D.D. Energy drinks and their adverse health effects: A systematic review of the current evidence // *Postgrad. Med.* — 2015. — Vol. 127(3). — P. 308—22.
5. Benstaali C., Mailloux A., Bogdan A., Auzéby A., Touitou Y. Circadian rhythms of body temperature and motor activity in rodents their relationships with the light-dark cycle // *Life Sci.* — 2001. — Vol. 68. — P. 2645—256.
6. Blankson K.L., Thompson A.M., Ahrendt D.M., Patrick V. Energy drinks: what teenagers (and their doctors) should know // *Pediatr. Rev.* — 2013. — Vol. 34. — P. 55—62.
7. Branum A.M., Rossen L.M., Schoendorf K.C. Trends in caffeine intake among US children and adolescents // *Pediatrics.* — 2014. — Vol. 133. — P. 386—393.
8. Budney A.J., Emond J.A. Caffeine addiction? Caffeine for youth? Time to act! // *Addiction.* — 2014. — Vol. 109. — №11. — P. 1771—1772.
9. Budney A.J., Brown P.C., Griffiths R. R., Hughes J.R., Juliano L.M. Caffeine withdrawal and dependence: a convenience survey among addiction professionals // *J. Caffeine Res.* — 2013. — Vol. 3. — P. 67—71.
10. Cauli O., Pinna A., Valentini V., Morelli M. Subchronic caffeine exposure induces sensitization to caffeine and cross-sensitization to amphetamine ipsilateral turning behavior independent from dopamine release // *Neuropsychopharmacology.* — 2003. — Vol. 28(10). — P. 1752—1759.
11. Crews F.T., Braun, C.J., Hoplight B. et al. Binge ethanol consumption causes differential brain damage in young adolescent rats compared with adult rats // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* — 2000. — Vol. 2. — P. 1712—1723.
12. Dally J.W. Pharmacology of caffeine. *Handbook of Substance Abuse: Neurobehavioral Pharmacology* / Ed. R.Tarter, R. Ammerman, P. Ott. — Springer, 1998. — P. 53—68.
13. Echeverri D., Montes F.R., Cabrera M., Galan A., Prieto A. Caffeine's Vascular Mechanisms of Action // *Int. J. Vasc. Med.* — 2010. — Published on line 2010 Aug. 25.
14. Ferre S., Fuxe K., von Euler G., Johansson B., Fredholm B.B. Adenosine-dopamine interactions in the brain // *Neuroscience.* — 1992. — Vol. 51. — P. 501—512.
15. Fredholm B.B., Battig K., Holmen J., Nehlig A., and Zvartau E.E. Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use // *Pharmacological Reviews.* — 1999. — Vol. 51. — P. 83—133.
16. Fredholm B.B., IJzerman A.P., Jacobson K.A., Klotz K.N., Linden J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors // *Pharmacol. Rev.* — 2001. — Vol. 53. — P. 527—552.
17. Gargna-Burgos D., Gonzalez F., Manrique T., Gallo M. Patterns of ethanol intake in preadolescent, adolescent, and adult Wistar rats under acquisition, maintenance, and relapse-like conditions // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 2009. — Vol. 33(4). — P. 722—728.
18. Gu Y., Zhao Y., Qian K., Sun M. Taurine attenuates hippocampal and corpus callosum damage, and enhances neurological recovery after closed head injury in rats // *Neuroscience.* — 2015. — Vol. 291. — P. 331—340.
19. Hsu C.W., Wang C.S., Chiu T.H. Caffeine and a selective adenosine A2A receptor antagonist induce sensitization and

- cross-sensitization behavior associated with increased striatal dopamine in mice // *J. Biomed. Sci.* — 2010. — Vol. 15. — P. 17.
20. Hughes J.R., Oliveto A.H., Helzer J.E., Higgins S.T., Bickel W.K. Should caffeine abuse, dependence, or withdrawal be added to DSM-IV and ICD-10? // *Am. J. Psychiatry.* — 1992. — Vol. 149(1). — P. 33–40.
21. Idrissi E.A., Boukarrou L., Heany W., Malliaros G., Sangdee C., Neuwirth L. Effects of taurine on anxiety-like and locomotor behavior of mice // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2009. — Vol. 643. — P. 207–215.
22. Jacobson K.A., Nikodijevic O., Padgett W.L., Gallo-Rodriguez C., Maillard M., Daly J.W. 8-(3-Chlorostyryl) caffeine (CSC) is a selective A2-adenosine antagonist in vitro and in vivo // *FEBS Lett.* — 1993. — Vol. 323. — P. 141–144.
23. Jacobson K.A., von Lubitz D.K., Daly J.W., Fredholm B.B. Adenosine receptor ligands: differences with acute versus chronic treatment // *Trends Pharmacol. Sci.* — 1996. — Vol. 17. — P. 108–113.
24. Johnson C.K. Caffeine-Stoked energy drinks worry docs // *The Washington Post.* — 2006. — Oct 29, <http://www.washingtonpost.com/wpdyn/content/article/2006/10/29/>
25. Karcz-Kubicha M., Antoniou K., Terasmaa A., Quarta D., Solinas M., Justinova Z., Pezzola A., Reggio R., Muller C.E., Fuxe K., Goldberg S.R., Popoliand P., Ferre S. Involvement of Adenosine A1 and A2A Receptors in the Motor Effects of Caffeine after its Acute and Chronic Administration // *Neuropsychopharmacology.* — 2003. — Vol. 28. — P. 1281–1291.
26. Kong W.X., Chen S.W., Li Y.L., Zhang Y.J., Wang R., Min L., Mi X. Effects of taurine on rat behaviors in three anxiety models // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 2006. — Vol. 83(2). — P. 271–276.
27. Lachenmeier D.W., Wegert W., Kuballa T., Schneider R., Ruge W., Reush H. et al. Caffeine intake from beverages in German children, adolescents, and adults // *J. Caffeine Res.* — 2013. — Vol. 3. — P. 47–55.
28. Lazenka M.F., Gerard M.F., Negus S. Stevens. Effects of caffeine and its metabolite paraxanthine on intracranial self-stimulation in male rats // *Experimental and Clinical Psychopharmacology.* — 2015. — Vol. 23(2). — P. 71–80.
29. Ledent C., Vaugeois J.M., Schiffmann S.N., Pedrazzini T., Yacoubi M., Vanderhaeghen J.J. et al. Aggressiveness, hypoalgesia and high blood pressure in mice lacking the adenosine A2a receptor // *Nature.* — 1997. — Vol. 388. — P. 674–678.
30. Lin F.J., Pierce M.M., Sehgal A., Wu T., Skipper D.C., Chabba R. Effect of taurine and caffeine on sleep-wake activity in *Drosophila melanogaster* // *Nat. Sci. Sleep.* — 2010. — 2. — P. 221–231.
31. Linskog M., Svenningsson P., Pozzi L., Kim Y., Fienberg A.A., Bibb J.A. et al. Involvement of DARPP-32 phosphorylation in the stimulant action of caffeine // *Nature.* — 2002. — Vol. 418. — P. 774–778.
32. Little P.J., Kuhn C.M., Wilson W.A., Swartzwelder H.S. Differential effects of ethanol in adolescent and adult rats // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* — 1996. — 20. — P. 1346–1351.
33. Malinauskas B.M., Aeby V.G., Overton R.F., Carpenter-Aeby T., Barber-Heidal K. A survey of energy drink consumption patterns among college students // *Nutrition journal.* — 2007. — Vol. 6. — P. 35.
34. Magkos F., Kavouras S.A. Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* — 2005. — Vol. 45(7–8). — P. 535–562.
35. Markwiese B.J., Acheson S.K., Levin E.D. et al. Differential effects of ethanol on memory in adolescent and adult rats. // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* — 1998. — Vol. 22. — P. 416–421.
36. Marston H.M., Finlayson K., Maemoto T., Olverman H.J., Akahane A., Sharkey J. et al. Pharmacological characterization of a simple behavioral response mediated selectively by central adenosine A1 receptors, using in vivo and in vitro techniques // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1998. — Vol. 285. — P. 1023–1030.
37. Meredith S.E., Juliano L.M., Hughes J.R., Griffiths R.R. Caffeine use disorder: a comprehensive review and research agenda // *J. Caffeine Res.* — 2013. — Vol. 3. — P. 114–130.
38. Nikodijevic O., Sarges R., Daly J.W., Jacobson K.A. Behavioral effects of A1- and A2-selective adenosine agonists and antagonists: evidence for synergism and antagonism // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1991. — Vol. 259. — P. 286–294.
39. Oike H., Kobori M., Suzuki T., Ishida N. Caffeine lengthens circadian rhythms in mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2011. — Vol. 410(3). — P. 654–658.
40. Olini N., Kurth S., Huber R. The Effects of Caffeine on Sleep and Maturation Markers in the Rat // *PLOS.* — 2013.
41. Pelissier A.L., Gantenbein M., Bruguierolle B. Caffeine-induced modifications of heart rate, temperature, and motor activity circadian rhythms in rats // *Physiol. Behav.* — 1999. — Vol. 67(1). — P. 81–88.
42. Pomeranz J.L., Munsell C.R., Harris J.L. Energy drinks: an emerging public health hazard for youth // *J. Public Health Policy.* — 2013. — Vol. 34. — P. 254–271.
43. Powell K.R., Iuvone P.M., Holtzman S.G. The role of dopamine in the locomotor stimulant effects and tolerance to these effects of caffeine // *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* — 2001. — Vol. 69. — P. 59–70.
44. Reissig C.J., Strain E.C., Griffiths R.R. Caffeinated energy drinks — a growing problem // *Drug Alcohol Depend.* — 2009. — 99. — P. 1–10.
45. Schaffer S.W., Shimada K., Jong C.J., Ito T., Azuma J., Takahashi K. Effect of taurine and potential interactions with caffeine on cardiovascular function // *Amino Acids.* — 2014. — 46(5). — P. 1147–1157.
46. Schwarz J.M., Bilbo S.D. Adolescent morphine exposure affects long-term microglial function and later-life relapse liability in models of addiction // *J. Neurosci.* — 2013. — Vol. 16. — P. 961–971.
47. Seifert S.M., Schaechter J.L., Hershorin E.R., Lipshultz S.E. Health effects of energy drinks on children, adolescents, and young adults // *Pediatrics.* — 2011. — P. 127(3). — P. 511–528.
48. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's // *Int. J. Prev. Med.* — 2013. — Vol. 4(6). — P. 624–630.
49. Siegmund S., Vengeliene V., Singer M.V., Spanagel R. Influence of age at drinking onset on long-term ethanol self-administration with deprivation and stress phases // *Clin. Exp. Res.* — 2005. — 29(7). — P. 1139–1145.
50. Slawewski, C.J., Betancourt, M., Cole M., Ehlers C.L. Periadolescent alcohol exposure has lasting effects on adult neurophysiological function in rats // *Developmental Brain Research.* — 2001. — Vol. 128. — P. 63–72.
51. Slotkin T.A. Nicotine and the adolescent brain: insights from an animal model // *Neurotoxicol. Teratol.* — 2002. — Vol. 24(3). — P. 369–384.
52. Spear L.P., Brake S.C. Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats // *Dev. Psychobiol.* — 1983. — Vol. 16(2). — P. 83–109.
53. Spear L.P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* — 2000. — Vol. 24. — P. 417–463.
54. Spear L.P., Varlinskaya E.I. Adolescence. Alcohol sensitivity, tolerance, and intake // *Recent Dev. Alcohol.* — 2005. — Vol. 17. — P. 143–159.
55. Spear L.P. Adolescence and the trajectory of alcohol use: introduction to part VI // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2004. — Vol. 1021. — P. 202–205.
56. Svenningsson P., Nomikos G.G., Fredholm B.B. The Stimulatory Action and the Development of Tolerance to Caffeine Is

- Associated with Alterations in Gene Expression in Specific Brain Regions // *The Journal of Neuroscience*. — 1999. — Vol. 19(10). — P. 4011—4022.
57. Temple J.L. Caffeine use in children: What we know, what we have left to learn, and why we should worry // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. — 2009. — Vol. 33. — P. 793—806.
58. Terry-McElrath Y. M., O'Malley P. M., Johnston L. D. Energy drinks, soft drinks, and substance use among United States secondary school students // *J. Addict. Med.* — 2014. — Vol. 8. — P. 6—13.
59. Tirelli E., Laviola G., Adriani W. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents // *Neurosci. Biobehav. Rev.* — 2003. — Vol. 27(1—2). — P. 163—178.
60. Tzschentke T.M. Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade // *Addict. Biol.* — 2007. — Vol. 12(3—4). — P. 227—462.
61. White A.M., Truesdale M.C., Bae J.G. et al. Differential effects of ethanol on motor coordination in adolescent and adult rats // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. — 2002. — Vol. 73. — P. 673—677.
62. White D.A., Holtzman S.G. Periadolescent morphine exposure alters subsequent behavioral sensitivity to morphine in adult rats // *European Journal of Pharmacology*. — 2005. — Vol. 528. — P. 119—123.
63. Wolk B.J., Ganetsky M., Babu K.M. Toxicity of energy drinks // *Curr. Opin. Pediatr.* — 2012. — Vol. 24(2). — P. 243—251.
64. Yacoubi M., Ledent C., Menard J.F., Parmentier M., Costentin J., Vaugeois J.M. The stimulant effects of caffeine on locomotor behaviour in mice are mediated through its blockade of adenosine A(2A) receptors // *Br. J. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 129(7). — P. 1465—1473.
65. Zancheta R., Possi A.P., Planeta C.S., Marin M.T. Repeated administration of caffeine induces either sensitization or tolerance of locomotor stimulation depending on the environmental context // *Pharmacol. Rep.* — 2012. — Vol. 64(1). — P. 70—7.
66. The use of taurine and D-glucurono-gamma-lactone as constituents of the so-called «energy» drinks». Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. Question No EFSA-Q-2007-113. January 15, 2009. The EFSA Journal (2009) 935. — P. 1—31.
67. Scientific Opinion on the safety of caffeine; EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); European Food Safety Authority (EFSA) // *EFSA Journal*. — 2015. — Vol. 13(5). — P. 4102.

ALCOHOL-FREE CAFFEINATED ENERGY DRINKS: EXPERIMENTAL RESEARCH

PROSKURYAKOVA T.V., SHOKHOVA V.A., ANOKHIN P.K., SHAMAKINA I.YU.

Federal State Budgetary Institution «V.P. Serbsky Federal Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology», Moscow

The term «energy drinks» refers to beverages that contain caffeine in combination with other ingredients: vitamins B, taurine, sugar derivatives (glucuronalactone, ribose) and others. Although energy drinks are popular among young consumers, there has been little research regarding delayed effects of energy drink consumption during adolescence on the behavior as well as alcohol preference as adults. Therefore, current investigation was aimed to evaluate the effects of energy drink consumption during adolescence in Wistar male rats. This study was carried out using a total number of 60 male Wistar rats aged 30 days at the start of the experiment. Rats were randomly divided into two groups, housed individually with free choice entrance to the drink or water in «two-bottle» model (n = 40) or water as control (n = 20). Spontaneous locomotor activity was continuously monitored over the whole period of the experiment. Exposure to the drink (30—60 g/rat/day) for 30 consecutive days didn't cause any changes in the body weight compare to control rats. Spontaneous locomotor activity was significantly increased during the night (the rat active phase) without changes in circadian locomotor activity rhythm. The light/dark test, commonly used in rodent to investigate unconditioned anxiety-like behavior, showed that time in the light compartment and percent distance in the light were higher in the experimental group compare to control rats suggesting the anxiolytic efficacy of the drink. Finally alcohol intake, evaluated in «two-bottle free choice» paradigm (10% ethanol/water) was not changed significantly in the adult rats, consumed a drink during adolescence. These data are discussed with reference to the potential combined caffeine-aurine effects to reduce possible negative consequences of caffeine use. However these interactions remain to be further examined in humans and experimental models.

Key words: alcohol-free energy drink, caffeine, taurine, adolescence, behavior, circadian rhythms, anxiety, alcohol