



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Camila Kirschner Gonçalves Brandão

**Efeitos somáticos e comportamentais do uso da vareniclina em um modelo
animal de exposição à fumaça do cigarro durante a adolescência**

Rio de Janeiro

2022

Camila Kirschner Gonçalves Brandão

**Efeitos somáticos e comportamentais do uso da vareniclina em um modelo animal de
exposição à fumaça do cigarro durante a adolescência**

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. Alex Christian Manhães

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

B817 Brandão, Camila Kirschner Gonçalves.
Efeitos somáticos e comportamentais do uso da vareniclina em um modelo animal de exposição à fumaça do cigarro durante a adolescência / Camila Kirschner Gonçalves Brandão. - 2022.
146 f.

Orientador: Prof. Dr. Alex Christian Manhães

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

1. Nicotina – Toxicidade. 2. Produtos do tabaco – Toxicidade. 3. Vareniclina – Uso terapêutico – Teses. 4. Comportamento do adolescente – Teses. I. Manhães, Alex Christian. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 613.84-053.6

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo
CRB7/7341

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

Assinatura

Data

Camila Kirschner Gonçalves Brandão

**Efeitos somáticos e comportamentais do uso da vareniclina em um modelo animal de
exposição à fumaça do cigarro durante a adolescência**

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 30 de setembro de 2022.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alex Christian Manhães (Orientador)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Cláudio Carneiro Filgueiras
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof^a. Dra. Regina Célia Cussa Kubrusly
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2022

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha mãe, Alyne, por sempre acreditar em mim, mesmo quando eu já duvidava de mim mesma durante essa caminhada. E às minhas irmãs, Ana Beatriz e Maria Eduarda. É com muito amor que lhes dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Espero que esse agradecimento sirva como forma de compartilhar, com todas as pessoas que estiveram presentes nesse projeto de mestrado, os méritos que me foram concedidos

À CAPES, agradeço o período de bolsa concedida, sem a qual a conclusão deste estudo teria sido muito mais árdua.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Alex Manhães por todo ensinamento durante esses anos, por me guiar pelos caminhos da Força com paciência e bom-humor e por todos os biotérios trocados durante o mestrado.

Agradeço à Dra. Jemima Isnardo Fernandes, minha coorientadora benemérita, pela sua dedicação, pelas inúmeras contribuições para este projeto e por ser maravilhosa.

Aos meus parceiros de bancada, André Nunes, Fernanda Braga e Angélica Nascimento por compartilharem comigo a rotina de trabalho e os cuidados com a máquina de fumaça, nossa “filha”.

Aos demais professores do Laboratório de Neurofisiologia, Claudio Filgueiras, Anderson Ribeiro e Yael Villaça, pelas conversas profícuas que contribuíram para minha formação. Aos colegas de laboratório, por todos os momentos de descontração que tornam a rotina mais leve.

À minha família, em especial minha mãe, por compreender a ausência e ter sido suporte nos momentos difíceis.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta com este trabalho.

Um cigarro é o modelo perfeito de um prazer perfeito. É delicioso e deixa-nos insatisfeitos.
Que mais podemos desejar?

Oscar Wilde

RESUMO

BRANDÃO, Camila Kirschner Gonçalves. *Efeitos somáticos e comportamentais do uso da vareniclina em um modelo animal de exposição à fumaça do cigarro durante a adolescência*. 2022. 146 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

O tabaco é a segunda substância psicoativa mais consumida no mundo, sendo considerado uma ameaça à saúde pública por seus potenciais malefícios. Majoritariamente, o hábito de fumar se estabelece durante a adolescência e se estende pela idade adulta. O uso de produtos derivados de tabaco durante este período do desenvolvimento gera dependência à nicotina rapidamente e há maior dificuldade em manter a abstinência quando da tentativa de interromper o uso. Apesar do considerável prejuízo resultante do início precoce do consumo de cigarros por adolescentes, pouco se sabe, nesta faixa etária, sobre o impacto das principais alternativas terapêuticas envolvendo os fármacos que já estão disponíveis para adultos. A vareniclina, fármaco agonista parcial dos receptores colinérgicos nicotínicos $\alpha 4\beta 2$ e total dos $\alpha 7$, é um dos medicamentos aprovados para o tratamento do transtorno por uso de substâncias associado à nicotina destinado a adultos. No presente estudo, esta substância foi utilizada no tratamento de um modelo animal de exposição à fumaça do cigarro durante a adolescência com o objetivo de avaliar seus efeitos sobre parâmetros somáticos e comportamentais. Do dia pós-natal 30 (PN30) ao 45, 384 camundongos Suíços (ambos os sexos) foram expostos à fumaça de cigarro (0,73 mg de nicotina; FUM) ou ao ar (AR) por 8 h/dia em equipamento de exposição automatizado. Em PN41, foi iniciado o tratamento com vareniclina (0,5 mg/kg/bid v.o.; VAR) ou água (AG); de PN46 a PN56, a dose foi dobrada. Metade dos animais foi testada no Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e no Campo Vazado (CV) durante o tratamento (PN54/PN55; vigência) e metade 30 dias depois (PN84/PN85; retirada). Observou-se que a fumaça reduziu a ingestão de líquido, o consumo de ração e a massa corporal durante a exposição. Na vigência, os machos FUM apresentavam aumento de comportamentos associados à ansiedade no LCE quando comparados aos machos AR. Ainda no LCE, o tratamento com vareniclina foi capaz de normalizar a atividade locomotora de machos, que havia sido reduzido pela fumaça. No CV, tanto fêmeas quanto machos FUM apresentaram uma redução no comportamento associado à busca por novidade quando comparados aos animais AR. Ainda no CV, a vareniclina normalizou, em fêmeas, o aumento nos comportamentos associados à ansiedade causado pela exposição à fumaça. Durante a retirada, observou-se uma redução no comportamento tipo ansioso nas fêmeas VAR no LCE, o que foi corroborado pelos dados obtidos no CV. Nos machos, o tratamento com vareniclina reverteu parcialmente a redução causada pela fumaça da expressão dos comportamentos associados à ansiedade. De forma geral, o tratamento com vareniclina não afetou de modo deletério as variáveis associadas aos comportamentos tipo ansioso e os de busca por novidade, tendo sido capaz de reverter, total ou parcialmente, os efeitos deletérios da exposição à fumaça de cigarro em diversas variáveis. Este perfil de resultados sugere que o uso da vareniclina é seguro em adolescentes que querem interromper o hábito de fumar.

Palavras-chave: Cigarro. Vareniclina. Adolescência. Comportamento.

ABSTRACT

BRANDÃO, Camila Kirschner Gonçalves. *Somatic and behavioral effects of varenicline use in an animal model of adolescent cigarette smoke exposure*. 2022. 146 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Tobacco is the second most consumed psychoactive substance in the world, being considered a threat to public health due to its potential harm. Mostly, the habit of smoking is established during adolescence and extends into adulthood. The use of tobacco products during this period of development generates nicotine dependence quickly and there is greater difficulty in maintaining abstinence when trying to stop use. Despite the considerable damage resulting from the early initiation of cigarette consumption by adolescents, little is known, in this age group, about the impact of the main therapeutic alternatives involving drugs that are already available for adults. Varenicline, a partial $\alpha 4\beta 2$ and total $\alpha 7$ nicotinic cholinergic receptor agonist, is one of the drugs approved for the treatment of nicotine-associated substance use disorder in adults. In the present study, this substance was used in the treatment of an animal model of exposure to cigarette smoke during adolescence with the aim of evaluating its effects on somatic and behavioral parameters. From postnatal day 30 (PN30) to 45, 384 Swiss mice (both sexes) were exposed to cigarette smoke (0.73 mg nicotine; FUM) or air (AR) for 8 h/day in automated exposure. At PN41, treatment with varenicline (0.5 mg/kg/bid v.o.; VAR) or water (AG) was initiated; from PN46 to PN56, the dose was doubled. Half of the animals were tested in the Elevated Plus Maze (EPM) and in Hole Board (HB) during treatment (PN54/PN55; treatment) and half 30 days later (PN84/PN85; withdrawal). It was observed that the smoke reduced liquid intake, feed consumption and body mass during exposure. During the treatment period, FUM males showed an increase in behaviors associated with anxiety in the EPM when compared to AR males. Still in the EPM, the treatment with varenicline was able to normalize the locomotor activity of males, which had been reduced by the smoke. In the HB, both FUM females and males showed a reduction in the behavior associated with novelty seeking when compared to AR animals. Still in the HB, varenicline normalized, in females, the increase in behaviors associated with anxiety caused by exposure to smoke. During withdrawal, a reduction in anxious-like behavior was observed in VAR females in the EPM, which was corroborated by the data obtained in the HB. In males, varenicline treatment partially reversed the smoke-induced reduction in the expression of anxiety-associated behaviors. In general, treatment with varenicline did not affect in a deleterious way the variables associated with anxiety-like and novelty-seeking behaviors, having been able to reverse, totally or partially, the deleterious effects of exposure to cigarette smoke on several variables. This pattern of results suggests that the use of varenicline is safe in adolescents who want to stop smoking.

Keywords: Cigarette. Varenicline. Adolescence. Behavior.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Modelo de circuitos cerebrais implicados na dependência de drogas.....	24
Figura 2 –	Máquina de fumaça de cigarro Teague Enterprises	39
Figura 3 –	Labirinto em Cruz Elevado	42
Figura 4 –	Campo Vazado	44
Figura 5 –	Delineamento experimental	47
Figura 6 –	Ingestão de líquidos pelos camundongos Suíços ao longo do experimento	51
Figura 7 –	Ingestão de líquidos pelos camundongos Suíços durante a exposição.	52
Figura 8 –	Consumo global de ração pelos camundongos Suíços ao longo do experimento	54
Figura 9 –	Consumo de ração pelos camundongos Suíços durante a exposição...	55
Figura 10 –	Evolução da massa corporal dos camundongos Suíços ao longo do experimento	57
Figura 11 –	Massa adiposa, massa livre de gordura e fluidos corporais dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	59
Figura 12 –	Percentuais de gordura e de massa livre de gordura dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	60
Figura 13 –	Massa adiposa, massa livre de gordura e fluidos corporais dos camundongos Suíços no período de retirada (PN86)	61
Figura 14 –	Percentuais de gordura e de massa livre de gordura dos camundongos Suíços no período de retirada (PN86)	62
Figura 15 –	Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	67
Figura 16 –	Dados referentes à variável Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	68
Figura 17 –	Dados referentes à variável %Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com	

	vareniclina (PN56)	69
Figura 18 –	Dados referentes à variável Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	70
Figura 19 –	Dados referentes à variável %Tempo CN no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	71
Figura 20 –	Dados referentes à variável Entradas BF no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	72
Figura 21 –	Dados referentes à variável Elevações no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	73
Figura 22 –	Dados referentes à variável Autolimpeza no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	74
Figura 23 –	Dados referentes à variável Abaixamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	75
Figura 24 –	Dados referentes à variável Espreitamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	76
Figura 25 –	Dados referentes à variável Exploração no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	81
Figura 26 –	Dados referentes à variável %Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	82
Figura 27 –	Dados referentes à variável Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	83
Figura 28 –	Dados referentes à variável Locomoção no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	84
Figura 29 –	Dados referentes à variável %Locomoção CNT no Campo Vazado	

	dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	85
Figura 30 –	Dados referentes à variável Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	86
Figura 31 –	Dados referentes à variável Tempo CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	87
Figura 32 –	Dados referentes à variável Elevações no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	88
Figura 33 –	Dados referentes à variável Autolimpezas no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	89
Figura 34 –	Dados referentes à variável Espreitamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).	90
Figura 35 –	Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	95
Figura 36 –	Dados referentes à variável Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	96
Figura 37 –	Dados referentes à variável %Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	97
Figura 38 –	Dados referentes à variável Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	98
Figura 39 –	Dados referentes à variável %Tempo CN no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	99
Figura 40 –	Dados referentes à variável Entrada BF no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	100
Figura 41 –	Dados referentes à variável Elevações no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	101
Figura 42 –	Dados referentes à variável Autolimpeza no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	102
Figura 43 –	Dados referentes à variável Abaixamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	103
Figura 44 –	Dados referentes à variável Espreitamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	104

Figura 45 –	Dados referentes à variável Exploração no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	109
Figura 46 –	Dados referentes à variável %Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	110
Figura 47 –	Dados referentes à variável Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	111
Figura 48 –	Dados referentes à variável Locomoção no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	112
Figura 49 –	Dados referentes à variável %Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	113
Figura 50 –	Dados referentes à variável Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	114
Figura 51 –	Dados referentes à variável Tempo CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	115
Figura 52 –	Dados referentes à variável Elevações no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	116
Figura 53 –	Dados referentes à variável Autolimpezas no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	117
Figura 54 –	Dados referentes à variável Espreitamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Detalhamento dos grupos experimentais utilizados	45
Tabela 2 –	Resultados das rANOVAs globais para ingestão de líquido	50
Tabela 3 –	Resultados das rANOVAs globais para consumo de ração	53
Tabela 4 –	Resultados das rANOVAs globais de massa corporal	56
Tabela 5 –	Resultados das ANOVAs globais para os dados de RMN	58
Tabela 6 –	Resultados das ANOVAs globais para os dados do LCE em PN56	65
Tabela 7 –	Resultado das ANOVAs de 2ª ordem para os dados do LCE em PN56	65
Tabela 8 –	Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	66
Tabela 9 –	Resultados das ANOVAs globais para os dados do CV em PN56	78
Tabela 10 –	Resultados das ANOVAs de 2ª ordem para os dados do CV em PN56	79
Tabela 11 –	Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56)	80
Tabela 12 –	Resultados das ANOVAs globais para os dados do LCE em PN86	93
Tabela 13 –	Resultados das ANOVAs de 2ª ordem para os dados em PN86	93
Tabela 14 –	Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	94
Tabela 15 –	Resultados das ANOVAs globais para os dados do CV em PN86	107
Tabela 16 –	Resultados das ANOVAs de 2ª ordem para os dados do CV em PN86	107
Tabela 17 –	Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86)	108
Tabela 18 –	Resumo dos resultados para ingestão de líquido e consumo de ração	119
Tabela 19 –	Resumo dos resultados para massa corporal	119
Tabela 20 –	Resumo dos resultados para RMN	119
Tabela 21 –	Resumo dos resultados para LCE	120
Tabela 22 –	Resumo dos resultados para CV	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
AgRP	Proteína relacionada à agouti
ANOVA	Análise de Variância
ANOVA _r	Análise de Variância de repetição
BA	Braço Aberto
BChE	Butirilcolinesterase
BF	Braço Fechado
BOR	Bordas
CART	Transcrito regulado por anfetamina e cocaína
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CH1	Transportador de Colina
ChAT	Colina Acetiltransferase
CNT	Centro
CV	Campo Vazado
DA	Dopamina
DAT	Transportador de Dopamina
DCF	Departamento de Ciências Fisiológicas
DIR	Sequência Direta
ECA	Estatuto da Criança e do Adolescente
EPM	Erro Padrão da Média
FDA	Food and Drug Administration
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes
INV	Sequência Invertida
KTRDC	Kentucky Tobacco Research & Development Center
K-S	Kolmogorov-Smirnov
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
LN	Laboratório de Neurofisiologia
LNUD	III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira
MCH	Hormônio Concentrador de Melanina

nAChR	Receptor nicotínico de acetilcolina
NET	Transportador de Noradrenalina
NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização Mundial de Saúde
PN	Dia Pós Natal
POMC	Pró-opiomelanocortina
QUI	Quina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SNC	Sistema Nervoso Central
TDAH	Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade
TRN	Terapia de Reposição de Nicotina
uANOVA	Análise de Variância Univariada
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
USA	United States of America
VAR	Vareniclina
VTa	Área tegmental ventral

LISTA DE SÍMBOLOS

kg	quilograma
g	grama
mg	miligrama
mL	mililitro
μL	microlitro
cm	centímetro
mm	milímetro
h	hora
min	minuto
>	maior que
<	menor que
%	porcentagem
±	mais ou menos
"	polegada
G	gauge
R\$	real
US\$	dólar estadunidense
®	marca registrada
α	alfa
β	beta

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	19
1	REVISÃO TEÓRICA	21
1.1	Adolescência	21
1.1.1	<u>Adolescência e sistema dopaminérgico</u>	23
1.1.2	<u>Adolescência e sistema colinérgico</u>	25
1.1.3	<u>Adolescência e uso de drogas</u>	26
1.2	Aspectos farmacológicos da nicotina	27
1.3	Tabaco e comportamento	29
1.3.1	<u>Tabaco e ansiedade</u>	29
1.3.2	<u>Tabaco e busca por novos estímulos</u>	30
1.4	Abordagens farmacológicas para a cessação do tabagismo	30
1.4.1	<u>Terapia de Reposição de Nicotina</u>	30
1.4.2	<u>Bupropiona</u>	32
1.4.3	<u>Vareniclina</u>	33
2	OBJETIVOS	36
2.1	Objetivos Gerais	36
2.2	Objetivos Específicos	36
3	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1	Animais	37
3.2	Exposição à fumaça de cigarro	38
3.3	Tratamento com vareniclina	39
3.4	Controle de massa corporal, ingesta hídrica e consumo de ração	40
3.5	Testes Comportamentais	40
3.5.1	<u>Labirinto em Cruz Elevado</u>	41
3.5.2	<u>Campo Vazado</u>	43

3.6	Formação dos grupos experimentais	44
3.7	Composição corporal – Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	45
3.8	Desenho global do experimento	46
3.9	Análise estatística	48
3.9.1	<u>Análise da evolução da massa corporal, ingestão líquida e consumo de ração</u>	48
3.9.2	<u>Análise somática pela RMN</u>	49
3.9.3	<u>Análise comportamental</u>	49
4	RESULTADOS	50
4.1	Ingestão de água	50
4.2	Consumo de ração	53
4.3	Dados somáticos	56
4.3.1	<u>Desenvolvimento da massa corporal</u>	56
4.3.2	<u>Dados da Ressonância Magnética Nuclear</u>	58
4.4	Análise comportamental	63
4.4.1	<u>PN56</u>	63
4.4.1.1	Labirinto em cruz elevado.....	62
4.4.1.1.1	Sequência direta (primeiro teste da sequência)	62
4.4.1.1.2	Sequência indireta (segundo teste da sequência)	63
4.4.1.2	Campo vazio.....	76
4.4.1.2.1	Sequência direta (segundo teste da sequência)	76
4.4.1.2.2	Sequência indireta (primeiro teste da sequência)	77
4.4.2	<u>PN86</u>	89
4.4.2.1	Labirinto em cruz elevado	89
4.4.2.1.1	Sequência direta (primeiro teste da sequência)	90
4.4.2.1.2	Sequência indireta (segundo teste da sequência)	91
4.4.2.2	Campo vazio	104
4.4.2.2.1	Sequência direta (segundo teste da sequência)	104
4.4.2.2.2	Sequência indireta (primeiro teste da sequência)	105
4.5	Resumo dos resultados	119

5	DISCUSSÃO.....	122
5.1	Ingestão de água.....	122
5.2	Consumo de ração.....	123
5.3	Dados somáticos: massa corporal e composição corporal.....	123
5.4	Testes comportamentais	125
5.4.1	<u>Labirinto em Cruz Elevado</u>	126
5.4.2	<u>Campo Vazado.....</u>	129
	CONCLUSÕES	131
	REFERÊNCIAS	132

INTRODUÇÃO

A epidemia de tabaco é uma grande ameaça à saúde pública que enfrentamos, visto que é a segunda substância psicoativa mais consumida em todo o mundo, ficando apenas abaixo do álcool (etanol) (LE FOLL *et al.*, 2022). Seu uso é considerado um importante fator de risco para doenças cardiovasculares e respiratórias, mais de 20 tipos ou subtipos diferentes de câncer e muitas outras condições de saúde debilitantes (COURTNEY, 2015), levando anualmente mais de 8 milhões de pessoas ao óbito em decorrência direta ou indireta do uso do cigarro e outros produtos derivados de tabaco (MURRAY *et al.*, 2020). Em virtude disso, o tabagismo é apontado como a principal causa evitável de adoecimento e mortes precoces (DROPE *et al.*, 2018).

Além do impacto negativo do tabaco na saúde, o custo econômico do tabagismo, que abarca desde gastos com saúde até perdas de produtividade, é estimado em cerca de US\$ 1,4 trilhão por ano. No Brasil, as despesas decorrentes dos danos produzidos pelo cigarro no sistema de saúde e economia somam R\$ 125 bilhões anualmente (IECS, 2020). Os encargos dispendiosos afetam desproporcionalmente as populações de países de média e baixa renda, onde se concentram 80% dos seus quase 1,3 bilhões de consumidores maiores de 15 anos. Na faixa etária de 13 a 15 anos, as estimativas globais são de pelo menos 38,3 milhões de usuários de alguma forma de tabaco, dentre estes, 21,4 milhões fumantes de cigarros (WHO, 2021ab). Levando em conta dados apresentados pelo III Levantamento Nacional sobre o Uso de Drogas pela População Brasileira (LNUD), cerca de 26,4 milhões de brasileiros de 12 a 65 anos consumiram algum produto de tabaco nos 12 meses anteriores à pesquisa, tendo o cigarro industrializado o maior número de consumidores, pouco mais de 23 milhões (BASTOS *et al.*, 2017).

Embora tenhamos em nossa Constituição Federal lei específica que proíbe a venda de cigarros à menores de 18 anos (Lei nº 10.702/2003), e o Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), no Art. nº 81, vede o fornecimento a crianças e adolescentes de produtos cujos componentes possam causar dependência física ou psíquica, foi observado que entre os jovens de 12 a 17 anos, 771 mil consumiram cigarros industrializados nos 12 meses que antecederam à pesquisa (BRASIL, 1990; BASTOS *et al.*, 2017). A idade do primeiro consumo de cigarro também ocorre nessa faixa etária. Dos 51 milhões de indivíduos que relataram ter consumido cigarros industrializados ao menos uma vez na vida, a idade mediana do primeiro uso foi por volta dos 15 anos para ambos os sexos (BASTOS *et al.*, 2017). A

conexão entre a juventude e o uso de tabaco é tão constante que, em 1995, David Kessler, então chefe do Food and Drug Administration (FDA), se referiu ao tabagismo como uma doença pediátrica (COMMITTEE ON SUBSTANCE ABUSE *et al.*, 2009).

1. REVISÃO TEÓRICA

1.1. Adolescência

O conceito de adolescência nem sempre existiu e apenas passou a ser reconhecido como um período do desenvolvimento ao final do século XIX (DE ASSIS CÉSAR, 2008). Antes disso, imputava-se à puberdade o papel de representar a passagem direta da infância para a idade adulta, sem transição por uma fase intermediária. A iniciação representava o acolhimento dos púberes na sociedade adulta, que frequentemente se constituíam em cerimônias de grande prestígio. A partir do Renascimento, as solenidades que circundavam essa transição foram se extinguindo até a Revolução Industrial (FERREIRA, NELAS, 2016). Ao final do século XIX e início do século XX, em razão das grandes transformações sociais e culturais aliadas à revolução industrial, surgiram alterações na definição das etapas da vida (DE ASSIS CÉSAR, 2008). A adolescência começa a ser considerada como um período importante no processo de desenvolvimento do indivíduo e houve um prolongamento do controle da família sobre os adolescentes (FERREIRA, NELAS, 2016).

Atualmente, a adolescência é considerada o estágio da vida situado entre a infância e a fase adulta, marcado por um complexo processo de crescimento e desenvolvimento biopsicossocial, incluindo modificações em uma série de características comportamentais, neuroquímicas, metabólicas e estruturais. A nível comportamental, adolescentes são mais propensos a tomadas de decisões mais arriscadas (comportamento de risco), explorar diferentes formas de serem socialmente aceitos e buscar identidade própria (FAHRIZAL, HAMID, DAULIMA, 2018). Tal período é circunscrito, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), à segunda década de vida, do 10º ao 19º ano, e considera que a juventude se estende do 15º ao 24º ano de vida. Em contrapartida, há um descompasso entre a delimitação etária da OMS e do ECA, o qual define como adolescente qualquer indivíduo entre 12 e 18 anos (BRASIL, 2007; BRASIL, 1990).

Do ponto de vista evolutivo, a adolescência pode ser encarada como um período de aquisição de novas habilidades para a sobrevivência longe dos pais. Os comportamentos de risco e a motivação para buscar novas experiências podem ter sido evolutivamente conservados por seu valor adaptativo durante a adolescência, desempenhando um papel na aquisição de habilidades adultas necessárias e um mecanismo adaptativo de dispersão dos

indivíduos afim de evitar a endogamia, como ocorre em outras espécies de mamíferos (SPEAR, 2000). O período da adolescência não é unicamente humano. Em roedores, considera-se que a adolescência compreenda, minimamente, o período entre o 28º e o 42º dias de vida pós-natal (PN), exibindo alterações fisiológicas e comportamentais semelhantes aos humanos (SPEAR, 2000; 2013). No entanto, a definição destas delimitações é discutível. Alguns autores sugerem que seu início seja em PN21, por sinalizar mudanças correlacionadas aos 10 anos de idade em humanos (BURKE, MICZEK, 2014; LAVIOLA *et al.*, 2003). Do mesmo modo, diversos autores consideram o período de adolescência tardia, estendendo-se até PN55 em roedores (BRAET *et al.*, 2013; TIRELLI, LAVIOLLA, ADRIANI, 2003), ao levarem em consideração que a maturação não está completa até meados dos 20 anos em humanos. Por causa da proximidade e, até mesmo, sobreposição dos estágios, não raro, a adolescência e a puberdade se confundem. Entretanto, o pico adolescente na busca de novidades parece ser independente das alterações hormonais gonadais típicas da maturação sexual (VETTER-O 'HAGEN, SPEAR, 2012). Além disso, as mudanças relativamente rápidas nos sistemas neurais envolvidos na função emocional e reprodutiva que ocorrem durante a puberdade não coincidem com a maturação de outros sistemas cognitivos que se estendem ainda mais no período da adolescência (DAHL, 2008). Outras definições enfatizam o estirão de crescimento do adolescente, embora as mudanças no peso corporal não estejam correlacionadas com as alterações neurocomportamentais do adolescente (SPEAR, 2000).

Enquanto as mudanças físicas são componentes importantes da adolescência e ajudam a definir seus limites, a característica mais marcante desse período é uma grande reorganização dos circuitos neurais. A nível celular, essas mudanças correspondem à superprodução de axônios e sinapses durante a vida intrauterina e infância, e à poda (*pruning*) no final da adolescência e no início da idade adulta, levando a perda de aproximadamente metade do número das conexões sinápticas em algumas regiões (PAUS, KESHAVAN, GIEDD, 2008). Neste período do desenvolvimento, os padrões de conexão neural entre sistemas de emoção, motivação e processos cognitivos relacionados à busca de objetivos de longo prazo passam por uma reorganização natural e um conjunto de refinamentos maturacionais durante a adolescência (BERNHEIM, HALFON, BOUTREL, 2013; GIEDD, 2008). Acredita-se que a abundância inicial de neurônios e sinapses durante a infância forneça um substrato por meio do qual a plasticidade dependente da atividade pode ajustar o funcionamento da rede neural, através do *pruning*. A diminuição da densidade sináptica concomitante ao aumento na mielinização da substância branca em diferentes regiões do cérebro e em tempos variados é consistente com a noção de que regiões distintas do encéfalo

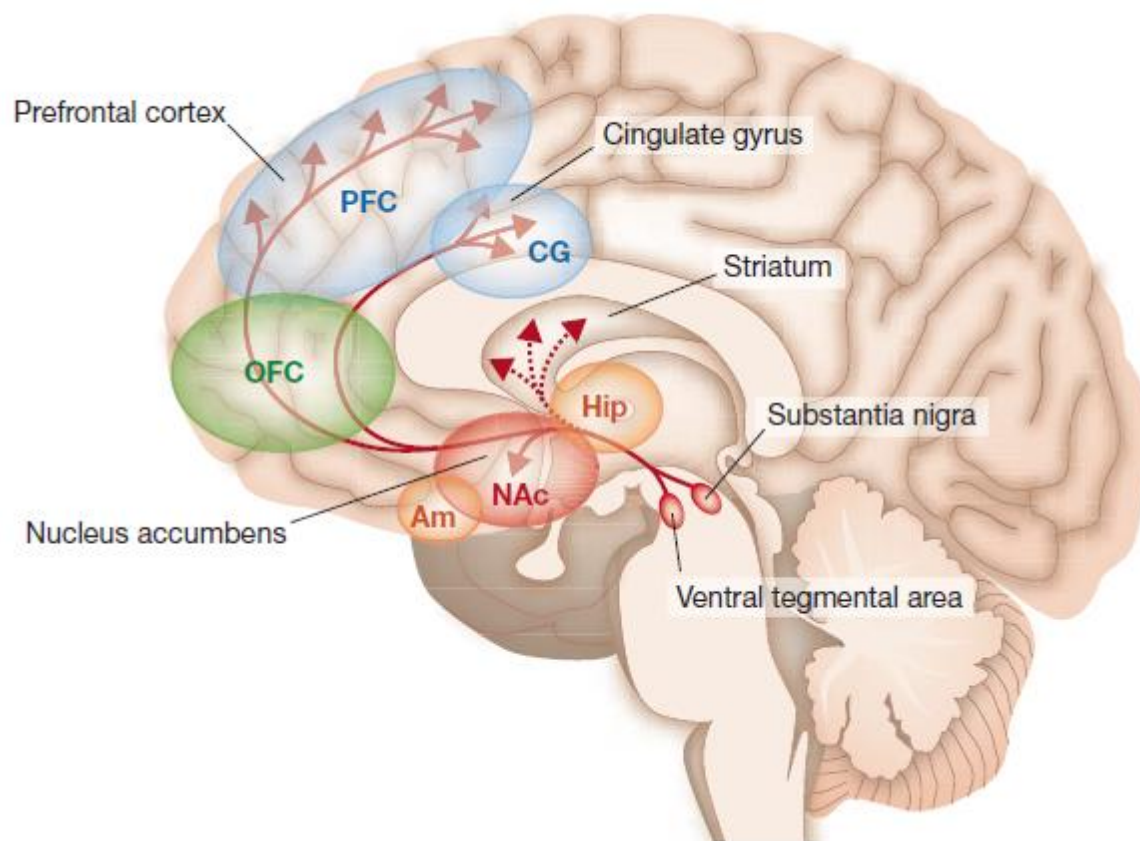
têm diferentes períodos críticos durante o desenvolvimento. Esse refinamento geral do córtex e o aumento do volume e organização de conexões resulta em um funcionamento cada vez mais eficiente das redes cerebrais (BODISON, COLBY & SOWELL, 2020).

Não obstante a remodelação estrutural, o cérebro adolescente também passa por uma maturação neuroquímica substancial. No começo da adolescência, a conectividade entre o córtex pré-frontal e as regiões límbicas não está completamente desenvolvida e, à medida que avança a adolescência, essa conectividade aumenta e completa seu desenvolvimento (YUAN et al., 2015). Do mesmo modo, as projeções dopaminérgicas da área tegmental ventral continuam a se desenvolver no início da idade adulta e são fortemente influenciadas pelas projeções colinérgicas do núcleo tegmental laterodorsal (YUAN et al., 2015). Por sua vez, o núcleo *accumbens* desenvolve-se mais cedo do que as regiões corticais pré-frontais, o que pode, conseqüentemente, levar à expressão característica de maior busca de novidades e comportamento de risco (YUAN et al., 2015).

1.1.1. Adolescência e sistema dopaminérgico

O sistema dopaminérgico, em especial, sofre uma profunda reorganização na transição entre os períodos pré-adolescente e adulto, incluindo mudanças no conteúdo de dopamina e na expressão do receptor. Frequentemente, o sistema dopaminérgico tem sido implicado como substrato primário para o desenvolvimento de comportamentos motivados e aprendizagem associativa (O'DONNELL, 2010; WAHLSTROM et al., 2010). Estudos realizados em humanos vinculam a dopamina à modulação de traços de personalidade, como o traço de busca por novidades, que foi associado com a diminuição de receptores D₂ no mesencéfalo, sugerindo que indivíduos com quantidades maiores de dopamina sináptica apresentem esse comportamento mais intensamente (ZALD et al., 2010).

Figura 1 – Modelo de circuitos cerebrais implicados na dependência de drogas.



Legenda: Representação das estruturas do cérebro envolvidas na dependência. Acredita-se que o núcleo accumbens seja importante na identificação de estimulantes, avaliando a recompensa. O córtex orbitofrontal está envolvido na tomada de decisões e na determinação das recompensas e punições esperadas de uma ação. A amígdala e o hipocampo estão envolvidos na formação de memórias da relação estímulo/recompensa, enquanto o controle inibitório e a regulação emocional são fornecidos pelo córtex pré-frontal e pelo giro cingulado anterior. Acredita-se que drogas façam com que os neurônios da área tegmental ventral liberem o neurotransmissor dopamina no núcleo accumbens. Essas regiões regulam a atividade nas regiões corticais frontais. Essa via é chamada de via de recompensa mesolímbica (seta em vermelho).

Fonte: Adaptado de Lee et al., 2012.

O sistema dopaminérgico tem como seu principal regulador o córtex pré-frontal, que, na via dopaminérgica mesocorticolímbica, recebe projeções dopaminérgicas do VTA e envia projeções glutamatérgicas para o núcleo accumbens, um integrador chave do processamento de recompensas (ALBERTIN et al., 2000; MCGINTY; GRACE, 2009; HAMEL et al., 2017; MORRISON et al., 2017) (Figura 1). Em contraste com as projeções para regiões límbicas e a inervação cortical de outras monoaminas, que atingem níveis de densidade adulta no início da vida (COYLE; MOLLIVER, 1977; LEVITT; MOORE, 1979; LIDOV; GRZANNA; MOLLIVER, 1980; BENES; TAYLOR; CUNNINGHAM, 2000; DIAMOND, 2002), as projeções dopaminérgicas para o córtex pré-frontal não amadurecem completamente até o início da idade adulta (KALSBECK et al., 1988; BENES; TAYLOR; CUNNINGHAM, 2000;

MANITT et al., 2011; NANEIX et al., 2012). Em suma, a via dopaminérgica mesocorticolímbica sofre grandes mudanças de desenvolvimento durante a adolescência, tanto nas projeções da fibra para o córtex pré-frontal quanto na sensibilidade à dopamina dentro das regiões-alvo do núcleo *accumbens*, estriado dorsal e córtex pré-frontal, através da expressão alterada do receptor (WALKER et al., 2017).

1.1.2. Adolescência e sistema colinérgico

Os neurônios colinérgicos são amplamente distribuídos no cérebro e a acetilcolina (ACh) se liga a receptores colinérgicos centrais e periféricos. A ACh é liberada de neurônios que se projetam para uma ampla gama de estruturas corticais e subcorticais, e influencia a fisiologia celular, bem como a função neuronal em todo o cérebro (HAUSER et al., 2021). A enzima colina acetiltransferase (ChAT) é um indicador do estado funcional dos neurônios colinérgicos, sendo responsável pela biossíntese de ACh (FERREIRA-VIEIRA et al., 2016). Após a síntese, a ACh é transportada através do transportador vesicular de acetilcolina (VACHT) para a membrana sináptica e é liberada na fenda sináptica. Existem duas colinesterases que degradam a ACh no cérebro, a acetilcolinesterase (AChE) e a butirilcolinesterase (BChE). O transportador de colina (CH1) é fundamental para manter a neurotransmissão colinérgica pela captação de colina na membrana peri-sináptica, a colina é então reciclada para nova síntese de ACh.

Os nAChR neuronais são expressos em neurônios DA, onde mediam, em parte, a reorganização dos circuitos DAérgicos durante a adolescência (THORPE et al., 2020). A expressão dos receptores nicotínicos $\alpha 5$, $\alpha 6$ e $\alpha 7$ no VTA atinge o pico, em roedores, em torno de PN21, enquanto há mudanças mínimas na expressão de $\beta 4$ entre PN21 e PN60 (AZAM; CHEN; LESLIE, 2007; THORPE et al., 2020). A expressão de mRNA das subunidades $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\beta 2$ e $\beta 3$ no VTA é maior durante a pré-adolescência (PN14) em comparação com os níveis do adulto, mas permanece relativamente estável entre a adolescência e a idade adulta (AZAM; CHEN; LESLIE, 2007; THORPE et al., 2020). Um estudo mostrou que a ligação de $\alpha 4\beta 2$ nAChR do adolescente (PN29) foi uniformemente maior em várias regiões do SNC em comparação com os níveis de adultos, mas não houve diferenças significativas nos níveis de ligação de $\alpha 6$ ou $\alpha 7$ entre a adolescência e a idade adulta (DOURA et al., 2008; THORPE et al., 2020). A expressão de mRNA da subunidade $\alpha 7$

nicotínica é maior no córtex adolescente em comparação com o córtex pré-puberal, com níveis de expressão estabilizando entre a adolescência e a idade adulta (THORPE et al., 2020; ZHANG et al., 1998). Dentro do córtex, os níveis de subunidade $\alpha 3$ parecem aumentar da adolescência para a idade adulta, enquanto os níveis de expressão de $\alpha 4$ e $\beta 2$ são mantidos durante este período (THORPE et al., 2020; ZHANG et al., 1998). Assim, a exposição a compostos que alteram a atividade da ACh durante a infância e adolescência pode ter efeitos de longo prazo no tônus colinérgico no SNC.

1.1.3. Adolescência e uso de drogas

Durante a adolescência, humanos passam mais tempo interagindo com os pares do que em qualquer outro período de desenvolvimento (HARTUP; STEVENS, 1997) e essas relações favorecem novas experiências para adolescentes (BROWN, 2004; STEINBERG; MORRIS, 2001). Além disso, adolescentes são mais propensos a apresentar comportamentos de risco devido às influências socioambientais, aspecto favorecido pela tendência que têm de explorar diferentes formas de serem socialmente aceitos e de buscar por novos estímulos e sensações (FAHRIZAL; HAMID; DAULIMA, 2018). Por exemplo, como as habilidades morais e tomada de decisão dos adolescentes ainda estão em desenvolvimento, os adolescentes, quando comparado aos adultos, correm um risco maior de uso de substâncias, por pressão dos pares por exemplo, incorrendo em um risco acentuado de desenvolverem transtorno por uso de substâncias (FAHRIZAL; HAMID; DAULIMA, 2018). Neste sentido, é relevante notar que estudos prévios sugerem que crianças e adolescentes têm respostas reativas de recompensa e executam melhor as tarefas quando ganham suas recompensas à curto prazo, sugerindo maior engajamento em comportamentos que resultam em benefícios imediatos (PADMANABHAN *et al.*, 2011), como os associados ao consumo de drogas recreativas.

Roedores também apresentam traços comportamentais característicos da adolescência, tais como: elevados níveis de busca por novos estímulos, impulsividade e comportamento de risco, assim como redução de resposta ao estresse (ADRIANI; CHIAROTTI; LAVIOLA., 1998, ADRIANI; LAVIOLA, 2003, MACRI *et al.*, 2002, ADRIANI; LAVIOLA, 2000). Estudos também mostraram que roedores adolescentes exibem maior sensibilidade aos estímulos de recompensa positivos e estão mais dispostos a

realizarem esforços maiores para atingir esses estímulos (DOREMUS-FITZWATER; SPEAR, 2016).

Diferentes substâncias psicoativas afetam o cérebro de maneira diferente, todavia, um fator convergente é que diversas destas aumentam o nível da dopamina nos circuitos cerebrais que controlam a recompensa e o prazer (GAROFOLI, 2020). As drogas de abuso são particularmente capazes de extrapolar esse processo, produzindo uma intensa ativação dos circuitos de recompensa do cérebro, com muito mais dopamina, do que as recompensas naturais geram, proporcionando sentimentos gratificantes e prazerosos que contribuem para o seu reforço (GAROFOLI, 2020). Dentre as drogas de abuso mais utilizadas por adolescentes, estão o álcool e a nicotina (CASA, 2011). O tabagismo, doença crônica causada pela dependência à nicotina, afeta adolescentes de forma mais expressiva. Por exemplo, estes experimentam sintomas de dependência mais precocemente do que indivíduos que iniciam o hábito tardiamente. Um estudo mostrou que 95% dos adolescentes fumantes relataram sintomas de dependência ao tabaco quando fumavam menos de 10 cigarros por dia, após um mês de uso (DIFRANZA et al., 2002a, b; O'LOUGHLIN et al., 2003).

Embora quase metade dos fumantes adultos tente parar a cada ano, menos de 5% têm sucesso devido à nicotina e seu alto risco de gerar dependência (HHS, 2014). Os jovens também tentam parar, e aqueles com maior evidência de dependência têm maior probabilidade de ter dificuldade para interromper o uso da nicotina (DIFRANZA et al., 2002^a). Eles fazem mais tentativas de parar antes de serem bem-sucedidos em comparação com os adultos. Começar a fumar mais cedo está associado a uma dependência mais grave e à diminuição das taxas de parar de fumar (CHEN et al., 1998). Os sintomas de abstinência à nicotina podem ser multifatoriais, mas os mais frequentes são aumento da irritabilidade, dificuldade de concentração, ganho de peso, depressão e ansiedade, sendo estes alguns dos motivos para que poucos fumantes consigam efetivamente abandonar o uso do cigarro (JORENBY *et al.* 1999, SNYDER; MCDEVITT; PAINTER, 2008).

1.2. Aspectos farmacológicos da nicotina

A nicotina é uma substância psicoestimulante do sistema nervoso central, sendo a principal responsável pelas bases farmacológicas do transtorno de uso de substâncias associado ao consumo de cigarro. Sua absorção se inicia logo no primeiro contato com a

mucosa oral (em menor quantidade), sendo que, ao alcançar as vias aéreas e alvéolos pulmonares, a nicotina presente na fumaça do tabaco é rapidamente absorvida devido à extensa superfície de contato e à fácil dissolução da nicotina no fluido pulmonar, facilitando a transferência através das membranas. A absorção pela pele também é possível quando há contato com folhas de tabaco úmidas ou nicotina isolada. (HUKKANEN et al., 2005). Sua metabolização ocorre substancialmente no fígado pela isoenzima hepática citocromo P450 2A6 (CYP2A6), convertendo nicotina- $\Delta 1'$ (5')-iminium em cotinina. Em humanos, este metabólito é um dos mais abundantes: cerca de 80% da nicotina é transformada em cotinina. Somando-se ao fato de sua meia vida ser relativamente longa (20 h) em comparação à nicotina (2 h), o metabólito cotinina é largamente utilizado como um marcador de exposição à nicotina (BENOWITZ, 2009).

Tendo uma importante atuação no sistema nervoso central (SNC), a nicotina age como um agonista colinérgico através da ligação à receptores nicotínicos colinérgicos (nAChRs), que são canais catiônicos pentaméricos expressos em sítios pré- e pós-sinápticos no sistema nervoso central e periférico. Os nAChRs neuronais são receptores ionotrópicos ativados em resposta à ligação da acetilcolina, e apresentam uma grande família de pelo menos oito subunidades α ($\alpha 2-10$) e três subunidades β ($\beta 2-4$), cada uma com características farmacológicas distintas (GOTTI et al., 2007; ABREU-VILLACA et al., 2011). No SNC, os receptores nicotínicos estão localizados em várias regiões do cérebro, tais como hipocampo e córtex cerebral. Com isso, tais receptores desempenham um papel crítico na modulação da atividade neuronal através de alterações em seus estados funcionais, um papel importante em processos fisiológicos e patológicos. Uma dessas modulações de atividade é a ativação do sistema mesolímbico, resultando na liberação de dopamina no núcleo *accumbens*. Este é o circuito responsável pelas recompensas e desejos, enquanto a retirada da nicotina está relacionada com alterações noradrenérgicas no *locus coeruleus* (LESHNER, 1996). O aumento da liberação de dopamina e noradrenalina está relacionada com supressão do apetite e, consequentemente, perda de peso. A nicotina também possui ação simpatomimética, causando aumento da pressão sanguínea, da frequência cardíaca e vasoconstrição.

1.3. Tabaco e comportamento

1.3.1. Tabaco e ansiedade

A ansiedade é uma vivência humana universal, dentro da normalidade, é associada ao sentimento de medo e outros estados emocionais similares. Segundo Barlow (2002), é um estado emocional orientado para o futuro associado à preparação para possíveis eventos adversos. Tem como função prover o indivíduo de modificações fisiológicas, comportamentais e psicológicas para que este consiga lidar de forma bem-sucedida em situações de risco potencial ou real. Entretanto, se esta função adaptativa da ansiedade não for efetiva, pode originar um estado patológico, podendo vir a interferir na habilidade em lidar de forma adequada com os eventos estressantes (SILVA *et al.*, 2012).

Os transtornos de ansiedade são um grupo de desordens mentais incapacitantes comum entre os adolescentes. Estima-se que 3,6% dos jovens de 10 a 14 anos e 4,6% dos de 15 a 19 anos sofram de transtorno de ansiedade (WHO, 2021c). Entre os maiores de 20 anos, 2,4% (57 milhões) da população global sofrem da mesma condição (IHME, 2019). Indivíduos que possuem algum transtorno de ansiedade são mais propensos a comportamentos não saudáveis como o uso de drogas, tais como a nicotina (SMITH, BOOK, 2008; LAVIOLETTE, 2021). Conforme revisou Moylan e colaboradores (2013), vários estudos demonstraram uma associação entre o tabagismo e o aumento dos sintomas de ansiedade, e em exposições precoces (ex. adolescência) encontra-se uma predisposição a respostas de ansiedade aumentadas na vida adulta.

Modelos animais são amplamente utilizados em pesquisas dedicadas à ansiedade sob duas justificativas: a verificação de novos agentes terapêuticos, e a facilitação do entendimento das características fisiológicas, fisiopatológicas e comportamentais envolvidas na gênese e tratamento da ansiedade (SILVA *et al.*, 2012). No estudo da ansiedade, um dos modelos de escolha é o labirinto em cruz elevado (PELLOW *et al.*, 1985; LISTER, 1987). Nesse teste ocorre o paradoxal evento *approach-avoid conflict* ou “conflito de aproximação-esquiva”, que antagoniza a preferência do roedor por áreas protegidas (ex., braços fechados) e sua tendência natural para explorar novos ambientes (WALF, FRYE, 2007). Dentre as especulações apresentadas para tentar esclarecer a aversão dos roedores aos braços abertos

está o mecanismo de preservação do contato físico com estruturas sólidas, também conhecido como tigmotaxia (TREIT, FUNDYTUS, 1988).

1.3.2. Tabaco e busca por novos estímulos

A busca por novidades é uma tendência para intensa alegria ou excitação em resposta a novos estímulos, levando ao aumento de atividade exploratória em busca de recompensas (HIROI, AGATSUMA, 2005). O comportamento de busca por novidades tem sido correlacionado com vulnerabilidade a distúrbios psicopatológicos e transtorno por abuso de substâncias em humanos e animais (BIDWELL *et al.*, 2015; FOULDS *et al.*, 2017; WINGO *et al.*, 2016). Modelos experimentais em animais têm mostrado que a busca por drogas, incluindo a nicotina, é mais recorrente na presença deste comportamento e que um comportamento de busca por novos estímulos aumentado pode predizer um maior consumo de nicotina no futuro (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2006; 2015; CAIN, SAUCIER, BARDO, 2005; FLAGEL *et al.*, 2014). Diversos estudos em animais avaliam este comportamento submetendo-os ao teste de campo vazado (CV), padronizado originalmente por Boissier e Simon (1962) como medida geral da atividade motora e de exploração. Não obstante, novas medidas também puderam ser realizadas como ansiedade e aprendizado espacial e memória, a partir de ligeiras modificações (FILE, 2001; FILE, WARDILL, 1975; VAN DER STAAY *et al.*, 2012).

1.4. **Abordagens farmacológicas para a cessação do tabagismo**

Em oposição a vasta literatura que aborda a cessação do tabagismo na idade adulta, existe uma carência de estudos que investiguem programas de intervenção e interrupção do hábito de fumar na população adolescente. Apesar das abordagens terapêuticas de base farmacológica para a dependência ao tabaco terem se mostrado segura e eficaz para adultos, sua eficácia e a segurança na população adolescente não são bem estabelecidas. A prescrição e uso de medicações tem papel de mitigar os sintomas da síndrome de abstinência à nicotina, porém, as diretrizes antitabagistas recomendam a farmacoterapia juntamente com terapia

comportamental (BRASIL, 2013). Até o momento, dentre os fármacos aprovados pelo FDA para auxiliar na interrupção do uso do cigarro estão: 1) terapias baseadas na reposição de nicotina; 2) uso da bupropiona; 3) uso da vareniclina (SQUEGLIA *et al.*, 2019).

1.4.1 Terapia de Reposição de Nicotina

A terapia de reposição de nicotina (TRN) tem por objetivo a redução da motivação para fumar e dos sintomas fisiológicos e psicomotores de abstinência comumente experimentado durante a tentativa de parar de fumar (HARTMANN-BOYCE *et al.*, 2018). Por conseguinte, a TRN deveria aumentar a probabilidade de permanecer abstinente (HARTMANN-BOYCE *et al.*, 2018). A evidência de que a TRN ajuda a parar de fumar é bem aceita e diretrizes clínicas recomendam a TRN como tratamento de primeira linha para pessoas que procuram ajuda farmacológica para parar de fumar (BRASIL, 2020; FUCITO *et al.*, 2014).

Atualmente, as formas mais efetivas para interromper o hábito de fumar envolvem métodos alternativos de liberação de nicotina (adesivos transdérmicos, gomas de mascar, pastilhas, comprimidos sublinguais, inalador ou sprays nasais). Todos os produtos disponíveis dependem da absorção venosa sistêmica e, portanto, não alcançam uma distribuição sistêmica tão rápida quanto a inalação da fumaça do cigarro. Enquanto se leva apenas alguns segundos para que altas doses de nicotina de um cigarro cheguem ao cérebro, os medicamentos indicados atingem níveis mais baixos ao longo de um período de minutos ou horas, dependendo do produto. Desta forma, podemos apresentar as TRN em duas divisões: produtos de liberação lenta e produtos de liberação rápida (WADGAVE, NAGESH, 2016; FLOWERS, 2017).

Resultados sugerem que o uso de quaisquer formas de TRN torna mais provável que a tentativa de uma pessoa de parar de fumar seja bem-sucedida, com aumento de 50% a 60%. A TRN funciona com ou sem aconselhamento adicional e não precisa ser prescrita por um médico (HARTMANN-BOYCE *et al.*, 2018). Visto que uma terapia sozinha possui uma eficácia característica, combinações de fármacos de primeira linha, como a bupropiona, vareniclina e a TRN, têm demonstrado efetividade maior na cessação do tabagismo (EBBERT *et al.*, 2009; MILLS *et al.*, 2012). O uso de TRN não é recomendado atualmente como parte do tratamento do tabaco para adolescentes porque a eficácia ainda não foi estabelecida nessa

população (BAILEY *et al.*, 2012). Em consonância, alguns trabalhos apontam que a TRN falha em ajudar adolescentes a pararem de fumar, seja a curto, médio ou longo prazo (KIM *et al.*, 2011; SCHERPHOF *et al.*, 2014).

1.4.2 Bupropiona

O uso da bupropiona foi aprovado em 1997 pelo FDA como farmacoterapia para cessação do tabagismo, sendo um dos primeiros medicamentos licenciados com esta finalidade (WILKES, 2006). É também indicada para o tratamento de depressão e para o transtorno afetivo sazonal em adultos. Entre os usos não aprovados pelo FDA estão: transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH), depressão associada ao transtorno bipolar, obesidade e disfunção sexual induzida por antidepressivos (VERBEECK *et al.*, 2017; CLAYTON, KINGSBERG, GOLDSTEIN, 2018; HUECKER, SMILEY, SAADABADI, 2021). Entre as reações adversas mais comuns relacionadas ao uso de bupropiona estão insônia; cefaleia; boca seca; náuseas e vômitos; anorexia; agitação, ansiedade e depressão; tremor; vertigem; dor abdominal; constipação; febre e astenia (GSK, 2021).

A bupropiona é um antidepressivo inibidor não seletivo dos transportadores de dopamina (DAT) e noradrenalina (NET), com efeito mínimo na recaptação de serotonina, permitindo que esses neurotransmissores permaneçam por mais tempo na fenda sináptica (DWOSKIN *et al.*, 2006). Estudos *in vitro* apontam outro mecanismo de ação potencialmente favorável para a cessação do tabagismo: a bupropiona mostrou ser um antagonista dos receptores nicotínicos colinérgicos nAChRs $\alpha 3\beta 2$, $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 7$, demonstrando menor afinidade pelo último tipo de receptor (SLEMMER, MARTIN, DAMAJ, 2000).

Estudos realizados com adolescentes fumantes tratados com o fármaco indicam melhora nos sintomas comportamentais relacionados à ansiedade e depressão (SUSSMAN, SUN, DENT, 2006). Entretanto, há evidências insuficientes para apoiar a segurança e eficácia do uso de bupropiona para menores de 18 anos que desejam parar de fumar (KILLEN *et al.*, 2004), ocasionando a não preconização desta farmacoterapia pelo sistema de saúde (BRASIL, 2020).

Em nosso laboratório, trabalhos anteriores em modelo animal fizeram uso da bupropiona como farmacoterapia após exposição à nicotina ou fumaça de cigarro durante a adolescência (CLAUDIO-NETO, 2016; ISNARDO-FERNANDES, 2021). Os achados nos

testes comportamentais de Labirinto em Cruz Elevados indicaram que a bupropiona foi capaz de reverter parcialmente os efeitos ansiogênicos causados pela exposição e, 30 dias após o fim do tratamento, ainda foram observados efeitos residuais da bupropiona, sugerindo seu uso em adolescentes pode auxiliar o processo de interrupção do consumo de nicotina, mas que um acompanhamento se faz necessário a longo prazo (ISNARDO-FERNANDES, 2021).

1.4.3 Vareniclina

A citisina é um alcaloide com estrutura molecular semelhante a nicotina e possui alta afinidade receptores nicotínicos colinérgicos nAChRs $\alpha 4\beta 2$ (JORDAN, XI, 2018). Considerada uma das medicações mais antigas aplicada na cessação do tabagismo, foi licenciada e utilizada para este fim em alguns países da Europa Oriental, Central e da Ásia Central há mais de 50 anos (PROCHASKA, DAS, BENOWITZ, 2013). Extraída a partir da planta *Laburnum anagyroides*, suas folhas foram utilizadas durante a II Guerra Mundial por soldados alemães e russos como um substituto para o tabaco (TUTKA *et al.*, 2019). Os primeiros trabalhos elucidativos sobre a citisina surgiram na década de 1950, quando Paskov e Dobrev publicaram sobre suas características, suas propriedades farmacológicas e seu uso no tratamento da dependência de nicotina (TUTKA *et al.*, 2019). No entanto, décadas antes, em 1912, já existiam relatos que seus efeitos biológicos eram semelhantes ao da nicotina (JORDAN, XI, 2018). De certo modo, a citisina é um fármaco predecessor da vareniclina atualmente comercializada, pois foi com base nos conhecimentos sobre sua estrutura química e mecanismo de ação que a empresa farmacêutica Pfizer iniciou esforços para gerar novos compostos com eficácia aprimorada (COE *et al.*, 2005).

O tartarato de vareniclina foi desenvolvido originalmente como um agente para a cessação do tabagismo em 1997 sob a marca Chantix®. Aprovada pelo FDA em 2006, a vareniclina exibe um mecanismo de ação receptor-dependente, atuando como um agonista parcial nAChR $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 3\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$, $\alpha 6/\alpha 3\beta 2\beta 3$, $\alpha 1\beta \gamma \delta$ e um agonista total de alta eficácia para o nAChR $\alpha 7$. Também se liga com afinidade moderada ao receptor 5-HT₃ (JACOB, POLAK, 2020; MIHALAK, CARROLL, LUETJE, 2006; PFIZER, 2021). Medicamentos como a vareniclina, que agem como agonistas parciais de nAChR, conseguem dar maior suporte na interrupção do tabagismo pela combinação de dois mecanismos (CAHILL *et al.*, 2016). Em primeiro lugar, agindo como um agonista $\alpha 4\beta 2$ nAChR, atenuando sintomas de fissura e

abstinência após cessação abrupta ou redução do consumo de nicotina. Em segundo lugar, ocupando parte dos receptores, impedindo a ligação à nicotina e, em consequência, levando a uma redução da satisfação em fumar, seja antes de parar ou em uma recaída (JACOB, POLAK, 2020). Através da sua atividade nos receptores $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 6\beta 2$, a vareniclina demonstrou reduzir a liberação de dopamina no núcleo *accumbens* induzida pela coadministração com a nicotina (BORDIA, *et al.*, 2012, ROLLEMA *et al.*, 2007).

A vareniclina é quase completamente absorvida pelo trato gastrointestinal após administração oral e sua disponibilidade sistêmica é alta (> 90%) (FAESSEL *et al.*, 2010). Seu pico de concentração plasmático ocorre 3-4 horas após a administração. Em geral, suas propriedades de distribuição são caracterizadas pela baixa ligação às proteínas plasmáticas, rápida distribuição pelos tecidos e boa penetração no cérebro (FAESSEL *et al.*, 2010). Passando por um processo de metabolização mínimo, 92% do fármaco é excretado em sua forma inalterada pela urina (PFIZER, 2021). A meia-vida de eliminação da vareniclina em humanos adultos é de aproximadamente 24 h. Em pacientes pediátricos (12-17 anos) demonstrou uma meia-vida mais curta, 10 h. Já em modelos animais, a meia-vida do fármaco é ainda mais curta em ratos (4 h) e camundongos (1,4 h) (FAESSEL *et al.*, 2010; OBACH *et al.*, 2006).

A dose recomendada de vareniclina é de 1 mg duas vezes ao dia por 12 semanas após uma semana de titulação inicial, começando com 0,5 mg uma vez ao dia por 3 dias, seguido de 0,5 mg duas vezes ao dia por 4 dias em fumantes adultos. Ao terminar os 7 dias de titulação, o paciente deve interromper o uso do tabaco. Diante disso, é indicado que o fumante estabeleça uma data de parada antes de iniciar o tratamento (FAESSEL *et al.*, 2010; PFIZER, 2021). Com altas taxas de segurança e eficácia, a vareniclina é geralmente bem tolerada para ajudar a parar de fumar e manter os índices de abstinência a longo prazo (CAHILL *et al.*, 2016). Os efeitos adversos mais comumente relatados são náuseas, insônia e cefaleia (JACOB, POLAK, 2020). Outros efeitos adversos comuns que geralmente são temporários e de severidade leve a moderada incluem dor de cabeça, sonhos anormais, distúrbios do sono, tontura, boca seca, ganho de peso e constipação (JORENBY *et al.*, 2006).

A utilização da dosagem padrão de vareniclina aumentou as chances de sucesso da cessação do tabagismo a longo prazo entre duas e três vezes em comparação ao placebo. Não obstante, regimes de doses mais baixas conferiram benefícios, reduzindo a incidência de eventos adversos (CAHILL, STEAD, LANCASTER, 2012). A vareniclina também se mostra uma ajuda promissora se comparada com bupropiona e ao TRN (adesivo de nicotina) pois

possui uma taxa de sucesso significativamente maior 6 meses após a interrupção do tabagismo (ANTHENELLI *et al.*, 2016; KALKHORAN, BENOWITZ, RIGOTTI, 2018).

Estudos prévios do laboratório, em modelo animal, utilizaram vareniclina como tratamento farmacológico em um modelo de exposição à nicotina durante a adolescência por ingestão desta droga diluída em água (CLAUDIO-NETO, 2016; DUARTE-PINHEIRO, 2019). Os resultados dos testes comportamentais de Labirinto em Cruz Elevado e Campo Aberto em ambos os trabalhos indicaram que a vareniclina parece não apresentar efeitos comportamentais deletérios nos animais adolescentes expostos à nicotina na adolescência, sugerindo que o uso da vareniclina é seguro nesta fase do desenvolvimento para este fim. Adicionalmente, demonstramos que a vareniclina era capaz de reduzir a preferência por nicotina após um curto período de abstinência (DUARTE-PINHEIRO, 2019).

Não obstante, dados epidemiológicos indicam os cigarros como principal forma de consumo de nicotina, e estes contêm aproximadamente 7000 substâncias químicas, dentre elas 4,7 mil são nocivas ao uso, seja na sua composição ou derivada da queima dos cigarros. Já é conhecido que alguns dos componentes não nicotínicos presentes na fumaça do cigarro contribuem de forma relevante para os efeitos no SNC (HOFFMAN, EVANS, 2013; HALL *et al.*, 2014). Sendo assim, é necessário que a segurança e a efetividade da vareniclina seja também avaliada em um modelo mais condizente com a realidade dos tabagistas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

O objetivo do presente projeto foi o de estudar efeitos somáticos e comportamentais do uso da vareniclina em um modelo experimental de exposição à fumaça do cigarro durante a adolescência.

2.2. Objetivos Específicos

1. Estudar os comportamentos associados aos níveis de ansiedade, no labirinto em cruz elevado, , no teste de campo vazado, em camundongos Suíços que foram expostos à fumaça do cigarro contendo nicotina durante a adolescência e subsequentemente tratados com vareniclina. Um grupo de animais foi testado durante o tratamento e outro grupo foi testado trinta dias após o encerramento do tratamento
2. Estudar também os comportamentos associados à busca por novidade, no teste de campo vazado, nestes animais. Um grupo de animais foi testado durante o tratamento e outro grupo foi testado trinta dias após o encerramento do tratamento;
3. Estudar, nestes animais, parâmetros somáticos associados à massa e composição corporal;
4. Estudar, nestes animais, o padrão de ingestão de água e de consumo de ração ao longo de todo o experimento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Esse trabalho é de natureza experimental e foi integralmente desenvolvido no Laboratório de Neurofisiologia (LN) do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF), Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). O protocolo experimental utilizado, descrito a seguir, foi aprovado pelo Comitê de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do IBRAG, sob o número CEUA/023/2021, e estão de acordo com o Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório conforme estabelece a Lei Federal nº 11.794/08.

Foram utilizados camundongos Suíços adolescentes, de ambos os sexos, criados e mantidos no biotério experimental de camundongos do Laboratório de Neurofisiologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da UERJ num ciclo diário de 12 h claro/escuro (início do escuro = 14:00 h), com temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e com livre acesso à água e ração específica para murinos (Código Nuvilab CR1 - NUVILABNUVITAL®).

Para a formação das ninhadas, foram utilizados camundongos adultos, na proporção de três fêmeas para um macho. Após duas semanas do início dos cruzamentos as fêmeas grávidas foram individualizadas em caixas próprias (dimensões: 30 cm × 20 cm × 13 cm) e observadas diariamente até o dia do nascimento da prole (PN1). Nesse estudo foram utilizadas ninhadas entre 8 e 12 filhotes com o objetivo de padronizar o aporte nutricional dos animais experimentais.

Foram utilizados 384 camundongos de ambos os sexos provenientes de 56 ninhadas (uma parte dos animais de cada ninhada foi destinada a outro estudo). No 25º dia pós-natal (PN25) foi realizado a separação materna e, em PN28, os animais foram separados de acordo com sexo, em caixas com no mínimo 2 e no máximo 5 animais, de forma a evitar estresse por isolamento. Foi realizado o controle da massa corporal, ingesta hídrica e consumo de ração ao longo do período experimental. Os animais foram identificados individualmente através de perfurações nas orelhas utilizando um tatuador, agulhas hipodérmicas BD descartáveis tamanho 0,45 × 13 mm (26G ½") e tinta para tatuagem animal (Animal Tatoo Ink Paste, Ketchum Manufacturing INC, Canadá) ou coloração no dorso utilizando violeta genciana.

3.2. Exposição à fumaça de cigarro

Os animais foram expostos à nicotina diariamente (durante o período de exposição de PN28 a PN45) em uma máquina de produção automática de fumaça de cigarro (Teague Enterprises, Davis, EUA) (grupo FUM). Inicialmente, os animais passaram por um período de habituação em PN28 e PN29, onde foram expostos por 2 e 4 h, respectivamente, nesta máquina. Após este período, de PN30 a PN45, o ciclo de exposição passou a ser de 8 h diárias. A exposição teve início às 9:00 h e foram utilizados os cigarros tipo 3R4F (contendo 0,73 mg de nicotina, dose intermediária; Kentucky Tobacco Research & Development Center - KTRDC, College of Agriculture, University of Kentucky).

Durante o ciclo de exposição, a máquina acende um cigarro a cada nove minutos, realizando uma aspiração a cada minuto, o equivalente a uma tragada (figura 2). O fumo resultante da exposição é a combinação de dois tipos de fumaça: 1) fumaça principal (do inglês, *mainstream*), resultante da fumaça inalada ou fumo ativo; 2) fumaça secundária (do inglês, *sidestream*) é resultado da queima e dissipação da fumaça ou fumo passivo. A fumaça de cigarro gerada pela queima do cigarro é sugada de forma contínua para uma câmara de mistura. Assim, é utilizada uma mistura de 11% de fumaça principal e 89% de fumaça secundária, de forma a simular o tabagismo ativo (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2010; 2015). A exposição à fumaça de cigarro foi realizada em um recinto adequado para realização do procedimento e com ciclo de claro/escuro idêntico ao biotério a fim de não causar discrepâncias ao ciclo circadiano dos animais. Todo o corpo do camundongo foi exposto a fumaça e, apesar disso, nenhuma animal foi a óbito devido a exposição. Após as 8 h de exposição, às 17:00 h, as gaiolas contendo os animais eram cobertas com tecido que bloqueia a passagem de luz e eram encaminhadas ao biotério. Desta forma, visamos com este padrão de exposição produzir níveis plasmáticos constantes de nicotina durante o dia.

Para o grupo de animais controle (grupo AR), foram adotados os mesmos procedimentos dos animais expostos à fumaça, com exceção de que apenas ar ambiente, não apresentando fumaça de cigarro, foi utilizado.

Figura 2 – Máquina de fumaça de cigarro Teague Enterprises.



Legenda: Fotografia em vista frontal da máquina, com o equipamento de geração da fumaça do cigarro na porção superior e as câmaras de exposição contendo gaiolas na porção inferior. Ao lado direito, indicado por uma seta branca a câmara sem fumaça onde são colocadas as gaiolas AR.

Fonte: A autora, 2022.

3.3. Tratamento com vareniclina

Como estratégia terapêutica antitabagista, foi utilizada a vareniclina (VAR), na dose de 0,5 mg/kg de PN41 a PN45 e, de PN46 a PN56, na dose de 1,0 mg/kg. Desta forma, o tratamento dos dias PN41 a PN45 se deu durante a exposição à fumaça de cigarro ou ao ar e, de PN46 a PN56, após a interrupção da exposição. A vareniclina (VAR), diluída em água, foi administrada via gavagem duas vezes ao dia nas doses e períodos citados. Um volume equivalente de água filtrada (AG) foi administrado, também por gavagem, no grupo que não foi tratado com vareniclina.

As doses foram selecionadas baseadas na posologia prescrita atualmente para tabagistas (PFIZER, 2021) e no metabolismo e disposição da vareniclina em camundongos, modelo animal utilizado no presente trabalho (OBACH *et al.*, 2006).

3.4. Controle de massa corporal, ingesta hídrica e consumo de ração

O controle da ingesta hídrica e consumo de ração foi realizado a partir de PN30 até PN46, em dias intercalados e aferida em dois turnos distintos: 1) após o tempo exposição à fumaça de cigarro ou ao ar (8 h por ciclo); 2) após o tempo de permanência no biotério (período não exposto, 16 h por ciclo). A massa corporal dos animais também foi aferida, seguindo os mesmos intervalos de tempo de aferição dos consumos hídrico e alimentar. Para avaliação da ingesta hídrica, bebedouros de polisulfona e bico de aço inox Alesco® foram utilizados com água e, a cada dia de avaliação, o volume ingerido (em mL) era aferido e as águas trocadas. Para avaliação do consumo de ração de PN30 a PN46, a quantidade consumida (em g) foi aferida e as rações substituídas. Após o término do período de exposição, de PN46 a PN56 (durante a vigência do tratamento) e de PN56 a PN86 (período de 30 dias que se seguiu ao encerramento do tratamento), a aferição de massa corporal, ingesta hídrica e consumo de ração se deu a cada 5 dias. A ingesta hídrica e o consumo de ração foram calculados como a diferença entre o ofertado e o não consumido.

3.5. Testes comportamentais

Os animais, entre os dias PN54 e PN55 (vigência do tratamento com vareniclina, VIG) ou entre os dias PN84 e PN85 (após 30 dias do encerramento do tratamento, RET), dependendo do grupo experimental em que se encontravam, foram submetidos aos testes de Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e de Campo Vazado (CV). A descrição detalhada dos testes e variáveis quantificadas será feita adiante. Em cada idade, os animais foram subdivididos em dois protocolos com sequências de teste diferentes. No primeiro protocolo (DIR), os animais foram inicialmente submetidos ao LCE e, após um dia, foram submetidos ao CV. No segundo

protocolo (INV), os animais foram submetidos inicialmente ao CV e, após um dia, foram submetidos ao LCE.

3.5.1. Labirinto em Cruz Elevado

Os animais foram testados no LCE (figura 3), que é considerado um dos testes mais utilizados em modelos animais para análise de comportamento tipo ansioso, sendo frequentemente utilizado para a avaliação do efeito de drogas ansiolíticas (WALF, FRYE, 2007). Antes do início de cada teste, as caixas de criação contendo os animais foram transportadas para a sala de teste, onde permaneceram por 10 min para ambientação. O equipamento tem formato de cruz e consiste em 2 braços abertos (BA: - sem paredes laterais), medindo 28,5 x 5,0 cm, e 2 braços fechados (BF:- com paredes laterais), medindo 28,5 x 5,0 x 14,0 cm, dispostos perpendicularmente, e uma área central (CN) entre os braços, elevados a 50 cm acima do chão. Os camundongos foram colocados individualmente no centro do equipamento, virados para um dos braços abertos, tendo 5 min para explorarem o labirinto. Após o término de cada teste, o LCE era higienizado utilizando folhas de papel toalha umedecidas com álcool 35% com o intuito retirar excretas e odores que pudessem interferir no comportamento dos demais animais a serem testados. Os testes foram realizados na fase escura do biotério, após as 14 h, em uma sala com proteção acústica e gravados por uma câmera de vídeo posicionada a 1 m acima do LCE.

Figura 3 – Labirinto em Cruz Elevado.



Legenda: Fotografia em vista superior oblíqua do teste de labirinto em cruz elevado com um camundongo Suíço posicionado em um dos braços abertos.

Fonte: A autora, 2022.

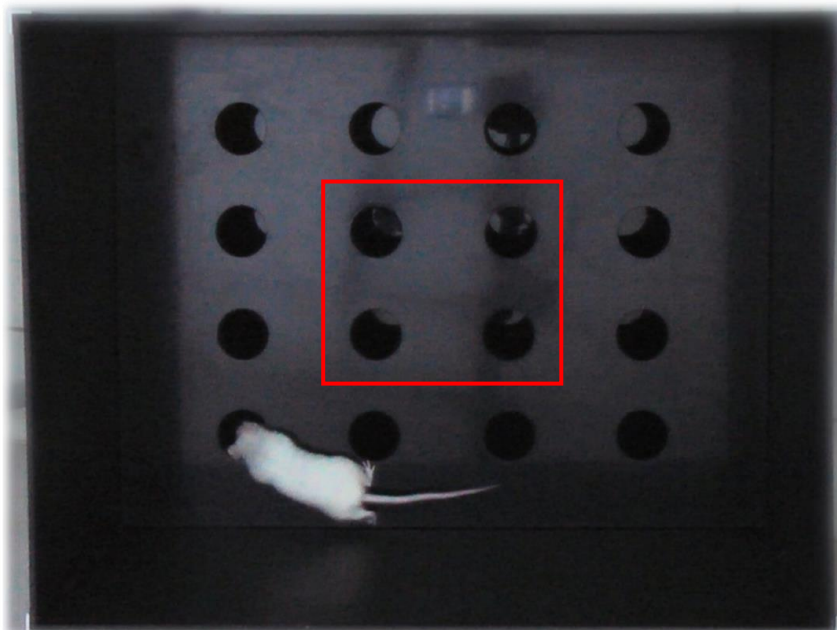
A partir das imagens gravadas, foram quantificados o tempo de permanência dos animais nos braços abertos, nos braços fechados e na área central, bem como o número de entradas em cada uma destas estruturas. Para tal quantificação foi utilizado o programa ACC PlusM 102 - Avaliação Computadorizada de Comportamento (desenvolvido no Laboratório de Neurofisiologia / DCF / IBRAG / UERJ). As seguintes variáveis principais (LAL, PRATHER, REZAZADEH, 1991, PELLOW *et al.*, 1985) foram utilizadas como medidas de comportamento associado à ansiedade: 1) percentual de tempo de permanência nos braços abertos – %Tempo BA: foi calculado a partir da razão entre o tempo gasto nos braços abertos (Tempo BA) e a soma dos tempos gastos nos braços abertos e fechados ($\%Tempo\ BA = \text{Tempo BA} / \text{Tempo BA} + \text{Tempo BF}$); 2) percentual de entradas nos braços abertos – %Entradas BA: foi calculado a partir da razão entre o número de entradas nos braços abertos e a soma do número de entradas nos braços abertos e braços fechados ($\%Entradas\ BA = \text{Entradas BA} / \text{Entradas BA} + \text{Entradas BF}$). As seguintes variáveis complementares foram avaliadas (RODGERS; DALVI, 1997): 1) Entradas nos braços fechados – Entradas BF: foram consideradas todas as vezes em que o animal colocava as quatro patas no braço fechado. A variável foi utilizada como uma medida de atividade locomotora; 2) percentual de tempo de permanência no centro do labirinto – %Tempo CN: corresponde ao tempo gasto na área central do labirinto dividido pelo tempo total. A variável foi utilizada como uma medida independente de tomada de decisão; 3) tempo de permanência nos braços abertos – Tempo BA: corresponde ao tempo total em que o animal mantém as quatro patas no braço aberto. A variável foi utilizada como uma medida complementar de comportamento associado à

ansiedade; 4) entradas nos braços abertos – Entradas BA: foram consideradas toda as vezes em que o animal colocava as quatro patas no braço aberto. A variável foi utilizada como uma medida complementar de comportamento associado à ansiedade. As variáveis etológicas utilizadas foram (RODGERS; DALVI, 1997): 1) número de elevações (atividade vertical), 2) o número de autolimpezas (tomada de decisão); 3) número de abaixamentos da cabeça, do inglês, *head dips* (avaliação de risco); 4) número de espreitamentos, do inglês, *stretchings* (avaliação de risco).

3.5.2. Campo Vazado

Os animais foram testados no CV (figura 4) para avaliar os níveis de busca por novos estímulos (“busca pela novidade”) (REDOLAT *et al.*, 2009; VAGLENOVA *et al.*, 2004) e ansiedade (TAKEDA, TSUJI, MATSUMIYA, 1998; ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2006). Antes do início de cada teste, as caixas de criação contendo os animais foram transportadas para a sala de teste, onde permaneceram por 10 minutos para ambientação. O equipamento de teste tem formato de uma arena retangular com (45 x 35 x 40 cm). A superfície apresenta 16 orifícios (3 cm de diâmetro), distribuídos de forma equidistante, onde o animal pode inserir a cabeça para explorar; esta superfície se encontra 10 cm acima do assoalho da caixa. Ao início do teste, o animal é posicionado voltado para um dos quatro cantos e pode explorar a área por 5 min. Após o término de cada teste, o CV era higienizado utilizando folhas de papel toalha umedecidas com álcool 35% com o intuito retirar excretas e odores que pudessem interferir no comportamento dos demais animais a serem testados. Os testes foram realizados na fase escura do biotério, após as 14 h, numa sala com proteção acústica e gravados por uma câmera de vídeo posicionada 2 m acima do CV. A avaliação comportamental foi realizada com base nos vídeos obtidos. As variáveis analisadas foram: 1) o número de orifícios explorados com a cabeça; 2) número de entradas no centro (CNT); 3) número de entradas nas quinas (QUI); 4) número de entradas nas bordas (BOR); 5) percentual de tempo de permanência no centro da arena - %Tempo CNT: corresponde ao tempo gasto na área central do campo dividido pelo tempo total; 6) tempo de permanência nas quinas; 7) tempo de permanência nas bordas. As variáveis etológicas utilizadas foram: 1) número de elevações (atividade vertical); 2) o número de autolimpezas (tomada de decisão); 3) número de espreitamentos (avaliação de risco).

Figura 4 – Campo Vazado.



Legenda: Fotografia em vista superior do teste de campo vazado com um camundongo Suíço explorando um dos orifícios. Em vermelho está indicado a área central (CNT) do teste.

Fonte: A autora, 2022.

Em PN56 ou em PN86, após a conclusão dos testes comportamentais, os animais foram eutanasiados por decapitação para extração dos cérebros para análise posterior, coleta de sangue e retirada de tecidos para análise endócrina e metabólica. Os tecidos coletados para a análise neuroquímica foram: cérebro, seccionados nas seguintes regiões: hipófise, hipotálamo, mesencéfalo, tronco encefálico, hipocampo, córtex. (direito e esquerdo) e córtex pré-frontal (direito e esquerdo). Para a análise endócrina e metabólica, os tecidos coletados foram: adrenais, tecidos adiposos branco (tecido adiposo subcutâneo, tecido adiposo retroperitoneal, tecido adiposo mesentérico e tecido adiposo gonadal), tecido adiposo marrom interescapular e soro.

3.6. Formação dos grupos experimentais

Para o estudo completo do impacto da exposição à fumaça do cigarro e subsequente procedimento de tratamento com vareniclina durante a adolescência foram necessários 16 grupos experimentais (tabela 1):

- 1) FUM/VAR/VIG/DIR;
- 2) FUM/VAR/VIG/INV;

- 3) FUM/AG/VIG/DIR;
- 4) FUM/AG/VIG/INV;
- 5) AR/VAR/VIG/DIR;
- 6) AR/VAR/VIG/INV;
- 7) AR/AG/VIG/DIR;
- 8) AR/AG/VIG/INV;
- 9) FUM/VAR/RET/DIR;
- 10) FUM/VAR/RET/INV;
- 11) FUM/AG/RET/DIR;
- 12) FUM/AG/RET/INV;
- 13) AR/VAR/RET/DIR;
- 14) AR/VAR/RET/INV;
- 15) AR/AG/RET/DIR;
- 16) AR/AG/RET/INV.

Tabela 1 – Detalhamento dos grupos experimentais utilizados.

GRUPOS EXPERIMENTAIS										
Período	Exposição	Tratamento	Sequência	#		Período	Exposição	Tratamento	Sequência	#
Vigência	Ar	Água	Direta	1		Retirada	Ar	Água	Direta	9
			Invertida	2					Invertida	10
		Vareniclina	Direta	3				Vareniclina	Direta	11
			Invertida	4					Invertida	12
	Fumaça	Água	Direta	5			Fumaça	Água	Direta	13
			Invertida	6					Invertida	14
		Vareniclina	Direta	7				Vareniclina	Direta	15
			Invertida	8					Invertida	16

3.7. Composição corporal – Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

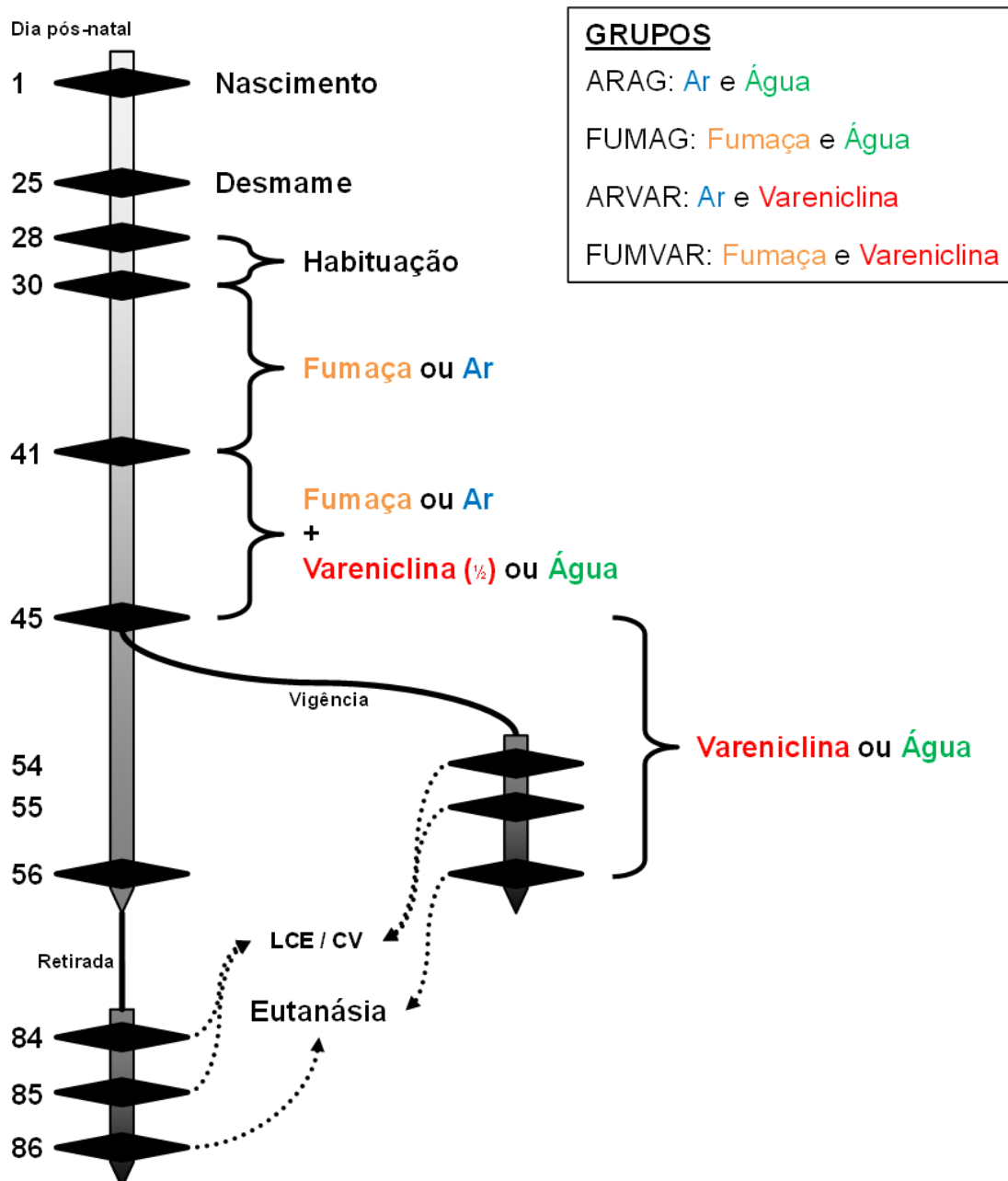
No dia da eutanásia (PN56 ou PN86), a massa total de gordura e a massa magra (ou massa livre de gordura) foram avaliadas utilizando ressonância magnética nuclear (RMN) para pequenos animais vivos, sem a utilização de anestesia prévia. Os camundongos foram analisados usando equipamentos (Whole Body Composition Analyzer, Bruker's Minispec LF90 TD-NMR, Rheinstetten, Alemanha). No dia do teste, uma verificação de controle de qualidade das tensões internas, temperatura, ímãs e parâmetros de RMN foi realizada usando um padrão fornecido pelo fabricante. Os camundongos foram colocados em um cilindro de

plástico transparente e imobilizados pela inserção de um êmbolo ajustado no cilindro. O tubo foi colocado na câmara de leitura do equipamento por aproximadamente 2 min para a leitura. A avaliação foi cega porque a operadora de RMN não conhecia o protocolo experimental. Os dados brutos foram expressos em massa gorda (g), massa magra (g) e fluido (g). Os dados corrigidos foram também expressos em % de gordura e % de massa magra.

3.8. **Desenho global do experimento**

O delineamento experimental é apresentado na figura 5.

Figura 5 – Delineamento experimental.



Legenda: Fumaça: exposição a fumaça gerada a partir de cigarros contendo 0,73 mg/cigarro (exposição por 8 h/dia); Ar: exposição ao ar filtrado; Vareniclina (1/2): tratamento com dose de 0,5 mg/kg; Vareniclina: tratamento com dose de 1,0 mg/kg; Água: tratamento com água. LCE: teste do Labirinto em Cruz Elevado; CV: teste do Campo Vazado. Vigência: animais testados durante o tratamento com vareniclina; Retirada: animais testados 30 dias após o fim do tratamento.

Fonte: A autora, 2022.

3.9. Análise estatística

A análise quantitativa foi iniciada com a verificação da normalidade das distribuições dos resultados pelo teste Kolmogorov–Smirnov para uma amostra (K–S). Os dados serão apresentados na forma de médias e erros padrão da média. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$. Para as interações entre fatores em que o valor de prova observado foi $p < 0,10$ (bicaudal), os fatores interativos foram separados e as ANOVAs repetidas para verificar se os efeitos eram mantidos (SNEDECOR; COCHRAN, 1967).

3.9.1. Análise da evolução da massa corporal, ingestão líquida e consumo de ração

Os dados de massa corporal foram obtidos para cada animal individualmente. Os dados de ingestão de água e de consumo de ração foram obtidos para cada caixa e corrigidos, conforme o caso, por número de animais na caixa e por número de dias entre medidas. Análises de variância globais com medidas repetidas (rANOVAs) foram utilizadas para analisar o ganho de massa corporal (em g), a ingestão de água (em mL) e o consumo de ração (em g) pelos animais durante todo o experimento. Para a análise de massa corporal, o fator medido repetidamente foi o DIA. Os fatores utilizados foram a EXPOSIÇÃO (fumaça e ar), o TRATAMENTO (vareniclina e água) e o SEXO (fêmeas e machos). Também para a análise dos dados de ingestão de água e de consumo de ração, o fator medido repetidamente foi o DIA. Porém, como tanto animais que foram tratados com vareniclina quanto com água habitavam a mesma gaiola, independentemente de esta ter sido colocada na câmara com ar ou com fumaça, os fatores utilizados foram a EXPOSIÇÃO (fumaça e ar) e o SEXO (fêmeas e machos). Para o estudo do padrão de alimentação no biotério ou na máquina, portanto durante o período total de exposição, o LOCAL (biotério e máquina) foi adicionalmente considerado como medida repetida (biotério e máquina) em uma análise específica para esta pergunta experimental. Para esta análise, os dados de consumo foram adicionalmente corrigidos pelo tamanho do turno, uma vez que os animais passavam 16 h no biotério e 8 h na máquina. ANOVAs de menor ordem e testes de Fisher para comparações par a par (*Fisher protected least square difference test* do original em inglês) foram utilizados como pós-testes.

3.9.2. Análise somática pela RMN

Os dados somáticos obtidos em PN56 ou PN86 foram analisados através de análises de variância univariadas (uANOVAs) com os seguintes fatores incorporados: EXPOSIÇÃO, TRATAMENTO e SEXO. ANOVAs de menor ordem e testes de Fisher para comparações par a par (*Fisher protected least square difference test* do original em inglês) foram utilizados como pós-testes.

3.9.3. Análise comportamental

Os dados comportamentais e os dados somáticos obtidos em PN56 ou PN86 foram analisados através de análises de variância univariadas (uANOVAs) com os seguintes fatores incorporados: EXPOSIÇÃO, TRATAMENTO, SEQUÊNCIA (DIR ou INV) e SEXO. ANOVAs de menor ordem e testes de Fisher para comparações par a par (*Fisher protected least square difference test* do original em inglês) foram utilizados como pós-testes.

Tendo em vista a multiplicidade de possibilidade de apresentação dos dados comportamentais, os resultados das ANOVAs de primeira ordem (que incluem todos os fatores analisados) serão apresentados na forma de tabelas. Quando o SEXO apresentou efeito ou interação significativa, as ANOVAs de segunda ordem foram realizadas separadas por sexo. Tendo em vista que a maior parte das variáveis estudadas foi afetada por este fator, os resultados obtidos em machos e fêmeas para cada uma das variáveis estudadas serão apresentados em tabelas, consolidados por tipo de exposição, por tipo de tratamento e por grupo. Tal como será mostrado adiante, o fator SEQUÊNCIA apresentou efeito ou interação significativa na maior parte das variáveis comportamentais estudadas. Assim, as ANOVAs de terceira ordem foram realizadas com a separação adicional por sequência. Neste sentido, decidimos apresentar todos os gráficos que documentam os resultados comportamentais deste estudo separados por sexo e sequência. Finalmente, como não há justificativa para tratar com vareniclina um adolescente que nunca tenha fumado, a utilização do grupo ARVAR no presente estudo visou permitir que os efeitos de EXPOSIÇÃO e TRATAMENTO pudessem ser estudados separadamente nas ANOVAs. Ainda com esta consideração em mente, somente as comparações par a par do grupo ARVAR com o grupo ARAG serão apresentadas.

4. RESULTADOS

4.1. Ingestão de água

A tabela 2 apresenta os dados estatísticos referentes às rANOVAs globais utilizadas para a análise dos dados de ingestão de líquido ao longo do período experimental. Após a separação das análises por sexo (M > F), identificou-se que tanto machos quanto fêmeas apresentaram variações significativas de ingestão ao longo de todo o experimento, com redução do volume ingerido a partir do encerramento do período de exposição, tal como indicado na figura 6. Também é evidenciado pela figura 6 que os animais expostos à fumaça do cigarro, independentemente do sexo, apresentaram uma ingestão menor de líquido do que os animais expostos ao ar durante o período de exposição. Após o encerramento deste período, não se observou mais diferenças entre o grupo exposto à fumaça e o exposto ao ar.

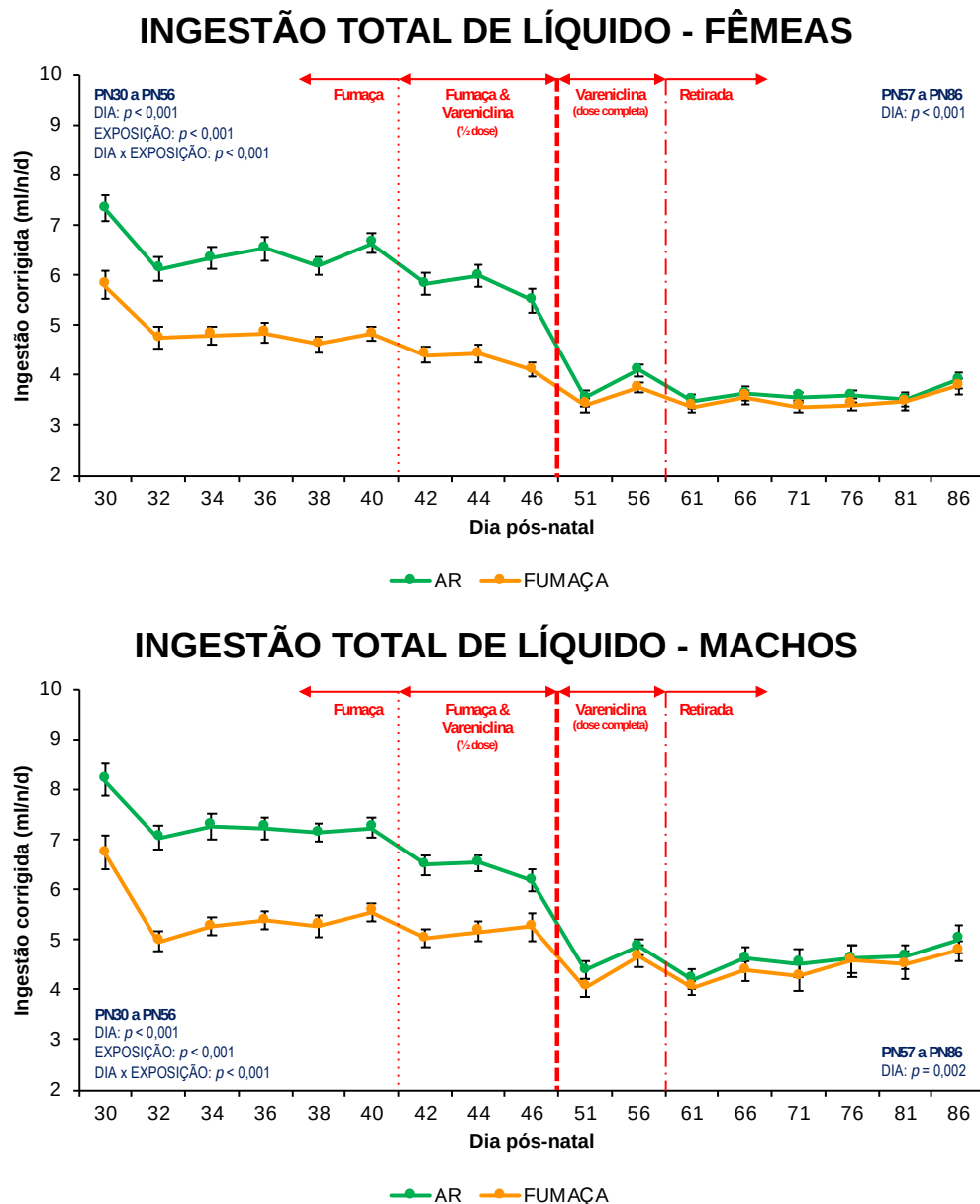
Quanto a análise dos dados referente à comparação entre a ingestão ocorrida durante o turno de exposição de 8 horas na máquina de fumaça e o turno de 16 horas de estadia no biotério (figura 7), demonstramos que os animais expostos à fumaça, independentemente do sexo, apresentaram uma redução no volume ingerido no turno de exposição quando comparado ao turno no biotério, diferença esta que não estava presente nos animais expostos ao ar no turno na máquina de fumaça.

Tabela 2 – Resultados das rANOVAs globais para ingestão de líquido.

PERÍODO					
Exposição			Retirada		
	<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>		<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>
Dia	116,8 (5,3 , 641,6)	< 0,001	Dia	9,6 (4,0 , 394,9)	< 0,001
Dia × Exposição	13,2 (5,3 , 641,6)	< 0,001	Sexo	30,7 (1 , 99)	< 0,001
Exposição	84,2 (1 , 121)	< 0,001			
Sexo	23,2 (1 , 121)	< 0,001			
Exposição: MÁQUINA × BIOTÉRIO					
	<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>		<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>
Local	198,1 (1 , 121)	< 0,001	Local × Dia	46,9 (4,9 , 591,5)	< 0,001
Local × Exposição	95,3 (1 , 121)	< 0,001	Local × Dia × Exposição	4,5 (4,9 , 591,5)	0,001
Local × Sexo	11,9 (1 , 121)	0,001	Exposição	97,3 (1 , 121)	< 0,001
Dia	40,8 (4,3 , 521,2)	< 0,001	Sexo	18,6 (1 , 121)	< 0,001
Dia × Exposição	2,0 (4,3 , 521,2)	0,095			

Fonte: A autora, 2022.

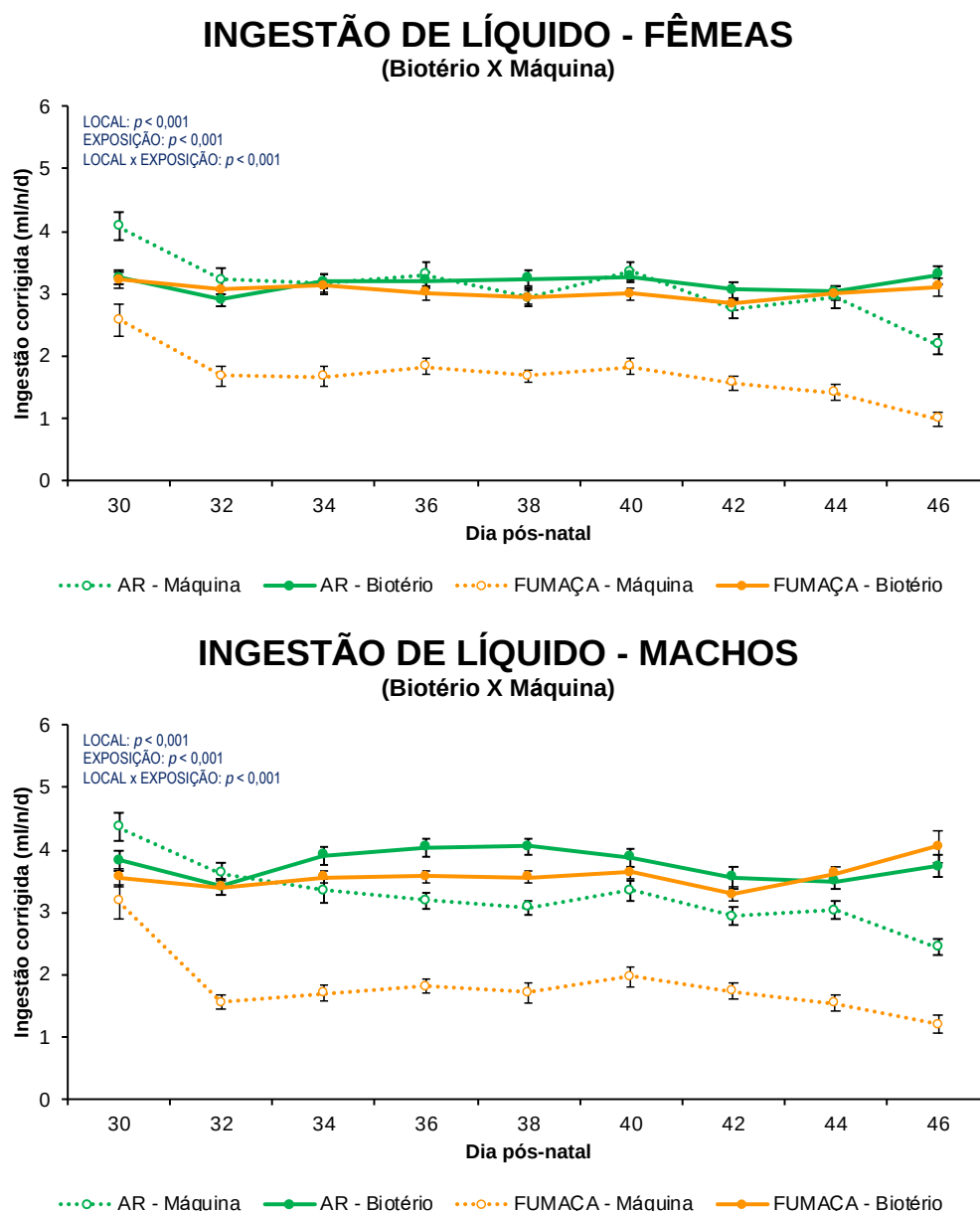
Figura 6 – Ingestão de líquidos pelos camundongos Suíços ao longo do experimento.



Legenda: Dados referentes à ingestão de água pelos camundongos Suíços (por sexo) ao longo do período experimental (corrigidos pelo número de animais na gaiola), segmentados por tipo de exposição (fumaça ou ar). AR: animais expostos ao ar; FUMAÇA: animais expostos à fumaça. Texto em vermelho - Fumaça: etapa que corresponde somente exposição à fumaça do cigarro; Fumaça & Vareniclina: etapa de exposição à fumaça e tratamento com vareniclina (1/2 dose); Vareniclina: etapa somente de tratamento com vareniclina; Retirada: etapa sem exposição ou tratamento. Valores são média $\pm$ EPM. Dados em azul correspondem aos efeitos e interações significativas observadas na rANOVA global.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 7 – Ingestão de líquidos pelos camundongos Suíços durante a exposição.



Legenda: Dados referentes à ingestão de líquido pelos camundongos Suíços (por sexo) ao longo do período de exposição à fumaça do cigarro (corrigidos por turno e número de animais na gaiola), segmentados por tipo de exposição (fumaça ou ar) e local de consumo (biotério e máquina). AR - Máquina: animais expostos ao ar com medida de ingestão durante o turno de exposição; AR - Biotério: animais expostos ao ar com medida de ingestão durante o turno no biotério; FUMAÇA - Máquina: animais expostos à fumaça com medida de ingestão durante o turno de exposição; FUMAÇA - Biotério: animais expostos à fumaça com medida de ingestão durante o turno no biotério. Valores são média $\pm$ EPM. Dados em azul correspondem aos efeitos e interações significativas observadas na rANOVA global.

Fonte: A autora, 2022.

4.2. Consumo de ração

A tabela 3 apresenta os dados estatísticos referentes às rANOVAs globais utilizadas para a análise dos dados de consumo de ração ao longo do período experimental. Após a separação das análises por sexo ($M > F$), identificou-se que, tal como ocorreu para a ingestão de líquido, tanto machos quanto fêmeas apresentaram variações significativas de consumo ao longo de todo o experimento, com redução da quantidade consumida a partir do encerramento do período de exposição, tal como indicado na figura 8. Também é evidenciado pela figura 8 que os animais expostos à fumaça do cigarro, independentemente do sexo, apresentaram um consumo menor de ração do que os animais expostos ao ar durante o período de exposição. Após o encerramento deste período, não se observou mais diferenças entre o grupo exposto à fumaça e o exposto ao ar.

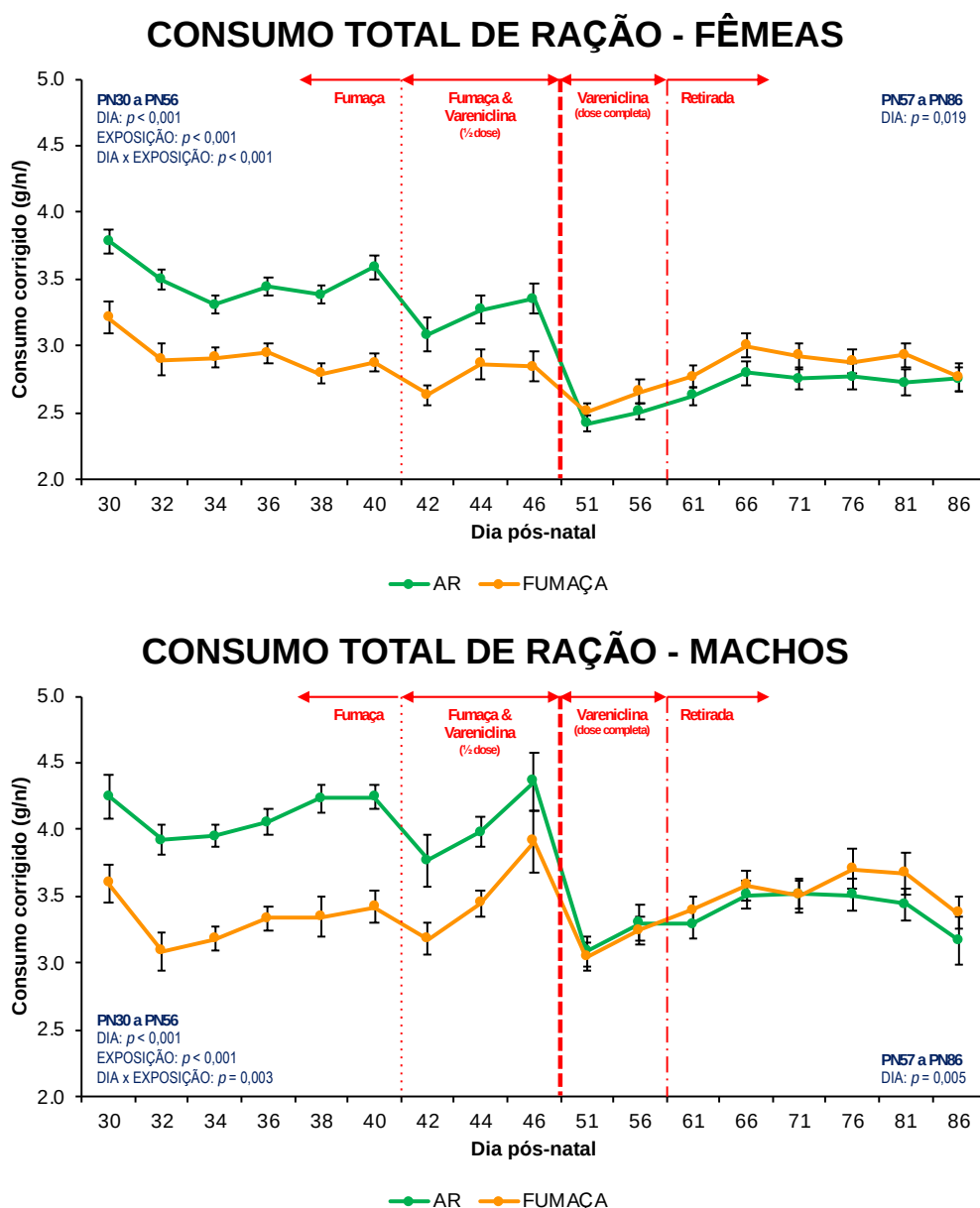
Quanto a análise dos dados referente à comparação entre o consumo ocorrido durante o turno de exposição de 8 horas na máquina de fumaça e o turno de 16 horas de estadia no biotério (figura 9), demonstramos que os animais expostos à fumaça, independentemente do sexo, apresentaram uma redução na quantidade de ração consumida no turno de exposição quando comparado ao turno no biotério, diferença esta que não estava presente nos animais expostos ao ar no turno na máquina de fumaça.

Tabela 3 – Resultados das rANOVAs globais para consumo de ração.

PERÍODO					
Exposição			Retirada		
	<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>		<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>
Dia	42,5 (5,1 , 606,0)	< 0,001	Dia	6,8 (3,7 , 356,5)	< 0,001
Dia × Exposição	9,9 (5,1 , 606,0)	< 0,001	Sexo	58,2 (1 , 97)	< 0,001
Dia × Sexo	4,8 (5,1 , 606,0)	< 0,001			
Exposição	39,1 (1 , 119)	< 0,001			
Sexo	59,8 (1 , 119)	< 0,001			
Exposição: MÁQUINA × BIOTÉRIO					
	<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>		<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>
Local	922,2 (1 , 121)	< 0,001	Local × Dia	12,2 (3,8 , 460,8)	< 0,001
Local × Exposição	80,9 (1 , 121)	< 0,001	Local × Dia × Exposição	3,3 (3,8 , 460,8)	0.012
Local × Sexo	10,6 (1 , 121)	0.001	Local × Dia × Sexo	3,8 (3,8 , 460,8)	0.006
Dia	12,3 (4,3 , 516,1)	< 0,001	Exposição	57,8 (1 , 121)	< 0,001
Dia × Sexo	5,1 (4,3 , 521,2)	< 0,001	Sexo	53,7 (1 , 121)	< 0,001

Fonte: A autora, 2022.

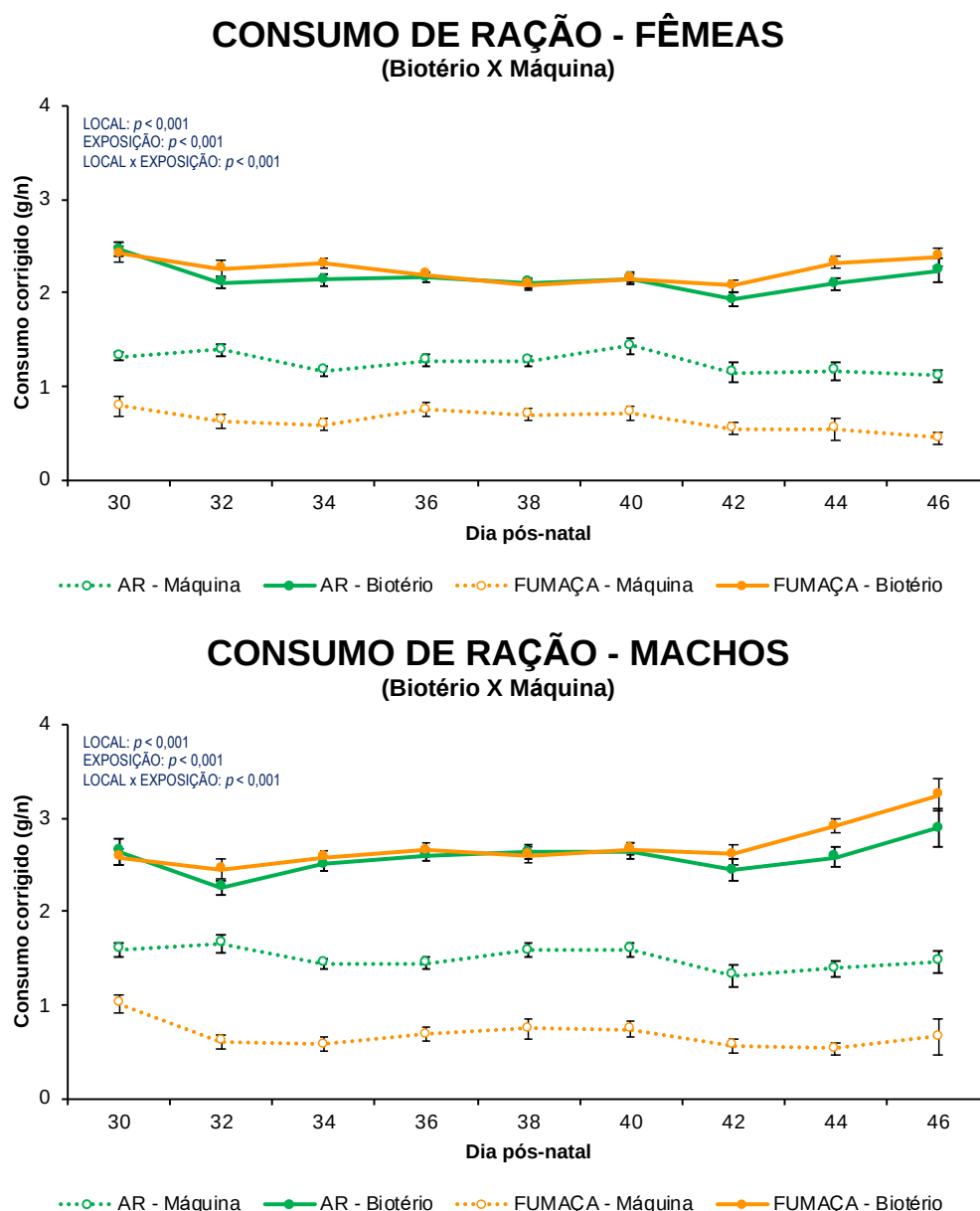
Figura 8 – Consumo global de ração pelos camundongos Suíços ao longo do experimento.



Legenda: Dados referentes consumo de ração pelos camundongos Suíços (por sexo) ao longo do período experimental (corrigidos pelo número de animais na gaiola), segmentados por tipo de exposição (fumaça ou ar). AR: animais expostos ao ar; FUMAÇA: animais expostos à fumaça. Texto em vermelho - Fumaça: etapa que corresponde somente exposição à fumaça do cigarro; Fumaça & Vareniclina: etapa de exposição à fumaça e tratamento com vareniclina (½ dose); Vareniclina: etapa somente de tratamento com vareniclina; Retirada: etapa sem exposição ou tratamento. Valores são média $\pm$ EPM. Dados em azul correspondem aos efeitos e interações significativas observadas na rANOVA global.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 9 – Consumo de ração pelos camundongos Suíços durante a exposição.



Legenda: Dados referentes ao consumo de ração pelos camundongos Suíços ao longo do período de exposição à fumaça do cigarro (corrigidos pelo número de animais na gaiola), segmentados por tipo de exposição (fumaça ou ar) e local de consumo (biotério e máquina). AR - Máquina: animais expostos ao ar com medida de consumo durante o turno de exposição; AR - Biotério: animais expostos ao ar com medida de consumo durante o turno no biotério; FUMAÇA - Máquina: animais expostos à fumaça com medida de consumo durante o turno de exposição; FUMAÇA - Biotério: animais expostos à fumaça com medida de consumo durante o turno no biotério. Valores são média $\pm$ EPM. Dados em azul correspondem aos efeitos e interações significativas observadas na rANOVA global.

Fonte: A autora, 2022.

4.3. Dados somáticos

4.3.1. Desenvolvimento da massa corporal

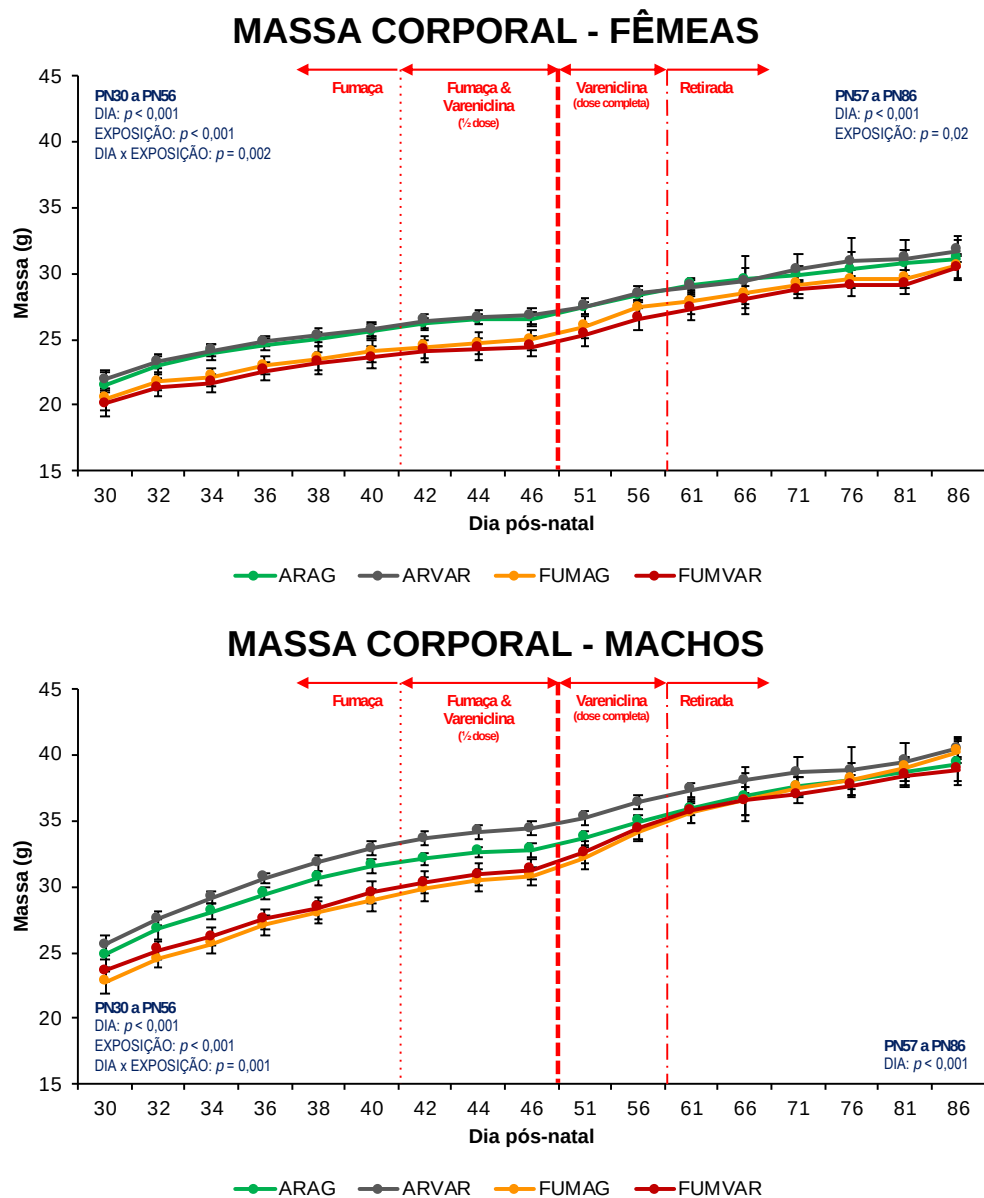
A tabela 4 apresenta os dados estatísticos referentes às rANOVAs globais utilizadas para a análise dos dados de massa corporal ao longo do período experimental. Após a separação das análises por sexo ($M > F$), identificou-se que tanto machos quanto fêmeas apresentaram um aumento constante de massa ao longo de todo o experimento, tal como indicado na figura 10. Também é evidenciado pela figura 10 que os animais expostos à fumaça do cigarro, independentemente do sexo, apresentaram uma massa corporal menor do que os animais expostos ao ar durante o período de exposição. Após o encerramento deste período, embora não se tenha mais observado, nos machos, diferenças entre o grupo exposto à fumaça e o exposto ao ar, nas fêmeas ainda foi possível identificar que a exposição à fumaça resultou em uma massa menor do que a exposição ao ar (figura 10).

Tabela 4 – Resultados das rANOVAs globais de massa corporal.

PERÍODO					
Exposição			Retirada		
	<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>		<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>
Dia	1790,3 (2,4 , 921,2)	< 0,001	Dia	229,4 (3,3 , 604,0)	< 0,001
Dia × Exposição	121,3 (2,4 , 921,2)	< 0,001	Dia × Sexo	6,2 (3,3 , 604,0)	< 0,001
Dia × Sexo	8,2 (2,4 , 921,2)	< 0,001	Dia × Sexo × Tratamento	3,0 (3,3 , 604,0)	0.025
Dia × Sexo × Exposição	2,4 (2,4 , 921,2)	0.08	Exposição	358,4 (1 , 185)	< 0,001
Exposição	305,8 (1 , 378)	< 0,001	Sexo	4,9 (1 , 185)	0.028
Sexo	45,2 (1 , 378)	< 0,001			

Fonte: A autora, 2022.

Figura 10 – Evolução da massa corporal dos camundongos Suíços ao longo do experimento.



Legenda: Dados referentes à evolução da massa corporal de camundongos Suíços (por sexo) ao longo do período experimental, segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar), tratamento (vareniclina e água). Texto em vermelho - Fumaça: etapa que corresponde somente exposição à fumaça do cigarro; Fumaça & Vareniclina: etapa de exposição à fumaça e tratamento com vareniclina (½ dose); Vareniclina: etapa somente de tratamento com vareniclina; Retirada: etapa sem exposição ou tratamento. ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. n = 24 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Dados em azul correspondem aos efeitos e interações significativas observadas na rANOVA global.

Fonte: A autora, 2022.

4.3.2. Dados da Ressonância Magnética Nuclear

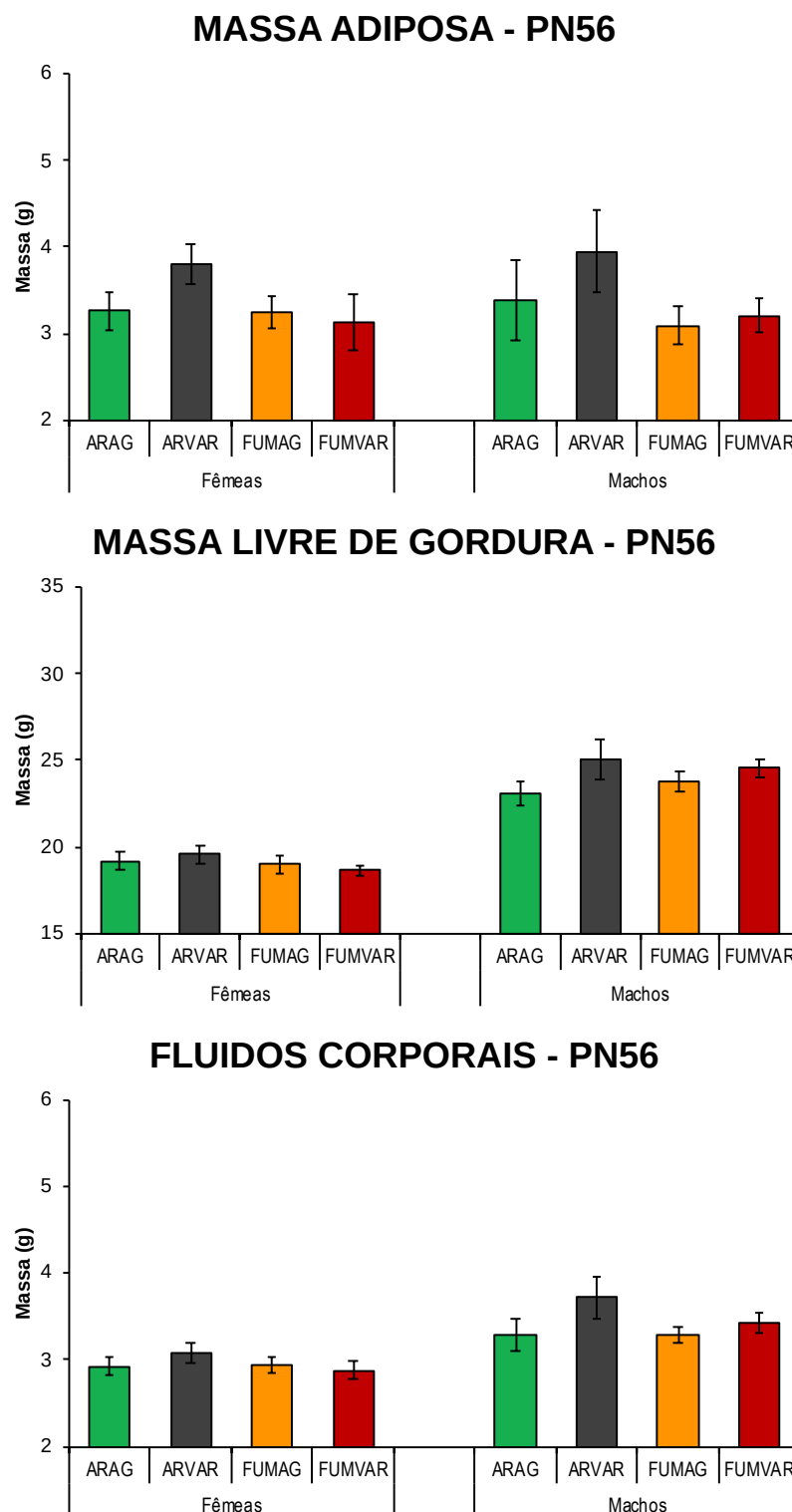
A tabela 5 apresenta os dados estatísticos referentes às uANOVAs globais utilizadas para a análise dos dados realizadas com o equipamento de ressonância magnética nuclear em PN56, final do período de tratamento com vareniclina, e em PN86, 30 dias após o encerramento do tratamento com este fármaco. Considerando-se os dados de massa adiposa de fêmeas e machos conjuntamente, verificou-se que, tanto em PN56 como em PN86, os animais expostos à fumaça do cigarro ($3,16 \pm 0,12$ g) apresentavam valores 11% menores do que os animais expostos ao ar ($3,54 \pm 0,16$ g). Após a separação por sexo (figuras 11 e 13), não se observaram efeitos significativos da exposição à fumaça ou do tratamento com vareniclina sobre a massa adiposa, massa livre de gordura, massa de fluidos corporais e % de gordura tanto em PN56 quanto em PN86. Por outro lado, para o dado de % massa livre de gordura em PN56 (figura 12) observou-se um aumento de 2% do valor nas fêmeas expostas à fumaça ($69,3 \pm 0,45$ %) quanto comparado às fêmeas expostas ao ar ($67,9 \pm 0,46$ %). A exposição ou tratamento não afetaram os parâmetros relativos em PN86 (figura 14).

Tabela 5 – Resultados das ANOVAs globais para os dados de RMN.

IDADE					
PN56			PN86		
	<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>		<i>F (g.l.)</i>	<i>p</i>
Massa adiposa					
Exposição	4,6 (1, 111)	0,034	Exposição	3,7 (1, 201)	0,055
Massa livre de gordura					
Sexo	144,1 (1, 111)	< 0,001	Sexo	287,8 (1, 201)	< 0,001
Tratamento	2,9 (1, 111)	0,091			
Fluidos corporais					
Sexo	26,1 (1, 111)	< 0,001	Sexo	95,9 (1, 201)	< 0,001
Tratamento	3,3 (1, 111)	0,073			
%Massa adiposa					
Sexo	16,4 (1, 111)	< 0,001	Sexo	40,3 (1, 201)	< 0,001
Exposição	3,7 (1, 111)	0,058	Exposição	3,6 (1, 201)	0,058
%Massa livre de gordura					
Sexo × Exposição × Tratamento	3,2 (1, 111)	0,078			

Fonte: A autora, 2022.

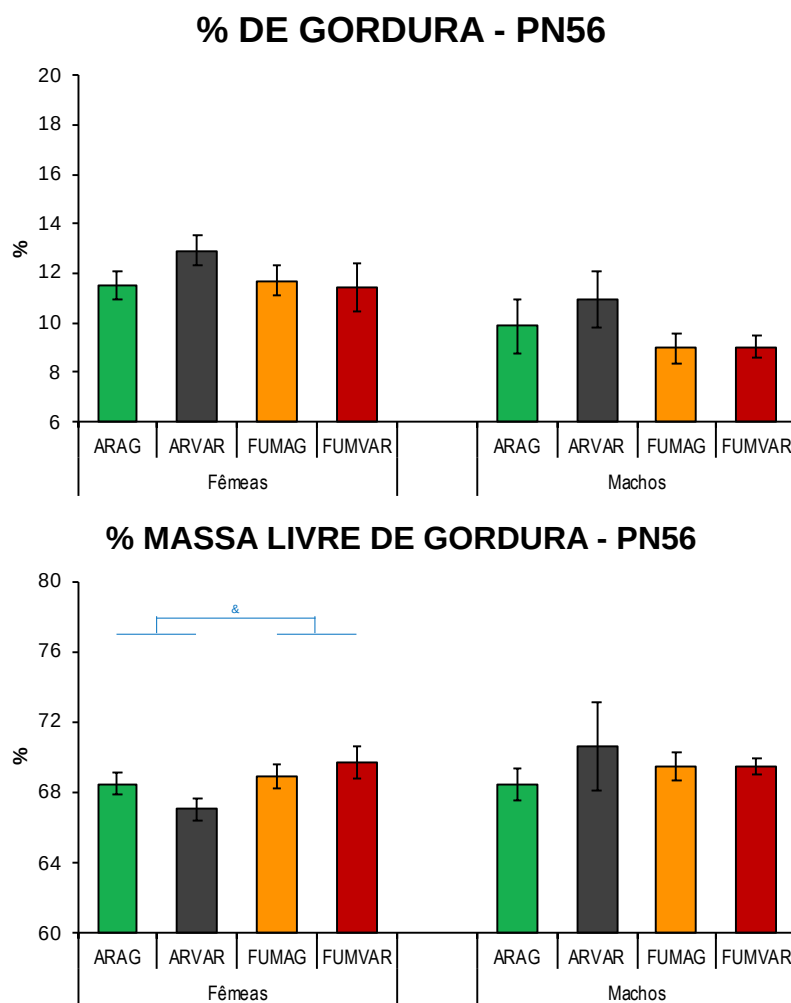
Figura 11 – Massa adiposa, massa livre de gordura e fluidos corporais dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados obtidos por ressonância magnética nuclear referentes à massa adiposa, massa livre de gordura e fluidos corporais de camundongos Suíços ao longo do período experimental, segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar), tratamento (vareniclina e água) e sexo. ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. n = 24 animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM.

Fonte: A autora, 2022.

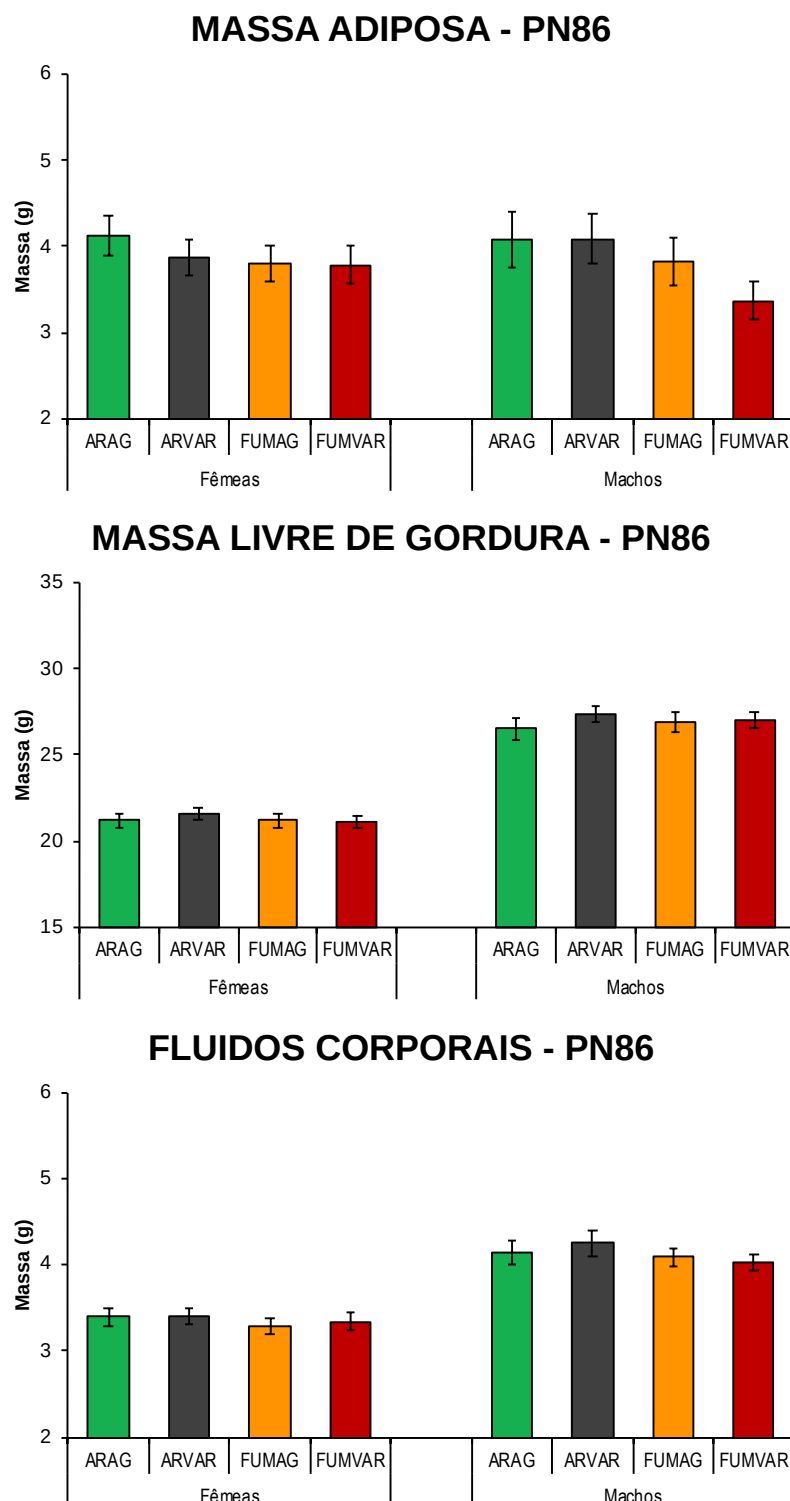
Figura 12 – Percentuais de gordura e de massa livre de gordura dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados obtidos por ressonância magnética nuclear referentes ao percentual de gordura e de massa livre de gordura de camundongos Suíços ao longo do período experimental, segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar), tratamento (vareniclina e água) e sexo. ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. $n = 24$ animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ Efeito de Exposição nas fêmeas.

Fonte: A autora, 2022.

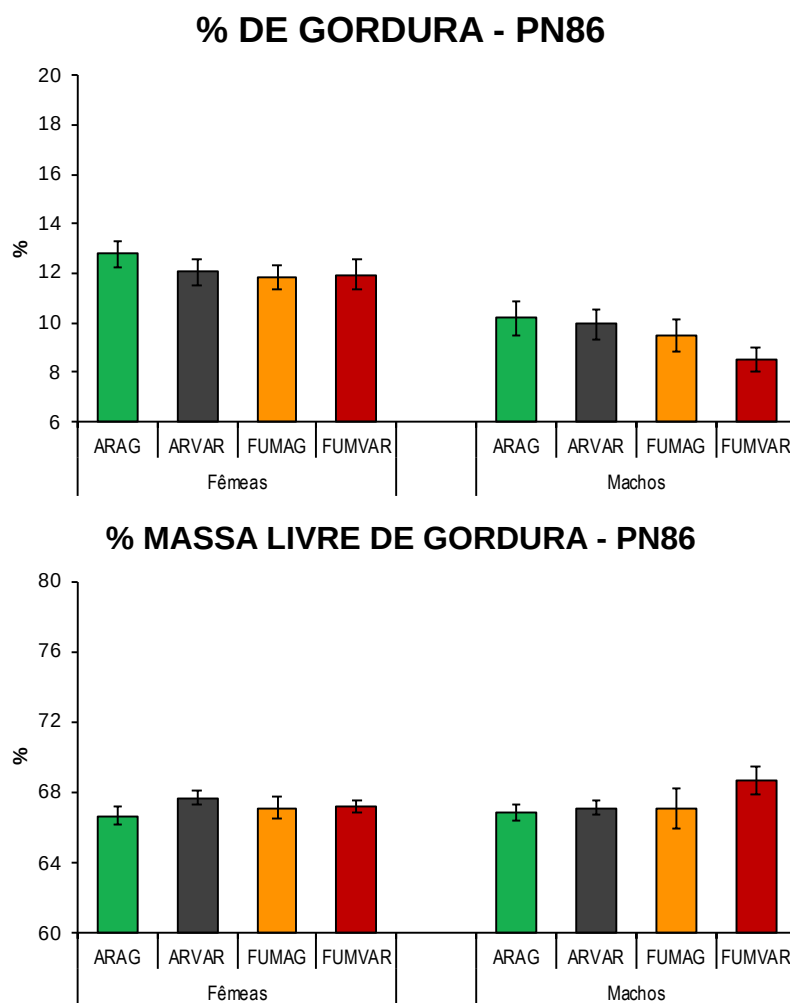
Figura 13 – Massa adiposa, massa livre de gordura e fluidos corporais dos camundongos Suíços no período de retirada (PN86).



Legenda: Dados obtidos por ressonância magnética nuclear referentes à massa adiposa, massa livre de gordura e fluidos corporais de camundongos Suíços ao longo do período experimental, segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar), tratamento (vareniclina e água) e sexo. ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. n = 24 animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 14 – Percentuais de gordura e de massa livre de gordura dos camundongos Suíços no período de retirada (PN86).



Legenda: Dados obtidos por ressonância magnética nuclear referentes ao percentual de gordura e de massa livre de gordura de camundongos Suíços ao longo do período experimental, segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar), tratamento (vareniclina e água) e sexo. ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. n = 24 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

4.4. **Análise comportamental**

4.4.1. PN56

4.4.1.1 Labirinto em Cruz Elevado

Os resultados das uANOVAs globais inicialmente utilizadas nas análises dos comportamentos apresentados pelos animais PN56 no LCE são apresentados na tabela 6.

Após a separação das análises por SEXO (ANOVAs de 2ª ordem, tabela 7), verificou-se que os machos expostos à fumaça apresentavam valores menores do que os expostos ao ar em todas as variáveis de comportamento associado à ansiedade (%Tempo BA, Tempo BA, %Entradas BA e Entradas BA; tabela 8). Não foi observado efeito da EXPOSIÇÃO nas fêmeas para estes parâmetros. As demais variáveis do LCE não foram afetadas pela EXPOSIÇÃO. Nenhuma das variáveis do LCE apresentou efeitos significativos do TRATAMENTO.

Tendo em vista os efeitos e interações com o fator SEQUÊNCIA, para as análises indicadas abaixo, os resultados das comparações das sequências direta (LCE seguido de CV) e indireta (CV seguindo de LCE) são apresentados em separado para cada sexo.

4.4.1.1.1 *Sequência Direta (primeiro teste da sequência)*

Nas fêmeas, a exposição à fumaça aumentou o número de Autolimpezas (figura 22). Nos machos, o tratamento com vareniclina reduziu os valores de %Tempo BA (figura 10).

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: %Tempo BA (figura 15), Tempo BA (figura 16), %Entradas BA (figura 17), Entradas BA (figura 18), %Tempo CN (figura 19), Entradas BF (figura 20), Elevações (figura 21), Espreitamentos (figura 23) e Abaixamentos (figura 24). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: Tempo BA (figura 16), %Entradas BA (figura 17), Entradas BA (figura 18), %Tempo CN (figura 19), Entradas BF

(figura 20), Elevações (figura 21), Autolimpezas (figura 22), Espreitamentos (figura 23) e Abaixamentos (figura 24).

4.4.1.1.2 Sequência Indireta (segundo teste da sequência)

Nas fêmeas, tanto as que foram expostas ao ar quanto as expostas à fumaça apresentaram reduções nas variáveis %Tempo BA (figura 15) e Tempo BA (figura 16). O tratamento com vareniclina reduziu os valores observados para as variáveis %Entradas BA (figura 17) e Abaixamentos (figura 24), enquanto aumentou os valores para a variável %Tempo CN (figura 19). A exposição à fumaça reduziu os valores da variável Entradas BA (figura 18). Nos machos, a exposição à fumaça reduziu os valores de %Tempo BA (figura 15), Tempo BA (figura 16), %Entradas BA (figura 17), Entradas BA (figura 18) e Abaixamentos (figura 24). Para a variável Entradas BF, o grupo FUMAG apresentou uma redução nos valores, quando comparados ao grupo ARAG, que foi revertido pelo tratamento, como indicado pelos resultados do grupo FUMVAR (figura 20).

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: Entradas BF (figura 20), Elevações (figura 21), Autolimpezas (figura 22) e Espreitamentos (figura 23). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: %Tempo CN (figura 19), Elevações (figura 21), Autolimpezas (figura 22) e Espreitamentos (figura 23).

Tabela 6 – Resultados das ANOVAs globais para os dados do LCE em PN56.

PN56 - LCE - ANOVAs globais					
	<i>F (g, l_i)</i>	<i>p</i>		<i>F (g, l_i)</i>	<i>p</i>
%Tempo BA			Tempo BA		
Sequência	10,7 (1, 142)	0,001	Sequência	11,9 (1, 142)	0,001
Exposição	4,6 (1, 142)	0,033	Exposição	6,4 (1, 142)	0,013
Sexo × Sequência	16,2 (1, 142)	< 0,001	Sexo × Sequência	12,5 (1, 142)	0,001
Sexo × Exposição	3,8 (1, 142)	0,052	Sexo × Exposição	3,2 (1, 142)	0,077
Sequência × Exposição	7,6 (1, 142)	0,007	Sequência × Exposição	4,9 (1, 142)	0,029
Sexo × Sequência × Tratamento	8,2 (1, 142)	0,005	Sexo × Sequência × Tratamento	7,7 (1, 142)	0,006
%Entradas BA			Entradas BA		
Sequência	15,8 (1, 142)	< 0,001	Sequência	22,4 (1, 142)	< 0,001
Sexo × Sequência	16,5 (1, 142)	< 0,001	Exposição	9,2 (1, 142)	0,003
Sexo × Exposição	8,8 (1, 142)	0,004	Sexo × Sequência	8,0 (1, 142)	0,005
Sexo × Sequência × Tratamento	7,6 (1, 142)	0,007	Sexo × Exposição	3,5 (1, 142)	0,065
			Sequência × Exposição	8,9 (1, 142)	0,003
			Sexo × Sequência × Tratamento	6,2 (1, 142)	0,014
%Tempo CN			Entradas BF		
Sequência	3,3 (1, 142)	0,071	Exposição	3,6 (1, 142)	0,060
Sexo × Tratamento	4,0 (1, 142)	0,047	Sexo × Exposição × Tratamento	4,2 (1, 142)	0,042
Sequência × Exposição × Tratamento	3,3 (1, 142)	0,073			
Elevações			Autolimpesas		
Sequência	3,4 (1, 142)	0,068	Exposição	5,2 (1, 142)	0,024
Sexo × Tratamento	3,1 (1, 142)	0,082	Sexo × Sequência	3,1 (1, 142)	0,081
Sequência × Exposição × Tratamento	3,0 (1, 142)	0,087	Sexo × Sequência × Exposição	3,0 (1, 142)	0,066
			Sexo × Sequência × Tratamento	5,4 (1, 142)	0,022
Espreitamentos			Abaixamentos		
			Sequência	25,0 (1, 142)	< 0,001
			Exposição	5,7 (1, 142)	0,019
			Sexo × Sequência	5,6 (1, 142)	0,019
			Sexo × Exposição	6,4 (1, 142)	0,013
			Sexo × Sequência × Tratamento	11,5 (1, 142)	0,001

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 7 – Resultados das ANOVAs de 2ª ordem para os dados do LCE em PN56.

PN56 - LCE - ANOVAs de segunda ordem					
	<i>F (g, l_i)</i>	<i>p</i>		<i>F (g, l_i)</i>	<i>p</i>
FÊMEAS					
%Tempo BA			Tempo BA		
Sequência × Exposição	6,3 (1, 70)	0,015	Sequência × Exposição	3,9 (1, 70)	0,052
Sequência × Tratamento	5,7 (1, 70)	0,019	Sequência × Tratamento	5,8 (1, 70)	0,019
%Entradas BA			Entradas BA		
Sequência × Exposição	6,8 (1, 70)	0,011	Sequência × Exposição	5,1 (1, 70)	0,027
Sequência × Tratamento	5,3 (1, 70)	0,024	Sequência × Tratamento	5,3 (1, 70)	0,025
%Tempo CN			Entradas BF		
Sequência	4,5 (1, 70)	0,037	Sequência	4,2 (1, 70)	0,045
Elevações			Autolimpesas		
			Sequência × Exposição	6,8 (1, 70)	0,011
Espreitamentos			Abaixamentos		
			Sequência	3,5 (1, 70)	0,065
			Sequência × Tratamento	3,1 (1, 70)	0,081
MACHOS					
%Tempo BA			Tempo BA		
Sequência	26,9 (1, 72)	< 0,001	Sequência	25,4 (1, 72)	< 0,001
Exposição	8,5 (1, 72)	0,005	Exposição	9,6 (1, 72)	0,003
%Entradas BA			Entradas BA		
Sequência	31,3 (1, 72)	< 0,001	Sequência	24,5 (1, 72)	< 0,001
Exposição	4,6 (1, 72)	0,035	Exposição	10,3 (1, 72)	0,002
			Sequência × Exposição	4,0 (1, 72)	0,048
%Tempo CN			Entradas BF		
			Exposição	2,9 (1, 72)	0,094
			Exposição × Tratamento	5,2 (1, 72)	0,025
Elevações			Autolimpesas		
Exposição × Tratamento	3,0 (1, 72)	0,085	Exposição	3,6 (1, 72)	0,060
			Sequência × Tratamento	4,1 (1, 72)	0,047
Espreitamentos			Abaixamentos		
			Sequência	26,8 (1, 72)	< 0,001
			Exposição	11,9 (1, 72)	0,001
			Sequência × Tratamento	9,1 (1, 72)	0,004

Fonte: A autora, 2022.

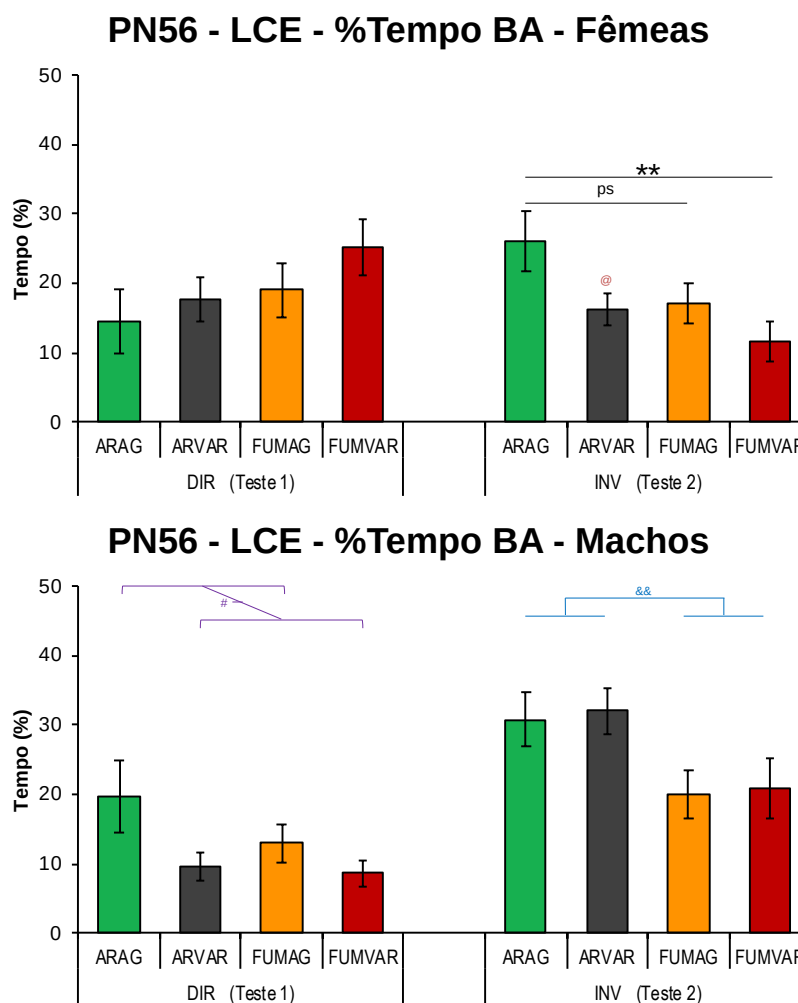
Tabela 8 – Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).

PN56 - LCE - Resultados separados por sexo						
	%TEMPO BA		TEMPO BA		%ENTRADAS BA	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Dados por Exposição						
AR	18,5 ± 1,9	23,0 ± 2,3	34,2 ± 4,1	42,0 ± 4,4	22,9 ± 1,8	27,2 ± 2,1
		**		**		*
FUMAÇA	18,3 ± 1,9	15,7 ± 1,8	31,8 ± 3,3	27,1 ± 3,4	23,1 ± 1,5	22,3 ± 1,9
Dados por Tratamento						
ÁGUA	19,0 ± 2,0	21,1 ± 2,2	34,4 ± 4,0	37,6 ± 4,4	23,5 ± 1,8	25,2 ± 2,0
VARENICLINA	17,7 ± 1,7	17,8 ± 2,1	31,5 ± 3,4	32,0 ± 3,8	22,5 ± 1,6	24,4 ± 2,0
Dados por Grupo						
ARVAR	17,0 ± 1,9	20,8 ± 3,2	30,3 ± 3,9	36,5 ± 5,4	22,0 ± 1,6	26,7 ± 2,7
ARAG ^(u)	19,9 ± 3,4	25,0 ± 3,4	38,0 ± 7,3	47,3 ± 6,9	23,9 ± 3,3	27,6 ± 3,1
FUMAG ^(a)	18,1 ± 2,4	16,7 ± 2,3 *	30,9 ± 3,9	26,8 ± 4,2 *	23,2 ± 1,6	22,5 ± 2,5
FUMVAR	18,4 ± 2,9	14,8 ± 2,7 *	32,7 ± 5,5	27,4 ± 5,4 *	23,1 ± 2,7	22,1 ± 2,9
	ENTRADAS BA		%TEMPO CN		ENTRADAS BF	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Dados por Exposição						
AR	4,4 ± 0,4	5,6 ± 0,6	40,6 ± 1,4	41,5 ± 1,0	13,9 ± 0,4	14,0 ± 0,4
		**				
FUMAÇA	4,0 ± 0,3	3,7 ± 0,4	42,0 ± 1,5	43,7 ± 1,4	13,2 ± 0,5	13,0 ± 0,4
Dados por Tratamento						
ÁGUA	4,3 ± 0,4	4,8 ± 0,6	39,8 ± 1,3	43,6 ± 1,2	13,5 ± 0,5	13,4 ± 0,4
VARENICLINA	4,0 ± 0,3	4,5 ± 0,5	42,8 ± 1,5	41,6 ± 1,2	13,5 ± 0,5	13,7 ± 0,5
Dados por Grupo						
ARVAR	4,1 ± 0,4	5,2 ± 0,7	42,1 ± 1,7	41,2 ± 1,3	14,1 ± 0,6	13,6 ± 0,6
ARAG ^(u)	4,6 ± 0,8	6,0 ± 0,9	39,0 ± 2,2	41,8 ± 1,4	13,6 ± 0,6	14,5 ± 0,6
FUMAG ^(a)	4,0 ± 0,4	3,5 ± 0,4 **	40,5 ± 1,4	45,6 ± 1,9	13,5 ± 0,8	12,1 ± 0,5 *
FUMVAR	4,0 ± 0,5	3,8 ± 0,6 *	43,6 ± 2,6	42,0 ± 2,1	12,9 ± 0,7	13,9 ± 0,7 ^a
	ELEVAÇÕES		AUTOLIMPEZAS		ESPREITAMENTOS	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Dados por Exposição						
AR	12,0 ± 0,8	13,0 ± 0,8	3,5 ± 0,2	3,5 ± 0,3	33,9 ± 1,6	35,0 ± 1,3
FUMAÇA	11,6 ± 0,8	12,3 ± 0,6	3,9 ± 0,2	4,3 ± 0,3	37,6 ± 1,6	35,9 ± 1,6
Dados por Tratamento						
ÁGUA	12,3 ± 0,8	11,9 ± 0,8	3,7 ± 0,2	4,0 ± 0,3	36,1 ± 1,7	37,1 ± 1,4
VARENICLINA	11,2 ± 0,8	13,4 ± 0,7	3,7 ± 0,2	3,9 ± 0,3	35,5 ± 1,6	33,9 ± 1,4
Dados por Grupo						
ARVAR	11,9 ± 1,1	12,9 ± 1,2	3,4 ± 0,3	3,7 ± 0,4	34,1 ± 2,2	33,6 ± 2,0
ARAG ^(u)	12,1 ± 1,2	13,1 ± 1,2	3,6 ± 0,3	3,4 ± 0,4	33,7 ± 2,4	36,4 ± 1,7
FUMAG ^(a)	12,6 ± 1,0	10,6 ± 0,9	3,8 ± 0,3	4,6 ± 0,5	38,4 ± 2,4	37,8 ± 2,4
FUMVAR	10,6 ± 1,2	13,9 ± 0,7	4,1 ± 0,4	4,1 ± 0,5	36,8 ± 2,3	34,2 ± 2,1
ABAIXAMENTOS						
	Fêmeas	Machos				
Dados por Exposição						
AR	8,4 ± 0,3	9,5 ± 0,5				
FUMAÇA	8,5 ± 0,4	7,7 ± 0,4				
Dados por Tratamento						
ÁGUA	8,8 ± 0,5	8,6 ± 0,4				
VARENICLINA	8,0 ± 0,3	8,7 ± 0,6				
Dados por Grupo						
ARVAR	8,1 ± 0,4	9,7 ± 0,9				
ARAG ^(u)	8,7 ± 0,5	9,3 ± 0,5				
FUMAG ^(a)	9,0 ± 0,8	7,7 ± 0,5 *				
FUMVAR	8,0 ± 0,4	7,7 ± 0,6 *				

Legenda: ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. ^a, ^a $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Fonte: A autora, 2022.

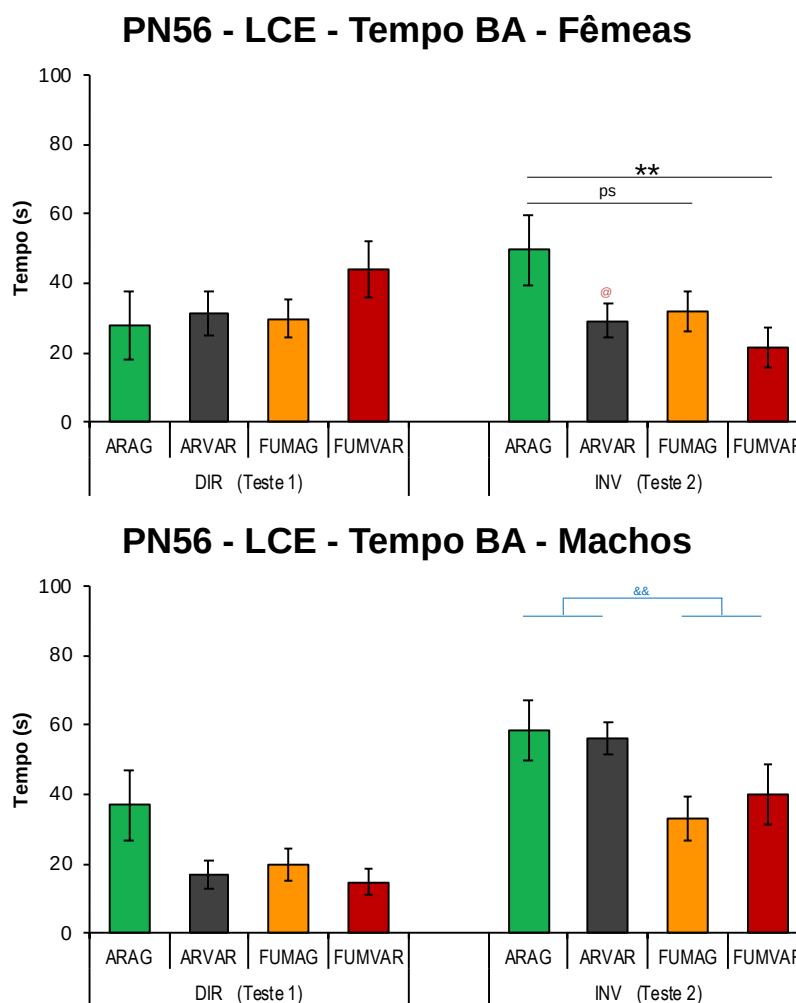
Figura 15 – Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM. Efeito de Exposição: && $p < 0,01$. Efeito de Tratamento: # $p < 0,05$. Comparações par a par: ^{ps}0,10 $> p > 0,05$, ** $p < 0,01$. @ $p < 0,05$ ARAG vs. ARVAR.

Fonte: A autora, 2022.

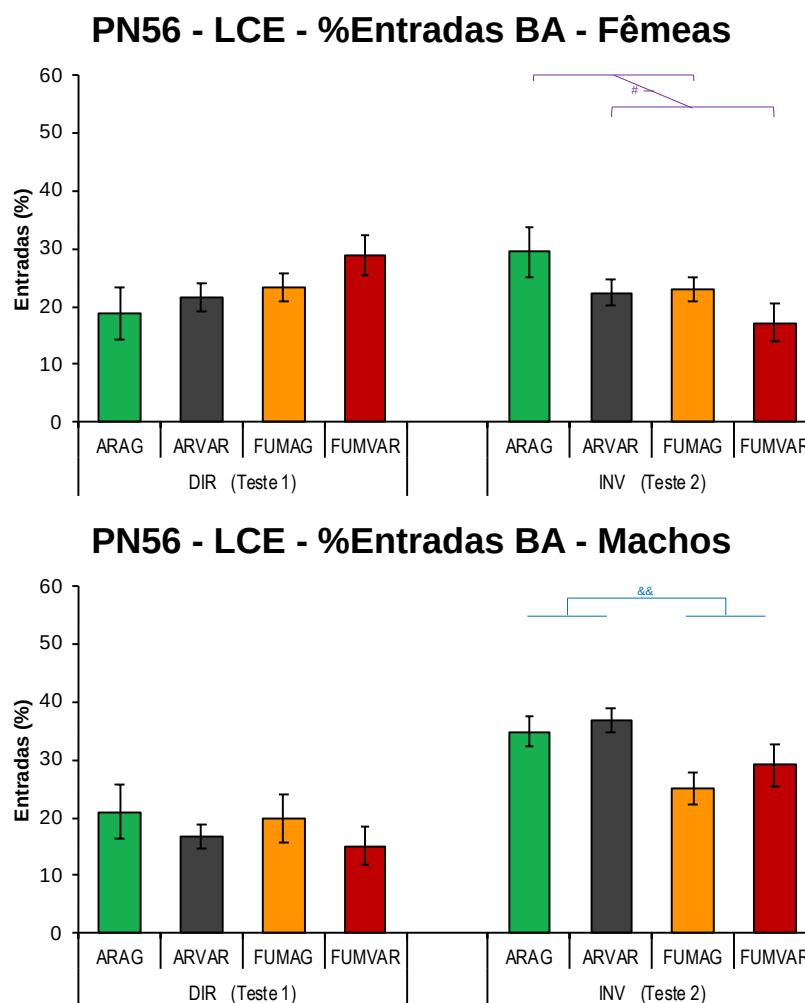
Figura 16 – Dados referentes à variável Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: && $p < 0,01$. Comparações par a par: ^{ps} $0,10 > p > 0,05$, ^{**} $p < 0,01$. [@] $p < 0,05$ ARAG vs. ARVAR.

Fonte: A autora, 2022.

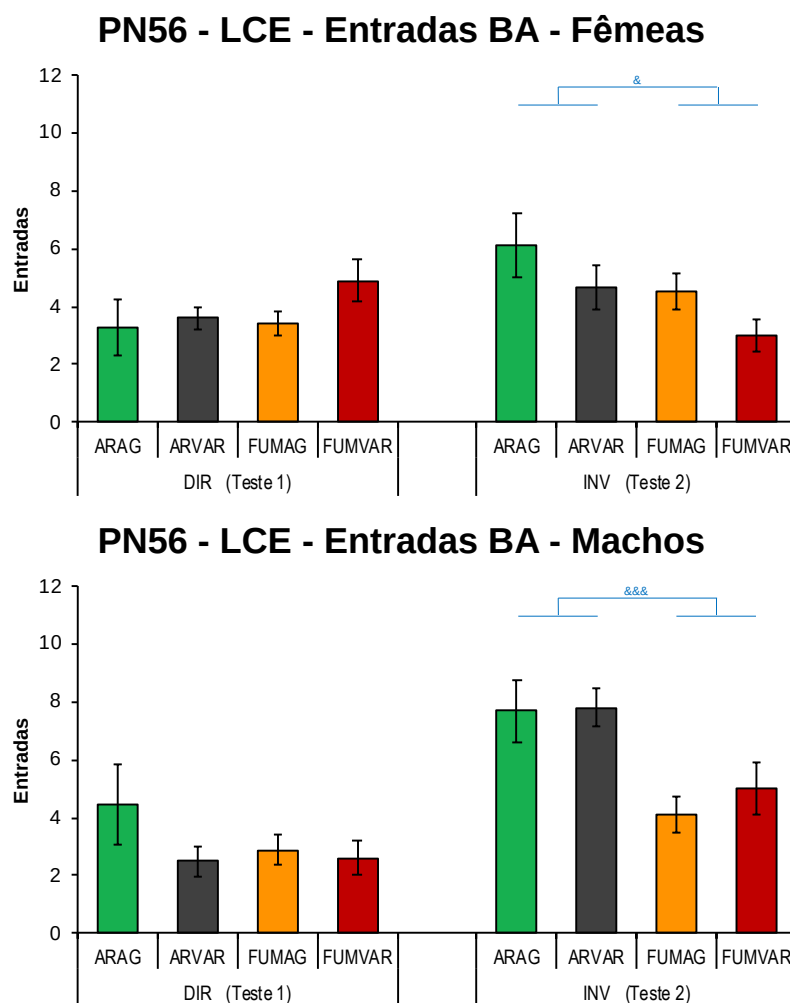
Figura 17 – Dados referentes à variável %Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável %Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: &&p < 0,01. Efeito de Tratamento: #p < 0,05.

Fonte: A autora, 2022.

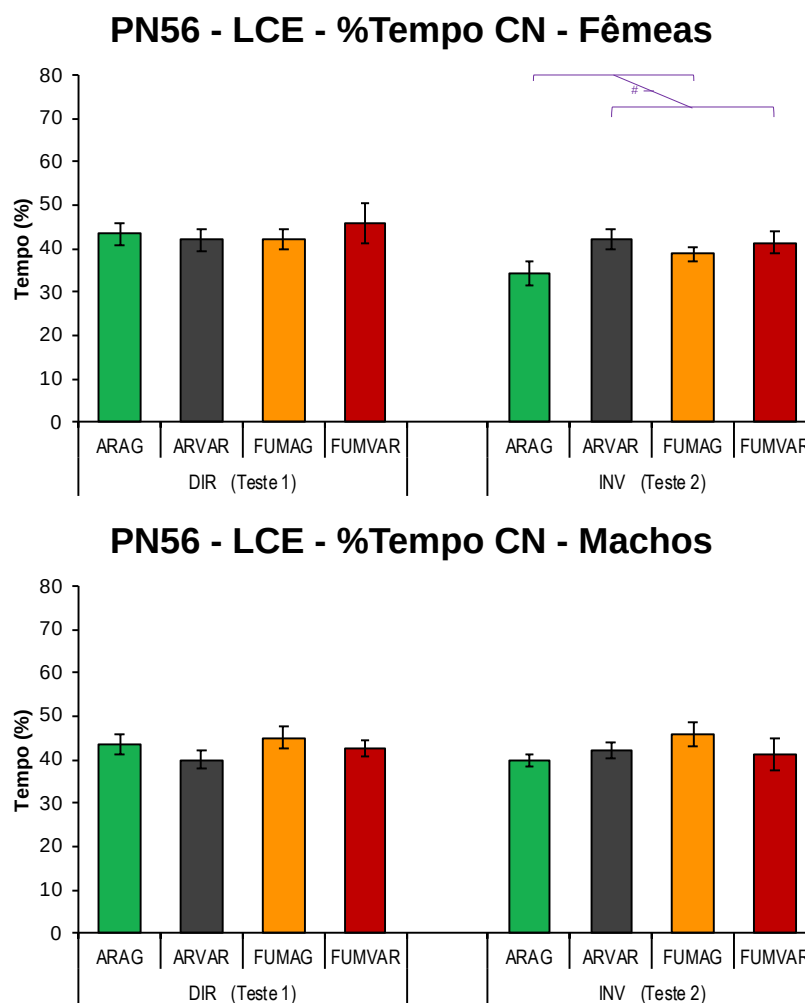
Figura 18— Dados referentes à variável Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: $^*p < 0,05$, $^{***}p < 0,001$.

Fonte: A autora, 2022.

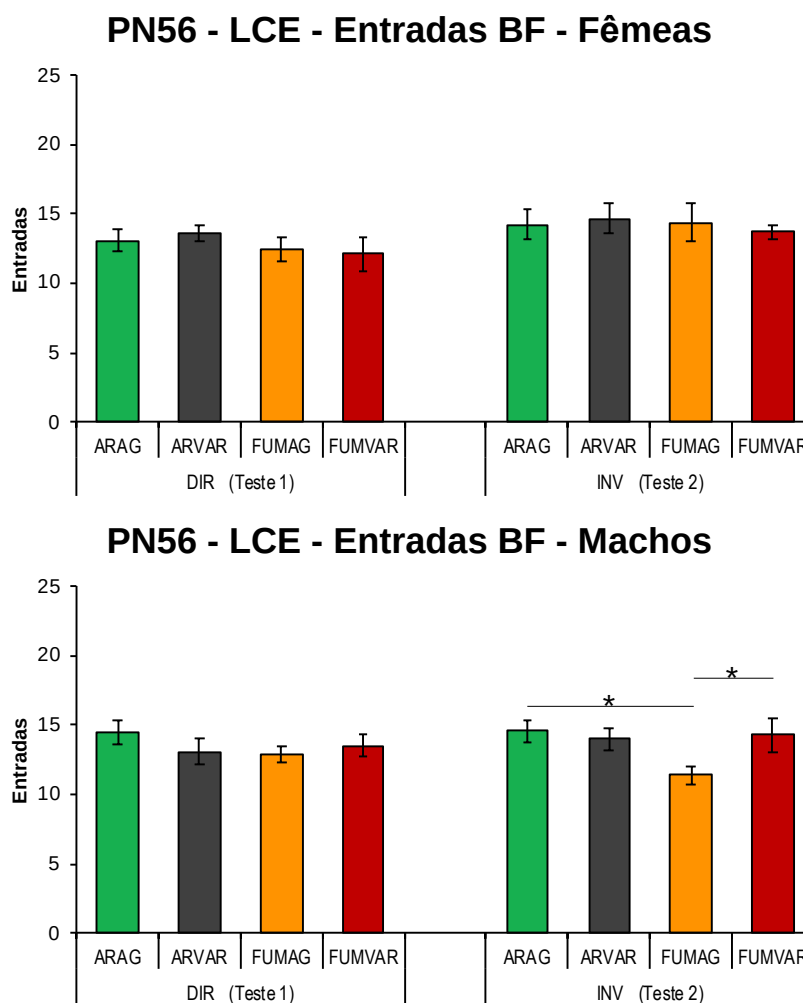
Figura 19— Dados referentes à variável %Tempo CN no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo CN no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Tratamento: $^{\#}p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

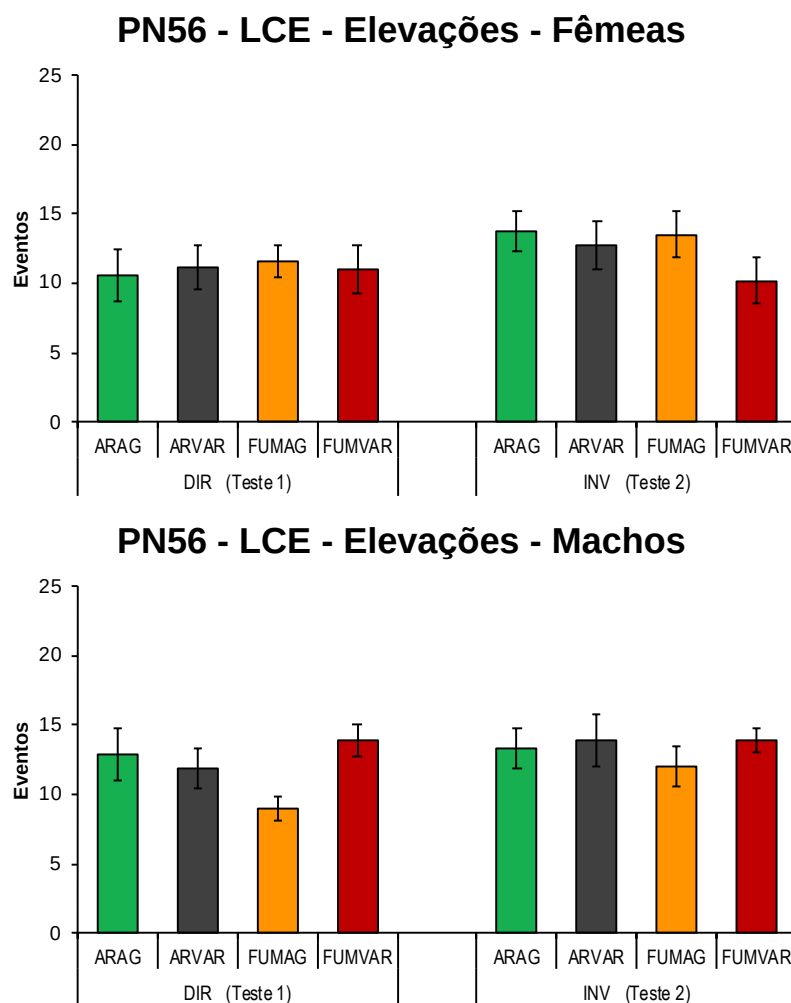
Figura 20 – Dados referentes à variável Entradas BF no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Comparações par a par: * $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

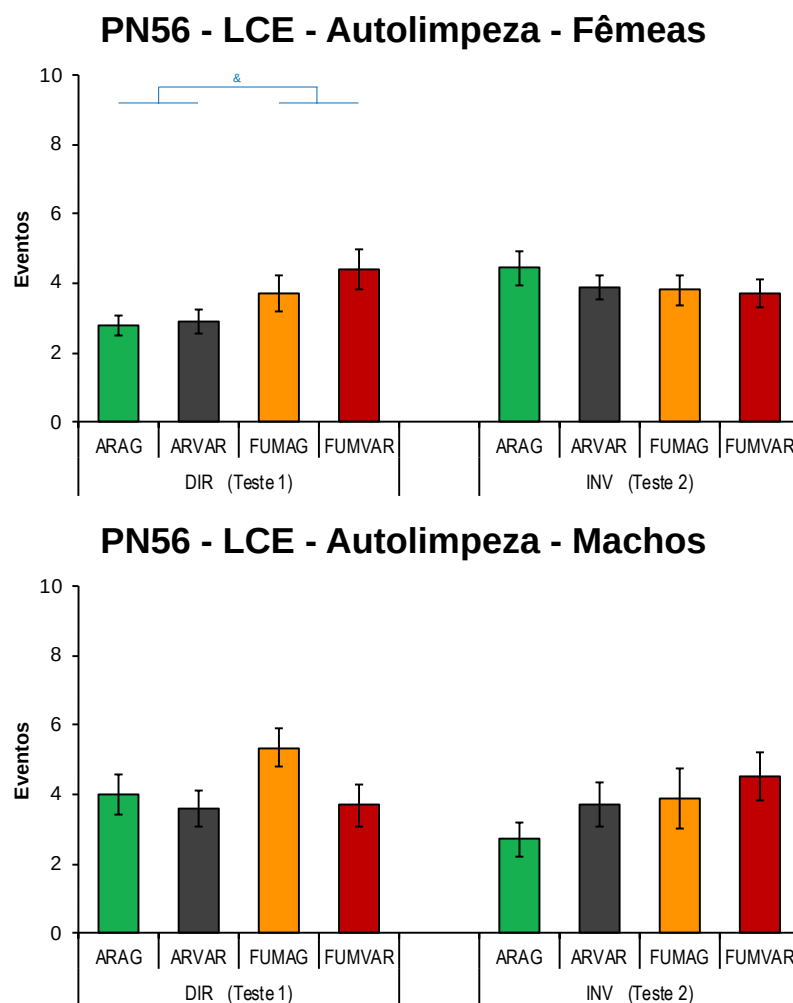
Figura 21 – Dados referentes à variável Elevações no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Elevações no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

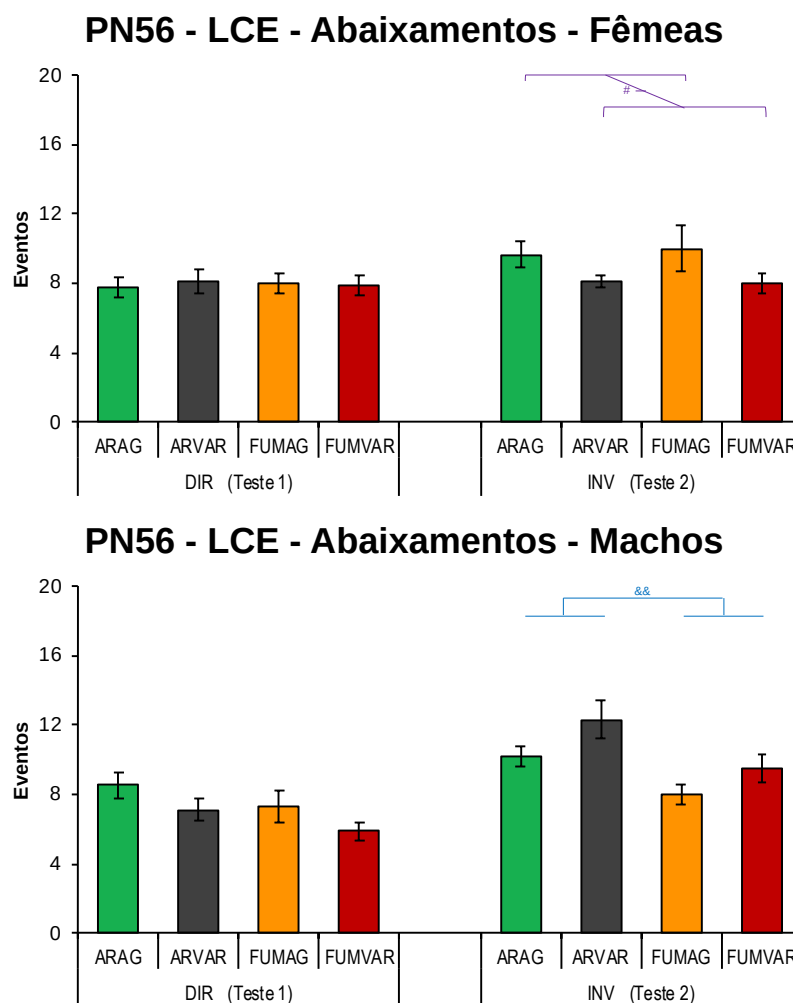
Figura 22 – Dados referentes à variável Autolimpeza no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Autolimpeza no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: * $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

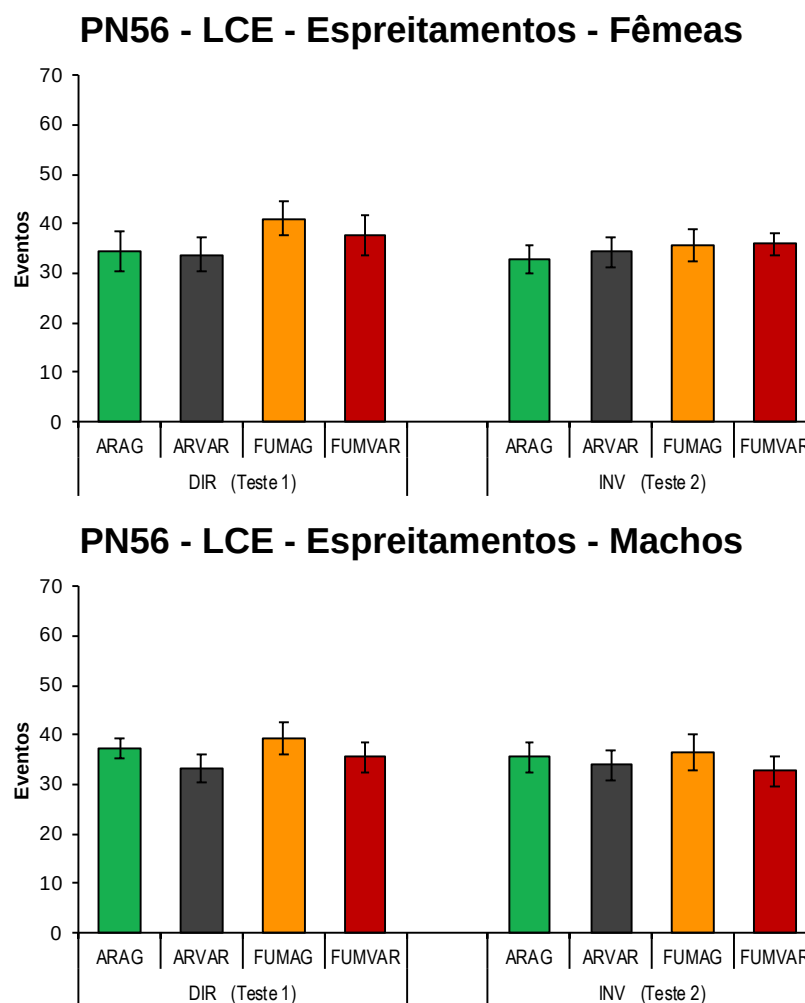
Figura 23 – Dados referentes à variável Abaixamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Abaixamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. $n = 12$ animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM. Efeito de Exposição: $\&\&p < 0,01$. Efeito de Tratamento: $\#p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 24 – Dados referentes à variável Espreitamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Espreitamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

4.4.1.2 Campo Vazado

Os resultados das uANOVAs globais inicialmente utilizadas nas análises dos comportamentos apresentados pelos animais PN56 no CV são apresentados na tabela 9.

Após a separação das análises por SEXO (ANOVAs de 2ª ordem, tabela 10), verificou-se que as fêmeas expostas à fumaça apresentavam valores menores do que as expostas ao ar para o comportamento associado à busca por novidade (Exploração, tabela 11). Não foi observado efeito da EXPOSIÇÃO nos machos para esta variável. As demais variáveis do CV não foram afetadas pela EXPOSIÇÃO. Nenhuma das variáveis do CV apresentaram efeitos significativos do TRATAMENTO.

Tendo em vista os efeitos e interações com o fator SEQUÊNCIA, para as análises indicadas abaixo, os resultados das comparações das sequências direta (LCE seguido de CV) e indireta (CV seguindo de LCE) são apresentados em separado.

4.4.1.2.1 *Sequência Direta (segundo teste da sequência)*

Nas fêmeas, para as variáveis %Exploração CNT (figura 26), Exploração CNT (figura 27) e %Locomoção CNT (figura 29), o grupo FUMAG apresentou uma redução nos valores, quando comparados ao grupo ARAG, que foi revertido pelo tratamento, como indicado pelos resultados do grupo FUMVAR. Para a variável etológica Autolimpezas, o tratamento com vareniclina reduziu o número de eventos observados (figura 33).

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: Exploração (figura 25), Locomoção (figura 28), Locomoção CNT (figura 30), Tempo CNT (figura 31), Elevações (figura 32) e Espreitamentos (figura 34). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: Exploração (figura 25), %Exploração CNT (figura 26), Exploração CNT (figura 27), Locomoção (figura 28), %Locomoção CNT (figura 29), Locomoção CNT (figura 30), Tempo CNT (figura 31), Elevações (figura 32), Autolimpezas (figura 33) e Espreitamentos (figura 34).

4.4.1.2.2 Sequência Indireta (primeiro teste da sequência)

Nas fêmeas, a exposição à fumaça do cigarro aumentou o valor da variável Tempo CNT (figura 31). Nos machos, a exposição à fumaça reduziu o número de orifícios explorados (Exploração, figura 25).

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: Exploração (figura 25), %Exploração CNT (figura 26), Exploração CNT (figura 27), Locomoção (figura 28), %Locomoção CNT (figura 29), Locomoção CNT (figura 30), Elevações (figura 32), Autolimpezas (figura 33) e Espreitamentos (figura 34). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: %Exploração CNT (figura 26), Exploração CNT (figura 27), Locomoção (figura 28), %Locomoção CNT (figura 29), Locomoção CNT (figura 30), Tempo CNT (figura 31), Elevações (figura 32), Autolimpezas (figura 33) e Espreitamentos (figura 34).

Tabela 9 – Resultados das ANOVAs globais para os dados do CV em PN56.

PN56 - CV - ANOVAs globais				
	<i>F (g,l)</i>	<i>p</i>		<i>F (g,l)</i> <i>p</i>
Exploração			%Exploração CNT	
Sexo	3,3 (1, 142)	0,071	Sequência	11,9 (1, 142) < 0,001
Sequência	12,3 (1, 142)	0,001	Sexo × Sequência × Exposição	6,4 (1, 142) 0,015
Exposição	10,6 (1, 142)	0,001	Sexo × Sequência × Tratamento	12,5 (1, 142) 0,065
Sexo × Sequência × Exposição	4,0 (1, 142)	0,048		
Exploração CNT			Locomoção	
Sexo × Sequência × Exposição	6,3 (1, 142)	0,013	Sequência	22,4 (1, 142) < 0,001
			Exposição	5,1 (1, 142) 0,025
			Exposição × Tratamento	3,3 (1, 142) 0,073
%Entradas CNT			Entradas CNT	
Sequência	34,7 (1, 142)	< 0,001	Sexo × Sequência	3,9 (1, 142) 0,051
			Sexo × Sequência × Exposição	4,1 (1, 142) 0,045
Tempo CNT			Elevações	
Sequência	16,8 (1, 142)	< 0,001	Sequência × Exposição	5,4 (1, 142) 0,021
Sexo × Sequência × Exposição	6,1 (1, 142)	0,015	Sequência × Tratamento	3,8 (1, 142) 0,054
Autolimpeza			Espreitamentos	
Sequência × Exposição	3,8 (1, 142)	0,052	Sequência	10,8 (1, 142) 0,001
Sexo × Sequência × EXPO × TTO	3,0 (1, 142)	0,084	Sequência × Exposição	7,4 (1, 142) 0,007

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 10 – Resultados das ANOVAs de 2ª ordem para os dados do CV em PN56.

PN56 - CV - ANOVAs de segunda ordem					
	<i>F</i> (<i>g</i> , <i>l</i> , <i>r</i>)	<i>p</i>		<i>F</i> (<i>g</i> , <i>l</i> , <i>r</i>)	<i>p</i>
FÊMEAS					
Exploração			%Exploração CNT		
Sequência	8,7 (1, 70)	0,004	Sequência	13,6 (1, 70)	< 0,001
Exposição	5,8 (1, 70)	0,019	Sequência × Exposição	6,9 (1, 70)	0,010
			Sequência × Tratamento	4,2 (1, 70)	0,044
Exploração CNT			Locomoção		
Sequência × Exposição	3,7 (1, 70)	0,058			
Sequência × Tratamento	3,4 (1, 70)	0,068			
%Entradas CNT			Entradas CNT		
			Exposição × Tratamento	3,4 (1, 70)	0,069
Tempo CNT			Elevações		
Sequência	10,0 (1, 70)	0,002			
Sequência × Exposição	7,6 (1, 70)	0,007			
Autolimpeza			Espreitamentos		
Sequência × Tratamento	4,2 (1, 70)	0,043			
MACHOS					
Exploração			%Exploração CNT		
Sequência	4,1 (1, 72)	0,047	Sequência	7,0 (1, 72)	0,009
Exposição	4,8 (1, 72)	0,031			
Sequência × Exposição	4,8 (1, 72)	0,032			
Sequência × Exposição × Tratamento	2,8 (1, 72)	0,099			
Exploração CNT			Locomoção		
%Entradas CNT			Entradas CNT		
			Sequência	4,5 (1, 72)	0,038
			Sequência × Exposição	3,8 (1, 72)	0,059
Tempo CNT			Elevações		
Sequência	7,5 (1, 72)	0,008			
Autolimpeza			Espreitamentos		
Sequência × Exposição	4,7 (1, 72)	0,033			

Fonte: A autora, 2022.

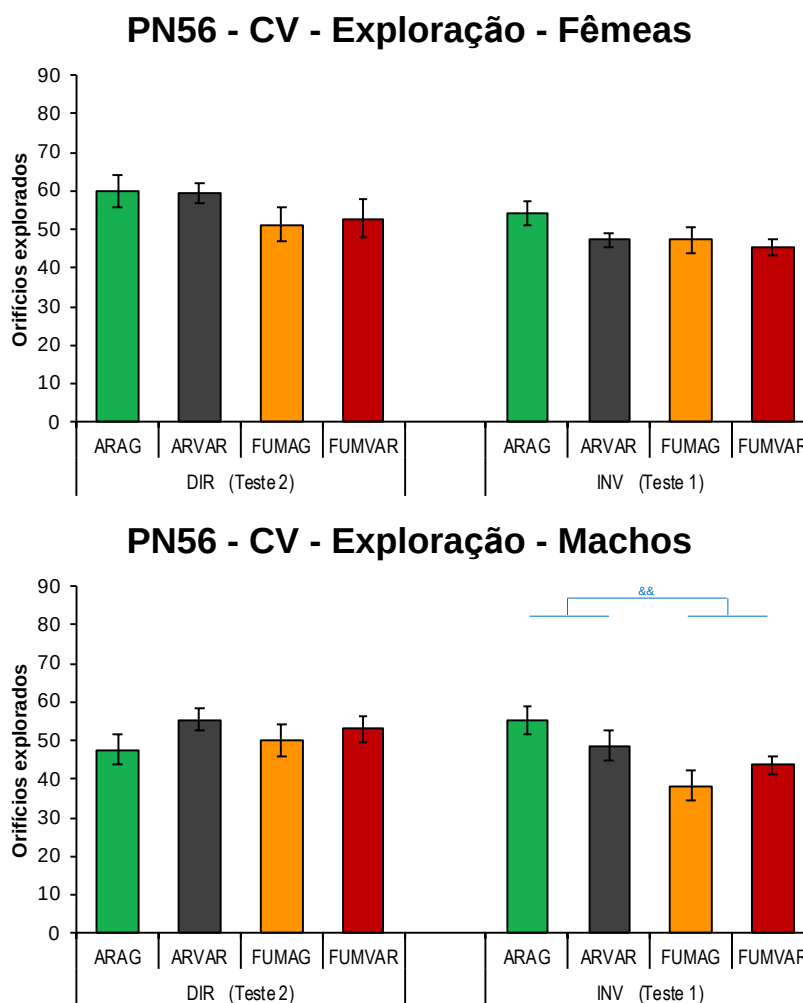
Tabela 11 – Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).

PN56 - CV - Resultados separados por sexo						
	EXPLORAÇÃO		%EXPLORAÇÃO CNT		EXPLORAÇÃO CNT	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Dados por Exposição						
AR	55,4 ± 1,7	51,6 ± 1,8	16,9 ± 0,9	16,0 ± 1,1	9,2 ± 0,7	8,4 ± 0,7
	*	*				
FUMAÇA	49,2 ± 1,9	46,1 ± 1,9	16,4 ± 1,2	16,3 ± 1,3	8,1 ± 0,7	7,7 ± 0,7
Dados por Tratamento						
ÁGUA	53,2 ± 2,0	47,8 ± 2,1	16,0 ± 1,2	16,9 ± 1,2	8,4 ± 0,7	8,4 ± 0,7
VARENICLINA	51,3 ± 1,8	50,2 ± 1,7	17,3 ± 1,0	15,4 ± 1,2	8,8 ± 0,6	7,8 ± 0,7
Dados por Grupo						
ARVAR	53,6 ± 2,1	52,0 ± 2,5	16,6 ± 1,2	15,7 ± 1,6	8,7 ± 0,7	8,2 ± 1,1
ARAG ^(w)	57,3 ± 2,6	51,3 ± 2,7	17,3 ± 1,5	16,3 ± 1,6	9,6 ± 1,1	8,6 ± 0,9
FUMAG ^(a)	49,3 ± 2,8	43,8 ± 3,1	14,9 ± 1,9	17,6 ± 1,9	7,3 ± 0,9	8,1 ± 1,0
FUMVAR	49,2 ± 2,8	48,3 ± 2,3	17,9 ± 1,6	15,1 ± 1,8	9,0 ± 0,9	7,3 ± 0,9
	LOCOMOÇÃO		%LOCOMOÇÃO CNT		LOCOMOÇÃO CNT	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Dados por Exposição						
AR	63,9 ± 3,3	57,1 ± 3,1	14,1 ± 1,0	14,0 ± 1,0	8,9 ± 0,8	8,1 ± 0,6
FUMAÇA	54,5 ± 3,7	52,0 ± 2,8	14,2 ± 1,1	14,7 ± 1,3	7,6 ± 0,6	7,4 ± 0,6
Dados por Tratamento						
ÁGUA	59,4 ± 3,7	55,4 ± 3,3	14,2 ± 1,1	15,0 ± 1,2	8,6 ± 0,7	7,9 ± 0,6
VARENICLINA	58,7 ± 3,5	53,8 ± 2,7	14,1 ± 1,0	13,7 ± 1,1	7,8 ± 0,6	7,6 ± 0,7
Dados por Grupo						
ARVAR	62,9 ± 4,3	51,4 ± 4,1 *	13,0 ± 1,2	13,8 ± 1,5	7,6 ± 0,9	7,8 ± 1,0
ARAG ^(w)	64,8 ± 5,1	62,5 ± 4,4	15,2 ± 1,4	14,2 ± 1,4	10,2 ± 1,1	8,3 ± 0,8
FUMAG ^(a)	54,3 ± 5,2	47,5 ± 4,3 *	13,3 ± 1,6	15,8 ± 1,9	7,2 ± 0,8	7,4 ± 0,8
FUMVAR	54,7 ± 5,3	56,2 ± 3,5	15,2 ± 1,4	13,6 ± 1,7	8,0 ± 0,9	7,4 ± 0,9
	TEMPO CNT		ELEVAÇÕES		AUTOLIMPEZAS	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Dados por Exposição						
AR	34,0 ± 2,3	31,7 ± 2,8	6,1 ± 0,6	5,3 ± 0,5	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1
FUMAÇA	35,5 ± 3,2	36,3 ± 3,6	5,6 ± 0,8	4,6 ± 0,5	1,3 ± 0,1	1,6 ± 0,2
Dados por Tratamento						
ÁGUA	34,4 ± 2,7	35,3 ± 3,2	6,3 ± 0,9	5,2 ± 0,5	1,5 ± 0,2	1,8 ± 0,2
VARENICLINA	35,2 ± 2,9	32,6 ± 3,3	5,3 ± 0,5	4,7 ± 0,5	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1
Dados por Grupo						
ARVAR	31,5 ± 3,3	30,6 ± 3,8	5,4 ± 0,6	4,7 ± 0,8	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,2
ARAG ^(w)	36,5 ± 3,2	32,7 ± 4,2	6,8 ± 1,1	6,0 ± 0,7	1,8 ± 0,2	1,9 ± 0,2
FUMAG ^(a)	32,3 ± 4,3	38,2 ± 4,9	5,9 ± 1,4	4,4 ± 0,8	1,3 ± 0,2	1,7 ± 0,3
FUMVAR	38,7 ± 4,6	34,5 ± 5,3	5,3 ± 0,9	4,8 ± 0,7	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,2
ESPREITAMENTOS						
	Fêmeas	Machos				
Dados por Exposição						
AR	12,1 ± 0,5	12,7 ± 0,6				
FUMAÇA	13,4 ± 0,7	13,3 ± 0,7				
Dados por Tratamento						
ÁGUA	12,6 ± 0,7	12,6 ± 0,6				
VARENICLINA	12,9 ± 0,6	13,4 ± 0,7				
Dados por Grupo						
ARVAR	12,2 ± 0,7	13,4 ± 0,9				
ARAG ^(w)	12,1 ± 0,8	12,0 ± 0,8				
FUMAG ^(a)	13,2 ± 1,2	13,2 ± 0,9				
FUMVAR	13,7 ± 0,9	13,4 ± 1,0				

Legenda: ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. ^a $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

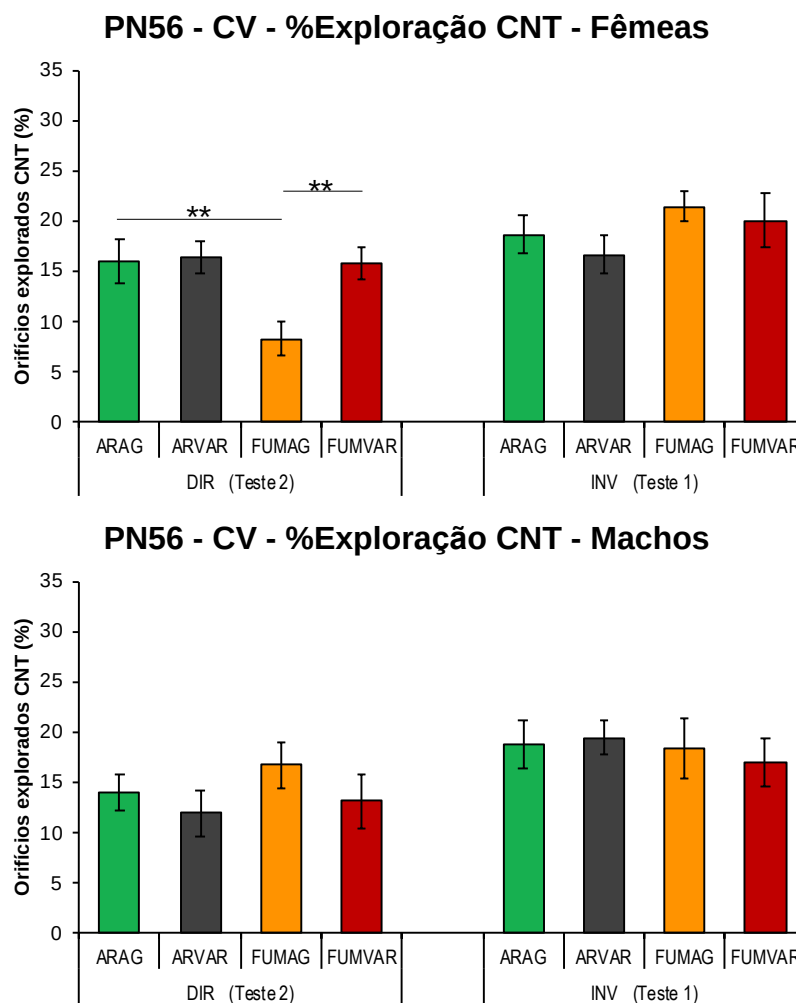
Figura 25 – Dados referentes à variável Exploração no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Exploração no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM. Efeito de Exposição: $^{**}p < 0,01$.

Fonte: A autora, 2022.

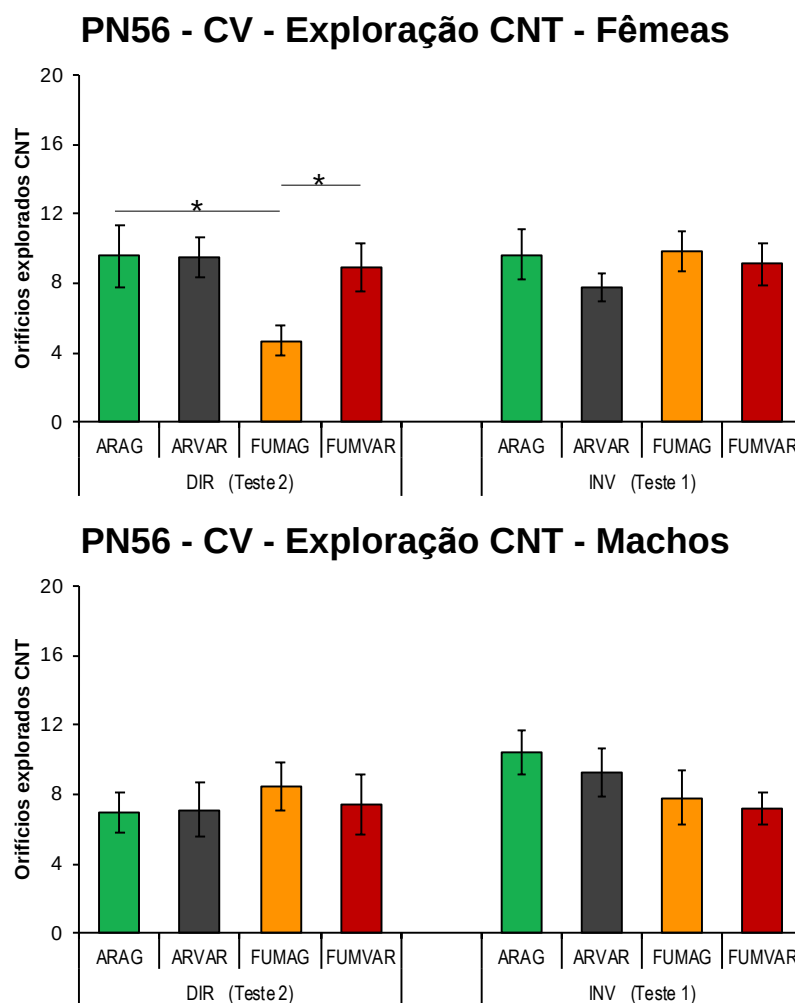
Figura 26 – Dados referentes à variável %Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável %Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Comparações par a par: ** $p < 0,01$.

Fonte: A autora, 2022.

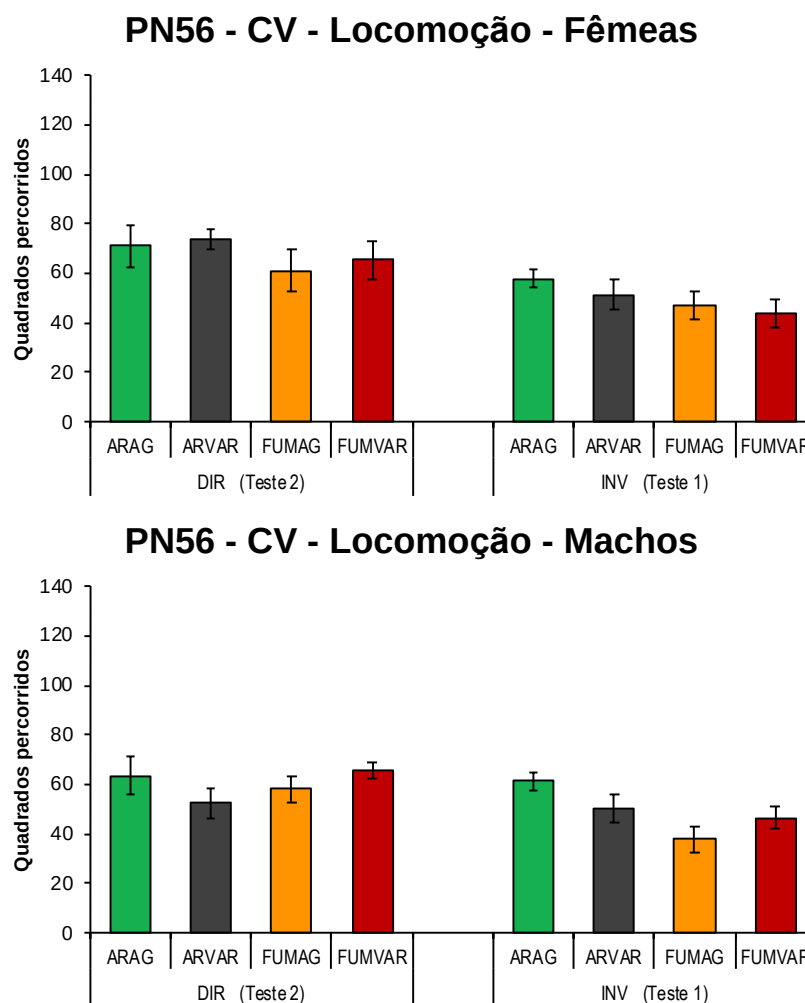
Figura 27 – Dados referentes à variável Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Comparações par a par: * $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

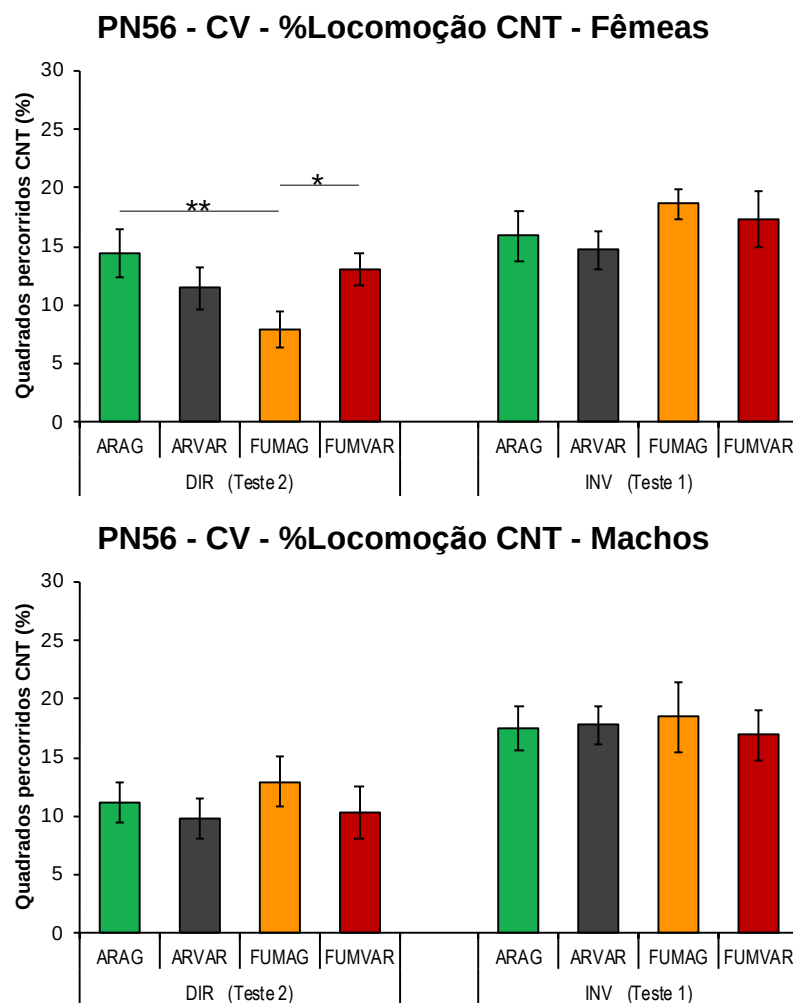
Figura 28 – Dados referentes à variável Locomoção no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Locomoção no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

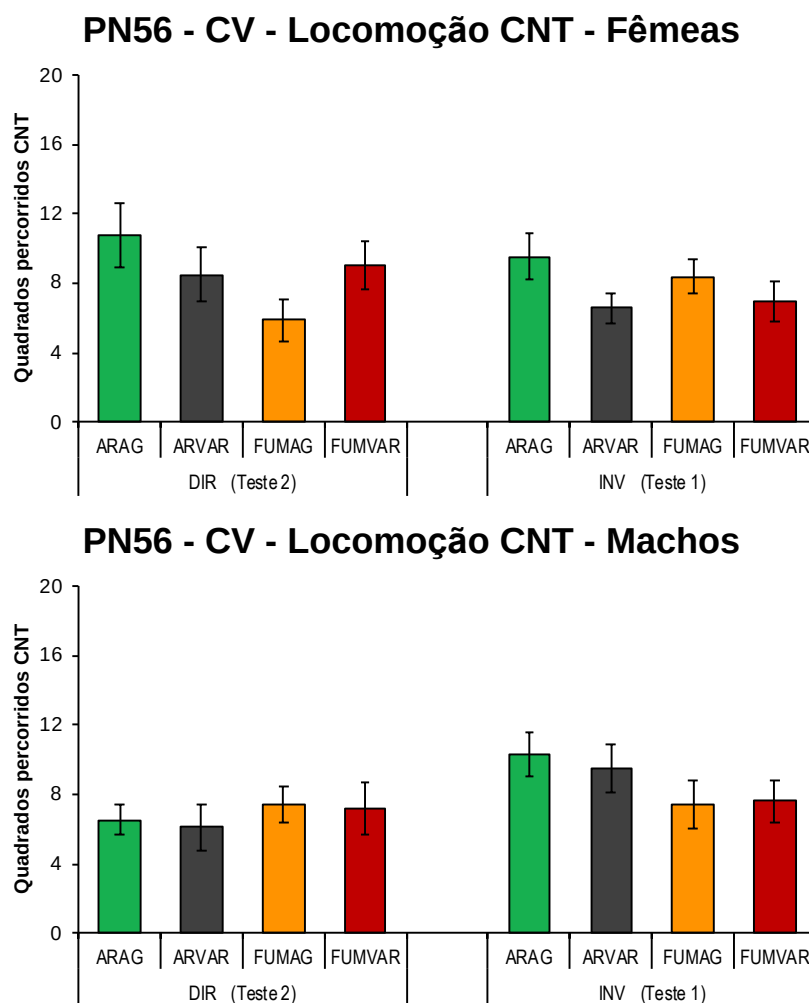
Figura 29 – Dados referentes à variável %Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável %Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Comparações par a par: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Fonte: A autora, 2022.

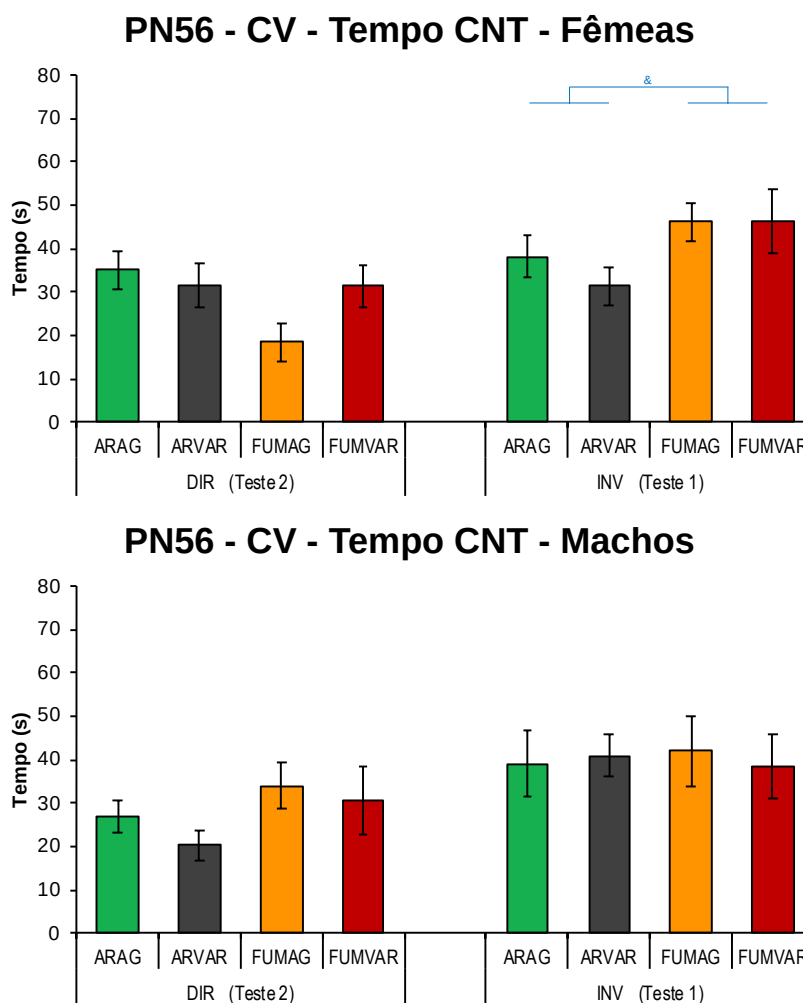
Figura 30 – Dados referentes à variável Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

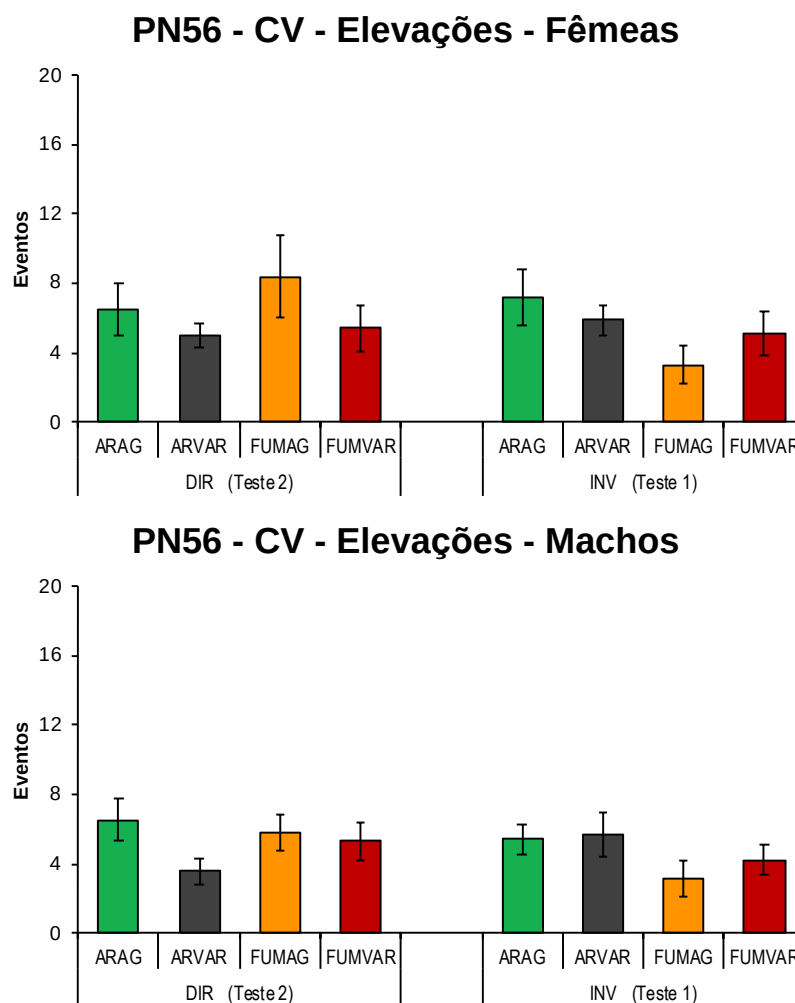
Figura 31 – Dados referentes à variável Tempo CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Tempo CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: * $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

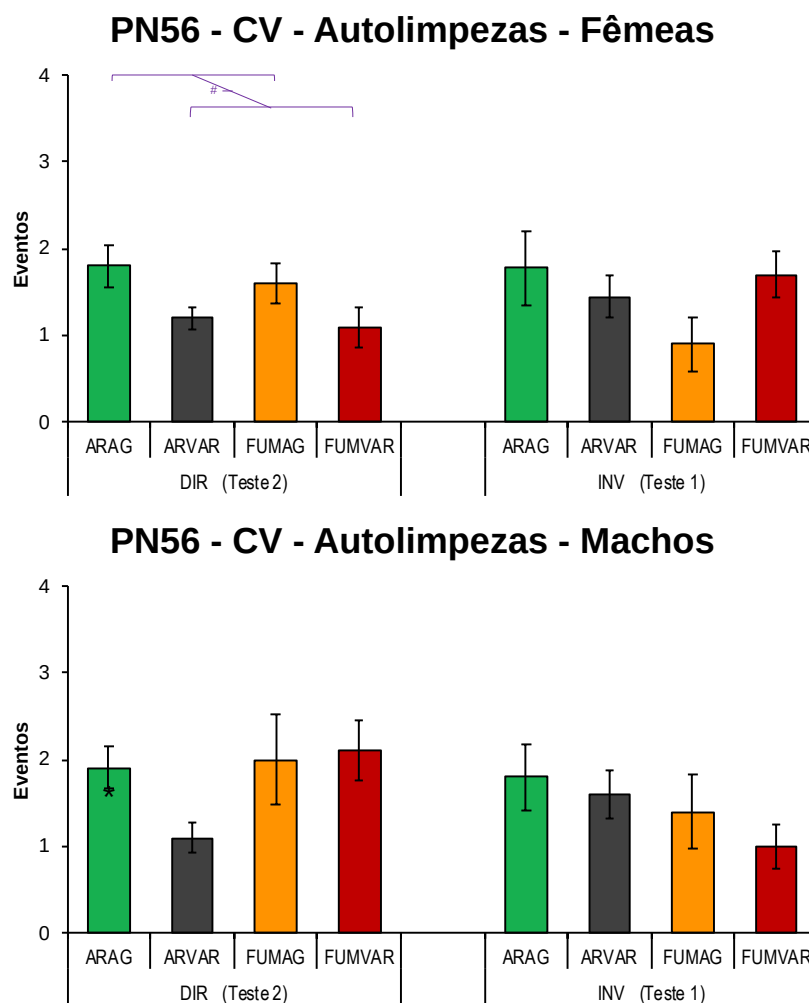
Figura 32 – Dados referentes à variável Elevações no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Elevações no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

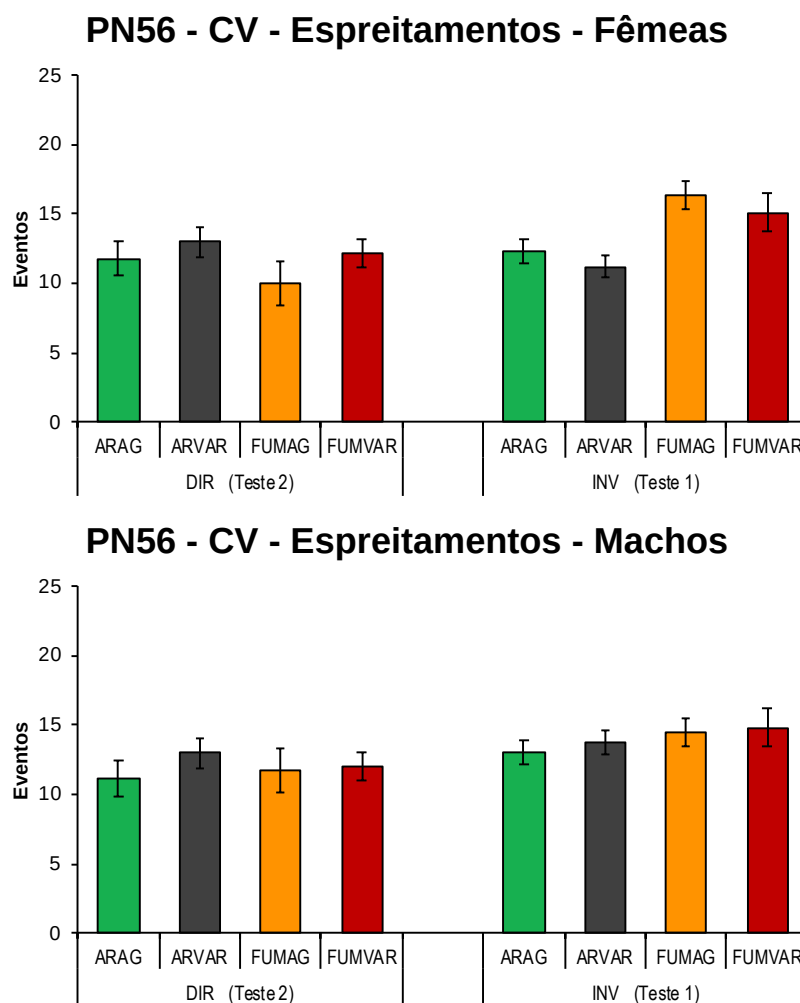
Figura 33 – Dados referentes à variável Autolimpezas no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Autolimpezas no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Tratamento: $^{\#}p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 34 – Dados referentes à variável Espreitamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços ao final do tratamento com vareniclina (PN56).



Legenda: Dados referentes à variável Espreitamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

4.4.2. PN86

4.4.2.1 Labirinto em Cruz Elevado

Os resultados das uANOVAs globais inicialmente utilizadas nas análises dos comportamentos apresentados pelos animais PN86 no LCE são apresentados na tabela 12.

Após a separação das análises por SEXO (ANOVAs de 2ª ordem, tabela 13), verificou-se que as fêmeas tratadas com vareniclina apresentavam valores maiores do que as expostas ao ar nas seguintes variáveis de comportamento associado à ansiedade: %Tempo BA e Tempo BA (tabela 14). O mesmo foi observado para as variáveis etológicas Espreitamentos e Abaixamentos (tabela 14). Não foi observado efeito de TRATAMENTO para as demais variáveis. A exposição à fumaça aumentou o número de autolimpezas somente em machos e reduziu o número de espreitamentos em fêmeas (tabela 14). Não foi observado efeito da EXPOSIÇÃO nas outras variáveis estudadas.

Tendo em vista os efeitos e interações com o fator SEQUÊNCIA, para as análises indicadas abaixo, os resultados das comparações das sequências direta (LCE seguido de CV) e indireta (CV seguindo de LCE) são apresentados em separado.

4.4.2.1.1 Sequência Direta (primeiro teste da sequência)

Para as fêmeas, o tratamento com vareniclina aumentou os valores de Entradas BF (figura 40), sendo que o grupo ARVAR obteve valores significativamente maiores do que o grupo ARAG. Para os machos, o tratamento com vareniclina aumentou os valores das variáveis %Tempo BA (figura 35), Tempo BA (figura 36) e %Entradas BA (figura 37). Para a variável etológica Autolimpezas, o grupo FUMAG apresentou um aumento nos valores, quando comparados ao grupo ARAG, que foi revertido pelo tratamento, como indicado pelos resultados do grupo FUMVAR (figura 42).

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: %Tempo BA (figura 35), Tempo BA (figura 36), %Entradas BA (figura 37), Entradas BA (figura 38), %Tempo CN (figura 39), Elevações (figura 41), Autolimpezas (figura 42), Espreitamentos (figura 43) e Abaixamentos (figura 44). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: Entradas BA (figura 38), %Tempo CN (figura 39), Entradas BF (figura 40), Elevações (figura 41), Espreitamentos (figura 43) e Abaixamentos (figura 44).

4.4.2.1.2 Sequência Indireta (segundo teste da sequência)

Para as fêmeas, o tratamento com vareniclina aumentou os valores observados para as variáveis %Tempo BA (figura 35), Tempo BA (figura 36) e Espreitamentos (figura 43), sendo que o grupo ARVAR apresentou valores maiores do que o grupo ARAG nos três casos. No caso da variável Espreitamentos, a exposição à fumaça também aumentou os valores obtidos. Para os machos, a exposição a fumaça do cigarro reduziu os valores para as variáveis %Tempo BA (figura 35), Tempo BA (figura 36) e Elevações (figura 41).

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: %Entradas BA (figura 37), Entradas BA (figura 38), %Tempo CN (figura 39), Entradas BF (figura 40), Elevações (figura 41), Autolimpezas (figura 42) e Abaixamentos (figura 44). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: %Entradas BA (figura 37), Entradas BA (figura 38), %Tempo CN (figura 39), Entradas BF (figura 40), Autolimpezas (figura 42), Espreitamentos (figura 43) e Abaixamentos (figura 44).

Tabela 12 – Resultados das ANOVAs globais para os dados do LCE em PN86.

PN86 - LCE - ANOVAs globais					
	<i>F (g, I_g)</i>	<i>p</i>		<i>F (g, I_g)</i>	<i>p</i>
%Tempo BA			Tempo BA		
Sequência	7,6 (1, 146)	0,007	Sequência	6,9 (1, 146)	0,010
Exposição	3,2 (1, 146)	0,075	Tratamento	6,3 (1, 146)	0,013
Tratamento	6,4 (1, 146)	0,012	Sequência × Exposição	7,4 (1, 146)	0,007
Sexo × Sequência	6,0 (1, 146)	0,015	Sexo × Sequência × Tratamento	4,1 (1, 146)	0,045
Sequência × Exposição	5,7 (1, 146)	0,007	Sequência × Exposição × Tratamento	4,6 (1, 146)	0,033
Sexo × Sequência × Tratamento	2,9 (1, 146)	0,088			
Sequência × Exposição × Tratamento	5,6 (1, 146)	0,019			
%Entradas BA			Entradas BA		
Sequência	9,2 (1, 146)	0,041	Sequência	17,4 (1, 146)	< 0,001
Sexo × Sequência	4,3 (1, 146)	0,033	Exposição	4,3 (1, 146)	0,039
			Sexo × Exposição	3,4 (1, 146)	0,066
%Tempo CN			Entradas BF		
Sexo × Sequência	6,5 (1, 146)	0,012	Sequência	8,1 (1, 146)	0,005
Sequência × Exposição	4,8 (1, 146)	0,029	Sexo × Sequência	6,3 (1, 146)	0,013
			Sequência × Tratamento	4,1 (1, 146)	0,044
			Sexo × Sequência × Tratamento	3,2 (1, 146)	0,074
Elevações			Autolimpezas		
Sexo × Sequência	4,2 (1, 146)	0,042	Exposição	8,3 (1, 146)	0,004
Sequência × Exposição	4,3 (1, 146)	0,041	Sequência × Tratamento	6,2 (1, 146)	0,014
			Sexo × Exposição × Tratamento	6,9 (1, 146)	0,009
Espreitamentos			Abaixamentos		
Sequência	6,3 (1, 146)	0,013	Sexo	6,2 (1, 146)	0,014
Tratamento	3,4 (1, 146)	0,067	Tratamento	3,4 (1, 146)	0,066
Sexo × Exposição	7,3 (1, 146)	0,008			

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 13 – Resultados das ANOVAs de 2ª ordem para os dados do LCE em PN86.

PN86 - LCE - ANOVAs de segunda ordem					
	<i>F (g, I_g)</i>	<i>p</i>		<i>F (g, I_g)</i>	<i>p</i>
FÊMEAS					
%Tempo BA			Tempo BA		
Tratamento	4,6 (1, 73)	0,035	Tratamento	4,0 (1, 73)	0,049
Sequência × Exposição × Tratamento	6,2 (1, 73)	0,015	Sequência × Exposição × Tratamento	5,2 (1, 73)	0,026
%Entradas BA			Entradas BA		
%Tempo CN			Entradas BF		
Sequência	8,6 (1, 73)	0,005	Sequência	15,9 (1, 73)	< 0,001
			Sequência × Tratamento	8,1 (1, 73)	0,006
Elevações			Autolimpezas		
Sequência	5,2 (1, 73)	0,025	Sequência × Tratamento	3,9 (1, 73)	0,051
Espreitamentos			Abaixamentos		
Sequência	8,8 (1, 73)	0,004	Tratamento	4,7 (1, 73)	0,034
Exposição	4,8 (1, 73)	0,033	Exposição × Tratamento	3,4 (1, 73)	0,07
Tratamento	4,4 (1, 73)	0,039			
MACHOS					
%Tempo BA			Tempo BA		
Sequência	13,3 (1, 73)	0,001	Sequência	8,3 (1, 73)	0,005
Sequência × Exposição	6,1 (1, 73)	0,016	Sequência × Exposição	6,6 (1, 73)	0,012
%Entradas BA			Entradas BA		
Sequência	14,1 (1, 73)	< 0,001			
%Tempo CN			Entradas BF		
Sequência × Exposição	3,2 (1, 73)	0,078			
Elevações			Autolimpezas		
Tratamento	3,4 (1, 73)	0,070	Exposição	7,3 (1, 73)	0,009
Sequência × Exposição	5,8 (1, 73)	0,019	Exposição × Tratamento	6,4 (1, 73)	0,013
Espreitamentos			Abaixamentos		

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 14 – Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).

PN86 - LCE - Resultados separados por sexo						
	%TEMPO BA		TEMPO BA		%ENTRADAS BA	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>						
AR	16,0 ± 1,9	18,0 ± 2,2	26,8 ± 3,0	27,6 ± 3,5	21,0 ± 1,7	20,4 ± 1,7
FUMAÇA	13,0 ± 1,8	13,9 ± 1,8	22,3 ± 3,2	22,3 ± 3,5	17,8 ± 1,9	18,2 ± 1,9
<i>Dados por Tratamento</i>						
ÁGUA	11,8 ± 1,4	14,2 ± 1,8	20,3 ± 2,3	21,6 ± 3,0	18,3 ± 1,9	18,3 ± 1,9
VARENICLINA	17,2 ± 2,1	17,7 ± 2,2	28,8 ± 3,6	28,3 ± 4,0	20,6 ± 1,8	20,4 ± 1,7
<i>Dados por Grupo</i>						
ARVAR	18,3 ± 3,0	19,8 ± 3,4	30,9 ± 4,8	29,4 ± 5,1	20,4 ± 2,0	22,3 ± 2,1
ARAG ^(a)	13,8 ± 2,4	16,3 ± 2,8	22,6 ± 3,6	25,9 ± 5,0	21,6 ± 2,9	18,5 ± 2,7
FUMAG ^(a)	9,7 ± 1,5	12,3 ± 2,2	17,8 ± 2,9	17,5 ± 3,2	14,7 ± 2,1	18,0 ± 2,8
FUMVAR	16,2 ± 3,1	15,6 ± 2,9	26,6 ± 5,4	27,3 ± 6,2	20,8 ± 3,0	18,5 ± 2,6

	ENTRADAS BA		%TEMPO CN		ENTRADAS BF	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>						
AR	3,1 ± 0,3	3,3 ± 0,3	41,6 ± 1,5	45,1 ± 2,0	11,3 ± 0,6	12,2 ± 0,6
FUMAÇA	2,7 ± 0,3	2,5 ± 0,3	42,4 ± 1,2	43,8 ± 1,6	12,2 ± 0,7	11,4 ± 0,6
<i>Dados por Tratamento</i>						
ÁGUA	2,7 ± 0,3	2,7 ± 0,3	40,9 ± 1,6	45,6 ± 1,7	11,7 ± 0,7	11,6 ± 0,6
VARENICLINA	3,1 ± 0,3	3,1 ± 0,3	43,1 ± 1,2	43,3 ± 2,0	11,8 ± 0,5	11,9 ± 0,5
<i>Dados por Grupo</i>						
ARVAR	3,3 ± 0,3	3,4 ± 0,4	41,8 ± 1,7	42,2 ± 2,9	11,9 ± 0,6	12,3 ± 0,7
ARAG ^(a)	3,0 ± 0,4	3,2 ± 0,6	41,5 ± 2,6	48,0 ± 2,8	10,7 ± 0,9	12,1 ± 1,0
FUMAG ^(a)	2,3 ± 0,4	2,2 ± 0,3	40,3 ± 1,6	43,3 ± 1,9	12,7 ± 1,0	11,2 ± 0,7
FUMVAR	3,0 ± 0,5	2,8 ± 0,5	44,4 ± 1,8	44,3 ± 2,7	11,7 ± 0,9	11,6 ± 0,9

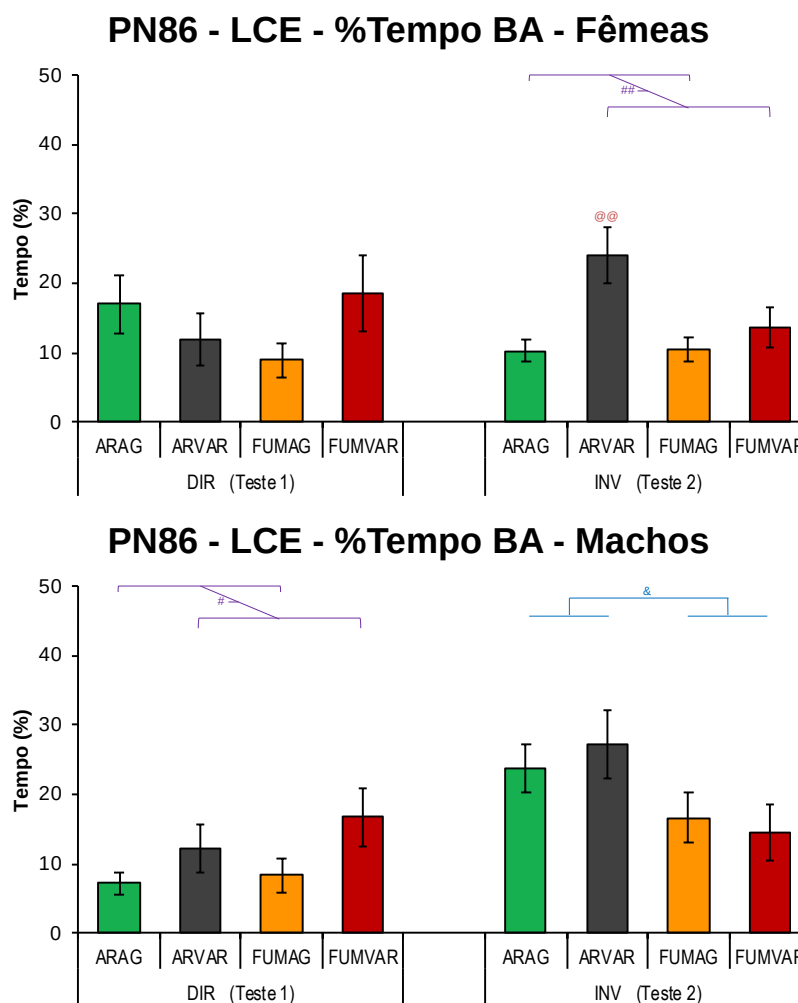
	ELEVAÇÕES		AUTOLIMPEZAS		ESPREITAMENTOS	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>						
AR	9,5 ± 0,6	10,5 ± 0,9	2,9 ± 0,2	2,6 ± 0,2	32,8 ± 1,4	27,4 ± 1,4
FUMAÇA	10,4 ± 0,9	9,6 ± 0,7	3,3 ± 0,2	3,5 ± 0,2	28,8 ± 1,4	30,5 ± 1,2
<i>Dados por Tratamento</i>						
ÁGUA	10,2 ± 0,8	9,1 ± 0,8	3,0 ± 0,2	3,1 ± 0,3	28,9 ± 1,3	28,5 ± 1,3
VARENICLINA	9,8 ± 0,8	11,0 ± 0,8	3,2 ± 0,2	3,0 ± 0,2	32,8 ± 1,5	29,4 ± 1,4
<i>Dados por Grupo</i>						
ARVAR	9,3 ± 0,9	12,3 ± 1,3	2,8 ± 0,3	3,0 ± 0,4	34,7 ± 2,2	27,2 ± 1,5
ARAG ^(a)	9,8 ± 1,0	8,7 ± 1,1	3,0 ± 0,3	2,3 ± 0,2	30,9 ± 1,6	27,6 ± 2,4
FUMAG ^(a)	10,6 ± 1,3	9,5 ± 1,1	3,0 ± 0,3	4,0 ± 0,4 *	26,6 ± 2,0	29,3 ± 1,3
FUMVAR	10,3 ± 1,3	9,7 ± 0,9	3,6 ± 0,4	3,1 ± 0,2 ^a	30,9 ± 2,0	31,7 ± 2,2

ABAIXAMENTOS		
	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>		
AR	6,9 ± 0,2	8,1 ± 0,3
FUMAÇA	7,5 ± 0,4	8,1 ± 0,4
<i>Dados por Tratamento</i>		
ÁGUA	6,7 ± 0,3	7,9 ± 0,4
VARENICLINA	7,7 ± 0,4	8,3 ± 0,4
<i>Dados por Grupo</i>		
ARVAR	7,0 ± 0,3	8,2 ± 0,5
ARAG ^(a)	6,9 ± 0,3	8,0 ± 0,5
FUMAG ^(a)	6,5 ± 0,6	7,9 ± 0,6
FUMVAR	8,4 ± 0,6 ^{*a}	8,3 ± 0,7

Legenda: ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. ^{*},^a $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

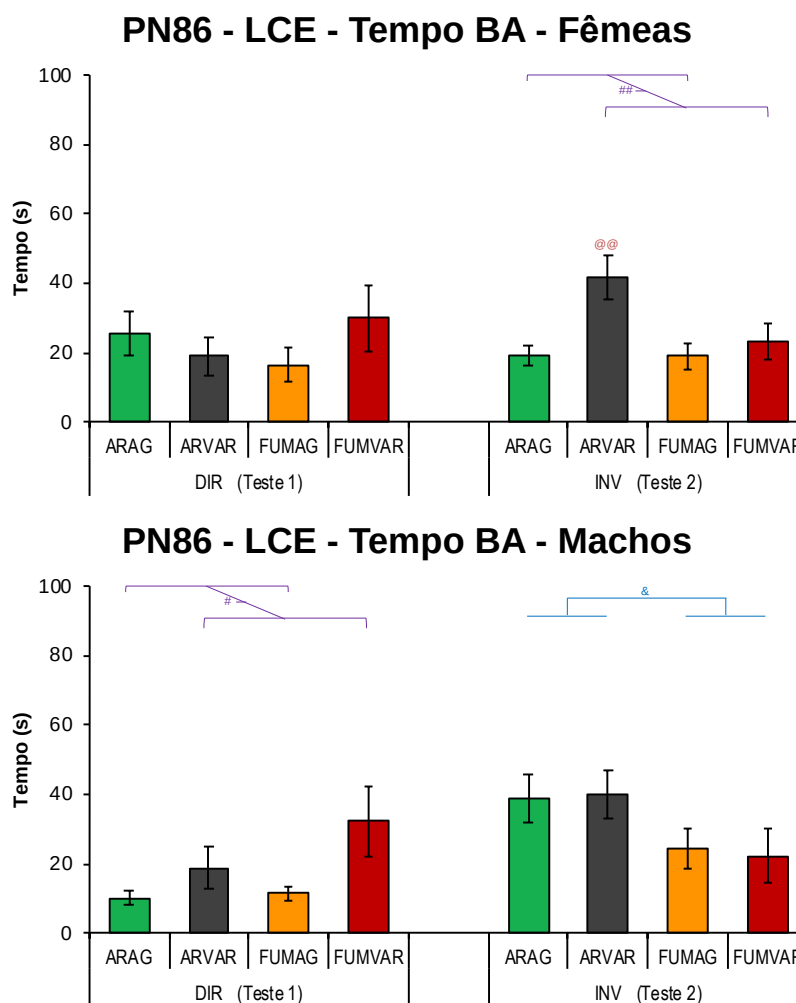
Figura 35 – Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: * $p < 0,05$. Efeitos de Tratamento: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$. @@ $p < 0,01$ ARAG vs. ARVAR.

Fonte: A autora, 2022.

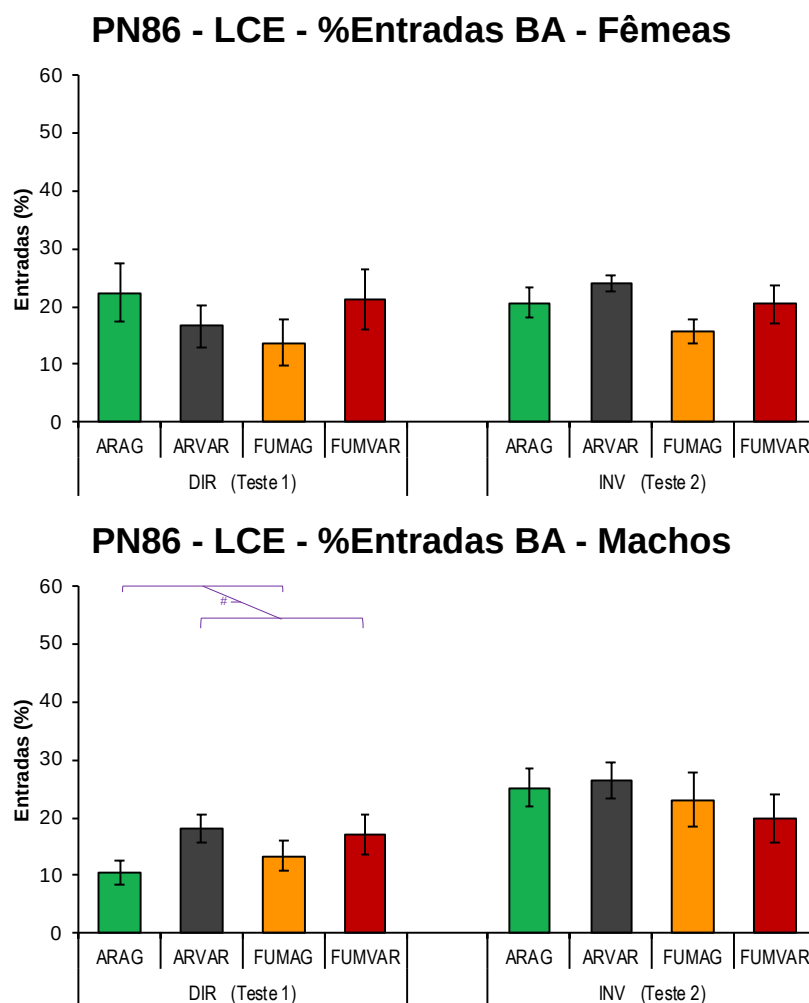
Figura 36— Dados referentes à variável Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: * $p < 0,05$. Efeitos de Tratamento: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$. @@ $p < 0,01$ ARAG vs. ARVAR.

Fonte: A autora, 2022.

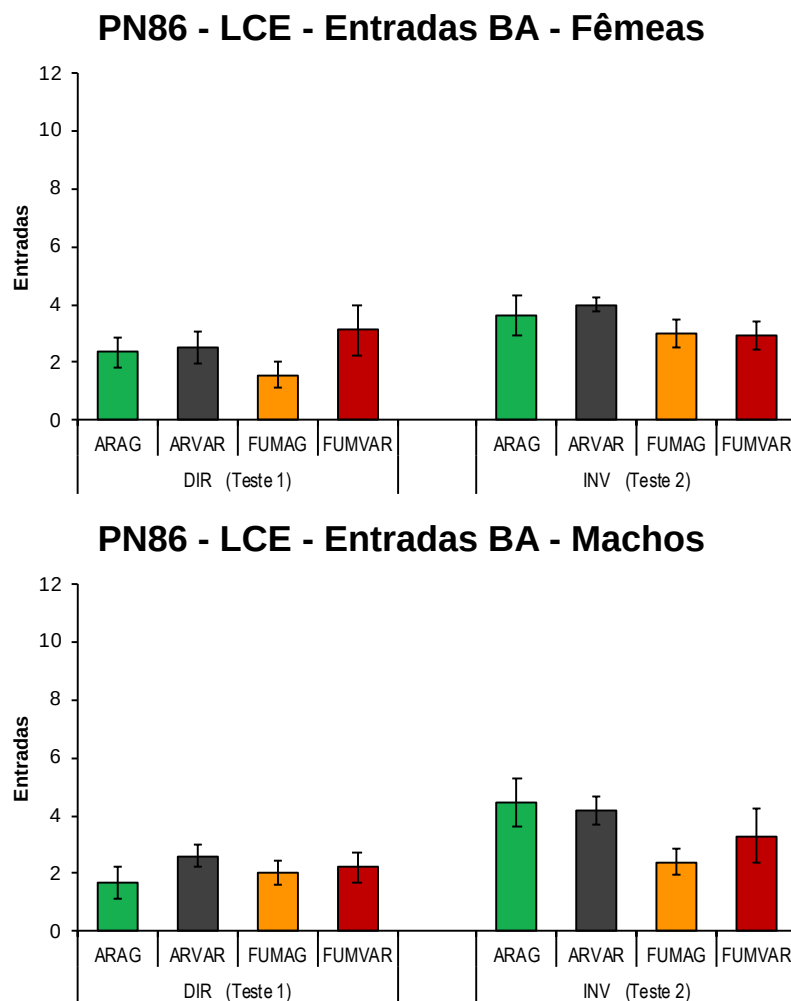
Figura 37 – Dados referentes à variável %Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável %Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Tratamento: $^{\#}p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

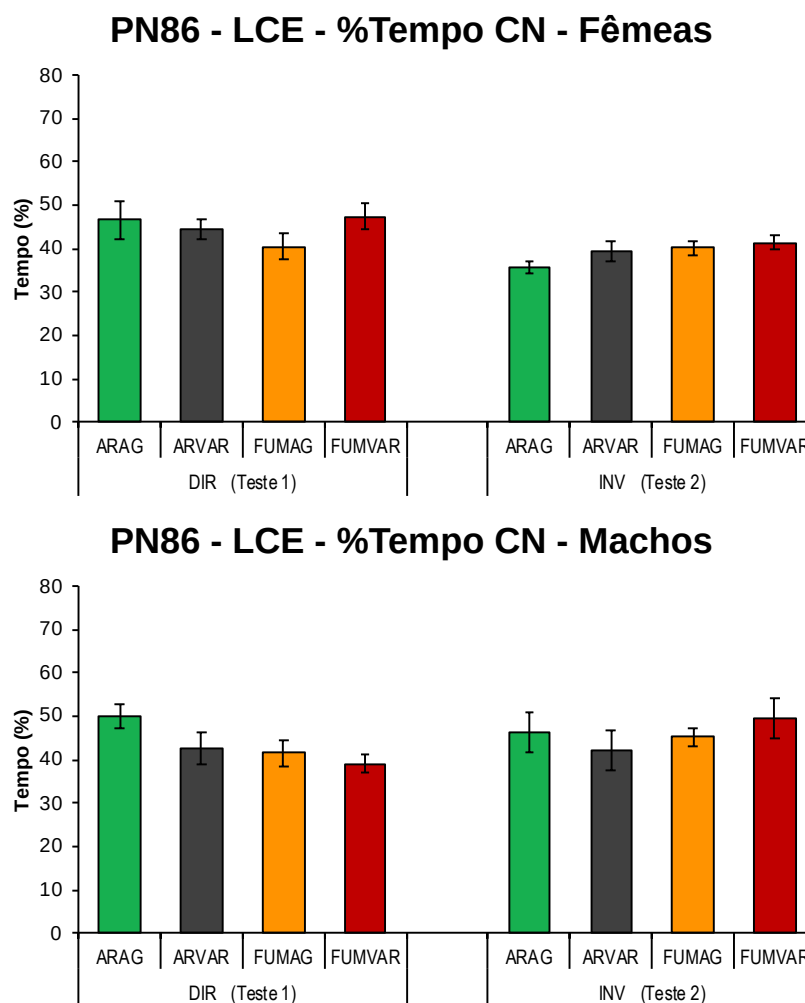
Figura 38 – Dados referentes à variável Entradas BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

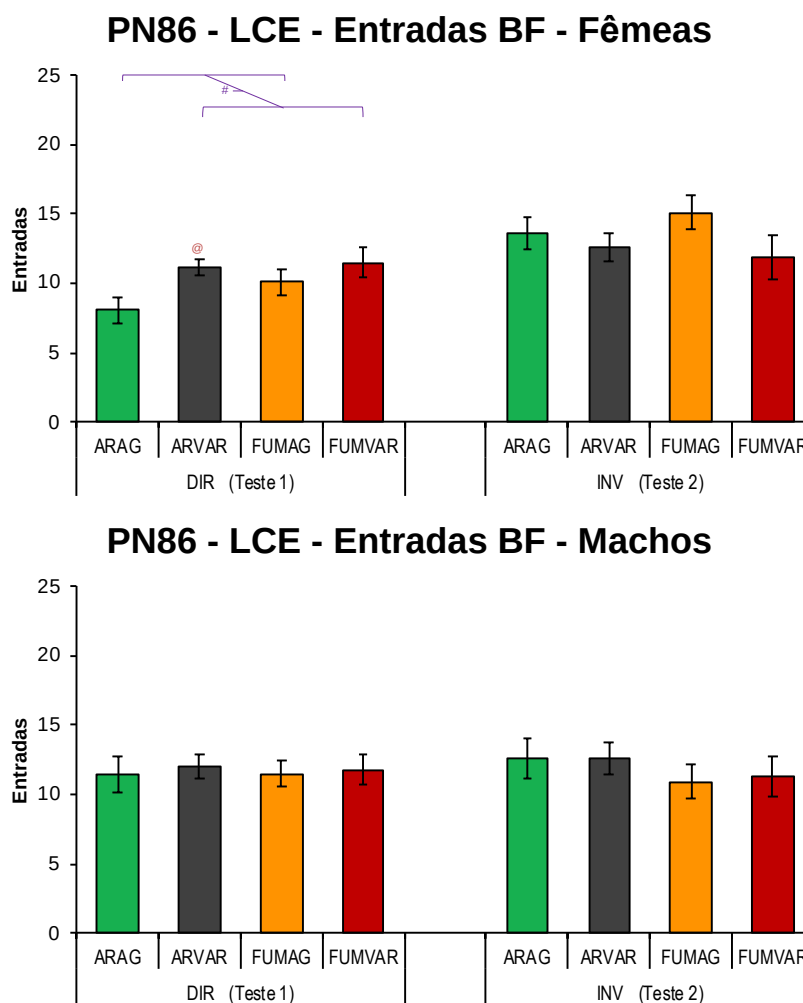
Figura 39 – Dados referentes à variável %Tempo CN no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo CN no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

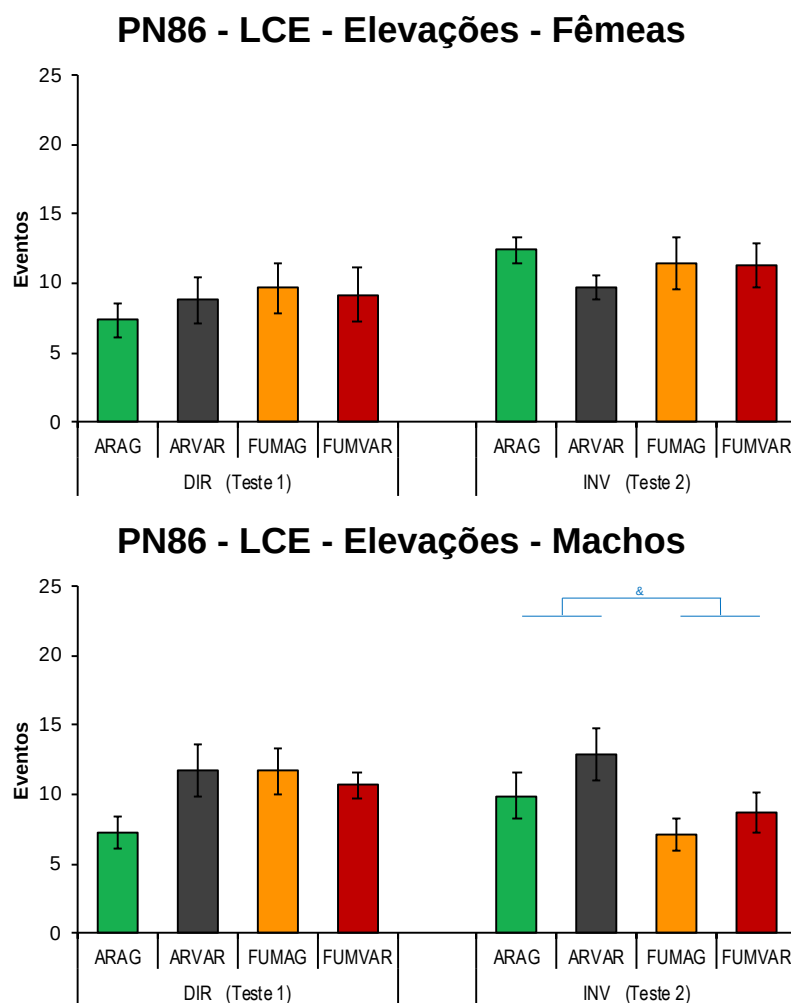
Figura 40 – Dados referentes à variável Entradas BF no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável %Tempo BA no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Tratamento: [#] $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

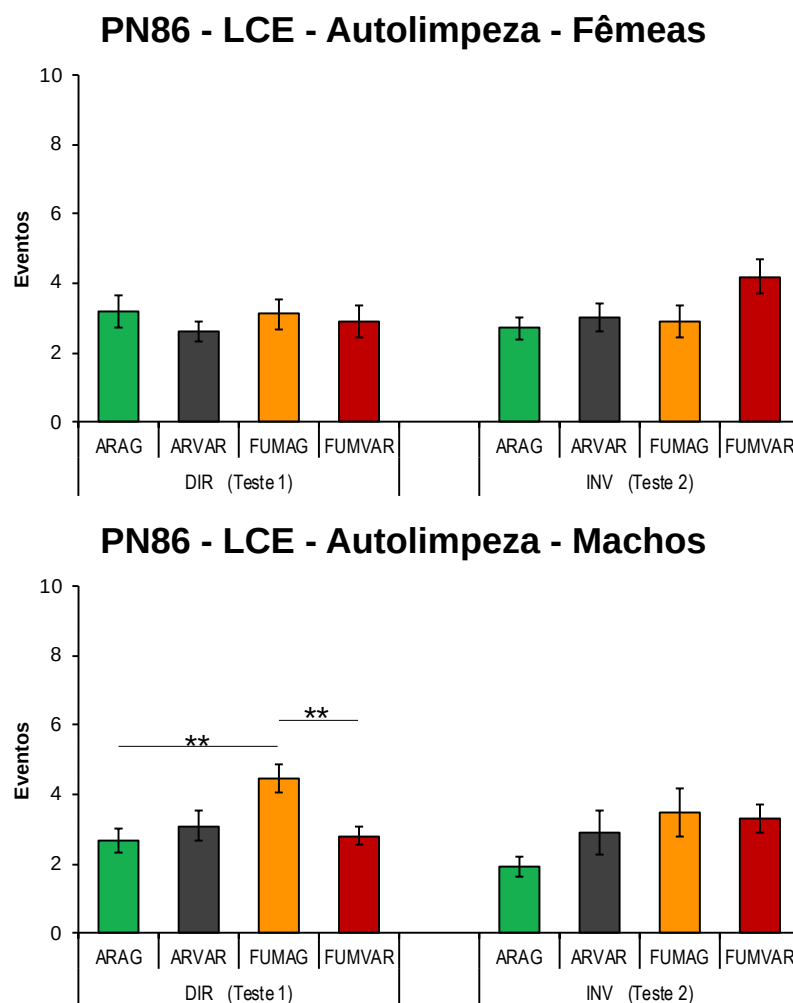
Figura 41 – Dados referentes à variável Elevações no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Elevações no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM. Efeito de Exposição: * $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

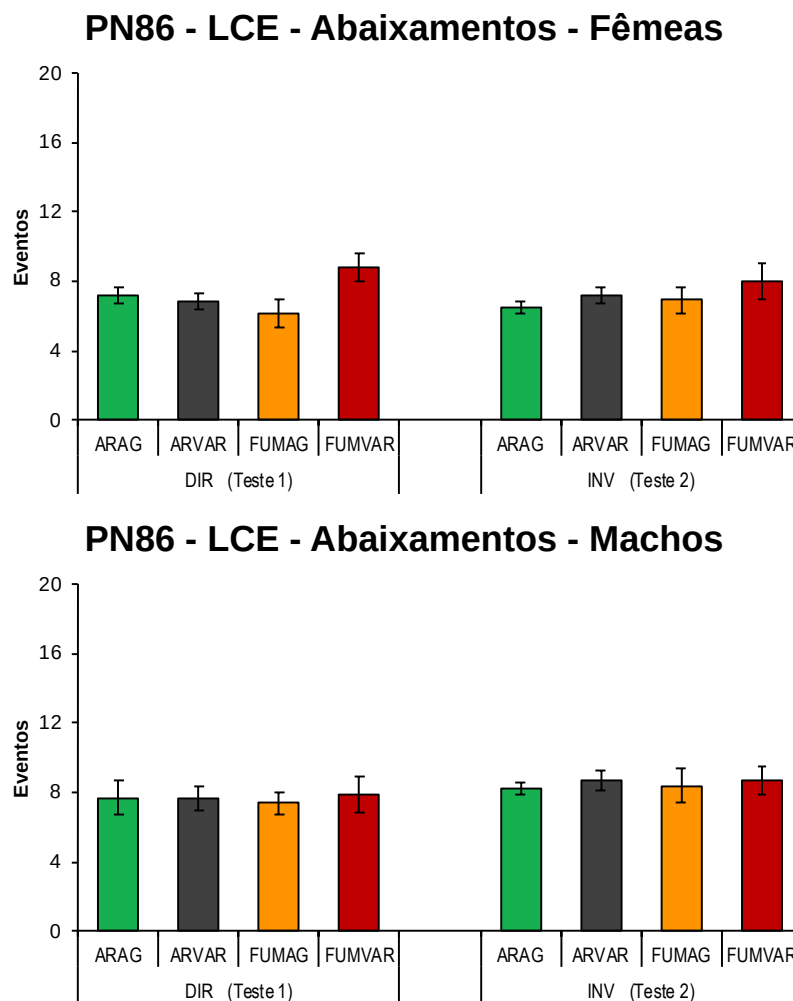
Figura 42 – Dados referentes à variável Autolimpeza no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Autolimpeza no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Comparações par a par: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Fonte: A autora, 2022.

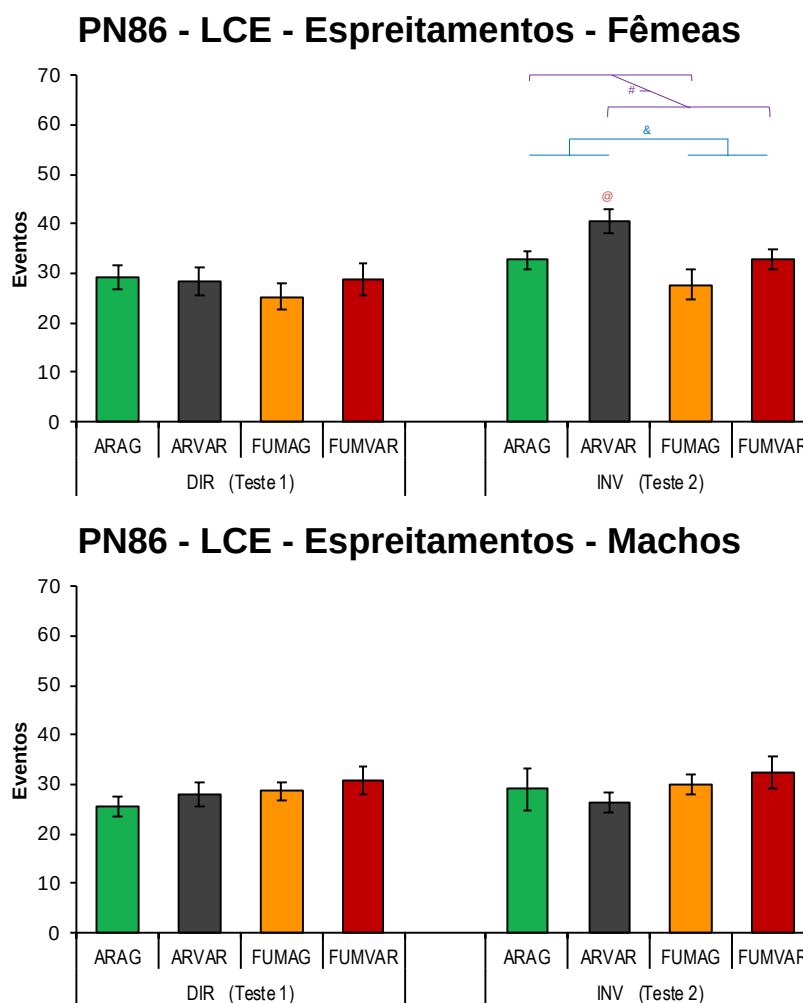
Figura 43 – Dados referentes à variável Abaixamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Abaixamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 44 – Dados referentes à variável Espreitamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Espreitamentos no Labirinto em Cruz Elevado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Exposição: [#]p < 0,05. Efeitos de Tratamento: [@]p < 0,05. [@]p < 0,05 ARAG vs. ARVAR.

Fonte: A autora, 2022.

4.4.2.2 Campo Vazado

Os resultados das uANOVAs globais inicialmente utilizadas nas análises dos comportamentos apresentados pelos animais PN86 no CV são apresentados na tabela 15.

Após a separação das análises por SEXO (ANOVAs de 2ª ordem, tabela 16), verificou-se que as fêmeas tratadas com vareniclina apresentavam valores maiores do que as expostas ao ar nas seguintes variáveis de comportamento associado à ansiedade no CV: %Exploração CNT, Exploração CNT, %Locomoção CNT, Locomoção CNT e Tempo CNT (tabela 17). Para a variável etológica Autolimpeza, machos tratados com vareniclina apresentaram uma redução no número de eventos observados quando comparados aos tratados com água (tabela 17). Não foi observado efeito de TRATAMENTO para as demais variáveis. Não foi observado efeito da EXPOSIÇÃO nas variáveis estudadas.

Tendo em vista os efeitos e interações com o fator SEQUÊNCIA, para as análises indicadas abaixo, os resultados das comparações das sequências direta (LCE seguido de CV) e indireta (CV seguido de LCE) são apresentados em separado.

4.4.2.2.1 *Sequência Direta (segundo teste da sequência)*

Para as fêmeas, o tratamento com vareniclina aumentou os valores de Exploração CNT (figura 47), %Locomoção CNT (figura 49) e Locomoção CNT (figura 50). Para os machos, somente a variável Autolimpezas (figura 53) foi afetada pelo tratamento, com valores reduzidos pelo tratamento com vareniclina e com o grupo ARVAR tendo resultados significativamente menores do que o grupo ARVAR.

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: Exploração (figura 45), %Exploração CNT (figura 46), Locomoção (figura 48), Tempo CNT (figura 51), Elevações (figura 52), Autolimpezas (figura 53) e Espreitamentos (figura 54). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: Exploração (figura 45), %Exploração CNT (figura 46), Exploração CNT (figura 47), Locomoção (figura 48), %Locomoção CNT (figura 49), Locomoção CNT (figura 50), Tempo CNT (figura 51), Elevações (figura 52) e Espreitamentos (figura 54).

4.4.2.2.2 Sequência Indireta (primeiro teste da sequência)

Para os machos, o grupo FUMAG apresentou aumentos dos valores de %Exploração CNT (figura 46) e %Locomoção CNT (figura 46) que foram parcialmente revertidos pelo tratamento com vareniclina, tal como indicado pelos resultados do grupo FUMVAR.

As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em fêmeas: Exploração (figura 45), %Exploração CNT (figura 46), Exploração CNT (figura 47), Locomoção (figura 48), %Locomoção CNT (figura 49), Locomoção CNT (figura 50), Tempo CNT (figura 51), Elevações (figura 52), Autolimpezas (figura 53) e Espreitamentos (figura 54). As seguintes variáveis não apresentaram efeitos ou interações significativas em machos: Exploração (figura 45), Exploração CNT (figura 47), Locomoção (figura 48), Locomoção CNT (figura 50), Tempo CNT (figura 51), Elevações (figura 52), Autolimpezas (figura 53) e Espreitamentos (figura 54).

Tabela 15 – Resultados das ANOVAs globais para os dados do CV em PN86.

PN86 - CV - ANOVAs globais					
	<i>F</i> (<i>g</i> , <i>l</i>)	<i>p</i>		<i>F</i> (<i>g</i> , <i>l</i>)	<i>p</i>
Exploração			%Exploração CNT		
Sequência	18,9 (1, 146)	< 0,001	Tratamento	5,3 (1, 146)	0,022
Sexo × Sequência	5,1 (1, 146)	0,025	Sexo × Sequência	3,4 (1, 146)	0,068
Sexo × Exposição × Tratamento	6,2 (1, 146)	0,014	Sexo × Exposição	3,9 (1, 146)	0,051
			Sequência × Tratamento	18,9 (1, 146)	0,050
			Sexo × Exposição × Tratamento	18,9 (1, 146)	0,015
Exploração CNT			Locomoção		
Tratamento	4,7 (1, 146)	0,032	Sequência	61,1 (1, 146)	< 0,001
Sexo × Sequência	3,7 (1, 146)	0,057	Sexo × Sequência	3,0 (1, 146)	0,084
Sexo × Exposição × Tratamento	7,1 (1, 146)	0,009			
%Entradas CNT			Entradas CNT		
Sequência	5,2 (1, 146)	0,024	Sequência	4,0 (1, 146)	0,048
Tratamento	6,2 (1, 146)	0,014	Tratamento	3,4 (1, 146)	0,069
Sexo × Exposição × Tratamento	5,2 (1, 146)	0,025	Sexo × Sequência	5,3 (1, 146)	0,023
Sexo × Sequência × EXPO × TTO	3,3 (1, 146)	0,071	Sexo × Exposição × Tratamento	2,8 (1, 146)	0,099
Tempo CNT			Elevações		
Tratamento	6,2 (1, 146)	0,014	Sequência	14,9 (1, 146)	< 0,001
Sequência × Tratamento	2,9 (1, 146)	0,090	Exposição	4,2 (1, 146)	0,041
Sexo × Exposição × Tratamento	7,5 (1, 146)	0,007			
Autolimpeza			Espreitamentos		
Sexo	4,0 (1, 146)	0,049	Sexo	14,9 (1, 146)	< 0,001
Sexo × Exposição	3,7 (1, 146)	0,057	Sequência	11,9 (1, 146)	0,001
Sequência × Tratamento	4,1 (1, 146)	0,045	Tratamento	3,0 (1, 146)	0,083
			Sexo × Exposição	4,3 (1, 146)	0,041

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 16 – Resultados das ANOVAs de 2ª ordem para os dados do CV em PN86.

PN86 - CV - ANOVAs de segunda ordem				
	<i>F</i> (<i>g</i> , <i>l</i>)	<i>p</i>		<i>F</i> (<i>g</i> , <i>l</i>)
				<i>p</i>
FÊMEAS				
Exploração			%Exploração CNT	
Exposição × Tratamento	5,9 (1, 73)	0,018	Tratamento	4,8 (1, 73)
Exploração CNT			Locomoção	
Tratamento	5,0 (1, 73)	0,029	Sequência	20,7 (1, 73)
Exposição × Tratamento	3,5 (1, 73)	0,065		< 0,001
%Entradas CNT			Entradas CNT	
Sequência	8,7 (1, 73)	0,004	Tratamento	5,3 (1, 73)
Tratamento	7,6 (1, 73)	0,007	Exposição × Tratamento	4,4 (1, 73)
Exposição × Tratamento	3,5 (1, 73)	0,064		0,024
Tempo CNT			Elevações	
Tratamento	6,6 (1, 73)	0,012		0,039
Autolimpeza			Espreitamentos	
Exposição	3,8 (1, 73)	0,055	Sequência	5,9 (1, 73)
			Tratamento	3,0 (1, 73)
				0,018
				0,088
MACHOS				
Exploração			%Exploração CNT	
Sequência	25,5 (1, 73)	< 0,001	Sequência	2,9 (1, 73)
Exploração CNT			Exposição × Tratamento	4,2 (1, 73)
Sequência	5,7 (1, 73)	0,068		0,090
Exposição × Tratamento	3,6 (1, 73)	0,068	Locomoção	
%Entradas CNT			Sequência	41,1 (1, 73)
Sequência × Exposição × Tratamento	3,7 (1, 73)	0,058		< 0,001
Tempo CNT			Entradas CNT	
Sequência	3,0 (1, 73)	0,090	Sequência	8,0 (1, 73)
Exposição × Tratamento	5,2 (1, 73)	0,026		0,006
Autolimpeza			Elevações	
Tratamento	5,9 (1, 73)	0,018		
Sequência × Tratamento	4,0 (1, 73)	0,049	Espreitamentos	
			Sequência	6,5 (1, 73)
				0,013

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 17 – Dados separados por sexo referentes aos comportamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).

PN86 - CV - Resultados separados por sexo						
	EXPLORAÇÃO		%EXPLORAÇÃO CNT		EXPLORAÇÃO CNT	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>						
AR	41,5 ± 1,5	41,8 ± 2,2	12,1 ± 1,2	9,6 ± 1,2	5,3 ± 0,6	4,5 ± 0,7
FUMAÇA	41,3 ± 2,6	43,1 ± 1,7	10,4 ± 1,1	12,2 ± 1,1	4,9 ± 0,6	5,7 ± 0,6
<i>Dados por Tratamento</i>						
ÁGUA	39,5 ± 2,1	43,0 ± 2,0	9,6 ± 1,1	10,0 ± 1,2	4,2 ± 0,6	4,7 ± 0,6
VARENICLINA	43,2 ± 2,0	42,0 ± 1,9	13,0 ± 1,1	11,8 ± 1,2	6,0 ± 0,6	5,5 ± 0,7
<i>Dados por Grupo</i>						
ARVAR	40,0 ± 1,5	42,8 ± 2,9	12,8 ± 1,7	12,2 ± 1,8 *	5,4 ± 0,9	5,7 ± 1,0
ARAG ^(u)	42,9 ± 2,5	40,8 ± 3,3	11,4 ± 1,6	7,0 ± 1,5	5,1 ± 0,7	3,2 ± 0,8
FUMAG ^(a)	35,6 ± 3,2	45,0 ± 2,3	7,5 ± 1,5	13,0 ± 1,5 *	3,2 ± 0,8	6,1 ± 0,8
FUMVAR	46,6 ± 3,7 ^a	41,2 ± 2,6	13,2 ± 1,4	11,5 ± 1,7	6,5 ± 0,8 ^a	5,2 ± 0,9

	LOCOMOÇÃO		%LOCOMOÇÃO CNT		LOCOMOÇÃO CNT	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>						
AR	51,7 ± 2,7	51,1 ± 4,0	10,3 ± 1,1	8,8 ± 1,1	5,1 ± 0,5	4,3 ± 0,6
FUMAÇA	48,8 ± 3,7	49,2 ± 3,7	9,0 ± 0,9	10,6 ± 1,0	4,5 ± 0,5	5,2 ± 0,6
<i>Dados por Tratamento</i>						
ÁGUA	49,0 ± 3,4	51,3 ± 3,8	7,9 ± 1,0	9,0 ± 1,1	4,0 ± 0,5	4,6 ± 0,6
VARENICLINA	51,6 ± 2,9	48,9 ± 4,0	11,5 ± 1,0	10,4 ± 1,0	5,6 ± 0,5	5,0 ± 0,7
<i>Dados por Grupo</i>						
ARVAR	50,7 ± 3,6	49,7 ± 5,3	11,0 ± 1,6	10,6 ± 1,7	5,2 ± 0,8	4,8 ± 0,9
ARAG ^(u)	52,7 ± 4,0	52,4 ± 6,2	9,6 ± 1,4	7,0 ± 1,4	5,0 ± 0,7	3,9 ± 0,9
FUMAG ^(a)	44,8 ± 5,7	50,3 ± 4,4	6,0 ± 1,2	10,9 ± 1,6	2,8 ± 0,7 *	5,2 ± 0,7
FUMVAR	52,6 ± 4,7	48,2 ± 6,2	11,9 ± 1,1 ^a	10,3 ± 1,2	6,1 ± 0,6 ^a	5,2 ± 1,0

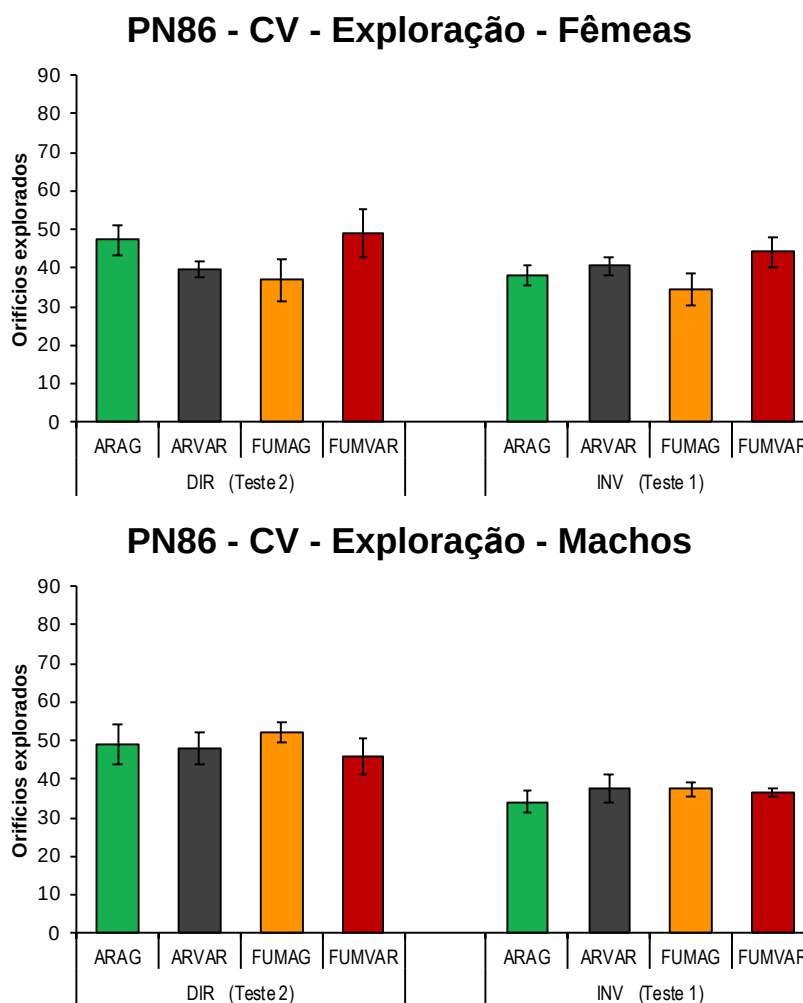
	TEMPO CNT		ELEVAÇÕES		AUTOLIMPEZAS	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>						
AR	21,2 ± 2,6	18,0 ± 2,6	6,3 ± 0,7	6,8 ± 0,8	2,0 ± 0,2	1,3 ± 0,2
FUMAÇA	20,5 ± 2,3	24,1 ± 2,4	5,5 ± 0,7	4,7 ± 0,6	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1
<i>Dados por Tratamento</i>						
ÁGUA	16,5 ± 2,4	19,3 ± 2,6	6,1 ± 0,7	5,4 ± 0,7	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,1
VARENICLINA	25,1 ± 2,4	22,9 ± 2,5	5,7 ± 0,7	6,0 ± 0,8	1,7 ± 0,2	1,1 ± 0,1
<i>Dados por Grupo</i>						
ARVAR	23,0 ± 3,9	23,8 ± 4,1 *	5,4 ± 0,9	7,3 ± 1,1	2,2 ± 0,3	1,0 ± 0,2
ARAG ^(u)	19,4 ± 3,5	12,2 ± 2,9	7,2 ± 1,1	6,2 ± 1,2	1,9 ± 0,3	1,6 ± 0,2
FUMAG ^(a)	13,4 ± 3,2 ^a	26,1 ± 3,7 *	4,9 ± 0,8	4,7 ± 0,8	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,2
FUMVAR	27,3 ± 2,7 ^b	21,9 ± 3,1	6,1 ± 1,1	4,7 ± 1,0	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2

ESPREITAMENTOS		
	Fêmeas	Machos
<i>Dados por Exposição</i>		
AR	13,5 ± 0,7	10,3 ± 0,4
FUMAÇA	12,3 ± 0,6	11,2 ± 0,5
<i>Dados por Tratamento</i>		
ÁGUA	12,1 ± 0,6	10,6 ± 0,5
VARENICLINA	13,6 ± 0,6	11,0 ± 0,4
<i>Dados por Grupo</i>		
ARVAR	13,6 ± 1,0	10,6 ± 0,5
ARAG ^(u)	13,3 ± 0,9	10,0 ± 0,7
FUMAG ^(a)	10,8 ± 0,8	11,1 ± 0,8
FUMVAR	13,6 ± 0,8	11,3 ± 0,6

Legenda: ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. *,^a $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

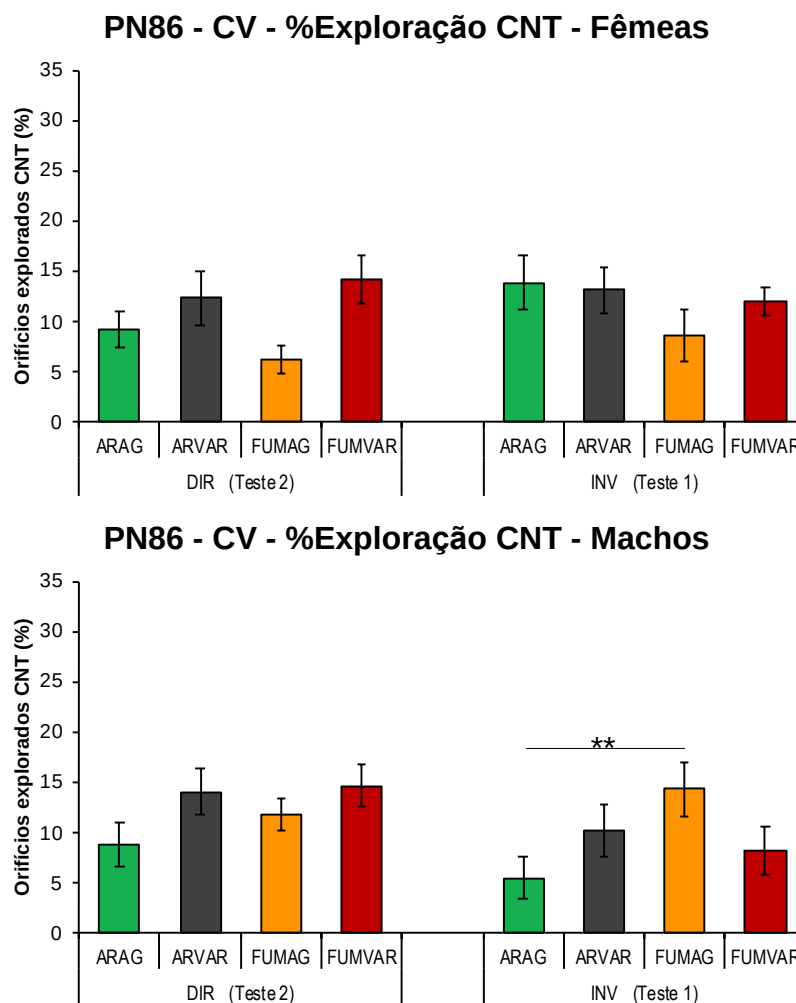
Figura 45 – Dados referentes à variável Exploração no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Exploração no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM.

Fonte: A autora, 2022.

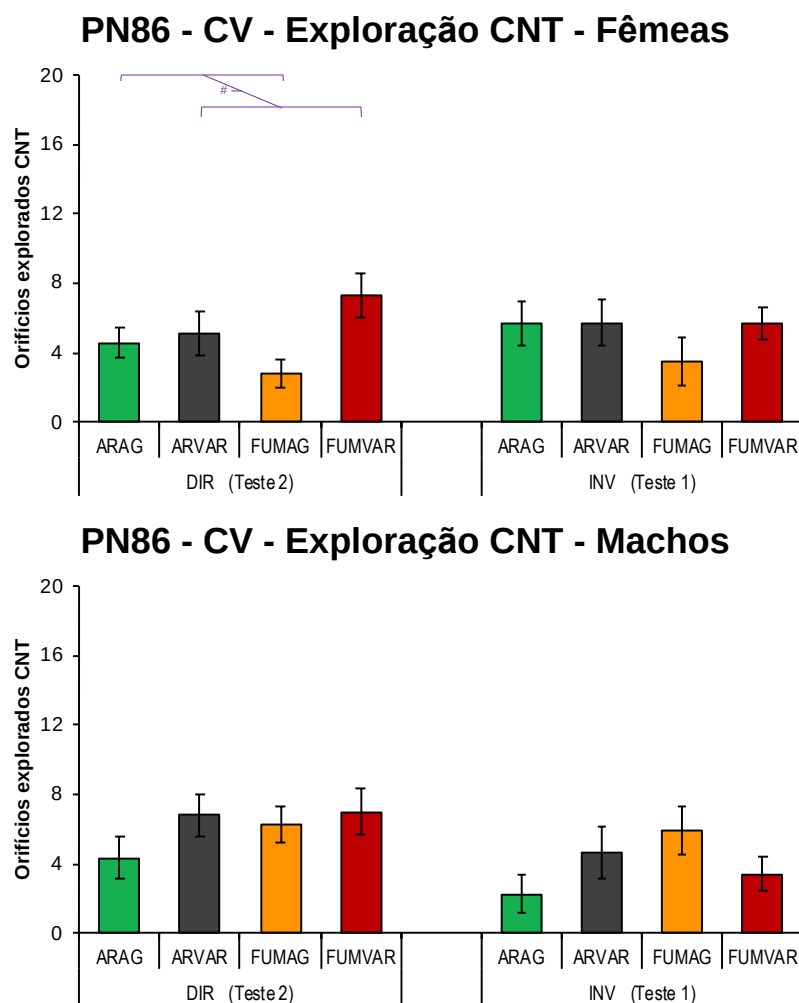
Figura 46 – Dados referentes à variável %Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável %Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. $n = 12$ animais por grupo. Valores são média $\pm$ EPM. Comparações par a par: ** $p < 0,01$.

Fonte: A autora, 2022.

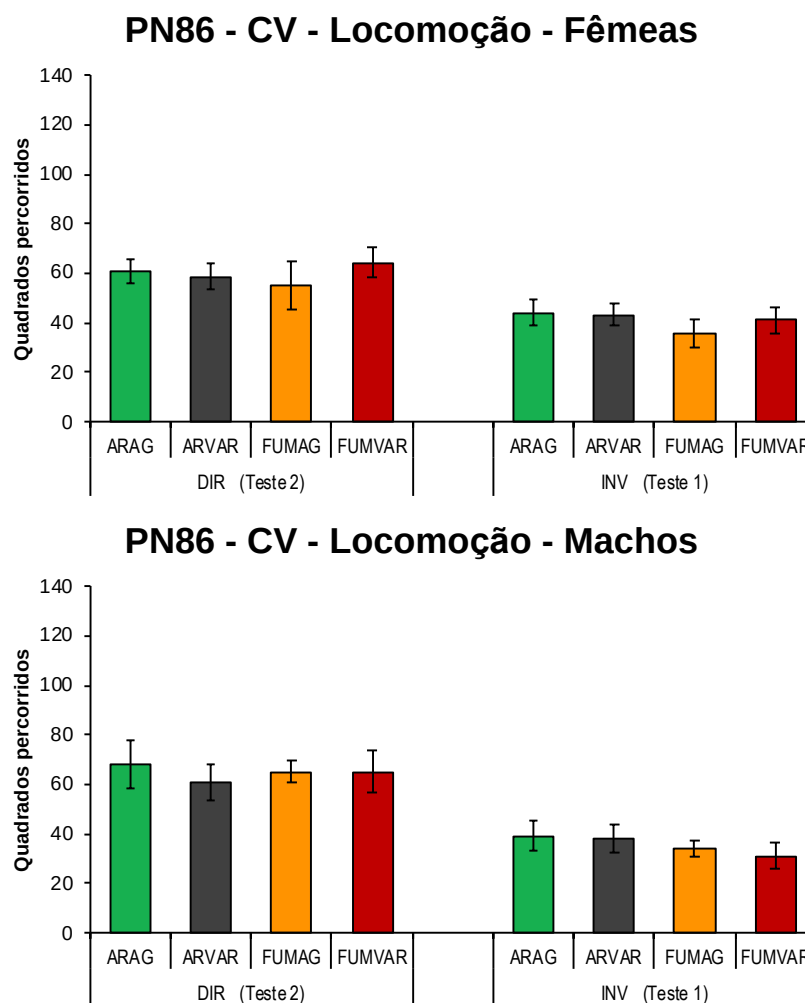
Figura 47 – Dados referentes à variável Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Exploração CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeitos de Tratamento: # $p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

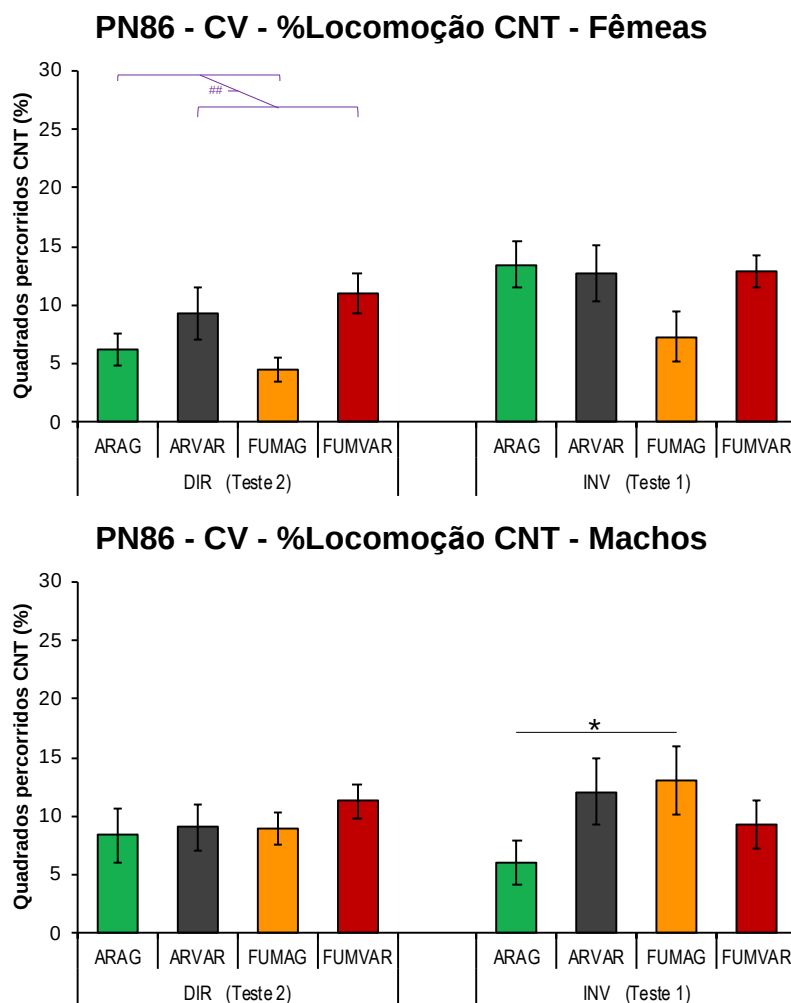
Figura 48 – Dados referentes à variável Locomoção no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Locomoção no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

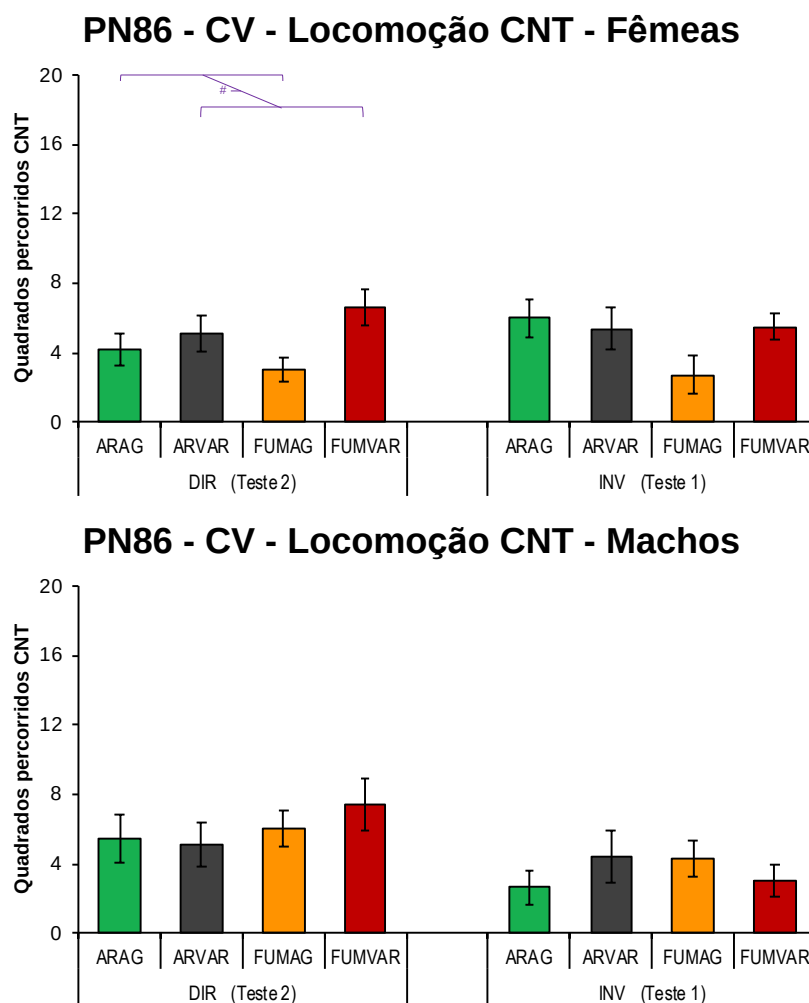
Figura 49 – Dados referentes à variável %Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável %Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeitos de Tratamento: $^{##}p < 0,01$. Comparações par a par: $^{*}p < 0,05$.

Fonte: A autora, 2022.

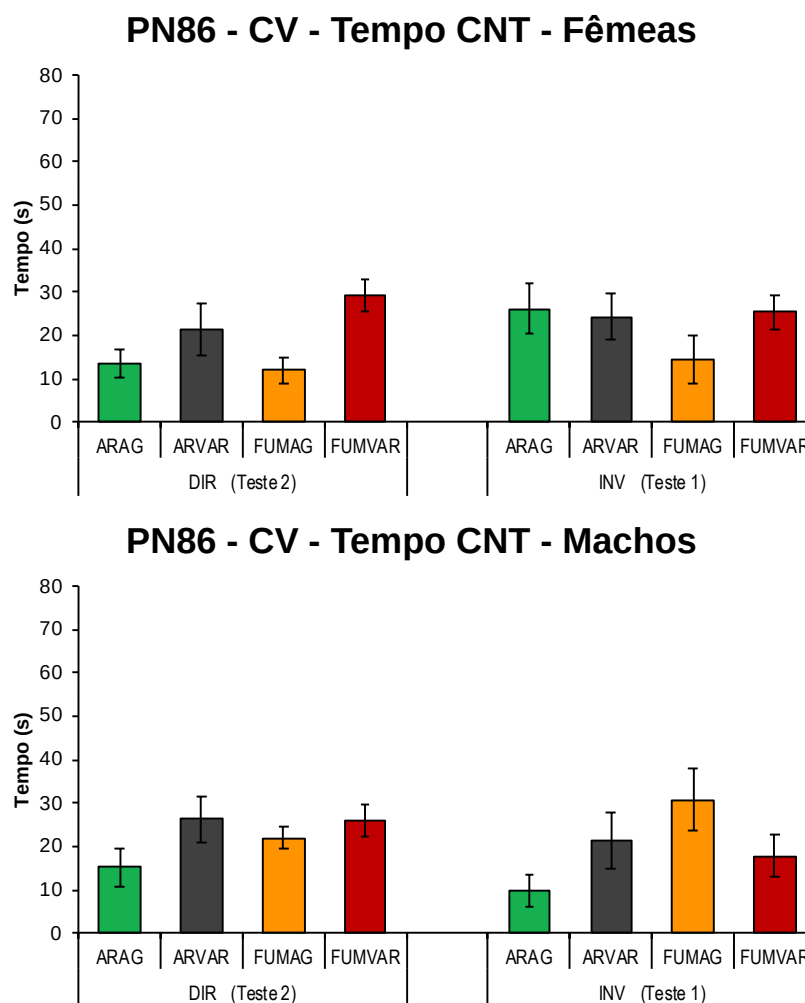
Figura 50 – Dados referentes à variável Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Locomoção CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeito de Tratamento: [#]p < 0,05.

Fonte: A autora, 2022.

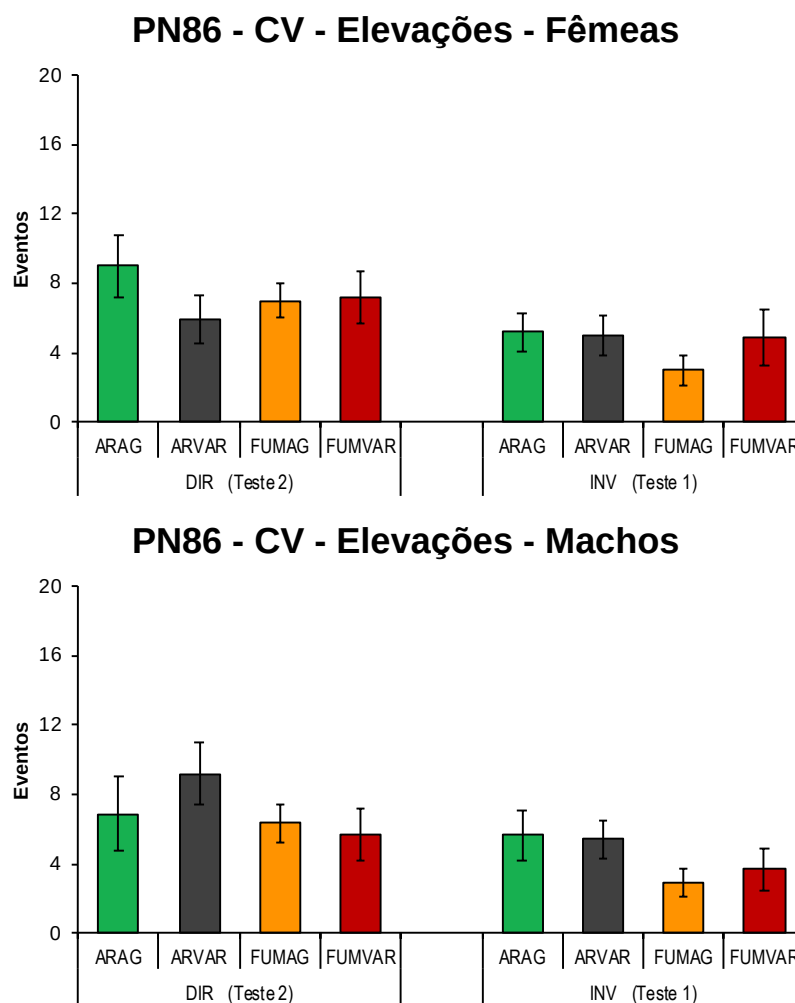
Figura 51 – Dados referentes à variável Tempo CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Tempo CNT no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

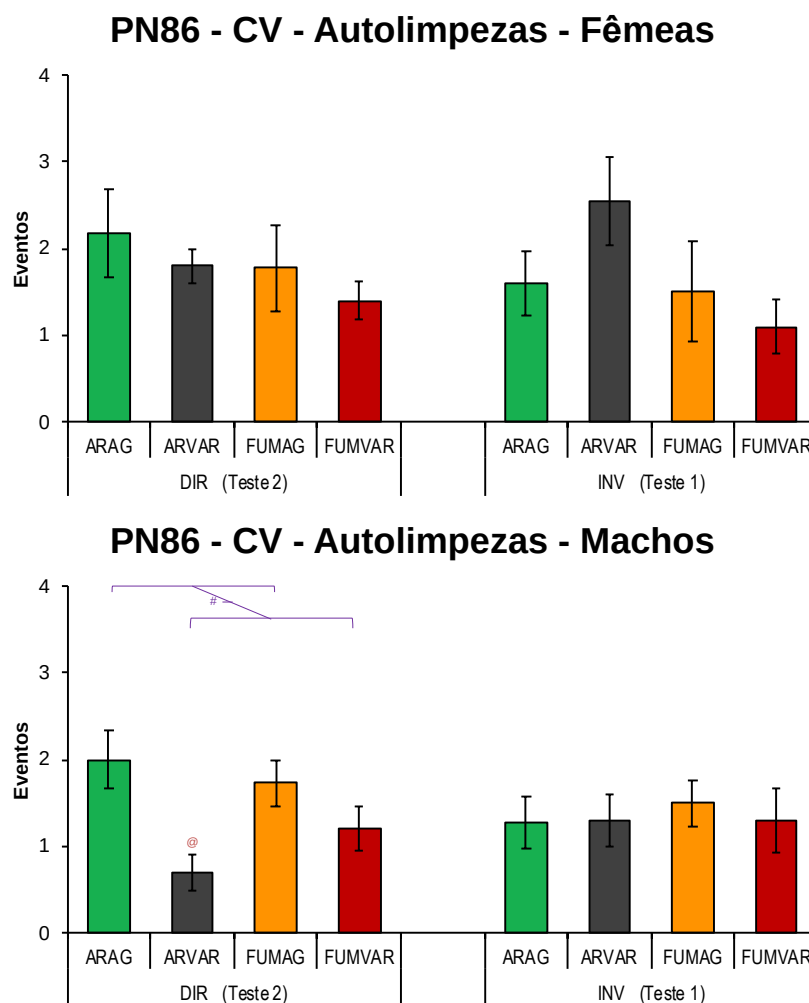
Figura 52 – Dados referentes à variável Elevações no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Elevações no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

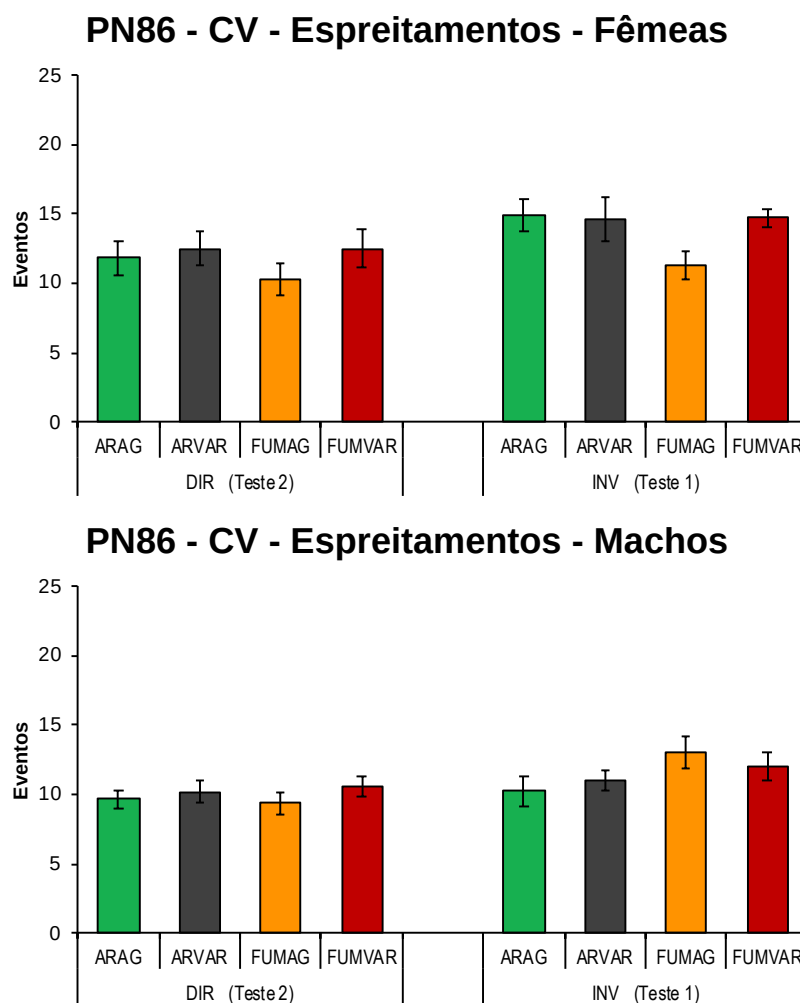
Figura 53 – Dados referentes à variável Autolimpezas no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Autolimpezas no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM. Efeitos de Tratamento: # $p < 0,05$. @ $p < 0,05$ ARAG vs. ARVAR.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 54 – Dados referentes à variável Espreitamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços durante a retirada (PN86).



Legenda: Dados referentes à variável Espreitamentos no Campo Vazado dos camundongos Suíços (por sexo), segmentados por tipo de exposição (fumaça e ar) e tratamento (vareniclina e água). ARAG: grupo exposto ao ar tratado com água; ARVAR: grupo exposto ao ar tratado com vareniclina; FUMAG: grupo exposto à fumaça tratado com água; FUMVAR: grupo exposto à fumaça tratado com vareniclina. DIR: sequência LCE seguida do CV; INV: sequência CV seguida do LCE. n = 12 animais por grupo. Valores são média ± EPM.

Fonte: A autora, 2022.

4.5. Resumo dos resultados

Tabela 18 – Resumo dos resultados para ingestão de líquido e consumo de ração.

	PERÍODO	
	Exposição	Retirada
Ingestão de líquido		
Fêmeas	▼	=
Machos	▼	=
Consumo de ração		
Fêmeas	▼	=
Machos	▼	=
▼ : redução para animais expostos à fumaça		
= : sem efeito significativo da exposição		

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 19 – Resumo dos resultados para massa corporal.

	PERÍODO	
	Exposição	Retirada
Massa corporal		
Fêmeas	▼	▼
Machos	▼	=
▼ : redução para animais expostos à fumaça		
= : sem efeito significativo da exposição		

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 20 – Resumo dos resultados para RMN.

	IDADE					
	PN56			PN86		
	Sexo	Fumaça	Vareniclina	Sexo	Fumaça	Vareniclina
Massa adiposa	=	=	=	=	=	=
Massa magra	▼ em F	=	=	▼ em F	=	=
Fluidos corporais	▼ em F	=	=	▼ em F	=	=
% de gordura	▲ em F	=	=	▲ em F	=	=
% de massa magra	=	=	=	=	=	=
▼ : redução ▲ : aumento = : sem efeito significativo						

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 21 – Resumo dos resultados para LCE.

RESUMO DOS RESULTADOS - LCE						
		PN56		PN86		
	Sequência	Fumaça	Vareniclina	Sequência	Fumaça	Vareniclina
%Tempo BA						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	▼	✓
	INV	▼	▼	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	▼	▼	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	▼	DIR	=	▲
	INV	▼	=	INV	▼	=
Tempo BA						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	▼	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	▼	▼	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	▲
	INV	▼	=	INV	▼	=
%Entradas BA						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	✓	INV	=	=
Entradas BA						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	▼	▼	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	▼	INV	▼	=
%Tempo CN						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Entradas BF						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	▲
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	✓	INV	=	=
Elevações						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	▼	✓	DIR	▲	▲
	INV	=	=	INV	▼	=
Autolimpezas						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	▲	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	▲
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	▲	✓
	DIR	=	=	DIR	▲	✓
	INV	=	▲	INV	▲	▲
Abaixamentos						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	▲
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	▼	▼	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	✓	INV	=	=
Espreitamentos						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
▼ : redução		▼▼ : redução adicional em relação à fumaça				
▲ : aumento		▲▲ : aumento adicional em relação à fumaça				
= : sem efeito		✓ : correção em relação à fumaça				

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 22 – Resumo dos resultados para CV.

RESUMO DOS RESULTADOS - CV						
		PN56		PN86		
	Sequência	Fumaça	Vareniclina	Sequência	Fumaça	Vareniclina
Exploração						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	▼	INV	=	=
%Exploração CNT						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	▼	✓	DIR	=	▲
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	▲	✓
Exploração CNT						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	▲▲
	DIR	▼	✓	DIR	=	▲▲
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	▲	=
Locomoção						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	=	INV	=	=
%Locomoção CNT						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	▲▲
	DIR	▼	✓	DIR	=	▲▲
	INV	=	=	INV	▼	✓
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	▼	=
Locomoção CNT						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	▼	✓
	DIR	▼	✓	DIR	=	▲▲
	INV	=	=	INV	=	▲▲
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	▼	INV	=	=
Tempo CNT						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	▲▲
	DIR	▼	✓	DIR	=	▲▲
	INV	▲	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	▲	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	▲	=
Elevações						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	=	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
Autolimpezas						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	▼	✓	INV	=	=
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	▼
	INV	=	=	INV	=	=
Espreitamentos						
Fêmeas	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	▼	✓
Machos	Total (DIR + INV)	=	=	Total (DIR + INV)	=	=
	DIR	=	=	DIR	=	=
	INV	=	=	INV	=	=
▼ : redução		▼▼ : redução adicional em relação à fumaça				
▲ : aumento		▲▲ : aumento adicional em relação à fumaça				
= : sem efeito		✓ : correção em relação à fumaça				

Fonte: A autora, 2022.

5. DISCUSSÃO

5.1. Ingestão de água

O presente estudo observou uma redução da ingestão hídrica causado pela exposição à fumaça de cigarro. Apesar da ausência de trabalhos publicados avaliando os efeitos da exposição à fumaça de cigarro na ingestão de líquidos, dados prévios em nosso laboratório, ainda não publicados, demonstrou que a exposição à fumaça de cigarro afetou o consumo de água, reduzindo-o drasticamente para ambos os sexos (ISNARDO-FERNANDES, 2021).

Evidências da ação da nicotina na supressão da ingestão hídrica são apontadas em (GRUNBERG; BOWEN; WINDERS, 1986) ao observar hipodipsia em um modelo de exposição à nicotina em ratos, utilizando minibomba osmótica, nas doses de 4, 8 e 12 mg/kg. Levin e colaboradores (1987), também observou redução na ingestão de água a partir do primeiro dia do implante subcutâneo do pellet de nicotina. Adicionalmente, se demonstrou que a nicotina, quando administrada em dose única (0,15 ou 0,45 mg/kg), também suprime o consumo de líquido, em ratos previamente privados de água (MÜNSTER; BÄTTIG, 1975).

É bem estabelecido que a nicotina possui ação antidiurética devido a liberação de vasopressina (CASTRO DE SOUZA; ROCHA E SILVA JR., 1977). Esse efeito também é observado em roedores. Em ratos, a injeção subcutânea de nicotina inibiu a diurese por 45 minutos, esse efeito não ocorre após a remoção da pituitária. Em humanos, um cigarro inibe a diurese por 2 a 3 horas (BURN; TRUELOVE; BURN, 1945). Desta forma, um dos mecanismos envolvidos na menor ingestão de água observada nos animais expostos à fumaça de cigarro pode estar relacionado ao efeito antidiurético da nicotina, promovendo maior retenção de água e, consequentemente, menor ingestão de água.

Apesar da evidência de redução da ingestão hídrica observada no presente trabalho, esta redução não parece ter impactado significativamente os animais quando se considera as observações qualitativas da saúde deles (como pelagem e comportamento no biotério). É relevante mencionar que mesmo os animais expostos à fumaça tinham 16 h disponíveis no biotério para recuperar quaisquer déficits relevantes de ingestão observados durante o procedimento de exposição. Um fator adicional a ser considerado em uma extensão do presente projeto é o possível efeito aversivo do ambiente contendo fumaça de cigarro no comportamento de ingestão de água.

5.2. Consumo de ração

Assim como os dados de ingesta hídrica, os resultados do consumo de ração indicaram uma redução de consumo nos grupos de animais que foram expostos à fumaça de cigarros. Após o período da exposição, os animais que receberam fumaça de cigarro apresentaram um aumento do consumo em relação aos animais controle até o momento que o consumo de ambos os grupos se tornou equivalentes.

Esta redução no consumo é consistente com dados apresentados por ISNARDO-FERNANDES (2021), que utilizou camundongos da mesma cepa e idades aqui estudadas. A hipofagia causada pela exposição à fumaça de cigarro está em consonância com a anorexia habitualmente observada em tabagistas (SCHWARTZ; BELLISSIMO, 2021; AUDRAIN-MCGOVERN; BENOWITZ, 2011) e em roedores expostos à nicotina (GRUNBERG; BOWEN; MORSE, 1984; GRUNBERG; BOWEN; WINDERS, 1986). Por outro lado, tanto a interrupção abrupta do tabagismo (O'HARA *et al.*, 1998; WILLIAMSON *et al.*, 1991) quanto a interrupção do tratamento crônico com nicotina (BISHOP; PARKER; COSCINA, 2002; LEVIN *et al.*, 1987) causam um aumento no consumo de alimentos e no peso corporal.

Os mecanismos pelos quais fumar reduz o consumo de alimentos são complexos e não foram totalmente compreendidos. Considerando os mecanismos fisiológicos, os alvos da nicotina, receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR), são expressos tanto centralmente quanto periféricamente (JO; TALMAGE; ROLE, 2002). No hipotálamo, os subtipos nAChR desempenham um papel central na regulação do apetite e na homeostase energética (STOJAKOVIC *et al.*, 2017). Periféricamente, o nAChR também pode ter como alvo a regulação hormonal do apetite. A nicotina demonstrou afetar alvos periféricos, como o paladar e as vias aferentes vagais, que por sua vez afetam o consumo alimentar (BOUCHER *et al.*, 2003; DANI; BERTRAND, 2007; OLIVEIRA-MAIA *et al.*, 2009).

5.3. Dados somáticos: massa corporal e composição corporal

No presente estudo, a massa corporal dos camundongos aumentou ao longo dos dias, compatível com o fato de que os animais estão em fase de desenvolvimento visto que são adolescentes. Conforme esperado, observamos que as massas corporais dos machos

permaneceram maiores do que as das fêmeas ao longo dos períodos avaliados. O padrão de crescimento da massa corporal foi afetado pela exposição à fumaça de cigarro em ambos os sexos durante a exposição. Entretanto, após o término da exposição, as diferenças entre os grupos reduziram-se gradativamente.

Foi amplamente demonstrado que a ação da nicotina tem como um de seus efeitos a perda de peso, e a cessação no uso desta promove ganho de massa tanto em humanos, quanto em modelos animais (GRUNBERG, 1986, LEVIN *et al.*, 1987; PERKINS *et al.*, 1987). A nicotina tem efeitos na regulação do sistema nervoso central da alimentação e do gasto energético. A regulação do comportamento alimentar e da taxa metabólica pelo cérebro ocorre no hipotálamo, que integra sinais periféricos de saciedade e adiposidade, bem como influências motivacionais e emocionais centrais (AUDRAIN-MCGOVERN; BENOWITZ, 2011). A liberação de hormônios como norepinefrina, dopamina, serotonina e ácido γ -aminobutírico pelo sistema nervoso central influenciam a supressão da alimentação e aumentam a taxa metabólica (como POMC e CART), bem como aquelas que suprimem a alimentação e diminuem a taxa metabólica (como o NPY, AgRP, MCH e orexina) (VALASSI; SCACCHI; CAVAGNINI, 2008).

ISNARDO-FERNANDES (2021) demonstrou que a exposição à fumaça de cigarro durante a adolescência de camundongos Suíço diminui o ganho de massa corporal e, após o término da exposição, os valores de massa se tornaram semelhantes aos dos animais não expostos à fumaça. O mesmo também ocorre quando a exposição à nicotina é realizada através da administração de injeções (LIU *et al.*, 2014; BIALA; WEGLIŃSKA, 2005).

Esses resultados são similares às alterações de peso corporal observados em fumantes. Fumantes possuem massa corporal menor do que não fumantes, em média 4 kg a menos, e a interrupção do tabagismo leva a um crescimento dessa massa, o que é frequentemente apontado como causa de recaídas e motivo para não interromper o uso do tabaco (AUDRAIN-MCGOVERN; BENOWITZ, 2011; PISTELLI, AQUILINI & CARROZZI, 2009). Os mecanismos de ganho de peso após a cessação do tabagismo incluem diminuição da taxa metabólica e aumento da ingestão calórica, efeitos opostos aos produzidos pela ação da nicotina (AUDRAIN-MCGOVERN & BENOWITZ, 2011).

O ganho ponderal resultante da interrupção do tabagismo já foi relacionado ao aumento da gordura corporal (AUDRAIN-MCGOVERN; BENOWITZ, 2011), corroborando nossos resultados que evidenciam uma redução da massa adiposa no grupo exposto à fumaça de cigarro, consistente com o menor ganho de massa corporal observado. No entanto, 30 dias

após, em PN86, essa diferença não persistiu, levando a acreditar que a similaridade das massas corporais observadas seja em decorrência do ganho de massa gorda.

Mangubat e colaboradores (2012) ponderam que as mudanças na composição corporal sejam mediadas através da interação da nicotina com os nAChRs presentes em adipócitos. Visto que Liu e colaboradores (2004) descobriram que os adipócitos de ratos expressam subunidades $\alpha 1-7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 1-4$, δ e ϵ . A análise imunocitoquímica também sugeriu a presença de subunidades $\alpha 7$ e $\beta 2$ em adipócitos e mostraram alta afinidade de ligação para nicotina em adipócitos (LIU; MIZUTA; MATSUKURA, 2004).

5.4. Testes comportamentais

No presente estudo, foram notadas diferenças expressivas nos resultados em função da ordem dos testes comportamentais aos quais os animais foram submetidos. A exposição prévia a um ambiente novo tem sido usada em estudos que avaliam o comportamento de ansiedade de roedores. Normalmente, é realizado o teste de Campo Aberto ou Campo Vazado e, em seguida, é realizado o teste de Labirinto em Cruz Elevado.

Em alguns estudos, a exposição a um novo ambiente imediatamente antes do teste no LCE leva a um aumento da atividade locomotora neste e a uma maior chance de entrada nos braços abertos (PELLOW et al., 1985, PELLOW; FILE, 1986, LISTER, 1987). O mesmo foi visto em nossos resultados, apesar dos testes serem executados com um intervalo de 24h.

Na literatura, poucos estudos se debruçam especificamente sobre os efeitos da ordem dos testes comportamentais, apesar das baterias de testes comportamentais serem amplamente utilizadas. Experimentos realizados por McIlwain e colaboradores investigaram o comportamento de camundongos em uma sequência de testes que incluía: inibição pelo pré-pulso, medo condicionado, campo aberto, rotarod e placa quente. Seus resultados observaram que animais testados apresentaram comportamento alterado após alguns testes (campo aberto rotarod e placa quente) quando comparados aos animais naïve. Em contrapartida, os testes de inibição pelo pré-pulso e medo condicionado não apresentaram efeito significativo (MCILWAIN et al., 2001). Já Blokland e colaboradores testaram, em ratos, diferentes sequências de testes que incluíam campo aberto, teste de nado forçado e labirinto em zero. Seus achados indicaram que o comportamento dos ratos nos testes de campo aberto e nado forçado eram dependentes da ordem na bateria de testes (BLOCKLAND et al., 2012).

Tendo em vista o exposto acima, laboratórios em que animais experimentais são frequentemente submetidos a baterias de testes comportamentais devem considerar possíveis efeitos da pré-exposição a novos ambientes ao delinear experimentos que incluam o LCE (WALF; FRYE, 2007).

5.4.1. Labirinto em Cruz Elevado

No LCE, os animais expostos à fumaça de cigarro apresentaram maior nível de ansiedade em PN56, portanto 10 dias após a interrupção da exposição, mas ainda na vigência do tratamento com vareniclina, do que os demais. Esses achados são semelhantes estudos anteriores realizados em nosso laboratório, em que demonstramos que a retirada de curto prazo 5 e 10 dias (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2013; ISNARDO-FERNANDES, 2021, respectivamente) da fumaça de cigarro na adolescência tem efeito ansiogênico no teste do labirinto em cruz elevado. Em outro estudo, a abstinência espontânea pós-exposição de 14 dias à fumaça de tabaco (0,73 mg nicotina/cigarro) em ratos adolescentes levou a um comportamento semelhante à ansiedade no LCE com 1, 3 e 7 dias de retirada (DE LA PEÑA *et al.*, 2016). Apesar das evidências da presença de substâncias não nicotínicas e neuroativas na fumaça do tabaco, a neurobiologia da abstinência à nicotina tem sido extensivamente estudada em modelos roedores, sendo esta responsável por uma série de efeitos sobre o sistema nervoso (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2010; BRUIJNZEEL, 2012; ROSE 2006; VILLÉGIER *et al.*, 2010). Corroborando a hipótese de que a nicotina é o principal contribuinte para os efeitos ansiogênicos da fumaça de cigarro durante a privação em nosso trabalho, estudos anteriores em roedores demonstraram que a exposição à nicotina durante a adolescência e posterior privação resulta em diminuição do tempo gasto nos braços abertos do LCE (ABREU-VILLAÇA *et al.*, 2008; GRABUS; MARTIN; DAMAJ, 2005; TRAUTH; SEIDLER; SLOTKIN, 2000). Ademais, no presente estudo observamos que a cessação da fumaça do tabaco produz sintomas de abstinência duradouros, a saber: aumento dos níveis de comportamento associado à ansiedade no LCE em PN86 (41 dias após o último dia de exposição). Esses achados são consistentes com outros estudos experimentais que demonstraram que a interrupção espontânea da exposição da fumaça do tabaco (0,8 mg nicotina/cigarro) produz comportamentos semelhantes à ansiedade e depressão observados nos dias 1, 15, 30, 60 e 90 após a cessação em camundongos (PONZONI *et al.*, 2015, 2020).

Pouco se sabe sobre o papel das diferenças de idade e sexo nos sintomas de abstinência de nicotina associados à cessação da exposição à fumaça do tabaco. Nossos dados sugerem níveis maiores de ansiedade em machos do que fêmeas durante a retirada curta da fumaça do tabaco. Diferenças sexuais na abstinência de nicotina já foram descritos tanto em camundongos como em ratos adolescentes e/ou adultos. Ratos Sprague Dawley de ambos os sexos e adolescentes apresentaram redução de atividade locomotora e sinais somáticos de abstinência, porém esses mesmos achados não foram encontrados em ratos Wistar de ambos os sexos e na mesma idade (HAMILTON *et al.*, 2010; TORRES *et al.*, 2013). Em camundongos adolescentes machos e fêmeas, a abstinência espontânea ou precipitada por mecamilamida da nicotina leva a sinais somáticos de abstinência, aumento da atividade locomotora e hiperalgesia, mas não ansiedade e disforia (JACKSON *et al.*, 2009; KOTA *et al.*, 2007; KOTA; MARTIN; DAMAJ, 2008). Já em adultos, a remoção de minibombas de nicotina levou a uma maior anedonia em ratos machos (6-96h após a retirada) do que em ratas (somente observado efeito após 6h de retirada) (TAN *et al.*, 2019). Além disso, baixas doses de mecamilamina produziram maior anedonia em machos do que fêmeas e sinais de abstinência somáticos precipitados foram detectados em machos mas não em fêmeas (TAN *et al.*, 2019). No entanto, comportamento associado à ansiedade não foi observado em ratos machos e fêmeas após a retirada das minibombas (TAN *et al.*, 2019). Já em camundongos, a retirada de nicotina espontânea e precipitada por mecamilamina leva a aumento do comportamento associado a ansiedade, hiperalgesia e aumento de atividade locomotora em machos mas não em fêmeas (KOTA *et al.*, 2007; KOTA; MARTIN; DAMAJ, 2008). Em conjunto, os dados sugerem que os sintomas de abstinência à nicotina podem ser mais graves em camundongos ou ratos machos do que em fêmeas.

Não está claro ,a classificação da vareniclina como ansiolítica ou ansiogênica, e menos ainda se sabe sobre seus efeitos quando administrados durante a adolescência. Turner e colaboradores (2010) avaliaram os efeitos da administração aguda e crônica de nicotina de vareniclina no comportamento associado à ansiedade utilizando o LCE, o teste *marble burying* e o teste de hipofagia induzida por novidade. O grupo demonstrou que a administração aguda de vareniclina teve efeitos ansiolíticos para o teste *marble burying* e hipofagia induzida por novidade. Turner e colaboradores (2011) também observaram efeito ansiolítico relacionado ao uso da vareniclina para o teste *marble burying*. Quando associada à exposição prévia à nicotina, a vareniclina diminui os déficits de aprendizado e memória durante abstinência em camundongos (RAYBUCK *et al.*, 2008). Além disso, a vareniclina reduz os sinais de abstinência somáticos precipitados por mecamilamina, hiperalgesia e

disforia em camundongos (BAGDAS et al., 2018). A vareniclina e a citisina diminuem o comportamento do tipo depressivo (anedonia) em ratos durante a abstinência de nicotina (IGARI et al., 2014). Em uma revisão sistemática, Thomas e colaboradores (2015) conduziram uma meta-análise para determinar o risco de eventos adversos neuropsiquiátricos associados à vareniclina em humanos em estudos controlados. Os resultados mostraram que o tratamento com a dose máxima de vareniclina (1 mg 2x/dia) foi associada a uma redução de 25% do risco de ansiedade. De encontro a esses achados, Parker (2016), em uma revisão, descreveu a vareniclina como uma de muitas drogas farmacoterapêuticas que apresentam reações psiquiátricas adversas, incluindo ansiedade. Além disso, um efeito ansiogênico é descrito pela *Medicines and Healthcare Regulatory Agency of United Kingdom* (2018) como efeito adverso comum relatado por pacientes tratados com vareniclina. No presente trabalho, a vareniclina falhou em reverter os efeitos ansiogênicos da retirada da exposição à fumaça de cigarro em PN56, logo ainda na vigência do tratamento, só sendo observado reversão desses efeitos para uma das variáveis corrigidas (%Entradas BA) em machos. Já em PN86 apenas nas fêmeas é observado reversão dos efeitos ansiogênicos da retirada longa à fumaça de tabaco.

A terapia de reposição de nicotina, a vareniclina e a bupropiona são medicamentos aprovados pela FDA dos EUA para o tratamento da cessação do tabagismo (CROOKS; BARDO; DWOSKIN, 2014). Todos esses medicamentos para parar de fumar aprovados pela FDA diminuem os sintomas de abstinência em roedores expostos à nicotina por meio de minibombas. Muitas classes farmacológicas diferentes de compostos foram estudadas em roedores que se tornaram dependentes usando minibombas. Entretanto, atualmente, não é bem conhecido se os medicamentos para cessação do tabagismo aprovados pela FDA diminuem a abstinência em roedores que se tornaram dependentes usando outros métodos, como injeções de nicotina, ingestão oral de nicotina, exposição à fumaça do tabaco ou exposição a aerossóis de cigarro eletrônico. Em um estudo anterior de nosso grupo, em que avaliou os efeitos da exposição via oral à nicotina e subsequente tratamento com vareniclina, a vareniclina falhou em reverter os efeitos ansiogênicos da retirada nicotina no LCE na vigência do tratamento, entretanto, com 10 dias após a interrupção do tratamento a droga se mostrou ansiolítica (CLAUDIO-NETO, 2016). Desta forma, mais estudos são necessários a fim de elucidar a fármaco-segurança da indicação da terapia para reversão da dependência à nicotina com a vareniclina durante a adolescência.

5.4.2. Campo Vazado

No presente estudo, mostramos que a exposição à fumaça do tabaco na adolescência afeta o comportamento de busca por novos estímulos em camundongos, e o tratamento com vareniclina, em alguns parâmetros, foi capaz de reverter as alterações comportamentais causadas pela exposição ao tabaco. O comportamento exploratório de orifícios no teste de campo vazado foi aqui utilizado como medida de busca de novidades (ABREU-VILLAÇA et al., 2006; 2015; REDOLAT et al., 2009; VAGLENOVA et al., 2004). A exposição à fumaça de cigarros durante a adolescência alterou esse comportamento. Abreu-Villaça (2015) atribui essas diferenças de comportamento não só à nicotina presente nos cigarros, como também outros componentes presentes na fumaça gerada pela queima do tabaco.

Vários traços comportamentais, incluindo a busca de novidades, têm sido associados ao uso de drogas (ABREU-VILLAÇA et al., 2006; BELIN; DEROCHE-GAMONET, 2012; REDOLAT et al., 2009), tanto que tem sido sugerido que a exposição a drogas de abuso altera esses traços comportamentais e que esses traços facilitam a experimentação de drogas. Os mecanismos implícitos a esta associação não são bem conhecidos. No entanto, comportamentos exploratórios como a busca de novidades têm sido utilizados como marcadores de vulnerabilidade para mecanismos neurobiológicos do processo de dependência de drogas (BELIN; DEROCHE-GAMONET, 2012). Dada a associação entre drogas de abuso e busca de novidades, estudos realizados em modelos animais expostos à fumaça do tabaco podem esclarecer se os resultados comportamentais são capazes de prever a vulnerabilidade à experimentação de drogas e se abordagens farmacológicas utilizadas na cessação do tabagismo são capazes de reverter os efeitos causados pela exposição ao tabaco.

A diminuição do comportamento de busca por novidades em camundongos FUM é consistente com estudos anteriores realizados em ratos, que observaram uma diminuição da exploração de orifícios em animais expostos à nicotina tanto de forma aguda, quanto cronicamente (CASARRUBEA et al., 2015; 2020). E, ao utilizar tais parâmetros para avaliação da ansiedade (TAKEDA, TSUJI, MATSUMIYA, 1998), é possível correlacionar estes resultados à evidências de que fumantes relatam um nível mais alto de ansiedade e estresse em comparação aos não fumantes (PARROTT; MURPHY, 2012), e que possuem um risco aumentado para transtornos de ansiedade e ataques de pânico (BRUIJNZEEL, 2012; MOYLAN et al., 2013). Esses animais também apresentaram atividade locomotora reduzida. Até onde sabemos, não há estudos anteriores que investigaram os efeitos da exposição à

fumaça do tabaco com o mesmo nível de nicotina na atividade locomotora ou na busca de novidades. Porém, Abreu-Villaça e colaboradores (2015) utilizaram cigarros com baixa e alta quantidade de nicotina e os resultados para o grupo exposto à baixa dose de nicotina se assemelham aos desfechos observados nesse experimento.

Quanto às diferenças de sexo, houve uma redução em fêmeas no comportamento de busca de novidades em camundongos. Este resultado está em consonância com os anteriores, que também demonstraram que as mulheres são mais suscetíveis aos efeitos do tabaco e da nicotina (O'DELL; TORRES, 2014). Os efeitos observados após a privação de nicotina foram descritos anteriormente (ADRIANI et al., 2004; IRVINE et al., 2001; KOTA; ROBINSON; DAMAJ, 2009) e parecem indicar que a exposição à nicotina é capaz de promover alterações funcionais tardias. Esse efeito pode ser interpretado como um sintoma de abstinência.

O conjunto atual de resultados compreende evidências de que a exposição à fumaça de cigarro durante a adolescência afeta os resultados comportamentais muito tempo após o término da exposição.

CONCLUSÕES

- a) A exposição à fumaça do cigarro reduz a ingestão de água e o consumo de ração em camundongos adolescentes, o que não foi corrigido pelo tratamento concomitante com vareniclina. Verificou-se que a redução de consumo e ingestão ocorre principalmente durante a exposição. Após a interrupção da exposição, a ingestão e o consumo retornam à normalidade;
- b) O desenvolvimento da massa corporal dos camundongos foi prejudicado pela exposição à fumaça do cigarro. Este prejuízo não foi revertido pelo tratamento com a vareniclina. Somente após o término da exposição, observou-se uma normalização do desenvolvimento de massa corporal. Em fêmeas, foi observada redução de massa mesmo após o fim da exposição;
- c) A composição corporal não foi afetada pelo tratamento com a vareniclina ou pela exposição à fumaça de cigarro. As principais diferenças observadas estão relacionadas ao dimorfismo sexual. Fêmeas apresentaram menos massa magra e maior percentual de gordura nas duas idades estudadas;
- d) O tratamento com vareniclina foi capaz de normalizar os alguns parâmetros do comportamento associados à ansiedade no Labirinto em Cruz Elevado e os comportamentos associados à busca por novidade no Campo Vazado dos camundongos durante a vigência do tratamento, sem causar alterações na retirada;
- e) De forma geral, o tratamento com vareniclina não apresentou efeitos adversos a longo prazo e os seus efeitos durante a vigência do tratamento sugerem que esta droga é capaz de reverter um quadro que potencialmente facilitaria uma recaída logo após a interrupção do uso do cigarro na adolescência.

REFERÊNCIAS

ABREU-VILLAÇA, Yael et al. Combined exposure to nicotine and ethanol in adolescent mice differentially affects anxiety levels during exposure, short-term, and long-term withdrawal. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 3, p. 599-610, 2008.

ABREU-VILLACA, Yael et al. Combined exposure to tobacco smoke and ethanol during adolescence leads to short-and long-term modulation of anxiety-like behavior. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 133, n. 1, p. 52-60, 2013.

ABREU-VILLAÇA, Yael *et al.* Exposure to tobacco smoke containing either high or low levels of nicotine during adolescence: differential effects on choline uptake in the cerebral cortex and hippocampus. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 12, n. 7, p. 776-780, 2010.

ABREU-VILLAÇA, Yael *et al.* Individual differences in novelty-seeking behavior but not in anxiety response to a new environment can predict nicotine consumption in adolescent C57BL/6 mice. **Behavioural brain research**, v. 167, n. 1, p. 175-182, 2006.

ABREU-VILLAÇA, Yael *et al.* Tobacco smoke containing high or low levels of nicotine during adolescence: effects on novelty-seeking and anxiety-like behaviors in mice. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 10, p. 1693-1703, 2015.

ADRIANI, Walter et al. Behavioral and neurochemical vulnerability during adolescence in mice: studies with nicotine. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 5, p. 869-878, 2004.

ADRIANI, Walter; CHIAROTTI, Flavia; LAVIOLA, Giovanni. Elevated novelty seeking and peculiar d-amphetamine sensitization in periadolescent mice compared with adult mice. **Behavioral neuroscience**, v. 112, n. 5, p. 1152, 1998.

ADRIANI, Walter; LAVIOLA, Giovanni. A unique hormonal and behavioral hyporesponsivity to both forced novelty and d-amphetamine in periadolescent mice. **Neuropharmacology**, v. 39, n. 2, p. 334-346, 2000.

ADRIANI, Walter; LAVIOLA, Giovanni. Elevated levels of impulsivity and reduced place conditioning with d-amphetamine: two behavioral features of adolescence in mice. **Behavioral neuroscience**, v. 117, n. 4, p. 695, 2003.

ALBERTIN, Sergey V. et al. Lesions of the medial shell of the nucleus *accumbens* impair rats in finding larger rewards, but spare reward-seeking behavior. **Behavioural brain research**, v. 117, n. 1-2, p. 173-183, 2000.

ANTHENELLI, Robert M. *et al.* Neuropsychiatric safety and efficacy of varenicline, bupropion, and nicotine patch in smokers with and without psychiatric disorders (EAGLES): a double-blind, randomised, placebo-controlled clinical trial. **The Lancet**, v. 387, n. 10037, p. 2507-2520, 2016.

AUDRAIN-MCGOVERN, Janet; BENOWITZ, N. L. Cigarette smoking, nicotine, and body weight. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, n. 1, p. 164-168, 2011.

AZAM, Layla; CHEN, Yiling; LESLIE, Frances M. Developmental regulation of nicotinic acetylcholine receptors within midbrain dopamine neurons. **Neuroscience**, v. 144, n. 4, p. 1347-1360, 2007.

BAGDAS, Deniz et al. New insights on the effects of varenicline on nicotine reward, withdrawal and hyperalgesia in mice. **Neuropharmacology**, v. 138, p. 72-79, 2018.

BAILEY, Steffani R. *et al.* Efficacy and tolerability of pharmacotherapies to aid smoking cessation in adolescents. **Pediatric Drugs**, v. 14, n. 2, p. 91-108, 2012.

BARLOW, David H. Anxiety and Its Disorders, the nature and treatment of anxiety and panic. **American Journal of Psychiatry**, v. 159, n. 8, p. 1453-1453, 2002.

BASTOS, Francisco Inácio Pinkusfeld Monteiro *et al.* III Levantamento Nacional sobre o uso de drogas pela população brasileira. 2017.

BELIN, David; DEROCHÉ-GAMONET, Véronique. Responses to novelty and vulnerability to cocaine addiction: contribution of a multi-symptomatic animal model. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 2, n. 11, p. a011940, 2012.

BENES, Francine M.; TAYLOR, Jill Bolte; CUNNINGHAM, Miles C. Convergence and plasticity of monoaminergic systems in the medial prefrontal cortex during the postnatal period: implications for the development of psychopathology. **Cerebral Cortex**, v. 10, n. 10, p. 1014-1027, 2000.

BENOWITZ, N. L. Pharmacology of Nicotine: Addiction, Smoking-Induced Disease, and Therapeutics. **Annu. Rev. Psychol. Toxicol.**, p. 57-71, 2009.

BERNHEIM, Aurélien; HALFON, Olivier; BOUTREL, Benjamin. Controversies about the enhanced vulnerability of the adolescent brain to develop addiction. **Frontiers in pharmacology**, v. 4, p. 118, 2013.

BHATNAGAR, Aruni *et al.* New and emerging tobacco products and the nicotine endgame: the role of robust regulation and comprehensive tobacco control and prevention: a presidential advisory from the American Heart Association. **Circulation**, v. 139, n. 19, p. e937-e958, 2019.

BIALA, Grazyna; WEGLINSKA, Barbara. Blockade of the expression of mecamylamine-precipitated nicotine withdrawal by calcium channel antagonists. **Pharmacological research**, v. 51, n. 5, p. 483-488, 2005.

BIDWELL, L. Cinnamon *et al.* Novelty seeking as a phenotypic marker of adolescent substance use. **Substance abuse: research and treatment**, v. 9, p. SART. S22440, 2015.

BISHOP, Christopher; PARKER, Graham C.; COSCINA, Donald V. Nicotine and its withdrawal alter feeding induced by paraventricular hypothalamic injections of neuropeptide Y in Sprague-Dawley rats. **Psychopharmacology**, v. 162, n. 3, p. 265-272, 2002.

BLOKLAND, Arjan et al. The use of a test battery assessing affective behavior in rats: order effects. **Behavioural brain research**, v. 228, n. 1, p. 16-21, 2012.

BODISON, Stefanie C.; COLBY, John B.; SOWELL, Elizabeth R. Structural brain development: Birth through adolescence. In: **Neural Circuit and Cognitive Development**. Academic Press, 2020. p. 289-317.

BOISSIER, J. R; SIMON, P. The exploration reaction in mouse. **Thérapie**, v. 17, p. 1225-1232, 1962.

BOLD, Krysten W. *et al.* Trajectories of e-cigarette and conventional cigarette use among youth. **Pediatrics**, v. 141, n. 1, 2018.

BORDIA, Tanuja *et al.* Varenicline is a potent partial agonist at $\alpha 6\beta 2^*$ nicotinic acetylcholine receptors in rat and monkey striatum. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 342, n. 2, p. 327-334, 2012.

BOUCHER, Y. *et al.* Activation of brain stem neurons by irritant chemical stimulation of the throat assessed by c-fos immunohistochemistry. **Experimental brain research**, v. 148, n. 2, p. 211-218, 2003.

BRAET, Caroline *et al.* Depression in early, middle and late adolescence: Differential evidence for the cognitive diathesis–stress model. **Clinical psychology & psychotherapy**, v. 20, n. 5, p. 369-383, 2013.

BRASIL. (Ministério da Saúde). Secretaria de Atenção à Saúde. Área de Saúde do Adolescente e do Jovem. Marco legal: saúde, um direito de adolescentes. 1. ed. [S. l.: s. n.], 2007. ISBN 85-334-0856-0. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/07_0400_M.pdf

BRASIL. Lei no 8.069, de 13 de julho de 1990. Dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 jul. 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Conjunta Nº 10, de 16 de abril de 2020. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Tabagismo. p. 1 a 67. Brasília, Distrito Federal.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS Nº 571 de 05 de abril de 2013. Diário Oficial da União de 08 de abril de 2013, p. 56 e 57. Brasília, Distrito Federal.

BROWN, B. Bradford. Adolescents' relationships with peers. 2004.

BRUIJNZEEL, Adrie W. Tobacco addiction and the dysregulation of brain stress systems. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 5, p. 1418-1441, 2012.

BURKE, Andrew R.; MICZEK, Klaus A. Stress in adolescence and drugs of abuse in rodent models: role of dopamine, CRF, and HPA axis. **Psychopharmacology**, v. 231, n. 8, p. 1557-1580, 2014.

BURN, J. H.; TRUELOVE, L. H.; BURN, Isabel. Antidiuretic action of nicotine. **British Medical Journal**, v. 1, n. 4394, p. 403, 1945.

CAHILL, Kate *et al.* Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation. **Cochrane database of systematic reviews**, n. 5, 2016.

CAHILL, Kate; STEAD, Lindsay F.; LANCASTER, Tim. Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 4, 2012.

CAIN, Mary E.; SAUCIER, Donald A.; BARDO, Michael T. Novelty seeking and drug use: contribution of an animal model. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, v. 13, n. 4, p. 367, 2005.

CASARRUBEA, Maurizio et al. Acute nicotine induces anxiety and disrupts temporal pattern organization of rat exploratory behavior in hole-board: a potential role for the lateral habenula. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 9, p. 197, 2015.

CASARRUBEA, Maurizio et al. Effects of chronic nicotine on the temporal structure of anxiety-related behavior in rats tested in hole-board. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 96, p. 109731, 2020.

CASTRO DE SOUZA, E.; ROCHA E SILVA JR, M. The release of vasopressin by nicotine: further studies on its site of action. **The Journal of Physiology**, v. 265, n. 2, p. 297-311, 1977.

CHEN, Jiajian et al. Age of smoking initiation: implications for quitting. **Health reports-statistics Canada**, v. 9, p. 39-48, 1998.

CHIBA, Momoko; MASIRONI, Roberto. Toxic and trace elements in tobacco and tobacco smoke. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 70, n. 2, p. 269, 1992.

CLAUDIO NETO, S. **Nicotina e adolescência: efeitos comportamentais em camundongos suíços do tratamento farmacológico para a dependência**, 2016. 152f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.

CLAYTON, Anita H.; KINGSBERG, Sheryl A.; GOLDSTEIN, Irwin. Evaluation and management of hypoactive sexual desire disorder. **Sexual medicine**, v. 6, n. 2, p. 59-74, 2018.

COE, Jotham W. *et al.* Varenicline: an $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptor partial agonist for smoking cessation. **Journal of medicinal chemistry**, v. 48, n. 10, p. 3474-3477, 2005.

COMMITTEE ON SUBSTANCE ABUSE *et al.* From the American Academy of Pediatrics: Policy statement--Tobacco use: a pediatric disease. **Pediatrics**, v. 124, n. 5, p. 1474-1487, 2009. <https://www.nytimes.com/1995/03/09/us/fda-head-calls-smoking-a-pediatric-disease.html>.

COURTNEY, Ryan. The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General, 2014 Us Department of Health and Human Services Atlanta, GA: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2014 1081 pp. Online (grey literature): <http://www.surgeongeneral.gov/library/reports/50-years-of-progress>. 2015.

COYLE, Joseph T.; MOLLIVER, Mark E. Major innervation of newborn rat cortex by monoaminergic neurons. **Science**, v. 196, n. 4288, p. 444-447, 1977.

CROOKS, Peter A.; BARDO, Michael T.; DWOSKIN, Linda P. Nicotinic receptor antagonists as treatments for nicotine abuse. **Advances in Pharmacology**, v. 69, p. 513-551, 2014.

CULLEN, Karen A. *et al.* Notes from the field: use of electronic cigarettes and any tobacco product among middle and high school students—United States, 2011–2018. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 67, n. 45, p. 1276, 2018.

DAHL, Ronald E. Biological, developmental, and neurobehavioral factors relevant to adolescent driving risks. **American journal of preventive medicine**, v. 35, n. 3, p. S278-S284, 2008.

DANI, John A.; BERTRAND, Daniel. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 47, p. 699-729, 2007.

DE ASSIS CÉSAR, Maria Rita. **A invenção da adolescência no discurso psicopedagógico**. Unesp, 2008.

DE LA PEÑA, June Bryan *et al.* Cigarette smoke exposure during adolescence but not adulthood induces anxiety-like behavior and locomotor stimulation in rats during withdrawal. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 55, p. 49-55, 2016.

DIAMOND, Adele. Normal development of prefrontal cortex from birth to young adulthood: Cognitive functions, anatomy, and biochemistry. **Principles of frontal lobe function**, v. 466, p. 503, 2002.

DIFRANZA, Joseph R. *et al.* Development of symptoms of tobacco dependence in youths: 30 month follow up data from the DANDY study. **Tobacco control**, v. 11, n. 3, p. 228-235, 2002b.

DIFRANZA, Joseph R. *et al.* Measuring the loss of autonomy over nicotine use in adolescents: the DANDY (Development and Assessment of Nicotine Dependence in Youths) study. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 156, n. 4, p. 397-403, 2002a.

DOREMUS-FITZWATER, Tamara L.; SPEAR, Linda P. Reward-centricity and attenuated aversions: an adolescent phenotype emerging from studies in laboratory animals. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 70, p. 121-134, 2016.

DOURA, Menahem B. *et al.* Adult and periadolescent rats differ in expression of nicotinic cholinergic receptor subtypes and in the response of these subtypes to chronic nicotine exposure. **Brain research**, v. 1215, p. 40-52, 200jovens8.

DROPE, J. *et al.* The Tobacco Atlas. Atlanta: American Cancer Society and Vital Strategies. In the American Cancer Society. **Inc. www. tobaccoatlas. org**, 2018.

DUARTE PINHEIRO, VHS. Exposição à nicotina em camundongos Suíços adolescentes: o tratamento com vareniclina reverte o aumento de consumo desta droga observado na reexposição em animais adultos jovens, 2019. 92f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

DWOSKIN, Linda P. *et al.* Review of the pharmacology and clinical profile of bupropion, an antidepressant and tobacco use cessation agent. **CNS drug reviews**, v. 12, n. 3-4, p. 178-207, 2006.

EBBERT, Jon O. *et al.* Combination treatment with varenicline and nicotine replacement therapy. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 11, n. 5, p. 572-576, 2009.

FAESSEL, Helene M. *et al.* A review of the clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of varenicline for smoking cessation. **Clinical pharmacokinetics**, v. 49, n. 12, p. 799-816, 2010.

FAHRIZAL, Yanuar; HAMID, Achir Yani Syuhaimie; DAULIMA, Novy Helena Chatarina. The life during adolescence in the perspective of ex-drug users in Indonesia. **Enfermeria Clinica**, v. 28, p. 316-320, 2018.

FERREIRA-VIEIRA, Talita *et al.* Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. **Current neuropharmacology**, v. 14, n. 1, p. 101-115, 2016.

FERREIRA, Manuela; NELAS, Paula Batista. Adolescências... Adolescentes. **Millenium-Journal of Education, Technologies, and Health**, n. 32, p. 141-162, 2016.

FILE, Sandra E. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. **Behavioural brain research**, v. 125, n. 1-2, p. 151-157, 2001.

FILE, Sandra E.; WARDILL, Ann G. Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified hole-board. **Psychopharmacologia**, v. 44, n. 1, p. 53-59, 1975.

FLAGEL, Shelly B. *et al.* Antecedents and consequences of drug abuse in rats selectively bred for high and low response to novelty. **Neuropharmacology**, v. 76, p. 425-436, 2014.

FLOWERS, Lee. Nicotine replacement therapy. **American Journal of Psychiatry Residents' Journal**, 2017.

FOULDS, James A. *et al.* The role of novelty seeking as a predictor of substance use disorder outcomes in early adulthood. **Addiction**, v. 112, n. 9, p. 1629-1637, 2017.

FUCITO, Lisa M. *et al.* Addressing the evidence for FDA nicotine replacement therapy label changes: a policy statement of the Association for the Treatment of Tobacco use and Dependence and the Society for Research on Nicotine and Tobacco. **nicotine & tobacco research**, v. 16, n. 7, p. 909-914, 2014.

GAROFOLI, Mark. Adolescent substance abuse. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 47, n. 2, p. 383-394, 2020.

GIEDD, Jay N. The teen brain: insights from neuroimaging. **Journal of adolescent health**, v. 42, n. 4, p. 335-343, 2008.

GlaxoSmithKline Products ZYBAN ® (cloridrato de bupropiona). Revisado Jun 2021. <https://br.gsk.com/media/6969/11676-zyban.pdf>. Acessado em abril de 2022.

GOTTI, C. *et al.* Heterogeneity and complexity of native brain nicotinic receptors. **Biochem Pharmacol**, v. 74, n. 8, p. 1102-11, Oct 15, 2007.

GRABUS, Sheri D.; MARTIN, Billy R.; DAMAJ, M. Imad. Nicotine physical dependence in the mouse: involvement of the $\alpha 7$ nicotinic receptor subtype. **European journal of pharmacology**, v. 515, n. 1-3, p. 90-93, 2005.

GRUNBERG, Neil E.; BOWEN, Deborah J.; MORSE, David E. Effects of nicotine on body weight and food consumption in rats. **Psychopharmacology**, v. 83, n. 1, p. 93-98, 1984.

GRUNBERG, Neil E.; BOWEN, Deborah J.; WINDERS, Suzan E. Effects of nicotine on body weight and food consumption in female rats. **Psychopharmacology**, v. 90, n. 1, p. 101-105, 1986.

HALL, Brandon J. *et al.* Differential effects of non-nicotine tobacco constituent compounds on nicotine self-administration in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 120, p. 103-108, 2014.

HAMEL, Laurie *et al.* Caudal nucleus *accumbens* core is critical in the regulation of cue-elicited approach-avoidance decisions. **Eneuro**, v. 4, n. 1, 2017.

HAMILTON, Kristen R. *et al.* Behavioral effects of nicotine withdrawal differ by genetic strain in male and female adolescent rats. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 12, n. 12, p. 1236-1245, 2010.

HARTMANN-BOYCE, Jamie *et al.* Nicotine replacement therapy versus control for smoking cessation. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 5, 2018.

HARTUP, Willard W.; STEVENS, Nan. Friendships and adaptation in the life course. **Psychological bulletin**, v. 121, n. 3, p. 355, 1997.

HAUSER, S. R. *et al.* Effects of adolescent substance use disorders on central cholinergic function. **International Review of Neurobiology**, v. 160, p. 175-221, 2021.

HIROI, Noboru; AGATSUMA, Soh. Genetic susceptibility to substance dependence. **Molecular psychiatry**, v. 10, n. 4, p. 336-344, 2005.

HOFFMAN, Allison C.; EVANS, Sarah E. Abuse potential of non-nicotine tobacco smoke components: acetaldehyde, nornicotine, cotinine, and anabasine. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 15, n. 3, p. 622-632, 2013.

HUECKER, Martin R.; SMILEY, Abbey; SAADABADI, Abdolreza. Bupropion. **StatPearls [Internet]**, 2021.

HUKKANEN J, *et al.* Metabolism and disposition kinetics of nicotine. **Pharmacol Rev.**; 57:79–115, 2005.

IGARI, Moe *et al.* Varenicline and cytisine diminish the dysphoric-like state associated with spontaneous nicotine withdrawal in rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 2, p. 445-455, 2014.

INSTITUTE OF HEALTH METRICS AND EVALUATION. Global Health Data Exchange (GHDx). 2019 Disponível em: <https://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/b6c50cbba7481923a53cdce4742e32a1>. Acessado em: abril de 2022.

INSTITUTO DE EFETIVIDADE CLÍNICA E SANITÁRIA. **A importância de aumentar os impostos do tabaco no Brasil**. PALACIOS, A.; PINTO, M.; BARROS, L.; BARDACH, A.; CASARINI, A.; RODRÍGUEZ CAIROLI, F.; ESPINOLA, N.; BALAN, D.; PERELLI, L.; COMOLLI, M.; AUGUSTOVSKI, F.; ALCARAZ, A.; PICHON-RIVIERE, A. Dez. 2020, Buenos Aires, Argentina. Disponível em: www.iecs.org.ar/tabaco.

IRVINE, Elaine E. et al. Different treatment regimens and the development of tolerance to nicotine's anxiogenic effects. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 68, n. 4, p. 769-776, 2001.

ISNARDO-FERNANDES, J. **Efeitos somáticos e comportamentais do uso da bupropiona em um modelo animal de exposição à fumaça do cigarro na adolescência**. 2021. 118f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

JACKSON, K. J. et al. The role of various nicotinic receptor subunits and factors influencing nicotine conditioned place aversion. **Neuropharmacology**, v. 56, n. 6-7, p. 970-974, 2009.

JACOB, Christian; POLAK, Thomas. Agents for Treatment of Withdrawal and Dependency: Varenicline. **NeuroPsychopharmacotherapy**, p. 1-32, 2020.

JO, Young-Hwan; TALMAGE, David A.; ROLE, Lorna W. Nicotinic receptor-mediated effects on appetite and food intake. **Journal of neurobiology**, v. 53, n. 4, p. 618-632, 2002.

JORDAN, Chloe J.; XI, Zheng-Xiong. Discovery and development of varenicline for smoking cessation. **Expert opinion on drug discovery**, v. 13, n. 7, p. 671-683, 2018.

JORENBY, Douglas E. et al. A controlled trial of sustained-release bupropion, a nicotine patch, or both for smoking cessation. **New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 9, p. 685-691, 1999.

JORENBY, Douglas E. *et al.* Efficacy of varenicline, an $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, vs placebo or sustained-release bupropion for smoking cessation: a randomized controlled trial. **Jama**, v. 296, n. 1, p. 56-63, 2006.

KALKHORAN, Sara; BENOWITZ, Neal L.; RIGOTTI, Nancy A. Prevention and treatment of tobacco use: JACC health promotion series. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 72, n. 9, p. 1030-1045, 2018.

KALSBECK, A. et al. Development of the dopaminergic innervation in the prefrontal cortex of the rat. **Journal of comparative neurology**, v. 269, n. 1, p. 58-72, 1988.

KILLEN, Joel D. *et al.* Randomized clinical trial of the efficacy of bupropion combined with nicotine patch in the treatment of adolescent smokers. **Journal of consulting and clinical psychology**, v. 72, n. 4, p. 729, 2004.

KIM, Yeol *et al.* Effectiveness of pharmacologic therapy for smoking cessation in adolescent smokers: Meta-analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 68, n. 3, p. 219-226, 2011.

KOTA, D.; MARTIN, B. R.; DAMAJ, M. I. Age-dependent differences in nicotine reward and withdrawal in female mice. **Psychopharmacology**, v. 198, n. 2, p. 201-210, 2008.

KOTA, Dena et al. Nicotine dependence and reward differ between adolescent and adult male mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 322, n. 1, p. 399-407, 2007.

KOTA, Dena; ROBINSON, Susan E.; DAMAJ, M. Imad. Enhanced nicotine reward in adulthood after exposure to nicotine during early adolescence in mice. **Biochemical pharmacology**, v. 78, n. 7, p. 873-879, 2009.

LAL, Harbans; PRATHER, Paul L.; REZAZADEH, S. Mehdi. Anxiogenic behavior in rats during acute and protracted ethanol withdrawal: reversal by buspirone. **Alcohol**, v. 8, n. 6, p. 467-471, 1991.

LAVIOLA, Giovanni *et al.* Risk-taking behavior in adolescent mice: psychobiological determinants and early epigenetic influence. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1-2, p. 19-31, 2003.

LAVIOLETTE, Steven R. Molecular and neuronal mechanisms underlying the effects of adolescent nicotine exposure on anxiety and mood disorders. **Neuropharmacology**, v. 184, p. 108411, 2021.

LE FOLL, Bernard *et al.* Tobacco and nicotine use. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 8, n. 1, p. 1-16, 2022.

LEE, Natalia M. et al. The neurobiology of overeating: Treating overweight individuals should make use of neuroscience research, but not at the expense of population approaches to diet and lifestyle. **EMBO reports**, v. 13, n. 9, p. 785-790, 2012.

LESHNER, A. I. Understanding Drug Addiction: Implications for Treatment. **Hospital Practice**, v. 31, n. 10, p. 47-59, 15 out. 1996.

LEVIN, Edward D. et al. Chronic nicotine and withdrawal effects on body weight and food and water consumption in female rats. **Physiology & behavior**, v. 39, n. 4, p. 441-444, 1987.

LEVITT, P.; MOORE, R. Y. Development of the noradrenergic innervation of neocortex. **Brain research**, v. 162, n. 2, p. 243-259, 1979.

LIDOV, H. G. W.; GRZANNA, R.; MOLLIVER, M. E. The serotonin innervation of the cerebral cortex in the rat—an immunohistochemical analysis. **Neuroscience**, v. 5, n. 2, p. 207-227, 1980.

LISTER, Richard G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

LIU, Run-Hua; MIZUTA, Masanari; MATSUKURA, Shigeru. The expression and functional role of nicotinic acetylcholine receptors in rat adipocytes. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 310, n. 1, p. 52-58, 2004.

LIU, Z. et al. Effect of nicotine withdrawal on pain sensitivity in rats to mechanical stimulation and thermal stimulation. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 18, n. 18, p. 2759-2765, 2014.

MACRÌ, Simone et al. Risk taking during exploration of a plus-maze is greater in adolescent than in juvenile or adult mice. **Animal Behaviour**, v. 64, n. 4, p. 541-546, 2002.

MANGUBAT, Michael et al. Effect of nicotine on body composition in mice. **Journal of endocrinology**, v. 212, n. 3, p. 317-326, 2012.

MANITT, Colleen et al. The netrin receptor DCC is required in the pubertal organization of mesocortical dopamine circuitry. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 23, p. 8381-8394, 2011.

MCGINTY, Vincent B.; GRACE, Anthony A. Timing-dependent regulation of evoked spiking in nucleus *accumbens* neurons by integration of limbic and prefrontal cortical inputs. **Journal of neurophysiology**, v. 101, n. 4, p. 1823-1835, 2009.

MCILWAIN, Kellie L. et al. The use of behavioral test batteries: effects of training history. **Physiology & behavior**, v. 73, n. 5, p. 705-717, 2001.

Medicines and Healthcare Regulatory Agency Interactive drug analysis profiles: varenicline <https://info.mhra.gov.uk/drug-analysis-profiles/dap.html?drug=.%2FUK_EXTERNAL%2FNONCOMBINED%2FUK_NON_000174190963.zip&agency=MHRA>. Acesso em: 20 de julho de 2022.

MELTZER, Eli O. Prevalence, economic, and medical impact of tobacco smoking. **Annals of allergy**, v. 73, n. 5, p. 381-9; quiz 388, 1994.

MIHALAK, Karla B.; CARROLL, F. Ivy; LUETJE, Charles W. Varenicline is a partial agonist at $\alpha 4\beta 2$ and a full agonist at $\alpha 7$ neuronal nicotinic receptors. **Molecular pharmacology**, v. 70, n. 3, p. 801-805, 2006.

MILLS, Edward J. *et al.* Comparisons of high-dose and combination nicotine replacement therapy, varenicline, and bupropion for smoking cessation: a systematic review and multiple treatment meta-analysis. **Annals of medicine**, v. 44, n. 6, p. 588-597, 2012.

MIRBOLOUK, Mohammadhassan *et al.* Prevalence and distribution of e-cigarette use among US adults: behavioral risk factor surveillance system, 2016. **Annals of internal medicine**, v. 169, n. 7, p. 429-438, 2018.

MORRISON, Sara E. et al. Limbic-motor integration by neural excitations and inhibitions in the nucleus *accumbens*. **Journal of neurophysiology**, v. 118, n. 5, p. 2549-2567, 2017.

MOYLAN, Steven *et al.* How cigarette smoking may increase the risk of anxiety symptoms and anxiety disorders: a critical review of biological pathways. **Brain and behavior**, v. 3, n. 3, p. 302-326, 2013.

MÜNSTER, G.; BÄTTIG, K. Nicotine-induced hypophagia and hypodipsia in deprived and in hypothalamically stimulated rats. **Psychopharmacologia**, v. 41, n. 3, p. 211-217, 1975.

MURRAY, Christopher JL *et al.* Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 396, n. 10258, p. 1223-1249, 2020.

NANEIX, Fabien et al. Parallel maturation of goal-directed behavior and dopaminergic systems during adolescence. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 46, p. 16223-16232, 2012.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE. Public health consequences of e-cigarettes. Washington, DC: National Academies Press; 2018. <https://nationalacademies.org/eCigHealthEffects>.

O'DELL, Laura E.; TORRES, Oscar V. A mechanistic hypothesis of the factors that enhance vulnerability to nicotine use in females. **Neuropharmacology**, v. 76, p. 566-580, 2014.

O'HARA, Peggy et al. Early and late weight gain following smoking cessation in the Lung Health Study. **American journal of epidemiology**, v. 148, n. 9, p. 821-830, 1998.

O'LOUGHLIN, Jennifer et al. Nicotine-dependence symptoms are associated with smoking frequency in adolescents. **American journal of preventive medicine**, v. 25, n. 3, p. 219-225, 2003.

O'DONNELL, Patricio. Adolescent maturation of cortical dopamine. **Neurotoxicity research**, v. 18, n. 3, p. 306-312, 2010.

OBACH, R. Scott *et al.* Metabolism and disposition of varenicline, a selective $\alpha 4\beta 2$ acetylcholine receptor partial agonist, in vivo and in vitro. **Drug metabolism and disposition**, v. 34, n. 1, p. 121-130, 2006.

OLIVEIRA-MAIA, Albino J. et al. Nicotine activates TRPM5-dependent and independent taste pathways. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 5, p. 1596-1601, 2009.

PADMANABHAN, Aarthi et al. Developmental changes in brain function underlying the influence of reward processing on inhibitory control. **Developmental cognitive neuroscience**, v. 1, n. 4, p. 517-529, 2011.

PARKER, Caroline. Psychiatric effects of drugs for other disorders. **Medicine**, v. 44, n. 12, p. 768-774, 2016.

PARROTT, Andrew C.; MURPHY, Rachel S. Explaining the stress-inducing effects of nicotine to cigarette smokers. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v. 27, n. 2, p. 150-155, 2012.

PAUS, Tomáš; KESHAVAN, Matcheri; GIEDD, Jay N. Why do many psychiatric disorders emerge during adolescence?. **Nature reviews neuroscience**, v. 9, n. 12, p. 947-957, 2008.

PELLOW, Sharon *et al.* Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985.

PELLOW, Sharon; FILE, Sandra E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology biochemistry and behavior**, v. 24, n. 3, p. 525-529, 1986.

PERKINS, Kenneth A. et al. Weight gain associated with decreases in smoking rate and nicotine intake. **International journal of the addictions**, v. 22, n. 6, p. 575-581, 1987.

Pfizer Medical Information CHAMPIX®(tartrato de vareniclina). Revisado Jan 2021. <https://www.pfizermedicalinformation.com.br/pt-br/champix>. Acessado em abril de 2022.

PISTELLI, F.; AQUILINI, F.; CARROZZI, Laura. Weight gain after smoking cessation. **Monaldi Archives for Chest Disease**, v. 71, n. 2, 2009.

PONZONI, L. et al. Different physiological and behavioural effects of e-cigarette vapour and cigarette smoke in mice. **European Neuropsychopharmacology**, v. 25, n. 10, p. 1775-1786, 2015.

PONZONI, Luisa et al. Persistent cognitive and affective alterations at late withdrawal stages after long-term intermittent exposure to tobacco smoke or electronic cigarette vapour: Behavioural changes and their neurochemical correlates. **Pharmacological Research**, v. 158, p. 104941, 2020.

PRIMACK, Brian A. et al. Progression to traditional cigarette smoking after electronic cigarette use among US adolescents and young adults. **JAMA pediatrics**, v. 169, n. 11, p. 1018-1023, 2015.

PROCHASKA, Judith J.; DAS, Smita; BENOWITZ, Neal L. Cytisine, the world's oldest smoking cessation aid. **Bmj**, v. 347, 2013.

RAYBUCK, Jonathan D. et al. Varenicline ameliorates nicotine withdrawal-induced learning deficits in C57BL/6 mice. **Behavioral neuroscience**, v. 122, n. 5, p. 1166, 2008.

REDOLAT, Rosa et al. Individual differences in novelty-seeking and behavioral responses to nicotine: a review of animal studies. **Current drug abuse reviews**, v. 2, n. 3, p. 230-242, 2009.

RODGERS, R. J.; DALVI, Allan. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801-810, 1997.

ROLLEMA, H. et al. Pharmacological profile of the $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor partial agonist varenicline, an effective smoking cessation aid. **Neuropharmacology**, v. 52, n. 3, p. 985-994, 2007.

ROSE, Jed E. Nicotine and nonnicotine factors in cigarette addiction. **Psychopharmacology**, v. 184, n. 3, p. 274-285, 2006.

SCHERPHOF, Charlotte S. et al. Long-term efficacy of nicotine replacement therapy for smoking cessation in adolescents: a randomized controlled trial. **Drug and alcohol dependence**, v. 140, p. 217-220, 2014.

SCHWARTZ, Alexander; BELLISSIMO, Nick. Nicotine and energy balance: A review examining the effect of nicotine on hormonal appetite regulation and energy expenditure. **Appetite**, v. 164, p. 105260, 2021.

SILVA, Luiz Cesar C. et al. O uso de animais de laboratório como modelos experimentais para o estudo de transtornos psiquiátricos. **RESBCAL**, São Paulo, v.1 n.3, p. 270-278, 2012.

SINDITABACO. Sobre o setor. **Exportações**, 2022. Disponível em: < <http://www.sinditabaco.com.br/sobre-o-setor/exportacao/> >. Acesso em: 20/04/2022.

SLEMMER, Jennifer E.; MARTIN, Billy R.; DAMAJ, M. Imad. Bupropion is a nicotinic antagonist. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 295, n. 1, p. 321-327, 2000.

SMITH, Joshua P.; BOOK, Sarah W. Anxiety and substance use disorders: A review. **The Psychiatric Times**, v. 25, n. 10, p. 19, 2008.

SNEDECOR, George W.; COCHRAN, William G. Statistical Methods. Ames, Iowa. 1967.

SNYDER, Marsha; MCDEVITT, Judith; PAINTER, Susan. Smoking cessation and serious mental illness. **Archives of psychiatric nursing**, v. 22, n. 5, p. 297-304, 2008.

SPEAR, Linda P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. **Neuroscience & biobehavioral reviews**, v. 24, n. 4, p. 417-463, 2000.

SPEAR, Linda Patia. Adolescent neurodevelopment. **Journal of adolescent health**, v. 52, n. 2, p. S7-S13, 2013.

SPEAR, Linda Patia. Assessment of adolescent neurotoxicity: rationale and methodological considerations. **Neurotoxicology and teratology**, v. 29, n. 1, p. 1-9, 2007.

SPEAR, Linda. Modeling adolescent development and alcohol use in animals. **Alcohol Research & Health**, v. 24, n. 2, p. 115, 2000.

SQUEGLIA, Lindsay M. *et al.* Pharmacological treatment of youth substance use disorders. **Journal of child and adolescent psychopharmacology**, v. 29, n. 7, p. 559-572, 2019.

STEINBERG, Laurence; MORRIS, Amanda Sheffield. Adolescent development. **Annual review of psychology**, v. 52, n. 1, p. 83-110, 2001.

STOJAKOVIC, Andrea *et al.* Effects of nicotine on homeostatic and hedonic components of food intake. **Journal of Endocrinology**, v. 235, n. 1, p. R13-R31, 2017.

SUSSMAN, Steve; SUN, Ping; DENT, Clyde W. A meta-analysis of teen cigarette smoking cessation. **Health Psychology**, v. 25, n. 5, p. 549, 2006.

TAKEDA, Hiroshi; TSUJI, Minoru; MATSUMIYA, Teruhiko. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. **European journal of pharmacology**, v. 350, n. 1, p. 21-29, 1998.

TAN, Sijie *et al.* Sex differences in the reward deficit and somatic signs associated with precipitated nicotine withdrawal in rats. **Neuropharmacology**, v. 160, p. 107756, 2019.

THE CASA NATIONAL ADVISORY COMMISSION ON SUBSTANCE USE AMONG AMERICA'S HIGH SCHOOL AGE TEENS. Adolescent substance abuse: America's #1 public health problem. That National Center on Addiction and Substance Abuse at Columbia University, New York (2011). Disponível em: <https://files.eric.ed.gov/fulltext/ED521379.pdf>. Acesso em abril de 2022.

THOMAS, Kyla H. *et al.* Risk of neuropsychiatric adverse events associated with varenicline: systematic review and meta-analysis. **bmj**, v. 350, 2015.

THORPE, Hayley HA et al. Adolescent neurodevelopment and substance use: receptor expression and behavioral consequences. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 206, p. 107431, 2020.

TIRELLI, Ezio; LAVIOLA, Giovanni; ADRIANI, Walter. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1-2, p. 163-178, 2003.

TORRES, Oscar V. et al. Behavioral, biochemical, and molecular indices of stress are enhanced in female versus male rats experiencing nicotine withdrawal. **Frontiers in psychiatry**, v. 4, p. 38, 2013.

TRAUTH, J. A.; SEIDLER, F. J.; SLOTKIN, T. A. Persistent and delayed behavioral changes after nicotine treatment in adolescent rats. **Brain Research**, v. 880, n. 1-2, p. 167-172, 2000.

TREIT, Dallas; FUNDYTUS, Marian. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 31, n. 4, p. 959-962, 1988.

TURNER, Jill R.; CASTELLANO, Laura M.; BLENDY, Julie A. Nicotinic partial agonists varenicline and sazetidine-A have differential effects on affective behavior. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 334, n. 2, p. 665-672, 2010.

TURNER, Jill R.; CASTELLANO, Laura M.; BLENDY, Julie A. Parallel anxiolytic-like effects and upregulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors following chronic nicotine and varenicline. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 13, n. 1, p. 41-46, 2011.

TUTKA, Piotr *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.

US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (HHS). The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health; 2014

VAGLENOVA, Julia *et al.* An assessment of the long-term developmental and behavioral teratogenicity of prenatal nicotine exposure. **Behavioural brain research**, v. 150, n. 1-2, p. 159-170, 2004.

VALASSI, Elena; SCACCHI, Massimo; CAVAGNINI, Francesco. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases**, v. 18, n. 2, p. 158-168, 2008.

VAN DER STAAY, F. Josef *et al.* The appetitively motivated “cognitive” holeboard: a family of complex spatial discrimination tasks for assessing learning and memory. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 1, p. 379-403, 2012.

VERBEECK, Wim *et al.* Bupropion for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in adults. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 10, 2017.

VETTER-O'HAGEN, Courtney S.; SPEAR, Linda P. Hormonal and physical markers of puberty and their relationship to adolescent-typical novelty-directed behavior. **Developmental psychobiology**, v. 54, n. 5, p. 523-535, 2012.

VILLÉGIÉ, Anne-Sophie et al. Age influences the effects of nicotine and monoamine oxidase inhibition on mood-related behaviors in rats. **Psychopharmacology**, v. 208, n. 4, p. 593-601, 2010.

WADGAVE, Umesh; NAGESH, L. Nicotine replacement therapy: an overview. **International journal of health sciences**, v. 10, n. 3, p. 425, 2016.

WAHLSTROM, Dustin et al. Developmental changes in dopamine neurotransmission in adolescence: behavioral implications and issues in assessment. **Brain and cognition**, v. 72, n. 1, p. 146-159, 2010.

WALF, Alicia A.; FRYE, Cheryl A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature protocols**, v. 2, n. 2, p. 322-328, 2007.

WALKER, Deena M. et al. Adolescence and reward: making sense of neural and behavioral changes amid the chaos. **Journal of Neuroscience**, v. 37, n. 45, p. 10855-10866, 2017.

WILKES, Scott. Bupropion. **Drugs of Today (Barcelona, Spain: 1998)**, v. 42, n. 10, p. 671-681, 2006.

WILLIAMSON, David F. et al. Smoking cessation and severity of weight gain in a national cohort. **New England Journal of Medicine**, v. 324, n. 11, p. 739-745, 1991.

WINGO, Taylor *et al.* Novelty seeking and drug addiction in humans and animals: from behavior to molecules. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 11, n. 3, p. 456-470, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000-2025**. World Health Organization, 2021a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2021: Addressing new and emerging products**. World Health Organization, 2021b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION WHO. Institute of health Metrics and Evaluation. Global Health Data Exchange (GHDx) 2021c. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/adolescent-mental-health>. Acessado em: abril de 2022.

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

ZALD, David H. et al. Midbrain dopamine receptor availability is inversely associated with novelty-seeking traits in humans. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 53, p. 14372-14378, 2008.

ZHANG, Xiao et al. Postnatal changes of nicotinic acetylcholine receptor 2, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 7$ and $\beta 2$ subunits genes expression in rat brain. **International journal of developmental neuroscience**, v. 16, n. 6, p. 507-518, 1998.