



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Rodrigo Araujo Cocêlo Dias

**Estudo do papel da oxitocina sobre efeitos comportamentais associados à
recompensa gerada pela nicotina em camundongos adultos e adolescentes**

Rio de Janeiro

2021

Rodrigo Araujo Cocêlo Dias

Estudo do papel da oxitocina sobre efeitos comportamentais associados à recompensa gerada pela nicotina em camundongos adultos e adolescentes

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

Orientador: Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

D541 Dias, Rodrigo Araujo Cocêlo.
Estudo do papel da oxitocina sobre efeitos comportamentais associados à recompensa gerada pela nicotina em camundongos adultos e adolescentes / Rodrigo Araujo Cocêlo Dias. – 2021.
56 f.

Orientador: Anderson Ribeiro Carvalho

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Programa de Pós-graduação em Biociências.

1. Tabagismo - Teses. 2. Nicotina - Teses. 3. Adolescência - Teses. 4. Oxitocina. 5. Comportamento Social. I. Carvalho, Anderson Ribeiro. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 613.84

Bibliotecária: Angela da Silva Velho CRB7/4780

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

Assinatura

Data

Rodrigo Araujo Cocêlo Dias

Estudo do papel da oxitocina sobre efeitos comportamentais associados à recompensa gerada pela nicotina em camundongos adultos e adolescentes

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

Aprovada em 31 de maio de 2021.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho (Orientador)

Faculdade de Formação de Professores – UERJ

Prof.^a Dra. Regina Célia Cussa Kubrusly

Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Yael de Abreu Villaça

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

A Deus, por me dar força, coragem e determinação para lidar com os obstáculos da vida em períodos obscuros, em que as soluções para a resolução de problemas pareciam estar distantes. Nesse sentido, seguir com fé e perseverança tornou-se essencial para a eliminação de sentimentos negativos e importante para o desenvolvimento da resiliência.

À minha família, que sempre teve orgulho de mim por dar continuidade aos meus estudos no Ensino Superior. Assim sendo, foi possível obter amparo emocional e financeiro em situações difíceis, principalmente durante o isolamento social, quando todas as atividades foram interrompidas e a incerteza do futuro veio à tona.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Rita de Cássia por ser demasiadamente obstinada e competente em relação ao cargo em que ocupa, com o intuito de custear os meus estudos, desde o jardim de infância até os dias de hoje, como por exemplo, o curso de Língua Inglesa, que, sem dúvida, é fundamental para a leitura de artigos na pós-graduação. Ao meu pai Marcos José pelo apoio em relação às atividades desenvolvidas por mim na universidade, com início a época da iniciação científica até o momento atual, com a obtenção do título de Mestre.

À minha avó Nilza Maria pelo enorme carinho ao frisar que sempre fui o orgulho da família, devido ao fato de ter completado os meus estudos, e também, por toda assistência financeira em custos adicionais (transporte e alimentação). Aos meus avós Antônio Cocêlo e Juventina Cunha por estarem contentes com a minha formação.

À minha madrinha Elizabeth Cunha e ao meu padrinho Eduardo Cocêlo por admirarem o meu esforço na pesquisa acadêmica, sempre buscando fazer todas as tarefas com amor e carinho.

Agradeço a todos os familiares que assim como eu, vibram a cada vitória no mundo acadêmico, pois sabem que a minha felicidade pode ser traduzida em sucesso profissional.

Ao meu orientador Anderson pelas excelentes aulas de Fisiologia na graduação que despertaram o meu interesse na área de Neurofisiologia. Sou grato por ele ter me apresentado o laboratório, e desta forma, possibilitando o meu crescimento profissional na pesquisa acadêmica. Agradeço pela paciência na explicação para a execução dos experimentos e na escrita da dissertação. Aos professores do laboratório de Neurofisiologia: Yael, Alex, Cláudio e vários outros pelo conhecimento transferido tanto na teoria como na prática. Ao Ulisses que sempre esteve disposto a me ajudar no biotério quando eu estava precisando.

Às minhas amigas de laboratório Giordana Gomes e Maryah Bravo por sanarem as minhas dúvidas referentes ao local de trabalho e ao projeto, como também, pelos momentos de descontração e relaxamento nas horas vagas, quando não estávamos executando os experimentos. Agradeço também aos demais colegas de laboratório: Caroline, Luciana, Keila, Fernanda, Victor, e entre outros que me ajudaram com algumas questões burocráticas do programa de pós-graduação.

À minha melhor amiga Júlia Merat que sempre me leva pra explorar os melhores lugares do Rio de Janeiro e do Brasil, além de ser extremamente carinhosa comigo no dia a dia, sempre me ajudando a superar os desafios diários.

Ao meu amigo Luiz Otávio que está sempre presente quando eu preciso no *Whatsapp*, quer para resolver algum problema específico, quer para compartilhar algum momento de alegria comigo.

À minha amiga Sabrina Freitas por me proporcionar as melhores disputas de jogos *online*, como por exemplo: Ludo e *Among Us*.

À minha amiga Raquel Costa por ouvir meus áudios de 10 minutos no *Whatsapp* e responder as 50 mensagens que mando pra ela diariamente.

Às três fantásticas amigas sagitarianas do melhor signo do zodíaco: Caroline, Thaís e Thayná, que se destacam por seus traços únicos: a pessoa mais engraçada da face da Terra, a melhor fotógrafa que eu já conheci e a melhor companheira das boates no Centro ou na Zona Sul do Rio de Janeiro, respectivamente.

Em algum lugar, alguma coisa incrível está esperando para ser descoberta.

Carl Sagan

RESUMO

DIAS, Rodrigo Araujo Cocêlo. *Estudo do papel da oxitocina sobre efeitos comportamentais associados à recompensa gerada pela nicotina em camundongos adultos e adolescentes*. 2021. 56 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

O tabagismo é bastante comum nos países de alta, média e baixa renda, considerando-se que no mundo há mais de um bilhão de fumantes. Porém, atualmente, o consumo de tabaco é menor se comparado com o início da década de 2000, demonstrando êxito nas medidas de combate à droga em diversos países. Estudos anteriores comprovaram que a nicotina é o principal componente ativo do tabaco, sendo responsável por ocasionar a dependência em fumantes regulares. Foi verificado que a adolescência é uma etapa crítica para o desenvolvimento da dependência à nicotina, podendo causar transtornos futuros. Devido a grande quantidade de enfermidades advindas do tabagismo, pesquisadores sugeriram terapias farmacológicas convencionais contra o tabagismo. Contudo, devido a quantidade de efeitos colaterais e um percentual insatisfatório de eficácia, esses métodos ainda não apresentam uma alternativa confiável para a problemática em questão. O neuropeptídeo oxitocina (OXT), que está envolvido nos comportamentos sociais, demonstrou influenciar no sistema associado às propriedades recompensadoras das drogas de abuso, conhecido como dopaminérgico mesocorticolímbico. Por isso, a OXT representa um alvo terapêutico para a cessação do tabagismo em adultos e adolescentes. Portanto, o objetivo desse trabalho consiste em averiguar como a OXT interfere nos efeitos recompensadores da nicotina em camundongos adultos e adolescentes, analisando o consumo de nicotina no teste de livre escolha entre duas garrafas (TBC), bem como os padrões de locomoção e ansiedade no teste do campo aberto (CA). Camundongos machos e fêmeas da cepa suíça foram testados durante o quadragésimo sétimo dia pós-natal (PN47) e nonagésimo sétimo dia pós-natal (PN97) no TBC durante uma semana, sendo adolescentes e adultos, respectivamente. Nesse experimento os animais receberam uma solução de nicotina na dose de 10 µg/mL e administração intranasal de oxitocina na dose de 100 µg/kg 1 hora antes do início do TBC. Esses animais também foram testados durante o quadragésimo dia pós-natal (PN40) e nonagésimo dia pós-natal (PN90) no CA, sendo adolescentes e adultos, respectivamente. Nesse experimento os animais receberam uma injeção subcutânea de nicotina na dose de 0,5 mg/kg e administração intranasal de oxitocina na dose de 100 µg/kg 1 hora antes do início do CA. Com essas metodologias percebemos que a OXT reduz o consumo de nicotina apenas em machos adolescentes, demonstrando que o sexo é uma variável importante a ser considerada. Além disso, verificamos que a OXT potencializa o efeito psicoestimulante e reverte o efeito ansiogênico da nicotina em adolescentes, assim como, aumenta o efeito hipolocomotor e ansiogênico da nicotina em adultos. Desse modo, consegue-se observar diferenças no sistema oxitocinérgico de adultos e de adolescentes. Para compreendermos os mecanismos envolvidos na dependência pela nicotina, destacamos a necessidade de estudos clínicos e pré-clínicos adicionais, em que a idade seja relevante nesse processo, além de explorar o sistema oxitocinérgico em diferentes etapas da vida nos indivíduos saudáveis ou dependentes de alguma droga de abuso e seus comportamentos sociais.

Palavras-chave: Tabagismo. Nicotina. Adolescência. Oxitocina. Sexo. Sistema oxitocinérgico.

Comportamentos sociais.

ABSTRACT

DIAS, Rodrigo Araujo Cocêlo. Study of the role of oxytocin on behavioral effects associated with nicotine-generated reward in adult and adolescent mice. 2021. 56 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Smoking is quite common in high-, middle- and low-income countries, considering that there are more than one billion smokers in the world. However, currently, tobacco consumption is lower when compared to the beginning of the 2000s, demonstrating success in measures to combat drugs in several countries. Previous studies have shown that nicotine is the main active component of tobacco, being responsible for causing addiction in regular smokers. It was found that adolescence is a critical stage for the development of nicotine addiction, may cause future disorders. Due to the large number of diseases resulting from smoking, researchers have suggested conventional pharmacological therapies against smoking. However, due to the number of side effects and an unsatisfactory percentage of effectiveness, these methods still do not present a reliable alternative to the problem in question. The neuropeptide oxytocin (OXT), which is involved in social behaviors, has been shown to influence the system associated with the rewarding properties of drugs of abuse, known as mesocorticolimbic dopaminergic. So, OXT represents a therapeutic target for smoking cessation in adults and adolescents. Therefore, the objective of this work is to investigate how OXT interferes with the rewarding effects of nicotine in adult and adolescent mice, analyzing the consumption of nicotine in the free choice test between two bottles (TBC), as well as the patterns of locomotion and anxiety in open field (CA) test. Male and female mice of the Swiss strain were tested during the forty-seventh postnatal day (PN47) and ninety-seventh postnatal day (PN97) at TBC, for one week, being adolescents and adults, respectively. In this experiment, the animals received a nicotine solution at a dose of 10 µg/mL and intranasal administration of oxytocin at a dose of 100 µg/kg 1 hour before the start of TBC. These animals were also tested during the fortieth postnatal day (PN40) and ninetieth postnatal day (PN90) in CA, being adolescents and adults, respectively. In this experiment, the animals received a subcutaneous injection of nicotine at a dose of 0.5 mg/kg and intranasal administration of oxytocin at a dose of 100 µg/kg 1 hour before the onset of CA. With these methodologies we realized that OXT reduces nicotine consumption only in adolescent males, demonstrating that sex is an important variable to be considered. In addition, we found that OXT potentiates the psychostimulant effect and reverses the anxiogenic effect of nicotine in adolescents, as well as increasing the hypolocomotor and anxiogenic effect of nicotine in adults. Thus, it is possible to observe differences in the oxytocinergic system of adults and adolescents. To understand the mechanisms involved in nicotine addiction, we highlight the need for additional clinical and preclinical studies, in which age is relevant in this process, in addition to exploring the oxytocinergic system at different stages of life in healthy individuals or dependent on a drug of abuse and their social behavior.

Keywords: Smoking. Nicotine. Adolescence. Oxytocin. Sex. Oxytocinergic system. Social behaviors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 – Tabela-resumo com a descrição dos artigos da revisão sistemática	25
Gráfico 1 – Avaliação da massa corporal durante o período de teste de escolha por duas garrafas em animais adolescentes (A) e adultos (B).....	31
Gráfico 2 – Avaliação da preferência pelo consumo de nicotina no teste de escolha entre duas garrafas em adolescentes machos e em fêmeas.....	32
Gráfico 3 – Avaliação da preferência pelo consumo de nicotina no teste de escolha entre duas garrafas em adultos.....	33
Gráfico 4 – Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal na ambulação durante teste do campo aberto em camundongos adolescentes.....	35
Gráfico 5 – Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal no tempo de permanência no centro durante teste do campo aberto em camundongos adolescentes.....	36
Gráfico 6 – Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal na ambulação durante teste do campo aberto em camundongos adultos.....	38
Gráfico 7 – Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal no tempo de permanência no centro durante teste do campo aberto em camundongos adultos.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChRs	Receptores nicotínicos da acetilcolina
ANOVA	Análise de variância
ANOVA _r	Análise de variância com medidas repetidas
ANOVA _u	Análise de variância univariada
ASD	Desordem do espectro autista
CA	Teste do campo aberto
CONT	Animais do grupo controle no teste do campo aberto
DCF	Departamento de Ciências Fisiológicas
e-cigarros	Cigarros eletrônicos
ENDS	Dispositivos eletrônicos de liberação de nicotina
F	Razão de Fischer
GABA	Ácido amino-butírico
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes
IHb	Habênula lateral
MAPK	Proteína quinase ativada por mitogênio
mHb	Habênula medial
NAC	N-acetilcisteína
NAcc	Núcleo accumbens
NIC	Animais do grupo experimental no teste do campo aberto que receberam injeção subcutânea de nicotina
NIH	National Institutes of Health
OMS	Organização Mundial de Saúde
OXI	Animais do grupo experimental no teste do campo aberto que receberam oxitocina intranasal
OXI + NIC	Animais do grupo experimental no teste do campo aberto que receberam injeção subcutânea de nicotina e oxitocina intranasal
OXT	Oxitocina
P	Valor de prova
PN1	Primeiro dia pós-natal
PN25	Vigésimo quinto dia pós-natal

PN30	Trigésimo dia pós-natal
PN40	Quadragésimo dia pós-natal
PN47	Quadragésimo sétimo dia pós-natal
PN90	Nonagésimo dia pós-natal
PN97	Nonagésimo sétimo dia pós-natal
PVN	Núcleos paraventriculares
SCN	Núcleo supraquiasmático
SNC	Sistema nervoso central
SON	Núcleos supraópticos
TBC	Teste de livre escolha entre duas garrafas
TDC	Transtorno dismórfico corporal
TRN	Terapia de reposição de nicotina
TSN	Terapia de liberação sustentada de bupropiona
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UI	Unidade internacional
VTA	Área tegmental ventral do cérebro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1 OBJETIVOS	26
1.1 Objetivo geral	26
1.2 Objetivos específicos	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1 Modelo Experimental	27
2.2 Testes comportamentais e idades estudadas	28
2.2.1 <u>Teste de Livre Escolha entre Duas Garrafas (TBC)</u>	28
2.2.2 <u>Teste do Campo Aberto (CA)</u>	29
2.3 Análise Estatística	30
3 RESULTADOS	31
3.1 Massa corporal	31
3.2 Teste de Livre Escolha entre Duas Garrafas (TBC)	32
3.2.1 <u>Adolescentes</u>	32
3.2.2 <u>Adultos</u>	33
3.3 Teste do Campo Aberto (CA)	34
3.3.1 <u>Adolescentes</u>	34
3.3.2 <u>Adultos</u>	36
4 DISCUSSÃO	40
4.1 Resumo dos resultados	40
4.2 Diferenças sexuais nos efeitos da oxitocina durante a adolescência	41
4.3 Diferenças oxitocinérgicas entre adultos e adolescentes	43
CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47

INTRODUÇÃO

Tabagismo

A Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou um relatório global sobre doenças não transmissíveis em 2010. Em relação ao tabaco, é possível afirmar que no mundo há mais de um bilhão de fumantes (OMS, 2010) e 53,3% desses fumantes encontram-se em países de média e baixa renda (INCA, 2021). Ademais, afere-se que seis trilhões de cigarros são fumados anualmente (OMS, 2010). Esse dado é corroborado em pesquisas subsequentes, nas quais o número de fumantes regulares apresenta tendência de crescimento em países subdesenvolvidos, enquanto que nos países desenvolvidos apresenta tendência de redução (INCA, 2021). De acordo com o relatório da OMS sobre a epidemia global de tabagismo, em 2007, os percentuais totais de adultos fumantes regulares nos países de alta renda, de média renda e de baixa renda, foram 28%, 22% e 17%, respectivamente. Esses percentuais declinaram nestas três categorias de países em 2013, demonstrando o sucesso de políticas de prevenção e monitoramento do uso do tabaco (OMS, 2015). Nesse sentido, cinco medidas foram propostas desde 2007 para conter a epidemia global de tabagismo: monitorar o uso de tabaco e políticas de prevenção; proteger as pessoas da exposição à fumaça do tabaco; oferecer ajuda para deixar de fumar; advertir sobre os perigos do tabaco; fazer cumprir a proibição da publicidade, promoção e patrocínio e aumentar o preço e impostos sobre os produtos de tabaco. Logo, a utilização da droga decresceu nos últimos anos ao fazer uma comparação com o início da década de 2000. Com isso, pode-se dizer que houve sucesso nas medidas de prevenção em países de baixa e média renda. O Brasil e Turquia, considerados países de renda média, aderiram a todas essas medidas, enquanto que metade dos países de baixa renda, implementaram ao menos uma medida. Mesmo assim, ainda é grande o número total de pessoas que usam a droga no mundo (OMS, 2019).

Além disso, constata-se que ao analisar o consumo de tabaco por sexo, os homens estão entre os maiores consumidores da droga globalmente. De acordo com um estudo da OMS sobre a prevalência do uso de tabaco em adultos, no Brasil, em 2013, pode-se citar que entre os usuários, os homens totalizaram cerca de 36% de seu consumo, e as mulheres contabilizaram apenas 7% de seu consumo (OMS, 2015). Dado que o tabagismo afeta tanto homens como mulheres, é importante que haja conscientização das pessoas, tendo em vista que este ato

ocasiona a morte de 5 milhões de pessoas por ano, sendo a principal causa de doenças e mortes evitáveis em países desenvolvidos (GÓMEZ-CORONADO *et al.*, 2018), por exemplo Reino Unido (ALLENDER *et al.*, 2009) e Japão (AVILA-TANG *et al.*, 2009).

Sabe-se que o cigarro contém diversas substâncias tóxicas e a nicotina é o componente farmacológico primário do tabaco (SIQUEIRA, 2016; ROSECRANS & YOUNG, 2017). A nicotina é encontrada com mais frequência nos cigarros, e também, presume-se que essa substância seja uma das principais causadoras da dependência ao tabaco (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2017). A dependência ocorre porque a nicotina atinge o sistema nervoso central (SNC) (VIEGAS, 2008). Em conformidade com Picciotto e Corrigan *et al.* (2002), os receptores nicotínicos da acetilcolina (AChRs) são ativados no cérebro, liberando diversos neurotransmissores, tais como a dopamina nas seguintes regiões: córtex pré-frontal e núcleo accumbens. Considerando seus efeitos farmacológicos, Benowitz (2009) evidencia que a substância tem o poder de melhorar o humor de cada pessoa, bem como reduzir os efeitos ocasionados pela dependência a outras drogas. A junção desses fatores contribui para um aumento da dependência à nicotina, tendo em vista que ela é utilizada para melhorar a atenção e desta forma, contribui para o desempenho de múltiplas tarefas, da mesma maneira que reprime sintomas associados ao estresse e a ansiedade. Segundo Hughes e Hatsukami (1986) e Pergadia *et al.* (2010), os sintomas de abstinência podem incluir: irritabilidade, ansiedade social, depressão, dependência de álcool, dificuldade de concentração, impaciência, insônia, entre outros impactos negativos.

Existem vários produtos derivados do tabaco, além do cigarro (CREAMER *et al.*, 2019). Entre esses itens, tem-se como exemplo: charutos, cachimbos, rapé e, atualmente com destaque especial, os cigarros eletrônicos (e-cigarros). Atualmente, existe uma heterogeneidade de e-cigarros e em cada um deles é possível encontrar diferentes quantidades de nicotina em seus líquidos, levando em consideração a potência do produto e a forma da nicotina (base livre ou protonada). No entanto, conforme os produtos evoluem, mais nicotina é encontrada neles e baseando-se nas escolhas individuais, isso pode ocasionar a dependência de forma diferenciada, dificultando a elaboração de medidas regulatórias para homogeneizar os e-cigarros (VOOS, GONIEWICZ & EISSENBERG, 2019). Estudos desenvolvidos por Villanti *et al.* (2017) e Kaur, Muthumalage e Rahman (2018) também realçaram o consumo bastante comum de tabaco aromatizado em jovens e adultos nos dispositivos eletrônicos de liberação de nicotina (ENDS), dispositivos de aquecimento sem queima (IQOS), e-cigarros, entre outros produtos. Rezk-Hanna e Benowitz (2018) alertam para os prejuízos cardiovasculares resultantes do fumo de

narguilé, pois os fumantes absorvem produtos da combustão do tabaco e do carvão, elevando o número de substâncias toxicológicas. É possível afirmar que o consumo de todos esses produtos anteriormente citados, aumenta o risco de dependência à nicotina, principalmente quando o indivíduo se apropria de dois ou mais artefatos (WANG *et al.*, 2018).

De acordo com Mansvelder e Mcgehee (2002), grande parte dos adultos fumantes criaram o hábito de fumar na adolescência. Essa atitude é prejudicial, uma vez que os adolescentes já possuem características de indivíduos dependentes antes mesmo de fazerem o uso contínuo da droga. Lanza e Vasilenko (2015) apontam que a dependência à nicotina na vida adulta é maior quando o consumo da substância aconteceu de maneira antecipada e frequente, ou seja, no início da adolescência. Análises pré-clínicas enfatizaram incomparáveis transformações no cérebro de ratos adolescentes decorrentes da exposição à nicotina. Além disso, alguns estudos demonstraram que a nicotina produz respostas comportamentais específicas de acordo com a idade em roedores. Em adolescentes, a nicotina aguda: aumenta a autoadministração de álcool, cocaína e outras drogas, caso haja um pré-tratamento com a substância; aumenta a atividade locomotora; torna-os mais sensíveis aos efeitos de recompensa da substância; deixa-os menos sensíveis aos sintomas de abstinência e promove maior tolerância em relação a altas doses da droga. Já em adultos, a nicotina aguda: não ocasiona nenhum efeito psicoestimulante ou indutivo para a autoadministração de álcool, caso haja um pré-tratamento com a substância; diminui a atividade locomotora; torna-os mais sensíveis aos efeitos aversivos da substância; deixa-os mais sensíveis aos sintomas de abstinência e promove aversão em relação a altas doses da droga (YUAN *et al.*, 2015). Makadia *et al.* (2017) indicam que o cérebro do adolescente é mais vulnerável as propriedades aditivas da nicotina.

Um estudo proposto por Carrillo *et al.* (1997) demonstrou que as medidas preventivas devem ser o foco durante a adolescência, e mais precisamente durante a faixa etária de 14 a 18 anos de idade, porque combater a dependência é uma tarefa mais complexa do que reunir meios para evitar que ela aconteça. Paralelamente, Schillo *et al.* (2019) objetiva suprimir a utilização de e-cigarros pelos alunos de ensino fundamental e médio nas escolas e para isso, sugerem políticas para refrear o consumo desses produtos a partir do diálogo entre os profissionais da comunidade escolar. Logo, é fundamental discutir sobre o tabagismo, considerando-se que essa prática se não for evitada de imediato, pode suscitar novas enfermidades. O tabaco é fator de risco para doenças pulmonares e cardiovasculares (WANG *et al.*, 2018; MUNZEL *et al.*, 2020). O consumo de cigarros também aumenta a quantidade de radicais livres circulantes no corpo, ocasionando anormalidades no metabolismo, na proliferação e na sinalização celular,

amplificando as chances de ocorrerem aterosclerose e numerosos tipos de câncer (TRABER *et al.*, 2000). Para mais, Reibel (2003) destaca inúmeros transtornos orais que podem ser provocados pelo tabaco: pré-câncer oral, doença periodontal, cárie dentária, entre outras. Maritz e Mutemwa (2012) indicam que mesmo havendo uma redução no tabagismo, as doenças proporcionadas por esse hábito só tendem a desaparecer depois de décadas.

Terapias farmacológicas contra o tabagismo

Welte *et al.* (2011) evidenciam que o uso e dependência do tabaco variam de acordo com o sexo, idade, raça e posição socioeconômica dos sujeitos envolvidos. Por isso, é de extrema importância discutir sobre as terapias viáveis para a cessação do tabagismo. McRobbie e Thornley (2008) e García-Gomez *et al.* (2019) acreditam que para um maior progresso na suspensão do consumo do tabaco é fundamental vincular terapias comportamentais e farmacológicas. As terapias farmacológicas convencionais incluem: reposição de nicotina (TRN), liberação sustentada de bupropiona (TSR) ou vareniclina. Entretanto, terapias recentes estão sendo desenvolvidas, por exemplo, o uso da cistina, N-acetilcisteína (NAC), entre outras substâncias (GÓMEZ-CORONADO *et al.*, 2018). É importante destacar que cada paciente, em particular, deve receber tratamento específico, baseando-se nos estudos que tenham comprovação científica e também nas preferências dos sujeitos envolvidos. Hoje em dia, as terapias de reposição de nicotina, bupropiona e vareniclina agregadas às terapias comportamentais representam os métodos mais vantajosos para a cessação do tabagismo (STEAD *et al.*, 2016). Contudo, mais elucidações e orientações em relação a essas terapias farmacológicas devem ser destinadas aos fumantes, porque um tratamento incorreto pode colocar em risco a saúde do paciente, bem como se tornar popularmente caracterizado como ineficaz (WESTMAAS & BRANDON, 2004).

As TRN costumam ativar os AChRs na área tegmental ventral do cérebro (VTA), fomentando a liberação de dopamina pelo núcleo accumbens (NAcc) e, desta forma, diminui a propriedade de recompensa dos cigarros. Vale ressaltar que elas não aliviam todos os sintomas da abstinência (MOLYNEUX, 2004). Fant, Owen e Henningfield (1999) salientam que os principais medicamentos à base de nicotina estão sob a forma de goma de mascar, adesivos transdérmicos, spray nasal e são fontes seguras, devido ao fato de não liberarem as toxinas e

substâncias cancerígenas dos cigarros. Silagy *et al.* (2002) indicam que os produtos vendidos comercialmente que funcionam como TRN, independente dos formatos, têm suas eficiências atestadas, pois ampliam o percentual de abandono ao cigarro, apesar de não serem 100% eficazes. Além disso, destacam o papel da bupropiona com grande potencial de cessação ao tabagismo quando utilizada de forma conjugada com a nicotina, mas também pode ser melhor que a nicotina quando utilizada de forma isolada. A TRN é indicada para fumantes que querem parar de fumar com o intuito de minimizar o desejo pela nicotina (HSIA, MYERS & CHEN, 2016; GERMOVSEK, 2019). Todavia, Hajek *et al.* (2019) elaboraram uma pesquisa direcionada a fumantes adultos que almejavam obter ajuda para deter a prática do tabagismo durante o período de um ano, e descobriram que os cigarros eletrônicos recarregáveis são mais eficientes que as TRN quando estão articulados com auxílio comportamental, ainda que os especialistas aprovelem as TRN.

O mecanismo de ação da bupropiona ainda é um pouco desconhecido, porém sabe-se que a substância apresenta potencial antidepressivo, ao inibir a noradrenalina e recapturando a dopamina, ou realizando apenas uma dessas atividades. (CLARKE, 1993; HOLM & SPENCER, 2000). A bupropiona também age nos AChRs e não apenas através de seu efeito antidepressivo (SLEMMER, MARTIN & DAMAJ, 2000; TONG, CARMODY & SIMON, 2006). Jorenby (2002) demonstrou em sua pesquisa que a TSR quando aliada à TRN ou realizada sozinha contribui mais para a cessação do tabagismo do que o placebo, uma vez que freia o desejo pelo cigarro, mitiga os sintomas da abstinência e abranda o aumento de peso que está vinculado à supressão do uso do tabaco. West (2003) aponta que os efeitos colaterais mais comuns da TSR são insônia e xerostomia. Além disso, enfatiza que pacientes com hipersensibilidade e transtornos convulsivos não podem realizar o tratamento, pois os efeitos colaterais, embora raros, são perigosos.

A respeito da vareniclina, acredita-se que ela funcione como agonista parcial dos AChRs e desse modo, ocorre a diminuição do desejo pelo tabaco, assim como dos sintomas da abstinência, devido a liberação de dopamina. Ademais, a vareniclina também é caracterizada como uma substância antagonista parcial, pois impede o estabelecimento das propriedades de reforço da nicotina (GONZALES *et al.*, 2006). De acordo com pesquisas anteriores, ela revela ser mais competente para a cessação do tabagismo em comparação às TRN, TSR e ao placebo. A vareniclina também demonstra sucesso para conter os efeitos de recaída em fumantes que pretendem deixar o tabaco (TONSTAD, 2006). Vale ressaltar que a substância tem a capacidade de interagir com os AChRs no cérebro, e dessa maneira, modifica os efeitos fisiológicos

proporcionados pela dependência (MOHANASUNDARAM, CHITKARA & KRISHNA, 2008). Keating e Siddiqui (2006) constataram que três meses de tratamento com a terapia de vareniclina foi o suficiente para evitar recaídas, contudo o aumento nos sintomas de abstinência pode ser verificado após um longo período. À vista disso, diversos pesquisadores sugerem a combinação da terapia com vareniclina associada à TSR para atingir melhores resultados em fumantes que apresentem diferentes graus de dependência, porque a monoterapia não é tão eficaz para contribuir na redução dos percentuais de recaída depois de certo tempo (VOGELER, MCCLAIN & EVOY, 2016; ZHONG *et al.*, 2019).

A citisina é um agonista parcial dos AChRs alfa-4, alfa-6 e beta-2 ($\alpha4\alpha6\beta2$), assim como a vareniclina (GRADY *et al.*, 2010). A citisina apresenta afinidade cinco vezes mais baixa em comparação com a vareniclina (COE *et al.*, 2005) e sete vezes mais alta em comparação com a nicotina (ROLLEMA *et al.*, 2010). Logo, fármacos que ajam nos AChRs aparentam ser promissores no controle do uso do tabaco (TUTKA *et al.*, 2019). Etter *et al.* (2008) indicam que as pesquisas utilizando a citisina para a cessação do tabagismo na Europa Central e Oriental são benéficas, haja vista a sua semelhança na estrutura química com a nicotina e a vareniclina, porém existem algumas lacunas que precisam ser preenchidas para o tratamento com essa droga, tais como: propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, efeitos colaterais, eficiência e risco de abuso. Walker *et al.* (2014) realizaram um estudo que comparava a TRN à terapia com citisina, e verificaram que a terapia de citisina concatenada a um apoio comportamental apresentou melhor resultado do que a TRN. Contudo, mais efeitos colaterais foram encontrados, e entre eles estão: náuseas, vômitos e distúrbios do sono.

De acordo com pesquisas desenvolvidas no campo da neurociência, a molécula de NAC restringe o interesse dos indivíduos por certos tipos de drogas, tais como: cocaína (LAROWE *et al.*, 2007), maconha (GRAY *et al.*, 2010) e nicotina (SCHMAAL *et al.*, 2011). Segundo Kenny, Gasparine e Markou (2003), o aumento na quantidade extracelular do neurotransmissor glutamato no SNC está relacionado ao abrandamento dos sintomas da abstinência ocasionados pela nicotina. Zhou e Kalivas (2008) comprovaram que em ratos tratados inicialmente com heroína, a NAC impediu os efeitos de recaída, bem como, restituiu a quantidade extracelular do glutamato. Arancini *et al.* (2019) apontaram a NAC com grandes chances de ser um alvo crucial na terapia contra o tabagismo. Dentre as possíveis vantagens, cita-se por exemplo: baixo custo, eficiência nos sintomas de doenças psiquiátricas, tolerabilidade e segurança. McClure *et al.* (2015) relataram que a vinculação de terapias para a cessação de tabagismo envolvendo NAC e vareniclina é executável e efetiva. Entretanto, esse estudo teve limitações, uma vez que

o tamanho da amostra analisada foi pequeno; grupos de controle não foram utilizados, pois o estudo era um ensaio aberto e a inexistência de apoio psicológico e de uma data para suspender o uso do tabaco não foram demarcados.

As terapias farmacológicas não são suficientes para cessar o tabagismo. Os fármacos anti-nicotínicos possuem diversos efeitos colaterais e não possuem alta eficácia para o controle do tabagismo. Por esse ângulo, novas terapias antifumo necessitam de aperfeiçoamento para alcançar maior êxito (ZANIEWSKA, PRZEGALINSKI & FILIP, 2010). De modo geral, é consenso que há a necessidade da criação de farmacoterapias diversificadas que atinjam outros sistemas de neurotransmissores no cérebro que garantam maior eficiência no tratamento do tabagismo e que apresentem menor frequência de efeitos adversos. Wilkes (2008) destaca que suporte psicológico, satisfação pessoal e alteração nos fatores ambientais também são essenciais para reduzir a dependência à nicotina.

Oxitocina e via mesocorticolímbica

A oxitocina (OXT) é um neuropeptídeo fabricado por neurônios magnocelulares e parvocelulares que exibem os seus corpos celulares especialmente nos núcleos paraventriculares (PVN) e nos núcleos supraópticos (SON) do hipotálamo (PANARO, BENAMEUR & PORRO, 2020). Além disso, pequenas células do núcleo supraquiasmático (SCN) também produzem esse neuropeptídeo (ISHUNINA & SWAAB, 2002). A OXT é liberada pela neuro-hipófise em reação ao estímulo produzido nas glândulas mamárias, e nesse caso, viabiliza a ejeção de leite, e também é liberada pela neuro-hipófise no momento do parto, promovendo as contrações uterinas (LUDWIG & LENG, 2006; BROWN *et al.*, 2013). Dumais *et al.* (2016) também realçam que essa substância participa da manifestação de múltiplos comportamentos sociais e reprodutivos. Donaldson & Young (2008) salientam que há pouco tempo os cientistas atentaram-se às funções desse neuropeptídeo e seus receptores nos traços psicológicos, vínculos sociais, convicções e qualidades altruístas dos seres humanos. Assim sendo, a OXT no que diz respeito a comportamentos sociais, parece ter uma função específica em áreas corticais e subcorticais do cérebro (MARLIN & FROEMKE, 2016). Por conseguinte, a OXT pode atuar na fisiologia dos seres vivos como um neuro-hormônio, neuromodulador ou neurotransmissor (KOVATSI & NIKOLAOU, 2019).

Os receptores de OXT estão distribuídos por vários locais no cérebro (TRIBOLLET *et al.*, 1992). As maiores quantidades são encontradas nas seguintes regiões: córtex peduncular dorsal (áreas corticais); Ilhas de Calleja e grupo de células do pálido ventral (gânglio basal); núcleo leito da estria terminal, núcleo amigdalóide central, subículo ventral (sistema límbico) e no núcleo ventromedial (hipotálamo). O PVN do hipotálamo apresenta grande quantidade de receptores de OXT e é um dos locais relevantes de produção da substância (QUINTANA *et al.*, 2019). Para Luo *et al.* (2017) e Mitre *et al.* (2017), a liberação de OXT e a disposição de seus receptores no córtex são primordiais para compreender os circuitos neuronais envolvidos no comportamento social, visto que essa substância possibilita o desenvolvimento de circuitos corticais que favorecem a intensificação dos estímulos sociais. Portanto, o sistema oxitocinérgico dos mamíferos está apto para lidar com uma gama de situações sociais para preservar um grupo social, e também as atividades que ocorrem dentro dele, influenciando as relações entre os seres vivos e afetando os contextos emocionais e sociocognitivos de cada um dos integrantes, em particular, tais como: reconhecimento social, cooperação social, apego, competição e proteção de recursos contra elementos de outros grupos, entre outras funções sociais (CRESPI, 2015).

Existe uma relação entre a OXT e o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico apoiada em diversos estudos sobre o comportamento social e sexual em roedores (MCGREGOR, CALLAGHAN & HUNT, 2008). Os neurônios que liberam o neurotransmissor dopamina se projetam para áreas mesocorticais e mesolímbicas que se sobrepõem e por estarem intimamente relacionadas, forma-se um sistema denominado mesocorticolímbico. A região mesocortical apresenta projeções de neurônios da VTA medial para o córtex pré-frontal medial, cíngulo e perirrinal. A região mesolímbica apresenta projeções de neurônios da VTA para o hipocampo, amígdala e o septo, e com maior frequência para o tubérculo olfatório e NAcc (IKEMOTO & WISE, 2004; HEARING, ZINK, & WICKMAN, 2012). É conveniente afirmar que o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico está ligado aos efeitos recompensadores (LETZEN *et al.*, 2019), antecipatórios (TSIGOS & CHROUSOS, 2002), motivadores (PIZZAGALLI, 2014), além de comportamentos orientados a finalidades (BURKE *et al.*, 2010).

A nicotina pode afetar o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico de forma direta ou indireta, por exemplo, através das vias de sinalização de proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK) e cascatas de sinalização do fosfatidilinositol (FLATSCHER-BADER & WILCE, 2009). O sistema dopaminérgico mesocorticolímbico é uma região central para compreender de que forma essa substância pode ocasionar dependência, contudo, esta questão é multifatorial,

pois envolve processos biológicos, psicológicos e sociais (DOYON *et al.*, 2013). Pode-se dizer que a nicotina age sobre o sistema mesocorticolímbico, porque está correlacionada à expressão de AChRs nos circuitos neuronais (ZARRINDAST & KHAKPAI, 2018) que envolvem a liberação de neurotransmissores como ácido amino-butírico (GABA), glutamato, dopamina, acetilcolina e serotonina (PIRI & ZARRINDAST, 2011). Pistillo *et al.* (2015) frisam a relevância da utilização de imagens para identificar a presença de receptores associados aos seus neurotransmissores em determinadas células, bem como a posição de cada um desses receptores. Assim sendo, observando suas funções e a plasticidade neuronal, é possível entender as neuroadaptações que tornam os indivíduos dependentes. Segundo Ostroumov e Dani (2018), a plasticidade de sinapses inibitórias no sistema mesocorticolímbico interfere nos diversos tipos de estresse e nas modificações comportamentais associadas às drogas, e também reformula o papel dos circuitos neuronais. Esses dados estão de acordo com Morel, Montgomery e Han (2019), pois eles encontraram que a nicotina e o etanol podem modificar as funções endógenas da VTA, remodelando microcircuitos e funções gerais do cérebro e desarmonizando sinapses excitatórias e inibitórias.

Baskerville e Douglas (2010) sugerem que as principais vias de dopamina e OXT concernentes às propriedades de recompensa e aos laços afetivos sociais estão localizadas no córtex pré-frontal e no NAcc. Lee e Weerts (2016) mostraram que o sistema mesocorticolímbico está associado à modulação dos resultados gerados pela OXT em animais testados para as seguintes metodologias: comportamento de busca por drogas, preferência condicionada por lugar, estresse induzido e mecanismo de droga induzida. Sabe-se que a dependência pela nicotina é uma desordem que afeta o SNC, e tem como consequência a diminuição do papel da OXT e o aumento do papel da dopamina, entretanto a OXT interage com vários neurotransmissores e não somente a dopamina para modular o comportamento associado à dependência ocasionada por drogas psicoestimulantes (BARACZ & CORNISH, 2016). Manbeck *et al.* (2014) investigaram os efeitos da OXT em ratos, demonstrando que terapias clínicas envolvendo o uso de OXT para a cessação do tabagismo são capazes de curar os sintomas da abstinência de nicotina, porém não são eficientes na diminuição da anedonia resultante do afastamento da droga. McGregor e Bowen (2012) argumentam sobre a possibilidade futura de uso da OXT com intuito farmacoterapêutico, objetivando impedir a utilização de drogas de abuso e também reestruturar as questões de vínculo social.

Algumas pesquisas comprovam que a administração intranasal de OXT em humanos é o principal método utilizado nos dias de hoje para testar sua eficácia nos transtornos sociais,

como a ansiedade social (JONES *et al.*, 2017), desordem do espectro autista (ASD) (CAI, FENG & YAP, 2018), transtorno dismórfico corporal (TDC) (FANG, LAWSON & WILHELM, 2019), dependência de álcool (PEDERSEN *et al.*, 2013), entre outros. De acordo com Leng e Ludwig (2016), o uso de OXT intranasal pode alcançar algumas regiões do cérebro em que se almeja estudar, sem que ela seja introduzida no líquido cefalorraquidiano.

Oxitocina e tabagismo

Constata-se que a OXT pode atenuar a aversão pela nicotina em ratos adolescentes machos, além de aliviar a ocorrência de comportamentos resultantes da ansiedade. Sabe-se que a dependência pelo tabaco é influenciada por vários aspectos sociais, e com isso pode-se dizer que o neuropeptídeo OXT é capaz de interferir nas etapas iniciais da dependência à nicotina, afetando aspectos psicológicos, comportamentais e fisiológicos (LEE, JANG & NOH, 2016). Van Hedger *et al.* (2019) descobriram que em fumantes adultos do sexo feminino, a aplicação de OXT restringiu o número de cigarros fumados em relação aos participantes que foram tratados com placebo. Porém, ainda não se sabe os mecanismos psicocomportamentais e psicobiológicos pelos quais a OXT restringe a prática do fumo. Dado que a OXT apresentou maior efeito depois da utilização dos primeiros cigarros, nota-se que ela está associada aos processos de dependência à nicotina, contudo a OXT não intervém no desejo, humor e prazer pelo tabaco. Foi demonstrado que a administração de OXT não apresentou resultados nos estresses subjetivo, hormonal e cardiovascular; nos percentuais de desejo pelo cigarro; na resposta neuroendócrina; no retardamento do fumo, bem como na ansiedade em fumantes adultos do sexo masculino e feminino, antes e depois dos participantes passarem tarefa estressante de falar em público (VAN HEDGER, *et al.*, 2020) e também, antes de outras tarefas de estresse social e de resistência ao fumo (MCCLURE *et al.*, 2019). Por isso, os cientistas apontam que novos estudos devem ser realizados para determinar se a OXT pode aumentar o desejo por cigarro, após os integrantes da pesquisa passarem por outras tarefas estressantes.

Pesquisas anteriores no nosso laboratório revelaram que o índice de sociabilidade pode ser um aspecto fundamental para apontar a utilização de nicotina em animais adolescentes. Ademais, verificamos que animais que apresentam níveis de sociabilidade superiores, apresentam elevado consumo de nicotina no período da adolescência. Todavia, esta associação

não é válida para fase adulta. Estes achados indicam que adolescentes mais sociáveis tendem a utilizar maiores quantidades de drogas (GONÇALVES, 2020). Dado que o hormônio oxitocina favorece as relações sociais, consideramos que o sistema oxitocinérgico execute uma função importante nesse processo. Domes *et al.* (2007) verificaram que uma simples dose de OXT pode diminuir as respostas da amígdala no lado direito que está vinculado às emoções, e de acordo com um estudo desenvolvido por Mihov e Hurlemann (2012), pesquisas a partir de imagens cerebrais demonstraram que a amígdala é uma área associada a respostas neurais modificadas por causa da dependência à nicotina. Nessa região também foi encontrado uma suprarregulação de receptores de OXT após administração crônica de nicotina (ZANOS *et al.*, 2015). A nossa hipótese é que o sistema oxitocinérgico desempenhe funções associadas à idade na geração das respostas agudas da nicotina, assim como, no seu potencial de suscitar a dependência.

Com o objetivo de encontrar trabalhos pertinentes na área da Neurociência que envolvessem as implicações do neuropeptídeo OXT na dependência à nicotina em animais e humanos, desenvolvemos uma revisão sistemática com base em artigos da literatura internacional publicados no *Pubmed*. A busca por palavras-chave foi feita em língua inglesa. Utilizamos os seguintes vocábulos na busca por artigos referentes aos modelos animais: *oxytocin, tobacco, dependence, addiction, nicotine consumption, treatment, conditioning place preference, sensitization, behavior, rodents*. Utilizamos os seguintes vocábulos na busca por artigos referentes aos seres humanos: *oxytocin, tobacco, dependence, addiction, nicotine consumption, treatment, intervention*. Posto isto, um trio de palavras foi escolhido para cada pesquisa, de modo que os termos *oxytocin* e *tobacco* apareceram em todas as consultas, associados a um terceiro termo com o objetivo de enfatizar a área do conhecimento investigada. Os critérios de inclusão para essa revisão sistemática foram: ensaios clínicos randomizados para seres humanos e estudos pré-clínicos para roedores. Editoriais, cartas aos editores, artigos de revisão, metanálises, dissertações e outros modelos de estudo foram agrupados nos critérios de exclusão. Em decorrência da revisão de literatura, 21 artigos foram encontrados, sendo que apenas 4 deles atenderam aos critérios estabelecidos por esta revisão sistemática (tabela resumo 1). As informações coletadas nos artigos referentes aos modelos animais foram: autor/ano, dose e modelo de administração de oxitocina, animal/sexo, idade estudada, dose aguda ou crônica de OXT e o resultado principal. As informações coletadas nos artigos referentes aos seres humanos foram: autor/ano, dose e modelo de administração de oxitocina, delineamento do estudo, idade estudada, sexo dos participantes, dose aguda ou crônica de oxitocina e o resultado

principal. Dos 4 artigos encontrados, apenas 1 fazia menção aos modelos animais. Neste estudo observou-se que uma injeção subcutânea aguda de OXT (0,01; 0,1 ou 1) mg/kg em ratos adolescentes no trigésimo dia pós natal (PN30) *Sprague Dawley* masculinos facilitou o uso de nicotina e reduziu o comportamento associado à ansiedade. Os outros três artigos restantes referem-se às metodologias desenvolvidas com seres humanos. Em todos os estudos foi administrada uma dose aguda de 40 unidade internacional (UI) de OXT intranasal em fumantes regulares com idade entre 18 e 45 anos. Na pesquisa desenvolvida por Van Hedger *et al.* (2020), fumantes diários saudáveis passaram por uma tarefa indutora de estresse e por outra tarefa de controle não estressante. Eles receberam OXT ou placebo antes e depois de cada tarefa. Verificou-se que a OXT não teve resultado no que diz respeito às respostas ao estresse, nas medidas de desejo por cigarro e na ansiedade. Já na pesquisa desenvolvida por McClure *et al.* (2019), fumantes diários foram monitorados durante 14 dias, onde receberam OXT ou placebo, passaram por uma tarefa de estresse social, tarefa de resistência ao fumo e depois, por um período de fumo *ad libitum*. Também foi verificado que a OXT não foi benéfica em relação ao estresse subjetivo, desejo, resposta neuroendócrina e no atraso do fumo. Estes estudos foram realizados tanto em homens como em mulheres. No trabalho realizado por Van Hedger (2019), mulheres fumantes receberam OXT ou placebo, e em seguida tiveram oportunidades de fumar cigarros em troca de dinheiro. Constatou-se que os participantes que receberam OXT apresentaram menos desejo de fumar em relação aos que foram tratados com placebo. Diante desses achados, em estudos desenvolvidos com humanos, a OXT não denotou vantagens quando os indivíduos foram submetidos a alguma tarefa estressante. Entretanto, quando os tabagistas não se submetem a algum tipo de tarefa estressante e recebem a OXT, esse neuropeptídeo reduziu a vontade de fumar em mulheres. Embora a OXT possa apresentar um importante alvo terapêutico para o controle do tabagismo, como também desempenhar papel fundamental nos processos de dependência a drogas de abuso, fica evidente que ainda existem poucos estudos desenvolvidos nessa área de pesquisa. Nesse sentido, trabalhos posteriores podem esclarecer o momento ideal para a administração intranasal de OXT com o objetivo de cessar o uso do tabaco.

Tabela 1 – Tabela-resumo com a descrição dos artigos da revisão sistemática

DOSE E					
TIPO DE ESTUDO	AUTOR E ANO	MODELO DE APLICAÇÃO DA OXT	SEXO	IDADE ESTUDADA	RESULTADO PRINCIPAL
Pré-clínico	LEE et al., 2016	0,01; 0,1 e 1 mg/kg injeções subcutâneas	Ratos <i>Sprague Dawley</i> do sexo masculino	PN30 (ratos adolescentes)	Oxitocina estimula o consumo de nicotina e reduz a ansiedade
Clínico	VAN HEDGER et al., 2019	Dose única de oxitocina (40UI intranasal)	Feminino	18 a 35 anos	Os participantes que receberam oxitocina apresentaram menos desejo de fumar em relação aos que foram tratados com placebo
Clínico	VAN HEDGER et al., 2020	40 UI intranasal em duas sessões diferentes	Feminino e masculino	18 a 35 anos	A oxitocina não apresentou efeito em relação às respostas ao estresse, nas medidas de desejo por cigarro e na ansiedade
Clínico	MCCLURE et al., 2019	Dose única de oxitocina (40 UI intranasal)	Feminino e masculino	18 a 45 anos	A oxitocina não foi benéfica em relação ao estresse subjetivo, desejo, resposta neuroendócrina e no retardamento do fumo

Legenda: UI – Unidade Internacional.

Fonte: O autor, 2021.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

- Investigar o efeito da administração da oxitocina sobre efeitos comportamentais associados à recompensa gerada pela nicotina em camundongos adultos e adolescentes.

1.2 Objetivos específicos

- Avaliar o consumo de nicotina em teste de dupla escolha;

- Avaliar a atividade locomotora espontânea e o comportamento associado à ansiedade em teste do Campo Aberto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este é um projeto de dissertação de natureza experimental sendo integralmente desenvolvido no Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Os experimentos descritos até aqui foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do IBRAG / UERJ e estão de acordo com a declaração de Helsinki e com o Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório adotado e promulgado pelo Instituto Nacional de Saúde (*National Institutes of Health* – NIH) dos Estados Unidos da América.

2.1 Modelo Experimental

No presente trabalho foram usados camundongos da cepa Suíça. Esses animais foram gerados, criados e mantidos no biotério, especificadamente para camundongos, do Laboratório de Neurofisiologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. O ambiente possui um ciclo diário de 12 horas claro/escuro, em que o período escuro tem início a partir das 13h, com temperatura controlada por volta de 21 °C. Além disso, os animais dispõem do livre acesso de água e comida. A fim de garantir que os animais estavam em um local adequado para sobrevivência e devidamente saudáveis, a troca de caixas no biotério era realizada duas vezes por semana, bem como a água e a ração deles.

Para a geração dos animais experimentais, um macho e duas fêmeas eram colocados na mesma caixa. Assim, quando se identificava gravidez nas fêmeas, elas eram individualizadas em caixas específicas para terem suas ninhadas. Quando os animais nasciam, eles recebiam uma etiquetagem, contendo o número de filhotes por caixa e a data de nascimento. Nesta pesquisa, foram utilizadas apenas ninhadas contendo um número esperado de 7 a 13 filhotes. Ademais, a data de nascimento de cada animal era contada como o primeiro dia pós-natal (PN1). Os camundongos eram desmamados no vigésimo quinto dia pós-natal (PN25), e em seguida, separados por sexo. Caso o número de filhotes por ninhada fosse abaixo ou acima do esperado, esses animais recebiam uma etiqueta com a denominação “matriz” e não eram testados. Quando o número de filhotes por ninhada estava dentro do esperado, esses animais

recebiam uma etiqueta com a denominação “experimental” e eram submetidos aos testes comportamentais.

2.2 Testes comportamentais e idades estudadas

Nesse estudo os animais passaram pelos seguintes testes comportamentais: Teste de Livre Escolha entre Duas Garrafas (TBC), durante o PN47 e PN97 para adolescentes e adultos, respectivamente e o teste do campo aberto (CA), durante o PN40 e PN90 para adolescentes e adultos, respectivamente.

2.2.1 Teste de Livre Escolha entre Duas Garrafas (TBC)

No teste de livre escolha entre garrafas, cada animal tem acesso a dois tipos de soluções em distintos recipientes. A partir disso, pode-se afirmar que o animal escolhe consumir o que ele deseja durante o período de teste. É um teste utilizado para verificar a preferência de uma determinada solução de interesse em relação à água.

Em PN40 e PN90 os camundongos adolescentes e adultos passavam pela fase do pré-teste ao longo de um período de 7 dias (uma semana) com a finalidade de condicionar os animais ao consumo da nicotina. Durante este período todos os animais tiveram a solução de nicotina (10 µg/mL) como fonte única de líquido. Este período se faz necessário para que simulássemos situação onde já é observado efeitos de adição pela nicotina, como pode ser constatado pela comparação em estudo piloto realizado ao comparar a preferência média entre animais naives e animais com 7 dias de exposição prévia a nicotina. Em ambas as idades estudadas há aumento significativo da preferência quando este período de pré-exposição é realizado (ver tópico de resultados, gráficos 2 e 3). Desta forma, os camundongos adolescentes eram testados 47 dias após o nascimento (PN47) e os camundongos adultos eram testados 97 dias após o nascimento (PN97), ou seja, uma semana após o pré-teste. A solução de nicotina era diluída em água potável. Além disso, cada solução continha uma quantidade de sacarina a 2%, com o objetivo de mascarar o gosto amargo da nicotina, evitando assim a aversão dos animais pela substância. Cada animal recebeu uma mamadeira contendo 20 ml de uma solução específica. Posteriormente, no dia seguinte, media-se a quantidade de água e de nicotina consumida pelos

camundongos. Animais do grupo oxitocina receberam a administração intranasal de oxitocina (100 µg/kg) 1 hora antes do início do TBC. O consumo de nicotina foi avaliado diariamente por 4 horas seguintes durante o início do período noturno do biotério. Para medir a preferência do consumo de nicotina em relação à água, utilizou-se a seguinte fórmula: $(\text{consumo de nicotina} / (\text{consumo de água} + \text{consumo de nicotina}) * 100)$. Com isso, pôde-se observar consumo da nicotina por dia em cada um dos animais provenientes das ninhadas.

2.2.2 Teste do Campo Aberto

Já em relação ao CA, foram formados quatro grupos experimentais: 1) OXI+NIC, que recebia a administração de oxitocina intranasal (100 µg/kg) 1 hora antes do início do teste e injeção subcutânea de nicotina (0,5 mg/Kg) imediatamente antes do teste; 2) NIC, que recebia a administração de salina intranasal e injeção subcutânea de nicotina; 3) OXI, que recebia a administração de oxitocina intranasal e injeção subcutânea de salina; 4) CONT, animais controles para as duas drogas.

No CA os animais foram inseridos em uma arena, cujas dimensões são: 46 cm de comprimento x 46 cm de largura x 43 cm de altura. Esse equipamento dispõe de 2 arranjos perpendiculares que contêm 16 emissores e detectores infravermelhos. Eles estão localizados a 1,5 cm de altura em relação ao chão. Esse recurso metodológico está associado a um computador que detecta interrupções dos raios infravermelhos quando os animais estão em movimento. Os raios infravermelhos servem para identificar a região da arena em que os animais estão posicionados, bem como para investigar a locomoção deles. O teste teve 10 minutos de duração. A atividade locomotora espontânea foi calculada segundo a distância percorrida por cada animal e o nível de ansiedade dos camundongos baseou-se no tempo de permanência de cada um deles no centro. Os experimentos foram realizados no intervalo compreendido entre 9:00 e 12:00 a.m. Depois do período de teste, a arena foi limpada com uma toalha de papel embebida em álcool 70% e secada antes do início de novas sessões com os camundongos.

2.3 Análise Estatística

Para avaliação da massa corporal (gramas) dos animais foi realizado uma análise de variância com medidas repetidas (ANOVAR) considerando o dia de exposição como fator de repetição. Grupo experimental (controle e oxitocina), idade (adolescentes e adultos) e sexo (macho e fêmea) foram considerados fatores de análise. Os dados serão expressos através da média e erro padrão da média. Valores de significância serão considerados significativos quando $p < 0,05$.

Para a avaliação do percentual de consumo de nicotina no teste de escolha entre duas garrafas foi realizada uma análise de variância univariada (ANOVAu) geral para cada idade avaliada utilizando o percentual médio de consumo ao longo dos cinco dias de teste. Além disso, foram realizadas ANOVAR considerando o dia de exposição como fator de repetição e ANOVAu separadas para cada dia de exposição. Tratamento e sexo foram considerados fatores de análise.

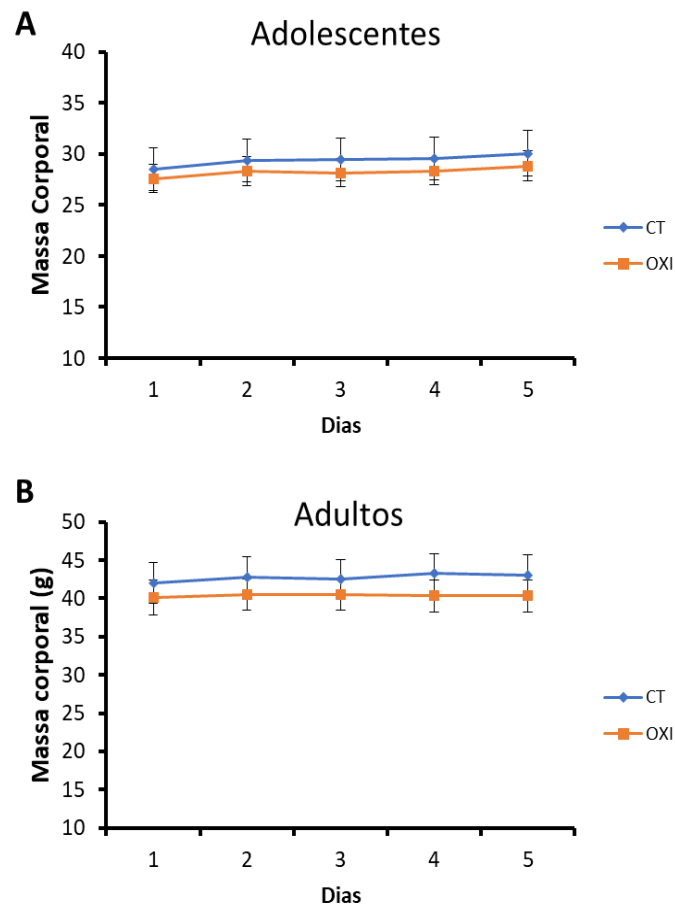
Para avaliação do comportamento no teste do campo aberto foram realizadas ANOVAR considerando o intervalo de tempo de teste (1 minuto) como fator de repetição e ANOVAu para a soma dos intervalos para cada perfil de efeito encontrado para atividade locomotora (hiperlocomoção ou hipolocomoção) e comportamento associado a ansiedade (efeito ansiolítico ou ansiogênico). Tratamento e sexo foram considerados fatores de análise. Adicionalmente, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) bidimensional. Esta análise é comumente usada para estudar interações entre drogas, pois permite indicar objetivamente se os efeitos da exposição combinada são reflexos da adição dos efeitos de cada substância separadamente ou se ocorrerem interações, resultando em efeitos mais que aditivos (sinérgicos) ou menos que aditivos. Nesse projeto, a exposição à nicotina (grupos: NIC e NIC+OXI) e exposição à oxitocina (grupos: OXI e NIC+OXI) separadamente foram considerados fatores entre sujeitos. Efeitos mais que aditivos e menos que aditivos são indicados por valores de p significativos ($P < 0,05$) quando encontradas interações entre as exposições na ANOVAu.

3 RESULTADOS

3.1 Massa corporal

De um modo geral, os animais ganharam massa corporal durante o período de teste de preferência entre duas garrafas (Figura 1A e B, Efeito do Dia: $F_{(2,2;82,5)} = 7,8$; $P < 0,001$). Esse aumento de massa foi independente da idade, apesar de, como esperado, animais adultos serem mais pesados do que animais adolescentes (Efeito da Idade: $F_{(1;36)} = 31,6$; $P < 0,001$). Além disso, animais machos possuem maior massa corporal quando comparados com as fêmeas (Efeito do Sexo: $F_{(1;36)} = 10,6$; $P < 0,01$). A exposição à oxitocina não foi capaz de alterar a massa corporal.

Gráfico 1 - Avaliação da massa corporal durante o período de teste de escolha por duas garrafas em animais adolescentes (A) e adultos (B).



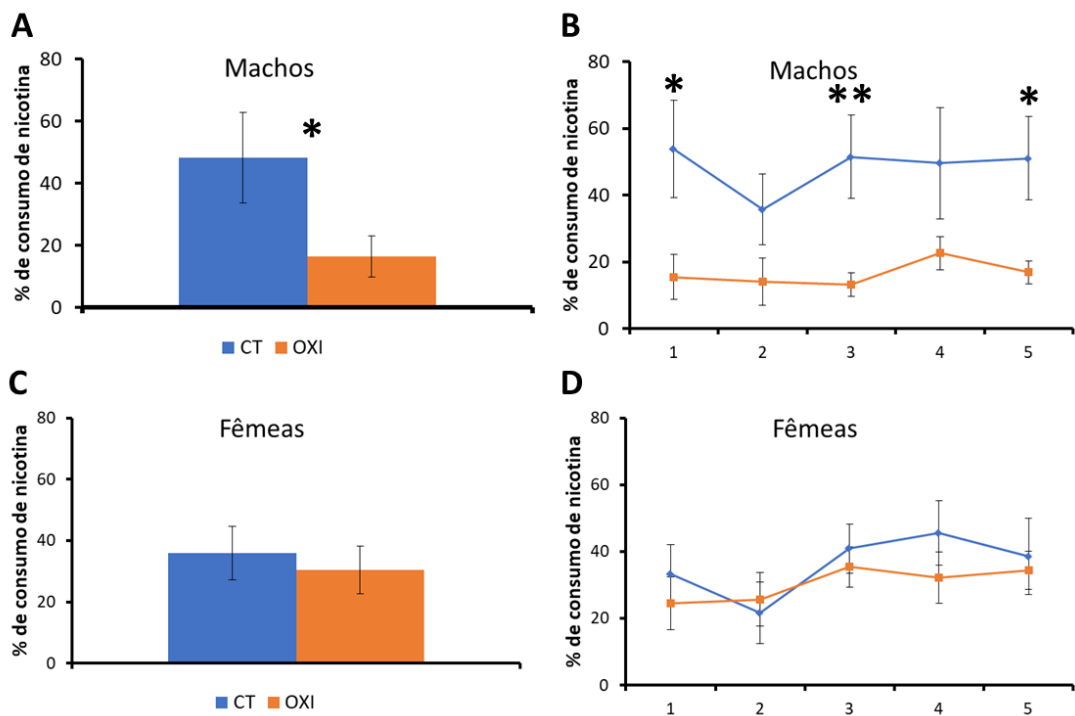
Legenda: CT – grupo controle; OXI – grupo experimental. Tamanho amostral formado por CT = 16 animais adolescentes, OXI = 15 animais adolescentes, CT = 6 animais adultos e OXI = 7 animais adultos.

3.2 Teste de Livre Escolha entre Duas Garrafas

3.2.1 Adolescentes

A ANOVA indicou efeito do tratamento com a oxitocina (Efeito do Tratamento: $F_{(1;31)} = 9,5$; $P < 0,01$), porém este efeito foi dependente do sexo (Interação Tratamento \times Sexo: $F_{(1;31)} = 4,7$; $P < 0,05$). Apesar de não termos observado em fêmeas o efeito da administração de oxitocina (Figura 2A e B), em machos, a oxitocina, de modo geral, foi capaz de reduzir a preferência pelo consumo de nicotina (Figura 2C, Efeito do Tratamento: $F_{(1;14)} = 8,8$; $P < 0,05$). Quando é realizada a análise por dia de teste de preferência, podemos observar que há redução no percentual de consumo de nicotina de forma estatisticamente significativa no primeiro, terceiro e quinto dias (Figura 2B).

Gráfico 2 - Avaliação da preferência pelo consumo de nicotina no teste de escolha entre duas garrafas em adolescentes machos (A e B) e em fêmeas (C e D).

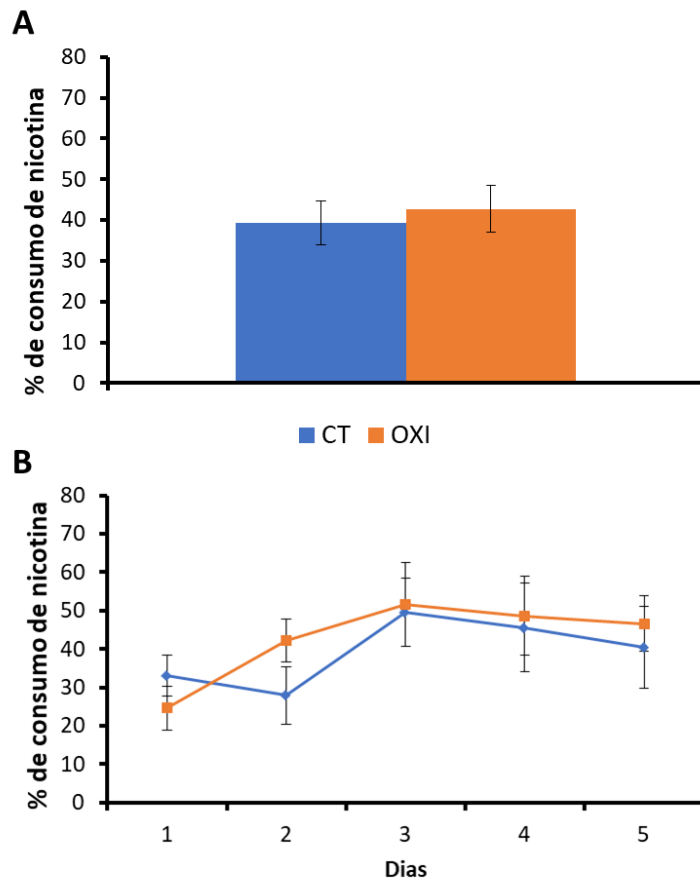


Legenda: CT – grupo controle; OXI – grupo experimental. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. Tamanho amostral formado por CT = 7 animais do sexo masculino, OXI = 7 animais do sexo masculino, CT = 9 animais do sexo feminino e OXI = 8 animais do sexo feminino.

3.2.2 Adultos

A análise do teste de preferência pelo consumo indicou que em animais adultos a administração de oxitocina não foi capaz de promover a redução do consumo de nicotina (Figura 3A e B). Devido ao pequeno tamanho amostral, o sexo não foi considerado um fator de análise para o teste de preferência pelo consumo de nicotina em adultos.

Gráfico 3 - Avaliação da preferência pelo consumo de nicotina no teste de escolha entre duas garrafas em adultos.



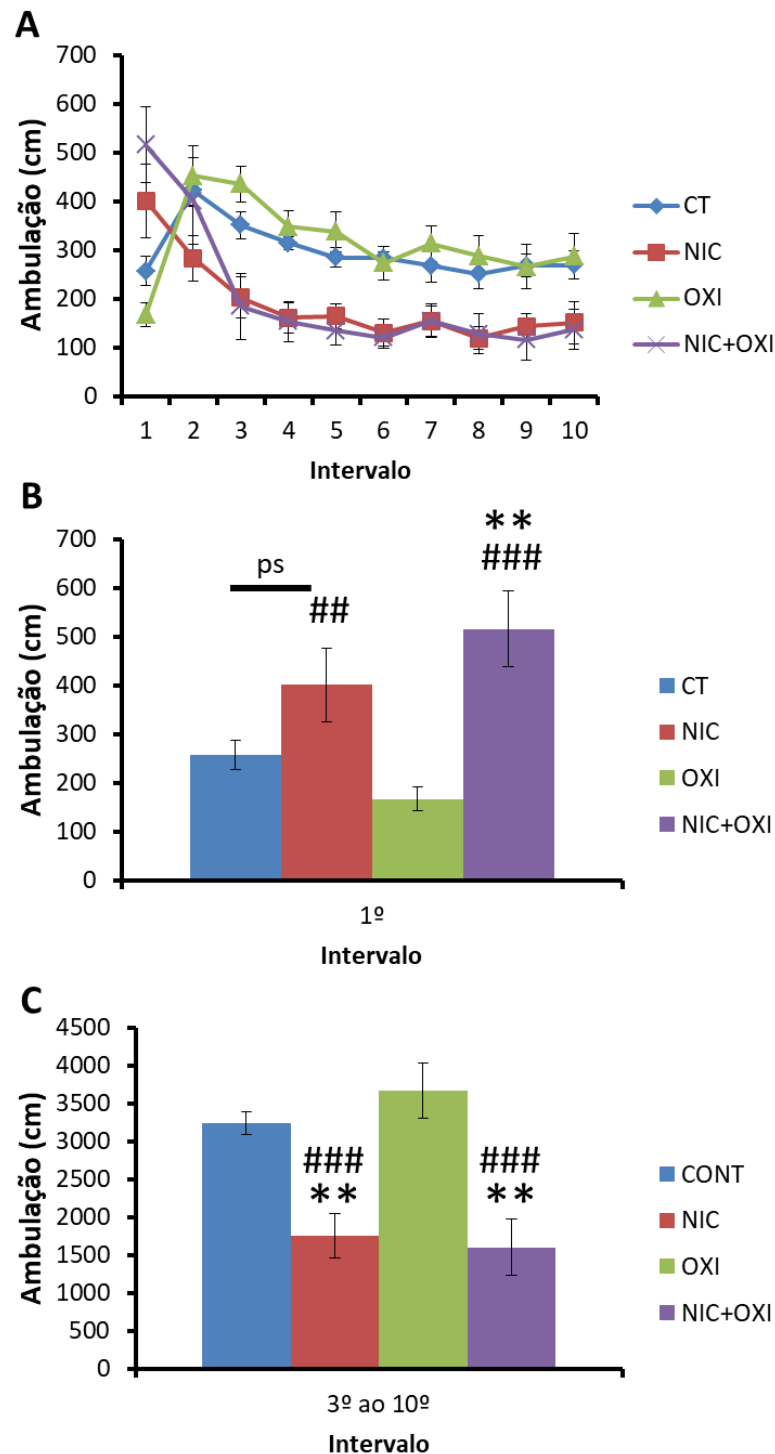
Legenda: CT – grupo controle; OXI – grupo experimental. Tamanho amostral formado por CT = 6 animais e OXI = 7 animais.

3.3 Teste do campo aberto

3.3.1 Adolescentes

A ambulação variou ao longo do tempo de teste (Figura 4A, Efeito do intervalo: $F_{(3,8;120,8)} = 17,5$; $P < 0,001$). Além disso, o grupo afetou a ambulação ao longo dos intervalos (Interação intervalo \times grupo: $F_{(11,3;120,8)} = 6,3$; $P < 0,001$). Observamos que as drogas tiveram efeitos distintos durante o teste, sendo significativo no primeiro intervalo ($F_{(3;40)} = 6,9$; $P < 0,01$) e novamente após o terceiro intervalo em diante (3º: $F_{(3;40)} = 6,9$; $P < 0,01$; 4º: $F_{(3;40)} = 10,8$; $P < 0,001$; 5º: $F_{(3;40)} = 11,5$; $P < 0,001$; 6º: $F_{(3;40)} = 11,3$; $P < 0,001$; 7º: $F_{(3;40)} = 5,1$; $P < 0,01$; 8º: $F_{(3;40)} = 6,4$; $P < 0,01$; 9º: $F_{(3;40)} = 5,1$; $P < 0,01$; 10º: $F_{(3;40)} = 4,3$; $P < 0,05$). No primeiro intervalo (Figura 4B) a exposição à nicotina tendeu a gerar hiperatividade (NIC > CT, $P = 0,09$ e NIC > OXI, $P < 0,01$), já a co-exposição à oxitocina intensificou este efeito (NIC+OXI > CT, $P < 0,01$ e NIC+OXI > OXI, $P < 0,001$). A análise bidimensional indicou uma interação significativa entre a exposição de nicotina e oxitocina ($F_{(1,40)} = 3,1$; $P = 0,08$), sugerindo que a oxitocina apresentou efeito sinérgico. Após o terceiro intervalo (Figura 4C), a exposição à nicotina gerou hipolocomoção, sendo este efeito não afetado pela exposição à oxitocina. A análise bidimensional não indicou interação significativa entre as substâncias, sugerindo um efeito aditivo.

Gráfico 4 - Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal na ambulação durante teste do campo aberto em camundongos adolescentes

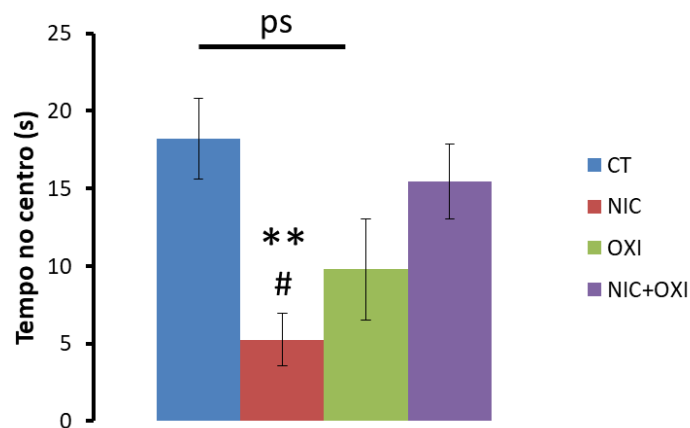


Legenda: ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ vs CT; ## $P < 0,01$ e ### $P < 0,001$ vs OXI; ps = próximo da significância estatística (0,09). Tamanho amostral formado por CT = 10 animais, NIC = 10 animais, OXI = 10 animais e NIC+OXI = 10 animais.

Em (A) observamos a avaliação da atividade locomotora espontânea ao longo dos intervalos de tempo; em (B) avaliação do primeiro intervalo apresentando efeito psicoestimulante da nicotina e em (C) avaliação do 3º ao 10º intervalo apresentando efeito psicodépressor da nicotina.

Devido ao fato do teste se iniciar no centro do campo aberto, só avaliamos o tempo de centro a partir do segundo intervalo de teste. A exposição às drogas alterou o tempo de permanência no centro do aparelho (Efeito do grupo: $F_{(3;40)} = 3,5$; $P < 0,05$). Animais expostos a nicotina apresentaram redução desta variável, sugerindo um efeito ansiogênico (NIC < CT, $P < 0,05$). Na mesma direção a oxitocina gerou tendência à redução, porém esta não alcançou significância estatística (OXI < CT, $P = 0,07$). No entanto, quando há a co-exposição, a oxitocina reverte o efeito ansiogênico da nicotina. A análise bidimensional indicou interação entre as exposições ($F_{(1;40)} = 8,1$; $P < 0,01$), sugerindo um efeito menos-que-aditivo.

Gráfico 5 - Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal no tempo de permanência no centro durante teste do campo aberto em camundongos adolescentes.



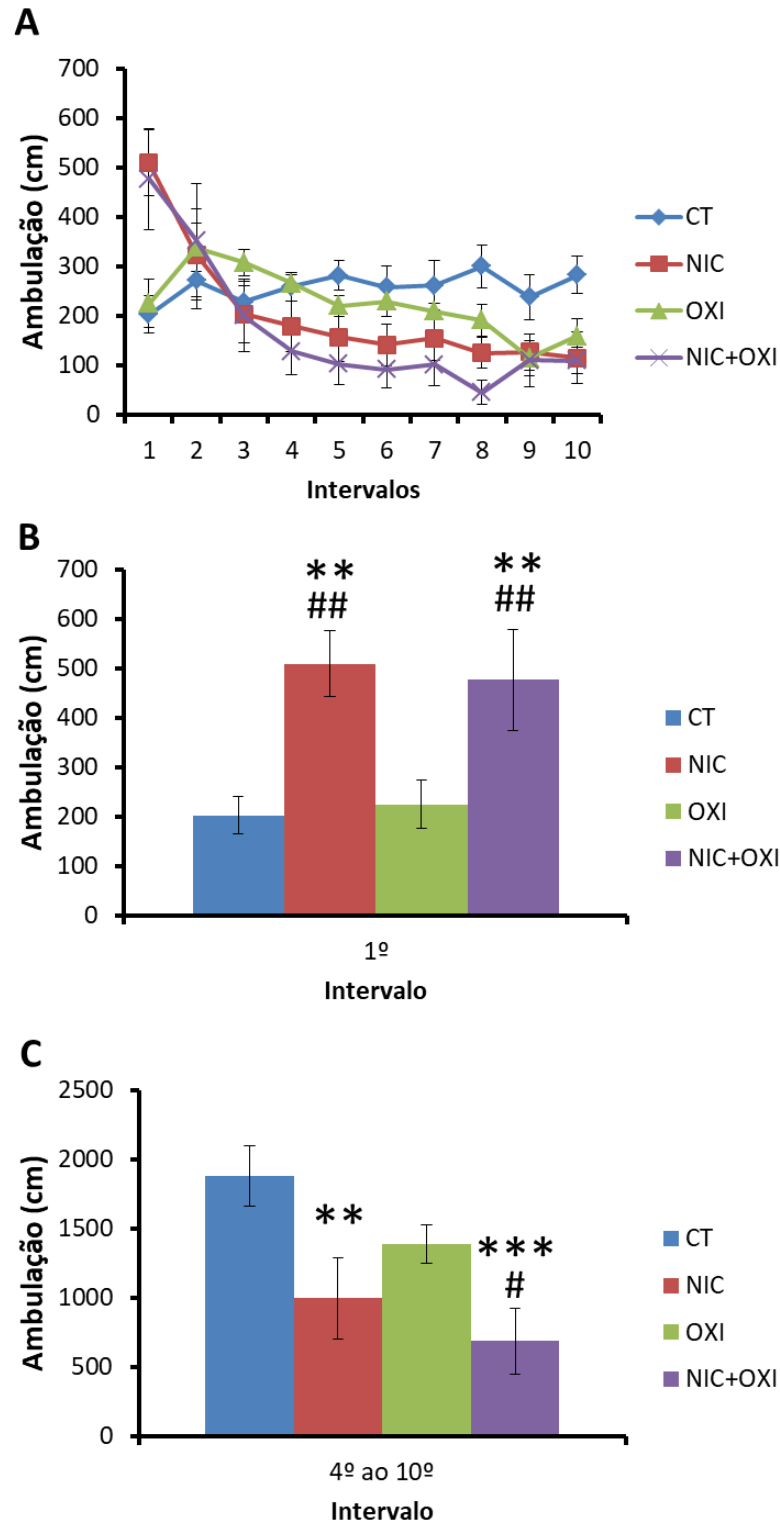
Legenda: ** $P < 0,01$ vs CT; # $P < 0,05$ vs OXI; ps = próximo da significância estatística (0,07). Tamanho amostral formado por CT = 10 animais, NIC = 10 animais, OXI = 10 animais e NIC+OXI = 10 animais.

3.3.2 Adultos

Em adultos, a ambulação também variou ao longo do tempo de teste (Figura 6A, Efeito do intervalo: $F_{(3,8;120,8)} = 17,5$; $P < 0,001$). Além disso, o grupo também afetou a ambulação ao longo dos intervalos (Interação intervalo \times grupo: $F_{(11,3;120,8)} = 6,3$; $P < 0,001$). Observamos que as drogas tiveram efeitos distintos durante o teste, sendo significativo no primeiro intervalo ($F_{(3;36)} = 6,4$; $P < 0,01$) e, diferente do observado no adolescente, a diferença se manifesta novamente do quarto intervalo em diante (4º: $F_{(3;36)} = 3,38$; $P < 0,05$; 5º: $F_{(3;36)} = 4,6$; $P < 0,01$; 6º: $F_{(3;36)} = 5,1$; $P < 0,01$; 7º: $F_{(3;36)} = 3,9$; $P < 0,05$; 8º: $F_{(3;36)} = 14,4$; $P < 0,001$; 9º: $F_{(3;36)} = 3,4$; $P < 0,05$; 10º: $F_{(3;36)} = 4,4$; $P < 0,05$). No primeiro intervalo (Figura 6B) a

exposição à somente a nicotina (NIC > CT, $P < 0,01$ e NIC > OXI, $P < 0,01$) ou a co-exposição (NIC+OXI > CT, $P < 0,0$ e NIC+OXI > OXI, $P < 0,01$) igualmente geraram hiperatividade. A análise bidimensional não indicou uma interação significativa entre a exposição de nicotina e oxitocina. Após o quarto intervalo (Figura 6C, efeito do grupo: $F_{(3,36)} = 5,6$; $P < 0,01$), a exposição somente à nicotina, tal como a co-exposição, gerou hipolocomoção. A análise bidimensional não indicou interação significativa entre as substâncias, sugerindo um efeito aditivo entre elas.

Gráfico 6 - Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal na ambulação durante teste do campo aberto em camundongos adultos.

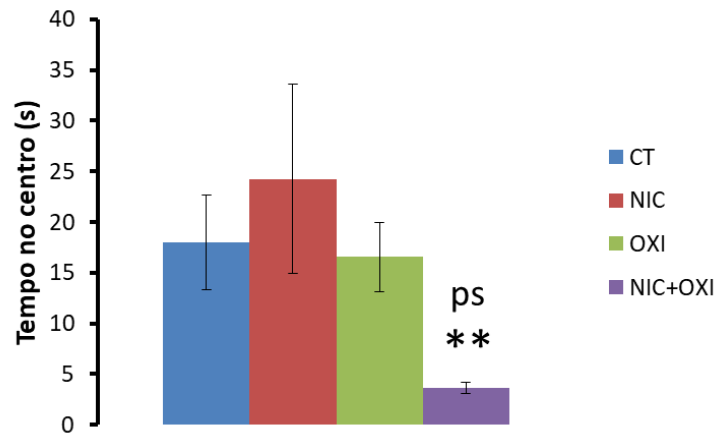


Legenda: ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ vs CT; # $P < 0,05$ e ## $P < 0,01$ vs OXI; Tamanho amostral formado por CT = 9 animais, NIC = 9 animais, OXI = 9 animais e NIC+OXI = 9 animais.

Em (A) observamos a avaliação da atividade locomotora espontânea ao longo dos intervalos de tempo; em (B) avaliação do primeiro intervalo apresentando efeito psicoestimulante da nicotina e em (C) avaliação do 4º ao 10º intervalo apresentando efeito psicodépressor da nicotina.

A exposição às drogas alterou o tempo de permanência no centro do campo aberto (Efeito do grupo: $F_{(3;36)} = 2,9$; $P < 0,05$). Apenas animais co-expostos a nicotina e oxitocina apresentaram redução desta variável, sugerindo um efeito ansiogênico (Figura 7).

Gráfico 7 - Efeito da exposição aguda a nicotina s.c. e/ou a oxitocina intranasal no tempo de permanência no centro durante teste do campo aberto em camundongos adultos



Legenda: ** $P < 0,01$ vs NIC; ps = próximo da significância estatística ($0,05 < P < 0,1$) vs CT e OXI. Tamanho amostral formado por CT = 9 animais, NIC = 9 animais, OXI = 9 animais e NIC+OXI = 9 animais.

4 DISCUSSÃO

4.1 Resumo dos resultados

A partir dos dados analisados e tendo como base as investigações científicas que apontam uma relação entre o grau de sociabilidade e o consumo de drogas de abuso apenas no período da adolescência, podemos inferir que a OXT exerce efeitos significativos nesta fase, porém os efeitos encontrados sobre o consumo oral de nicotina foram dependentes do sexo dos animais. Nesse sentido, foi demonstrado que a substância diminui o consumo de nicotina em camundongos do sexo masculino, entretanto, nas fêmeas, a OXT não alterou os padrões de consumo no teste de livre escolha entre duas garrafas durante a adolescência. Assim, evidencia-se que o sistema oxitocinérgico apresenta diferenças nos mecanismos de atuação em adultos e adolescentes, já que o consumo de nicotina nos adultos não foi afetado pela administração intranasal de OXT. A observação dos resultados do teste do campo aberto também corrobora com a nossa hipótese, uma vez que denota heterogeneidade de respostas associadas à idade neste teste experimental. Dessa maneira, sugerimos que a OXT influenciou a atividade locomotora espontânea dos animais adolescentes que receberam nicotina subcutânea no primeiro intervalo de teste, intensificando as propriedades psicoestimulantes da nicotina e conseqüentemente, aumentando a ambulação dos camundongos. Em relação aos adultos, a OXT interferiu na locomoção dos animais que receberam a injeção subcutânea de nicotina do quarto ao décimo intervalo de teste, porque intensificou a redução da ambulação dos camundongos. Ademais, a OXT também manifestou efeito no comportamento relacionado à ansiedade dos animais, sendo possível notar que ela atenua os efeitos ansiogênicos provocados pela nicotina nos animais adolescentes co-expostos às duas substâncias, devido ao aumento de tempo que o animal permanece no centro do equipamento. Entretanto, os animais adultos co-expostos à OXT e à nicotina passam menos tempo no centro do equipamento, com isso, deduzimos que a OXT pode estar reforçando os efeitos ansiogênicos da nicotina. Portanto, nesta seqüência, iremos discutir as razões das mudanças comportamentais tanto em adultos como em adolescentes, bem como construir hipóteses para explicar os resultados encontrados.

4.2 Diferenças sexuais nos efeitos da oxitocina durante a adolescência

Conforme dito por Dannenhoffer et al. (2018), o sexo é um fator imprescindível nas preferências sociais dos adultos que são controladas pelo sistema oxitocinérgico cerebral. Pesquisas anteriores no nosso laboratório indicam que a adolescência é uma etapa da vida em que os animais tendem a consumir mais drogas do que na idade adulta, especialmente a nicotina (GONÇALVES *et al.*, 2020). Descobrimos que a OXT, além de proporcionar efeitos diferenciados de acordo com a idade dos camundongos, também é capaz de modificar o padrão de consumo de drogas de forma dependente do sexo, pois reduz a preferência por nicotina em machos e é indiferente para as fêmeas neste aspecto. Esses resultados com a nicotina vão ao encontro do que é proposto pelo estudo de Cox *et al.* (2013), em que a OXT diminui a resposta da metanfetamina em um esquema de razão progressiva de reforço por autoadministração em ratos fêmeas, mas não em ratos machos. Porém, Leong *et al.* (2018), demonstraram que a OXT diminui consistentemente a recaída a cocaína associada a pistas ambientais em ambos os sexos. Apesar desta forte evidência indicando o potencial da oxitocina como um tratamento para a dependência em cocaína e metanfetamina, muito pouco se sabe sobre os mecanismos específicos por trás dos efeitos comportamentais sexualmente dimórficos da oxitocina. A utilização da OXT para evitar o uso de cannabis de modo recreativo também apresentou resultados diferentes, uma vez que o número de consequências subjetivas negativas foi maior do que as consequências subjetivas positivas em mulheres que passaram por uma tarefa estressante, sugerindo que a aplicação da substância nelas pode proporcionar uma maior reatividade ao estresse. Ademais, foi demonstrado que os homens fumam mais cannabis para fins prazerosos, entretanto a questão da dependência pode ocorrer com mais facilidade em mulheres, e o período de latência para autoadministração da cannabis é maior em mulheres que receberam OXT e passaram por uma tarefa estressante (REED *et al.*, 2019). Por via de regra, a OXT parece atenuar o comportamento associado à busca por drogas, mas sua ação não é linear e uniforme, haja vista as diferenças sexuais encontradas de forma diferente para cada uma das drogas estudadas. Becker (2016) demonstra que machos e fêmeas não são igualmente sensíveis às drogas de abuso, por isso apresentam diferenças no comportamento social vinculado a elas, e esses contrastes são mais visíveis com a maturidade sexual na adolescência e na fase adulta.

Williams *et al.* (2009) afirmam que a sinalização do receptor de OXT é afetada em regiões particulares do cérebro de forma sexo-específica devido à exposição pré-natal à nicotina

e ao álcool. Assim, diante das pesquisas desenvolvidas, podemos levantar a hipótese que o pré-tratamento com nicotina antes da realização do teste de livre escolha entre garrafas deve apresentar efeitos dependentes do sexo, pois tem capacidade de interferir na expressão dos receptores de OXT, impactando o comportamento social dos animais, sendo significativamente vantajoso para machos e indiferente para fêmeas. Dumais e Veenema (2016) mencionam que o sistema oxitocinérgico é responsável pela regulação sexo-específica nos comportamentos sociais, variando entre as espécies. Contudo, os pesquisadores apontam a necessidade de estudos futuros nessa área, tendo em vista que os mecanismos pelos quais a OXT age de forma diferenciada sexualmente ainda permanecem inconclusivos.

Em virtude de a OXT estar envolvida em uma gama de comportamentos sociais, Duarte-Guterman *et al.* (2020) destacam que em ratos machos percebeu-se haver estimulação da investigação social, bem como elevação da quantidade de células imunorreativas à oxitocina no núcleo supraóptico do hipotálamo, frisando que o sexo é primordial para atuação da OXT na ecologia e fisiologia dos animais. Em humanos, Ma *et al.* (2018) também demonstraram o impacto da OXT na sociabilização entre amigos, sendo efeito positivo evidente no sexo feminino e inexistente no sexo masculino. Com isso, notou-se que nas mulheres as regiões da amígdala e ínsula tiveram uma redução da atividade por efeito da OXT, realçando que também ocorreu uma diminuição na ligação funcional entre essas áreas, não sendo observado esse efeito em homens. Paralelamente, Shi *et al.* (2019) utilizaram modelos humanos para explicar diferenças sexuais na direção da percepção do olhar e demonstraram que a OXT exerce efeitos nesse processo, fortalecendo o julgamento autorreferencial das direções do olhar de outras pessoas em mulheres, e moderando esses impactos nos homens. Por isso, o desejo pela nicotina após a administração de OXT pode ser apenas mais um fator que ocorre de maneira oposta em machos e fêmeas durante a adolescência por conta dos processos de ativação e desativação de alguns locais cruciais de atuação de receptores da OXT.

A exposição à OXT em ratos na adolescência tem a capacidade de alterar alguns déficits sociais na idade adulta, tais como: redução na ansiedade e diminuição do consumo excessivo de álcool (BOWEN *et al.*, 2011). Assim sendo, os cientistas afirmam que uma única dose de OXT é eficaz para refrear a dependência ao álcool de modo instantâneo e exacerbado, por conta das nítidas alterações na fisiologia e no comportamento dos animais testados, mais do que um simples abrandamento fugaz de determinados sintomas, apesar de não apresentar diferenças sexuais. Esse trabalho está em concordância com o que é defendido por Hicks *et al.* (2014), em que a administração crônica da OXT na adolescência reduz a procura por metanfetamina na

vida adulta, orientando a elaboração de investigações de substratos neurais que intercedem nas consequências do pré-tratamento com OXT. À vista disso, podemos expandir essa ideia da aplicação da OXT na adolescência com o intuito de combater a dependência à nicotina na vida adulta, entretanto novos experimentos precisam ser desenvolvidos e aplicados nos mesmos animais, já que há uma carência de estudos com OXT como potencial terapêutico especificadamente nessa idade.

4.3 Diferenças oxitocinérgicas entre adultos e adolescentes

O desenvolvimento do sistema oxitocinérgico começa no útero e continua durante o período pós-natal e na adolescência (BALES & PERKEYBILE, 2012). Dados de estudos com roedores sugerem que a afinidade do receptor de oxitocina não muda com o desenvolvimento (LUKAS *et al.*, 2010). Por outro lado, densidade do receptor de OXT em diferentes regiões muda ao longo da vida útil e é influenciada por fatores ambientais (LUKAS *et al.*, 2010). Esteróides gonadais estimulam durante a adolescência a proliferação de receptores de oxitocina em estruturas límbicas, incluindo a amígdala e o NAcc (STEINBURG, 2008), chegando a uma estabilidade durante a idade adulta. Embora haja a concepção de que desenvolvimento do sistema oxitocinérgico esteja completo na idade adulta, sua plasticidade permanece continuando ser sensível a efeitos como a exposição de drogas de abuso. Entretanto em nosso estudo somente durante a adolescência a OXT foi capaz de reduzir o consumo de nicotina em animais previamente expostos.

No presente estudo durante o período de teste do campo aberto, conforme a nicotina injetada se tornava biodisponível para o SNC, seus efeitos transitaram de psicoestimulante a geração de hipoatividade em ambas as idades, porém a influência da oxitocina nestes efeitos se deu de maneira diferente. Em adolescentes, a oxitocina potencializou os efeitos psicoestimulantes, gerando uma resposta de hiperatividade mais intensa no início do teste. A modulação mediada pela nicotina da liberação de dopamina resulta em aumento da atividade locomotora (MUSEO & WISE, 1994). Apesar da exposição só de oxitocina não promover intensa ativação das vias dopaminérgicas, nosso dado indica que ela é capaz em adolescentes de sensibilizar a via aos efeitos da ativação colinérgica. De fato, recentemente foi descrito a expressão de receptores de OXT por neurônios dopaminérgicos da área tegmental ventral (VTA) que se projetam para o NAcc (PERIS *et al.*, 2017). Existem diferenças marcantes entre

adolescentes e adultos em termos da estrutura e função do sistema mesocorticolímbico que estão implicados no aumento da vulnerabilidade à nicotina durante a adolescência (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2017). O adolescente VTA é funcionalmente hiperativo, bem como os níveis basais de dopamina no NAcc aumenta durante a adolescência (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2017). Além disso, adolescentes possuem menos aferentes no VTA, levando para um perfil de baixo controle da via mesocorticolímbica. Mojica *et al.* (2014) comprovaram que o sistema dopaminérgico é perturbado por ação da nicotina, e Estes *et al.* (2019) desenvolveram um estudo afirmando que aplicação de OXT apresenta potencial para modificar a maneira pela qual as estruturas límbicas liberam o neurotransmissor dopamina. Esse efeito de potencialização aos efeitos psicoestimulantes em nosso trabalho poderia indicar aumento do poder de gerar reforço positivo pela nicotina e, conseqüentemente, aumentar o risco de adição. Num sentido semelhante, a exposição à nicotina em altas doses gera um efeito aversivo, indicado pela resposta ansiogênica que pode ser observada com o passar do tempo do teste, porém a oxitocina mitigou este efeito em adolescentes. Apesar de esses resultados poderem indicar uma possibilidade de a oxitocina favorecer o consumo de nicotina na adolescência, por aumentar as propriedades de reforço e diminuir os efeitos aversivos, não observamos este fato na condição do teste de preferência entre duas garrafas. De forma oposta, a oxitocina reduz o consumo em machos. Essa aparente inconsistência provavelmente se dá pela diferença entre uma exposição aguda e a possibilidade de escolha de consumo da droga em um sistema neuroquímico já modificado pela exposição à nicotina. De fato, a exposição a nicotina rapidamente induz suprarregulação dos receptores colinérgicos nicotínicos em diversas regiões cerebrais, inclusive nas vias mesocorticolímbica (RIBEIRO-CARVALHO, 2008; ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2017). Além disso, foi demonstrado suprarregulação dos receptores de oxitocina após exposição subcrônica de nicotina na amígdala, região moduladora das respostas emocionais associadas à dependência a nicotina. Tomados em conjunto, podemos sugerir que a exposição prévia a oxitocina pode ter possíveis papéis terapêuticos em uma situação na qual já haja um perfil de exposição prévia a nicotina compatível ao uso regular/dependente de tabaco. Por acreditarmos que a adolescência seja um período fundamental para o tratamento da dependência às drogas de abuso, futuros estudos são fundamentais para o entendimento temporal da relação da oxitocina sobre os efeitos de recompensa e aversivos da nicotina nesta idade.

Em adultos, a oxitocina parece intensificar efeitos adversos da nicotina, ocasionando maior resposta de hipoatividade e produzindo um efeito ansiogênico. Os receptores colinérgicos nicotínicos também são expressos por neurônios nos circuitos cerebrais que regulam a resposta

comportamental de aversão. Em particular, neurônios na amígdala, na habênula medial (mHb) e no núcleo interpeduncular para o qual o mHb se projeta quase exclusivamente regulam o "ponto de ajuste" para aversão à nicotina e controlam a ingestão de nicotina (WILLS & KENNY, 2021). Sabe-se hoje que receptores de oxitocina também são expressos por neurônios dopaminérgicos que se projetam para sub-regiões da amígdala e a habênula lateral (lHb). Nesse sentido, é possível que a oxitocina em adultos pode ter ação modulatória da resposta aversiva da nicotina. Considerando que efeitos aversivos da nicotina determinam amplamente a taxa de desenvolvimento e intensidade da dependência da nicotina (SARTOR *et al.*, 2010), poderíamos supor que a administração da oxitocina poderia ter algum papel na redução do consumo de cigarros. Em contradição, não observamos redução no percentual de consumo de nicotina no teste de preferência realizada pelo presente estudo em animais adultos. Vale mencionar que em nosso modelo o percentual de preferência de consumo de nicotina por estes animais é baixo (sempre menos que 50%) não podendo ser representativo de uma condição de alto grau de dependência. É esperado, portanto, que o aumento dos efeitos aversivos da nicotina induzidos pela oxitocina só seja uma estratégia útil para promover a redução do tabagismo em adultos que possuam altos níveis de dependência.

Vários fatores ambientais podem afetar a resposta cerebral na interação entre a ativação oxitocinérgica e os efeitos da nicotina. O sistema oxitocinérgico ainda não está totalmente maduro no período pós-natal e também na adolescência e, por esta razão, as condições ambientais podem sensibilizá-lo (BARACZ, EVERETT & CORNISH, 2020). Por exemplo, o estresse no início da vida altera o funcionamento do sistema de OXT endógena, trazendo consequências psicológicas que têm efeitos comportamentais a longo prazo, tal como a predisposição para incitar a dependência por drogas. Ademais, Williams e Johns (2014) enfatizam que a exposição pré-natal e gestacional à cocaína perturba o sistema oxitocinérgico das mães e conseqüentemente a formação e o papel do sistema oxitocinérgico na prole. Como o abuso de drogas é modulado por efeitos epigenéticos, esse comportamento pode ser transmitido de geração a geração. Sendo assim, diferenças observadas nos níveis ou padrões de expressão dos receptores de OXT, bem como no próprio neuropeptídeo, fornecem informações importantes a respeito das divergências comportamentais encontradas nos animais, fazendo-se necessário elaboração de estudos que investiguem o momento da vida que pode ser determinante para a administração de OXT visando ao tratamento de distúrbios neurocomportamentais (SANNINO, CHINI & GRINEVICH, 2017).

CONCLUSÃO

Embora o consumo de cigarros tenha reduzido globalmente, a prática do tabagismo ainda é comum tanto nos países desenvolvidos quanto nos países subdesenvolvidos, visto que a aquisição do tabaco se tornou facilitada em virtude da evolução de diversos produtos disponibilizados no mercado, sendo que os indivíduos do sexo masculino estão entre os maiores usuários desses itens. Pesquisas anteriores comprovam que a nicotina, principal substância psicoativa do tabaco, pode acarretar a dependência em indivíduos adultos e adolescentes, prejudicando a saúde dos envolvidos. Por isso, é crescente a busca por terapias farmacológicas contra o tabagismo e as mais conhecidas são: TRN, TSR ou vareniclina. Alguns estudos apontam outros recursos terapêuticos devido ao insucesso das terapias convencionais, contudo nenhum deles revelou altos percentuais de eficácia, exceto quando combinados e somente para casos específicos. Acreditamos que a administração intranasal de OXT apresente potencial terapêutico, visto que esse neuropeptídeo interfere no sistema mesocorticolímbico. Porém, através da análise dos resultados da revisão sistemática, encontramos poucos estudos que associassem a OXT como possível agente medicamentoso para tratar a dependência de nicotina, diferentemente do observado com o álcool, em que há dados mais sólidos divulgados na literatura.

Nosso trabalho exibiu resultados pertinentes, uma vez que diferenças sexuais nos efeitos da OXT durante a adolescência foram evidenciadas, enfatizando o potencial da OXT em diminuir o consumo de nicotina somente em machos adolescentes. Também indicamos que o sistema oxitocinérgico não desempenha a mesma função em adultos e adolescentes, ratificando a nossa hipótese, pois nos adolescentes, a OXT intensificou a resposta de hiperatividade induzida pela nicotina, e nos adultos, a co-exposição de nicotina e OXT intensificou a resposta de hipolocomoção. Além disso, foi demonstrado que a OXT reduz a ansiedade provocada pela nicotina em adolescentes, bem como aumenta a ansiedade provocada pela nicotina em adultos. Em estudos futuros pretendemos avançar com a pesquisa, aprofundando a relevância da OXT no comportamento de animais adultos e adolescentes expostos à nicotina, por meio da utilização outros testes comportamentais que são complementares a nossa pesquisa, tais como: sensibilização comportamental e preferência condicionada por lugar, modelos fundamentais para entendimento do desenvolvimento da dependência pela nicotina.

REFERÊNCIAS

- ABREU-VILLAÇA, Y. *et al.* Tobacco and alcohol during adolescence: Interactive mechanisms in animal models. *Biochemical Pharmacology*, v. 144, p. 1-17, 2017.
- ALLENDER, S. *et al.* The burden of smoking-related ill health in the UK. *Tobacco Control*, v. 18, n. 4, p. 262-267, 2009.
- ARANCINI, L. *et al.* N-acetylcysteine for cessation of tobacco smoking: rationale and study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*, v. 20, n. 1, p. 1-7, 2019.
- AVILA-TANG, E. *et al.* Modelling the health benefits of smoking cessation in Japan. *Tobacco Control*, v. 18, n. 1, p. 10-17, 2009.
- BALES, K. L.; PERKEYBILE, A. M. Developmental experiences and the oxytocin receptor system. *Hormones and Behavior*, v. 61, n. 3, p. 313-319, 2012.
- BASKERVILLE, T. A.; DOUGLAS, A. J. Dopamine and oxytocin interactions underlying behaviors: potential contributions to behavioral disorders. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, v. 16, n. 3, p. 92-123, 2010.
- BARACZ, S. J.; CORNISH, J. L. The neurocircuitry involved in oxytocin modulation of methamphetamine addiction. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v. 43, p. 1-18, 2016.
- BARACZ, S. J.; EVERETT, N. A.; CORNISH, J. L. The impact of early life stress on the central oxytocin system and susceptibility for drug addiction: Applicability of oxytocin as a pharmacotherapy. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 110, p. 114-132, 2020.
- BECKER, J. B. Sex differences in addiction. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, v. 18, n. 4, p. 395-402, 2016.
- BENOWITZ, N. L. Pharmacology of nicotine: addiction, smoking-induced disease and therapeutics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 49, n. 1, p. 57-71, 2009.
- BOWEN, M. T. *et al.* Adolescent oxytocin exposure causes persistent reductions in anxiety and alcohol consumption and enhances sociability in rats. *PLOS ONE*, v. 6, n. 11, p. 1-11, 2011.
- BROWN, C. H. *et al.* Physiological regulation of magnocellular neurosecretory cell activity: integration of intrinsic, local and afferent mechanisms. *Journal of Neuroendocrinology*, v. 25, n. 8, p. 678-710, 2013.
- BURKE, A. R. Adolescent social defeat alters neural, endocrine and behavioral responses to amphetamine in adult male rats. *Brain Research*, v. 1352, p. 147-156, 2010.

- CAI, Q.; FENG, L.; YAP, K. Z. Systematic review and meta-analysis of reported adverse events of long-term intranasal oxytocin treatment for autism spectrum disorder. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, v. 72, n. 3, p. 140-151, 2018.
- CARRILLO, G. C. *et al.* Consumo de tabaco y adicción a la nicotina. Un estudio de adolescentes. *Revista de Enfermería*, v. 20, n. 224, p. 6-14, 1997.
- CLARKE, P. B. Nicotine dependence - mechanisms and therapeutic strategies. *Biochemical Society Symposia*, v. 59, p. 83-95, 1993.
- COE, J. W. *et al.* In pursuit of alpha4beta2 nicotinic receptor partial agonists for smoking cessation: carbon analogs of (-) - cytisine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 15, n. 12, p. 2974-2979, 2005.
- COX, B. M. *et al.* Sex differences in methamphetamine seeking in rats: impact of oxytocin. *Psychoneuroendocrinology*, v. 38, n. 10, p. 2343-2353, 2013.
- CREAMER, M. R. *et al.* Tobacco product use and cessation indicators among adults – United States, 2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, v. 68, n. 45, p. 1013-1019, 2019.
- CRESPI, B. J. Oxytocin, testosterone, and human social cognition. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 91, n. 2, p. 390-408, 2016.
- DANNENHOFFER, C. A. *et al.* Oxytocin and vasopressin modulation of social anxiety following adolescent intermittent ethanol exposure. *Psychopharmacology*, v. 235, n. 10, p. 3065-3077, 2018.
- DOMES, G. *et al.* Oxytocin attenuates amygdala responses to emotional faces regardless of valence. *Biological Psychiatry*, v. 62, n. 10, p. 1187-1190, 2007.
- DONALDSON, Z. R.; YOUNG, L. J. Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science*, v. 322, n. 5903, p. 900-904, 2008.
- DOYON, W. M. *et al.* Potential substrates for nicotine and alcohol interactions: a focus on the mesocorticolimbic dopamine system. *Biochemical Pharmacology*, v. 86, n. 8, p. 1181-1193, 2013.
- DUARTE-GUTERMAN, P. *et al.* Oxytocin has sex-specific effects on social behaviour and hypothalamic oxytocin immunoreactive cells but not hippocampal neurogenesis in adult rats. *Hormones and Behavior*, v. 122, p. 1-12, 2020.
- DUMAIS, K. M. *et al.* Role of the oxytocin system in amygdala subregions in the regulation of social interest in male and female rats. *Neuroscience*, v. 330, p. 138-149, 2016.
- DUMAIS, K. M.; VEENEMA, A. K. Vasopressin and oxytocin receptor systems in the brain: Sex differences and sex-specific regulation of social behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v. 40, p. 1-23, 2016.
- ESTES, M. K. *et al.* Systemic oxytocin administration alters mesolimbic dopamine release in mice. *Neuroscience*, v. 408, p. 226-238, 2019.

- ETTER, J-F. *et al.* Cytisine for smoking cessation: a research agenda. *Drug Alcohol Depend*, v. 92, n. 1-3, p. 3-8, 2008.
- FANG, A.; LAWSON, E. A.; WILHELM, S. Intranasal oxytocin modulates higher order social cognition in body dysmorphic disorder. *Depress Anxiety*, v. 36, n. 2, p. 153-161, 2019.
- FANT, R. V.; OWEN, L. L.; HENNINGFIELD, J. E. *Primary Care*, v. 26, n. 3, p. 633-652, 1999.
- FLATSCHER-BADER, T.; WILCE, P. A. The effect of alcohol and nicotine abuse on gene expression in the brain. *Nutrition Research Reviews*, v. 22, n. 2, p. 148-162, 2009.
- GARCÍA-GOMEZ, L. *et al.* Smoking cessation treatments: current psychological and pharmacological options. *Revista de Investigación Clínica*, v. 71, n. 1, p. 7-16, 2019.
- GERMOVSEK, E. *et al.* Relating nicotine plasma concentration to momentary craving across four nicotine replacement therapy formulations. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 107, n. 1, p. 238-245, 2019.
- GÓMEZ-CORONADO, N. *et al.* Current and emerging pharmacotherapies for cessation of tobacco smoking. *The Journal of the Human Pharmacology and Drug Therapy*, v. 38, n. 2, p. 235-258, 2018.
- GONÇALVES, B. S. *et al.* Avaliação da influência dos perfis fenotípicos comportamentais de camundongos adolescentes e adultos das cepas Suíça e C57BL/6 sobre parâmetros associados aos padrões de consumo e susceptibilidade ao etanol e nicotina. 2020. 131 f. Tese (Doutorado em Biociências) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.
- GONZALES, D. *et al.* Varenicline, an alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, vs sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation: a randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*, v. 296, n. 1, p. 47-55, 2006.
- GRADY, S. R. *et al.* Structural differences determine the relative selectivity of nicotinic compounds for native alpha 4 beta 2*- , alpha 6 beta 2*- , alpha 3 beta 4*- and alpha 7-nicotine acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*, v. 58, n. 7, p. 1054-1066, 2010.
- GRAY, K. M. N-acetylcysteine (NAC) in young marijuana users: an open-label pilot study. *The American Journal on Addictions*, v. 19, n. 2, p. 187-189, 2010.
- HAJEK, P. *et al.* A randomized trial of e-cigarettes versus nicotine-replacement therapy. *New England Journal of Medicine*, v. 380, n. 7, p. 629-637, 2019.
- HERING, M. C.; ZINK, A. N.; WICKMAN, K. Cocaine-induced adaptations in metabotropic inhibitory signaling in the mesocorticolimbic system. *Reviews in the Neurosciences*, v. 23, n. 4, p. 325-351, 2012.

- HICKS, C. *et al.* Adolescent pre-treatment with oxytocin protects against adult methamphetamine-seeking behavior in female rats. *Addiction Biology*, v. 21, n. 2, p. 304-315, 2016.
- HOLM, K. J.; SPENCER, C. M. Bupropion: a review of its use in the management of smoking cessation, v. 59, n. 4, p. 1007-1024, 2000.
- HSIA, S. L.; MYERS, M. G.; CHEN, T. C. Combination nicotine replacement therapy: strategies for initiation and tapering. *Preventive Medicine*, v. 97, p. 45-49, 2016.
- HUGHES, J. R.; HATSUKAMI, D. Signs and symptoms of tobacco withdrawal. *Archives of General Psychiatry*, v. 43, n. 3, p. 289-294, 1986.
- IKEMOTO, S.; WISE, R. A. Mapping of chemical trigger zones for reward. *Neuropharmacology*, v. 47, n. 1, p. 190-201, 2004.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). Observatório da política nacional de controle do tabaco. Dados e números da prevalência do tabagismo. 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/observatorio-da-politica-nacional-de-controle-do-tabaco/dados-e-numeros-prevalencia-tabagismo#:~:text=Estima%2Dse%20que%20os%20fumantes,do%20que%20entre%20as%20mulheres.>>. Acesso em: 12 mar. 2021.
- ISHUNINA, T. A.; SWAAB, D. F. Neurohypophyseal peptides in aging and Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, v. 1, n. 3, p. 537-558, 2002.
- JONES, C. *et al.* Oxytocin and social functioning. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, v. 19, n. 2, p. 193-201, 2017.
- JOENBY, D. Clinical efficacy of bupropion in the management of smoking cessation. *Drugs*, v. 62, n. 2, p. 25-35, 2002.
- KAUR, G.; MUTHUMALAGE, T.; RAHMAN, I. Mechanisms of toxicity and biomarkers of flavoring and flavor enhancing chemicals in emerging tobacco and non-tobacco products. *Toxicology Letters*, v. 288, p. 143-155, 2018.
- KEATING, G. M.; SIDDIQUI, M. A. A. Varenicline: a review of its use as an aid to smoking cessation therapy. *CNS Drugs*, v. 20, n. 11, p. 945-960, 2006.
- KENNY, P. J.; GASPARINI, F.; MARKOU, A. Group II metabotropic and alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA)/kainate glutamate receptors regulate the deficit in brain reward function associated with nicotine withdrawal in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 306, n. 3, p. 1068-1076, 2003.
- KOVATSI, L.; NIKOLAOU, K. Opioids and the hormone oxytocin. *Vitamins and Hormones*, v. 111, p. 195-225, 2019.
- LANZA, S. T.; VASILENKO, S. A. New methods shed lights on age of onset as a risk factor for nicotine dependence. *Addictive Behaviors*, v. 50, p. 161-164, 2015.

- LAROWE, S. D. *et al.* Is cocaine desire reduced by N-acetylcysteine? *American Journal of Psychiatry*, v. 164, n. 7, p. 1115-1117, 2007.
- LEE, H.; JANG, M.; NOH, J. Oxytocin attenuates aversive response to nicotine and anxiety-like behavior in adolescent rats. *Neuroscience Research*, v. 115, p. 29-36, 2016.
- LEE, M. R.; WEERTS, E. M. Oxytocin for the treatment of drug and alcohol use disorders. *Behavioural Pharmacology*, v. 27, n. 8, p. 640-648, 2016.
- LENG, G.; LUDWIG, M. Oxytocin: Myths and Delusions. *Biological Psychiatry*, v. 79, n. 3, p. 243-250, 2016.
- LEONG, K-C. *et al.* Oxytocin and Rodent Models of Addiction. *International Review of Neurobiology*, v. 140, p. 201-247, 2018.
- LETZEN, J. E. *et al.* Exploring the potential role of mesocorticolimbic circuitry in motivation for and adherence to chronic pain self-management interventions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 98, p. 10-17, 2019.
- LUDWIG, M.; LENG, G. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 7, n. 2, p. 126-136, 2006.
- LUKAS, M. *et al.* Maternal separation interferes with developmental changes in brain vasopressin and oxytocin receptor binding in male rats. *Neuropharmacology*, v. 58, n. 1, p. 78-87, 2010.
- LUO, S. *et al.* The oxytocinergic system modulates sadistic context-dependent empathy in humans. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017.
- MA, X. *et al.* Sex and context-dependent effects of oxytocin on social sharing. *NeuroImage*, v. 183, p. 62-72, 2018.
- MAKADIA, L. D. *et al.* Tobacco use and smoke exposure in children: new trends, harm and strategies to improve health outcomes. *Current Allergy and Asthma Reports*, v. 17, n. 8, p. 1-15, 2017.
- MANBECK, K. E. *et al.* Effects of oxytocin on nicotine withdrawal in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 116, p. 84-89, 2014.
- MANSVELDER, H. D.; MCGEHEE, D. S. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *Journal of Neurobiology*, v. 53, n. 4, p. 606-617, 2002.
- MARITZ, G. S.; MUTEMWA, M. Tobacco smoking: patterns, health consequences for adults, and the long-term health of the offspring. *Global Journal of Health Science*, v. 4, n. 4, p. 62-75, 2012.
- MARLIN, B. J.; FROEMKE, R. C. Oxytocin modulation of neural circuits for social behavior. *Developmental Neurobiology*, v. 77, n. 2, p. 169-189, 2017.

- MCCLURE, E. A. *et al.* An open-label pilot trial of N-acetylcysteine and varenicline in adult cigarette smokers. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, v. 41, n. 1, p. 52-56, 2015.
- MCCLURE, E. A. *et al.* The influence of gender and oxytocin on stress reactivity, cigarette craving, and smoking in a randomized, placebo-controlled laboratory relapse paradigm. *Psychopharmacology*, v. 237, n. 2, p. 543-555, 2019.
- MCGREGOR, I. S.; BOWEN, M. T. Breaking the loop: oxytocin as a potential treatment for drug addiction. *Hormones and Behavior*, v. 61, n. 3, p. 331-339, 2012.
- MCGREGOR, I. S.; CALLAGHAN, P. D.; HUNT, G. E. From ultrasocial to antisocial: a role for oxytocin in the acute reinforcing effects and long-term adverse consequences of drug use? *British Journal of Pharmacology*, v. 154, n. 2, p. 358-368, 2008.
- MCROBBIE, H.; THORNLEY, S. La importancia de tratar la dependencia tabáquica. *Revista Española de Cardiología*, v. 61, n. 6, p. 620-628, 2008.
- MIHOV, Y.; HURLEMANN, R. Altered amygdala function in nicotine addiction: insights from human neuroimaging studies. *Neuropsychologia*, v. 50, n. 8, p. 1719-1729, 2012.
- MITRE, M. *et al.* Sex-Specific Differences in Oxytocin Receptor Expression and Function for Parental Behavior. *Gender and the Genome*, v. 1, n. 4, p. 142-166, 2017.
- MOHANASUNDARAM, U. M.; CHITKARA, R.; KRISHNA, G. Smoking cessation therapy with varenicline. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary*, v. 3, n. 2, 2008.
- MOJICA, C. Y. *et al.* Nicotine modulation of adolescent dopamine receptor signaling and hypothalamic peptide response. *Neuropharmacology*, v. 77, p. 285-293, 2014.
- MOLYNEUX, A. Nicotine replacement therapy. *The BMJ*, v. 328, n. 7437, p. 454-456, 2004.
- MOREL, C.; MONTGOMERY, S.; HAN, M-H. Nicotine and alcohol: the role of midbrain dopaminergic neurons in drug reinforcement. *European Journal of Neuroscience*, v. 50, n. 3, p. 2180-2200, 2019.
- MUNZEL, T. *et al.* Effects of tobacco cigarettes, e-cigarettes and waterpipe smoking on endothelial function and clinical outcomes. *European Heart Journal*, v. 41, n. 41, p. 4057-4070, 2020.
- MUSEO, E.; WISE, R. A. Sensitization of locomotion following repeated ventral tegmental injections of cytosine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 48, n. 2, p. 521-524, 1994.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Relatório de status global sobre doenças não transmissíveis. Genebra, 2010. 176 p.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Relatório sobre a epidemia global de tabagismo. Genebra, 2015. 198 p.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Relatório da OMS sobre a epidemia global do tabaco. Genebra, 2019. 8 p.

OSTROUMOV, A.; DANI, J. A. Convergent Neuronal Plasticity and Metaplasticity Mechanisms of Stress, Nicotine, and Alcohol. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 58, p. 547-566, 2018.

PANARO, M. A.; BENAMEUR, T.; PORRO, C. Hypothalamic neuropeptide brain protection: focus on oxytocin. *Journal of Clinical Medicine*, v. 9, n. 5, p. 1-17, 2020.

PEDERSEN, C. A. *et al.* Intranasal oxytocin blocks alcohol withdrawal in human subjects. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 37, n. 3, p. 484-489, 2013.

PERGADIA, M. L. *et al.* Nicotine withdrawal symptoms in adolescent and adult twins. *Twin Research and Human Genetics*, v. 13, n. 4, p. 359-369, 2010.

PERIS, J. *et al.* Oxytocin receptors are expressed on dopamine and glutamate neurons in the mouse ventral tegmental area that project to nucleus accumbens and other mesolimbic targets. *Journal of Comparative Neurology*, v. 525, n. 5, p. 1094-1108, 2017.

PICCIOTTO, M. R.; CORRIGALL, W. A. Neuronal systems underlying behaviors related to nicotine addiction: neural circuits and molecular genetics. *The Journal of Neuroscience*, v. 22, n. 9, p. 3338-3341, 2002.

PIRI, M.; ZARRINDAST, M. R. Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. *Neuroscience*, v. 175, p. 154-161, 2011.

PISTILLO, F. *et al.* Nicotinic, glutamatergic and dopaminergic synaptic transmission and plasticity in the mesocorticolimbic system: focus on nicotine effects. *Progress in Neurobiology*, v. 124, p. 1-27, 2015.

PIZZAGALLI, D. A. Depression, stress, and anhedonia: toward a synthesis and integrated model. *Annual Review of Clinical Psychology*, v. 10, p. 393-423, 2014.

QUINTANA, D. S. *et al.* Oxytocin pathway gene networks in the human brain. *Nature Communications*, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2019.

REED, S. C. *et al.* Sex differences in stress reactivity after intranasal oxytocin in recreational cannabis users. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 176, p. 72-82, 2019.

REIBEL, J. Tobacco and oral diseases. *Medical Principles and Practice*, v. 12, n. 1, p. 22-32, 2003.

REZK-HANNA, M.; BENOWITZ, N. L. Cardiovascular effects of hookah smoking: potential implications for cardiovascular risk. *Nicotine & Tobacco Research*, v. 21, n. 9, p. 1151-1161, 2018.

RIBEIRO-CARVALHO, A. *et al.* Nicotine and ethanol interact during adolescence: effects on the central cholinergic systems. *Brain research*, v. 1232, p. 48-60, 2008.

- ROLLEMA, H. *et al.* Pre-clinical properties of the alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor partial agonists varenicline, cytisine and dianicline translate to clinical efficacy for nicotine dependence. *British Journal of Pharmacology*, v. 160, n. 2, p. 334-345, 2010.
- ROSECRANS, J. A.; YOUNG, R. Discriminative stimulus properties of S (-) – nicotine: “A drug for all seasons”. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, v. 39, p. 51-94, 2017.
- SANNINO, S.; CHINI, B.; GRINEVICH, V. Lifespan oxytocin signaling: Maturation, flexibility, and stability in newborn, adolescent, and aged brain. *Developmental Neurobiology*, v. 77, n. 2, p. 158-168, 2017.
- SARTOR, C. E. *et al.* Initial response to cigarettes predicts rate of progression to regular smoking: findings from an offspring-of-twins design. *Addictive behaviors*, v. 35, n. 8, p. 771-778, 2010.
- SCHMAAL, L. *et al.* Efficacy of N-acetylcysteine in the treatment of nicotine dependence: a double-blind placebo-controlled pilot study. *European Addiction Research*, v. 17, n. 4, p. 211-216, 2011.
- SCHILLO, B. A. JUUL in school: teacher and administrator awareness and policies of e-cigarettes and JUUL in U.S middle and high schools. *Health Promotion Practice*, v. 21, n. 1, p. 20-24, 2019.
- SHI, Y. *et al.* Opposing sex-dependent effects of oxytocin on the perception of gaze direction. *Psychopharmacology*, v. 237, n. 3, p. 869-876, 2020.
- SILAGY, C. *et al.* Nicotine replacement therapy for smoking cessation. *Cochrane Database Systematic Reviews*, v. 4, p. 1- 64, 2002.
- SIQUEIRA, L. M. Nicotine and tobacco as substances of abuse in children and adolescents. *Pediatrics*, v. 139, n. 1, p. 1-13, 2016.
- SLEMMER, J. E.; MARTIN, B. R.; DAMAJ, M. I. Bupropion is a nicotinic antagonist. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 295, n. 1, p. 321-327, 2000.
- STEAD, L. *et al.* Combined pharmacotherapy and behavioural interventions for smoking cessation. *Cochrane Database Systematic Reviews*, v. 3, p. 1-118, 2016.
- STEINBURG, L. A Social Neuroscience Perspective on Adolescent Risk-Taking. *Developmental Review*, v. 28, n. 1, p. 78-106, 2008.
- TONG, E. K.; CARMODY, T. P.; SIMON, J. A. Bupropion for smoking cessation: a review. *Comprehensive Therapy*, v. 32, n. 1, p. 26-33, 2006.
- TONSTAD, S. Smoking cessation efficacy and safety of varenicline, an alpha4beta2 nicotinic receptor partial agonist. *Journal of Cardiovascular Nursing*, v. 21, n. 6, p. 433-436, 2006.
- TRABER, M. G. Tobacco-related diseases. Is there a role for antioxidant micronutrient supplementation? *Clinics in Chest Medicine*, v. 21, n. 1, p. 173-187, 2000.

- TRIBOLLET, E. *et al.* Oxytocin receptors in the central nervous system. Distribution, development, and species differences. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 652, p. 29-38, 1992.
- TSIGOS, C.; CHROUSOS, G. P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*, v. 53, n. 4, p. 865-871, 2002.
- TUTKA, P. *et al.* Cytisine for nicotine addiction treatment: a review of pharmacology, therapeutics and an update of clinical trial evidence for smoking cessation. *Addiction*, v. 114, n. 11, p. 1951-1969, 2019.
- VAN HEDGER, K. *et al.* Oxytocin reduces cigarette consumption in daily smokers. *Nicotine & Tobacco Research*, v. 21, n. 6, p. 799-804, 2019.
- VAN HEDGER, K. *et al.* Effects of intranasal oxytocin on stress-induced cigarette craving in daily smokers. *Nicotine & Tobacco Research*, v. 22, n. 1, p. 89-95, 2020.
- VILLANTI, A. C. *et al.* Flavored tobacco product use in youth and adults: findings from the first wave of the PATH study (2013-2014). *American Journal of Preventive Medicine*, v. 53, n. 2, p. 139-151, 2017.
- VOGELER, T.; MCCLAIN, C.; EVOY, K. E. Combination bupropion SR and varenicline for smoking cessation: a systematic review. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, v. 42, n. 2, p. 129-139, 2016.
- VOOS, N.; GONIEWICZ, M. L.; EISSENBERG, T. What is the nicotine delivery profile of electronic cigarettes? *Expert Opinion on Drug Delivery*, v. 16, n. 11, p. 1193-1203, 2019.
- VIEGAS, C. A. A. Formas de uso de tabaco sem cigarros. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 34, n. 12, p. 1069-1073, 2008.
- WALKER, N. *et al.* Cytisine versus nicotine for smoking cessation. *The New England Journal of Medicine*, v. 371, n. 25, p. 2353-2362, 2014.
- WANG, J. B. *et al.* Cigarette and e-cigarette dual use and risk of cardiopulmonary symptoms in the health eheart study. *Plos One*, v. 13, n. 7, p. 1-14, 2018.
- WELTE, J. W. *et al.* Tobacco use, heavy use, and dependence among adolescents and young adults in the United States. *Substance Use & Misuse*, v. 46, n. 9, p. 1090-1098, 2011.
- WEST, R. Bupropion SR for smoking cessation. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, v. 4, n. 4, p. 533-540, 2003.
- WESTMAAS, J. L., BRANDON, T. H. Reducing risk in smokers. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, v. 10, n. 4, p. 284-288, 2004.
- WILKES, S. The use of bupropion SR in cigarette smoking cessation. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary*, v. 3, n. 1, p. 45-53, 2008.

WILLIAMS, S. K. *et al.* Simultaneous prenatal ethanol and nicotine exposure affect ethanol consumption, ethanol preference and oxytocin receptor binding in adolescent and adult rats. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 31, n. 5, p. 291-302, 2009.

WILLIAMS, S. K.; JHONS, J. M. Prenatal and gestational cocaine exposure: Effects on the oxytocin system and social behavior with implications for addiction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. v. 119, p. 10-21, 2014.

WILLS, L.; KENNY, P. J. Addiction-related neuroadaptations following chronic nicotine exposure. *Journal of Neurochemistry*, 2021.

YUAN, M. *et al.* Nicotine and the adolescent brain. *The Journal of Physiology*, v. 593, n. 16, p. 3397-3412, 2015.

ZANIEWSKA, M.; PRZEGALINSKI, E.; FILIP, M. Nicotine dependence - human and animal studies, current pharmacotherapies and future perspectives. *Pharmacological Reports*, v. 61, n. 6, p. 957-965, 2009.

ZANOS, P. *et al.* Region-specific up-regulation of oxytocin receptor binding in the brain of mice following chronic nicotine administration. *Neuroscience Letters*, v. 600, p. 33-37, 2015.

ZARRINDAST, M-R.; KHAKPAI, F. The modulatory role of nicotine on cognitive and non-cognitive functions. *Brain Research*, v. 1710, p. 92-101, 2018.

ZHONG, Z. *et al.* Combination therapy of varenicline and bupropion in smoking cessation: A meta-analysis of the randomized controlled trials. *Comprehensive Psychiatry*, v. 95, p. 125-152, 2019.

ZHOU, W.; KALIVAS, P. W. N-acetylcysteine reduces extinction responding and induces enduring reductions in cue- and heroin-induced drug-seeking. *Biological Psychiatry*, v. 63, n. 3, p. 338-340, 2008.