



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
*CAMPUS* MINISTRO REIS VELLOSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

IRIS JORDÂNIA LUZ MOURA

**BROMAZEPAM DIMINUI A POTÊNCIA ABSOLUTA DA BANDA ALFA E  
PREJUDICA A HABILIDADE NO TIRO**

PARNAÍBA - PI

2018

IRIS JORDÂNIA LUZ MOURA

**BROMAZEPAM DIMINUI A POTÊNCIA ABSOLUTA DA BANDA ALFA E  
PREJUDICA A HABILIDADE NO TIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), *Campus* Ministro Reis Velloso, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, sob orientação do Prof. Dr. Silmar Silva Teixeira.

PARNAÍBA - PI

2018

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – *Campus* Parnaíba  
Serviço de Processamento Técnico

M929b      Moura, Iris Jordânia Luz.  
                 Bromazepam diminui a potência absoluta da banda alfa e prejudica a habilidade no tiro [manuscrito] / Iris Jordânia Luz Moura. – 2018.  
                 90 f.: il.

                 Impresso por computador (printout).  
                 Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, 2018.  
                 Orientação: Prof. Dr. Silmar Silva Teixeira.

                 1. Bromazepam. 2. Eletroencefalografia. 3. Ritmo Alfa. 4. Tiro ao Alvo. 5. Cortéx Cerebral. I. Título.

CDD: 615.1

IRIS JORDÂNIA LUZ MOURA

**BROMAZEPAM DIMINUI A POTÊNCIA ABSOLUTA DA BANDA ALFA E  
PREJUDICA A HABILIDADE NO TIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

APROVADA EM 26 / 04 / 2018

BANCA EXAMINADORA



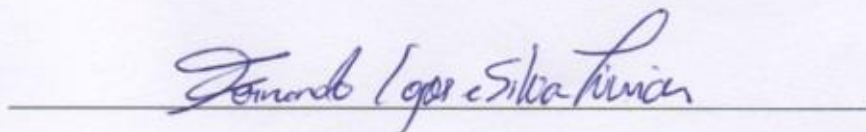
Prof. Dr. Silmar Silva Teixeira

Universidade Federal do Piauí – *Campus* Ministro Reis Velloso (Presidente)



Prof. Dr. Victor Hugo do Vale Bastos

Universidade Federal do Piauí – *Campus* Ministro Reis Velloso (Membro)



Prof. Dr. Fernando Lopes e Silva Júnior

Universidade Federal do Piauí – *Campus* Ministro Reis Velloso (Membro)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho à Deus e à minha família pelo amor, apoio e confiança imensurável.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, antes de tudo, à Deus por me conceder saúde, força, determinação e perseverança.

À minha família, meu alicerce. Aos meus pais, Irma Nunes e Edvar Rodrigues, que com sua simplicidade me ensinaram valores tão essenciais, sempre apoiando minhas escolhas e aplaudindo todas as conquistas. Ao meu irmão Yuri José, obrigada pelo apoio.

Ao meu esposo, Tercyo Norberto. Obrigada por nossa filha Isis, pelo amor, apoio, compreensão, pelas palavras de força durante este percurso e por nunca me ter deixado desistir. Meus sinceros agradecimentos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Silmar Silva Teixeira pela oportunidade da realização deste trabalho, pela orientação, ensinamentos, amizade, inspiração e muita paciência. Muito obrigada!!!

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Neuro-Inovação Tecnológica (NITLAB) e Laboratório de Mapeamento Cerebral e Funcionalidade (LAMCEF) pelo ótimo acolhimento, ajuda, amizade e constante presença.

A todos os meus amigos conquistados em Parnaíba pelo companheirismo e amizade. E aos amigos de toda a vida, que mesmo à distância se fizeram presente, me motivando a buscar meus sonhos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa e pelo suporte técnico através do Portal Periódicos.

À Universidade Federal do Piauí, pelo subsídio à realização deste trabalho, aliado ao seu potencial científico e tecnológico.

Por fim, agradeço a todos que estiveram presente no decorrer dessa jornada. **MUITO OBRIGADA.**

## RESUMO

O bromazepam, fármaco pertencente à classe dos benzodiazepínicos (BDZs), facilita e potencializa o efeito inibitório do ácido gama-aminobutírico ao se fixar em sítios específicos com afinidade estreitamente relacionada à potência neurodepressora. Os estudos mostram que o bromazepam causa prejuízos no desempenho visuomotor, no entanto, os efeitos deste fármaco em tarefas com precisão de mira ainda são desconhecidos. O objetivo do estudo foi investigar os efeitos do bromazepam no desempenho da tarefa de tiro e nas oscilações da potência absoluta da banda alfa no córtex cerebral em quatro diferentes intervalos de tempo de preparação para o tiro. Um estudo *crossover* e duplo cego formado por 30 sujeitos em duas condições: bromazepam (6mg) e placebo, com análise eletroencefalográfica da potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal, parietal, motor e temporal simultaneamente com execução da tarefa de tiro ao alvo. Os sujeitos da condição bromazepam tiveram menor número de acertos no alvo, com uso do fármaco exercendo efeito médio no desempenho da tarefa ( $p < 0.001$ ), ademais, potência absoluta da banda alfa diminuída no córtex pré-frontal, córtex motor, córtex temporal e córtex parietal em todos os períodos preparatórios do tiro ( $p < 0.001$ ). O bromazepam diminuiu a atenção por prejudicar a transmissão e integração de diversas modalidades sensoriais, além de influenciar no desenvolvimento de estratégias durante a preparação do tiro ao alvo.

**Palavras-chave:** Bromazepam, Eletroencefalografia, Ritmo alfa, Tiro ao Alvo, Córtex Cerebral.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Desempenho dos sujeitos na tarefa de tiro ao alvo. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelo asterisco (\*). ..... 34
- Figura 2.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo (A), córtex pré-frontal medial (B), córtex parietal posterior esquerdo (C) e córtex parietal medial (D), mostrando as interações entre os períodos preparatórios para o tiro nas condições repouso, placebo e bromazepam. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelos símbolos. .... 36
- Figura 3.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa no córtex frontal medial (A), córtex temporal posterior esquerdo (B) e direito (C), mostrando as interações entre os períodos preparatórios para o tiro nas condições repouso, placebo e bromazepam. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelos símbolos. .... 36
- Figura 4.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa no  $t_1$  (A),  $t_2$  (B),  $t_3$  (C) e  $t_4$  (D), mostrando as interações entre as áreas corticais nas condições repouso, placebo e bromazepam. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelos símbolos. .... 37
- Figura 5.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa nas condições placebo (A) e bromazepam (B), mostrando as interações entre os períodos preparatórios nas áreas corticais. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os períodos preparatórios são representadas pelos símbolos. .... 37



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Análise da interação dos fatores condição, áreas e períodos preparatórios do tiro... .....	35
<b>Tabela 2.</b> Associação entre o uso do bromazepam e as variáveis neurofisiológicas para cada período preparatório para o tiro. ....	38

## LISTA DE SIGLAS

BDZ	Benzodiazepínico
CFM	Córtex Frontal Medial
CPFDLe	Córtex Pré-frontal Dorsolateral esquerdo
CPFM	Córtex Pré-frontal Medial
CPM	Córtex Parietal Medial
CPPe	Córtex Parietal Posterior esquerdo
CTPe	Córtex Temporal Posterior esquerdo
CTPd	Córtex Temporal Posterior direito
EEG	Eletroencefalografia
EEGq	Eletroencefalografia quantitativa
GABA	Ácido gama-aminobutírico
SNC	Sistema Nervoso Central

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>11</b>
1.1 Justificativa.....	12
1.2 Objetivos.....	13
1.2.1 Geral .....	13
1.2.2 Específicos.....	13
1.3 Hipóteses.....	13
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>14</b>
<b>2. Referencial Teórico.....</b>	<b>14</b>
2.1 Farmacologia do bromazepam.....	14
2.2 Mecanismos de ação corticais do bromazepam.....	17
2.3 Modificações nos processos cognitivos e motores decorrentes do uso do bromazepam .....	20
2.4 Banda alfa .....	23
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>27</b>
<b>3. Produção Científica .....</b>	<b>27</b>
3.1 Artigo em Português.....	27
3.2 Artigo em Inglês .....	50
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>83</b>
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	84
Parecer do Comitê de Ética .....	87

## 1. Introdução

A investigação da atividade cortical é essencial para o entendimento dos mecanismos neurais relacionados às substâncias psicoativas. Nesse contexto, a eletroencefalografia quantitativa (EEGq) vem sendo utilizada para explorar e compreender os efeitos de medicamentos que possuem a capacidade de deprimir o Sistema Nervoso Central (SNC), como os benzodiazepínicos (BDZs) (Cunha et al., 2002; Sampaio *et al.*, 2008). A ação dos BDZs ocorre devido à interação com receptores ácido gama-aminobutírico (GABA) do subtipo GABA<sub>A</sub>, provocando maior frequência de abertura dos canais de cloretos responsáveis pela propagação de estímulos dos neurônios pós-sinápticos. O resultado é a potencialização do efeito neuroinibidor do GABA, provocando deficiências no desempenho visuoespacial (Leslie *et al.*, 2003; Stewart, 2005; Silva *et al.*, 2011).

O bromazepam, fármaco pertencente à classe dos BDZs, tem sido utilizado para compreensão do funcionamento do córtex cerebral durante tarefas que envolvem habilidades cognitivas e motoras (Montenegro *et al.*, 2005; Fortunato *et al.*, 2014). Em geral, é associado a prejuízos nos estágios iniciais de integração sensório-motora (Bourin *et al.*, 1989; Leeuwen *et al.*, 1991; Cunha *et al.*, 2008; Fridman *et al.*, 2009) e na conexão e integração de diferentes informações sensoriais multimodais, retardando assim, os mecanismos para execução da tarefa (Araújo *et al.*, 2011). Gongora *et al.* (2014) observaram que o bromazepam aumentou o engajamento cognitivo para compensar as possíveis deficiências nas funções executivas envolvidas na tarefa visuomotora. Golombok *et al.* (1988) e Stewart (2005) sustentam que os BDZs causam falta de coordenação motora e mudanças em vários domínios cognitivos, como visuoespacial, atenção e velocidade de processamento. Além disso, bromazepam prejudicou o desempenho na tarefa de vigilância visual contribuindo para latências de resposta mais curtas, devido estratégia de processamento superficial e velocidade de precisão alterada (Leeuwen *et al.*, 1991). Em contrapartida, o aumento de atenção, redução na carga de informações sensoriais e aprimoramento do aprendizado motor foram associados com o efeito benéfico do fármaco (Bastos *et al.*, 2005; Portella *et al.*, 2006; Salles *et al.*, 2006).

Diante disso, há uma lacuna na literatura que precisa ser preenchida a respeito do efeito do bromazepam em tarefas com precisão de mira, como o tiro ao alvo, que exige

coordenação visuomotora, atenção e controle motor fino (Hatfield *et al.*, 2004; Del Percio *et al.*, 2009; Deeny *et al.*, 2009). Neste caso, os efeitos do fármaco poderiam interferir no período que precede o *trigger* no gatilho da arma, caracterizado por processamento visuoespacial, planejamento motor e controle preciso dos movimentos (Hatfield *et al.*, 1984; Kerick *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2011), o qual tem sido analisado em diferentes janelas temporais do EEG. Por exemplo, o desempenho bem-sucedido foi observado no intervalo de oito a seis segundos anteriores ao *trigger* no gatilho, com aumento de potência alfa sobre regiões temporais e occipitais (Hatfield *et al.*, 1984; Kerick *et al.*, 2001; Loze *et al.*, 2001), ao passo que em intervalo de tempo menor de dois segundos houve diminuição de potência nas regiões centrais (Di Russo *et al.*, 2005; Wolf *et al.*, 2014). Os resultados indicam que as análises no EEG devem ser realizadas em janelas de tempo maiores, para que os eventos da atividade de cada área cortical sejam adequadamente interpretados.

Perante o exposto, este estudo teve como objetivo investigar as alterações ocasionadas pelo bromazepam no desempenho da tarefa de tiro ao alvo e na atividade da potência absoluta da banda alfa no córtex cerebral em quatro diferentes intervalos de tempo de preparação para o tiro. Esperamos prejuízos no desempenho da tarefa com o uso agudo do BDZ e menor potência absoluta de alfa nas áreas corticais estudadas. Além da hipótese de uma maior janela temporal na análise dos intervalos de tempo do encefalograma que precedem a tarefa.

### *1.1 Justificativa*

Com aumento da prescrição de benzodiazepínicos, diversos estudos têm utilizado o bromazepam em tarefas motoras, a fim de investigar possíveis alterações no córtex cerebral e no desempenho. No entanto, há contradições dos efeitos ocasionados por este fármaco, além da falta de esclarecimentos com relação a sua influência em tarefas com precisão de mira. Dessa forma, o presente estudo poderá contribuir para o entendimento das modificações em processos cognitivos e motores decorrentes da utilização do bromazepam na tarefa visuomotora de tiro ao alvo. Outrossim, elucidar o provável risco da utilização de benzodiazepínicos, principalmente por profissionais que manuseiam arma de fogo.

## *1.2 Objetivos*

### *1.2.1 Geral*

Investigar os efeitos do bromazepam no desempenho da tarefa de tiro ao alvo e na atividade da potência absoluta da banda alfa no córtex cerebral nos diferentes intervalos de tempo de preparação para o tiro em sujeitos saudáveis sem habilidade de tiro.

### *1.2.2 Específicos*

- ✓ Verificar o desempenho dos sujeitos que fizeram uso do bromazepam na tarefa de tiro ao alvo;
- ✓ Correlacionar o desempenho no tiro com parâmetros eletrofisiológicos diante do uso do bromazepam;
- ✓ Comparar as modificações na potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal, córtex motor, córtex temporal e córtex parietal nos quatro intervalos de tempo de preparação para o tiro;
- ✓ Distinguir a janela de tempo adequada na extração das épocas do encefalograma para representatividade da atividade cortical.

## *1.3 Hipóteses*

H0: O uso do bromazepam diminui o número de acertos na tarefa de tiro ao alvo, além de diminuir a potência absoluta na banda alfa no córtex cerebral em todos os intervalos de tempo de preparação para o tiro.

H1: O uso do bromazepam aumenta o número de acertos na tarefa de tiro ao alvo, além de aumentar a potência absoluta na banda alfa no córtex cerebral em todos os intervalos de tempo de preparação para o tiro.

## 2. Referencial Teórico

### 2.1 Farmacologia do bromazepam

O bromazepam, quimicamente designado como 7-bromo-1,3-dihidro-5-(2-piridil)-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona, apresenta-se como pó cristalino, branco ou levemente amarelado, com ligeira solubilidade em etanol e cloreto de metileno e insolubilidade em água (Barter e Cormak, 1996; Vikander *et al.*, 2010). Possui derivação de 1,4-benzodiazepina com grupo piridil na posição cinco em substituição ao grupo fenil, e um átomo de bromo substituindo cloro na posição sete do anel benzeno (Raaflaub e Speiser-Courvoisier, 1974). Pertencente à classe dos BDZs, é utilizado em espasmos gastro-intestinais e enurese, em associação com agentes antimuscarínicos (Yajima *et al.*, 1984), no tratamento a curto prazo de condições de insônia, tensão e outras queixas somáticas ou psicológicas relacionadas à ansiedade (Howard *et al.*, 2014).

A administração oral consiste em 1,5 até 18 mg por dia, com doses médias de 1,5 a 3 mg até 3 vezes ao dia (Nordon e Hubner, 2009). Classificado no grupo dos BDZs de longa ação, o bromazepam possui rápida absorção, com alcance de pico plasmático dentro de duas horas após a ingestão e podendo manter-se por até 12 horas. Seus efeitos, entretanto, começam a ser percebidos em cerca de 20 minutos (Howard *et al.*, 2014). A absorção pode ser influenciada por alimentos, terapia associada e fármacos que alteram o pH gástrico (Donoghue e Lader, 2010). É largamente distribuído pelo organismo, sendo um dos mais lipofílicos do seu grupo farmacológico, com volume de distribuição aumentado nos sujeitos do sexo feminino e com mais de 70 anos de idade (Urso *et al.*, 2002). A formulação de liberação lenta do bromazepam apresenta bioequivalência em relação à convencional, diferindo apenas na estabilidade dos níveis séricos. Na formulação de liberação controlada, a concentração sérica do fármaco mantém-se elevada durante 24 horas, enquanto a imediata apresenta queda dos níveis séricos após 10 horas da ingestão (Mugunthan *et al.*, 2011). Possui biodisponibilidade de 84%, com meia-vida de eliminação entre 15 a 20 horas, podendo ser maior nos idosos (Vicens *et al.*, 2006).

O metabolismo envolve o citocromo P450, uma vez que é inibido por fluvoxamina, porém o subtipo específico não tem sido claramente identificado (Van Harten *et al.*, 1999). O fármaco apresenta teor médio de 70% de ligação às proteínas plasmáticas e valores de pKa 11 e coeficiente de partição (log P) 2,54 (Marcolin *et al.*, 2004), com concentrações no cérebro, fígado e baço ultrapassando a quantidade não ligada no plasma (Sellers, 1978). O bromazepam é submetido à biotransformação hepática por meio de metabolismo oxidativo mediado pelas isoenzimas CYP3A4 e CYP2C19, pertencentes ao sistema do citocromo P450. Essas isoenzimas também estão envolvidas no metabolismo de muitos antidepressivos, e o uso concomitante pode levar a uma diminuição da taxa de metabolização, aumentando assim, o risco de acidentes (Brett e Murnion, 2015). Dentre os metabólitos originados com atividade farmacológica estão o 3-hidroxi-bromazepam e 2-amino-3-hidroxi-5-bromobenzoilpiridina (Andresen *et al.*, 2013). De acordo com a biotransformação, está incluso no grupo dos compostos pró-nordiazepam, formados por N-dealquilação e metabolizados por hidroxilação, assim como o diazepam (Donoghue e Lader, 2010). Os metabólitos do bromazepam são excretados pela urina, com recuperação urinária cerca de 3% como fármaco inalterado, e, aproximadamente, 40% na forma conjugada (Salem *et al.*, 2004). A eliminação também pode ocorrer por suor, saliva e leite materno, por isso não é recomendado para mulheres em período de amamentação (Dybwad *et al.*, 1996).

Em decorrência do perfil farmacocinético e farmacodinâmico, os BDZs possuem a propriedade de interagir farmacologicamente com diferentes grupos, tais como, antidepressivos, antiinflamatórios, anticoagulantes orais e antiulcerogênicos (Santos *et al.*, 2009). Quando usados isoladamente, apresentam riscos extremamente baixos de ocasionar toxicidade aguda, no entanto, podem estar associados com fármacos que potencializam seus efeitos tóxicos (Longo e Johnson, 2000; Zint *et al.*, 2010). A cimetidina, inibidores da bomba de prótons, dissulfiram, isoniazida, estrógenos e anticoncepcionais orais provocam aumento das concentrações plasmáticas dos BDZs devido inibição do metabolismo hepático (Howard *et al.*, 2014). O efeito do bromazepam, por sua vez, pode ser intensificado com álcool, ou fármacos de ação central, como antidepressivos, hipnóticos, analgésicos narcóticos, antipsicóticos, ansiolíticos/sedativos, anticonvulsivantes, anti-histamínicos sedativos e anestésicos (Stewart, 2005). No caso de analgésicos narcóticos, pode ocorrer aumento do efeito euforizante, levando ao aumento da dependência psicológica (Zint *et al.*, 2010). A administração concomitante de cimetidina, fluvoxamina ou propranolol pode prolongar a meia vida de eliminação do bromazepam (Marcolin *et al.*, 2004).



Segundo Bateson (2002), a dependência aos BDZs acontece por exposição prolongada, quando o fármaco não produz os mesmos efeitos farmacológicos observados no início do tratamento. O término da ingestão gera síndrome de abstinência e a readministração reverte o quadro, podendo ser ocasionado por doses terapêuticas regulares e indicar dependência (Ashton, 2005). Dessa forma, a redução gradual da dosagem de bromazepam pode evitar síndromes de abstinências, cujos sintomas são observados entre poucas horas a uma semana, com tremor, agitação, insônia, ansiedade, cefaléia e dificuldade de concentração em casos menos grave (Hollbrok *et al.*, 2000). Entretanto, podem ocorrer outros sintomas como sudorese, espasmos musculares e abdominais, alterações na percepção e, raramente, delírios e convulsões (Busto *et al.*, 2000). As reações adversas mais comuns são abstinência, ataxia, sedação e sonolência (Raaflaub e Speiser-Courvoisier, 1974). Dentre as reações menos comuns estão agitação, agressividade, alteração da função hepática, alucinações, amnésia anterógrada, bradicardia, cansaço, cefaléia, cólica abdominal, confusão mental, constipação, convulsões, déficit cognitivo e de memória, dependência química ou psíquica, depressão, desinibição, psicose, raiva, relaxamento muscular, retenção urinária, sudorese, tontura, vertigem, visão borrada e vômito. Normalmente os sintomas pioram entre o quinto e o sexto dia de abstinência e desaparecem em quatro semanas (Zint *et al.*, 2010).

A tolerância é observada com a administração repetida do fármaco e deslocamento da curva dose-resposta para a direita, de modo que seja necessária dose mais elevada para produzir o mesmo efeito. O maior risco ocorre com uso de doses maiores do que as terapêuticas e por longos períodos de tempo (Cooke, 2007). Com os BDZs, ocorre tolerância do tipo funcional, cujos mecanismos envolvem alterações de número ou sensibilidade dos receptores, modificações no acoplamento de GABA ao receptor ou mudanças na neurotransmissão noradrenérgica ou serotonérgica nos sistemas que o GABA interage (Nielsen *et al.*, 2011). Nas mudanças neurofisiológicas, o uso prolongado desgasta o acoplamento do receptor BDZ com o complexo receptor GABA/canal de cloreto, provavelmente por mudança alostérica (Uusi-Oukari e Korpi, 2010; Vantour *et al.*, 2010). O desenvolvimento de tolerância parece ocorrer mais rapidamente sobre os efeitos sedativos, mais do que os ansiolíticos e anticonvulsivantes. Porém, pouca tolerância se desenvolve com relação aos efeitos amnésicos e aos prejuízos cognitivos, de forma que usuários crônicos apresentam déficits de aprendizado, memória, atenção e visão espacial, o que pode ocasionar demência (Barker *et al.*, 2005). O escalonamento e uso crônico podem ainda gerar depressão, sedação excessiva, quedas e fraturas e acidentes no trânsito, com idosos sendo os mais afetados (Ashton, 2005).

Os efeitos adversos dos BDZs são dose dependente e variam de acordo com a farmacocinética, sedação diurna e comprometimento do desempenho normal do sujeito no caso de doses elevadas com tempos de semi-vida prolongados ou intermediários (Auchewski *et al.*, 2004). Distúrbios gastrintestinais, alterações da libido e reações cutâneas têm sido relatados ocasionalmente nos efeitos indesejáveis do bromazepam, assim como, fadiga, sonolência, redução da força muscular, embotamento emocional, ganho de peso, irregularidades menstruais, redução da atenção, confusão mental, tontura, ataxia ou diplopia (Stewart, 2005; Lader, 2008). O bromazepam deve ser evitado nos casos de miastenia grave, glaucoma de ângulo fechado, apnéia do sono, doentes com função hepática e renal debilitada e em doentes idosos. O consumo durante o primeiro trimestre da gravidez causa danos fetais, assim como, há problemas durante a lactação (García *et al.*, 2003).

## 2.2 Mecanismos de ação corticais do bromazepam

O bromazepam é um BDZ utilizado no tratamento farmacológico da ansiedade desde o início dos anos 60 (Fink, 1978). Atua em sítios de receptores específicos localizados nas terminações nervosas pós-sinápticas, com maior concentração no córtex cerebral. Quando utilizado em doses farmacologicamente indicadas, não tem efeito direto nos órgãos periféricos e tecidos (Haefely, 1983; Neubauer, 2007). Acredita-se que o mecanismo de ação no SNC esteja relacionado com a potencialização do efeito inibitório do GABA nos receptores BDZs (Sigel e Steinmann, 2012).

A descoberta dos BDZs ocorreu com a síntese e estudo da ação farmacológica do clordiazepóxido, e rapidamente se tornaram os fármacos mais prescritos no mundo (Janhsen *et al.*, 2015), despertando interesse da população por serem considerados medicamentos eficazes, relativamente seguros e com boa tolerância (Kurko *et al.*, 2015). Os BDZs atuam preferencialmente sobre a formação reticular ascendente do mesencéfalo e sistema límbico (Mugunthan *et al.*, 2011), exercendo ação semelhante no SNC, com diferenças na seletividade e sequência temporal de ação (Gueorguieva *et al.*, 2004). O efeito farmacológico depende fundamentalmente da capacidade de ligação com receptores específicos, podendo ocorrer competição com outras substâncias no local específico do receptor GABA, classificadas segundo a ação produzida (García *et al.*, 2003). Diferentemente da ação agonista exercida pelos BDZs, seus receptores podem ser alvos de agonistas inversos, como e-Carbolinas e DMCM (metil-6,7-dimetoxi-4-etil- $\beta$ -carbolina-3-carboxilato), fármacos que se ligam ao sítio e diminuem a probabilidade de abertura do canal de cloreto em resposta ao GABA, possuindo

propriedades estimulantes, ansiogênicas e pró-convulsivantes. Além destes, têm-se os antagonistas como o flumazenil, que bloqueia as atividades de agonistas e agonistas inversos (Boixet *et al.*, 1996; Nutt e Malizia, 2001).

Os BDZs possuem cinco propriedades farmacológicas que variam quanto à intensidade e expressividade, representados por ações: sedativas, hipnóticas, ansiolíticas, relaxantes musculares e anticonvulsivantes (Luderer *et al.*, 1995). Como agentes hipnóticos, reduzem o tempo de latência e aumentam a duração do sono no estado natural, efeito observado nos sujeitos com pelo menos 6 horas de sono (Rudolph e Knoflach, 2011). As propriedades anticonvulsivas e relaxantes musculares são explicadas pela importância do GABA como neurotransmissor dos receptores pós-sinápticos na epilepsia e no relaxamento muscular (Mugunthan *et al.*, 2011).

A distribuição anatômica dos receptores específicos de BDZ é correlacionada com os efeitos farmacológicos capazes de produzir quando ativados (Westra e Stewart, 2002). O sistema límbico é uma das regiões de maior concentração de receptores para BDZ, especificamente hipocampo e bulbo olfatório, o que estaria relacionado à ação ansiolítica (Foreman e Claassen, 2012). A concentração em áreas de núcleos talâmicos, responsáveis pela consciência e funções de integração, relaciona-se à ação hipnótico-sedativa, enquanto a presença em determinadas camadas do córtex cerebral está relacionada com o efeito anti-convulsivante (Griebel *et al.*, 2001). Menores concentrações de receptores, por sua vez, são encontradas na medula espinal e bulbo (Hallfors e Saxe, 1993). A presença de alguns receptores de alta afinidade para BDZ são encontrados também no fígado, pulmões, rins e outros tecidos, porém com efeitos farmacológicos pouco significativos (Podhorna, 2002; Kurko *et al.*, 2015).

Atuam como moduladores alostéricos positivos de receptores GABA, do tipo GABA<sub>A</sub>, com ligação ao complexo molecular de canais de cloreto (Rudolph e Knoflach, 2011). O GABA<sub>A</sub> é uma glicoproteína integral heterooligomérica constituída de cinco subunidades polipeptídicas pertencentes a diferentes famílias ou classes, cada qual com suas respectivas isoformas:  $\alpha_{1-6}$ ,  $\beta_{1-3}$ ,  $\gamma_{1-3}$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\pi$  e  $\theta$  (Mehta e Ticku, 1999; Korpi *et al.*, 2002; Bateson, 2004). Os BDZs se ligam especificamente na porção  $\alpha_2$  do receptor GABA<sub>A</sub>, formando o complexo receptor BDZ/receptor GABA<sub>A</sub>/canal de cloreto, com posterior abertura desses canais ativados por GABA. Como consequência, ocorre a hiperpolarização dos neurônios pós-sinápticos e ação inibitória no SNC (Rudolph e Knoflach, 2011). Diferentemente dos barbitúricos, os BDZs não ativam diretamente o receptor GABA<sub>A</sub>, característica que o confere maior segurança terapêutica (Dell’Osso, 2013; Rihel, 2013). Os efeitos dos BDZs também são

produzidos com ligação aos receptores para BDZs do SNC, como BZ<sub>1</sub> e BZ<sub>2</sub> (Nielsen *et al.*, 2011).

Os receptores específicos são encontrados em várias regiões cerebrais, acoplados aos receptores do GABA e mediando ações ansiolíticas, sedativas e anticonvulsivantes (Perault *et al.*, 2000). Esses efeitos farmacológicos induzidos por BDZs não são mediados pelas mesmas isoformas, cada uma aparenta está preferencialmente envolvida com os efeitos referidos. Por meio de técnicas de “knock-in” (alteração de genes) e “knock-out” (deleção de genes) em camundongos, observou-se que a subunidade  $\alpha_1$ , que corresponde à subunidade mais abundante e amplamente distribuída em regiões do córtex cerebral, hipocampo, núcleos talâmicos, bulbos olfatórios, tronco encefálico e cerebelo (Fritschy e Mohler, 1995; Bateson, 2004), é responsável pela mediação do efeito sedativo e, em parte, anticonvulsivante. Já o efeito ansiolítico é mediado pelas subunidades  $\alpha_2$  (Griebel *et al.*, 2001; Mohler *et al.*, 2002) e  $\alpha_3$  (Nutt e Malizia, 2001; Dias *et al.*, 2005), as quais se encontram densamente distribuídas no sistema límbico, destacando também  $\alpha_2$  abundantemente nos neurônios motores da medula espinhal modulando o miorelaxamento induzido por estes fármacos. A amnésia anterógrada está relacionada com as subunidades  $\alpha_1$  e  $\alpha_5$ , esta última densamente distribuída no hipocampo (Nutt e Malizia, 2001; Mohler *et al.*, 2002).

Segundo estudo realizado por Baumann *et al.* (2003), o receptor GABA<sub>A</sub> possui dois sítios de ligações para o neurotransmissor GABA, ao invés de apenas um, cuja ocupação de ambos os sítios torna a abertura do canal iônico 60 vezes mais eficaz. Há indícios também da existência de cooperatividade positiva entre os sítios, ou seja, o acoplamento de uma molécula de GABA em um dos sítios do complexo GABA<sub>A</sub> aumenta a afinidade de ligação da segunda molécula no outro sítio (Gingrich *et al.*, 1995). Além dos sítios de ligação para os BDZs, o receptor apresenta, ao longo de sua estrutura quaternária, diversos sítios alostéricos específicos para diferentes ligantes. Estes, por sua vez, ao interagir com os respectivos sítios de ligação, podem potencializar a neurotransmissão GABAérgica, tais como os barbitúricos, neuroesteróides, etanol e anestésicos, ou podem atenuá-la, como, por exemplo, picrotoxina, pentilenotetrazol e agonistas inversos BDZs (Rogers *et al.*, 1994; Bateson, 2004).

O GABA encontra-se distribuído em todo SNC, sendo particularmente abundante, com cerca de 10  $\mu\text{mol/g}$  nos tecidos (Noto *et al.*, 2002), e 60 a 70% nas sinapses cerebrais (Fantoni *et al.*, 2002). No sistema nigroestriatal, possui maior concentração na substância negra e núcleo do globo pálido dos gânglios basais, seguido por hipotálamo e hipocampo (Nielsen *et al.*, 2011). O GABA é sintetizado pela descarboxilação do glutamato em um passo

único catalisado pela enzima ácido glutâmico-descarboxilase (GAD) (Swinyard *et al.*, 1988). Como a maioria dos neurotransmissores, é armazenado em vesículas sinápticas e liberado de maneira dependente de cálcio, logo após a despolarização da membrana pré-sináptica. Com a liberação de GABA na fenda sináptica, ocorre ligação com receptores GABA na superfície do neurônio pós-sináptico (Fantoni *et al.*, 2002). Com maior parte da captação ocorrendo nas células gliais, o desvio do GABA para estas células produz glutamato, o qual é convertido em glutamina e transportado para os neurônios, sendo convertido novamente em glutamato. A glutamina, portanto, serve como fonte de glutamato entre as células no SNC (Smith *et al.*, 2007). Em humanos, a GAD possui duas isoformas diferentes nas regiões cerebrais, denominadas GAD-65 e GAD-67, possibilitando a síntese de GABA em “pools” específicos, com funções diferentes (Bateson, 2004).

Assim como outros fármacos da classe dos BDZs, o bromazepam atua no receptor de GABA<sub>A</sub>, causando alteração conformacional e conseqüente hiperpolarização celular devido aumento do influxo de cloreto. O resultado da hiperpolarização é o aumento da ação GABAérgica inibitória no SNC (Salem, 2004). Resultados eletroencefalográficos relatam prejuízos do bromazepam nos estágios iniciais do processamento da informação, fazendo com que o sujeito reúna mais informação a partir dos sinais sensoriais para uma avaliação final (Cunha *et al.*, 2006).

### *2.3 Modificações nos processos cognitivos e motores decorrentes do uso do bromazepam*

Os BDZs são drogas que possuem a capacidade de deprimir o SNC, desempenhando ações como relaxante muscular, hipnótico, sedativo, anticonvulsivante e bloqueador neuromuscular em doses elevadas (Coelho *et al.*, 2006). Diversos estudos têm demonstrado o uso frequente de BDZs, destacando déficits cognitivos em áreas de memória verbal e não verbal, performance e controle motor (Barker *et al.*, 2005). As tarefas mais afetadas pelos BDZs são aquelas que envolvem principalmente manutenção da atenção, velocidade de desempenho e precisão, o que os torna particularmente prejudiciais às pessoas que exercem atividades envolvendo precisão ou rapidez de reflexos (Johnson e Chernik, 1982; Koelega, 1989; Kunsman *et al.*, 1992). Diminuição da capacidade motora em tarefas de concentração, velocidade e acurácia foram relatadas por Lader (2011) e Baldwin *et al.* (2013).

O bromazepam está entre os fármacos mais prescritos da classe dos BDZs (Alvarenga *et al.*, 2007; Berger *et al.*, 2009). Os efeitos adversos são exercidos pela intensificação da neurotransmissão inibitória mediada pelo GABA, com modificações na atividade neural e

consequente inibição das funções cognitivas e motoras (Bourin *et al.*, 1989). Assim, com a utilização de bromazepam, podem-se observar as conseqüências da inibição na conectividade entre diferentes áreas corticais (Kopp *et al.*, 2004; Puga *et al.*, 2005).

Por exemplo, Araújo *et al.* (2011) investigaram o uso agudo do bromazepam na tarefa visuomotora, quando sujeitos foram expostos a duas condições experimentais: placebo e 6 mg de bromazepam, seguindo delineamento duplo-cego randomizado com intervalo de 7 dias. Na presença do fármaco, foi observado diminuição da atividade cortical nas áreas temporais e parietais, destacado por prejuízos na transmissão de diferentes informações sensoriais multimodais e, em seguida, na integração destas informações, retardando todos os mecanismos para execução da tarefa motora. Os autores concluíram que o fármaco prejudica a detecção de estímulos no estágio inicial do processamento da informação e produz déficit de atenção, onde os sujeitos apresentaram dificuldade na realização da tarefa e atraso no início da ação motora. Em outro estudo, bromazepam provocou aumento no tempo de reação nas áreas relacionadas com o planejamento motor e seleção do movimento, o que pode estar associado a prejuízos na atenção e percepção sensorial. O estado de alerta foi diminuído, com isso, maior esforço mental foi necessário para continuar a execução da tarefa visuomotora, exigindo aumento de engajamento cognitivo para compensar as deficiências do BDZ nas funções executivas (Gongora *et al.*, 2014). Segundo Golombok *et al.* (1988) e Stewart (2005), os BDZs causam efeitos colaterais como falta de coordenação motora e mudanças em vários domínios cognitivos, como visuoespacial, atenção, velocidade de processamento e aprendizagem verbal.

O efeito modulador do bromazepam em áreas motoras primárias (M1) foi investigado por Silva *et al.* (2011). Os sujeitos submetidos à tarefa motora tiveram que identificar rapidamente uma bola lançada horizontalmente e pegá-la com a mão direita, enquanto a atividade eletroencefalográfica foi registrada. Os efeitos do fármaco causaram inibição na atividade da M1 esquerda, responsável pelo movimento da mão direita, com atraso no processamento da informação sensório-motora. Os autores também relataram a necessidade de novas redes neurais para eficácia no processamento da informação relacionada à execução de tarefas motoras, como forma de compensação do SNC diante do efeito do fármaco. Neste estudo, a ação inibitória do bromazepam foi correlacionada com dessincronização bilateral dispersa nos eletrodos C3, P3, P4 e Pz, em contraste com foco de dessincronização em C3, possivelmente devido alterações em conexões tálamo-corticais diretamente envolvidas no processo de sincronização/dessincronização no momento de apreensão da bola. As estruturas talâmicas são responsáveis por ativar áreas corticais específicas durante processamento da

informação relevante para execução da tarefa e desativar outras regiões periféricas não utilizadas (Neuper e Pfurtscheller, 2001). Em outro estudo, foi evidenciado que o bromazepam reduziu a detecção do estímulo na tarefa de vigilância visual, com prejuízos nos estágios iniciais do processamento das informações e conseqüente redução no desempenho. O fármaco contribuiu para latências de resposta mais curtas e aumento do erro na tarefa, devido estratégia de processamento mais superficial e velocidade de precisão alterada (Leeuwen *et al.*, 1991).

Muñoz-Torres *et al.* (2011a) investigaram a atuação de BDZ na atividade do EEG durante realização da tarefa de atenção sustentada. A dose única de 5 mg do fármaco comprometeu o desempenho e funções cognitivas, com aumento no tempo de reação durante as respostas da tarefa. Além de causar redução do acoplamento temporal direito, evidenciando ruptura local e interregional da sincronicidade neuronal, de acordo com as proeminentes redes relacionadas à atenção neste hemisfério. A diminuição no estado de alerta, atenção sustentada e capacidade de atenção rápida ocasionadas pelo BDZ também foram observadas na tarefa de substituição de símbolos por dígitos (Lucchesi *et al.*, 2003). Quando sujeitos fizeram uso de 10 mg de BDZ na tarefa guiada por regras, houve prejuízos no desempenho ocasionados por atraso na seleção da resposta de acordo com as regras abstratas, diminuição da precisão e aumento no tempo de reação. Novas regiões foram recrutadas sob efeito do BDZ, especialmente córtex occipito-parietais e córtex temporal esquerdo, como mecanismo compensatório para continuar a execução da tarefa com precisão (Muñoz-Torres *et al.*, 2011b).

Na tarefa de recuperação de objetos com desvios associada às funções executivas, o BDZ prejudicou o desempenho cognitivo aumentando os alcances incorretos e as latências de respostas, sugerindo déficits de coordenação motora e/ou sedação. Os achados indicaram que esse comprometimento na tarefa ocorreu devido a modulação positiva do subtipo de receptor GABA<sub>A</sub> contendo a subunidade  $\alpha 1$  (Makaron *et al.*, 2013). Deakin *et al.* (2004) encontraram prejuízos no planejamento da tarefa baseada no problema da "Torre de Londres". O BDZ aumentou o tempo de reflexão para realizar a primeira resposta correta no grupo que recebeu 10 mg, e o número de tentativas para desenvolver corretamente as respostas no grupo de 20 mg. Ainda neste estudo, os efeitos desinibitórios do BDZ na tarefa de tempo de reação acelerada prejudicaram a sensibilidade de discriminação estímulo-alvo e reduziu o limiar de resposta. Coull *et al.* (1995a, 1995b) também mostraram que BDZ causa déficits nas funções executivas relacionadas com a tarefa da Torre de Londres. Além disso, no estudo de Giersch e Herzog (2004), os efeitos deletérios do BDZ foram encontrados no processo de integração

visuoperceptiva na tarefa de mascaramento visual retroativo. O BDZ prolongou o processamento da informação visual e impediu a integração de neurônios sensíveis à posição e orientação espacial causando, dessa forma, prejuízos na discriminação do alvo. Esses prejuízos foram encontrados por Boucart *et al.* (2000), onde observaram aumento do reconhecimento da imagem que precede o alvo.

Por outro lado, em tarefa relacionada com tomada de decisão e resposta imediata a estímulos imprevisíveis, bromazepam (6 mg) melhorou a atenção sobre os aspectos motores relevantes da tarefa. Os sujeitos expostos ao fármaco apresentaram redução na carga cognitiva que, de outras formas, haviam recebido maior interferência de estímulos periféricos. Tais efeitos foram benéficos, pois reduziram a complexidade da tarefa, e menor codificação de informações sensoriais foi necessária para armazenar e recuperar informações de rota envolvidas com a tarefa (Fridman *et al.*, 2009). Uma melhora no desempenho dos sujeitos após ingestão de bromazepam (6 mg) foi observada na tarefa de datilografia, com aumento da exatidão no pressionamento das teclas datilográficas, associados ao efeito benéfico do BDZ no controle da ansiedade e à efetivação de processos de aquisição de memória de procedimentos (Bastos *et al.*, 2005; Portella *et al.*, 2006, Salles *et al.*, 2006). Além de menor tempo de reação, redução na carga de informações sensoriais e aprimoramento do aprendizado motor em áreas pré-motora e motora primária, devido aumento do foco atencional sobre eventos previsíveis que ocorrem em campos perceptivos reduzidos (Cunha *et al.*, 2006; Cunha *et al.*, 2008).

#### 2.4 Banda alfa

A atividade cerebral é registrada por meio do eletroencefalograma, responsável pela medição de diferenças de potenciais elétricos gerados pela atividade pós-sináptica de neurônios no córtex cerebral (Beauregard e Paquette, 2008). Na propagação até o couro cabeludo, os sinais elétricos enfrentam interfaces de baixa e alta impedância, com consideráveis deformações e atenuações. A atividade elétrica medida no escalpo apresenta, portanto, uma amplitude muito pequena, variando entre 5 a 300  $\mu\text{V}$ , com componentes de frequência entre 0,1 e 100 Hz (Cahn e Polich, 2006; Mota-Rolim, 2013).

O típico registro de EEG é o conjunto de traçados irregulares simultâneos, indicando alterações de voltagem entre pares de eletrodos, colocados no couro cabeludo, de acordo com posições padronizadas internacionalmente como o Sistema Internacional 10-20 (Cooper *et al.*,



2006). Esse sistema é baseado na estrutura anatômica cerebral, com divisões em hemisférios (direito e esquerdo) e subdivisões em lobos (frontal, parietal, temporal e occipital). A distribuição consiste na colocação de 21 eletrodos, sendo 19 corticais e 2 situados nos lóbulos de ambas as orelhas, como referência. O “10” e “20” correspondem à distância entre eletrodos adjacentes que pode ser 10% ou 20% do comprimento das distâncias entre os pontos de referências, *nasion* e *inion*, no plano medial e os pontos pré-auriculares, no plano perpendicular. Neste sistema, para diferenciar posições homólogas, os eletrodos dispostos no hemisfério direito correspondem aos números pares e os do hemisfério contrário ímpares. Os eletrodos da linha média são seguidos da letra “z” por referência a zero (Jacobs e Friedman, 2004; Maris e Oostenveld, 2007). Para análise dos dados coletados por meio do EEG, é primordial o reconhecimento das variações nos domínios tempo e frequência, bem como suas distribuições espaciais. Essas características podem variar com fatores como idade, gênero, lateralidade, nível de vigiância e estados cognitivos (Yuval-Greenberg *et al.*, 2008).

Os ritmos do EEG são categorizados convencionalmente pelas seguintes faixas de frequência aproximadas: ritmo delta, abaixo de 4 Hz, possui grandes amplitudes, podendo indicar sono profundo ou sono de ondas lentas; ritmo teta, de 4 a 8 Hz, ocorre predominantemente em alguns estados do sono, como sonolência e sono REM; ritmo alfa situa-se entre 8 e 12 Hz, associado ao estado de vigília e relaxamento; ritmo beta, de 12 a 30 Hz, sinalizando principalmente a vigília com olhos abertos; ritmo gama, acima de 30 Hz, característico da vigília e do sono REM (Doppelmayr *et al.*, 2002). O ritmo alfa encontra-se mais presente nas regiões posteriores da cabeça, de maneira simétrica com mesma frequência e amplitude, e sincrônica, nos dois hemisférios cerebrais. Fisiologicamente, este ritmo tem sido explicado por despolarizações simultâneas em torno de 10 Hz entre grandes quantidades de células nervosas, a partir do fechamento e abertura dos canais iônicos presentes em suas membranas celulares (Llinas e Ribary, 1993; Cantero *et al.*, 2002).

Existem duas hipóteses para a gênese do ritmo alfa. A primeira sugere que este ritmo é resultado de sinal estocástico que reflete a passagem de ruído brando por meio de um filtro de faixa estreita (Prast, 1949). Esta hipótese é sustentada pela ocorrência de ruídos e disparos aleatórios de potenciais de ação, os quais ocorrem devido abertura espontânea de canais iônicos de neurônios, gerando correntes excitatórias em miniatura (Lopes da Silva, 1997). Na segunda hipótese, o ritmo alfa é consequência da saída de osciladores não-lineares acoplados (Wiener, 1961). Gebber *et al.* (1999) apoiaram esta hipótese com a utilização de estimulação foto intermitente em diversas frequências e coleta de potenciais evocados no EEG das regiões occipitais do escalpo. A existência de dois tipos de ritmos alfa, sendo grande parte associada a

um ruído filtrado (>98 %) e outra de um sistema não-linear foram encontrados por Stam *et al.* (1999).

Além de patologias associadas a distúrbios do SNC, este ritmo pode ser modificado com a idade do sujeito, grau de esforço cognitivo, estado do ciclo sono-vigília e utilização de fármacos (Schürmann e Basar, 2001; Bottger *et al.*, 2002; Dopplemayr *et al.*, 2002; Stipacek *et al.*, 2003). Diversos estudos vêm utilizando a banda alfa na investigação de processos relacionados a tarefas com precisão de mira, como o tiro ao alvo. A atividade alfa reflete uma forma de inatividade ou desativação cortical (Pfurtscheller *et al.*, 1996; Klimesch *et al.*, 2007; Rihs *et al.*, 2007), com amplitude inversamente relacionada ao esforço de atenção, planejamento e execução de respostas motoras no tiro ao alvo (Hatfield *et al.*, 1984; Smith *et al.*, 1999; Haufler *et al.*, 2000; Kerick *et al.*, 2001). Especificamente, Salazar *et al.* (1990) com intuito de investigar a atividade EEG hemisférica esquerda entre os melhores e piores tiros, descobriram maior potência alfa antes dos piores disparos. Resultados similares foram relatados por Landers *et al.* (1994) ao utilizar atiradores novatos. Por outro lado, a atividade alfa aumentada foi correlacionada com melhor desempenho motor, como indicativo de diminuição das demandas cognitivas (Domingues *et al.*, 2008) e menor ativação cortical nos atiradores experientes nas regiões central-temporal-parietal esquerda (Haufler *et al.*, 2000).

As pesquisas que empregam potência alfa do EEG durante a preparação para a ação no esporte relatam aumentos progressivos na atividade alfa no hemisfério esquerdo, e sem alterações no hemisfério direito, à medida que a tomada de decisão se aproxima. Por exemplo, Hatfield *et al.* (1984) constataram aumento de potência alfa 7,5 segundos que antecedem o *trigger* no gatilho nas regiões temporais e occipitais esquerda, enquanto no hemisfério contrário permaneceu constante. Da mesma forma, Kerick *et al.* (2001) descobriram potência alfa elevada no período de 8 segundos apenas no eletrodo T3 (hemisfério esquerdo). Além disso, em arqueiros especializados, Salazar *et al.* (1992) descobriram aumento de atividade 3 segundos que precedem a liberação da flecha no eletrodo T3, mas não em T4. As diferenças funcionais em ambos os hemisférios cerebrais indicam que o hemisfério esquerdo é ativado pelo processamento da informação analítico-verbal, enquanto o direito por processamento de informações visuoespaciais. Assim, os padrões de potência alfa observados durante os períodos preparatórios podem ser interpretados como indicativo de redução do processamento de informação verbal-analítica à medida que o gatilho ou liberação da flecha se aproximam (Wexler, 1980; Cooke, 2013).

Como os sinais do EEG refletem correntes pós-sinápticas em neurônios piramidais corticais, mudanças nos ritmos cerebrais espontâneos podem auxiliar o monitoramento dos

efeitos neuronais decorrentes de drogas de ação central (Hämäläinen *et al.*, 1993; Stipacek *et al.*, 2003). Os efeitos de BDZs, que medeiam suas ações inibitórias por meio de receptores GABA<sub>A</sub>, resultam em diminuição da atividade da banda alfa (Leeuwen *et al.*, 1991; Feshchenko *et al.*, 1997; Schreckenberger *et al.*, 2004; Ahveninen *et al.*, 2007; Muñoz-Torres *et al.*, 2011; Lozano-Soldevilla *et al.*, 2014; Alonso *et al.*, 2015). Esse comportamento foi observado com a utilização de lorazepam, resultando em deficiência no desempenho da tarefa visuoespacial (Lozano-Soldevilla *et al.*, 2014). Corroborando esses achados, Muñoz-Torres *et al.* (2011) relataram menor atividade alfa e comprometimento das funções cognitivas sob efeito de diazepam, com aumento no tempo de reação durante tarefas de atenção sustentada. No estudo de Schreckenberger *et al.* (2004), a redução da potência alfa com lorazepam foi correlacionada com atividade talâmica, sustentando a hipótese de estreita relação funcional entre atividade talâmica e ritmo alfa mediada por alças corticotalâmicas, que são independentes de aferências sensoriais. Assim como, achados de menor potência alfa após uso de alprazolam foram associados com aumento na intensidade e disseminação das alterações induzidas farmacologicamente na corrente intracerebral usando tomografia eletromagnética de baixa resolução (LORETA) (Alonso *et al.*, 2015).

### 3. Produção Científica

#### 3.1 Artigo em Português

#### **Bromazepam diminui a potência absoluta da banda alfa e prejudica a habilidade no tiro**

Iris Jordânia Luz Moura<sup>a,b\*</sup>, Daya Gupta<sup>c</sup>, Victor Marinho<sup>a,d</sup>, Kaline Rocha<sup>a,d</sup>, André Luiz Barbosa<sup>b,c</sup>, Severino Cavalcante<sup>b</sup>, Rhailana Fontes<sup>a</sup>, Pedro Ribeiro<sup>f</sup>, Bruna Velasques<sup>f</sup>, Mauricio Cagy<sup>f</sup>, Victor Hugo Bastos<sup>g</sup>, Fernando Silva-Junior<sup>a,f,g</sup>, Ariel Soares Teles<sup>a</sup>, Silmar Teixeira<sup>a,b,d</sup>

<sup>a</sup>Neuro-innovation Technology & Brain Mapping Laboratory, Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

<sup>b</sup>Masters Programs in Biotechnology, Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

<sup>c</sup>LAFFEX - Laboratory of Experimental Physiopharmacology, Biotechnology and Biodiversity Center Research (BIOTEC), Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

<sup>d</sup>The Northeast Biotechnology Network, Federal University of Piauí, Teresina, Brazil.

<sup>e</sup>Department of Biology, Camden County College, Blackwood, NJ, USA.

<sup>f</sup>Brain Mapping and Sensory Motor Integration Laboratory, Institute of Psychiatry of Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>g</sup>Brain Mapping and Functionality Laboratory, Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

**\*Autor Correspondente:** Iris Jordânia Luz Moura, Federal University of Piauí, Av. São Sebastião nº 2819 – Nossa Sra. de Fátima – Parnaíba, PI, CEP: 64202-020, Brazil. Tel.: +55(86)999932668 – E-mail: iris\_j\_567@hotmail.com

## RESUMO

**Introdução:** O bromazepam é um fármaco pertencente à classe dos benzodiazepínicos (BDZs), que potencializa a ação inibitória do ácido gama-aminobutírico no Sistema Nervoso Central e tem sido associado a prejuízos no desempenho de tarefas visuomotoras. Em especial, os efeitos dos BDZs em tarefas com precisão de mira, como o tiro ao alvo, ainda são pouco compreendidos. **Objetivo:** Investigar a influência aguda do bromazepam no desempenho da tarefa de tiro e nas oscilações da potência absoluta da banda alfa no córtex cerebral em quatro diferentes intervalos de tempo correspondentes a preparação para o tiro. **Materiais e Métodos:** Um estudo *crossover* e duplo cego com uma amostra de 30 sujeitos em duas condições: bromazepam (6mg) e placebo, e análise eletroencefalográfica da potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal, motor, temporal e parietal concomitante com execução da tarefa de tiro ao alvo. **Resultados e Discussão:** O bromazepam tem efeito médio no desempenho dos sujeitos na tarefa de tiro, levando ao menor número de acertos no alvo ( $p < 0.001$ ), além disso, diminui a potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal, córtex motor, córtex temporal e córtex parietal em todos os períodos preparatórios do tiro ( $p < 0.001$ ). **Conclusão:** As interferências do bromazepam nas áreas corticais estudadas podem indicar uma diminuição da atenção em tarefas visuomotoras, especialmente por acarretar em déficit de conexão e integração de diversas modalidades sensoriais, além de influenciar a execução da tarefa, pois atua no desenvolvimento de estratégias de preparação durante o tiro ao alvo.

**Palavras-chave:** Bromazepam, Eletroencefalografia, Banda Alfa, Tarefa de Tiro, Córtex Cerebral.

## Introdução

Os benzodiazepínicos (BDZs) correspondem a classe de fármacos psicotrópicos que potencializam o efeito inibitório do ácido gama-aminobutírico (GABA), por afinidade aos receptores GABAérgicos no Sistema Nervoso Central (SNC) (Kopp et al., 2004; Leslie et al., 2005; Ravenelle et al., 2014), provocando comprometimento em vários domínios cognitivos, como capacidade visuoespacial e motora, velocidade de processamento e aprendizado verbal (Stewart, 2005; Preskorn, 2015). Em especial, o bromazepam está entre os BDZs mais prescritos e estudados no mundo em virtude dos efeitos no comportamento neural das áreas corticais envolvidas em processos cognitivos e motores (Montenegro et al., 2005; Silva et al., 2011; Fortunato et al., 2015). Em geral, tem-se observado que o bromazepam compromete a atenção sustentada e a percepção sensorial durante tarefas visuomotoras, o que leva ao aumento do engajamento cognitivo para manutenção da tarefa (Gongora et al., 2014), prejuízos nos estágios iniciais de integração sensório-motora (Bourin et al., 1989; Leeuwen et al., 1991; Cunha et al., 2008; Fridman et al., 2009) e na integração de diferentes informações sensoriais multimodais, retardando os mecanismos motores e cognitivos (Araújo et al., 2011). Por outro lado, efeitos positivos do bromazepam foram relacionados com diminuição da tensão interna e ansiedade (Hobi et al., 1981; Bastos et al., 2005; Sampaio et al., 2008), o que poderia induzir ao aumento de atenção e diminuição do esforço mental para o melhor desempenho em tarefas motoras (Cunha et al., 2006; Machado et al., 2009; Aprigio et al., 2015).

Embora o bromazepam seja utilizado em diversos estudos, ainda há contradições dos seus efeitos em tarefas com precisão de mira, como o tiro ao alvo, que exige percepção cognitiva e motora associadas à atenção e controle motor fino na puxada do gatilho (Janelle et al., 2000; Kerick et al., 2004; Deeny et al., 2009; Hatfield et al., 2013). Neste caso, os efeitos do bromazepam poderiam interferir nos processos cognitivos no período que precede o disparo da arma, o qual é caracterizado com elevada atenção no alvo para o aumento de estabilidade durante a mira (Loze et al., 2001; Del Percio et al., 2011; Babiloni et al., 2010). Isso tem sido observado em análise da eletroencefalografia (EEG) com uma janela temporal mais extensa durante o período preparatório para o tiro. Kerick et al. (2001) demonstraram aumento de potência da banda alfa na região temporal esquerda no intervalo de oito segundos anteriores ao *trigger* no gatilho (Kerick et al., 2001), e Haufler et al. (2000) encontraram o mesmo resultado no intervalo de seis segundos. No entanto, quando observado em um intervalo de tempo menor que quatro segundos, houve redução da potência alfa (Hatfield et

al., 2013). Isso demonstra que embora a EEG seja amplamente utilizada para investigar mudanças na atividade cortical durante a execução de tarefas cognitivo-motoras, há uma lacuna quanto à janela de tempo ideal para a análise eletroencefalográfica mediante execução de tarefas cognitivo-motoras que demandem precisão durante um tiro.

A análise com EEG por intermédio das bandas de frequência tem possibilitado analisar os efeitos dos BDZs na atividade cortical (Salles et al., 2006; Domingues et al., 2008; Paes et al., 2011; Aprigio et al., 2015). Especialmente, a potência absoluta da banda alfa tem sido utilizada para verificar a demanda atencional, planejamento, e execução de respostas motoras em relação ao tiro ao alvo (Hatfiel et al., 1984; Smith et al., 1999; Haufler et al., 2000; Kerick et al., 2001), sensibilidade às variações de percepção, cognição e ação motora (Klimesch et al., 2006; Palva e Palva, 2007; Dubovik et al., 2013; Pollok et al., 2015; Mottaz et al., 2015).

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi investigar as alterações ocasionadas pelo bromazepam no desempenho da tarefa de tiro ao alvo e na atividade da potência absoluta da banda alfa no córtex cerebral em quatro intervalos de tempo associados com a preparação do tiro. Dessa forma, esperamos pior desempenho na tarefa com o uso agudo do bromazepam e diminuição da potência absoluta de alfa nas áreas corticais estudadas. Além do pressuposto de uma maior janela temporal na análise dos intervalos de tempo do encefalograma que precedem a tarefa.

## **Materiais e Métodos**

### *Sujeitos*

Foram selecionados 60 sujeitos destros, do sexo masculino, com idade entre 20 a 30 anos e sem habilidade com tiro. Todos os sujeitos realizaram avaliação médica para excluir àqueles com doenças neurológicas ou motoras que prejudicassem a realização da tarefa, bem como contraindicação para a ingestão do bromazepam. Além disso, foi vetada a utilização de qualquer substância que atue inibindo ou estimulando a atividade cerebral (e.g., tabaco, café, bebidas alcoólicas, alimentos que possuam cafeína, e utilização de medicamentos) 14 horas antes ou durante o período do estudo (Fortunato et al., 2015; Ribeiro et al., 2018). Após a seleção, 22 sujeitos não corresponderam aos critérios de elegibilidade do estudo. Desse modo, os 38 remanescentes foram randomizados em uma taxa de 1:1, duplo-cego para as duas condições, na seguinte sequência: 19 sujeitos com início na condição bromazepam e término

na condição placebo e 19 sujeitos com início na condição placebo e término na condição bromazepam. Dos 38 sujeitos, 8 abandonaram o estudo pelas seguintes razões: 6 não desempenharam toda a tarefa e 2 recusaram-se a ingerir a cápsula. Finalmente, 30 sujeitos com idade média  $\pm$  desvio-padrão =  $22 \pm 3$  anos completaram o estudo. Todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (nº 1.610.197) de acordo com os Critérios de Ética em Pesquisa com Assuntos Humanos incluído na Declaração de Helsinque.

### *Procedimentos experimentais*

No presente estudo foi analisado o efeito da administração única do bromazepam (6mg) no desempenho de uma tarefa de tiro ao alvo e na potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal, motor, temporal e parietal. Os sujeitos receberam 2 dias de tratamento com intervalo de 7 dias. Cada sujeito permaneceu em repouso durante uma hora e meia após a ingestão da cápsula (placebo ou bromazepam). Os sujeitos realizaram inicialmente um EEG em repouso e durante a realização da tarefa organizada em seis blocos com cinco trilhas por bloco. Cada trilha correspondente ao disparo de um tiro no alvo. Foi considerado um intervalo de dois minutos entre cada bloco para a recuperação do membro ativo a fim de evitar fadiga muscular. Durante a realização da tarefa foi utilizada uma braçadeira com regulagem de altura para apoiar o braço direito do sujeito, a fim de minimizar a fadiga muscular e artefatos no EEG. Foi utilizado uma pistola de *airsoft* (*Sig Sauer P226*), adaptada com um módulo transdutor eletromagnético posicionado atrás do gatilho, o qual se conecta ao canal de entrada extra no equipamento de EEG por meio de um conector RCA (*Radio Corporation of America*), denominada *Trig In*. Esse dispositivo analisa a atividade cortical no período preparatório do tiro, a fim de delimitar os intervalos de tempo que antecede o tiro. Com o uso de óculos de proteção, os sujeitos efetuaram os disparos no alvo posicionado a uma distância de cinco metros, com a troca dos alvos sendo realizada após cada bloco. Um alvo de papel (17x17cm) foi fixado em um suporte com rede coletora (*Swiss Arms*) com seis escalas de pontuação. Os pontos de cinco a sete situavam-se nas escalas com coloração branca nas extremidades, e, de oito a dez no círculo central preto. Ao término da tarefa o número de acertos foi contabilizado.



### *Desempenho dos sujeitos*

A variável do desempenho foi obtida por meio da performance dos sujeitos na tarefa de tiro ao alvo. Cada sujeito realizou 30 tiros distribuídos em seis blocos (cinco tiros por bloco), podendo pontuar ao máximo em 300 pontos.

### *Aquisição das medidas eletroencefalográficas*

Todos os sujeitos foram acomodados em uma sala com isolamento acústico, aterramento elétrico e baixa luminosidade. Os sujeitos sentaram em uma cadeira com apoio de braço, com o intuito de minimizar artefato muscular durante a aquisição do sinal da EEG. O EEG contínuo de 20 canais foi gravado por amplificadores Braintech 3000 (EMSA-Instrumentos Médicos, Brasil). Os eletrodos de prata/cloreto de prata foram posicionados por uma tampa de eletrodo equidistante por meio de uma touca de nylon com prefixação do sistema internacional 10-20, incluindo os eletrodos de referência biauricular (SPES Medica Brasil). A impedância dos eletrodos do EEG foi mantida abaixo de 5 K $\Omega$ . Os dados adquiridos tinham amplitude total menor do que 100  $\mu$ V. O sinal do EEG foi amplificado com um ganho de 22.000 Hz, analogicamente filtrados entre 0.01 Hz (passa-alta) e 60 Hz (passa-baixa), com 240 Hz por meio do *software* Data Acquisition (Delphi 5.0). Na sequência, os sinais do EEG foram processados pelo Programa Neurometrics (NxLink, Ltd.,USA) e extraídas as variáveis de potência absoluta na banda alfa. Em seguida, foi utilizado o programa EEGLab para seleção das épocas de interesse e remoção de artefatos e análise das possíveis diferenças topográficas entre as condições e períodos pré-tiro analisado.

### *Processamento dos dados*

A análise dos sinais do EEG foi realizada no programa EEGLAB/MATLAB. O período preparatório que antecede o tiro, que consideramos como épocas pré-tiro, compreendeu 8s divididos em intervalos de tempo de 8s a 6s ( $t_1$ ), 6s a 4s ( $t_2$ ), 4s a 2s ( $t_3$ ) e 2s a 0 ( $t_4$ ). O tempo zero corresponde ao momento do *trigger* no gatilho. Trechos contaminados por artefatos musculares e movimentos oculares foram excluídos da análise utilizando-se um critério de rejeição de  $\pm 100$  Mv em qualquer canal. Em seguida, foi aplicada a Análise de Componentes Independentes (ICA – *Independent Component Analysis*) conforme realizado por Fortuna et al. (2013), Brauns et al. (2014) e Carvalho et al. (2015). Os dados de cada

eletrodo que exibiram perda de contato com o escalpo ou alta impedância ( $>5K\Omega$ ) não foram considerados. Um estimador clássico foi aplicado para a densidade de potência espectral, estimada a partir da Transformada de Fourier, que foi realizada pelo MATLAB (Matwords, Inc.). Após a remoção, os componentes restantes foram inseridos de volta para recompor o sinal do eletrodo, em que apenas as épocas remanescentes fizeram parte do processamento subsequente do sinal e da análise estatística. Estes procedimentos foram realizados para análise da potência absoluta da banda alfa nas derivações dos eletrodos F3, F4 (córtex pré-frontal dorsolateral, CPFDL), F7, F8 (córtex ventrolateral, CVL), P3, P4 (córtex parietal posterior, CPP), C3, C4 (córtex motor primário, CMP), T3, T4 (córtex temporal posterior, CTP), Fz (córtex pré-frontal medial, CPFM), Pz (córtex parietal medial, CPM) e Cz (córtex motor medial, CFM).

### *Análise estatística*

O desempenho dos sujeitos foi investigado por meio de um teste *t* pareado entre as condições placebo e bromazepam. Para análise das variáveis neurofisiológicas, foi utilizado uma *three-way* ANOVA de medidas repetidas com os fatores "condição" (repouso, placebo e bromazepam), "áreas" (CPFDL, CPPe, CTPe, CTPd, CPFM, CPM e CFM) e "períodos preparatórios do tiro" ( $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$  e  $t_4$ ). As interações de três fatores foram investigadas com *two-way* ANOVA de medidas repetidas, enquanto as interações de dois fatores foram investigadas pelo teste *t* de *student*, ou *one-way* ANOVA seguidos do teste de *post hoc*, quando necessário. Em adição, uma regressão logística binária foi utilizada para investigar a associação entre o uso do bromazepam (variável dependente) e a potência absoluta do EGG nas áreas corticais e nos períodos preparatórios do tiro (variáveis independentes).

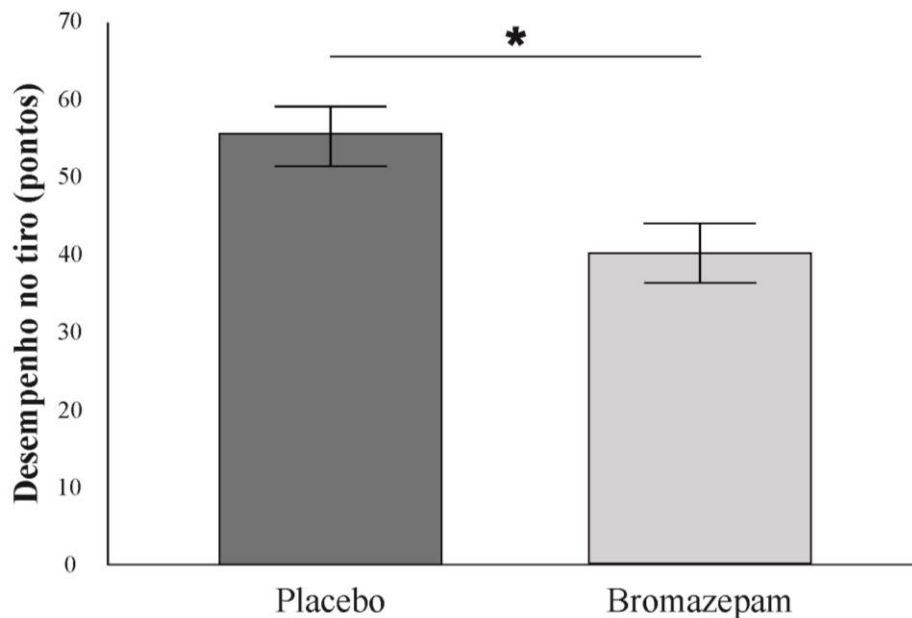
Uma abordagem univariada com correção de Greenhouse-Geisser ( $\hat{\epsilon}$ ) para corrigir os graus de liberdade da distribuição F e parcial ao quadrado ( $\eta^2p$ ) foi utilizada como uma medida de força de associação para a análise de medidas repetidas e com *d* de Cohen para o teste *t* de Student. A potência estatística e o intervalo de confiança de 95% (IC 95%) foram calculados para as variáveis dependentes. O poder estatístico foi interpretado como: baixa potência de 0,1 a 0,3; alta potência de 0,8 a 0,9. A magnitude do efeito foi interpretada utilizando as recomendações sugeridas por Cohen (1988): insignificante  $< 0,19$ ; pequeno de 0,20 a 0,49; médio de 0,50 a 0,79; grande de 0,80 a 1,29. A probabilidade de 5% para o erro do tipo I foi adotada em todas as análises ( $p \leq 0,05$ ), com correção de alfa-Bonferroni para as

análises da interação, ajustando o valor para  $p \leq 0,025$ . As análises foram conduzidas no SPSS para Windows versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## Resultados

### *Desempenho na tarefa*

Os achados revelaram que o uso agudo do bromazepam exerceu efeito médio no desempenho dos sujeitos na tarefa de tiro [ $t(26) = 2,527$ ,  $p = 0,018$ ,  $d = 0,5$ ], levando os sujeitos ao menor número de acertos no alvo (Figura 1).



**Figura 1.** Desempenho dos sujeitos na tarefa de tiro ao alvo. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelo asterisco (\*).

### *Resultados eletrofisiológicos*

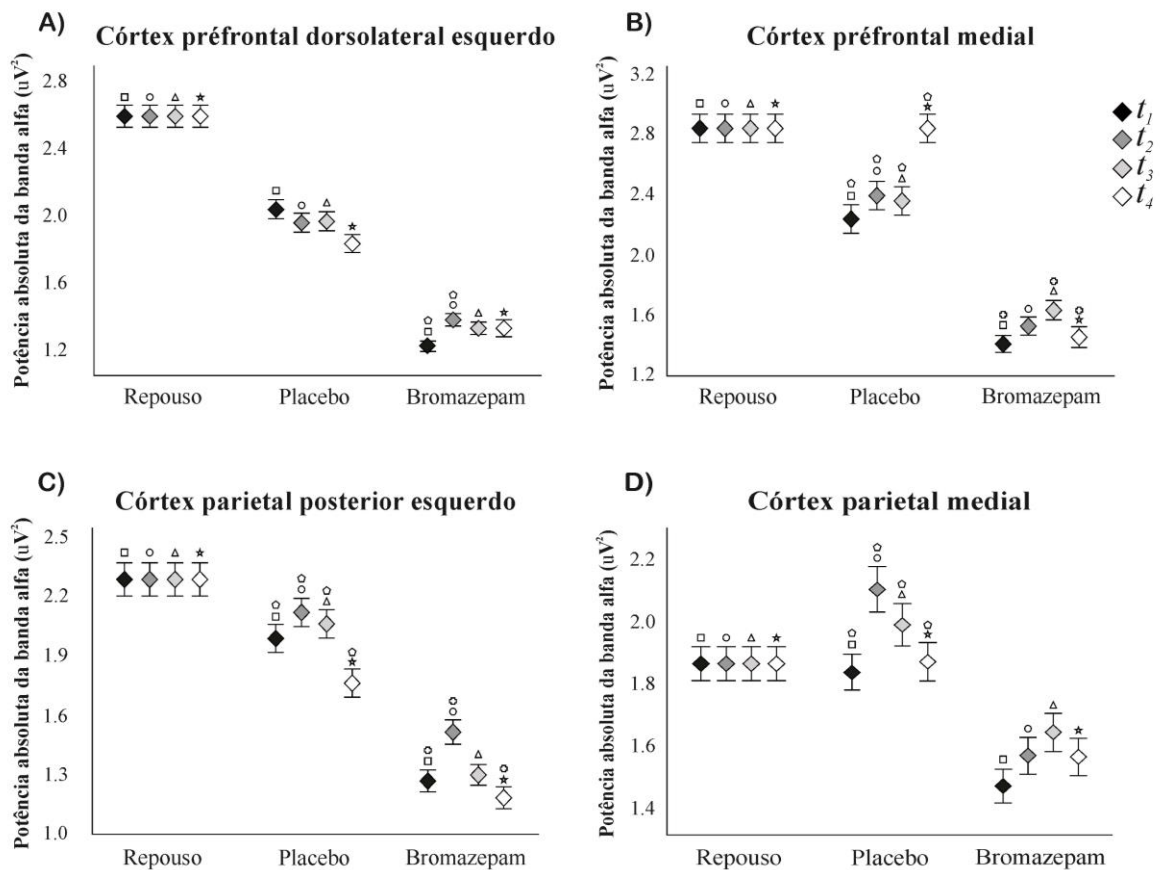
A *three-way* ANOVA de medidas repetidas apresentou interação entre os fatores condição, áreas e períodos preparatórios do tiro [ $F(21,646;2,685) = 8,06$ ;  $p < 0,001$ ;  $\eta^2 p = 0,03$ ; poder = 100%]. Ao analisar a interação, uma diferença estatística de mão dupla foi observada para condição e períodos preparatórios; condição e áreas ( $p < 0,001$ ) (Figura 2, 3 e 4). Esses achados indicam que o bromazepam diminuiu a potência absoluta da banda alfa em todas as áreas e períodos preparatórios do tiro ( $p < 0,001$ ). Por outro lado, ao analisar a interação entre

áreas e períodos preparatórios, observa-se que cada área cortical possui representatividade da potência alfa em intervalos de tempos específicos para a preparação do tiro ( $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$  e  $t_4$ ), em ambas as condições. Isso demonstra que a análise do EEG deveria ser observada em janelas de tempo maiores ( $p < 0,001$ ) (Figura 5 e Tabela 1).

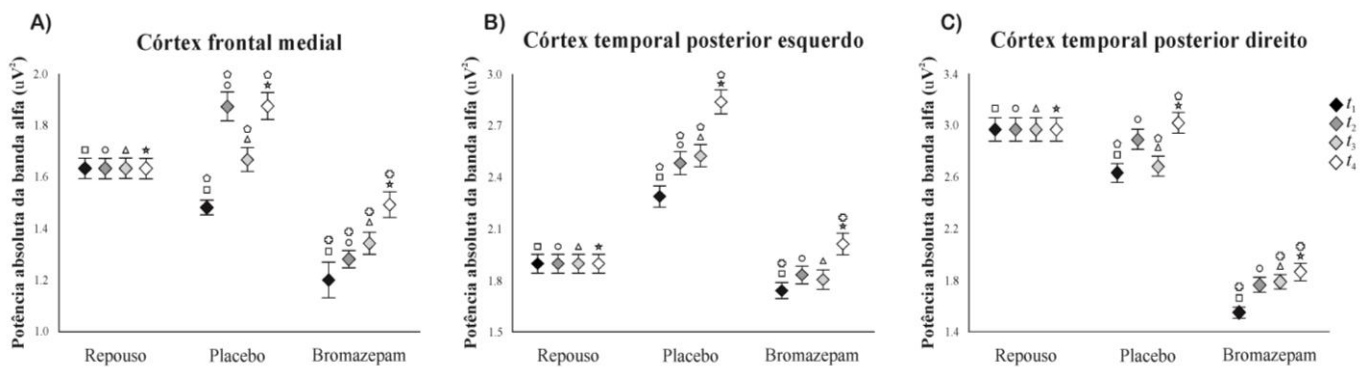
**Tabela 1.** Análise da interação dos fatores condição, áreas e períodos preparatórios do tiro.

Condição	$\hat{\epsilon}$	F	P	$\eta^2p$	Potência (%)
Repouso	61,877;5,761	10,740	,001*	0,01	90
Placebo	22,582;3,017	7,486	,001*	0,01	100
Bromazepam	43,087;1,837	23,460	,001*	0,05	100
Áreas	-	-	-	-	-
CPFDLe	4,785;1,236	3,872	,003*	0,01	92
CPPe	7,993;1,673	4,778	,001*	0,01	97
CTPe	14,540;2,741	5,305	,001*	0,01	98
CTPd	12,798;2,792	4,584	,001*	0,01	96
CPFM	46,848;5,765	8,127	,001*	0,01	99
CPM	15,916;1,996	7,975	,001*	0,01	100
CFM	173,778;1,547	112,359	,001*	0,13	100
Períodos	-	-	-	-	-
Preparatórios					
$t_1$	116,714;2,381	49,021	,001*	0,11	100
$t_2$	39,753;2,681	14,826	,001*	0,02	100
$t_3$	58,972;2,738	21,537	,001*	0,03	100
$t_4$	117,098;3,465	33,789	,001*	0,05	100

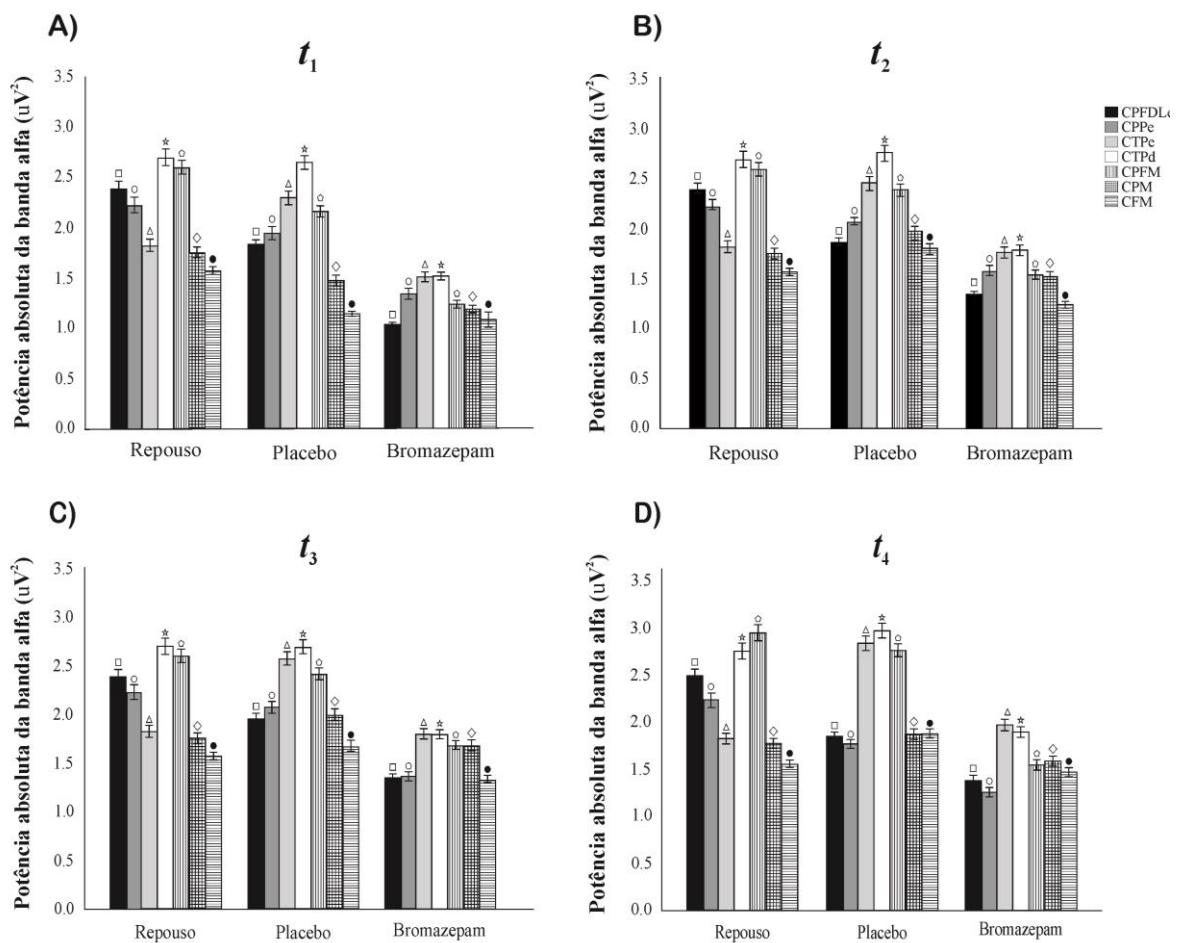
Nota: CPFDLe = Córtex prefrontal dorsolateral esquerdo; CPPe = Córtex parietal posterior esquerdo; CTPe = Córtex temporal posterior esquerdo; CTPd = Córtex temporal posterior direito; CPM = Córtex prefrontal medial; CPM = Córtex parietal medial; CFM = Córtex frontal medial.  $t_1 = 8$  a 6s;  $t_2 = 6$  a 4s;  $t_3 = 4$  a 2s e  $t_4 = 2$ s a 0. As diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) são representadas pelo asterisco (\*).



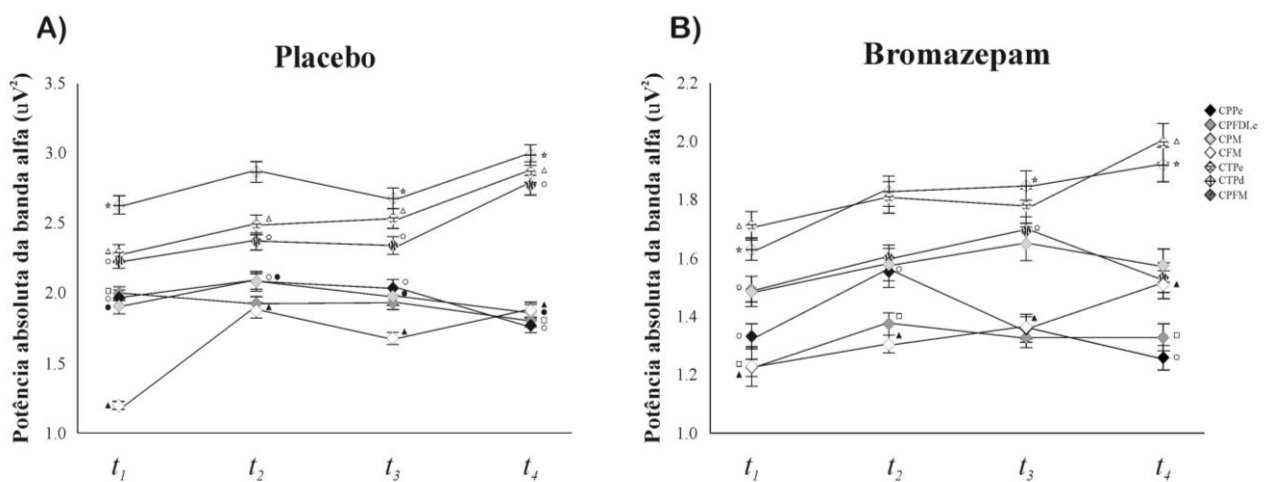
**Figura 2.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo (A), córtex pré-frontal medial (B), córtex parietal posterior esquerdo (C) e córtex parietal medial (D), mostrando as interações entre os períodos preparatórios para o tiro nas condições repouso, placebo e bromazepam. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelos símbolos.



**Figura 3.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa no córtex frontal medial (A), córtex temporal posterior esquerdo (B) e direito (C), mostrando as interações entre os períodos preparatórios para o tiro nas condições repouso, placebo e bromazepam. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelos símbolos.



**Figura 4.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa no  $t_1$  (A),  $t_2$  (B),  $t_3$  (C) e  $t_4$  (D), mostrando as interações entre as áreas corticais nas condições repouso, placebo e bromazepam. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as condições são representadas pelos símbolos.



**Figura 5.** Comportamento da potência absoluta da banda alfa nas condições placebo (A) e bromazepam (B), mostrando as interações entre os períodos preparatórios nas áreas corticais. As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os períodos preparatórios são representadas pelos símbolos.

*Associação do efeito do bromazepam nas áreas corticais*

O resultado da regressão demonstrou associação do bromazepam com as mudanças na atividade cortical do córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo, córtex pré-frontal medial, córtex frontal medial, córtex parietal posterior, córtex parietal medial e córtex temporal posterior bilateralmente nos diferentes períodos preparatórios do tiro (Tabela 2). O modelo de regressão foi estatisticamente significativo [ $\chi^2(28) = 1109,48$ ;  $p < 0,001$ ] e explicou 59% (Nagelkerke  $R^2$ ) da mudança na atividade cortical mediante a atuação do bromazepam, classificando corretamente o arranjo das variáveis neurofisiológicas em 82% dos casos. A sensibilidade do teste foi de 82,2% e a especificidade de 81,8% para a atuação do bromazepam na modulação da atividade cortical em cada período preparatório. O valor preditivo positivo de 81,9% e o valor preditivo negativo de 82,1% foram analisados a fim de confirmar o efeito do bromazepam na atividade cortical em relação aos períodos de preparação do tiro.

A análise da regressão demonstrou diminuição da atividade neurofisiológica nas áreas corticais na condição bromazepam, bem como oscilações na potência absoluta da banda alfa nos diferentes intervalos de tempo de preparação para o tiro ( $p < 0,05$ ). Isso é evidenciado pelos resultados significativos de associação do efeito do bromazepam e valores negativos dos coeficientes da regressão, com exceção do CFM que possui coeficiente de regressão positivo (Tabela 2).

**Tabela 2.** Associação entre o uso do bromazepam e as variáveis neurofisiológicas para cada período preparatório para o tiro.

Variáveis	B	SE	Wald	df	p	OD	95% IC Odds Ratio	
							Lower	Upper
CPFDLe <sub>t1</sub>	-0,45	0,07	38,23	1	0,001*	0,64	0,55	0,74
CPPe <sub>t1</sub>	-0,19	0,05	19,41	1	0,001*	0,82	0,75	0,89
CTPe <sub>t1</sub>	-0,01	0,05	0,08	1	0,771	0,98	0,90	1,08
CTPd <sub>t1</sub>	-0,26	0,05	21,88	1	0,001*	0,79	0,73	0,87
CPFM <sub>t1</sub>	-0,35	0,05	35,69	1	0,001*	0,72	0,65	0,80
CPM <sub>t1</sub>	-0,01	0,05	0,01	1	0,933	0,99	0,91	1,09
CFM <sub>t1</sub>	0,85	0,07	145,08	1	0,001*	2,33	2,03	2,67
CPFDLe <sub>t2</sub>	0,06	0,07	0,62	1	0,431	1,06	0,92	1,22

CPPe_t2	-0,07	0,04	3,05	1	0,081	0,93	0,86	1,01
CTPe_t2	-0,02	0,04	0,27	1	0,600	0,98	0,91	1,06
CTPd_t2	-0,18	0,04	18,88	1	0,001*	0,83	0,76	0,90
CPFM_t2	-0,17	0,06	8,39	1	0,004*	0,84	0,74	0,94
CPM_t2	0,13	0,05	6,15	1	0,013*	1,13	1,01	1,25
CFM_t2	-0,19	0,07	8,25	1	0,004*	0,82	0,72	0,94
CPFDLe_t3	-0,08	0,07	1,36	1	0,243	0,92	0,79	1,06
CPPe_t3	-0,21	0,05	22,57	1	0,001*	0,81	0,74	0,88
CTPe_t3	-0,04	0,04	1,18	1	0,278	0,96	0,88	1,04
CTPd_t3	-0,11	0,04	6,69	1	0,010*	0,89	0,82	0,97
CPFM_t3	-0,07	0,06	1,74	1	0,187	0,93	0,83	1,04
CPM_t3	0,17	0,05	13,10	1	0,001*	1,18	1,08	1,29
CFM_t3	-0,13	0,07	3,55	1	0,059	0,88	0,77	1,01
CPFDLe_t3	-0,05	0,05	1,07	1	0,306	0,95	0,86	1,05
CPPe_t4	-0,16	0,05	9,83	1	0,002*	0,85	0,77	0,94
CTPe_t4	-0,09	0,04	7,85	1	0,005*	0,91	0,85	0,97
CTPd_t4	-0,17	0,04	22,82	1	0,001*	0,84	0,78	0,90
CPFM_t4	-0,28	0,05	41,29	1	0,001*	0,75	0,68	0,82
CPM_t4	0,04	0,04	0,65	1	0,419	1,04	0,95	1,13
CFM_t4	-0,06	0,05	1,36	1	0,243	0,95	0,86	1,04

Abreviações: B = coeficiente de regressão; SE = erro padrão; df = grau de liberdade; OD = Odds Ratio. CPFDLe = córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo; CPPe = córtex parietal posterior esquerdo; CTPe = córtex temporal posterior esquerdo; CTPd = córtex temporal posterior direito; CPM = córtex parietal medial; CFM = córtex motor medial.  $t_1$  = tempo 1 (8 a 6s);  $t_2$  = tempo 2 (6 a 4s);  $t_3$  = tempo 3 (4 a 2s) e  $t_4$  = tempo 4 (2s a 0). As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) são representadas pelo asterisco (\*).

## Discussão

O estudo investigou as alterações ocasionadas pelo efeito do bromazepam no desempenho da tarefa de tiro ao alvo, bem como as possíveis modificações na atividade cortical demonstrada pela potência absoluta da banda alfa em quatro diferentes intervalos de tempo de preparação para o tiro, com a hipótese de que o uso agudo do bromazepam piora o desempenho na tarefa e diminui a potência absoluta de alfa nas áreas corticais. Além disso,



evidenciar que a extração de épocas do EEG deve ter uma maior janela de tempo para a análise mais precisa da atividade cortical durante a preparação do tiro.

Os achados demonstram que o desempenho na tarefa foi sensivelmente pior nos sujeitos na condição bromazepam (6mg). Alguns fatores farmacodinâmicos do bromazepam (i.e., meia vida do fármaco; concentração/dose-resposta, afinidade e interação com receptores GABAérgicos) indicam envolvimento no prejuízo do nível de atenção, que é essencial no desenvolvimento de estratégias visuomotoras e cognitivas exigidas na preparação para execução da tarefa. De fato, o uso agudo do bromazepam tem evidenciado maior esforço atento para manter a execução da tarefa (Gongora et al., 2014). Lucchesi et al. (2003) demonstraram que um fármaco com mesmo princípio ativo do bromazepam, flunitrazepam, interferiu no processo atento em tarefa de substituição de símbolos por dígitos, com diminuição da atenção sustentada e capacidade de atenção rápida, dessa forma, reduzindo a detecção do estímulo na tarefa de vigilância visual, com prejuízos nos estágios iniciais do processamento das informações e conseqüente atenuação no desempenho na tarefa (Leeuwen et al., 1991).

A hipótese de que o bromazepam diminui a potência da banda alfa nos períodos antes do *trigger* no gatilho da arma foi confirmada, com base no comportamento do ritmo alfa, de modo que indica uma amplitude inversamente relacionada à quantidade de neurônios corticais ativados durante processos perceptivos, cognitivos e motores (Hatfield et al., 1984; Haufler et al., 2000; Hillman et al., 2000; Kerick et al., 2001). Uma explicação para os achados na diminuição da banda alfa, pode estar associado ao bromazepam potencializar a inibição GABAérgica, por intermédio do influxo de cloreto induzido por GABA na subunidade  $\alpha 2$  do receptor GABA<sub>A</sub> no córtex frontal e parietal, bem como associações com o estriato-tálamo-cortical (Villar et al., 1990; Eoh et al., 2005; Muñoz-Torres et al., 2011; Lozano-Soldevilla et al., 2014; Alonso et al., 2015). Nesse sentido, o bromazepam modificou a sincronização de informações nas áreas corticais a partir de receptores sensoriais, e prejudicou a codificação dos estímulos visuomotores, uma vez que o BDZ resulta em diminuição do processamento das informações pertinentes a execução da tarefa cognitiva-motora mediante processamento visual (Leeuwen et al., 1991; Feshchenko et al., 1997; Schreckenberger et al., 2004; Ahveninen et al., 2007).

Semelhantemente, Lozano-Soldevilla et al. (2014) ao utilizarem lorazepam para observar o comportamento da atividade alfa em uma tarefa visuoespacial, encontraram menor potência em alfa, a qual foi relacionada ao aumento da inibição GABAérgica. De fato, o processamento de informações visuoespaciais com uso de lorazepam na tarefa de

mascamamento visual retroativo parece prolongar o processamento da informação visual e impedir a integração de neurônios sensíveis à posição e orientação espacial, o que leva a prejuízos na discriminação do alvo (Giersch e Herzog, 2004). Dessa maneira, o efeito do bromazepam no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo, córtex pré-frontal e frontal medial, indica que o fármaco causa prejuízos nas funções executivas, bem como na preparação, controle e execução dos movimentos envolvidos no preparo da tarefa de tiro. Prejuízos no planejamento da tarefa decorrentes do uso de BDZs podem aumentar o tempo de reflexão para realizar adequadamente a execução do tiro. Logo, este estudo sustenta que o bromazepam amplia o número de tentativas para desenvolver respostas precisas (Deakin et al., 2004), aumentando a latência para iniciar e reduzindo o desempenho da tarefa, podendo levar a déficits no planejamento e coordenação motora (Makaron et al., 2013).

Os achados no presente estudo indicam prejuízos na atenção, relacionada com o córtex temporal bilateralmente e córtex parietal posterior e medial, o que demonstra a interferência na transmissão e integração de diferentes informações sensoriais multimodais por meio do fármaco, prejudicando a geração de resposta motora correta para executar o tiro ao alvo (Muñoz-Torres et al., 2011). Araújo et al. (2011) corroboram com nossos achados, evidenciando interferências do bromazepam no córtex temporal bilateralmente e parietal, com redução da atenção espacial na tarefa visuomotora e prejuízo na comunicação e integração de diversas modalidades sensoriais.

Na preparação para o tiro, observou-se variações na atividade da potência de alfa nas áreas estudadas. Sugerimos que cada área cortical possui representatividade em intervalos de tempo específicos na preparação do tiro. As diferenças quanto aos tempos de preparação para o tiro podem ser sustentadas por meio dos estudos de Eagleman e Pariyadath (2009), Sadeghi et al. (2011) e Mayo e Sommer (2013) que evidenciaram medidas eletrofisiológicas na preparação para execução de tarefas cognitivas, consequência da magnitude da resposta neuronal dos intervalos visuais modulados com base nos níveis GABAérgicos. Neste contexto, os resultados eletrofisiológicos e comportamentais podem estar relacionados com a atenuação do processamento de estímulos pelo córtex visual (Muthukumaraswamy et al., 2009) ao ocorrer limitações de íons de cálcio durante a ativação dos receptores de GABA no córtex visual (Yizhar et al, 2011).

A atividade da banda alfa no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo foi mais evidenciada no  $t_1$ , no córtex parietal medial e posterior esquerdo em  $t_2$ , enquanto no córtex pré-frontal medial e temporal posterior bilateral no  $t_4$ . De fato, tem sido observado que no período preparatório de 7,5 a 8 segundos a potência da banda alfa na região temporal esquerda

umenta, enquanto na região homóloga permanece constante (Hatfield et al., 1984; Kerick et al., 2001). Haufler et al. (2000) encontraram o mesmo resultado no intervalo de seis segundos que antecede o *trigger* no gatilho, mas com redução da potência alfa em quatro segundos (Hatfield et al., 2013). Nesse contexto, os resultados indicam que as análises no EEG devem ser realizadas em janelas de tempo maiores, para que os eventos da atividade de cada área cortical sejam adequadamente interpretados. Por mais que alguns estudos realizem análise em janela de tempos maiores (Konttinen e Lyytinen, 1993; Loze et al., 2001; Domingues et al., 2008; Neumann e Thomas, 2011; Moore et al., 2012; Cooke et al., 2014), esse protocolo ainda não tem sido muito utilizado (Di Russo et al., 2005; Babiloni et al., 2008; Doppelmayr et al., 2008; Zhu et al., 2011; Gallicchio et al., 2016). Desse modo, destacamos que a escolha de intervalos de tempo com “janelas” maiores, conforme este estudo, podem demonstrar com maior especificidade a influência dos BDZs no preparo para a tarefa

O presente estudo apresenta algumas limitações. A primeira relaciona-se a não utilização de sujeitos do sexo feminino, que poderia demonstrar diferentes efeitos do bromazepam. Não utilizamos esta análise devido ao controle de vieses na interpretação do sinal do EEG pelas variações hormonais feminina. A segunda limitação refere-se a não utilização de instrumentos para avaliação da atenção e memória, os quais poderiam melhor sustentar nossos resultados. Por fim, a administração de dose única, baseando-se na dose/peso pode ter tido efeito na análise neurofisiológica, restringindo a relação dose-resposta aos nossos achados.

## **Conclusão**

O bromazepam diminui o desempenho da tarefa de tiro ao alvo e atividade da potência absoluta da banda alfa no córtex pré-frontal, córtex motor, córtex temporal e córtex parietal em diferentes intervalos de tempo na preparação para o tiro, demonstrando que as atividades nas áreas corticais podem ser representadas em momentos diferentes no intervalo pré-tiro em até 8 segundos. Neste sentido, o bromazepam resultou na diminuição do desempenho na tarefa de tiro. A utilização de janelas temporais maiores garantem melhor adequação interpretativa da atividade cortical relacionadas.

Este estudo oferece suporte para a compreensão dos efeitos do bromazepam associados a tarefa de tiro ao alvo. Contudo, estudos futuros com a utilização do bromazepam em janelas temporais maiores com a administração de dosagens intermediárias e associando a

eletroencefalografia com a ressonância magnética, poderão fornecer maior entendimento dos efeitos do bromazepam na atividade cerebral.

### **Lista de siglas**

BDZ – Benzodiazepínico

CFM – Córtex frontal medial

CPFDe – Córtex prefrontal dorsolateral esquerdo

CPFM – Córtex prefrontal medial

CPM – Córtex parietal medial

CPPe – Córtex parietal posterior esquerdo

CTPe – Córtex temporal posterior esquerdo

CTPd – Córtex temporal posterior direito

EEG – Eletroencefalografia

GABA – Ácido gama-aminobutírico

SNC – Sistema Nervoso Central

### **Declarações**

Nada a declarar.

### **Financiamento**

Não aplicável.

### **Disponibilidade de dados e material**

Não aplicável.

### **Contribuição dos Autores**

Concebeu e desenhou as experiências: IJLM, PR e ST. Realizou os experimentos: IJLM. Analizou os dados: IJLM, SC, VM e ST. Contribuiu com reagentes/materiais/ferramentas de análise: AB, VM, FM, RF, DG, BV, MC, VHB, FSJ e AST. Escreveu o artigo: IJLM, VM, FM e ST. Encabeçou a análise comportamental e eletrofisiológica: IJLM, PR e ST.

### **Aprovação ética e consentimento para participação**

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os protocolos e os regulamentos éticos estabelecidos pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (nº 1.610.197) e de acordo com os padrões éticos estabelecidos na Declaração de Helsinque de 1964.

### **Consentimento para publicação**

Não aplicável.

### **Conflitos de interesse**

Os autores declaram não ter interesses conflitantes.

### **Referências**

Ahveninen J, Lin FH, Kivisaari R, Autti T, Hamalainen M, Stufflebeam S, Belliveau JW, Kahkonen, S. MRI- constrained spectral imaging of benzodiazepine modulation of spontaneous neuromagnetic activity in human cortex. *Neuroimage* 2007; 35: 577–582.

Alonso JF, Romero S, Mañanas MA, Rojas M, Riba J, Barbanoj MJ. Evaluation of multiple comparison correction procedures in drug assessment studies using LORETA maps. *Med Biol Eng Comput* 2015; 53(10):1011-23.

Aprigio D, Adolfo W, Bittencourt J, Gongora M, Teixeira S, Basile LF, Budde H, Cagy M, Ribeiro P, Velasques B. Alpha power oscillation in the frontal cortex under Bromazepam and Modafinil effects. *Arq Neuropsiquiatr* 2015; 73(11):918-23.

Araújo F, Machado S, Paes F, Cunha M, Budde H, Cagy M, Basile LF, Arias-Carrión O, Velasques B, Piedade R, Ribeiro P. The effects of bromazepam over the temporo-parietal areas during the performance of a visuomotor task: a qEEG study. *Neurosci. Lett.* 2011; 496(2):116-120.

Babiloni C, Marzano N, Infarinato F, Iacoboni M, Rizza G, Aschieri P, Cibelli G, Soricelli A, Eusebi F, Del Percio C. Neural efficiency” of experts' brain during judgment of actions: a high-resolution EEG study in elite and amateur karate athletes. *Behav Brain Res* 2010; 207(2):466-475

Babiloni C, Capotosto P, Brancucci A, Del Percio C, Petrini L, Buttiglione M, Cibelli G, Romani GL, Rossini PM, Arendt-Nielsen L. Cortical alpha rhythms are related to the anticipation of sensorimotor interaction between painful stimuli and movements: a high-resolution EEG study. *J Pain* 2008; 9(10):902-911.

Bastos VH, Machado D, Cunha M, Portella CE, Cagy M, Furtado V, Piedade R, Ribeiro P. Medidas eletrencefalográficas durante a aprendizagem de tarefa motora sob efeito do bromazepam. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 2005; 63(2b):443-451.

Brauns I, Teixeira S, Velasques B, Bittencourt J, Machado S, Cagy M, Gongora M, Bastos VH, Machado D, Sandoval-Carrillo A, Salas-Pacheco J, Piedade R, Ribeiro P, Arias-Carrión O. Changes in the theta band coherence during motor task after hand immobilization. *Int Arch Med* 2014; 7:51.

Bourin M, Auget JL, Colombel MC, Larousse C. Effects of single oral doses of bromazepam, buspirone and clobazam on performance tasks and memory. *Neuropsychobiology*. 1989; 22(3):141-5.

Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. New York, NY: Routledge Academic 1988.

Cooke A, Kavussanu M, Gallicchio G, Willoughby A, McIntyre D, Ring C. Preparation for action: psychophysiological activity preceding a motor skill as a function of expertise, performance outcome, and psychological pressure. *Psychophysiology* 2014; 51(4):374-384.

Cunha M, Portela C, Bastos VH, Machado D, Machado S, Velasques B, Budde H, Cagy M, Basile L, Piedade R, Ribeiro P. Responsiveness of sensorimotor cortex during pharmacological intervention with bromazepam. *Neurosci. Lett*. 2008; 448:33-36.

Cunha M, Machado D, Bastos V, Ferreira C, Basile L, Cagy M, Piedade R, Ribeiro P. Neuromodulatory effect of bromazepam on motor learning: an electroencephalographic approach. *Neurosci. Lett*. 2006; 407:166-170.

Deakin JB, Aitken MR, Dowson JH, Robbins TW, Sahakian BJ. Diazepam produces disinhibitory cognitive effects in male volunteers. *Psychopharmacology* 2004; 173(1-2):88-97.

De Carvalho MR, Velasques BB, Freire RC, Cagy M, Marques JB, Teixeira S, Thomaz R, Rangé BP, Piedade R, Akiskal HS, Nardi AE, Ribeiro P. Frontal cortex absolute beta power measurement in Panic Disorder with Agoraphobia patients. *Journal of Affective Disorders* 2015; 176-181.

Deeny SP, Haufler AJ, Saffer M, Hatfield BD. EEG coherence during visuomotor performance: a comparison of cortico-cortical communication in expert and novice marksmen. *J. Mot. Behav*. 2009; 41:106-116.

Del Percio C, Iacoboni M, Lizio R, Marzano N, Infarinato F, Vecchio F, Bertollo M, Robazza C, Comani S, Limatola C, Babilonimn C. Functional coupling of parietal Alpha rhythms is enhanced in athletes before visuomotor performance: a coherence electroencephalographic study. *Neuroscience* 2011; 175(4):198-211.

Di Russo F, Pitzalis S, Aprile T, Spinelli D. Effect of practice on brain activity: An investigation into top level rifle shooters. *Medicine & Science in Sport & Exercise* 2005; 37:1586-1593.

Domingues CA, Machado S, Cavaleiro EG, Furtado V, Cagy M, Ribeiro P, Piedade R. Alpha absolute power: Motor learning of practical pistol shooting. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 2008; 66(2B):336-340.

Doppelmayr M, Finkenzeller T, Sauseng P. Frontal midline theta in the pre-shot phase of rifle shooting: differences between experts and novices. *Neuropsychology* 2008; 46(5):1463-1467.

Dubovik S, Ptak R, Aboulafia T, Magnin C, Gillabert N, Allet L, Pignat JM, Schnider A, Guggisberg AG. EEG alpha band synchrony predicts cognitive and motor performance in patients with ischemic stroke. *Behavioural Neurology* 2013; 26:187-189.

Eagleman DM, Pariyadath V. Is subjective duration a signature of coding efficiency? *Philos. Trans. R. Soc. B.* 2009; 364:1841-1851.

Eoh HJ, Chung MK, Kim SH. Electroencephalographic study of drowsiness in simulated driving with sleep deprivation. *Int. J. Ind. Ergon* 2005; 35:307-320.

Feshchenko VA, Veselis RA, Reinsel RA. Comparison of the EEG effects of midazolam, thiopental, and propofol: the role of underlying oscillatory systems. *Neuropsychobiology* 1997; 35:211-220.

Fortuna M, Teixeira S, Machado S, Velasques B, Bittencourt J, Peressutti C, Budde H, Cagy M, Nardi AE, Piedade R, Ribeiro P, Arias-Carrión O. Cortical Reorganization after Hand Immobilization: The beta qEEG Spectral Coherence Evidences. *PLoS One* 2013; 8(11):e79912.

Fortunato S, Tanaka G, Araújo F, Bittencourt J, Aprigio D, Gongora M, Teixeira S, Pompeu F, Cagy M, Basile LFH, Ribeiro P, Velasques B. The effects of bromazepam over the central and frontal areas during a motor task: an eeg study. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 2015; 73:321-329.

Fridman S, Machado S, Cunha M, Velasques B, Pompeu F, Budde H, Cagy M, Basile LF, Piedade R, Ribeiro P. Effects of bromazepam in frontal theta activity on the performance of a sensorimotor integration task: a quantitative electroencephalography study. *Neurosci Lett.* 2009; 451(3):181-4.

Gallicchio GA, Cooke C. Ring Lower left temporal-frontal connectivity characterizes expert and accurate performance: high-alpha T7-Fz connectivity as a marker of conscious processing during movement. *Sport Exerc. Perform. Psychol.* 2016; 5:14-24.

Giersch A, Herzog MH. Lorazepam strongly prolongs visual information processing. *Neuropsychopharmacology.* 2004; 29:1386-1394.

Hatfield BD, Constanzo ME, Goodman RN, Lo LC, Oh H, Rietschel JC, Saffer M, Bradberry TJ, Contreras-Vidal JL, Haufler A. The influence of social evaluation on cerebral cortical activity and motor performance: a study of “real-life” competition. *Int. J. Psychophysiol.* 2013; 90:240-249.

Hatfield BD, Landers DM, Ray WJ. Cognitive processes during self-paced motor performance: an electroencephalographic profile of skilled marksmen. *J Sport Psychol* 1984; 6:42-59.

Haufler AJ, Spalding TA, Santa Maria DL, Hatfield BD. Neuro-cognitive activity during a self-paced visuospatial task: Comparative EEG profiles in marksmen and novice shooters. *Biol Psychol* 2000; 53:131-160.

Hillman CH, Apparies RJ, Janelle CM, Hatfield BD. An electrocortical comparison of executed and rejected shots in skilled marksman. *Biological Psychology* 2000; 52(1):71-83.

Hobi V, Dubach UC, Skreta M, Forgo J, Riggensbach H. The effect of bromazepam on psychomotor activity and subjective mood. *J Int Med Res.* 1981; 9(2):89-97.

Janelle CM, Hillman CH, Apparies RJ, Murray NP, Melli L, Fallon EA, Hatfield BD. Expertise differences in cortical activation and gaze behaviour during rifle shooting. *J Sport Exerc Psychol* 2000; 22:167-182.

Kerick SE, Douglass LW, Hatfield BD. Cerebral cortical adaptations associated with visuomotor practice. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36:118-129.

Kerick SE, McDowell K, Hung TM, Santa Maria DL, Spalding TW, Hatfield BD. The role of the left temporal region under the cognitive motor demands of shooting in skilled marksmen. *Biol Psychol* 2001; 58:263-277.

Klimesch W, Sauseng P, Hanslmayr S. EEG alpha oscillations: the inhibition/timing hypothesis. *Brain Res Rev* 2007; 53: 63-88.

Konttinen N, Lyytinen H. Physiology of preparation: Brain slow waves, heart rate and respiration preceding triggering in rifle shooting. *International Journal of Sport Psychology* 1992; 23:110-127.

Kopp C, Rudolph U, Low K, Tobler I. Modulation of rhythmic brain activity by diazepam: GABA(A) receptor subtype and state specificity. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101: 3674-3679.

Leeuwen V, Verbaten M, Koelega H, Kenemans J, Slangen J. Effects of bromazepam on single-trial event-related potentials in a visual vigilante task. *Psychopharmacology* 1991; 106:555-564.

Leslie JC, McCabe C, Shaw D. Effects of the GABAergic drug zolpidem on extinction of mouse operant behaviour: implications for theories of the neural basis of extinction. *Irish Psychologist* 2003; 30:55.

Lozano-Soldevilla D, Ter Huurne N, Cools R, Jensen O. GABAergic modulation of visual gamma and alpha oscillations and its consequences for working memory performance. *Curr Biol.* 2014; 24(24):2878-87.

Loze GM, Collins D, Holmes PS. Pre-shot EEG alpha-power reactivity during expert air-pistol shooting: a comparison of best and worst shots. *J. Sports Sci.* 2001; 19(9):727-733.

Lucchesi LM, Pompéia S, Manzano GM, Kohn AF, Galduroz JC, Bueno OF, Tufik S. Flunitrazepam-induced changes in neurophysiological, behavioural, and subjective measures used to assess sedation. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27(3):525-33.



Machado D, Bastos VH, Cunha M, Velasques B, Machado S, Basile L, Cagy M, Piedade R, Ribeiro P. The effects of bromazepam on the performance of a sensory-motor activity: an electroencephalographic study. *Rev Neurol*. 2009; 49(6):295-9.

Makaron L, Moran CA, Namjoshi O, Rallapalli S, Cook JM, Rowlett JK. Cognition-impairing effects of benzodiazepine-type drugs: role of GABAA receptor subtypes in an executive function task in rhesus monkeys. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013; 104:62-8.

Mayo JP, Sommer MA. Neuronal correlates of visual time perception at brief timescales. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110(4):1506-11.

Montenegro M, Veiga H, Deslandes A, Cagy M, McDowell K, Pompeu F, Piedade R, Ribeiro P. Neuromodulatory effects of caffeine and bromazepam on visual event-related potential (P300): a comparative study. *Arq Neuropsiquiatr*. 2005; 63(2B):410-5.

Moore LM, Vine SJ, Cooke A, Ring C, Wilson MR. Quiet eye training expedites motor learning and aids performance under heightened anxiety: The roles of response programming and external attention. *Psychophysiology* 2012; 49:1005-1015.

Mottaz A, Solcà M, Magnin C, Corbet T, Schnider A, Guggisberg AG. Neurofeedback training of alpha-band coherence enhances motor performance. *Clin. Neurophysiol*. 2015; 126:1754-1760.

Muñoz-Torres Z, Del Río-Portilla Y, Corsi-Cabrera M. Diazepam-induced changes in EEG oscillations during performance of a sustained attention task. *J Clin Neurophysiol*. 2011; 28(4):394-9.

Muthukumaraswamy SD, Edden RA, Jones DK, Swettenham JB, Singh KD. Resting GABA concentration predicts peak gamma frequency and fMRI amplitude in response to visual stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 2009; 106:8356-8361.

Neumann DL, Thomas PR. Cardiac and respiratory activity and golf putting performance under attentional focus instructions. *Psychology of Sport and Exercise* 2011; 12:451-459.

Paes F, Machado S, Arias-Carrón O, Domingues CA, Teixeira S, Velasques B, Cunha M, Minc D, Basile LF, Budde H, Cagy M, Piedade R, Kerick S, Menéndez-González M, Skaper SD, Norwood BA, Ribeiro P, Nardi AE. Effects of Methylphenidate on performance of a practical pistol shooting task: a quantitative electroencephalography (qEEG) study. *Int. Arch. Med*. 2011; 4(1):6.

Palva S, Palva JM. New vistas for alpha-frequency band oscillations. *Trends in Neurosciences*. 2007; 30:150-158.

Pollok B, Boysen AC, Krause V. The effect of transcranial alternating current stimulation (tACS) at alpha and beta frequency on motor learning. *Behavioural Brain Research* 2015; 234-240.

Preskorn, SH. A way of conceptualizing benzodiazepines to guide clinical use. *J Psychiatr Pract* 2015; 21(6):436-41.

Ravenelle R, Neugebauer NM, Niedzielak T, Donaldson ST. Sex differences in diazepam effects and parvalbumin-positive GABA neurons in trait anxiety Long Evans rats. *Behav Brain Res* 2014; 270:68-74.

Ribeiro JA, Marinho FVC, Rocha K, Magalhães F, Baptista AF, Velasques B, Ribeiro P, Cagy M, Bastos VH, Gupta D, Teixeira S. Low-frequency rTMS in the superior parietal cortex affects the working memory in horizontal axis during the spatial task performance. *Neurol Sci*. 2018; 39(3):527-532.

Sadeghi NG, Pariyadath V, Apte S, Eagleman DM, Cook EP. Neural correlates of subsecond time distortion in the middle temporal area of visual cortex. *J Cogn Neurosci*. 2011; 23:3829-3840.

Salles JI, Bastos VH, Cunha M, Machado D, Cagy M, Furtado V, Basile LF, Piedade R, Ribeiro P. Efeitos neuromoduladores do bromazepam quando indivíduos são expostos a uma tarefa de aprendizagem motora: eletrencefalografia quantitativa (EEGq). *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 2006; 64(1):112-117.

Sampaio I, Puga F, Veiga H, Cagy M, Piedade R, Ribeiro P. The influence of bromazepam on cortical power distribution. *An Acad Bras Cienc*. 2008; 80:335-340.

Schreckenberger M, Lange-Asschenfeldt C, Lochmann M, Mann K, Siessmeier T, Buchholz HG, Bartenstein P, Gründer G. The thalamus as the generator and modulator of EEG alpha rhythm: a combined PET/EEG study with lorazepam challenge in humans. *Neuroimage*. 2004; 22(2):637-44.

Silva JG, Arias-Carrión O, Paes F, Velasques B, Teixeira S, Basile LF, Cagy M, Piedade R, Nardi AE, Machado S, Ribeiro P. Bromazepam impairs motor response: an ERSP study. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2011; 10(8):945-50.

Smith M, McEvoy LK, Gevins A. Neurophysiological indices of strategy development and skill acquisition. *Brain Res Cogn Brain Res* 1999; 7:389-404.

Stewart SA. The effects of benzodiazepines on cognition. *J Clin Psychiatry*. 2005; 66(suppl 2):9-13.

Villar HO, Davies MF, Loew GH, Maguire PA. Molecular models for recognition and activation at the benzodiazepine receptor: a review. *Life Sci*. 1991; 48:593-602.

Yizhar O, Fenno LE, Prigge M, Schneider F, Davidson TJ, O'Shea DJ, Sohal VS, Goshen I, Finkelstein J, Paz JT, Stehfest K, Fudim R, Ramakrishnan C, Huguenard JR, Hegemann P, Deisseroth K. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. *Nature* 2011; 477:171-178.

Zhu FF, Poolton JM, Wilson MR, Maxwell JP, Masters RSW. Neural co-activation as a yardstick of implicit motor learning and the propensity for conscious control of movement. *Biol. Psychol*. 2011; 87:66-73.

### 3.2 Artigo em Inglês

Apr 12, 2018

Editorial Office – Brain Structure and Function

Dear Editor-in-Chief,

I am enclosing herewith the manuscript entitled Bromazepam decreases alpha band absolute power and impairs shooting ability on account of the journal's high scientific quality standards. This manuscript has not been published or accept for publication elsewhere and is not currently under consideration at any other journal. For the Editors, I would like to disclose the following information about the study:

The current study has a goal to demonstrate that bromazepam acute use (6 mg) may impair target-shooting task performance and decreases alpha band absolute power in prefrontal, motor, temporal and parietal cortex in shooting preparatory period.

Authorship statement: All persons who participated in this manuscript have contributed significantly to the scientific development of the paper. All the authors have a substantial contribution. Moreover, all the authors participated in the paper-making process and approved the final version, wich is being submitted. All persons acknowledge that they have participated in the work to take responsibility for its content. Each participant agrees that this material has not been and will not be submitted to publish before its appearance in the Brain Structure and Function.

Sincerely,

Iris Moura

## **Bromazepam decreases alpha band absolute power and impairs shooting ability**

Iris Jordânia Luz Moura<sup>a,b\*</sup>, Daya Gupta<sup>c</sup>, Victor Marinho<sup>a,d</sup>, Kaline Rocha<sup>a,d</sup>, André Luiz Barbosa<sup>b,c</sup>, Severino Cavalcante<sup>b</sup>, Rhailana Fontes<sup>a</sup>, Pedro Ribeiro<sup>f</sup>, Bruna Velasques<sup>f</sup>, Mauricio Cagy<sup>f</sup>, Victor Hugo Bastos<sup>g</sup>, Fernando Silva-Junior<sup>a,f,g</sup>, Ariel Soares Teles<sup>a</sup>, Silmar Teixeira<sup>a,b,d</sup>

<sup>a</sup>Neuro-innovation Technology & Brain Mapping Laboratory, Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

<sup>b</sup>Masters Programs in Biotechnology, Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

<sup>c</sup>LAFFEX - Laboratory of Experimental Physiopharmacology, Biotechnology and Biodiversity Center Research (BIOTEC), Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

<sup>d</sup>The Northeast Biotechnology Network, Federal University of Piauí, Teresina, Brazil.

<sup>e</sup>Department of Biology, Camden County College, Blackwood, NJ, USA.

<sup>f</sup>Brain Mapping and Sensory Motor Integration Laboratory, Institute of Psychiatry of Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>g</sup>Brain Mapping and Functionality Laboratory, Federal University of Piauí, Parnaíba, Brazil.

**\*Corresponding author:** Iris Jordânia Luz Moura, Federal University of Piauí, Av. São Sebastião nº2819 – Nossa Sra. de Fátima – Parnaíba, PI, CEP: 64202-020, Brazil. Tel.: +55(86)999932668 - E-mail: iris\_j\_567@hotmail.com

## ABSTRACT

Background: Bromazepam, a benzodiazepine class (BZDs) drug, enhances the gamma-aminobutyric acid inhibitory actions in the Central Nervous System, and has been associated with the impairment in visuomotor tasks performance. In particular, the BZDs effects on target-precision tasks, such as target shooting, are still poorly understood. Aim: To investigate the effects of acute bromazepam use on shooting task performance and the absolute power of alpha band oscillations in cerebral cortex at four different time intervals corresponding to shooting preparation. Materials and Methods: A double-blind crossover study with a sample of 30 subjects with no training in target-shooting under two conditions: bromazepam (6mg) and placebo, and alpha band absolute power electroencephalographic analysis in the prefrontal, motor, temporal and parietal cortex concomitant with target shooting task execution. Results and Discussion: Bromazepam acute use has a significant effect on the shooting task performance, leading to fewer hits on the target ( $p < 0.001$ ). In addition, the alpha band absolute power decreases in the prefrontal, motor, temporal and parietal cortex in all shooting preparatory periods ( $p < 0.001$ ). Conclusion: Bromazepam effects in this study indicate interference with attention in visuomotor tasks, especially for entailing connection deficit and integration of several sensorial modalities, besides influencing the task execution, as it acts in the development of preparation strategies and decision making during target shooting.

**Keywords:** Bromazepam; Electroencephalography; Alpha Band; Shooting Task; Cerebral Cortex.

## 1. Introduction

Benzodiazepines (BZDs), belonging to a class of psychotropic drugs, potentiate inhibitory effect of gamma-aminobutyric acid (GABA), due to interactions with GABAergic receptors, in the Central Nervous System (CNS) (Kopp et al. 2004; Ravenelle et al. 2014), causing impairment in several cognitive domains, such as visuospatial and motor capacity, processing speed and verbal learning (Preskorn 2015; Stewart 2005). In particular, bromazepam is among the most prescribed and studied BZD because of its effects on the cortical areas related to cognitive and motor processes (Fortunato et al. 2015; Montenegro et al. 2005; Silva et al. 2011). In general, it has been observed bromazepam compromises sustained attention and sensory perception during visuomotor tasks, which leads to decreased engagement for task maintenance (Gongora et al. 2014), impairment in the early stages of sensorimotor integration (Bourin et al. 1989; Cunha et al. 2008; Fridman et al. 2009; Leeuwen et al. 1991) and impaired multimodal sensory information integration, slowing the motor and cognitive mechanisms (Araújo et al. 2011). On the other hand, useful pharmacological effects of bromazepam are related to decreased mental tension and anxiety (Bastos et al. 2005; Hobi et al. 1981; Sampaio et al. 2008), which could lead to increased attention focus and decreased mental effort for better performance in motor tasks (Apriglio et al. 2015; Cunha et al. 2006; Machado et al. 2009).

Although bromazepam have been used in several studies, its effects include contradictions in target precision tasks, such as target shooting, which requires cognitive and motor accuracy associated to attention and fine motor control at the pull of the trigger (Deeny et al. 2009; Hatfield et al. 2013; Janelle et al. 2000; Kerick et al. 2004). In this case, bromazepam effects could interfere with cognitive processes in the period prior to the triggering of the weapon, which is characterized by a high attention on the target for increased stability during crosshairs (Babiloni et al. 2010; Del Percio et al. 2011; Loze et al. 2001). This has been corroborated in electroencephalography (EEG) analysis with a longer time window during shooting preparatory period. For instance, Kerick et al. (2001) demonstrated an increase in the absolute power in alpha band in the left temporal region in an eight seconds interval before the trigger, while Haufler et al. (2000) found the same result in a six seconds interval. However, in a time interval less than four seconds was observed alpha band absolute power reduction (Hatfield et al. 2013). Although EEG is widely used to investigate cortical activity changes during motor-cognitive tasks execution, differences in the ideal time window

for electroencephalographic analysis of performance of cognitive-motor tasks, demanding precision during shooting tasks, were found.

EEG analysis using the frequency bands has made it possible to analyze BZDs effects on cortical activity (Aprigio et al. 2015; Domingues et al. 2008; Paes et al. 2011; Salles et al. 2006). Alpha band absolute power analyses have been previously used to study the attentional demand, planning, and motor response execution in relation to target shooting (Hatfield et al. 1984; Haufler et al. 2000; Kerick et al. 2001; Smith et al. 1999), sensitivity to variations of perception, cognition, and motor action (Dubovik et al. 2013; Klimesch et al. 2007; Mottaz et al. 2015; Palva and Palva 2007; Pollok et al. 2015).

Therefore, this study is designed to investigate bromazepam induced changes in the target-shooting task performance, as well as the related changes in alpha band absolute power activity in the cerebral cortex at four-time intervals associated with shooting preparation. Thus, worse task performance, after the acute use of bromazepam, is expected to relate to a decrease in alpha band absolute power in the cortical areas being studied. In addition, we larger temporal window in the time intervals analysis of the encephalogram that precedes the task.

## **2. Materials and methods**

### *2.1. Subjects*

Sixty male right-handed subjects aged 20 to 30 years old with no shooting skills were selected. All subjects underwent a medical evaluation to exclude those with neurological or motor diseases that would impair the task performance as well as any contraindications to the bromazepam ingestion. Furthermore, the use of any substance that acts to inhibit or stimulate brain activity (e.g., tobacco, coffee, alcoholic beverages, caffeine-containing foods, and medications use) was banned 14 hours before or during the study period (Fortunato et al. 2015; Ribeiro et al. 2018). After selection, 22 subjects did not meet the study eligibility criteria. Thus, 38 patients were randomized to a 1:1 rate, double-blind for two conditions in the following sequence: 19 subjects starting in the bromazepam condition and finishing in the placebo condition and others 19 subjects starting in the placebo condition and finishing in the bromazepam condition. Of the 38 subjects, 8 did not perform the study: 6 did not complete the task and 2 refused to take the capsule. Finally, 30 subjects with mean age  $\pm$  standard deviation =  $22 \pm 3$  years completed the study. All subjects understood and signed the Term of

Free and Informed Consent. The experiment was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Piauí (No. 1.610.197) in accordance with the Ethics in Human Research Criteria included in the Helsinki Declaration.

## *2.2. Experimental procedures*

In this study, effects of single dose administration of bromazepam (6mg) on the target-shooting task performance and the alpha band absolute power in the prefrontal, motor, temporal and parietal cortex were analyzed. Subjects received 2 days of treatment with a 7-day washout. Each subject was asked to rest for an hour and a half after capsule ingestion (placebo or bromazepam). EEG was acquired in subjects in resting state and during the task, organized in six blocks with five tracks per block. Each track corresponding to one shooting on target. A two-minute interval between each block was considered for the recovery of the active limb to avoid muscle fatigue. During the task performance, a height adjustable bracket was used to support the subjects' right arm to minimize muscle fatigue and EEG artifacts.

Subjects used an airsoft gun (Sig Sauer P226) adapted with an electromagnetic transducer module positioned behind the trigger, which connects the extra input channel to the EEG equipment through an RCA connector (Radio Corporation of America), which we term 'Trig In.' This device analyzes the cortical activity in the shooting preparatory period to delimit time intervals that precede the shooting. With protective goggles, subjects shooting the target were positioned at a five-meter distance, with the targets exchange performed after each block. A paper target (17x17cm) was attached to a support with a collection network (Swiss Arms) with six scoring scales. The points from five to seven were in the scales with white coloration at the extremities, and from eight to ten in the central black circle. At the task end, the hits number was counted.

## *2.3. Subjects performance*

The performance variable was obtained through subjects' performance in target shooting task. Each subject performed 30 shots, which were distributed in six blocks (five shots per block), being able to score to the maximum of 300 points.

## *2.4. Electroencephalographic measurements acquisition*



All subjects were accommodated in a room with sound insulation, electrical grounding, and low light. Subjects sat in an arm support chair to minimize muscle artifact during EEG signal acquisition. The continuous 20-channel EEG was recorded by Braintech 3000 amplifiers (EMSA-Medical Instruments, Brazil). The silver/silver chloride electrodes were positioned by an electrode lid equidistant by means of a nylon cap prefixed with the 10-20 international system, including the biauricular reference electrodes (SPES Medica Brasil). EEG electrodes impedance was kept below 5 K $\Omega$ . The acquired data had total amplitude of less than 100 $\mu$ V. The EEG signal was amplified with a gain of 22,000 Hz, analogously filtered between 0.01 Hz (high-pass) and 60 Hz (low-pass) with 240 Hz using the Data Acquisition software (Delphi 5.0). Then the EEG signals were processed by the Neurometrics Program (NxLink, Ltd., USA) and alpha band absolute power variables were extracted. EEGLab program was used to select the epochs of interest, remove artifacts and analyze possible topographic differences between conditions and pre-shooting periods.

### *2.5. Data processing*

EEG signal analysis was performed in the EEGLAB/MATLAB program. The preparatory period prior to the shooting, which was analyzed as pre-task epochs, comprised, 8s which was divided into time intervals of 8s to 6s ( $t_1$ ), 6s to 4s ( $t_2$ ), 4s to 2s ( $t_3$ ), and 2s to 0 ( $t_4$ ). Time zero corresponds to the trigger moment. Contaminated Extracts by muscular artifacts and ocular movements were excluded from the analysis using a rejection criterion of  $\pm 100$  Mv in any channel. Then, the Independent Component Analysis (ICA) was applied as previously done by Brauns et al. (2014), De Carvalho et al. (2015) and Fortuna et al. (2013). Electrode data that showed contact loss with scalp or high impedance ( $> 5K\Omega$ ) were excluded. A classical estimator was applied to the spectral power density, estimated from the Fourier Transform, which was performed by MATLAB (Matwords, Inc.). After removal of the artifacts, the remaining components were inserted back to recompose the electrode signal, where only the remaining epochs were the part of the subsequent signal processing and statistical analysis. These procedures were performed to analyze the alpha band absolute power in the electrodes leads F3, F4 (dorsolateral prefrontal cortex, DLPFC), F7, F8 (ventrolateral cortex, VLC), P3, P4 (posterior parietal cortex, PPC) C3, C4 (primary motor cortex, PMC), T3, T4 (posterior temporal cortex, PTC), Fz (medial prefrontal cortex, MPFC), Pz (medial parietal cortex, MPC) and Cz (medial frontal cortex, MFC).

## 2.6. Statistical analysis

The subjects' performance was analyzed by a paired t-test between the placebo and bromazepam conditions. For the neurophysiological variables analysis, a three-way repeated-measures analysis of variances (rmANOVA) with “condition” factors (resting state, placebo and bromazepam), “areas” (left DLPFC, left PPC, left PTC, right PTC, MPFC, MPC and MFC) and "shooting preparatory periods" ( $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$  and  $t_4$ ). Three factors interactions were investigated by two-way rmANOVA, while two factors interactions were investigated by the Student t-test, or one-way ANOVA followed by the *post hoc* test, if necessary. In addition, binary logistic regression was used to investigate the association between the bromazepam use (dependent variable) and EGG absolute power in cortical areas and in shooting preparatory periods (independent variables).

We used a univariate approach with Greenhouse-Geisser correction ( $\hat{\epsilon}$ ) in order to correct the degrees of freedom of the  $F$ -distribution; and partial  $\eta^2$  is reported as a measure of association strength to the repeated measures analysis and the Cohen's  $d$  for the Student t-test. Statistical power and the 95% confidence interval (95% CI) were calculated for the dependent variables. Statistical power was interpreted as low power from 0.1 to 0.3; high power from 0.8 to 0.9. Effect magnitude was interpreted using the recommendations suggested by Cohen (1988): insignificant  $<0.19$ ; small from 0.20 to 0.49; mean from 0.50 to 0.79; large from 0.80 to 1.29. The probability of 5% for type I error was adopted in all analyzes ( $p \leq 0.05$ ), with alpha-Bonferroni correction for the interaction analysis, adjusting the value for  $p \leq 0.025$ . Analyzes were conducted in SPSS for Windows version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 3. Results

### 3.1 Task performance

The findings revealed that the acute bromazepam use exerted an average effect on subjects' performance on shooting task [ $t(26) = 2.527$ ,  $p = 0.018$ ,  $d = 0.5$ ], leading subjects to the lowest target hit score (Fig 1).

### 3.2. Electrophysiological results

Three-way rmANOVA showed interaction between the condition factors, areas and shooting preparatory periods [ $F(21.646, 2.685) = 8.063$ ;  $p < 0.001$ ;  $\eta^2_p = 0.033$ ; power = 100%]. When analyzing the interaction, a double-handed statistical difference was observed for condition and preparatory periods; condition and areas ( $p < 0.001$ ) (Fig 2, 3 and 4). These findings indicate that bromazepam decreases alpha band absolute power in both cortical areas and shooting preparatory periods ( $p < 0.001$ ). On the other hand, when analyzing the interaction between areas and preparatory periods, it was observed that each cortical area has significant difference in alpha power represented in different shooting intervals time ( $t_1$ ,  $t_2$ ,  $t_3$  e  $t_4$ ), both in the placebo and bromazepam conditions ( $p < 0.001$ ). Thus, EEG analysis should be observed in longer time windows (Fig 5 and Table 1).

### 3.3. Bromazepam effect association in cortical areas

Regression result demonstrate effects of the acute use of bromazepam on cortical activity changes of the left dorsolateral prefrontal cortex, medial prefrontal cortex, medial frontal cortex, posterior parietal cortex, medial parietal cortex and posterior temporal cortex bilaterally during different shooting preparatory periods (Table 2). The regression model was statistically significant [ $\chi^2(28) = 1109.48$ ;  $p < 0.001$ ] and explained 59% (Nagelkerke  $R^2$ ) of the cortical activity change due to acute bromazepam use, and correctly classifying the arrangement of neurophysiological variables in 82% of the cases. The test sensitivity was 82.2% and the specificity of 81.8% for the bromazepam performance in the cortical activity modulation in each preparatory period. The positive predictive value of 81.9% and the negative predictive value of 82.1% were analyzed to confirm the bromazepam effect on cortical activity in relation to shooting preparation periods. Regression analysis showed a decrease in neurophysiological activity in cortical areas in bromazepam condition, as well as the alpha band absolute power oscillations at the different time intervals of shooting preparation ( $p < 0.05$ ). This was indicated by the significant results of bromazepam effect association and the regression coefficients negative values, except for CFM that has positive regression coefficient (Table 2).

## 4. Discussion

The study investigated the acute bromazepam effect on the target-shooting task performance, as well as the cortical changes in alpha band absolute power at four different

time intervals of shooting preparation, to test the hypothesis that the bromazepam acute use decreases both the task performance and alpha absolute power in the cortical areas. In addition, to demonstrate EEG epochs' extraction should have a longer time window for more accurate cortical activity analysis during the shooting preparation.

Findings demonstrated that task performance was significantly lower in subjects in the bromazepam condition (6mg). Some bromazepam pharmacodynamic factors (i.e., half-life of the drug, concentration/dose-response, affinity, and GABAergic receptors interaction) suggest the attention level impairment, which is essential in the visuomotor and cognitive strategies required in the preparation stage to carry out the task. In fact, during bromazepam acute use, greater attentive effort is required to maintain the task execution (Gongora et al. 2014). For instance, Lucchesi et al. (2003), demonstrated that flunitrazepam, a drug with bromazepam as the active ingredient, interfered with the attentive process in tasks, substituting symbols with digits, with impaired attention capacity, thus reducing the stimulus detection in visual impairment task, with losses in the initial stages of information processing and consequent attenuation in the task performance (Leeuwen et al. 1991).

The hypothesis that bromazepam decreases the alpha band power in the periods before pulling the trigger was confirmed, based on the alpha rhythm behavior, so that it indicates an amplitude inversely related to the number of cortical neurons activated during perceptual, cognitive and motor processes (Hatfield et al. 1984; Haufler et al. 2000; Hillman et al. 2000; Kerick et al. 2001).

Findings in the alpha band decrease may be associated with bromazepam to potentiate GABAergic inhibition through the chloride influx induced by GABA in the  $\alpha_2$  subunit of the GABA<sub>A</sub> receptor in the frontal and parietal cortex, as well as the striatum-thalamus-cortical associations (Alonso et al. 2015; Eoh et al. 2005; Lozano-Soldevilla et al. 2014; Muñoz-Torres et al. 2011; Villar et al. 1991). Moreover, alpha and other neural oscillations are important for the synchronization of information processing related to the various aspects of target-shooting task – motor and perceptual (Gupta and Chen 2016). Additionally, excessive GABAergic inhibition via GABA<sub>A</sub> receptor, resulting from the acute bromazepam use, which plays an important role in terminating the UP state of networks, can also terminate alpha oscillation (Mann et al. 2009). This can lead to both: a reduction in alpha power as well reduce the synchronization of information processing with adverse effects on target-shooting task.

In this sense, bromazepam alters the synchronization of information in cortical areas from sensory receptors, and impaired visuomotor stimuli coding, as its effects lead to a

decrease in a processing of information pertinent to cognitive-motor task execution through visual processing (Ahveninen et al. 2007; Feshchenko et al. 1997; Leeuwen et al. 1991; Schreckenberger et al. 2004). It is noteworthy that Lozano-Soldevilla et al. (2014) using lorazepam, observed decreased alpha band activity in visuospatial task, which was related to the increased GABAergic inhibition. In fact, visuospatial information processing using lorazepam in retroactive visual masking task seems to prolong visual information processing and to prevent the integration of the information about position and spatial orientation, which leads to impairments in target discrimination (Giersch and Herzog 2004). Thus, bromazepam effects on left dorsolateral prefrontal cortex, medial prefrontal cortex and medial frontal cortex indicate that the drug causes impairments in executive functions, as well as in preparation, control and execution of the movements involved in the shooting preparation task. Accordingly, the task planning losses resulting from BZDs use can increase the preparatory time to successfully carry out the shot. Therefore, this study supports the argument that bromazepam increases the efforts to develop accurate responses (Deakin et al. 2004), increasing the task latency, which may lead to the deficits in motor planning and coordination (Makaron et al. 2013).

The findings of this study indicate impairments in attention, related to the findings in the posterior temporal cortex bilaterally and to posterior parietal cortex and medial parietal cortex. This demonstrates interference with transmission between brain regions as well as the multimodal sensory information integration due to drug use, which impairs the generation of correct motor response for executing target-shooting task (Muñoz-Torres et al. 2011). Araújo et al. (2011) showed that bromazepam produces changes in the temporal cortex and parietal bilaterally, with reduced spatial attention in visuomotor tasks and impairments in communication and integration of several sensorial modalities.

In shooting preparation, variations in alpha power activity were observed in the studied brain areas. This suggests that each cortical area has representative activities at specific time intervals in shooting preparation. Shooting preparation times differences can be sustained Eagleman and Pariyadath (2009), Mayo and Sommer (2013) and Sadeghi et al. (2011) by showing that electrophysiological measures in performing cognitive tasks preparation may be a consequence of the magnitude of neuronal response of modulated visual intervals based on GABAergic levels. In this context, electrophysiological and behavioral results may be related to the stimuli processing attenuation by visual cortex (Muthukumaraswamy et al. 2009) when calcium ion limitations occur during GABA receptors activation in visual cortex (Yizhar et al. 2011).

It was observed that the alpha band activity in left dorsolateral prefrontal cortex is more evident in  $t_1$ , in medial and posterior left parietal cortex in  $t_2$ , whereas in medial prefrontal cortex and bilateral posterior temporal cortex in  $t_4$ . Indeed, it has been observed in preparatory period from 7.5 to 8 seconds that alpha band power in left temporal region increases, while in the homologous regions remains constant (Hatfield et al. 1984; Kerick et al. 2001). Haufler et al. (2000), found same result in six-second interval before trigger, but alpha power reduction in four seconds (Hatfield et al. 2013). Therefore, the results indicate EEG analyzes can be performed in larger time windows, so activity events of each cortical area are properly interpreted. Although some studies carry out window analysis of larger intervals (Cooke et al. 2014; Domingues et al. 2008; Konttinen and Lyytinen 1992; Loze et al. 2001; Moore et al. 2012; Neumann and Thomas 2011), however, this protocol has not yet been widely used (Babiloni et al. 2008; Di Russo et al. 2005; Doppelmayr et al. 2008; Gallicchio et al. 2016; Zhu et al. 2011). We highlight time intervals choice with larger "windows", demonstrating with greater specificity the influence of BZDs in task preparation.

The present study has some limitations. The first one relates to the absence of female subjects, which could demonstrate different bromazepam effect. This study did not use female subjects due to the biases in EEG signal interpretation that may result from female hormonal variations. Second limitation refers to the lack of study of attention and memory. Finally, a single dose administration based on dose/weight may have had other effects on neurophysiological analysis, which could be only detected by a dose-response curve.

## **Conclusion**

Bromazepam decreases target shooting task performance and alpha band absolute power activity in the prefrontal cortex, motor cortex, temporal cortex, and parietal cortex at different time intervals in shooting preparation, demonstrating that activities of different cortical areas can represent different time points in pre-shooting interval for up to 8 seconds. Thus, bromazepam results in decreased shooting-task performance. The use of larger temporal windows ensures better interpretive adequacy of related cortical activities.

This study shows that bromazepam effects can help us understand preparatory period associated with target shooting task. However, future studies using bromazepam in larger temporal windows with the administration of intermediate dosages, and combining electroencephalography with magnetic resonance imaging will provide a better understanding of bromazepam effects on the brain activity.

**List of acronyms**

BZDs – Benzodiazepines

CNS – Central Nervous System

DLPFC – Dorsolateral prefrontal cortex

EEG – Electroencephalography

GABA – gamma-aminobutyric acid

MFC – Medial frontal cortex

MPC – Medial parietal cortex

MPFC – Medial prefrontal cortex

PPC – Posterior parietal cortex

PTC – Posterior temporal cortex

rmANOVA – repeated-measures ANOVA

**Contributors**

Conceived and designed the experiments: IJLM, PR, and ST. Performed the experiments: IJLM. Analyzed the data: IJLM, SC, VM and ST. Contributed reagents/materials/analysis tools: AB, VM, KR, RF, BV, MC, VHB, FSJ, and AST. Wrote the paper: IJLM, VM, KR, DG, and ST. Headed the behavioral and electrophysiological analysis: IJLM, PR, and ST.

**Conflict of Interest**

The authors declare that they have no conflict of interest.

**Declarations**

None declared.

**Acknowledgements**

No applicable.

**Funding**

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

**Availability of data and material**

Not applicable.

**Ethics approval and consent to participate**

All experimental procedures were performed according to protocols and ethical regulations established by the Research Ethics Committee of the Federal University of Piauí (No.1.610.197) and in accordance with ethical standards established in the Declaration of Helsinki of 1964.

**Consent for publication**

Not applicable.

**Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

**Figure's caption**

Figure 1: Subjects performance in target shooting task. Significant differences ( $p < 0.05$ ) between conditions are represented by symbols.

Figure 2: Alpha band absolute power behavior in left dorsolateral prefrontal cortex (A), medial prefrontal cortex (B), left posterior parietal cortex (C) and medial parietal cortex (D), showing interactions between shooting preparatory periods on resting state, placebo and bromazepam conditions. Significant differences ( $p < 0.05$ ) between conditions are represented by symbols.

Figure 3: Alpha band absolute power behavior in medial frontal cortex (A), left posterior temporal cortex (B) and right posterior temporal cortex (C), showing interactions between the shooting preparatory periods on resting state, placebo and bromazepam conditions. Significant differences ( $p < 0.05$ ) between conditions are represented by symbols.

Figure 4: Alpha band absolute power behavior in  $t_1$  (A),  $t_2$  (B),  $t_3$  (C) and  $t_4$  (D), showing interactions between cortical areas on resting state, placebo and bromazepam conditions. Significant differences ( $p < 0.05$ ) between conditions are represented by symbols.

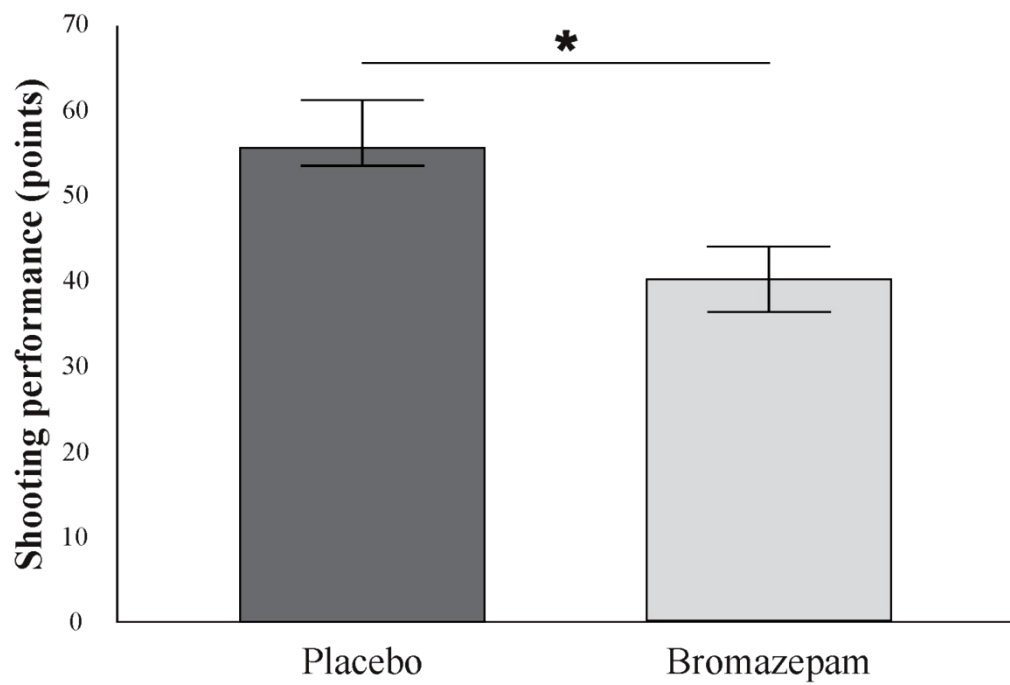
Figure 5: Alpha band absolute power behavior in placebo (A) and bromazepam (B) conditions, showing interactions between preparatory periods in cortical areas. Significant differences ( $p < 0.05$ ) between the preparatory periods are represented by symbols.

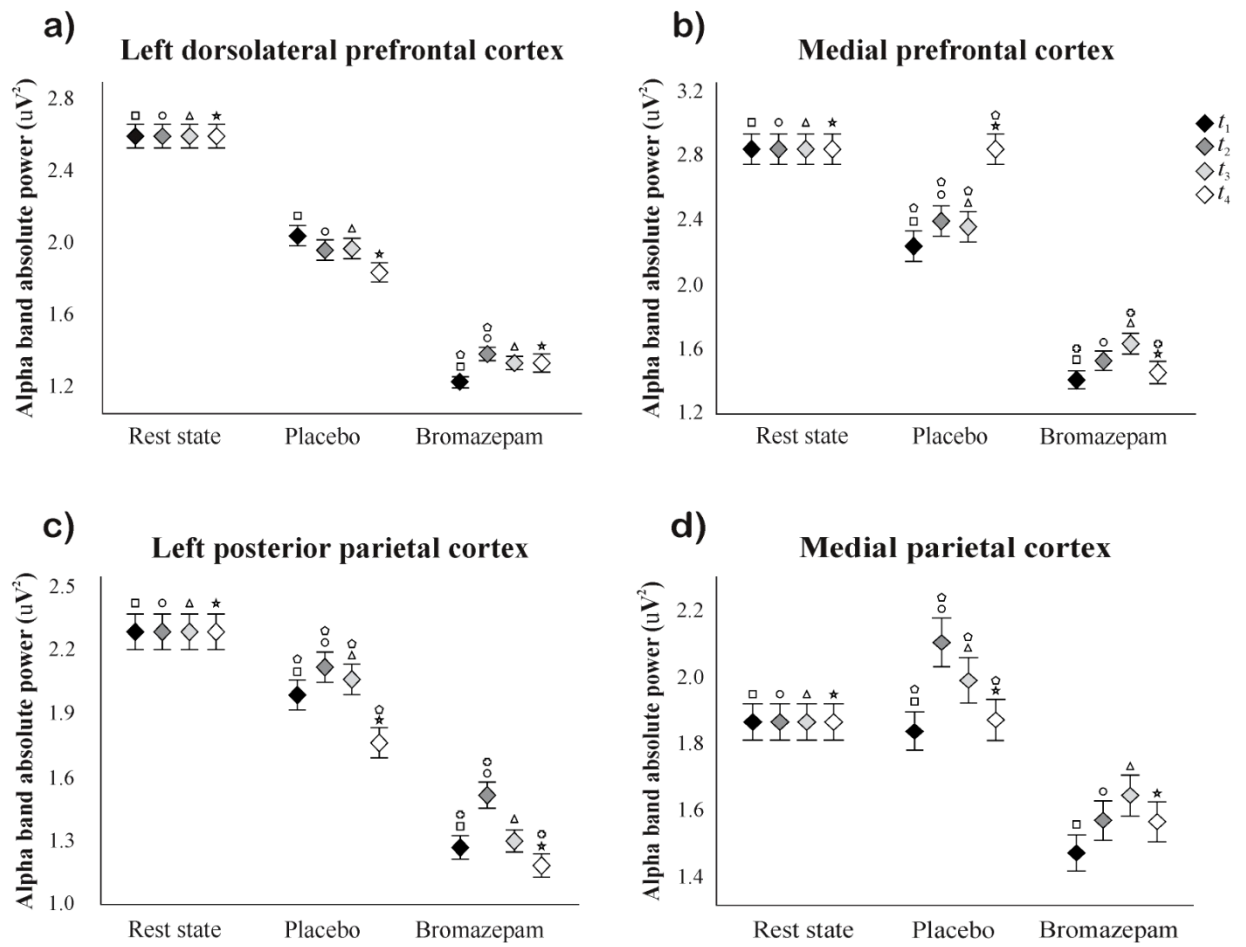


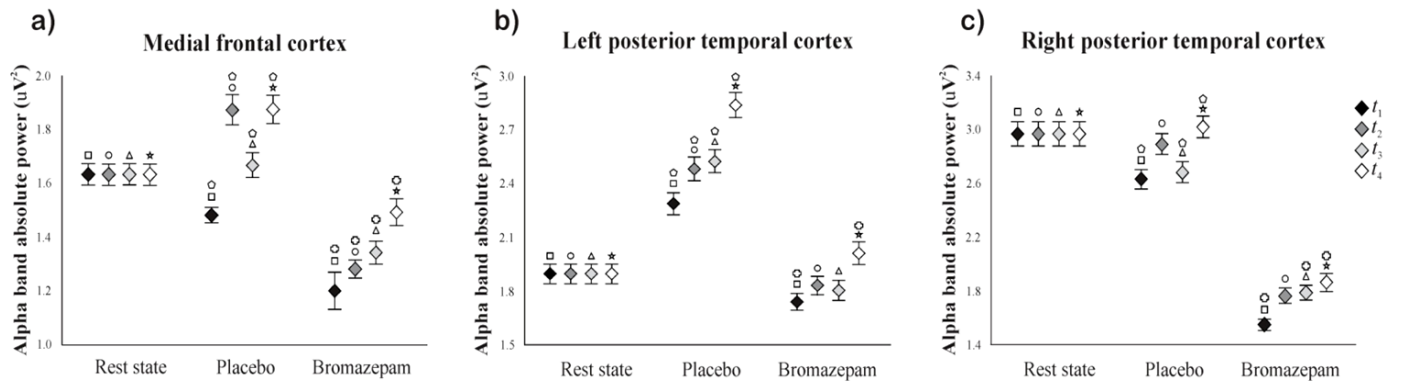
**Table's caption**

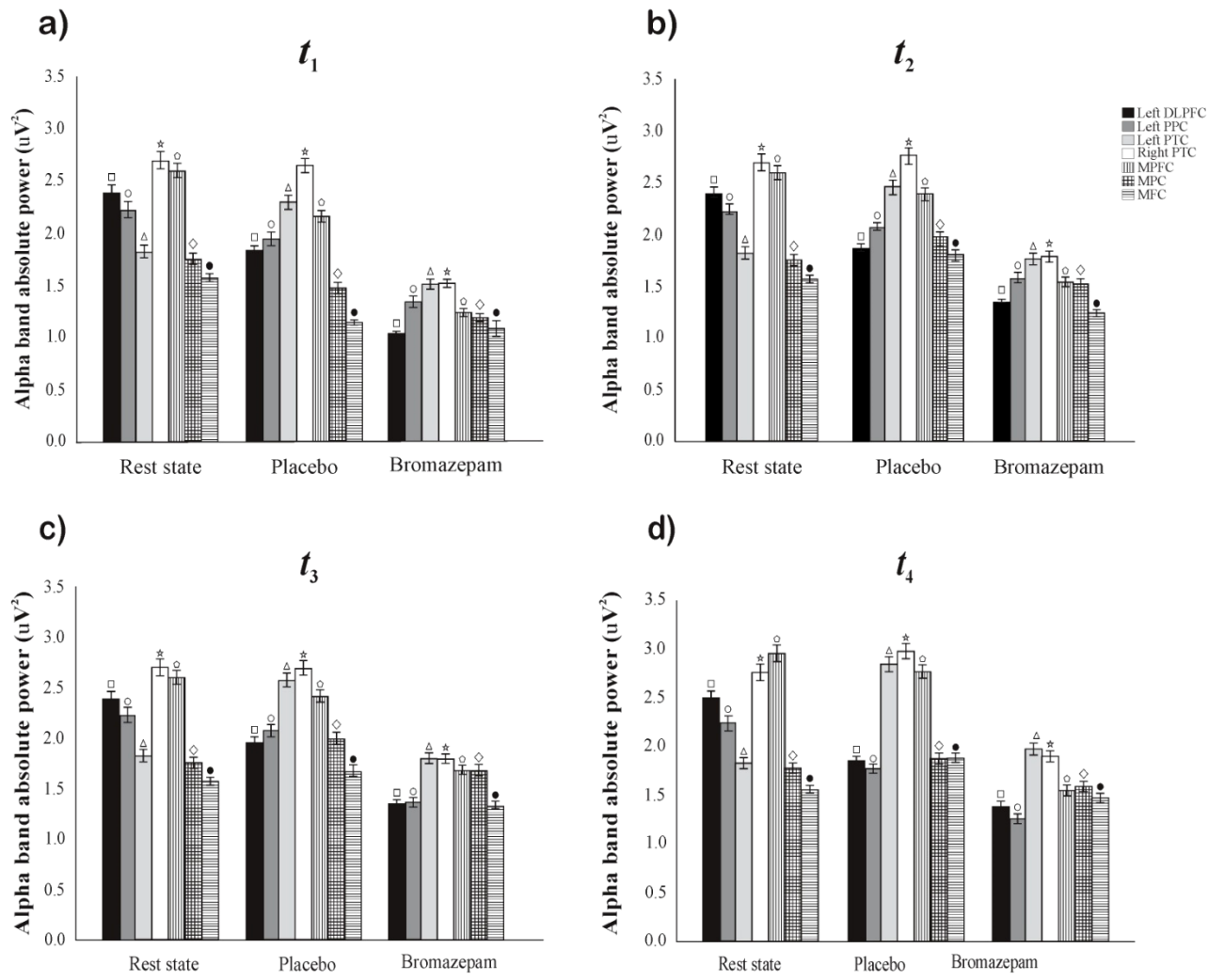
Table 1: Interaction analysis of condition, areas and shooting preparatory periods.

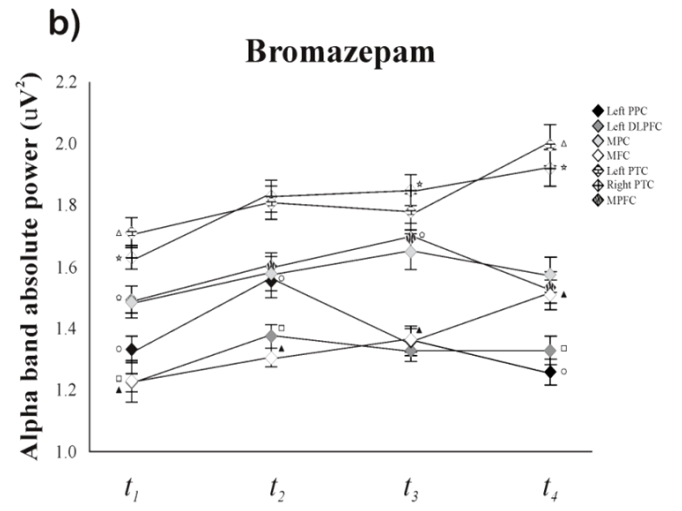
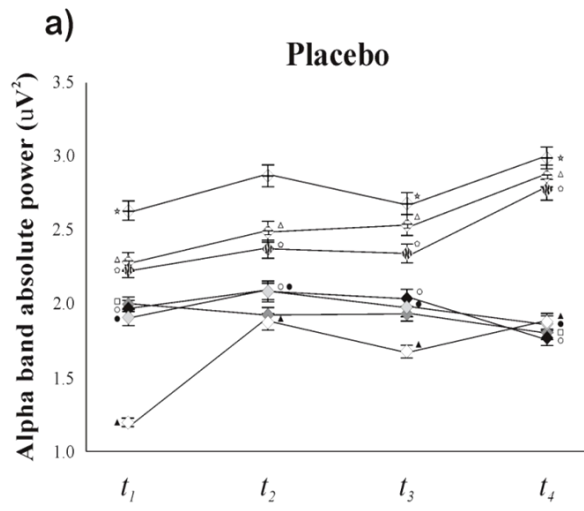
Table 2: Association between bromazepam use and neurophysiological variables for each shooting preparatory period.











Condition	$\hat{\epsilon}$	F	<i>p</i>	$\eta^2p$	Power (%)
Repouso	61.877,5.761	10.740	.001*	0.01	90
Placebo	22.582,3.017	7.486	.001*	0.01	100
Bromazepam	43.087,1.837	23.460	.001*	0.05	100
Areas	-	-	-	-	-
left DLPFC	4.785,1.236	3.872	.003*	0.01	92
left PPC	7.993,1.673	4.778	.001*	0.01	97
left PTC	14.540,2.741	5.305	.001*	0.01	98
right PTC	12.798,2.792	4.584	.001*	0.01	96
MPFC	46.848,5.765	8.127	.001*	0.01	99
MPC	15.916,1.996	7.975	.001*	0.01	100
MFC	173.778,1.547	112.359	.001*	0.13	100
Preparatory	-	-	-	-	-
Periods					
<i>t</i> <sub>1</sub>	116.714,2.381	49.021	.001*	0.11	100
<i>t</i> <sub>2</sub>	39.753,2.681	14.826	.001*	0.02	100
<i>t</i> <sub>3</sub>	58.972,2.738	21.537	.001*	0.03	100
<i>t</i> <sub>4</sub>	117.098,3.465	33.789	.001*	0.05	100

Note: DLPFC = Dorsolateral prefrontal cortex; PPC = Posterior parietal cortex; PTC = Posterior temporal cortex; MPFC = Medial prefrontal cortex; MPC = Medial parietal cortex; MFC = Medial frontal cortex. *t*<sub>1</sub> = 8 a 6s; *t*<sub>2</sub> = 6 a 4s; *t*<sub>3</sub> = 4 a 2s e *t*<sub>4</sub> = 2s a 0. Significant differences are represented by the asterisk (\*).

Variables	B	S.E	Wald	df	<i>p</i>	Odds Ratio	95% IC for OddsRatio	
							Lower	Upper
left DLPFC_t1	-0.45	0.07	38.23	1	0.001*	0.64	0.55	0.74
left PPC_t1	-0.19	0.05	19.41	1	0.001*	0.82	0.75	0.89
left PTC_t1	-0.01	0.05	0.08	1	0.771	0.98	0.90	1.08
right PTC_t1	-0.26	0.05	21.88	1	0.001*	0.79	0.73	0.87
MPFC_t1	-0.35	0.05	35.69	1	0.001*	0.72	0.65	0.80
MPC_t1	-0.01	0.05	0.01	1	0.933	0.99	0.91	1.09
MFC_t1	0.85	0.07	145.08	1	0.001*	2.33	2.03	2.67
left DLPFC_t2	0.06	0.07	0.62	1	0.431	1.06	0.92	1.22
left PPC_t2	-0.07	0.04	3.05	1	0.081	0.93	0.86	1.01
left PTC_t2	-0.02	0.04	0.27	1	0.600	0.98	0.91	1.06
right PTC_t2	-0.18	0.04	18.88	1	0.001*	0.83	0.76	0.90
MPFC_t2	-0.17	0.06	8.39	1	0.004*	0.84	0.74	0.94
MPC_t2	0.13	0.05	6.15	1	0.013*	1.13	1.01	1.25
MFC_t2	-0.19	0.07	8.25	1	0.004*	0.82	0.72	0.94
left DLPFC_t3	-0.08	0.07	1.36	1	0.243	0.92	0.79	1.06
left PPC_t3	-0.21	0.05	22.57	1	0.001*	0.81	0.74	0.88
left PTC_t3	-0.04	0.04	1.18	1	0.278	0.96	0.88	1.04
right PTC_t3	-0.11	0.04	6.69	1	0.010*	0.89	0.82	0.97
MPFC_t3	-0.07	0.06	1.74	1	0.187	0.93	0.83	1.04
MPC_t3	0.17	0.05	13.10	1	0.001*	1.18	1.08	1.29
MFC_t3	-0.13	0.07	3.55	1	0.059	0.88	0.77	1.01
left DLPFC_t3	-0.05	0.05	1.07	1	0.306	0.95	0.86	1.05
left PPC_t4	-0.16	0.05	9.83	1	0.002*	0.85	0.77	0.94
left PTC_t4	-0.09	0.04	7.85	1	0.005*	0.91	0.85	0.97
right PTC_t4	-0.17	0.04	22.82	1	0.001*	0.84	0.78	0.90
MPFC_t4	-0.28	0.05	41.29	1	0.001*	0.75	0.68	0.82
MPC_t4	0.04	0.04	0.65	1	0.419	1.04	0.95	1.13
MFC_t4	-0.06	0.05	1.36	1	0.243	0.95	0.86	1.04

Note: B = Regression coefficient; SE = Standard error; df = Degree of freedom; OD = Odds Ratio. DLPFC = Dorsolateral prefrontal cortex; PPC = Posterior parietal cortex; PTC = Posterior temporal cortex; MPFC = Medial prefrontal cortex; MPC = Medial parietal cortex; MFC = Medial frontal cortex..  $t_1 = 8$  a  $6s$ ;  $t_2 = 6$  a  $4s$ ;  $t_3 = 4$  a  $2s$  e  $t_4 = 2s$  a  $0$ . Significant differences are represented by the asterisk (\*).



### Referências Bibliográficas

AHVENINEN, J.; LIN, F.H.; KIVISAARI, R.; AUTTI, T.; HAMALAINEN, M.; STUFFLEBEAM, S.; BELLIVEAU, J.W.; KAHKONEN, S. MRI- constrained spectral imaging of benzodiazepine modulation of spontaneous neuromagnetic activity in human cortex. **Neuroimage**, 35:577-582, 2007.

ALONSO, J.F.; ROMERO, S.; MAÑANAS, M.A.; ROJAS, M.; RIBA, J.; BARBANOJ, M.J. Evaluation of multiple comparison correction procedures in drug assessment studies using LORETA maps. **Med Biol Eng Comput.**, 53(10):1011-23, 2015.

ALVARENGA, J.M.; LOYOLA FILHO, A.L.; FIRMO, J.O.; LIMA-COSTA, M.F.; UCHOA, E. Prevalence and sociodemographic characteristics associated with benzodiazepines use among community dwelling older adults: the Bambuí Health and Aging Study (BHAS). **Rev Bras Psiquiatr.**, 30(1):7-11, 2007.

ANDRESEN, H.; AUGUSTIN, C.; STREICHERT, T. Toxicogenetics - cytochrome P450 microarray analysis in forensic cases focusing morphine/codeine and diazepam. **Int J Med.**, 127(2):395-404, 2013.

ARAÚJO, F.; MACHADO, S.; PAES, F.; CUNHA, M.; BUDDE, H.; CAGY, M.; BASILE, L.F.; ARIAS-CARRIÓN, O.; VELASQUES, B.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. The effects of bromazepam over the temporo-parietal areas during the performance of a visuomotor task: a qEEG study. **Neurosci Lett.**, 496(2):116-120, 2011.

ASHTON, H. The diagnosis and management of benzodiazepine dependence. **Curr Opin Psychiatry**, 18(1):249-255, 2005.

AUCHEWSKI, L.; ANDREATINI, R.; GALDURÓZ, J.C.F.; LACERDA, R.B. Avaliação da orientação médica sobre os efeitos colaterais de benzodiazepínicos. **Rev Bras Psiquiatr.**, 26(1):24-31, 2004.

BALDWIN, D; AITCHISON, K.; BATESON, A.; CURRAN, H.V.; DAVIES, S.; LEONARD, B.; NUTT, D.J.; STEPHENS, D.N.; WILSON, S. Benzodiazepines: Risks and Benefits. A reconsideration. **J Psychopharmacol.**, 27(11):967-71, 2013.

BARKER, M.J.; GREENWOOD, K.M.; JACKSON, M.; CROWE, S.F. An evaluation of persisting cognitive effects after withdrawal from long-term benzodiazepine use. **J Int Neuropsychol Soc.**, 11(3):281-289, 2005.

BARTER, G.; CORMACK, M. The long-term use of benzodiazepines: patient's views, accounts and experiences. **Fam Pract.**, 13(1):491-497, 1996.

BASTOS, V.H.; MACHADO, D.; CUNHA, M.; PORTELLA, C.E.; CAGY, M.; FURTADO, V.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Medidas eletrencefalográficas durante a aprendizagem de tarefa motora sob efeito do bromazepam. **Arq Neuropsiquiatr.**, 63(2b):443-451, 2005.

BATESON, A.N. The benzodiazepine site of the GABA<sub>A</sub> receptor: na old target with a new potential?. **Sleep Medicine**, 5(1):S9-S15, 2004.

BATESON, A.N. Basic Pharmacologic Mechanisms Involved in Benzodiazepine Tolerance and Withdrawal. **Curr Pharm Des.**, 8(1):5-21, 2002.

BAUMANN, S.W.; BAUR, R.; SIGEL, E. Individual properties of the functional agonist sites in GABA<sub>A</sub> receptors. **J Neurosci.**, 23(35):11158-11166, 2003.

BEAUREGARD, M.; PAQUETTE, V. EEG activity in Carmelite nuns during a mystical experience. **Neurosci Lett.**, 444:1-4, 2008.

BERGER, A.; MYCHASKIW, M.; DUKES, E.; EDELSBERG, J.; OSTER, G. Magnitude of potentially inappropriate prescribing in Germany among older patients with generalized anxiety disorder. **BMC Geriatr.**, 9:31, 2009.

BOIXET, M.; BATLLE, E.; BOLIBAR, I. Benzodiazepines in primary health care: a survey of general practitioners prescribing patterns. **Addiction**, 91(4):549-556, 1996.

BOTTGER, D.; HERRMANN, C.S.; CRAMON, D.Y.V. Amplitude differences of evoked alpha and gamma oscillations in two different age groups. **Int J Psychophysiol.**, 45:245-251, 2002.

BOUCART, M.; DE VISME, P.; WAGEMANS, J. Effect of benzodiazepine on temporal integration in object perception. **Psychopharmacology**, 152:249-255, 2000.

BOURIN, M.; AUGET, JL.; COLOMBEL, M.C.; LAROUSSE, C. Effects of single oral doses of bromazepam, buspirone and clobazam on performance tasks and memory. **Neuropsychobiology**, 22(3):141-5, 1989.

BRETT, J.; MURNION, B. Management of benzodiazepine misuse and dependence. **Aust Prescr.**, 38(5):152-5, 2015.

BUSTO, U.E.; KAPLAN, H.L.; WRIGHT, C.E.; GOMEZ-MANCILLA, B.; ZAWERTAILO, L.; GREENBLATT, D.J. A comparative pharmacokinetic and dynamic evaluation of alprazolam sustained-release, bromazepam and lorazepam. **J Clin Psychopharmacol.**, 20(6):628-635, 2000.

CAHN, B.R.; POLICH, J. Meditation states and traits: EEG, ERP, and neuroimaging studies. **Psychol Bull**, 132:180-211, 2006.

CANTERO, J.L.; ATIENZA, M.; SALAS, R.M. Human alpha oscillations in wakefulness, drowsiness period, and REM sleep: different electroencephalographic phenomena within the alpha band. **Clin Neurophysiol.**, 32:54-71, 2002.

COELHO, F.M.S.; ELIAS, R.M.; POYARES, D.; PRADELLA-HALLIMAN, M.; BITTENCOURT, L.R.A.; TUFIK, S. Benzodiazepínicos: uso clínico e perspectivas. **Rev Bras Med.**, 63(5):196-200, 2006.

COOKE, A. Readying the head and steadying the heart: a review of cortical and cardiac studies of preparation for action in sport. **Int Rev Sport Exerc Psychol.**, 6:122-138, 2013.

Cook, J.M.; Biyanova, T.; Masci, C.; Coyne, J.C. Older Patient Perspectives on Long-Term Anxiolytic Benzodiazepine Use and Discontinuation: A Qualitative Study. **J Gen Intern Med.**, 22(1):1094-1100, 2007.

COOPER, N.R.; BURGESS, A.P.; CROFT, R.J.; GRUZELIER, J.H. Investigating evoked and induced electroencephalogram activity in task-related alpha Power increases during an internally directed attention task. **Neuroreport**, 17:205-208, 2006.

COULL, J.T.; MIDDLETON, H.C.; ROBBINS, T.W.; SAHAKIAN, B.J. Clonidine and diazepam have differential effects on tests of attention and learning. **Psychopharmacology**, 120:322-332, 1995a.

COULL, J.T.; MIDDLETON, H.C.; ROBBINS, T.W.; SAHAKIAN, B.J. Contrasting effects of clonidine and diazepam on tests of working memory and planning. **Psychopharmacology**, 120:311-321, 1995b.

CUNHA, M.; PORTELA, C.; BASTOS, V.H.; MACHADO, D.; MACHADO, S.; VELASQUES, B.; BUDDE, H.; CAGY, M.; BASILE, L.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Responsiveness of sensorimotor cortex during pharmacological intervention with bromazepam. **Neurosci Lett.**, 448:33-36, 2008.

CUNHA, M.; MACHADO, D.; BASTOS, V.; FERREIRA, C.; BASILE, L.; CAGY, M.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Neuromodulatory effect of bromazepam on motor learning: an electroencephalographic approach. **Neurosci Lett.**, 407:166-170, 2006.

DEAKIN, J.B.; AITKEN, M.R.; DOWSON, J.H.; ROBBINS, T.W.; SAHAKIAN, B.J. Diazepam produces disinhibitory cognitive effects in male volunteers. **Psychopharmacology**, 173(1-2):88-97, 2004.

DELL OSSO, B.; LADER, M. Do benzodiazepines still deserve a major role in the treatment of psychiatric disorders? A critical reappraisal. **Eur Psychiatry**, 28(1):7-20, 2013.

DEL PERCIO, C.; BABILONI, C.; BERTOLLO, M.; MARZANO, N.; IACOBONI, M.; INFARINATO, F.; LIZIO, R.; STOCCHI, M.; ROBAZZA, C.; CIBELLI, G.; COMANI, S.; EUSEBI, F. Visuo-attentional and sensorimotor alpha rhythms are related to visuo-motor performance in athletes. **Hum Brain Mapp.**, 30(11):3527-3540, 2009.

DEENY, S.P.; HAUFLER, A.J.; SAFFER, M.; HATFIELD, B.D. EEG coherence during visuomotor performance: a comparison of cortico-cortical communication in expert and novice marksmen. **J Mot Behav.**, 41:106-116, 2009.

DIAS, R.; SHEPPARD, W.F.A.; FRADLEY, R.L.; GARRETT, E.M.; STANLEY, J.L.; TYE, S.J. Evidence for a significant role of  $\alpha 3$ -containing GABA<sub>A</sub> receptors in mediating the anxiolytic effects of benzodiazepines. **J Neurosci.**, 25(46):10682-10688, 2005.

DI RUSSO, F.; PITZALIS, S.; APRILE, T.; SPINELLI, D. Effect of practice on brain activity: An investigation into top level rifle shooters. **Med Sci Sports Exerc.**, 37:1586A1593, 2005.

DOMINGUES, C.A.; MACHADO, S.; CAVALEIRO, E.G.; FURTADO, V.; CAGY, M.; RIBEIRO, P.; PIEDADE, R. Alpha absolute power: Motor learning of practical pistol shooting. **Arq Neuropsiquiatr.**, 66(2B):336-340, 2008.

DONOGHUE, J.; LADER, M. Usage of Benzodiazepines: A review. **Int J Psychiatry Clin Pract.**, 14(2):78-87, 2010.

DOPPLEMAYR, M.; KLIMESCH, W.; STADLER, W.; PÖLLHUBER, D.; HEINE, C. EEG alpha power and intelligence. **Intelligence**, 30:289-302, 2002.

DYBWAD, T.B.; KJØLSRØD, L.; ESKERUD, J.; LAERUM, E. Why are some doctors high-prescribers of benzodiazepines and minor opiates? A qualitative study of GPs in Norway. **Fam Pract.**, 14(5):361-368, 1996.

FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R. Medicações pré-anestésicas. **Rev Bras Anesthesiol.**, 151-158, 2002.

FESHCHENKO, V.A.; VESELIS, R.A.; REINSEL, R.A. Comparison of the EEG effects of midazolam, thiopental, and propofol: the role of underlying oscillatory systems. **Neuropsychobiology**, 35:211-220, 1997.

FINK, M. EEG and psychopharmacology. *Electroencephalogr.* **Clin Neurophysiol.**, 34:41-56, 1978.

FOREMAN, B.; CLAASSEN, J. Quantitative EEG for the detection of brain ischemia. **J Crit Care Med.**, 16(2)1-9, 2012.

FORTUNATO, S.; TANAKA, G.; ARAÚJO, F.; BITTENCOURT, J.; APRIGIO, D.; GONGORA, M.; TEIXEIRA, S.; POMPEU, F.; CAGY, M.; BASILE, L.F.H.; RIBEIRO, P.; VELASQUES, B. The effects of bromazepam over the central and frontal areas during a motor task: an eeg study. **Arq Neuropsiquiatr.**, 73:321-329, 2015.

FRIDMAN, S.; MACHADO, S.; CUNHA, M.; VELASQUES, B.; POMPEU, F.; BUDDE, H.; CAGY, M.; BASILE, L.F.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Effects of bromazepam in frontal theta activity on the performance of a sensorimotor integration task: a quantitative electroencephalography study. **Neurosci Lett.**, 451(3):181-4, 2009.

FRITSCHY, J.M.; MOHLER, H. GABA<sub>A</sub> receptor heterogeneity in the adult rat brain: differential regional and cellular distribution of seven major subunits. **J Comp Neurol.**, 359:154-194, 1995.

GARCÍA, A.F.; VIÑA, A.G.; MACHADO, M.A. Bases científicas para el uso de las benzodiazepinas. **Rev Cubana Med Gen Integr.**, 19(1), 2003.

GEBBER, G.L.; ZHONG, S.; LEWIS, C.; BARMAN, S.M. Human Brain alpha rhythm: Non linear oscillation or filtered noise?. **Brain Res Rev.**, 818:556-560, 1999.

GIERSCH, A.; HERZOG, M.H. Lorazepam strongly prolongs visual information processing. **Neuropsychopharmacology**, 29:1386-1394, 2004.

GINGRICH, K.J.; ROBERTS, W.A.; KASS, R.S. Dependence of the GABA receptor gating kinetics on the  $\alpha$ -subunit isoform: implications of structure-function relations and synaptic transmission. **J Physiol.**, 489(2):529-543, 1995.

GOLOMBOK, S.; MOODLEY, P.; LADER, M. Cognitive impairment in long-term benzodiazepine users. **Psychol Med.**, 18:365-374, 1988.

GONGORA, M.; PERESSUTI, C.; VELASQUES, B.; BITTENCOURT, J.; TEIXEIRA, S.; ARIAS-CARRIÓN, O.; CAGY, M.; RIBEIRO, P. Absolute Theta power in the frontal cortex during a visuomotor task: the effect of bromazepam on attention. **Clin EEG Neurosci.**, 46(4):292-8, 2014.

GRIEBEL, G.; PERRAULT, G.; SIMIAND, J.; COHEN, C.; GRANGER, P.; DECOBERT, M. SL651498: an anxiolytic compound with functional selectivity of  $\alpha$ 2- and  $\alpha$ 3-containing  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors. **JPET**, 298:753-768, 2001.

GUEORGUIEVA, I.; NESTEROV, I.; ROWLAND, M. Fuzzy simulation of pharmacokinetic models: case study of whole body physiologically based model of diazepam. **J Pharmacokinetic Pharmacodyn.**, 31(3):185-213, 2004.

HAEFELY, W. The biological basis of benzodiazepine actions. **J Psychoactive Drugs**, 15(1-2):19-39, 1983.

HALLFORS, D.D.; SAXE, L. The dependence potential of short half-life benzodiazepines: a meta-analysis. **Am J Public Health**, 83(9):1300-4, 1993.

HÄMÄLÄINEN, M.; HARI, R.; ILMONIEMI, R.J.; KNUUTILA, J.; LOUNASMAA, O.V. Magnetoencephalography - theory, instrumentation, and applications to noninvasive studies of the working human brain. **Rev Mod Phys.**, 65:413-497, 1993.

HATFIELD, B.D.; HAUFLER, A.J.; HUNG, T.M.; SPALDING, T.W. Electroencephalographic studies of skilled psychomotor performance. **J Clin Neurophysiol.**, 21:144-156, 2004.

HATFIELD, B.D.; LANDERS, D.M.; RAY, W.J. Cognitive processes during self-paced motor performance: an electroencephalographic profile of skilled marksmen. **J Sport Psychol.**, 6:42-59, 1984.

HAUFLER, A.J.; SPALDING, T.A.; SANTA MARIA, D.L.; HATFIELD, B.D. Neurocognitive activity during a self-paced visuospatial task: Comparative EEG profiles in marksmen and novice shooters. **Biol Psychol.**, 53:131-160, 2000.

HOLLBROK, A.M.; CROWTHER, R.; LOTTER, A.; CHENG, C.; KING, D. Metaanalysis of benzodiazepines use in the treatment of insomnia. **CMAJ**, 162(2):225-233, 2000.

HOWARD, P.; TWYLCROSS, R.; SHUSTER, J.; MIHALYO, M.; WILCOCK, A. Therapeutic Reviews: Benzodiazepines. **J Pain Symptom Manage.**, 47(5): 955-964, 2014.

JACOBS, G.D.; FRIEDMAN, R. EEG spectral analysis of relaxation techniques. **Appl Psychophysiol Biofeedback**, 29:245-254, 2004.

JANHSEN, K.; ROSER, P.; HOFFMANN, K. The problems of long-term treatment with benzodiazepines and related substances – prescribing practice, epidemiology and the treatment of withdrawal. **Dtsch Arztebl Int.**, 112:1-7, 2015.

JOHNSON, L.C.; CHERNIK, D.A. Sedative-hypnotics and human performance. **Psychopharmacology**, 76:101-113, 1982.

KERICK, S.E.; DOUGLASS, L.W.; HATFIELD, B.D. Cerebral cortical adaptations associated with visuomotor practice. **Med Sci Sports Exerc.**, 36:118-129, 2004.

KERICK, S.E.; MCDOWELL, K.; HUNG, T.M.; SANTA MARIA, D.L.; SPALDING, T.W.; HATFIELD, B.D. The role of the left temporal region under the cognitive motor demands of shooting in skilled marksmen. **Biol Psychol.**, 58:263-277, 2001.

KLIMESCH, W.; SAUSENG, P.; HANSLMAYR, S. EEG alpha oscillations: the inhibition/timing hypothesis. **Brain Res Rev.**, 53:63-88, 2007.

KOELEGA, H.S. Benzodiazepines and vigilance performance: a review. **Psychopharmacology**, 98:145-156, 1989.

KOPP, C.; RUDOLPH, U.; LOW, K.; TOBLER, I. Modulation of rhythmic brain activity by diazepam: GABA(A) receptor subtype and state specificity. **Proc Natl Acad Sci.**, 101: 3674-3679, 2004.

KORPI, E.R.; GRÜNDER, G.; LÜDDENS, H. Drug interactions at GABA<sub>A</sub> receptors. **Prog Neurobiol.**, 67:113-159, 2002.

KUNSMAN, G.W.; MANNO, J.E.; MANNO, B.R.; KUNSMAN, C.M.; PRZEKOP, M.A. The use of microcomputer-based psychomotor tests for the evaluation of benzodiazepine effects on human performance: A review with emphasis on temazepam. **Br J Clin Pharmacol.**, 34:289-301, 1992.

KURKO, T.A.T.; SAASTAMOINEN, L.K.; TÄHKÄPÄÄ, S.; TUULIO-HENRIKSSON, A.; TAIMINEN, T.; TIIHONEN, J.; AIRAKSINEN, M.S.; HIETALA, J. Long-term use of benzodiazepines: definitions, prevalence and usage patterns – a systematic Review of Register-based Studies. **Eur Psychiatry.**, 30(8):1037-1047, 2015.

LADER, M. Benzodiazepines Revisited – Will We Ever Learn?. **Addiction**, 106(12):2086-2109, 2011.

LADER, M. Effectiveness of benzodiazepines: do they work or not?. **Expert Rev Neurother**, 8(8):1189-1191, 2008.

LANDERS, D.M.; HAN, M.W.; SALAZAR, W.; PETRUZZELLO, S.J.; KUBITZ, K.A.; GANNON, T.L. Effects of learning on electroencephalographic and electrocardiographic patterns in novice archers. **Int J Sport Psychol.**, 25:313-330, 1994.

LEEUEWEN, V.; VERBATEN, M.; KOELEGA, H.; KENEMANS, J.; SLANGEN, J. Effects of bromazepam on single-trial event-related potentials in a visual vigilante task. **Psychopharmacology**, 106:555-564, 1991.

LESLIE, J.C.; MCCABE, C.; SHAW, D. Effects of the GABAergic drug zolpidem on extinction of mouse operant behaviour: implications for theories of the neural basis of extinction. **Ir J Psychol Med.**, 30:55, 2003.

LLÍNAS, R.R. The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. **Science**, 242(4886):1654-1665, 1988.

LONGO, L.P.; JOHNSON, B. Addiction: Part I. Benzodiazepines-Side Effects, Abuse Risk and Alternatives. **Am Fam Physician.**, 61(7):2121-8, 2000.

LOPES DA SILVA, F.H.; HOEKS, A.; SMITHS, H.; ZETTEBERG, L.H. Model of brain rhythmic activity. The alpha rhythm of the thalamus. **Kybernetik**, 15:27-37, 1974.

LOZANO-SOLDEVILLA, D.; TER HUURNE, N.; COOLS, R.; JENSEN, O. GABAergic modulation of visual gamma and alpha oscillations and its consequences for working memory performance. **Curr Biol.**, 24(24):2878-87, 2014.

LOZE, G.M.; COLLINS, D.; HOLMES, P.S. Pre-shot EEG alpha-power reactivity during expert air-pistol shooting: a comparison of best and worst shots. **J Sports Sci.**, 19(9):727-733, 2001.

LUCCHESI, L.M.; POMPÉIA, S.; MANZANO, G.M.; KOHN, A.F.; GALDUROZ, J.C.; BUENO, O.F.; TUFIK, S. Flunitrazepam-induced changes in neurophysiological, behavioural, and subjective measures used to assess sedation. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 27(3):525-33, 2003.

LUDERER, H.J.; SCHULZ, M.; MAYER, M. Long-term administration of benzodiazepines-disease follow-up, sequelae, treatment. A retrospective clinical record evaluation of 194 patients. **Psychiatr Prax**, 22:231-4, 1995.

MAKARON, L.; MORAN, C.A.; NAMJOSHI, O.; RALLAPALLI, S.; COOK, J.M.; ROWLETT, J.K. Cognition-impairing effects of benzodiazepine-type drugs: role of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes in an executive function task in rhesus monkeys. **Pharmacol Biochem Behav.**, 104:62-8, 2013.

MARCOLIN, M.A.; CANTARELLI, M.G.; GARCIA, J.R. Interações farmacológicas entre medicações clínicas e psiquiátricas. **Rev Psiquiatr Clin.**, 31(2):70-81, 2004.

MARIS, E.; OOSTENVELD, R. Nonparametric statistical testing of EEG and MEG-data. **J Neurosci Methods**, 164:177-190, 2007.

MEHTA, A.K.; TICKU, M.K. An update on GABA<sub>A</sub> receptors. **Brain Res Ver.**, 29:196-217, 1999.

MÖHLER, H.; FRITSCHY, J.M.; RUDOLPH, U. A new benzodiazepine pharmacology. **JPET**, 300(1):2-8, 2002.

MOTA-ROLIM, S.A.; DA SILVA, F.L. Neurobiology and clinical implications of lucid dreaming. **Med Hypotheses**, 81(5):751-6, 2013.

MONTENEGRO, M.; VEIGA, H.; DESLANDES, A.; CAGY, M.; MCDOWELL, K.; POMPEU, F.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Neuromodulatory effects of caffeine and bromazepam on visual event-related potential (P300): a comparative study. **Arq Neuropsiquiatr.**, 63(2B):410-5, 2005.

MUGUNTHAN, K.; MCGUIRE, T.; GLASZIOU, P. Minimal interventions to decrease long-term use of benzodiazepines in primary care: a systematic review and metaanalysis. **Br J Gen Pract.**, 573-576, 2011.

MUÑOZ-TORRES, Z.; DEL RÍO-PORTILLA, Y.; CORSI-CABRERA, M. Diazepam-induced changes in EEG oscillations during performance of a sustained attention task. **J Clin Neurophysiol.**, 28(4):394-9, 2011a.

MUÑOZ-TORRES, Z.; ARMONY, J.L.; TREJO-MARTÍNEZ, D.; CONDE, R.; CORSI-CABRERA, M. Behavioural and neural effects of diazepam on a rule-guided response selection task. **J Neurosci Res.**, 70(3):260-268, 2011b.

NEUBAUER, D.N. The Evolution and Development of Insomnia Pharmacotherapies. **J Clin Sleep Med.**, 3(5):S11-S15, 2007.

NEUPER, C.; PFURTSCHELLER, G. Event-related dynamics of cortical rhythms: frequency-specific features and functional correlates. **Int J Psychophysiol.**, 43:41-58, 2001.

NIELSEN, M.; HANSEN, E.H.; GØTZSCHE, P.C. What is the difference between dependence and withdrawal reactions? A comparison of benzodiazepines and selective serotonin re-uptake inhibitors. **Addiction**, 107(5):900-908, 2011.

NORDON, D.G.; HUBNER, C.V. Prescrição de benzodiazepínicos por clínicos gerais. **Diagn Tratamento**, 2009.

NOTO, A.R.; CARLINI, E.A.; MASTROIANNI, P.C.; ALVES, V.C.; GALDURÓZ, J.C.F.; KUROIWA, W.; CSIZMAR, J.; COSTA, A.; FARIA, M.A.; HIDALGO, S.R.; ASSIS, D.; NAPPO, S.A. Analysis of prescription and dispensation of psychotropic medications in two cities in the State of São Paulo, Brazil. **Rev Bras psiquiatr.**, 24(2):68-73, 2002.

NUTT, D.; MALIZIA, A. New Insights into the Role of the GABA<sub>A</sub> - Benzodiazepine receptor in psychiatric disorder. **Br J Psychiatry**, 179(5):390-396, 2001.

PERAULT, M.C.; FAVRELI, S.; MINET, P.; REMBLIER, C. Benzodiazepines et grossesse. **Thérapie**, 55(5):587-595, 2000.

PFURTSCHELLER, G.; STANCAK, JR.; NEUPER, C. Event-related synchronization (ERS) in the alpha band - an electrophysiological correlate of cortical idling: A review. **Int J Psychophysiol.**, 24:39-46, 1996.



PODHORNA, J. The Experimental Pharmacotherapy of Benzodiazepine Withdrawal. **Curr Pharm Des.**, 8(1):23-43, 2002.

PORTELLA, C.; SILVA, J.G.; BASTOS, V.H.; MACHADO, D.; CUNHA, M.; CAGY, M.; BASILE, L.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Aprendizagem de procedimento e efeitos ansiolíticos: medidas eletrencefalográficas, motora e atencional. **Arq Neuropsiquiatr.**, 64(2B):478-84, 2006.

PRAST, J.W. An interpretation of certain EEG patterns as transient responses of a transmission system. **Electroencephalogr Clin Neurophysiol.**, 1:370, 1949.

PUGA, F.; VEIGA, H.; CAGY, M.; MCDOWELL, K.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Analysis of the influence of bromazepam on cognitive performance through the visual evoked potential (P300). **Arq Neuropsiquiatr.**, 63(suppl 2A):228-234, 2005.

RAAFLAUB, J.; SPEISER-COURVOISIER, J. Zur pharmakokinetik von bromazepam beim menschen. **Arzneim Forsch.**, 24:1841-1844, 1974.

RIHEL, J.; SCHIER, A. F. Sites of action of sleep and wake drugs: insights from model organisms. **Curr Opin Neurobiol.**, 23:831-840, 2013.

RIHS, T.A.; MICHEL, C.M.; THUT, G. Mechanisms of selective inhibition in visual spatial attention are indexed by alpha-band EEG synchronization. **Eur J Neurosci.**, 25:603-610, 2007.

ROGERS, C.J.; TWYMAN, R.E.; MACDONALD, R.L. Benzodiazepine and  $\beta$ -carboline regulation of single GABA<sub>A</sub> receptor channels of mouse spinal neurons in culture. **J Physiol.**, 475(1):69-82, 1994.

RUDOLPH, U.; KNOFLACH, F. Beyond classical benzodiazepines: Novel therapeutic potential of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes. **Nat Rev Drug Discov.**, 10:685-697, 2011.

SALAZAR, W.; LANDERS, D.M.; PETRUZZELLO, S.J.; HAN, M.; CREWS, D.J.; KUBITZ, K.A. Hemispheric asymmetry, cardiac response, and performance in elite archers. **Res Q Exerc Sport.**, 61:351-359, 1990.

SALEM, A.A.; BARSOUM, B.N.; IZAKE, E.L. Spectrophotometric and fluorimetric determination of diazepam, bromazepam and clonazepam in pharmaceutical and urine samples. **Spectrochim Acta A.**, 60:771-780, 2004.

SALLES, J.I.; BASTOS, V.H.; CUNHA, M.; MACHADO, D.; CAGY, M.; FURTADO, V.; BASILE, L.F.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. Efeitos neuromoduladores do bromazepam quando indivíduos são expostos a uma tarefa de aprendizagem motora: eletrencefalografia quantitativa (EEGq). **Arq Neuropsiquiatr.**, 64(1):112-117, 2006.

SANTOS, H.C.; RIBEIRO, R.R.; FERRARINI, M.; FERNANDES, J.P. Possíveis interações medicamentosas com psicotrópicos encontradas em pacientes da Zona Leste de São Paulo. **Ciênc Farm Básica Apl.**, 30(3):285-89, 2009.

SAMPAIO, I.; PUGA, F.; VEIGA, H.; CAGY, M.; PIEDADE, R.; RIBEIRO, P. The influence of bromazepam on cortical power distribution. **An Acad Bras Cienc.**, 80:335-340, 2008.

SCHRECKENBERGER, M.; LANGE-ASSCHENFELDT, C.; LOCHMANN, M.; MANN, K.; SIESSMEIER, T.; BUCHHOLZ, H.G.; BARTENSTEIN, P.; GRÜNDER, G. The thalamus as the generator and modulator of EEG alpha rhythm: a combined PET/EEG study with lorazepam challenge in humans. **Neuroimage**, 22(2):637-44, 2004.

SCHÜRMAN, M.; BASAR, E. Functional aspects of alpha oscillations in the EEG. **Int J Psychophysiol.**, 39:151-158, 2001.

SELLERS, E. Clinical pharmacology and therapeutics of benzodiazepines. **CMAJ**, 118:1533-1537, 1978.

SIGEL, E.; STEINMANN, M.E. Structure, Function, and Modulation of GABA<sub>A</sub> Receptors. **J Biol Chem.**, 287(48):40224-40231, 2012.

SILVA, J.G.; ARIAS-CARRIÓN, O.; PAES, F.; VELASQUES, B.; TEIXEIRA, S.; BASILE, L.; CAGY, M.; PIEDADE, R.; NARDI, A.E.; MACHADO, S.; RIBEIRO, P. Bromazepam impairs motor response: an ERSP study. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, 10(8):945-50, 2011.

SMITH, M.; MCEVOY, L.K.; GEVINS, A. Neurophysiological indices of strategy development and skill acquisition. **Brain Res Cogn Brain Res.**, 7:389-404, 1999.

SMITH, P. D.; MCLEAN, K.J.; MURPHY, M.A.; TURNLEY, A.M.; COOK, M.J. Functional dentate gyrus neurogenesis in a rapid kindling seizure model. **Eur J Neurosci.**, 2:3195-3203, 2007.

STAM, C.J.; PIJN, J.P.M; SUFFCZINSKY, P.; LOPES DA SILVA, F.H. Dynamics of the human alpha rhythm: evidence of non linearity?. **Clin Neurophysiol.**, 110:1801-1813, 1999.

STEWART, S.A. The effects of benzodiazepines on cognition. **J Clin Psychiatry**, 66(suppl 2):9-13, 2005.

STIPACEK, A.; GRABNER, R.H.; NEUPER, C.; FINK, A.; NEUBAUER, A.C. Sensitivity of human EEG alpha band desynchronization to different working memory components and increasing levels of memory load. **Neurosci Lett.**, 20:1-4, 2003.

SWINYARD, E.A.; WHITE, H.S.; WOLF, H.H. Mechanisms of Anticonvulsant Drugs. **ISI Atlas of Science: Pharmacology**, 2:95-98, 1988.

URSO, R.; BLARDI, P.; GIORGI, G. A short introduction to pharmacokinetics. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**, 6:33-44, 2002.

UUSI-OUKARI, M.; KORPI, E.R. Regulation of GABA<sub>A</sub> receptor subunit expression by pharmacological agents. **Pharmacol Rev.**, 62(1):97-135, 2010.

VAN HARTEN, M.; TEMPEL, L.W.; PERLMUTTER, J.S.; RAICHLE, M.E.; PETERSEN, S.E. Changes in brain activity during motor learning measured with PET: effects of hand of performance and practice. **J Neurophysiol.**, 80:2177-2199, 1999.

VANTOUR, A.L.; ARZUAGA, A.A.; ROMERO, J.B.; FONTELA, N.O. Uso y abuso de las benzodiazepinas. **Medisan**, 14(4), 2010.

WESTRA, H.A.; STEWART, S.H. As-needed use of benzodiazepine in managing clinical anxiety: incidence and implications. **Curr Pharm Des.**, 8(1):59-74, 2002.

WEXLER, B.E. Cerebral laterality and psychiatry: A review of the literature. **Am J Psychiatry.**, 137:279-291, 1980.

VICENS, C.; FIOL, F.; LLOBERA, J.; CAMPOAMOR, F.; MATEU, C.; ALEGRET, S.; SOCÍAS, I. Withdrawal from long-term benzodiazepine use: randomised trial in family practice. **Br J Gen Pract.**, 56(533):958-963, 2006.

WIENER, N. Cybernetics: or control and communications in the Animal and the Machine. **MIT Press**, 261, 1961.

VIKANDER, B.; KOECHLING, U.M.; BORG, S.; TÖNNE, U.; HILTUNEN, A.J. Benzodiazepine tapering: A prospective study. **Nord J Psychiatry**, 64(4):273-282, 2010.

WOLF, S.; BRÖLZ, E.; SCHOLZ, D.; RAMOS-MURGUIALDAY, A.; KEUNE, P.M.; HAUTZINGER, M.; STREHL, U. Winning the game: brain processes in expert, young elite and amateur table tennis players. **Front Behav Neurosci.**, 8, 2014.

YAJIMA, T.; OHNO, T.; NAKAMURA, K.; NAKAMURA, K. Effects of bromazepam on responses of mucosal blood flow in the gastroin-testinal tract and of gastric motility to stimulation of the amygdala and hypothalamus in conscious cats. **Folia Pharmacol.**, 83(3):237-248, 1984

YUVAL-GREENBERG, S.; TOMER, O.; KEREN, A.S.; NELKEN, I.; DEOUELL, L.Y. Transient induced gamma-band response in EEG as a manifestation of miniature saccades. **Neuron**, 58(3):429-441, 2008.

ZHU, F.F.; POOLTON, J.M.; WILSON, M.R.; MAXWELL, J.P.; MASTERS, R.S.W. Neural co-activation as a yardstick of implicit motor learning and the propensity for conscious control of movement. **Biol Psychol.**, 87:66-73, 2011.

ZINT, K.; HAEFELI, W.E.; GLYNN, R.J.; MOGUN, H.; AVORN, J.; STURMER, T. Impact of drug interactions, dosage, and duration of therapy on the risk of hip fracture associated with benzodiazepine use in older adults. **Pharmacoepidemiol Drug Saf.**, 19(12):1248-55, 2010.

**ANEXOS**

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado senhor,

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, do estudo/pesquisa intitulado **Efeitos do Bromazepam na atividade cerebral em indivíduos normais sem habilidade de tiro**, conduzida pelo pesquisador prof. Dr. Silmar Silva Teixeira, no Laboratório de Mapeamento e Plasticidade Cerebral na Universidade Federal do Piauí, *campus* Ministro Reis Velloso. Este estudo tem como objetivo investigar as mudanças que o bromazepam causa no cérebro, e como este influencia no desempenho de pessoas saudáveis enquanto fazem uma tarefa de tiro. Os pesquisadores irão verificar como o seu cérebro funciona antes e após você ingerir um comprimido que pode ser de amido (comprimido que não tem nenhum efeito de medicamento) ou bromazepam 6mg. Para que o pesquisador possa realizar o objetivo do estudo, você irá realizar uma tarefa de tiro que consiste em acertar o alvo usando uma pistola de *airsoft*. No momento da realização da tarefa, o pesquisador estará analisando como o seu cérebro funciona, e para isso você estará realizando um exame de eletroencefalografia antes e durante a realização da tarefa de tiro.

A sua participação neste estudo somente será realizada se for de sua vontade. Para isso você deve ter idade entre 20 a 30 anos e não ter feito uso de produtos com cafeína há mais de 12 horas e não estar utilizando medicamentos controlados. Caso seja sua vontade participar deste estudo, e se você estiver no grupo que irá ingerir uma cápsula de bromazepam de 6mg, você deve ter sido encaminhado pelo médico, além de passar por uma avaliação neurológica. Nesta avaliação, o médico irá lhe fazer perguntas sobre sua saúde, aferir sua pressão arterial e a frequência cardíaca, além de realizar testes para verificar a sua sensibilidade, o seu movimento, os seus reflexos, avaliação do movimento dos olhos, da face e língua, além de testes de equilíbrio. A avaliação neurológica será realizada pelo médico que você foi encaminhado e não lhe trará nenhum custo. Caso você queira participar deste estudo, esteja com a liberação médica e faça parte do grupo bromazepam 6mg, os pesquisadores realizarão o exame de eletroencefalografia enquanto você estiver realizando a tarefa de tiro. Em seguida, você irá ingerir uma cápsula bromazepam 6mg e aguardará por uma hora e meia para o medicamento fazer efeito e realizará novamente a eletroencefalografia durante a tarefa.

Todas as informações do estudo referente ao funcionamento do seu cérebro antes e após o uso do amido ou bromazepam são confidenciais e o seu nome não será divulgado em

momento algum. Toda e qualquer informação do estudo será utilizada somente para fins acadêmicos e os resultados deste estudo serão publicados em revistas científicas e seu nome não será citado. O estudo é acadêmico e não tem fins lucrativos e desse modo, você não receberá e não pagará qualquer valor para participar desta pesquisa.

O risco referente à captação do sinal da eletroencefalografia relaciona-se com o aumento da ansiedade devido a possibilidade de você ficar preocupado com o resultado do exame eletroencefalográfico. Entretanto você não deve ficar preocupado, pois o objetivo do exame de eletroencefalografia não é verificar se você tem alguma doença neurológica e sim, verificar o funcionamento do seu cérebro com a utilização de uma cápsula de bromazepam de 6mg. Embora você tenha realizado uma avaliação médica, o pesquisador realizará a aferição da pressão arterial e frequência cardíaca no início, no meio e ao término da realização das tarefas com o objetivo de liberar você com as mesmas condições que iniciou a participação no estudo. Você ficará no laboratório para realizar o exame da eletroencefalografia com a ingestão de amido ou do bromazepam pelo período de 3 horas. Você será bem acomodado em uma cadeira com apoio de braços, entretanto o tempo que você permanecerá sentado pode levar a dores musculares e/ou articulares. Para evitar esses efeitos você poderá interromper a análise do eletroencefalograma em qualquer momento que apresentar dor devido à postura continuada.

Em relação ao medicamento, os riscos do uso do bromazepam são principalmente: amnésia, sedação, sono, diminuição da capacidade de dirigir e operar máquinas. Durante o estudo você deve estar com acompanhante e não ter feito uso de bebida alcoólica. O efeito máximo do medicamento é atingido entre 1 e 2 horas após a administração e os efeitos podem continuar por até 12h. Caso ocorra qualquer alteração ou desconforto, a coleta de dados será interrompida e você receberá de imediato toda assistência necessária, e se preciso, será encaminhado ao atendimento médico pelo pesquisador sem qualquer custo para você. Após o experimento, você será transportado para sua residência pelo pesquisador e orientado a repousar-se após 6 horas da ingestão do medicamento. Caso tenha qualquer tipo de sintoma quando estiver em casa, você deve entrar em contato imediatamente com o pesquisador e ele prontamente irá prestar atendimento e encaminhar você para atendimento médico. Além disso, se o pesquisador responsável perceber qualquer risco ou dano significativo que você tenha, comunicará imediatamente ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, campus Ministro Reis Velloso.

Em todo momento estaremos considerando suas dimensões física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual. Em relação aos benefícios, os resultados do estudo

podem esclarecer e direcionar a população quanto a realização de tarefas cotidianas que podem ter risco com o uso do bromazepam. Exemplificando, ao observar a aproximação de um veículo quando atravessamos a rua, o uso do medicamento pode aumentar ou diminuir a atividade do cérebro e a pessoa pode interpretar de forma diferente o tempo que o veículo irá passar e conseqüentemente, comprometer sua vida. .

Caso você concorde em participar desta pesquisa, assine ao final deste documento, que possui duas vias, uma delas será sua, e a outra, do pesquisador responsável/coordenador da pesquisa. Segue os telefones e o endereço institucional do pesquisador responsável e do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Piauí, campus Ministro Reis Velloso (CEP/UFPI) – CEP, onde você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação nele, agora ou a qualquer momento pelo telefone (86)3237-2332.

Identificação do responsável pelo estudo: **Silmar Silva Teixeira**, e-mail: silmarteixeira@ufpi.edu.br

Diante destas informações, declaro meu consentimento livre para a pesquisa “Efeitos do Bromazepam na atividade cerebral em indivíduos normais sem habilidade de tiro”.

**Nome do voluntário:** \_\_\_\_\_  
**RG/CPF:** \_\_\_\_\_  
**TEL.** \_\_\_\_\_

### ASSINATURAS

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do pesquisador responsável

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do participante

Parnaíba - PI, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFEITOS DO BROMAZEPAM E DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA NA ATIVIDADE CEREBRAL ENTRE ATIRADORES HABILIDOSOS E NÃO HABILIDOSOS

**Pesquisador:** Silmar Teixeira

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 55807716.5.0000.5669

**Instituição Proponente:** UFPI - Campus Ministro Reis Velloso

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.610.197

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa coordenado pelo Prof. Silmar Teixeira, justificado pelo fato que a aprendizagem de tarefas motoras comuns à rotina diária do ser humano tem sido investigada através de várias metodologias. Dessa forma, medidas eletroencefalográficas vem sendo utilizadas em análises de processos motores relacionados à aprendizagem, bem como para avaliar alterações neuronais decorrentes da administração de drogas e o uso de ferramentas que geram efeitos sobre o sistema nervoso central, como – por exemplo – bromazepam e a Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC).

Baseado na problematização de que o bromazepam é uma droga amplamente usada, que atua no sistema nervoso central, e a ETCC é uma ferramenta pouco utilizada e de poucas evidências em indivíduos saudáveis, e que, ambos promovem alterações corticais relacionadas aos processos de aprendizagem, memória e atenção, este projeto busca responder as seguintes questões: (a) atiradores profissionais submetidos ao uso agudo do bromazepam ou aplicação da ETCC apresentam alterações no desempenho de uma tarefa de tiro? (b) Ocorre alteração na potência absoluta da eletroencefalografia quantitativa (EEGq) antes e após uma tarefa de tiro?

**Endereço:** Av. São Sebastião, 2819 - Bloco 16 - Sala 05

**Bairro:** Reis Velloso

**CEP:** 64.202-020

**UF:** PI

**Município:** PARNAIBA

**Telefone:** (86)3323-5251

**E-mail:** cep.ufpi.cmrv@gmail.com





## UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO

Continuação do Parecer: 1.610.197

A amostra será composta por atiradores habilidosos e não habilidosos do Batalhão de Polícia Militar da Cidade de Parnaíba/PI, selecionados segundo critérios descritos no projeto de pesquisa. O procedimento experimental será dividido em duas visitas. A primeira terá o intuito de familiarizar o voluntário com a tarefa de tiro através do treinamento, a qual ocorrerá 4 dias antes do procedimento principal. A segunda será feita de forma randomizada, duplo-cego, através da administração de uma cápsula de placebo ou bromazepam, ou da aplicação ou não de ETCC. Para cada situação experimental, os participantes serão submetidos a exercícios/tarefas de tiro com uma pistola de airsoft Sig Sauer P226 em um alvo de papel com rede de recepção da Swiss Arms.

### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo principal: analisar as modificações corticais ocasionadas com a utilização do bromazepam e a capacidade de melhorar o aprendizado motor com a utilização da ETCC.

Objetivos específicos:

- Analisar se o bromazepam compromete o aprendizado motor;
- Investigar se o bromazepam promove modificações corticais em áreas relacionadas com o comportamento motor;
- Analisar se ocorre transmissão da informação cortical do cérebro de um indivíduo com habilidade motora para o indivíduo que não tem habilidade motora;
- Verificar as modificações da potência absoluta do eletroencefalograma em tarefas de tiro quando participantes utilizam bromazepam e ETCC.

### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

#### Riscos:

O risco referente à captação do sinal da eletroencefalografia relaciona-se com o aumento da ansiedade devido ao mapeamento cerebral possibilitar a observação de alguma disfunção neurológica. Segundo o pesquisador, isto será minimizado por sua experiência em lidar com os sujeitos neste modelo de pesquisa, em especial, a atenção e explicação detalhada das etapas da pesquisa tendem a diminuir a ansiedade. Além disso, haverá controle da pressão arterial e frequência cardíaca durante os exames. Outro inconveniente que poderá ser observado é a ocorrência de desconforto ou dores musculares pela permanência na posição sentada por aproximadamente 55 minutos. Caso haja algum desconforto desta natureza, o protocolo de coleta de dados será imediatamente interrompido. Na persistência de qualquer alteração, o sujeito será encaminhado pelo pesquisador para acompanhamento médico, que será garantido pelo pesquisador. O pesquisador compromete-se a liberar o participante somente quando este apresentar as mesmas condições observadas em sua chegada ao laboratório. Além disso, o pesquisador responsável compromete-se a informar ao sistema CEP/CONEP a ocorrência de danos significativos aos participantes.

**Endereço:** Av. São Sebastião, 2819 - Bloco 16 - Sala 05

**Bairro:** Reis Velloso

**CEP:** 64.202-020

**UF:** PI

**Município:** PARNAIBA

**Telefone:** (86)3323-5251

**E-mail:** cep.ufpi.cmr@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.610.197

**Benefícios:**

Além dos benefícios sobre o conhecimento da influência do bromazepam no ato motor, haja vista que diversos pacientes em procedimento de reabilitação motora fazem uso de bromazepam e como o medicamento pode promover conseqüências na reabilitação. Além disso, a inovação e avanço da neurociência que pode ser alcançado com a possibilidade de transmitir a atividade cortical do cérebro de indivíduos habilitados para indivíduos não habilitados poderá ser uma forma futura de tratamento em diversos pacientes com lesões corticais

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de pesquisa relevante para a área de estudo, e o pesquisador responsável demonstra experiência e expertise no assunto, como pode ser comprovado pela análise de seu currículo.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há pendências ou inadequações a serem sanadas.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Sr. Pesquisador,

em cumprimento ao previsto na Resolução 466/12, o CEP-UFPI aguarda o envio dos relatórios parciais e final da pesquisa, elaborados pelo pesquisador, bem como informações sobre sua eventual interrupção e sobre ocorrência de eventos adversos.

Ainda, para assegurar o direito do participante e preservar o pesquisador, revela-se importante alertar que o TCLE deverá ser rubricado em todas as suas folhas, tanto pelo participante quanto pelo(s) pesquisador(es), devendo ser assinado na última folha.

**Endereço:** Av. São Sebastião, 2819 - Bloco 16 - Sala 05

**Bairro:** Reis Velloso

**CEP:** 64.202-020

**UF:** PI

**Município:** PARNAIBA

**Telefone:** (86)3323-5251

**E-mail:** cep.ufpi.cmrv@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.610.197

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_710664.pdf	23/05/2016 10:40:49	Silmar Teixeira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_autorizacao_institucional.pdf	23/05/2016 10:40:28	Silmar Teixeira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	21/05/2016 16:42:17	Silmar Teixeira	Aceito
Outros	Instrumento_de_coleta_de_dados.pdf	21/05/2016 16:40:05	Silmar Teixeira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	21/05/2016 16:38:36	Silmar Teixeira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracaopesquisadores.pdf	21/05/2016 16:38:11	Silmar Teixeira	Aceito
Outros	Carta_ao_coordenador_do_comite_etica.pdf	21/05/2016 16:35:11	Silmar Teixeira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	05/05/2016 09:39:52	Silmar Teixeira	Aceito
Outros	Termo_de_Confidencialidade.pdf	03/05/2016 20:56:06	Silmar Teixeira	Aceito
Outros	Declaracao_medico.pdf	03/05/2016 20:54:06	Silmar Teixeira	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes.pdf	03/05/2016 20:52:57	Silmar Teixeira	Aceito
Outros	Carta_de_Encaminhamento.pdf	03/05/2016 20:51:05	Silmar Teixeira	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	03/05/2016 20:49:35	Silmar Teixeira	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	03/05/2016 20:47:41	Silmar Teixeira	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PARNAIBA, 28 de Junho de 2016

Assinado por:  
**Baldomero Antonio Kato da Silva**  
(Coordenador)

**Endereço:** Av. São Sebastião, 2819 - Bloco 16 - Sala 05

**Bairro:** Reis Velloso

**CEP:** 64.202-020

**UF:** PI

**Município:** PARNAIBA

**Telefone:** (86)3323-5251

**E-mail:** cep.ufpi.cmr@gmail.com