

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO PROLONGADA A VARENICLINA NO COMPORTAMENTO DE RATOS WISTAR

Bianca Maria Petrocelli (IC) e Esther Lopes Ricci Adari Camargo (Orientador)

Apoio: PIBIC Mackenzie

RESUMO

A vareniclina é uma substância química sintética utilizada para o tratamento de tabagismo. Sua atuação ocorre através da ligação com receptores colinérgicos nicotínicos. Visto que o uso clínico da vareniclina vem aumentando para o tratamento de drogas de abuso e que há poucos estudos relacionados com seus efeitos no comportamento animal, têm sido cada vez mais necessários estudos sobre esta substância. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar os efeitos comportamentais da exposição prolongada a vareniclina em ratos Wistar. Foram utilizadas três doses de vareniclina: 0,03 (dose terapêutica para seres humanos), 0,1 e 0,3 mg/kg por via oral (gavagem). Durante o tratamento foram feitas avaliações semanais do ganho de peso dos ratos e também do consumo de água e ração. O comportamento animal foi analisado através dos testes de campo aberto, caixa claro-escuro, interação social e comportamento estereotipado. Os resultados indicaram que a exposição prolongada de ratos a diferentes doses de vareniclina não provocou toxicidade, pois apesar de ter havido uma alteração no consumo de água nos ratos que receberam 0.1mg/kg de vareniclina, não houve alterações no consumo médio semanal de ração e no ganho de peso desses ratos. Na análise comportamental do campo aberto e comportamento estereotipado não houve alterações significantes entre os grupos testados, entretanto, no teste da caixa claro-escuro e interação social houve diminuição em alguns parâmetros nos animais que receberam 0,03 e 0,1 mg/kg de vareniclina. Sendo assim, foi possível considerar que a exposição prolongada a vareniclina causou um efeito ansiogênico nos animais.

Palavras-chave: Vareniclina. Comportamento. Receptores colinérgicos nicotínicos.

ABSTRACT

Varenicline is a synthetic chemical used for the treatment of smoking. Its action occurs through binding to nicotinic cholinergic receptors. Since clinical use of varenicline has been increasing for the treatment of drugs of abuse and there are few studies related to their effects on animal behavior, studies on this substance have been increasingly needed. Thus, the objective of this study was to study the behavioral effects of prolonged exposure to varenicline in Wistar rats. Three doses of varenicline were used: 0.03 (therapeutic dose for humans), 0.1 and 0.3 mg/kg orally (gavage). During the treatment, weekly rats' weight gain and feed and water consumption were evaluated. Animal behavior was analyzed through open field tests, light-dark box, social interaction and stereotyped behavior. The results indicated that the prolonged exposure of rats to different doses of varenicline did not provoke toxicity, because although there was a change in the water consumption in the rats that received 0.1 mg/kg of varenicline, there were no changes in the average weekly feed intake and in the weight gain of these rats. In the behavioral analysis of the open field and stereotyped behavior there were no significant changes between the groups tested, however, in the light-dark box test and social interaction, there was a decrease in some parameters in the animals that received 0.03 and 0.1 mg/kg of varenicline. Thus, it was possible to consider that prolonged exposure to varenicline caused an anxiogenic effect in the animals.

Keywords: Varenicline. Behavior. Nicotinic cholinergic receptors.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o tabaco vem sendo consumido por milhões de pessoas, sendo um grave problema de saúde pública devido à dependência pela nicotina (MACHADO; ALERICO; SENA, 2007). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2008), estima-se que mais de um bilhão de pessoas fumam no mundo todo, dos quais $\frac{1}{4}$ são adultos. O tabagismo mata mais de cinco milhões de pessoas ao ano pelo mundo, e o consumo continua aumentando, podendo atingir, em 2030, oito milhões de mortes por ano se estas tendências atuais permanecerem (OMS, 2010). No Brasil, a Pesquisa Nacional de Saúde de 2013 mostrou prevalência de 15% de usuários de produtos derivados do tabaco de uso diário (21,9 milhões de pessoas), entretanto o uso de produtos do tabaco fumado é mais frequente (IBGE, 2014).

O tabagismo se tornou a principal causa de morte evitável do século XXI (MACHADO; ALERICO; SENA, 2007), pois a fumaça do cigarro apresenta milhares de substâncias tóxicas, podendo provocar diversas doenças como câncer, bronquite crônica, cardiopatia isquêmica, derrame cerebral, abortos, deformidades de nascimento, infertilidade, entre outras doenças (GOMES, 2003; OMS, 2008).

Devido ao entendimento dos problemas gerados pelo tabagismo, tem se tornado cada vez mais importante o surgimento de novos métodos que influenciem o abandono do fumo, visto que a melhor estratégia para redução, a médio prazo, das mortes provocadas pelo tabagismo é a intervenção de fumantes ativos (HAGGSTRÄM et al., 2001). Sendo assim, os principais métodos utilizados para cessar o fumo são terapia cognitivo-comportamental, farmacoterapia, acompanhamento clínico e apoio da família. Dentre as atuais farmacoterapias estão a terapia de reposição da nicotina, a bupropiona e a vareniclina (DANTAS et al., 2016).

A vareniclina foi aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como um medicamento antitabagismo, ao qual foi atribuído um novo mecanismo de ação, pois foi projetada para se ligar aos receptores colinérgicos nicotínicos, liberando dopamina; sendo assim, esse fármaco imita a ação da nicotina (FAGUNDES, 2010). Seu diferencial em relação aos outros psicofármacos é que, além de diminuir os efeitos da abstinência da nicotina, o usuário também não sentiria mais prazer na hora de fumar, o que diminuiria as incidências de recaídas (ALVES, 2010). Alguns estudos indicam também, que além de ser utilizada para tratamento de tabagismo, pode também ser utilizada para o tratamento de dependência de outras drogas, como álcool e cocaína (CHATTERJEE et al., 2011).

Levando em consideração que há uma tendência de ampliação do uso clínico da vareniclina e que há poucos estudos relacionados aos seus efeitos comportamentais, tornam-se necessários mais estudos sobre sua atuação no organismo animal. Sendo assim, o presente estudo teve como finalidade avaliar os efeitos comportamentais da exposição prolongada à vareniclina em ratos Wistar.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A vareniclina é uma substância química sintética produzida a partir do alcaloide citisina da planta *Cytisus laburnum L.* utilizada para o tratamento de tabagismo (CAHILL; STEAD; LANCASTER, 2011). Ela é comercializada pela Pfizer em mais de 90 países pelos nomes de Chantix® (Estados Unidos) ou Champix® (União Européia e Brasil) (ERWIN; SLATON, 2014; ALVES, 2010). Ela foi desenvolvida em 1997, e aprovada em 2006 pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos (Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA) (ROSO; MOSSMANN; KÖHLER, 2008). Atualmente é o medicamento com maior eficácia para o tratamento de tabagismo, pois possui uma taxa de cessação de fumo maior que de outros métodos, como por exemplo, os de reposição de nicotina (adesivos, goma de nicotina e spray) e outros medicamentos (KING et al., 2011; NOCENTE et al., 2013).

O mecanismo de ação da vareniclina ocorre através da ligação com os receptores colinérgicos nicotínicos com efeito agonista parcial dos receptores $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 3\beta 4$ e agonista total do receptor $\alpha 7$ (ROLLEMA et al., 2010). Este fármaco foi projetado para ativar os receptores colinérgicos nicotínicos e estimular a atividade mediada por eles. Desse modo, a vareniclina imita a ação da nicotina, liberando doses moderadas de dopamina na fenda sináptica, atenuando os sintomas da abstinência e o desejo pela nicotina (efeito agonista). Com a ocupação do sítio ativo desses receptores, a vareniclina compete com a nicotina para ativá-los, o que faz com que a nicotina seja incapaz de ativar a via mesolímbica durante a terapia com vareniclina (efeito antagonista), sendo extremamente importante, pois quando a nicotina consegue ativar o sistema dopaminérgico mesolímbico, provoca aumento do estado de ação e sensação de bem-estar, podendo gerar dependência (FAGUNDES, 2010; FRANKEN et al., 1996).

O principal efeito colateral desse medicamento é a náusea, porém dor de cabeça, insônia, distúrbios no sono, constipação, flatulência e vômito também podem estar presentes (PFIZER, 2012). Outros relatos mencionam que a vareniclina pode agravar distúrbios psiquiátricos já existentes, como esquizofrenia e transtorno bipolar (FREEDMAN,

2007) e causar efeitos adversos cardiovasculares (SVANSTROM; PASTERNAK; HVIID, 2012).

Pacientes que fizeram uso desta medicação também apresentaram depressão, pensamento suicida, psicose, hostilidade e comportamento anormal (KUEHN, 2008). Sendo assim, surgiram algumas preocupações após a comercialização da vareniclina quanto aos efeitos neuropsicológicos e riscos de eventos cardiovasculares. Foi relatado pela FDA um pequeno aumento, estatisticamente não significativo, de eventos cardiovasculares (FDA, 2012). Não há dados suficientes que sustentem os efeitos neuropsicológicos, uma vez que ainda não está claro até que ponto a retirada da nicotina influencia esses sintomas (CAHILL et al., 2013). Entretanto, a FDA exige que haja avisos sobre os efeitos neuropsiquiátricos e que pacientes sejam monitorados caso ocorra alguma mudança de humor, depressão ou outros comportamentos incomuns (FDA, 2009; FDA, 2014).

Estudos com a vareniclina indicam o possível uso desta para o tratamento da dependência de outras drogas, como álcool e anfetaminas, pois ela estimula a liberação de dopamina no estriado dorsal e no núcleo accumbens (FAESSEL et al., 2010). Além disso, ela aumenta a disponibilidade dos receptores D₂ e D₃ (CRUNELLE et al., 2009), que quando em número reduzido, aumenta o risco de desenvolvimento de vício em drogas (NADER et al., 2006).

3. METODOLOGIA

3.1 Animais

Foram utilizados 40 ratos machos Wistar adultos (90 dias) provenientes do biotério da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP). Os animais foram alojados no biotério da Universidade Presbiteriana Mackenzie (UPM) em gaiolas de polipropileno (43 x 23 x 16 cm). Essas gaiolas foram mantidas em estantes ventiladas em uma sala com temperatura controlada ($\pm 23^{\circ}\text{C}$) e com o ciclo de 12h de claro e escuro (a luz acende às 7h e apaga às 19h). Os animais tiveram água e comida *ad libitum* durante todo o procedimento experimental.

Visando atender as normas éticas da Universidade o presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UPM, (protocolo número 132/11/2015) e da FMVZ-USP (protocolo número 3304041214)

3.2 Droga

Foi administrado aos animais, por via oral (gavagem), tartarato de vareniclina (Champix® - Pfizer) diluído em água filtrada. Foram utilizadas três diferentes doses de vareniclina: 0,03 (dose terapêutica para seres humanos), 0,1 e 0,3 mg/kg por via oral (gavagem). Os animais controle receberam água filtrada (1 mL/kg – via oral).

3.3 Procedimento

3.3.1 Avaliação do consumo médio de água e ração e do ganho de peso

O consumo médio de água (mL) e de ração (g), assim como o peso (g) dos animais foram avaliados semanalmente durante todo o experimento. A partir do peso corporal, foi obtido o ganho de peso semanal dos animais (peso final – peso inicial).

3.3.2 Avaliações Comportamentais

3.3.2.1 Campo Aberto

O teste de campo aberto tem o intuito de analisar o comportamento de roedores em ambientes desconhecidos, visto que estes ambientes tendem a despertar medo nos roedores. Este teste avalia a atividade geral dos animais, e a partir disso é possível identificar a presença ou não de ansiedade, pois a ansiedade pode ser despertada pelo medo (NAHAS, 1999; SACHETTI et al., 2009).

O teste de campo aberto foi realizado em um aparato circular com 61 cm de diâmetro cercado com paredes de 50 cm de altura. A superfície onde foi colocado o animal apresentava 10 quadrantes, permitindo a quantificação da atividade locomotora.

Para a realização do teste, os animais foram colocados no centro do aparato, e seus comportamentos observados por 5 minutos. Os parâmetros avaliados foram: frequência de locomoção (número de vezes que o animal coloca as quatro patas de um quadrante); levantar (número de vezes que o animal ergue as patas anteriores); *grooming* (número de vezes que o animal realiza autolimpeza); defecação (número de fezes presentes no final do teste) e tempo de imobilidade (tempo total em que o animal permanece imóvel).

3.3.2.2 Caixa Claro-Escuro

O teste de claro-escuro é utilizado para avaliar propriedades ansiolíticas de drogas, e é baseado na aversão dos roedores por ambientes claros e intensamente iluminados, que por serem agentes estressores, podem diminuir a atividade dos animais. Normalmente os roedores optam pelos ambientes escuros, entretanto algumas drogas ansiolíticas podem alterar essa preferência. (KUMAR et al., 2013).

A caixa claro-escuro consiste em uma caixa (60 x 40 x 35 cm) com dois compartimentos, sendo um claro (10 x 10 cm²) e um escuro (10 x 10 cm²). Os animais foram colocados no compartimento claro e seus comportamentos observados por 5 minutos. Os parâmetros avaliados foram: a latência para a primeira passagem do claro para o escuro, o número de cruzamentos entre os compartimentos e o tempo gasto em cada um deles.

3.3.2.3 Interação Social

O teste de interação social utiliza um comportamento natural dos roedores para avaliar ansiedade, se baseando no fato de que os roedores tendem a diminuir a interação com outros roedores quando estão ansiosos (FILE; SETH, 2003).

O teste de interação social foi feito em um aparato retangular de acrílico transparente (41 x 26 x 39 cm) com três compartimentos separados por portas. Nos compartimentos laterais foram colocadas gaiolas de metal (30 x 15 x 19 cm), sendo uma vazia e a outra contendo um rato desconhecido ao rato que foi testado.

O rato teste foi colocado no compartimento central do aparato com as portas fechadas por um período de 10 minutos para habituação. Após esse período, as gaiolas de metal foram introduzidas nos compartimentos laterais e as portas foram abertas. O comportamento do rato teste foi observado por 10 minutos.

Os parâmetros avaliados foram: o número de vezes em que o rato entrou em cada compartimento, o tempo em segundos em que o rato permaneceu em cada compartimento, e o número de vezes em que o rato teste interagiu com o rato desconhecido, através do comportamento de *nose-poking* (focinho-focinho).

3.3.2.4 Comportamento estereotipado induzido pela apomorfina

O comportamento estereotipado induzido pela apomorfina é utilizado para avaliar a integridade do sistema dopaminérgico. Para a avaliação deste comportamento, os ratos foram colocados individualmente em uma gaiola de metal (30 x 15 x 19 cm) e tiveram livre acesso à comida e água por um período de 4h; após esse período os animais foram privados de comida e de água. Após uma hora da privação de comida e de água, o comportamento estereotipado foi induzido pela aplicação de 0,6 mg/kg de apomorfina, por via subcutânea. O comportamento foi avaliado em intervalos de 10 minutos na primeira hora e depois aos 90 e 120 minutos, sendo quantificado por uma escala de escores (Quadro 1) (SETLER; SARAU; MCKENZIE, 1976).

Quadro 1 - Escores utilizados na avaliação do comportamento estereotipado induzido pela apomorfina.

Escore	Comportamento
0	Adormecido ou parado
1	Ativo
2	Predominantemente ativo, mas com curtos períodos de farejar, levantar-se estereotipado
3	Atividade estereotipada constante, tal como farejar, levantar ou balançar a cabeça, mas com atividade locomotora ainda presente
4	Atividade estereotipada constante realizada em um só local
5	Atividade estereotipada constante, com curtos períodos de lamber, roer e/ou morder
6	Lamber e/ou roer as barras da gaiola

Fonte: (SETLER; SARAU; MCKENZIE, 1976).

3.4 Delineamento Experimental

Quarenta ratos machos foram separados em quatro grupos: um grupo controle, que recebeu água (1 mL/kg) e três grupos experimentais que receberam, 0,03; 0,1 ou 0,3 mg/kg de vareniclina, por via oral (gavagem), durante 30 dias (n=10 animais por grupo). No 28º de tratamento os animais foram submetidos ao teste de campo aberto e caixa claro e escuro, como descritos nos itens 3.3.2.1 e 3.3.2.2 No 29º dia de tratamento os ratos foram submetidos à interação social, como descrito no item 3.3.2.3 No 30º dia de tratamento, os animais foram submetidos à avaliação do comportamento estereotipado induzido pela apomorfina, como descrito no item 3.3.2.4.

3.5 Análise Estatística

Os dados foram analisados com o software GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, USA). Para verificar a homocedasticidade dos dados foi utilizado o teste de Bartlett. Para os dados paramétricos, utilizou-se ANOVA de uma via, seguida por pós-teste de Dunnett, nos casos que havia apenas um fator (tratamento) para ser avaliado, e ANOVA de duas vias com medidas repetidas, seguida por teste de Bonferroni, quando havia dois fatores para serem avaliados (tratamento e tempo). O nível de significância para todas as análises foi considerado $p < 0,05$ e os dados foram expressos pela média \pm erro padrão.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

O presente estudo utilizou a dose terapêutica para humanos (0,03 mg/kg) e os múltiplos dessa dose (0,1 mg/kg e 0,3 mg/kg), por administração via oral (gavagem). Isso foi feito de acordo com protocolos para avaliação de toxicidade que indicam o uso de pelo menos 3 doses diferentes e a via de administração deve ser a mesma que a utilizada em humanos (ANVISA, 2013). Os protocolos de toxicidade, também sugerem que sejam avaliadas as variações de peso corporal e do consumo de água e ração (OECD, 2008).

4.1 Consumo de água e comida e ganho de peso

A Tabela 1 mostra o resultado obtido do consumo médio semanal de água e ração dos animais. Em relação ao consumo médio semanal de água, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas mostrou diferenças significantes entre os tratamentos ($F(3,108)=4,010$, $p<0,05$) e tempo $F(3,108)=22,34$, $p<0,0001$), com interação ($F(9,108)=7,489$, $p<0,0001$) entre os fatores. O pós-teste de Bonferroni indicou diminuição no consumo médio de água apenas nos ratos que receberam 0,1mg/kg de vareniclina na primeira ($p<0,05$) e na terceira ($p<0,001$) semana de tratamento quando comparados os animais do grupo controle.

Quanto ao consumo de ração, a ANOVA de duas vias não mostrou diferenças significantes no tratamento ($F(3,108)=1.106$, $p>0,05$), mas mostrou diferenças significantes no tempo ($F(3,108)=84.68$, $p<0,0001$), com interação ($F(9,108)=8,559$, $p<0,0001$) entre os fatores. O pós-teste de Bonferroni não indicou diferenças significantes no consumo de ração durante o tratamento.

Tabela 1 - Consumo médio semanal de água (ml) e ração (g) dos ratos que receberam ou não (controle) vareniclina (0,03, 0,1 e 0,3 mg/kg) por gavagem durante 30 dias. São exibidos as médias e os respectivos erros padrão. N=10 animais por grupo.

Parâmetro	Semana	Controle	Vareniclina (mg/kg)		
			0,03	0,1	0,3
Água	1 ^a	287,2 ± 2,8	272,3 ± 3,9	246,0 ± 9,2*	260,3 ± 5,9
	2 ^a	290,0 ± 7,6	262,7 ± 4,8	236,5 ± 11,2	266,8 ± 11,5
	3 ^a	262,0 ± 5,1	259,3 ± 8,6	201,0 ± 15,0***	251,3 ± 5,5
	4 ^a	251,0 ± 10,1	254,7 ± 5,9	193,8 ± 14,9	271,8 ± 6,5
Ração	1 ^a	166,0 ± 4,9	159,0 ± 0,9	165,0 ± 2,0	162,0 ± 3,2
	2 ^a	163,0 ± 8,8	156,3 ± 1,6	157,7 ± 6,1	156,5 ± 3,4
	3 ^a	158,5 ± 8,1	151,8 ± 1,6	149,7 ± 7,3	153,8 ± 4,0
	4 ^a	140,0 ± 8,2	146,8 ± 1,0	138,0 ± 4,8	148,3 ± 2,7

* $p<0,05$, *** $p<0,001$, ANOVA duas vias com medidas repetidas, seguida de pós-teste de Bonferroni.

A Tabela 2 indica o resultado obtido em relação ao ganho de peso semanal dos ratos experimentais. A ANOVA de duas vias mostrou que houve algumas alterações no tempo ($F(3,36)=10,61$, $p<0,0001$) e tratamento ($F(3,36)=3,178$, $p<0,05$) sem interação ($F(9,36)=1,766$, $p>0,05$) entre os fatores, entretanto o pós-teste de Bonferroni não indicou alterações no ganho de peso desses ratos quando comparados com o grupo controle ($p>0,05$).

Tabela 2 – Ganho de peso semanal (g) dos ratos que receberam ou não (controle) vareniclina (0,03, 0,1 e 0,3 mg/kg) por gavagem durante 30 dias. São exibidos as médias e os respectivos erros padrão. N=10 animais por grupo.

Semana	Controle	Vareniclina (mg/kg)		
		0,03	0,1	0,3
1	10,0 ± 3,3	12,0 ± 1,5	11,4 ± 1,5	10,0 ± 2,7
2	11,0 ± 2,8	8,0 ± 1,5	12,9 ± 1,4	18,5 ± 2,2
3	11,0 ± 2,3	4,0 ± 2,0	6,1 ± 1,2	9,5 ± 1,6
4	3,0 ± 2,4	4,0 ± 3,1	7,1 ± 1,0	5,5 ± 1,6

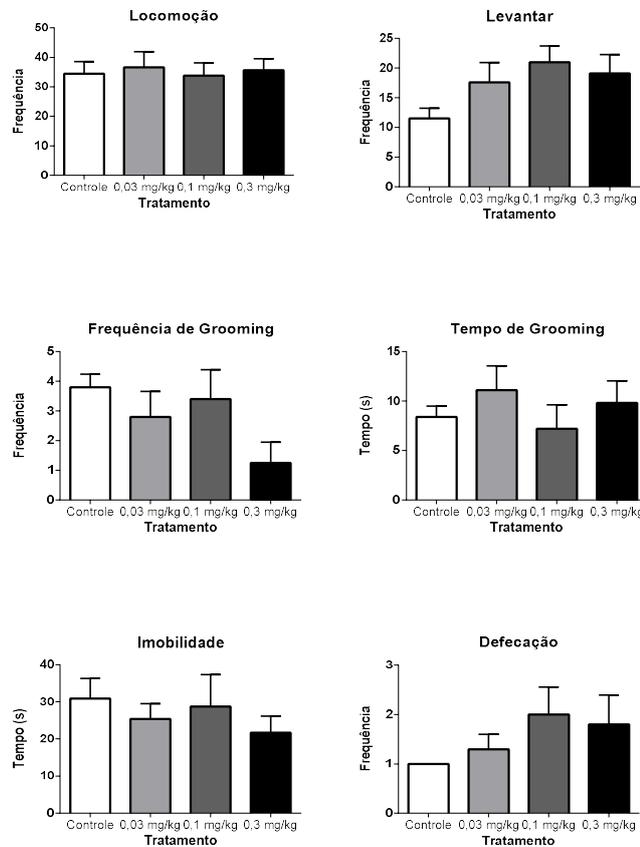
$p>0,05$, ANOVA duas vias com medidas repetidas, seguida de pós-teste de Bonferroni.

A análise do consumo médio semanal de ração, e ganho de peso corporal dos animais, não indicou alterações durante a exposição prolongada a vareniclina. Já em relação à análise do consumo médio semanal de água não houve alterações nos animais que ingeriram as doses 0,03 e 0,3 mg/kg, mas indicou um pequeno aumento no consumo durante primeira e terceira semana nos ratos que receberam 0,1 mg/kg. Entretanto, os resultados não são suficientes para indicar toxicidade, pois as alterações no consumo de água não se mantiveram ao longo das semanas, e não houve alterações no consumo de ração e ganho de peso.

4.2 Campo Aberto

A ANOVA de uma via não indicou diferenças significantes nos parâmetros de locomoção ($F(3,36)=0,07921$, $p>0,05$), levantar ($F(3,36)=2,132$, $p>0,05$), frequência de grooming ($F(3,34)=1,834$, $p>0,05$), tempo de grooming ($F(3,36)=0,6297$, $p>0,05$), e de imobilidade ($F(3,36)=0,4606$, $p>0,05$), entretanto, indicou diferenças significantes na defecação ($F(3,33)=3,360$, $p<0,0001$). O pós-teste de Dunnett, não indicou nenhuma alteração significativa entre os grupos ($p>0,05$). (Figura 1).

Figura 1 – Parâmetros avaliados no teste de campo aberto dos ratos que receberam ou não (controle) vareniclina (0,03, 0,1 e 0,3 mg/kg) por gavagem durante 30 dias. São exibidos as médias e os respectivos erros padrão. N=10 animais por grupo.



$p > 0,05$ ANOVA de duas vias seguido de pós-teste de Dunnet.

O campo aberto é utilizado para avaliar a atividade geral dos roedores; a partir disso, é possível observar a presença ou não de ansiedade nestes animais, pois a ansiedade pode ser desencadeada pelo medo (SACHETTI et al., 2009) Este teste é bastante utilizado para testar propriedades ansiolíticas ou ansiogênicas de algumas drogas, pois elas tendem a aumentar ou diminuir a atividade no campo aberto (NAHAS, 1999). Sendo assim, durante a aplicação do teste foram avaliados parâmetros, como: a frequência de locomoção; frequência de levantar; frequência de *grooming*; tempo de *grooming*; tempo de imobilidade; frequência de defecação.

Os parâmetros de locomoção e levantar são ambos relacionados com as atividades locomotoras e exploratórias do animal. É observado que os ratos menos ansiosos são mais ativos e exploram mais o ambiente, indicando um efeito estimulante, enquanto a redução da frequência desses parâmetros poderia indicar sedação ou ansiedade (SACHETTI et al., 2009). O *grooming*, assim como a quantidade de bolos fecais são parâmetros que avaliam o medo do animal, e podem ser alterados por fármacos ansiolíticos ou ansiogênicos

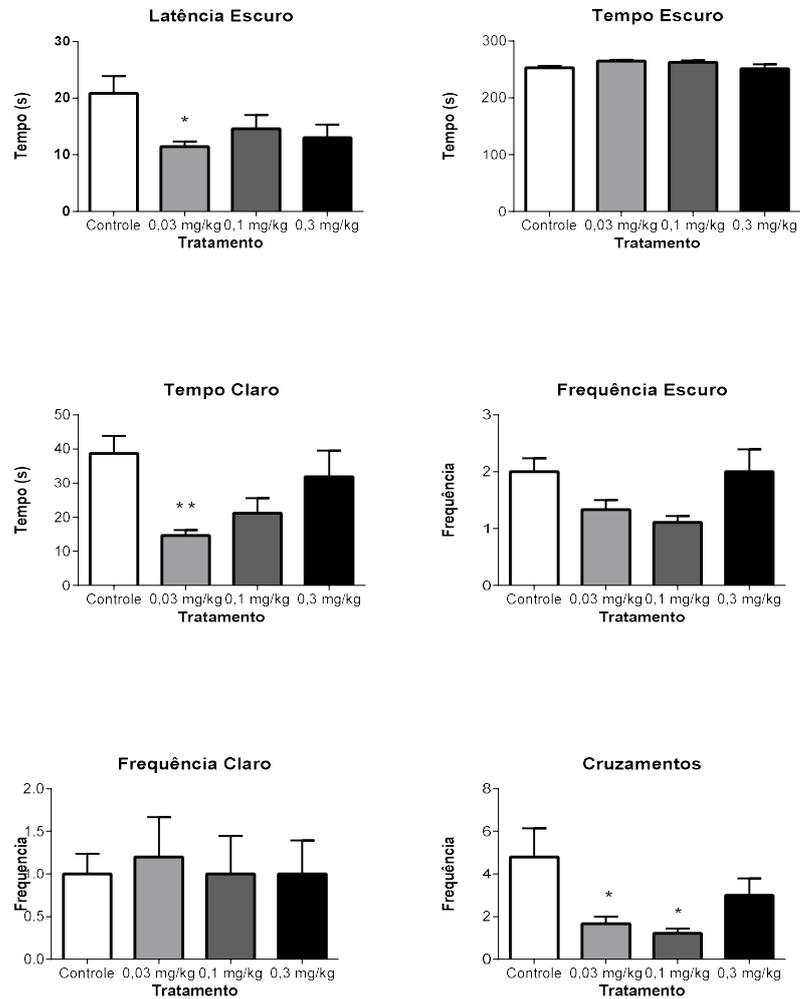
(OLIVEIRA et al., 2008). Quando o animal passa muito tempo imóvel, consideramos como uma indicação de ansiedade e alto nível de estresse (SACHETTI et al., 2009).

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que no parâmetro frequência de levantar, os animais tratados tiveram maior frequência de levantar quando comparados ao grupo controle, indicando que os animais tentavam explorar mais o ambiente, mas também apresentou maior frequência de defecação, podendo indicar presença de medo e ansiedade nos animais, entretanto foi observado que a exposição prolongada a vareniclina não provocou nenhuma alteração significativa nos parâmetros avaliados no teste de campo aberto dos grupos tratados quando comparados ao controle. Sendo assim, não houve nenhuma alteração na atividade geral dos animais, bem como na atividade locomotora. A vareniclina também não apresentou indícios de caráter ansiolítico/ansiógênico nos ratos no teste de campo aberto.

4.3 Caixa Claro-Escuro

A ANOVA de uma via não indicou nenhuma diferença significativa no parâmetro frequência no compartimento claro ($F(3,36)=0,3273$, $p>0,05$). Entretanto apresentou diferenças significantes nos parâmetros: latência ao escuro ($F(3,34)=3,152$, $p<0,05$), tempo no compartimento escuro ($F(3,35)=1,985$, $p<0,05$), tempo no compartimento claro ($F(3,35)=4,014$, $p<0,05$), frequência no compartimento escuro ($F(3,33)=3,062$, $p<0,05$) e número total de cruzamentos ($F(3,34)=3,639$, $p<0,05$). O pós-teste de Dunnett indicou diminuição na latência para a passagem para o compartimento escuro ($p<0,05$), no tempo de permanência do compartimento claro ($p<0,01$) e no número de cruzamentos dos animais do grupo de 0,03 mg/kg ($p<0,05$) e diminuição no número de cruzamentos dos animais do grupo de 0,1 mg/kg ($p<0,05$) de vareniclina, quando comparados com o grupo controle (Figura 2).

Figura 2 – Parâmetros avaliados no teste de caixa claro-escuro dos ratos que receberam ou não (controle) vareniclina (0,03, 0,1 e 0,3 mg/kg) por gavagem durante 30 dias. São exibidos as médias e os respectivos erros padrão. N=10 animais por grupo.



* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Dunnet.

A caixa claro-escuro é utilizada para avaliar efeitos ansiolíticos de drogas, e não necessita de treinos prévios ou privação de água e alimento, fazendo uso de estímulos naturais. Ele é baseado na aversão dos roedores por áreas intensamente iluminadas, que por ser um agente estressor, inibe os comportamentos exploratórios desses animais (KUMAR et al., 2013).

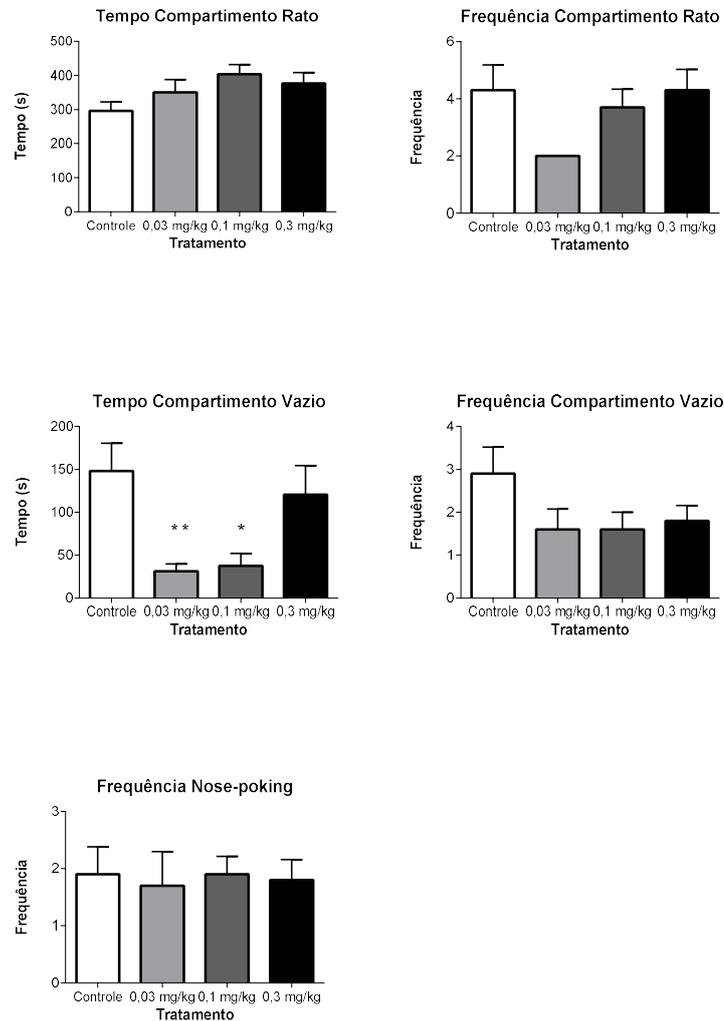
No presente estudo, os grupos tratados com vareniclina, quando comparados ao grupo controle, não apresentaram alterações significantes nos parâmetros de frequência no compartimento claro e escuro e tempo no compartimento escuro, apesar de ter uma tendência dos animais dos grupos de 0,03 e 0,1 mg/kg de entrarem menos vezes no compartimento escuro. Entretanto os animais tratados com 0,03 mg/kg de vareniclina apresentaram diminuição na latência ao escuro, e tempo no compartimento claro, portanto esses animais passavam bem mais rápido para o ambiente escuro, demonstrando maior

ansiedade nos ratos. E os animais dos grupos 0,03 e 0,1 mg/kg apresentaram diminuição no número total de cruzamentos. Esses dados sugerem presença de efeitos ansiogênicos da vareniclina no teste da caixa claro-escuro.

4.4 Interação Social

A ANOVA de uma via não apresentou nenhuma diferença significativa nos parâmetros tempo no compartimento com o rato ($F(3,36)=2,153$, $p>0,05$), frequência no compartimento vazio ($F(3,36)=1,723$, $p>0,05$) e frequência de *nose-poking* ($F(3,36)=0,04490$, $p>0,05$), entretanto, apresentou diferenças significantes na frequência no compartimento com o rato ($F(3,33)=1,955$, $p<0,05$) e no tempo no compartimento vazio ($F(3,30)=5,369$, $p<0,05$). O pós-teste de Dunnett indicou diminuição no tempo de permanência no compartimento com o rato nos animais que receberam 0,03 mg/kg ($p<0,01$) e 0,1 mg/kg ($p<0,05$) de vareniclina quando comparados com o grupo controle (Figura 3).

Figura 3 - Parâmetros avaliados no teste de interação social dos ratos que receberam ou não (controle) vareniclina (0,03, 0,1 e 0,3 mg/kg) por gavagem durante 30 dias. São exibidos as médias e os respectivos erros padrão. N=10 animais por grupo.



* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Dunnet.

Existem diversos estudos com modelos animais capazes de avaliar comportamentos relacionados com a emocionalidade, principalmente em roedores (ARCHER, 1973). Em ratos, um dos modelos utilizados para avaliar ansiedade é o de interação social, que se baseia no fato de que esses animais diminuem a interação com outros da mesma espécie quando estão ansiosos (FILE; SETH, 2003). A interação social é um comportamento adaptativo e fundamental da biologia de diversas espécies. Em ratos, o reconhecimento social se dá através do contato focinho-focinho (*nose-poking*), essencial, pois promove a estabilidade das relações tal como, a hierarquia social e a escolha do companheiro (KAIDANOVICH-BEILIN et al., 2011).

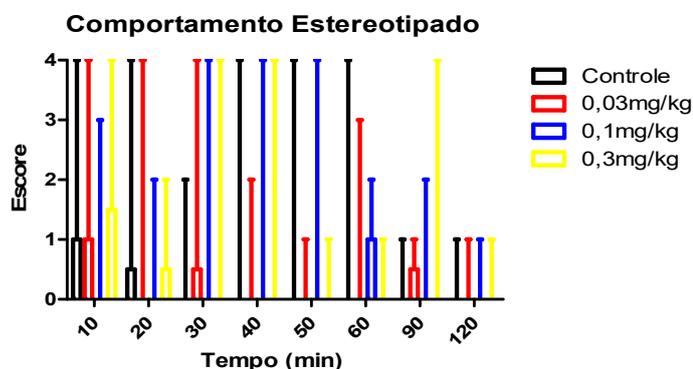
Neste estudo, a exposição prolongada a vareniclina não causou nenhuma alteração significativa nos parâmetros frequência no compartimento com o rato e no compartimento vazio, no tempo no compartimento com o rato e frequência de *nose-poking*, mas apresentou

alterações significantes no parâmetro de tempo no compartimento vazio, em que os animais dos grupos tratados com 0,03 e 0,1 mg/kg tiveram diminuição desse parâmetro, quando comparados com o grupo controle. Essas informações obtidas podem demonstrar que os animais tenham passado mais tempo explorando o ambiente central, provavelmente por estarem ansiosos, portanto não exploraram tanto a caixa vazia e também não interagiram muito o rato desconhecido. Dessa forma, também foi possível observar efeitos ansiogênicos da vareniclina no teste de interação social.

4.5 Comportamento Estereotipado

A ANOVA de duas vias não apresentou alterações no tratamento ($F(3,245)=0,04343$, $p>0,05$), mas apresentou alterações significantes no tempo ($F(7,245)=4,451$, $p<0,0001$), entretanto sem interação ($F(21, 245)=1,115$, $p>0,05$). O pós-teste de Bonferroni não indicou nenhuma alteração significativa nos animais tratados quando comparados com os controle ($p>0,05$) (Figura 4).

Figura 4 – Comportamento estereotipado (escores) induzido pela apomorfina (0,6 mg/kg via subcutânea) dos ratos que receberam ou não (controle) vareniclina (0,03, 0,1 e 0,3 mg/kg) por gavagem durante 30 dias. São exibidos as medianas e limites. N=10 animais por grupo.



$p>0,5$, ANOVA de duas vias seguida de pós-teste de Bonferroni.

O comportamento estereotipado está relacionado com diversas psicopatologias, entre elas, a esquizofrenia e o Mal de Parkinson (GOLDMAN et al., 1998). Ele consiste na realização de movimentos repetidos sem propósito aparente, como cheirar, lamber e morder, mediado pela ativação do sistema dopaminérgico (CARLINI; MENDES, 2011). Do ponto de vista comportamental, a hipersensibilidade de receptores dopaminérgicos pode ser avaliada indiretamente através da resposta à administração de apomorfina, pois ela age como agonista dopaminérgico, por estimulação de receptores pós-sinápticos (ANDRADE; BERTOLUCCI; PEREIRA, 1984).

No presente estudo, o teste de comportamento estereotipado induzido pela apomorfina foi utilizado para avaliar a integridade do sistema dopaminérgico. Os resultados

obtidos a partir deste teste indicaram que a exposição prolongada à vareniclina não foi capaz de alterar o comportamento estereotipado induzido pela apomorfina, sendo assim, isso mostra que aparentemente a vareniclina não interfere com a função do sistema dopaminérgico central.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo tinha como objetivo estudar os efeitos comportamentais, motores e cognitivos provocados em ratos Wistar pela exposição prolongada a vareniclina. Dessa forma, observando todos os dados obtidos, é possível considerar que a exposição prolongada a vareniclina, causou alterações em alguns testes comportamentais, indicando um efeito ansiogênico desta substância.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, L. B. Avaliação da eficácia da vareniclina na cessação do tabagismo. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Estágio Curricular em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010. Disponível em:

<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26825/000758655.pdf?sequence=1>
Acesso em: 29 mai. 2017.

ANDRADE, L. A. F.; BERTOLUCCI, P. H. F.; PEREIRA, J. S. Discinesia tardia: I. fisiopatologia e tratamento. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 362-370, 1984.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. 2013.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. 2013.

CAHILL, K.; STEAD, L.F.; LANCASTER, T.; Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation (Review). **The Cochrane Collaboration**, v. 130, n. 5, p. 346-347, 2011.

CAHILL, K.; STEVENS, S.; PERERA, R.; LANCASTER, T. Pharmacological interventions for smoking cessation: an overview and network meta-analysis. **Cochrane Database Syst Rev**, 2013.

CARLINI, E. A.; MENDES, F.R. Protocolos em psicofarmacologia comportamental. **Editora Fap-Unifesp**, São Paulo, 2011.

CHATTERJEE, S.; STEENSLAND, P.; SIMMS, J. A.; HOLGATE, J.; COE, J. W.; HURST, R. S.; SHAFFER, C.; LOWE, J.; ROLLEMA, H.; BARTLETT, S. E. Partial Agonists of the $\alpha 3\beta 4$ *Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Reduce Ethanol Consumption and Seeking in Rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, p. 603-615, 2011.

CRUNELLE, C.L.; MILLER, M.L.; BRUIN, K.; BRINK, W.; BOOIJ, J. Varenicline increases striatal dopamine D2/3 receptor binding in rats. **Addiction Biology**, v.14, p.500-502, 2009.

DANTAS, D. R. G.; PINHEIRO, A. H. B.; ROSSONI, A. L. M.; PRADO, L. O.; BARREIRA, S. N. Tratamento do tabagismo no Brasil, com bupropiona ou vareniclina: uma revisão sistemática. **Revista Saúde e Ciência online**, v. 5, n.1 p. 61-75, 2016. Disponível em:<<http://150.165.111.246/revistasauede-ciencia/index.php/RSCUFCG/article/view/327/228>> Acesso em: 29 mai. 2017.

ERWIN, B.L.; SLATON, R.M. Varenicline in the treatment of alcohol use disorders. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 48, n. 11, p. 1445-1455, 2014.

FAGUNDES, M. L. Estratégias para a cessação do tabagismo: uma revisão das alternativas terapêuticas. Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26831/000758685.pdf?sequence=1>> Acesso em: 27 mai. 2017.

FDA - Food and Drug Administration. Joint Meeting of the Psychopharmacologic Drugs Advisory Committee and Drug Safety and Risk Management Advisory Committee: Chantix and serious neuropsychiatric adverse events. 16 October, 2014.

FDA - Food and Drug Administration. Safety Communication: Updated Safety Review On The Risk of Cardiovascular Adverse Events. 2012

FDA - Food and Drug Administration. The smoking cessation aids varenicline (marketed as Chantix) and bupropion (marketed as Zyban and generics): Suicidal ideation and behaviour. **FDA Drug Safety Newsletter**, 2009.

FILE, S.E.; SETH, P. A review of 25 years of the social interaction test. **European Journal of Pharmacology**, v.463, p.35-53, 2003.

FRANKEN, R. A.; NITRINI, G.; FRANKEN, M.; FONSECA, A. J.; LEITE, J. C. T. Nicotina. Ações e Interações. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 66, n.1, 1996.

FREEDMAN, R. Exacerbation of schizophrenia by varenicline. **American Journal of Psychiatry**, v. 164, p. 1269, 2007.

GOLDMAN, W.P.; BATY, J.D.; BUCKLES, V.D.; SAHRMANN, S.; MORRIS, J.C. Cognitive and motor functioning in Parkinson disease: subjects with and without questionable dementia. **Archives of Neurology**, v.55, p. 674-680, 1998.

GOMES, F. B. C. Consequências do Tabagismo para a Saúde. Consultoria Legislativa, Câmara dos Deputados, Anexo III, Brasília – DF, 2003. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/a-camara/documentos-e-pesquisa/estudos-e-notastecnicas/arquivos-pdf/pdf/309518.pdf>> Acesso em: 10 set, 2017.

HAGGSTRÄM, F. M.; CHATKIN, J. M.; CAVALET-BLANCO, D.; RODIN, V.; FRITSCHER, C. C. Tratamento do tabagismo com bupropiona e reposição nicotínica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 27, n. 5, p. 255-261, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Pesquisa Nacional de Saúde – Percepção do estado de saúde, estilo de vida e doenças crônicas. Rio de Janeiro. 2014. Disponível em:<[ftp://ftp.ibge.gov.br/PNS/2013/pns2013.pdf](http://ftp.ibge.gov.br/PNS/2013/pns2013.pdf)> Acesso em: 29 mai. 2017.

KAIDANOVICH-BEILIN, O., LIPINA, T., VUKOBRADOVIC, I., RODER, J., WOODGETT, J. R. Assessment of Social Interaction Behaviors. **The journal of visualized Experiments**, v. 48, 2011.

KING, J.; HUANG, W.; CHEN, W.; HEFFERNAN, M.; SHIELDS, J.; RANE, P; BIRCHER, R. DIFRANZA, J. R. A comparison of brain and behavioral effects of varenicline and nicotine in rats. **Behavioral Brain Reserch**, v. 223, p. 42-47, 2011.

KUEHN, B. M. FDA warns of adverse events linked to smoking cessation drug and antiepileptics. **Journal of American Medical Association**, v. 299, n. 10. P. 1121-1122, 2008.

KUMAR, D.; BHAT, Z. A.; KUMAR, V.; SHAH, M.Y. Angelica archangelica Linn. and their effects on anxiety-like behavior. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**. v.40, p.180-6, 2013.

MACHADO, V. C.; ALERICO, M. I.; SENA, J. Programa de Prevenção e Tratamento do Tabagismo: Uma vivência acadêmica de enfermagem. **Cogitare Enferm.**, 12(2):248-52, 2007.

NADER, M.A.; MORGAN, D.; GAGE, H.D.; NADER, S.H.; CALHOUN, T.L.; BUCHHEIMER, N.; EHRENKAUFER, R.; MACH, R.H. PET imaging of dopamine D2 receptors during chronic cocaine self-administration in monkeys. **Nature Neuroscience**, v.9, n.8, p.1050-1056, 2006.

NAHAS, T.R. O teste do campo aberto. In: XAVIER, G.F. (ed.). Técnicas para o estudo do sistema nervoso. São Paulo: Plêiade; 1999.

NOCENTE, R.; VITALI, M.; BALDUCCI, G.; ENEA, D.; KRANZLER, H. R.; CECCANTTI, M. Varenicline and neuronal nicotinic acetylcholine receptors: a new approach to the treatment of co-occurring alcohol and nicotine addiction? **The Americam Journal on Addictions**, v. 34, n. 1, p. 121-130, 2006.

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UPD). 2008. Disponível em: <<https://ceuaics.ufba.br/sites/ceuaics.ufba.br/files/OECD%20TG%20425.pdf>> Acesso em: 30 set. 2017.

OLIVEIRA, R. B.; NASCIMENTO, M. V. M.; VALADARES, J. E. P.; COSTA, E. A.; CUNHA, L. C. Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanoico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol.44, n.3, 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. MPOWER: Um plano de medidas para reduzir a epidemia de tabagismo. 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. O Brasil promove intensa mobilização para o Dia Mundial sem Tabaco: gênero e tabaco, com ênfase em marketing para mulheres. 2010.

PFIZER. Medication Guideline: Chantix® varenicline tablets. New York, 2012.

ROLLEMA, H.; SHRIKHANDE, A.; WARD, K. M.; TINGLEY III, F. D.; COE, J. W.; O'NEILL, B. T.; TSENG, E.; WANG, E. Q.; MATHER, R. T.; HURST, R. S.; WILLIAMS, K. E.; DE VRIES, M.; CREMERS, T.; BERTRAND, S.; BERTRAND, D. Pre-clinical properties of the $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor partial agonist varenicline cytisine and dianicline translate to clinical efficacy for nicotine dependence. **British Journal of Pharmacology**, v. 160, p. 334-345, 2010.

ROSO, D. C.; MOSSMANN, M. KÖHLER, I. Novos medicamentos: Trimetadizina, Ivabradina, Rimona-Banto, Vareniclina e Alisquireno. Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul, Ano XVI, n. 13, 2008.

SACHETTI, C. G.; FASCINELI, M. L.; SAMAPAI, O. A. L.; CALDAS, E. D. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae). **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 19, n. 4, p. 937-941, Dec. 2009 .

SETLER, P.; SARAU, H.; MCKENZIE, G. Differential attenuation of some effects of haloperidol in rats given scopolamine. **European Journal of Pharmacology**, v. 39, p. 117-126, 1976.

SVANSTROM, H.; PASTERNAK, B.; HVIID, A. Use of varenicline for smoking cessation and risk of serious cardiovascular events: nationwide cohort study. **British Medical Journal**, 2012.

Contatos: bii.petrocelli@gmail.com e estherlopesricci@gmail.com.