



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ALLAN CARLOS DA SILVA TIAGO

**ALTERAÇÕES ELETROCORTICOGRÁFICAS E ELETROCARDIOGRÁFICAS
DURANTE ABSTINÊNCIA E READMINISTRAÇÃO DE NICOTINA EM RATOS
WISTAR.**

BELÉM-PA
2023

ALLAN CARLOS DA SILVA TIAGO

**ALTERAÇÕES ELETROCORTICOGRÁFICAS E ELETROCARDIOGRÁFICAS
DURANTE ABSTINÊNCIA E READMINISTRAÇÃO DE NICOTINA EM RATOS
WISTAR.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy

BELÉM-PA
2023

**ALTERAÇÕES ELETROCORTICOGRÁFICAS E ELETROCARDIOGRÁFICAS
DURANTE ABSTINÊNCIA E READMINISTRAÇÃO DE NICOTINA EM RATOS
WISTAR.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em: 16/06/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Moisés Hamoy
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Nilton Akio Muto
Universidade Federal do Pará

Profa. Dra. Vanessa Joia De Mello
Universidade Federal do Pará

BELÉM-PA
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

T551a TIAGO, ALLAN.
ALTERAÇÕES ELETROCORTICOGRÁFICAS E
ELETROCARDIOGRÁFICAS DURANTE EXPOSIÇÃO
CRÔNICA E READMINISTRAÇÃO DE NICOTINA EM
RATOS WISTAR / ALLAN TIAGO. — 2023.
58 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Moisés Hamoy
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2023.

1. Exposição Crônica. 2. Oscilações cerebrais. 3.
Nicotina. I. Título.

CDD 615.1

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação de mestrado a minha mãe-vó: Maria de Nazaré da Silva Tiago (*in memoriam*), ao meu pai-avô Alairson da Silva Tiago, a minha mãe Ariely da Silva Tiago e a minha segunda mãe: Arileia da Silva Tiago, sempre acreditaram em mim e se hoje estou aqui, é devido ao incentivo de cada um deles. Também a toda família Tiago, em especial, minhas irmãs Ana Karolina Tiago de Souza e Karla Lorena da Silva Farias.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à santíssima Trindade: Deus, Jesus e ao Espírito Santo pela força e companheirismo nos momentos de dificuldade. Me fizeram prosseguir em meio as dificuldades e auxiliaram nesse processo de alcançar o objetivo final.

Gostaria de agradecer a minha família, por todo apoio e força.

Gostaria de agradecer aos meus diversos amigos, sejam da faculdade, igreja, trabalho, virtuais, a todos, que sempre me motivaram e disseram que no final daria certo.

Gostaria de agradecer, em especial, a minha dupla, Rafaela Marques. Uma mulher autêntica, que o programa de pós-graduação me apresentou e se tornou alguém especial. Sempre me ajudando e ao mesmo tempo puxando minha orelha (era necessário).

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Dr. Moisés Hamoy. Um professor, profissional, pesquisador e amigo. Me acolheu como um pai, e se hoje estou defendendo, foi por todo apoio e orientação. Uma pessoa ímpar e dono de um coração enorme.

Agradeço ao programa de pós-graduação, ao coordenador e a secretária por toda paciência e auxílio.

Também, agradeço a todos que de forma direta ou indiretamente acreditaram em mim e disseram: não desista, com palavras, gestos, olhares, mensagens, vocês foram essenciais. Eu venci.

*“Mas eu, quando estiver com medo, confiarei em Ti”
Salmos 53:3*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura Química da Nicotina	pg.11
Figura 2 – Fisiopatologia da dependência a nicotina	pg.15
Figura 3 - Classificação das ondas cerebrais registradas no aparelho de ECG	pg.17
Figura 4 – identificação das ondas elétricas	pg.18
Figura 5 – Fluxograma Experimental	pg.20
Figura 6. Registros eletrocorticográficos (ECoG) para os diferentes grupos experimentais	pg.35
Figura 7. Gráfico da distribuição linear de potência entre os grupos	pg.36
Figura 8. Espectrogramas representativos da distribuição de potência para cada grupo em teta	pg.37
Figura 9. Espectrogramas representativos da distribuição de potência para cada grupo em oscilações em beta	pg.39
Figura 10. Registros demonstrativos de eletrocardiograma (ECG)	pg.43
Figura 11. Gráficos mostrando a atividade cardíaca durante 24 e 48 horas após a Abstinência a nicotina	pg.43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

nAChRs - receptores nicotínicos de acetilcolina

NH₃ - Amônia

H - Hidrogênio

H₂O - Água

NNN - N-nitrosornicotina

NNK- 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1- butanona

SNC - Sistema Nervoso Central

ECOG - eletroencefalográficos

NAcc - núcleo Accumbens

ATV - Área Tegumentar Central

iECOG - Eletroencefalografia Intracraniana

ECoG - Eletrocorticografia

I.P - Intraperitoneal

BPM - Batimentos Por Minutos

RESUMO

A nicotina é um componente ativo encontrado no tabaco, que possui atividade psicoestimulante, aumenta as atividades dos gânglios autônomos e aumenta a atividade simpática. Essa droga atravessa facilmente a barreira hematoencefálica, atingindo altas concentrações no cérebro dependendo do consumo. Este trabalho investigou padrões eletrocorticográficos e eletrocardiográficos (ECG) em ratos Wistar submetidos a tratamento com nicotina seguido de Abstinência por 24 e 48 horas, seguido de reaplicação de nicotina. Os dados eletrocorticográficos mostraram um aumento nas oscilações cerebrais de baixa frequência (delta, teta, alfa e beta) durante a Abstinência e após a administração de nicotina. De acordo com os dados do ECG durante a abstinência, a frequência cardíaca diminui, mas após a reaplicação da nicotina, a frequência cardíaca aumenta principalmente após 48 horas. Dessa forma, podemos avaliar que o uso da nicotina de forma crônica, altera o organismo a parâmetros superiores, o que está relacionado à recompensa e ao bem-estar do paciente.

Palavras-chave: Abstinência , oscilações cerebrais, nicotina.

ABSTRACT

Nicotine is an active component found in tobacco, which has psychostimulant activity, increases activities of autonomic ganglia and increases sympathetic activity. This drug easily crosses the blood-brain barrier, reaching high concentrations in the brain depending on consumption. This work has investigated both electrocorticographic and electrocardiographic (ECG) patterns in Wistar rats submitted to nicotine treatment followed by abstinence for 24 and 48 hours, followed by reapplication of nicotine. Electrocorticographic data showed an increase in low-frequency brain oscillations (delta, theta, alpha and beta) during abstinence and after nicotine administration. According to ECG data during abstinence, heart rate decreases, but after nicotine reapplication, heart rate increases mainly after 48 hours. In this way, we can assess that the use of nicotine reconditions the body to higher parameters, which is related to the reward and well-being of the patient.

Keywords: Chronic Exposure, brain oscillations, nicotine

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 NICOTINA	16
2.2 PROPRIEDADES QUÍMICAS E MECANISMO DE AÇÃO DA NICOTINA	17
2.3 AÇÃO DA NICOTINA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL.....	18
2.4 EFEITOS DA ABSTINÊNCIA DA NICOTINA	20
2.5 ELETROCORTICOGRAFIA.....	21
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1. TIPO DE ESTUDO	27
4.2. LOCAL DO ESTUDO	27
4.3. SELEÇÃO DA AMOSTRA.....	27
4.3.1. Experimento	27
4.3.2. Drogas.....	28
4.3.3 Análise para Implante de Eletrodos	29
4.3.4 Eutanásia dos Animais	29
4.4. ANÁLISE E REPRESENTAÇÃO DOS DADOS E REGISTROS.....	29
4.4.1. Eletrofisiologia	29
4.4.1.1 ELETROCORTICOGRAMA	29
4.4.1.1 ELETROCARDIOGRAMA	30
4.4.2. Análise de dados eletrofisiológicos	30
4.4.3 Análise estatística	31
4.5. CONFORMAÇÕES ÉTICAS.....	31
5. RESULTADOS	32
5.1 ABSTINÊNCIA A NICOTINA ALTERA REGISTROS ELETROCORTICOGRÁFICOS EM RATOS.....	32
5.2 A ABSTINÊNCIA A NICOTINA ALTEROU O TRAÇADO ELETROCARDIOGRÁFICO.....	38
6. DISCUSSÃO	44

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXOS	56

1. INTRODUÇÃO

Em meados de 1828 a nicotina foi extraída e isolada pela primeira vez por dois médicos Alemães Wilhelm Heinrich Posselt e Karl Ludwig Reimann. No entanto, apenas em 1843 foram iniciadas as primeiras pesquisas relacionando a nicotina e a farmacologia (LEONIDES VAN PRAAG, 1855). Essa substância isolada, faz parte do grupo de alcalóide e, é derivada das folhas do tabaco (*Nicotiana tabacum* e *Nicotiana rustica*). Essa substância é o principal agente aditivo do tabaco (CME, 2014).

A nicotina é um importante componente psicoestimulante do tabaco, sua inalação provoca rápida absorção e distribuição, dentro de 10 a 20 segundos depois de inalada, ela atravessa a barreira hematoencefálica, e atinge o cérebro (GORIOUNOVA; MANSVELDER, 2012; LE HOUEZEC, 2003). No cérebro, a nicotina se liga ao seu alvo, os receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR), que participam da sinalização colinérgica (WANG et al., 2014b).

A nicotina ocasiona indução da estimulação e sensação de prazer, além de reduzir a ansiedade em fumantes. Quando um indivíduo para de fumar, surgem os sintomas da Abstinência à nicotina, os quais incluem sintomas gerais como a irritabilidade, a inquietação e a ansiedade (JONATAS REICHERT, 2008), mas também sintomas cognitivos como a dificuldade de concentração (POMERLEAU; MARKS; POMERLEAU, 2000), problemas de memória (JACOBSEN et al., 2005; MANSVELDER et al., 2006), aumento do tempo de resposta (SNYDER; DAVIS; HENNINGFIELD, 1989) e problemas no aprendizado (KLEINMAN; VAUGHN; CHRIST, 1973). Acredita-se que os efeitos da nicotina no apetite, atenção e humor também contribuam para o estabelecimento e manutenção do hábito de fumar (PICCIOTTO; KENNY, 2013).

O cérebro é diretamente afetado pela exposição à nicotina através da ativação dos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs), uma família de receptores inotrópicos neuronais que regulam a atividade em vários locais do cérebro (CHENG; YAKEL, 2015; KUTLU; GOULD, 2015; SLAWECKI et al., 2000; ZEID; KUTLU; GOULD, 2018b), Dados indicam que a exposição à nicotina podem alterar atividade funcional de estrutura como o hipocampo de ratos adultos (SLAWECKI et al., 2000).

Estudos eletroencefalográficos tem demonstrado que a frequência das ondas cerebrais (delta, teta, alfa, beta, e gama) pode ser usada para descrever alguns dos efeitos relacionados ao uso e à Abstinência da nicotina uma vez que esses parâmetros podem refletir o estado funcional do encéfalo durante períodos de sono e vigília (CHOI; LEE; JEONG, 2017a; MATHEWS; STITZEL, 2019a). Estas oscilações neuronais estão relacionadas entre si e acredita-se que desempenham um papel importante nos processos cognitivos como a memória, atenção, consciência e aumentando potencialmente o nível de vigília (KUTLU; GOULD, 2015; MOHEIMANI et al., 2017; YAMAMOTO; DOMINO, 1965b; ZEID; KUTLU; GOULD, 2018a). Eletroencefalogramas indicam atividade inibitória aumentada, possivelmente refletindo ativação aumentada pela nicotina (CHOI; LEE; JEONG, 2017b; LOGEMANN et al., 2014; RANZI; THIEL; HERRMANN, 2016).

Estudos em fumantes relataram que a nicotina pode causar repolarização ventricular anormal, o que aumenta a vulnerabilidade a arritmias ventriculares, especialmente no quadro de isquemia (ILGENLI et al., 2015; TAŞOLAR et al., 2014). O aumento do tônus simpático e da frequência cardíaca aumentada atribuível à nicotina pode causar repolarização ventricular anormal em indivíduos predispostos (WONG et al., 2010). A nicotina pode aumentar o tônus simpático e a frequência cardíaca agindo em receptores nos gânglios autônomos (MOHEIMANI et al., 2017).

O efeito imediato da nicotina e seus metabólitos produz um perfil de “excitação” ou “ativação” no cérebro e no coração (DOMINO et al., 2009a; KHOURY et al., 1996; LEWIS et al., 2010). As informações sobre os efeitos agudos da nicotina no córtex motor de ratos, especialmente nas ondas cerebrais, permanecem escassas na literatura.

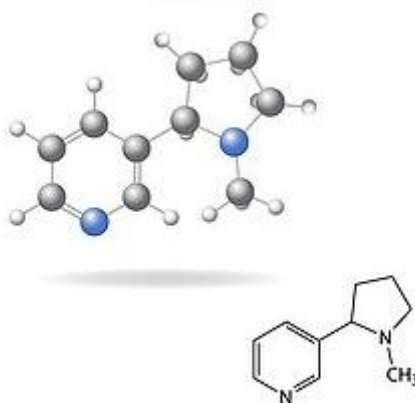
Mediante a isso, as alterações já expostas em estudos anteriores, causada pelo uso crônico da nicotina, o presente trabalho visa caracterizar as alterações eletrocorticográficas presentes no encéfalo e no.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 NICOTINA

A nicotina faz parte de um grupo heterogêneo de substâncias nitrogenadas chamado alcaloides, presente nas plantas e em alguns fungos. Grupo orgânico das aminas heterocíclicas, contendo um nitrogênio (**Figura 1**). Sua substância é encontrada nas folhas do tabaco e, é a responsável pela causa da dependência do fumo (FRANKEN, R.A.; NITRINI, G.; FRANKEN; FONSECA; LEITE, 1996; PLANETA et al., 2005).

Figura 1 - Estrutura Química da Nicotina



Fonte: Google Imagens, 2023

As aminas são derivadas da amônia (NH_3) e possuem caráter básico. São formadas através de uma alteração de um ou mais hidrogênio (H) por radicais orgânicos. A nicotina, por fazer parte desse grupo possui estrutura básica (LE HOUEZEC, 2003). Ela se apresenta de formas distintas a depender das substâncias que ela entrar em contato. Quando está em temperatura ambiente e em seu aspecto puro, manifesta-se de forma líquida oleaginoso e incolor. No entanto, quando entra em contato com oxigênio ela sofre um processo de oxidação, mudando sua cor para pardo-escuro. Ela possui solubilidade em contato com a água (H_2O) e potencializa sua solubilidade quando exposta a solventes orgânicos, como o álcool e éter (DOMINO et al., 2009a; MATHEWS; STITZEL, 2019b) .

2.2 PROPRIEDADES QUÍMICAS E MECANISMO DE AÇÃO DA NICOTINA

A nicotina é um alcalóide dibásico, derivado de uma amina composta por anéis de piridina e tetrahidropirrol, que se torna marrom com a exposição ao ar (MISHRA et al., 2015). A disponibilidade e absorção da nicotina no corpo humano, que pode ocorrer através da mucosa oral, pulmões, pele ou intestino, é pH dependente. Isto é, o aumento do pH de uma solução causa um aumento nas concentrações de nicotina lipofílica, desta forma ela pode passar ativamente por todas as membranas biológicas (LE HOUEZEC, 2003).

Uma vez ingerida, é absorvida e metabolizada pelo fígado. O processo metabólico pode ser categorizado em duas fases. Na fase I, há oxidação microssomal da nicotina através de múltiplas vias, o que leva à formação de vários metabólitos como cotinina e nornicotina. Na fase II, há glicuronidação dos metabólitos e excreção via urina, fezes, bile, saliva e suor. 5-10% de eliminação é por excreção renal de nicotina inalterada, porém há reabsorção da bexiga quando o pH urinário é alto. Há ainda evidências de que a nitrosação da nicotina in vivo pode levar à formação de N-nitrosonornicotina (NNN) e 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1- butanona (NNK), compostos conhecidos por serem altamente cancerígenos. A inflamação na cavidade oral aumenta o risco de nitrosação endógena (MISHRA et al., 2015; SOBKOWIAK; LESICKI, 2013).

A nicotina atua por meio de 3 mecanismos principais, produzindo efeitos fisiológicos e patológicos em uma variedade de sistemas orgânicos: (1) transmissão ganglionar ; (2) receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) em células cromafins via catecolaminas; e (3) estimulação do sistema nervoso central (SNC) de nAChRs. Estudos de imagem cerebral demonstram que a nicotina aumenta agudamente a atividade no córtex pré-frontal e nos sistemas visuais. Há liberação de uma variedade de neurotransmissores importantes na recompensa induzida por drogas. A nicotina também causa um aumento do estresse oxidativo e apoptose neuronal, danos ao DNA, espécies reativas de oxigênio e aumento do peróxido lipídico (DANI; JI; ZHOU, 2001; JONES; SUDWEEKS; YAKEL, 1999; MISHRA et al., 2015; PLANETA et al., 2005).

A nicotina em aplicação direta em humanos causa irritação e sensação de queimação na boca e garganta, aumento da salivação, náusea, dor

abdominal, vômito e diarreia. Os efeitos gastrointestinais são menos graves, mas podem ocorrer mesmo após exposição cutânea e respiratória. Os efeitos imediatos predominantes observados em estudos com animais e em humanos consistem no aumento da pulsação e da pressão arterial. A nicotina também causa um aumento nos ácidos graxos livres no plasma, hiperglicemia e um aumento no nível de catecolaminas no sangue. Há um fluxo sanguíneo coronariano reduzido, mas um fluxo sanguíneo muscular esquelético aumentado. O aumento da taxa de respiração causa hipotermia, um estado de hipercoagulabilidade, diminui a temperatura da pele e aumenta a viscosidade do sangue (MISHRA et al., 2015; PLANETA et al., 2005).

2.3 AÇÃO DA NICOTINA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A nicotina é possui a função psicoestimulante do tabaco. Uma vez utilizada, a nicotina é rapidamente distribuída pela corrente sanguínea. Em média de 10 a 20 segundos depois, ela atravessa a barreira hematoencefálica, e atinge o cérebro (GORIOUNOVA; MANSVELDER, 2012; LE HOUZEZEC, 2003). No cérebro, a nicotina vai em busca do seu objetivo alvo, os receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR), que participam da sinalização colinérgica nas camadas do córtex (GORIOUNOVA; MANSVELDER, 2012).

No sistema nervoso central (SNC), 12 genes foram identificados codificando receptores nicotínicos neuronais (MILLAR; GOTTI, 2009), que são expressos por nove subunidades α ($\alpha 2$ – $\alpha 10$) e três subunidades do tipo β ($\beta 2$ – $\beta 4$). Essas subunidades montam-se em diferentes estequiometrias para formar canais pentaméricos, e as composições de subunidades de nAChRs variam dependendo da região do cérebro (GORIOUNOVA; MANSVELDER, 2012; MILLAR; GOTTI, 2009).

Os AChRs nicotínicos são canais seletivos de cátions que permitem o fluxo de Na^+ , K^+ e Ca^{2+} através da membrana, o que leva a correntes despolarizantes e ativa neurônios piramidais, aumentando as entradas dopaminérgicas e glutamatérgicas. Basicamente, os receptores nicotínicos de acetilcolina são expressos diretamente nos neurônios dopaminérgicos, nos neurônios GABA, e nos terminais axônicos da entrada glutamatérgica para o mesencéfalo (LAVIOLETTE; VAN DER KOOY, 2004; TAKAHASHI et al.,

2008). Sendo assim, além da ativação direta dos receptores dopaminérgicos, também foi relatado que a exposição à nicotina reduz a sensibilidade dos receptores GABA e resulta na desinibição dos neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo, e aumenta a entrada excitatória do glutamato no mesencéfalo (TAKAHASHI et al., 2008).

Em outras palavras, como a maioria das substâncias viciantes, supõe-se que as alterações tanto na sinalização da dopamina e da glutamina, como na plasticidade na via mesocorticolímbica, estejam subjacentes ao comportamento viciante causado pela inalação da nicotina, que leva não apenas ao reforço, mas também ao desejo e à falta de autocontrole sobre a ingestão (GORIOUNOVA; MANSVELDER, 2012; LAVIOLETTE; VAN DER KOOY, 2004; TAKAHASHI et al., 2008).

Estudos eletroencefalográficos (ECOG) demonstram também que a frequência das ondas cerebrais em diferentes locais de registro do couro cabeludo pode ser usada para explicar os efeitos do tabagismo, uma vez que esses parâmetros refletem o estado de excitação/sedação do SNC. Sabe-se que o efeito imediato do tabagismo produz um perfil de “excitação” ou “ativado” no ECOG. Fumar um ou dois cigarros causa uma diminuição nas bandas delta (1-4 Hz) e teta (4- 8 Hz), um aumento na banda beta (14-30 Hz), um aumento ou diminuição na banda alfa (8 -13Hz). Algumas das principais mudanças nos efeitos do tabagismo estão na faixa alfa do ECOG, sendo os maiores aumentos ocorrem no córtex occipital (DOMINO et al., 2009a; WANG et al., 2014b). No entanto, as informações sobre os efeitos do tabagismo agudo nos circuitos neurais, especialmente nas ondas cerebrais (beta, alfa, teta, delta e gama) permanecem insuficientes.

Evidências crescentes mostram que os circuitos neurais distribuídos no cérebro exibem atividade espontânea enquanto as pessoas estão em repouso. Essas flutuações das ondas cerebrais na atividade cerebral são temporalmente correlacionadas dentro de redes funcionalmente relacionadas (WANG et al., 2014b). Compreender os mecanismos moleculares e de nível de circuito da nicotina na tomada de decisões é necessário para decifrar seus efeitos multifacetados.

2.4 EFEITOS DA ABSTINÊNCIA DA NICOTINA

A dependência à nicotina envolve questões fisiológicas, devido a necessidade orgânica que ela causa através do tabaco. A nicotina no cérebro se estende por toda parte, centros e até o córtex, gerando assim, interação com os receptores colinérgicos que estão localizada nas membranas de diversos neurônios, causando uma mudança na nomenclatura para receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) e se distribuem por toda parte do cérebro (KHOURY et al., 1996; MATHEWS; STITZEL, 2019a).

Essa interação, com esses receptores nicotínicos, faz com que seja liberada diversos neurotransmissores neuro reguladores, dentre eles: Acetilcolina, epinefrina, dopamina, vasopressina, entre outros. No entanto o mais investigado é a dopamina, pois é um dos mais liberados no núcleo Accumbens (nAcc) (**Figura 2**), gerando diversos sentimentos, como euforia e prazer, estimulando assim o usuário a continuar fumando. A dependência a uma droga se caracteriza por três apresentações: compulsão, tolerância e síndrome de abstinência. No dependente a nicotina, todas as apresentações estão envolvidas. Quando maior for a dependência maior será a compulsividade (TAŞOLAR et al., 2014; WANG et al., 2014a; YAMAMOTO; DOMINO, 1965a).

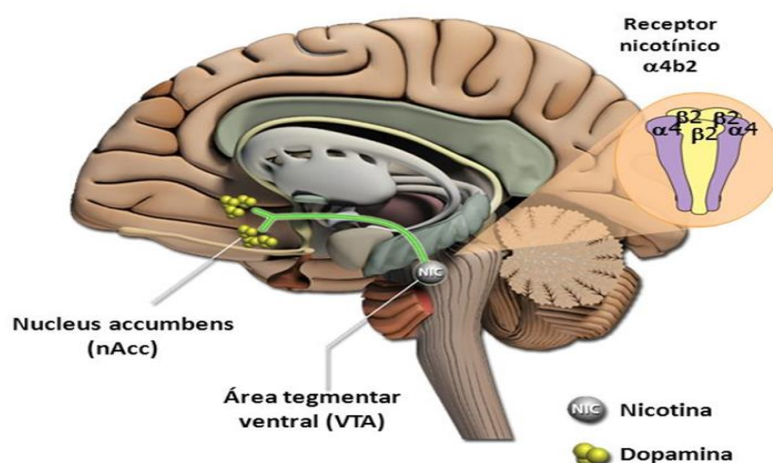


Figura 2 – Fisiopatologia da dependência a nicotina. Fonte: PICCIOTTO; KENNY, 2013)

A nicotina se liga, preferencialmente aos receptores (nACh) no Sistema

Nervoso Central. Essa ligação ao receptor nicotínico $\alpha 4\beta 2$ na Área Tegmentar Central (ATV) leva a liberação de dopamina ao núcleo Accumbens (nAcc), que se acredita estar associado à recompensa (LOGEMANN et al., 2014).

Cerca de 70% dos fumantes expressam o desejo de parar, mas a prevalência geral de parar de fumar é de apenas 6,2% (BABB et al., 2017; MATHEWS; STITZEL, 2019b). Entre os fatores que contribuem para a baixa taxa de abandono está a abstinência a nicotina. Sintomas físicos e afetivos negativos de abstinência são uma consequência confiável e persistente da cessação do tabagismo. Para evitar a angústia e o prejuízo associados à Abstinência da nicotina crônica, muitos indivíduos reiniciam o tabagismo (BABB et al., 2017; LA; A; JS, 2017; MATHEWS; STITZEL, 2019b).

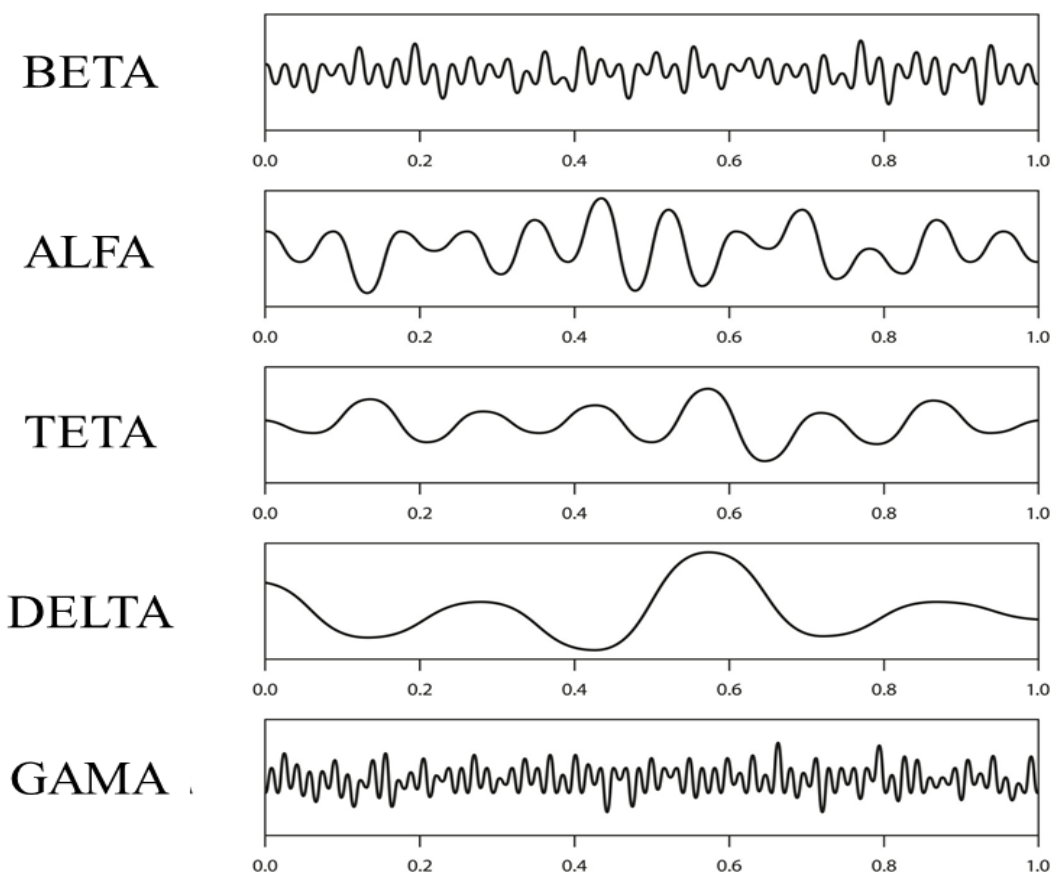
Acredita-se que vários sintomas de Abstinência contribuam para a recaída, incluindo a presença de déficits leves e moderados nos processos cognitivos básicos e as funções executivas, como atenção, memória de trabalho e controle inibitório (HUGHES, 2007), distúrbios do sono adversos e duradouros, entre outros. Pesquisas sugerem que as diminuições nas frequências alfa e aumentos na frequência teta durante a Abstinência de fumar estão relacionadas ao aumento da vontade de fumar, diminuição da excitação e piora do humor (BU et al., 2019; DOMINO et al., 2009a; HUGHES, 2007; SCHLIENZ; HAWK; ROSCH, 2013). No entanto, pesquisas adicionais ainda são necessárias.

2.5 ELETROCORTICOGRAFIA

A eletrocorticografia (ECoG), ou eletroencefalografia intracraniana (iECOG), é uma forma de monitoramento da atividade elétrica cerebral, em que os impulsos se traduzem, por meio do aparelho, em padrões de onda que podem ajudar a encontrar e descrever alterações desse funcionamento, levando a interpretações do estímulo gerado, sua localização e os mecanismos envolvidos (GOMES, 2015). A partir de eletrodos afixados em vários pontos específicos da superfície craniana, por meio de cirurgia, é possível mapear padrões de onda relacionados ao estado de vigília, ao sono, à agitação motora, ao repouso e até mesmo determinar a localização de grupos neuronais que compõem focos convulsivos, caso a convulsão ainda não seja generalizada entre várias áreas do

encéfalo (GOMES, 2015). Na leitura do registro gerado exame eletrocorticográfico as medições da atividade elétrica das ondas podem ser classificadas em alfa, beta, delta, gama e teta (**Figura 3**). Além disso os sinais de ECOG podem refletir alguns estados funcionais das redes neurais (SILVA, 1991).

Figura 3 - Classificação das ondas cerebrais registradas no aparelho de ECG.



Fonte: (SILVIA, 1981)

As ondas beta são normalmente registradas em pessoas no estado normal de consciência; as ondas alfa são observadas quando as pessoas estão fisicamente e mentalmente relaxadas (acordadas porém sonolentas); já as ondas teta são observadas em pessoas em estado de baixa consciência, meditação profunda, sono, e no sono REM; nas ondas delta seus registros são feitos em estado de sono profundo e perda de consciência corporal; e por último as ondas gamas são constatadas no estado de percepção aumentada.

Do outro lado da clínica, uma inibição do sistema nervoso central pode levar a uma série de sensações alteradas. Normalmente, elas estão ligadas ao

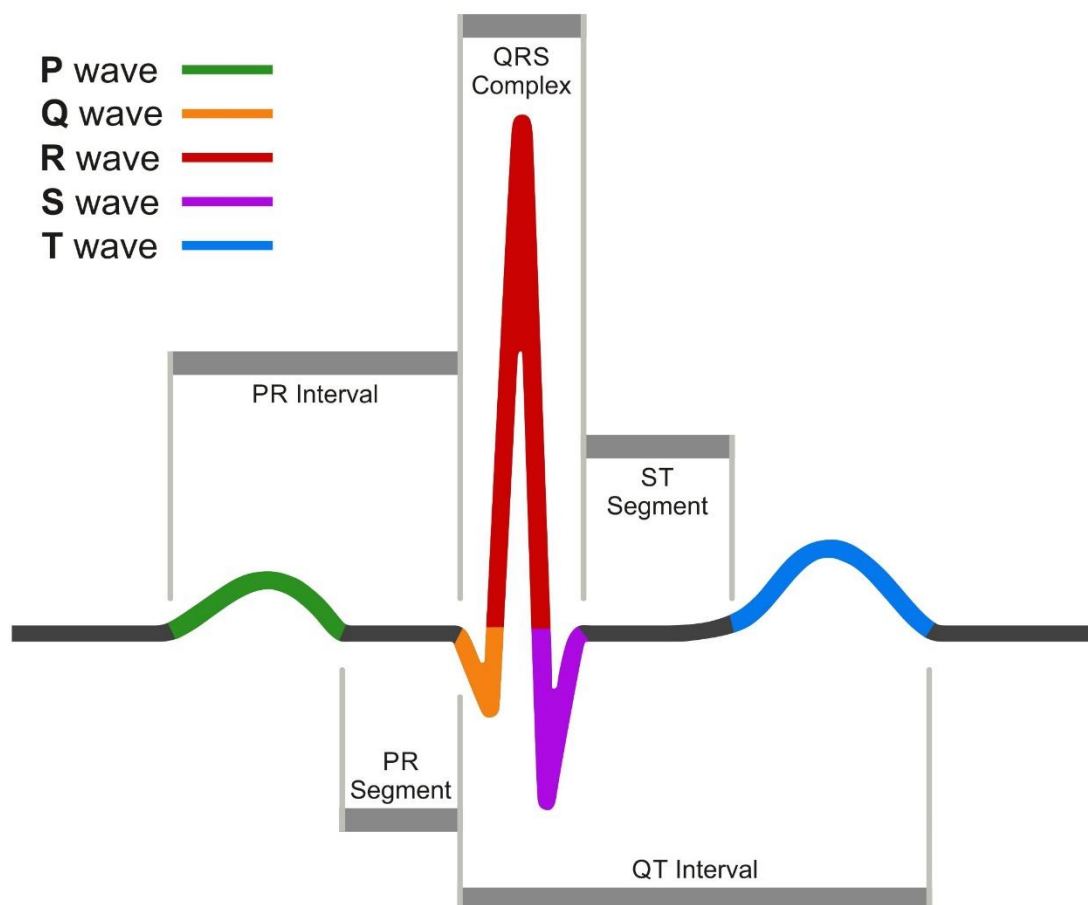
sono, à hipoestesia, à anestesia e ao funcionamento anormal de pontos que controlam o estado de vigília, tônus musculares, reações motoras voluntárias e involuntárias dentre outras funções. Mesmo com a aparente “redução” das atividades do indivíduo, seu cérebro (desde que não esteja comprometido por dosagens altas de drogas ou alguma condição biológica prévia) pode emitir padrões de ondas identificáveis pelo eletroencefalograma (GOMES, 2015).

3.6 ELETROCARDIOGRAFIA

A palavra eletrocardiógrafa é derivada de 3 termos de origem grega: Eletricidade, coração e escrita. O documento impresso obtido do aparelho eletrocardiógrafo é chamado eletrocardiografia (EGG) (BARROS et al., 2016; OLIVEIRA; MACHADO; MENDES, 2002). É um método comum, não invasivo, para avaliar os registros das variações das ondas elétricas do coração. Esse registro, denominado também como eletrocardiograma, expõe as ondas referentes aos impulsos elétricos em decorrência a cada batimento do coração. Representando a função cardiovascular. Essas ondas são identificadas de P, Q, R, S e T são expostas através de gráficos (**Figura 4**), mediante a corrente elétrica causada pelo musculo cardíaco durante o batimento. Esse traçado é gravado por um eletrocardiógrafo (BARROS et al., 2016; DE LEONARDIS; GOLDSTEIN; LINDSAY, 1988).

O primeiro eletrocardiograma foi desenvolvido em 1903 por um Holandes. No entanto, passou a ser utilizada nas instituições de saúde na década de 60. Hoje em dia é usada para detecção de patologias cardíacas, como angina pectoris e angina estável e alguns danos cardíacos. Esses métodos relaciona os impulsos elétricos diminutos com a função do musculo cardíaco (BARROS et al., 2016; MOGIANA et al., 2021).

Figura 4 – Identificação das ondas elétricas normais.



Fonte: BARROS, 2023

O traçado exposto em um exame eletrocardiográfico representa as movimentações decorrente a um estímulo elétrico e, cada uma dessas siglas de identificação, possui um significado em sua interpretação. Cada batimento possui representatividade através de uma onda P, um complexo QRS ou QRS e uma onda T. Quando a funcionalidade dessas ondas está normal, essas ondas são representadas sem interrupção, em ritmo sinusal (OLIVEIRA; MACHADO; MENDES, 2002).

No entanto, pode ocorrer ausência da onda P nesse traçado, indicando assim uma fibrilação atrial, ou mais comumente chamada de arritmia. Sabe-se que o ritmo cardíaco é classificado pela frequência cardíaca, através da medida de batimentos por minutos (bpm). Uma pessoa saudável possui intervalo de frequência de 50 a 100 bpm. Essa onda P, expõe a contração dos átrios do

coração, no entanto, o complexo de ondas QRS exibe o índice de contração dos ventrículos (SBC, 2003; STEVEN W, HUTCHINS, MARVIN L, 1987).

Considera-se a função normal da onda P, quando ela está suave e bem arredondada, com tempo de duração de 0,10s (2,5 mm) e tendo uma voltagem máxima de 0,25 mV. Nesse ritmo sinusal, a vacuidade entre a onda P e R pode demorar 0,12 e 0,20 segundo, gerando assim, evidencia, que há normalidade nos impulsos elétricos cardíacos. No complexo identificado por QRS, é representado pelo R, pela sua positividade, e o Q e S, por sua negatividade, durando entre 0,06 a 0,10 segundo (DE LEONARDIS; GOLDSTEIN; LINDSAY, 1988; STEVEN W, HUTCHINS, MARVIN L, 1987).

A onda Q costuma ter um valor menor q a S, ela sempre é negativa, e não tem 0,04 segundo de duração e 2 mm de profundidade. Após o complexo QRS, a onda T se exibe, mostrando a repolarização dos ventrículos (FRAGOLA et al., 1990). A onda T possui assimetria, ela em seu estágio normal, possui amplitude máxima inferior a 15 mm nas derivações precordiais, é menor que 5 mm nas derivações periféricas. Não há definições explícitas sobre a onda U, ela normalmente aparece após a onda T. Porém, comumente, quando aparece no traçado do exame, pode ser decorrente a repolarização dos músculos papilares, localizados na parte inferior do miocárdio (OLIVEIRA; MACHADO; MENDES, 2002; SBC, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar as alterações eletrocardiológicas e eletrocorticográficas de animais em abstinência e após readministração a nicotina.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- ✚ Caracterizar as oscilações cerebrais, através do eletrocorticograma, das ondas Delta, Teta, Beta e Gama;
- ✚ Caracterizar as alterações cardíacas, através do eletrocardiograma, através da onda P, intervalo PR, complexo QRS, segmento ST;
- ✚ Descrever como o efeito da nicotina influencia a ondas eletrofisiológicas do encéfalo e do coração.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo de caráter experimental, onde foram analisados os efeitos eletrocorticográficos resultantes de abstinência e reaplicação da nicotina.

4.2. LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais, que pertence ao Instituto de Ciências Biológica (ICB) da Universidade Federal do Pará (UFPA), situado na cidade de Belém do Pará, no bairro do Guamá.

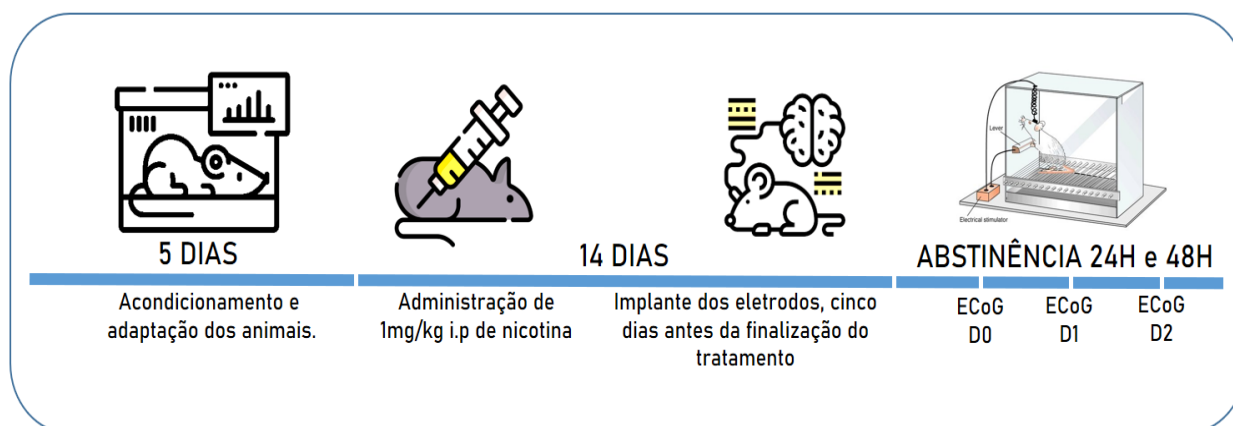
4.3. SELEÇÃO DA AMOSTRA

Foram utilizados 36 ratos (*Rattus norvegicus*) pertencentes à linhagem *Wistar*, com idade média de 90 a 120 dias, pesando de 180 a 200g, provenientes do Biotério da UFPA. O Ambiente o qual os animais foram mantidos era de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade adequada, em torno de $55 \pm 10\%$ umidade relativa do ar, luminosidade artificial de um foto-período de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando-se o período de luz das 6:00 às 18:00 horas e ruído controlados, acondicionados em gaiolas plásticas numa sala com água e ração oferecidos ad libitum durante todo o estudo, e com a limpeza das gaiolas sendo realizada duas vezes por semana.

4.3.1. Experimento

Os animais foram acondicionados no biotério do Laboratório de Farmacologia e toxicologia de produtos naturais /ICB/UFPA e passaram por um período de adaptação de cinco dias antes de iniciar o tratamento com nicotina. O tratamento com nicotina será feito durante 14 dias com 1 mg/kg i.p, cinco dias antes do término do tratamento com a nicotina será implantados eletrodos na região do córtex motor, ao completar o período de tratamento será feito o eletrocorticograma (ECoG) D0, após 24 horas de Abstinência será feito novo ECoG D1, após 48 horas de Abstinência será feito o ECoG D2. Todos os registros duraram 3 minutos.

Figura 5 – Fluxograma Experimental



Legenda: i.p: Intraperitoneal, ECoG – Eletrocorticografia

Os animais foram divididos de forma aleatória nos seguintes grupos: **a)** Grupo controle (n=9); **b)** Grupo Nicotina (grupo tratado com Nicotina 1mg/kg via i.p.) (n=9); **c)** Grupo tratado com nicotina (1mg/ml) na dose de 1 mg/kg i.p. duas vezes ao dia durante 14 dias com Abstinência de 24 horas (n=9); **d)** Grupo tratado com nicotina (1 mg/ml) na dose de 1 mg/kg i.p. duas vezes ao dia durante 14 dias com Abstinência de 24 horas com a reaplicação de nicotina 1mg/kg i.p.; **e)** Grupo tratado com nicotina (1 mg/ml) na dose de 1 mg/kg i.p. de 12 em 12 horas por 14 dias com Abstinência de 48 horas (n=9). **f)** Grupo tratado com nicotina (1 mg/ml) na dose de 1 mg/kg i.p. de 12 em 12 horas por 14 dias com Abstinência de 48 horas e reaplicação de nicotina 1mg/kg i.p.

Os grupos que receberam nicotina durante 14 dias com Abstinência de 24 e 48 horas, foram avaliados por registros eletrocorticográficos, durante o período de Abstinência e 15 minutos após reaplicação de 1 mg/kg i.p. de nicotina. Todos os registros tiveram duração de três minutos para o ECoG e um minuto para o ECG.

4.3.2. Drogas

Para realização do experimento foram utilizados: **a)** Cloridrato de Cetamina; **b)** Cloridrato de Xilazina; **c)** Lidocaína; **d)** Nicotina (Sigma) em pó na forma de cristal; **e)** Solução Fisiológica 0,9%

A droga **d** é a nicotina, que representa a substância para a associação da qual pretendemos caracterizar as alterações eletrocardiográficas e eletrocorticográficas.

O item **a + b** serão utilizadas por via intraperitoneal para anestesia dos animais para implante de eletrodos para aquisição de sinal.

O anestésico Cloridrato de Quetamina foi obtido do Laboratório Köing (Santana de Parnaíba, SP, Brasil), O Cloridrato de Xazina foi obtido do laboratório Vallée (Montes Claros, MG, Brasil).

4.3.3 Cirurgia para Implante de Eletrodos

Os animais foram anestesiados com uma associação de Cloridrato de Xilazina (5 mg/kg) e Cloridrato de Cetamina (50mg/kg) por via intraperitoneal. Após o animal apresentar a perda de reflexo interdigital será fixado no aparelho esteriotáxico, para a implantação de eletrodos. O procedimento será iniciado com a tricotomia da pele da região da cabeça, com adequada assepsia, será feito a infiltração de lidocaína a 2% no local da incisão cirúrgica que contem 1,0 cm rostro-caudal na linha mediana, expondo a superfície óssea do crânio. A lidocaína também será aplicada no conduto auditivo externo para reduzir os efeitos da pressão das barras do aparelho esteriotáxico. Após a exposição do osso do crânio serão feitas duas perfurações com aparelho odontológico, obedecendo as coordenadas esteriotáxicas 0,0 mm para bregma, 1 mm latero-lateral, onde serão implantados os eletrodos que apresentam 1 mm de diâmetro e acomodados na dura-máter, e fixado com acrílico autopolimerizante de uso odontológico.

4.3.4 Eutanásia dos Animais

Os animais utilizados no estudo foram submetidos à eutanásia ao final do experimento. Para isso, será utilizada a técnica de aprofundamento de plano anestésico com quetamina (300mg/kg i.p.), Xilazina (20 mg/kg i.p.) e Diazepam (10mg/kg i.p.).

4.4. ANÁLISE E REPRESENTAÇÃO DOS DADOS E REGISTROS

4.4.1. Eletrofisiologia

4.4.1.1 ELETROCORTICOGRAMA

O implante dos eletrodos para aquisição do eletrocorticograma serão realizados na coordenada bregma -0,96 e 1 mm para lateral de cada hemisfério representado pelo córtex motor (Paxios 2005). No quinto dia após a cirurgia, os

eletrodos serão conectados a um sistema de aquisição de dados, composto por um amplificador de alta impedância (*Grass Technologies*, P511), monitorado por um osciloscópio (*Protek*, 6510), os dados serão continuamente digitalizados em uma taxa de 1 KHz por um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (*National Instruments*, Austin, TX), os dados serão armazenados em disco rígido e, processado através de um software especializado (*LabVIEW express*). O eletrodo de registro localizado no lado direito do hemisfério, e do lado esquerdo o eletrodo de referência. Todo o experimento será executado dentro da gaiola de *Faraday*.

A análise dos registros será feita em até 40Hz, as oscilações cerebrais foram analisadas de acordo com Jalilifar et al. (2017) e Hamoy et al. (2018), que corresponde: Delta (1-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alpha (8-12 Hz), Beta (12-28) e Gamma (28-40 Hz).

4.4.1.1 ELETROCARDIOGRAMA

A atividade eletrocardiográfica foi obtida na derivação D-II, os eletrodos foram confeccionados de forma não conjugada, o eletrodo de referência foi posicionado em baixo da axila direita (1.0 cm) e o eletrodo de registro fixado no decimo espaço intercostal, 3 cm abaixo da axila esquerda, obedecendo o vetor de registro. Cada registro teve duração de 1 minuto, dados que foram analisados: Frequência cardíaca (bpm), Amplitude (mV), Intervalo R-R (ms), Intervalo P-Q (ms) Duração de QRS (ms), Intervalo QT (ms).

4.4.2. Análise de dados eletrofisiológicos

Para as análises dos sinais adquiridos uma ferramenta será construída usando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy serão usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para os gráficos. A interface gráfica será desenvolvida utilizando a biblioteca PyQt4.

Os gráficos de amplitude demonstram a diferença de potencial entre os eletrodos de referência e de registro. Nos sinais serão observadas 1000 amostras por segundo. Os espectrogramas serão calculados usando uma janela de Hamming com 256 pontos (256/1000 segundos), cada quadro será gerado com uma sobreposição de 128 pontos por janela. Para cada quadro a densidade de potência espectral (PSD) será calculada pelo método periodograma média de

Welch. O histograma de frequência será gerado pelo primeiro cálculo do PSD do sinal usando a janela de Hamming com 256 pontos, sem sobreposição, com o PSD, resultando um histograma construído com caixas de 1 Hz. Para analisar a diferença entre os experimentos, um gráfico com a média e desvio padrão de PSD de vários experimentos será construído, cada onda do gráfico será gerada a partir de um conjunto de testes, onde o PSD será gerado e calculado a média e o desvio padrão de cada grupo, para o cálculo da janela PSD Hamming será usado 256 pontos sem sobreposição.

As análises dos registros foram feitas até 40 Hz, e as bandas foram analisadas de acordo com Jalilifar et al. (2017) e Hamoy et al. (2018), que corresponde: Delta (1-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alpha (8-12 Hz), Beta (12-28) e Gamma (28-40 Hz).

4.2.3 Análise estatística

Os dados foram analisados por meio de comparação entre médias, foi aplicado análise de variância ANOVA seguida de teste de Tukey, foi considerando um nível de significância * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$. Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism ®5.

4.5. CONFORMAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação da UFPA (CEPAE-UFPA), e aceito (ANEXO A), protocolado sob o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) nº 3123260522, sendo assim o experimento será realizado pelo autor da dissertação e pelo responsável pelo Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. Em concordância com as condições anteriores, a pesquisa segue os preceitos legais necessários, tomando como embasamento jurídico/ético os regimentos estabelecidos pela legislação nacional para utilização e criação de animais para experimentação e pelos princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

5. RESULTADOS

5.1 ABSTINÊNCIA A NICOTINA ALTERA REGISTROS ELETROCORTICOGRÁFICOS EM RATOS

Durante o trabalho de parto, os animais tratados com nicotina não apresentaram alterações comportamentais e mantiveram sua ingestão de comida e água semelhante aos grupos controle e veículo (dados não mostrados). Os registros de ECoG do grupo controle mostraram amplitude abaixo de 0,1 mV (Figura 6A, esquerda), conforme demonstrado na amplificação de 1 segundo (Figura 6A, centro) com espectrograma mostrando a maior intensidade de energia abaixo de 10 Hz (Figura 6 A, direita). Os registros eletrocorticográficos para o grupo que recebeu nicotina de forma aguda, mostraram uma maior amplitude no registro com variação de 0,2 mV (Figura 6B, direita) como demonstrado na amplificação do registro (Figura 6B centro), o espectrograma demonstra um aumento na a intensidade de potência abaixo de 25 Hz (Figura 6 B, direita). O grupo tratado por 14 dias com nicotina e submetido a 24 horas de abstinência apresentou traçado com amplitude chegando a 0,1 mV (Figura 6 C, esquerda); a amplificação do registro demonstra as oscilações no traçado bem próximas ao grupo controle (Figura 6 C, centro)), o espectrograma mostra distribuição de potência abaixo de 10 Hz (figura 6 C à direita). O grupo tratado por 14 dias com nicotina e submetido a abstinência de 24 horas, que recebeu reaplicação de nicotina após o primeiro registro do ECoG e 15 minutos após a aplicação da nicotina, foi realizado um novo ECoG, apresentou características de traçado semelhantes aos obtidos para o grupo nicotina (Figura 6 D).

O grupo tratado por 14 dias com nicotina e submetido à abstinência por 48 horas apresentou traçado com amplitude chegando a 0,1 mV (Figura 6 E, esquerda). (Figura 6 E, centro), o espectrograma mostra distribuição de potência abaixo de 10 Hz (Figura 6 E direita). O grupo tratado por 14 dias com nicotina e submetido a abstinência por 48 horas, que recebeu reaplicação de nicotina após o primeiro registro do ECoG e 15 minutos após a aplicação da nicotina foi realizado um novo ECoG, apresentou características de traçado com maior irregularidade com oscilações de amplitude de 0,15 mV (Figura 6 F, esquerda e direita), o espectrograma demonstrou intensidade de energia acima de 10 Hz (Figura 6 F direita).

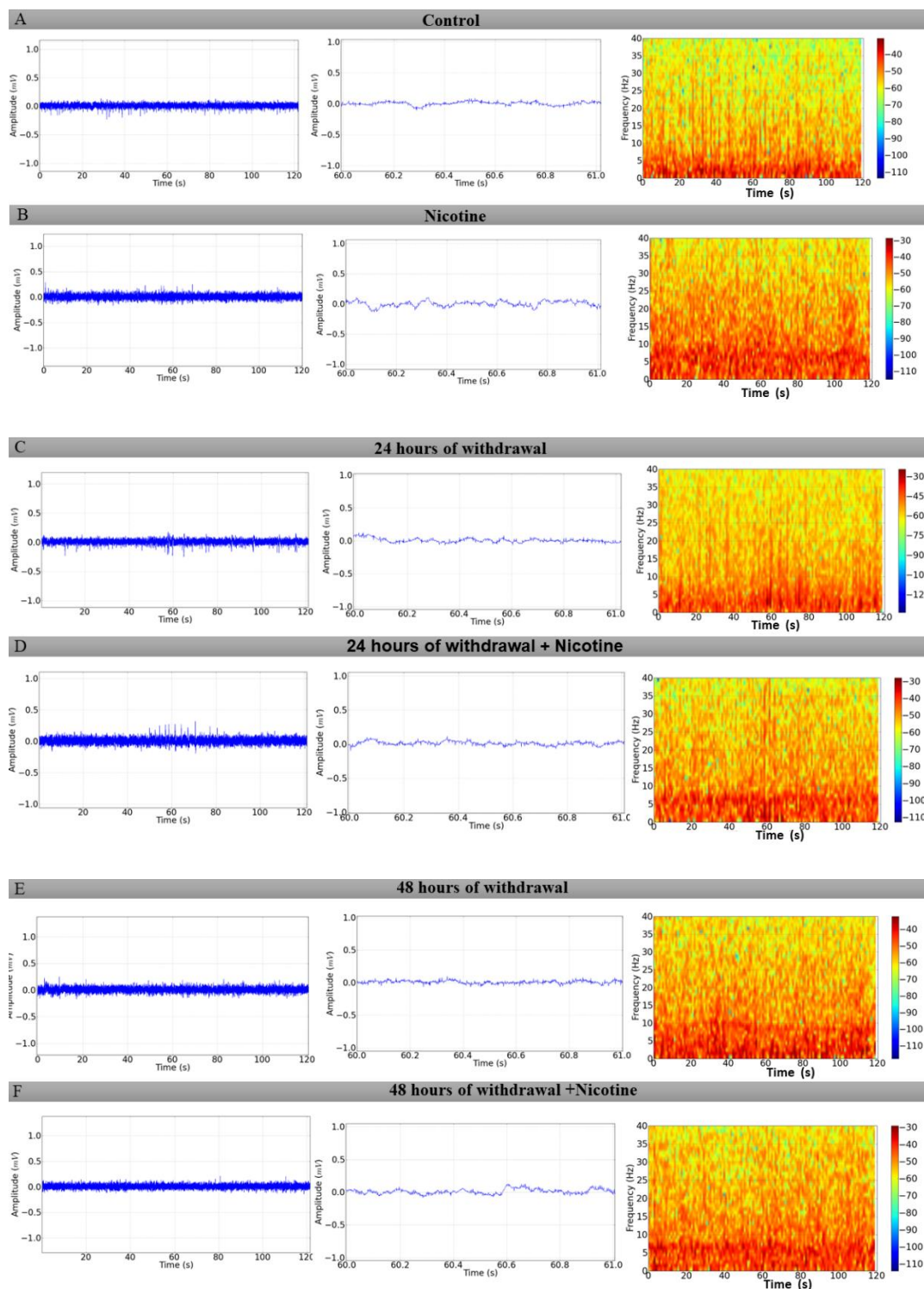


Figura 6. Registros eletrocorticográficos (ECoG) para os diferentes grupos experimentais. traçado ECoG para controle (esquerda), 1 segundo de amplificação do traçado (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita) em animais controle (A); Traçado de ECoG para o grupo nicotina (esquerda), registrando a amplificação em 1 segundo (centro) e respectivo espectrograma com distribuição de potência nas frequências até 40 Hz (direita)

(B); Traçado de ECoG para o grupo que recebeu tratamento com nicotina por 14 dias e manteve Abstinência por um período de 24 horas (esquerda), registrando amplificação em 1 segundo (centro) e espectrograma (direita) (C); Traçado de ECoG para o grupo tratado por 14 dias com nicotina mantido em Abstinência em 24 horas que recebeu nova dose de nicotina 1mg/kg ip (esquerda), amplificação de 1 segundo (centro) e espectrograma de distribuição de energia em frequências até 40 Hz (direita) (D); Gravação de ECoG para o grupo tratado com nicotina por 14 dias e mantido em Abstinência por 48 horas (Esquerda), Amplificação (centro) e espectrograma (direita) (L); Registro do ECoG do grupo tratado com nicotina por 14 dias submetido a 48 horas de Abstinência que recebeu nova dose de nicotina 1 mg/kg ip (esquerda), amplificação do registro (centro), espectrograma de distribuição de energia (direita).

Variação significativa entre os grupos controle ($0,5905 \pm 0,05835 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e nicotina ($1,035 \pm 0,08384 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) foi encontrada na análise da distribuição das frequências lineares até 40 Hz ($p < 0,001$). Durante a abstinência de nicotina por 24 horas, a potência média observada no registro foi de $0,7992 \pm 0,06636 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, mostrando diferença estatística para os grupos controle e nicotina ($p < 0,001$). O grupo tratado por 14 dias com abstinência de 24 horas que recebeu reaplicação de nicotina apresentou média de $1,005 \pm 0,1338 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, estatisticamente diferente para o grupo controle e grupo de abstinência de 24 horas ($p < 0,001$). O grupo com 14 dias de tratamento e Abstinência por 48 horas ($0,7264 \pm 0,08494 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), apresentou diferença estatística para o grupo nicotina ($p < 0,001$) e grupo controle ($p < 0,05$). Para o grupo abstinência 48 horas após a reaplicação da nicotina, a média foi de $1,032 \pm 0,1396 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, mostrando diferença estatística para os grupos controle e abstinência de 48 horas ($p < 0,001$) (Figura 2 A).

Os grupos controle ($0,2886 \pm 0,02947 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e nicotina ($0,3153 \pm 0,02819 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) foram semelhantes ($p = 0,0675$). O grupo abstinência de 24 horas apresentou média de $0,5046 \pm 0,07709 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença estatística para os grupos controle e nicotina ($p < 0,001$). O grupo com abstinência de 24 horas seguida de reaplicação de nicotina apresentou média de $0,3633 \pm 0,03874 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença para o grupo de abstinência de 24 horas ($p < 0,001$). Para o grupo abstinência de 48 horas, a média foi de $0,4627 \pm 0,07191 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, mostrando diferença estatística

para os grupos controle e nicotina ($p < 0,001$). O grupo de abstinência de 48 horas com reaplicação de nicotina ($0,2904 \pm 0,03451 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença estatística para o grupo de 48 horas ($p < 0,001$) (Figura 7 B).

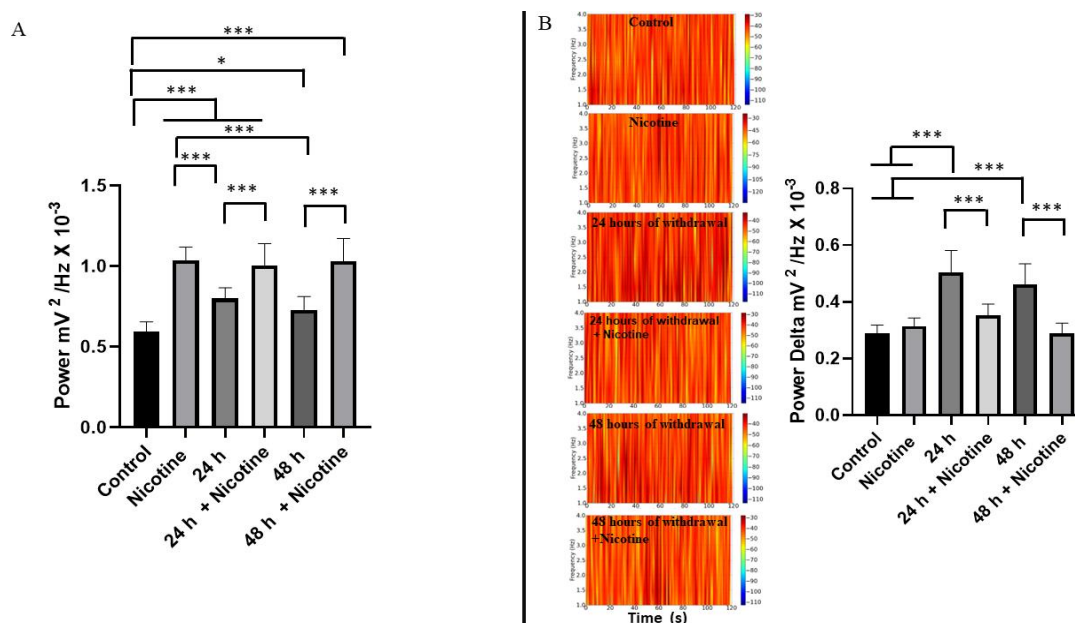


Figura 7. Gráfico da distribuição linear de potência entre os grupos com frequência de até 40 Hz (A); Espectrogramas representativos de intensidade de potência em oscilações delta para cada grupo (esquerda) e gráfico de distribuição de potência linear entre grupos com frequência em delta (1-4 Hz) (B). (Após ANOVA seguido de Tukey, * $P < 0,05$ ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$, $n=9$).

Para oscilações em teta (4-8 Hz) a média para o grupo controle de $0,09389 \pm 0,005302 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença estatística para o grupo nicotina ($0,2264 \pm 0,03563 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p < 0,001$). O grupo de 24 horas de abstinência de nicotina ($0,1547 \pm 0,01874 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença estatística para os grupos controle e nicotina aguda ($p < 0,001$). O grupo com 24 horas de abstinência com reaplicação de nicotina apresentou diferença média ($0,1948 \pm 0,03718 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) para o grupo controle ($p < 0,001$) e para o grupo abstinência por 24 horas ($p < 0,05$). O grupo de abstinência de 48 horas ($0,1632 \pm 0,01549 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença estatística em relação aos grupos controle e nicotina aguda ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 48 horas com reaplicação de nicotina ($0,2446 \pm 0,03687 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença estatística para os grupos controle, abstinência de 48 horas ($p < 0,001$) (Figura 8 A).

Para oscilações em alfa (8-12 Hz) houve variação significativa entre os grupos controle ($0,04043 \pm 0,005468 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e nicotina ($0,1375 \pm 0,01100 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) de frequências lineares até 40 Hz ($p < 0,001$). Durante a abstinência de nicotina por 24 horas, a potência média observada no registro foi de $0,07429 \pm 0,01840 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, mostrando diferença estatística para os grupos controle e nicotina ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 24 horas que recebeu reaplicação de nicotina apresentou média de $0,1193 \pm 0,01351 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença estatística para o grupo controle e abstinência de 24 horas ($p < 0,001$) e para o grupo nicotina ($p < 0,01$). O grupo de abstinência de 48 horas ($0,09093 \pm 0,007981 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), apresentou diferença estatística para o grupo controle, nicotina ($p < 0,001$). Para o grupo abstinência 48 horas após a reaplicação da nicotina, a média foi de $0,1226 \pm 0,01189 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, mostrando diferença estatística para os grupos controle e Abstinência de 48 horas ($p < 0,001$) e para o grupo nicotina ($p < 0,01$) (Figura 8 B).

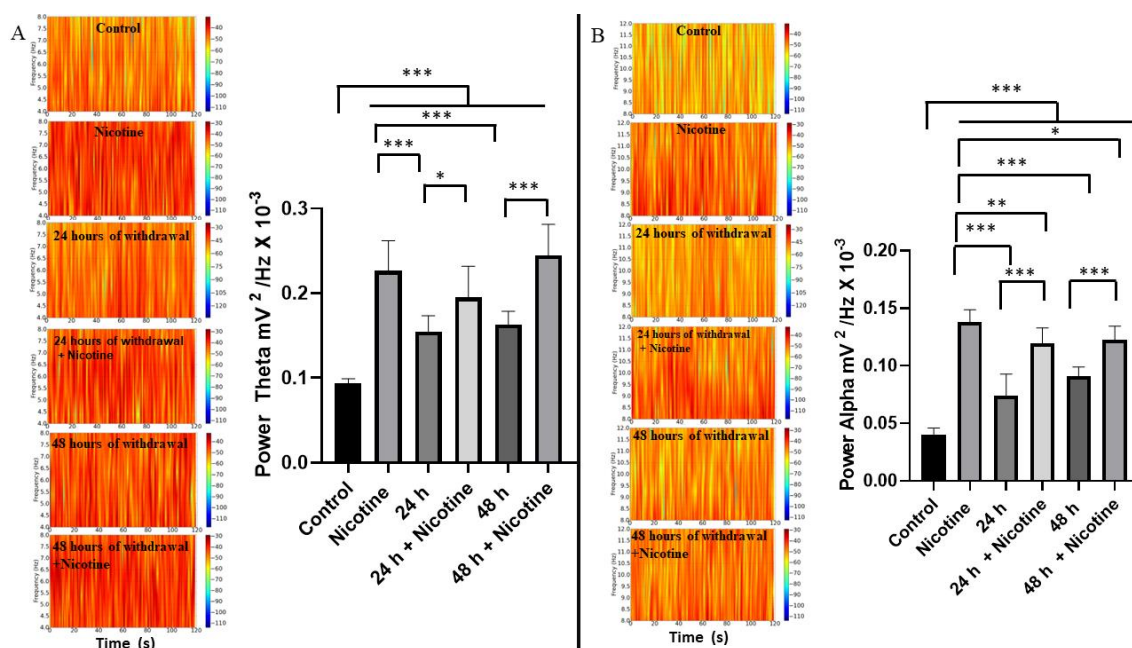


Figura 8. Espectrogramas representativos da distribuição de potência para cada grupo nas oscilações teta (esquerda), distribuição média da potência na frequência teta (4-8 Hz) (A); Espectrogramas representativos de intensidade de potência em oscilações alfa para cada grupo (esquerda) e gráfico de distribuição linear de potência entre grupos com frequência em alfa (8-12 Hz) (B). (Após ANOVA seguido de Tukey, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, $n=9$).

Para oscilações em Beta (12-28 Hz) a média para o grupo controle de $0,05367 \pm 0,003660 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença estatística para o grupo nicotina ($0,1156 \pm 0,007982 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p < 0,001$). O grupo com 24 horas de abstinência ($0,05977 \pm 0,007635 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença estatística para os grupos controle e nicotina ($p < 0,001$). O grupo com 24 horas de abstinência com reaplicação de nicotina apresentou média de $0,09927 \pm 0,009556 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença para o grupo controle e abstinência de 24 horas ($p < 0,001$) e para o grupo nicotina ($p < 0,01$). O grupo de abstinência de 48 horas ($0,07667 \pm 0,01102 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença estatística em relação aos grupos controle e nicotina ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 48 horas com reaplicação de nicotina ($0,1083 \pm 0,01335 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença estatística para os grupos controle e Abstinência de 48 horas ($p < 0,001$) (Figura 4 A).

Para oscilações gama, houve variação significativa entre os grupos controle ($0,01570 \pm 0,001831 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e nicotina ($0,02074 \pm 0,002941 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p < 0,001$). Durante a abstinência de nicotina por 24 horas, a potência média observada no registro foi de $0,01601 \pm 0,001769 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, mostrando diferença estatística para o grupo nicotina ($p < 0,01$). O grupo abstinência de 24 horas com reaplicação de nicotina apresentou média de $0,02239 \pm 0,003794 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, demonstrando diferença estatística entre o grupo controle e o grupo abstinência de 24 horas ($p < 0,001$). O grupo abstinência por 48 horas ($0,01864 \pm 0,001375 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), apresentou diferença estatística para o grupo abstinência 48 horas após a reaplicação da nicotina, a média foi de $0,02154 \pm 0,002383 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, neste grupo apresentou diferença estatística para o grupo controle ($p < 0,001$) (Figura 9 B).

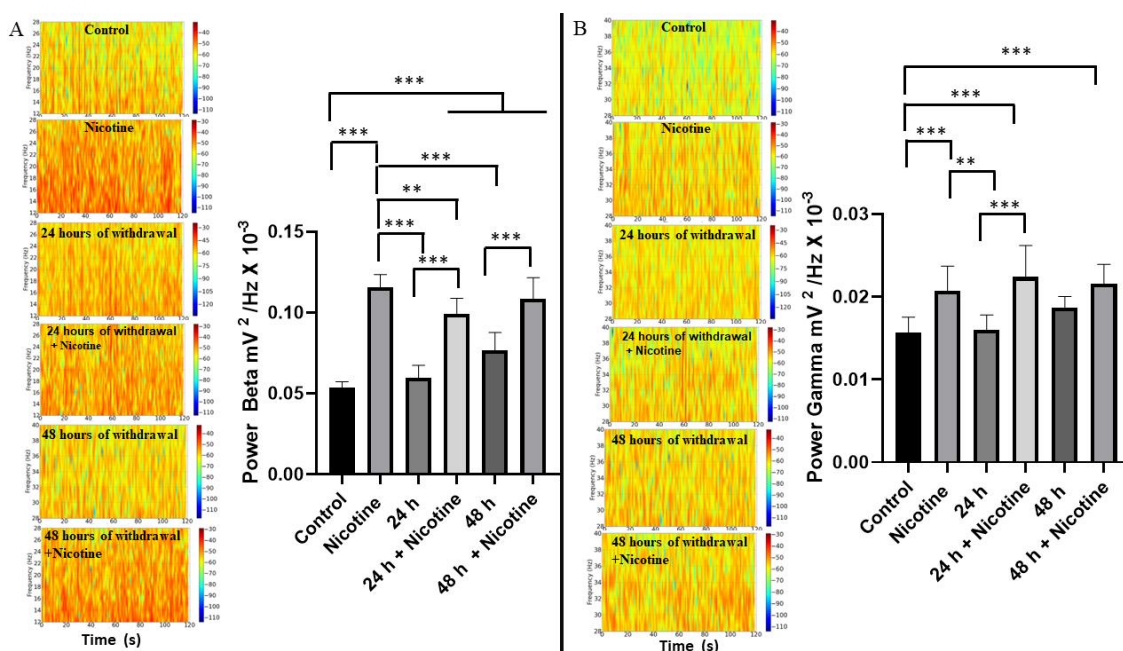


Figura 9. Espectrogramas representativos da distribuição de potência para cada grupo em oscilações em beta (esquerda), distribuição de potência média em frequência em beta (12-28 Hz) (A). Espectrogramas representativos de intensidade de potência em oscilações gama para cada grupo (esquerda) e gráfico de distribuição linear de potência entre grupos com frequência em gama (28-40 Hz) (B). (Após ANOVA seguido de Tukey, * $P < 0,05$ ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$, $n=9$).

5.2 A ABSTINÊNCIA A NICOTINA ALTEROU O TRAÇADO ELETROCARDIOGRÁFICO.

A atividade cardíaca do grupo controle apresentou ritmo sinusal (Figura 10 A), com frequência média de $372,2 \pm 25,39$ bpm, o grupo tratado com nicotina apresentou aumento da frequência cardíaca (Figura 10 B) em relação ao grupo controle ($p < 0,001$). O grupo em abstinência a nicotina por 24 horas (Figura 10 C) apresentou frequência cardíaca média de $375,6 \pm 25,55$ bpm, que não diferiu em relação ao grupo controle ($p=0,9997$), mas apresentou diferença em relação ao grupo tratado com nicotina aguda ($p < 0,001$). O grupo de abstinência a 24 horas foi posteriormente tratado com nicotina 1 mg/kg ip (Figura 10 D) apresentou uma frequência cardíaca média de $482,2 \pm 29,49$ bpm, superior aos grupos controle e abstinência de 24 horas ($p < 0,001$), mas semelhante ao o grupo que recebeu nicotina de forma aguda ($p= 0,9325$). O grupo de abstinência por 48 horas (Figura 10 E) com média de $384,4 \pm 18,78$ bpm apresentou diferença

estatística para os grupos de nicotina aguda ($p < 0,001$). No entanto, não houve diferença estatística para o grupo controle ($p = 0,9020$). O grupo com abstinência por 48 horas com reaplicação de nicotina (Figura 10 F), apresentou frequência cardíaca média de $531,1 \pm 24,72$ bpm, apresentando diferença estatística para os grupos controle, e abstinência por 48 horas ($P < 0,001$) para a nicotina grupo ($P < 0,05$) (Figura 10 A).

A amplitude média para o controle ($0,5344 \pm 0,03095$ mV), nicotina aguda ($0,5803 \pm 0,06772$ mV), 24 horas de abstinência de nicotina ($0,5443 \pm 0,05441$ mV) e 24 horas de abstinência com reaplicação de nicotina ($0,6022 \pm 0,03011$ mV), não apresentou diferença. Para o grupo de 48 horas de abstinência de nicotina ($0,5268 \pm 0,06695$ mV) houve diferença estatística para o grupo de 48 horas de abstinência com reaplicação de nicotina ($0,6200 \pm 0,05739$) e para o grupo controle ($p < 0,01$) (Figura 10 B).

O intervalo RR para o grupo controle a média foi de $161,1 \pm 11,03$ ms foi maior que o grupo nicotina aguda ($121,7 \pm 6,124$ ms) ($p < 0,001$). O grupo de 24 horas de abstinência a nicotina apresentou intervalo RR de $159,7 \pm 11,16$ ms, diferindo do grupo de nicotina aguda ($P < 0,001$) e não diferindo do grupo controle ($p = 0,9990$). A média para o grupo de abstinência de 24 horas com reaplicação de nicotina foi de $124,6 \pm 7,986$, diferença para os grupos controle e abstinência de 24 horas ($P < 0,001$). O grupo de abstinência de 48 horas apresentou intervalo RR médio de $154,7 \pm 6,500$ ms, diferente dos grupos de nicotina aguda ($p < 0,001$). O grupo com abstinência por 48 horas seguida de reaplicação de nicotina ($113,1 \pm 4,885$ ms) apresentou diferença estatística para os grupos controle e abstinência por 48 horas ($p < 0,001$). (Figura 10 C).

O intervalo PQ para o grupo controle com média de $51,12 \pm 2,054$ ms apresentou diferença para o grupo nicotina aguda ($47,10 \pm 0,7483$ ms) ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 24 horas apresentou média de $52,40 \pm 1,205$ ms, diferente do grupo nicotina ($p < 0,001$). O grupo de abstinência de 24 horas com reaplicação de nicotina em média de $48,39 \pm 1,242$ ms apresentou diferença para o grupo controle ($p < 0,05$) e para o grupo de abstinência de 24 horas ($p < 0,001$). O grupo de abstinência de 48 horas, média de $52,20 \pm 2,746$ ms, foi diferente dos grupos de nicotina ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 48 horas com reaplicação de nicotina teve média de $44,16 \pm 2,711$ ms, com diferença para

os grupos controle e Abstinência de 48 horas ($p < 0,001$) e nicotina ($p < 0,05$) (Figura 10D).

Para a duração do complexo QRS, os grupos controle ($5,100 \pm 0,4183$ ms), nicotina ($4,656 \pm 0,4773$ ms) ($p = 0,2822$) e abstinência de 24 horas ($5,244 \pm 0,3504$ ms) ($p = 0,9814$) não apresentaram diferença estatística. Para o grupo de abstinência de 24 horas com reaplicação de nicotina ($4,333 \pm 0,5074$ ms), houve diferença entre o grupo controle ($p < 0,01$) e o grupo de abstinência de 24 horas ($p < 0,001$). O grupo com 48 horas de abstinência teve média de $5,211 \pm 0,5372$ ms, apresentando diferença para o grupo abstinência ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 48 horas e reaplicação de nicotina ($4,178 \pm 0,2949$ ms) foi diferente dos grupos controle e abstinência de 48 horas ($p < 0,001$) (Figura 10E).

O intervalo QT no grupo controle teve média de $29,44 \pm 2,762$ ms e foi diferente do grupo nicotina ($24,44 \pm 1,595$ ms) ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 24 horas ($28,92 \pm 1,644$ ms) apresentou diferença em relação ao grupo nicotina ($p < 0,001$), porém semelhante ao grupo controle ($p = 0,9911$). O grupo abstinência de 24 horas com reaplicação de nicotina ($23,63 \pm 1,632$ ms) apresentou diferença em relação aos grupos controle e abstinência de 24 horas ($p < 0,001$). O grupo de abstinência de 48 horas ($30,18 \pm 1,611$ ms) apresentou diferença para os grupos de nicotina ($p < 0,001$). O grupo abstinência de 48 horas com reaplicação de nicotina ($23,09 \pm 1,680$ ms) manteve diferença estatística para os grupos controle e abstinência de 48 horas ($p < 0,001$) (Figura 10 F).

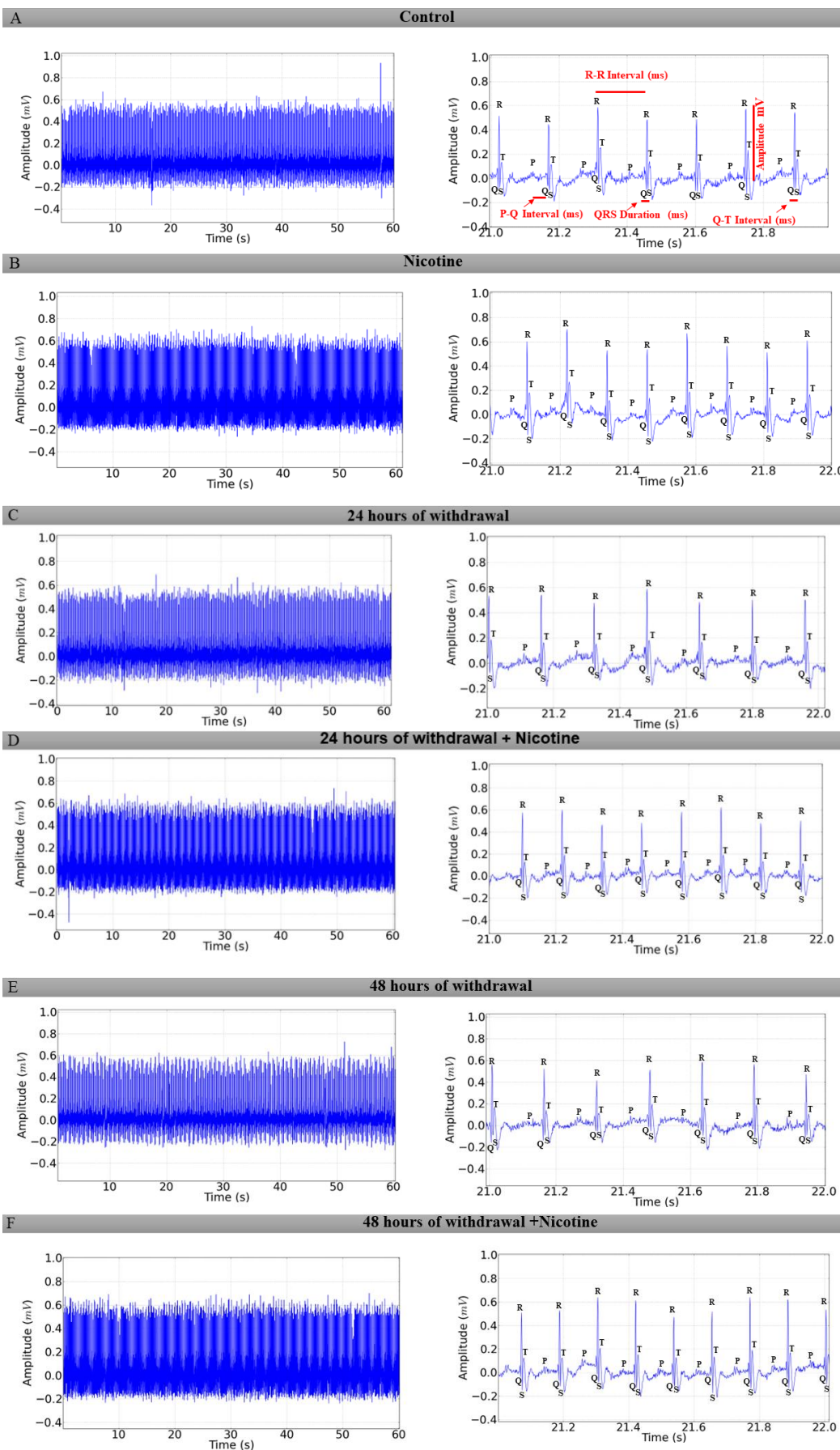


Figura 10. Registros demonstrativos de eletrocardiograma (ECG) com duração de 1 minuto. Traçado de ECG do grupo controle (esquerda), amplificação de 1 segundo do traçado (esquerda) com indicação dos dados analisados: amplitude, intervalo RR, intervalo PQ, duração do QRS, intervalo QT (A). Atividade cardíaca observada após aplicação de Nicotina 1 mg/kg ip (esquerda) e amplificação demonstrando surtos cardíacos (esquerda) (B); Traçado de ECG para o grupo que recebeu tratamento com nicotina por 14 dias e manteve abstinência por um período de 24 horas (esquerda), registrando amplificação em 1 segundo (direita) (C); Traçado eletrocardiográfico do grupo tratado por 14 dias com nicotina mantido em abstinência em 24 horas que recebeu nova dose de nicotina 1mg/kg ip (esquerda), aumento de 1 segundo (direita) (D); Registro do ECG do grupo tratado com nicotina por 14 dias e mantido em abstinência por 48 horas (Esquerda), Amplificação do registro 1 segundo (Direita) (E); Registro eletrocardiográfico do grupo tratado com nicotina por 14 dias submetido a 48 horas de abstinência que recebeu nova dose de nicotina 1 mg/kg ip (esquerda), registrando amplificação (direita) (F).

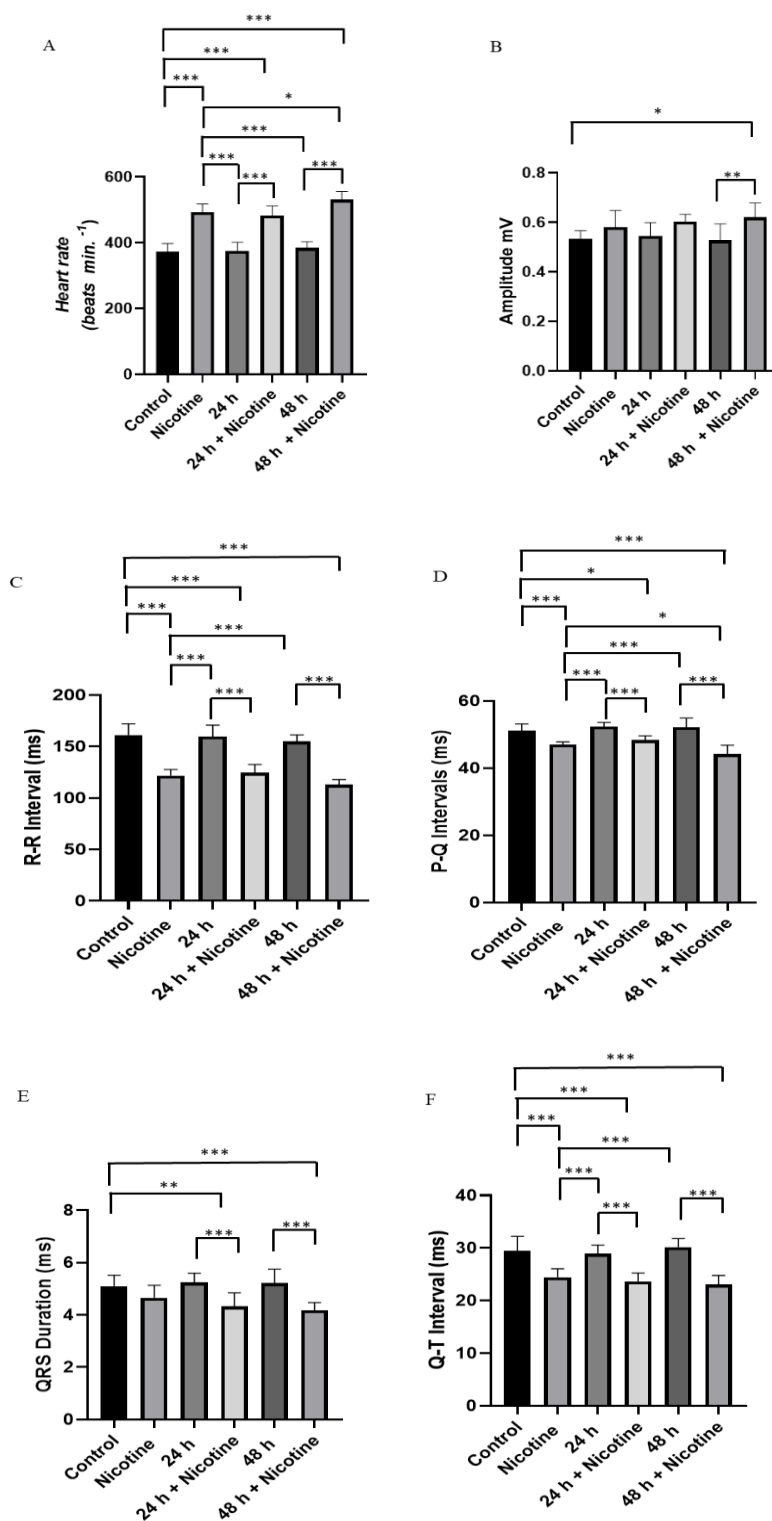


Figura 11. Gráficos mostrando a atividade cardíaca durante 24 e 48 horas após a abstinência ao uso de nicotina: Frequência cardíaca (bpm) (A), Amplitude QRS (mV) (B), Intervalo RR (m) (C), Intervalo PQ (ms) (D), duração do QRS (ms) (E) e intervalo QT (ms) (F). (Após ANOVA seguido de Tukey, * P<0,05 ** P<0,01 ***P<0,001, n=9).

6. DISCUSSÃO

Neste estudo, os registros de ECoG mostraram alterações nas oscilações cerebrais de baixa frequência (1-40 Hz) durante o período de abstinência de 24 horas e 48 horas de nicotina. Durante o período de abstinência de 24 e 48 horas, foi demonstrado aumento de potência para oscilações em Delta, teta, alfa em relação ao controle. Para oscilações em beta, houve aumento da amplitude para o grupo com abstinência por 48 horas. Estudos demonstraram que a administração de nicotina altera o eletrocorticograma (ECoG), no entanto, os efeitos são transitórios com áreas cerebrais com resposta aumentada e outras com resposta diminuída sugerindo envolvimento de diferentes vias no efeito (ARMITAGE; HALL; SELLERS, 1969; PICKWORTH et al., 2003).

O aumento das oscilações beta após o consumo crônico de nicotina está relacionado à melhora do humor e disposição do paciente, o que demonstra o impacto da nicotina na modulação da atividade cortical (CONLEY et al., 2021). No entanto, na abstinência, a via de recompensa, devido à adaptação do cérebro à presença de nicotina, é ativada (OLIVER et al., 2017). Nossos dados mostraram aumento das oscilações beta após 48 horas de abstinência e após reaplicação de nicotina em 24 horas e 48 horas de abstinência.

Testes realizados em camundongos provam que a administração oral de nicotina e a abstinência de nicotina levam a distúrbios do sono, o que é semelhante a este modelo e a relatos humanos sobre o efeito da abstinência de nicotina (MATHEWS; STITZEL, 2019b). Ao mesmo tempo, aumenta o estado de alerta e a concentração (V. KNOTT, D. SHAH, 1998). Um estudo comprova que fumantes apresentam atividade ECOG reduzida na banda delta no córtex frontal e aumento das oscilações no alfa (DONG et al., 2021). Nossos achados demonstram que durante 24 e 48 horas de abstinência, os animais apresentaram um aumento nas oscilações delta, teta e alfa no córtex motor. Entretanto, após a reaplicação da nicotina, as oscilações cerebrais em delta diminuíram, demonstrando que a nicotina altera o ritmo cerebral e mesmo após sua retirada, mantém-se a prevalência de força nas oscilações cerebrais para oscilações em teta e alfa, porém, com diminuição de delta após reaplicação.

Após a administração da nicotina, observamos aumento do espectro de

potência nas oscilações de baixa frequência. Em adultos saudáveis, a banda delta é normalmente observada nas fases mais profundas do sono e, quando aumenta no cérebro acordado, pode indicar alterações no grau de consciência e memória (GASPARD et al., 2013; MOURAD et al., 2021).

O grupo de ratos que permaneceu em abstinência por 24 horas após a administração de nicotina apresentou aumento da potência das oscilações cerebrais delta em relação ao controle no córtex motor (Figura 2B). Porém, após a reaplicação da nicotina em ratos abstinentes, houve redução da potência das ondas delta, indicando ativação do sistema de alerta, o que pode explicar o uso da nicotina durante o condicionamento de abstinência, reduzindo os efeitos dos pacientes que desejam interromper o uso. A administração de pequenas doses de nicotina a ex-fumantes melhora os testes de cognição, memória e concentração (ERNST et al., 2001).

As oscilações em teta desempenham um papel importante na formação e recuperação de alguns tipos de memória frequentemente observados no contexto exploratório e na aprendizagem (MYERS et al., 2013). Durante a abstinência de 24 e 48 horas, os animais apresentaram aumento das oscilações em teta, e após administração de nicotina as oscilações em teta aumentaram, para o grupo com abstinência de 48 horas, isso demonstra que o tempo de abstinência de nicotina seguido de sua reaplicação aumentou potência theta, que pode estar ligada à condição de recompensa, melhor concentração e aquisição de memória de curto prazo.

Sabe-se que a nicotina geralmente melhora a função da memória verbal e o aprendizado (GILBERTSON et al., 2011; MYERS et al., 2013). As oscilações alfa estão relacionadas ao processamento cognitivo e são altas em situações associadas a ganhos de atenção, as oscilações beta são um forte preditor de desempenho perceptivo e motor e estão relacionadas ao estado de alerta, foco e pensamento ativo. As ondas gama aumentam durante o uso da memória de trabalho e aprendizado (DZIEWCZAPOLSKI et al., 2009; GRUNDEY et al., 2015; LEONARD; MEXAL; FREEDMAN, 2007). Observamos que durante o período de abstinência, os potenciais de baixa frequência diminuem em relação ao controle da nicotina, e após a aplicação, os potenciais aumentam em geral, o que pode estar relacionado à sensação de bem-estar do fumante.

Após o consumo de nicotina, a frequência cardíaca aumenta, o efeito

adverso do tabagismo agudo nos índices de repolarização ventricular do ECG foi confirmado por Ip et al, 2020, com aumento da pressão arterial média (GONZALEZ; COOKE, 2021). Entretanto, durante o período de abstinência de nicotina, não foi observada diferença entre fumantes e não fumantes em relação à frequência cardíaca e ao intervalo QT (LEWIS et al., 2010). Em relação ao padrão de atividade cardíaca, observou-se que durante os períodos de abstinência houve diminuição da frequência cardíaca, mas após a reaplicação da nicotina, a frequência cardíaca aumentou, principalmente no grupo que ficou em abstinência por 48 horas. Esse fato também ocorre em relação à amplitude do QRS, que também aumenta nessa condição. Para o intervalo PQ, duração do QRS e intervalo QT, a abstinência de nicotina aumenta esses parâmetros eletrocardiográficos quando comparada ao grupo nicotina, e após a administração de nicotina, uma queda mais acentuada foi observada nos animais com abstinência de 48 horas.

O presente trabalho demonstrou que a nicotina aumenta a potência das oscilações cerebrais de baixa frequência e mesmo no período de abstinência de 24 e 48 horas não retorna aos parâmetros normais em curto prazo. Durante a reaplicação da nicotina após o período de abstinência, as alterações foram maiores para o grupo de abstinência de 48 horas. Os dados eletrocardiográficos mostraram maior atividade cardíaca para o grupo que recebeu nicotina após 48 horas de abstinência. Dessa forma, podemos avaliar que o uso da nicotina recondiciona o organismo a parâmetros mais elevados de oscilações cerebrais e cardíacas e que os efeitos de recompensa podem ser amplificados pelo tempo de abstinência.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou que a nicotina aumenta a potência das oscilações cerebrais de baixa frequência e mesmo no período de abstinência de 24 e 48 horas não retorna a atividade normal. Durante a reaplicação de nicotina após o período de abstinência as alterações foram maiores para o grupo com abstinência de 48 horas. Os dados do eletrocardiograma também demonstraram maior atividade cardíaca para o grupo que recebeu nicotina após 48 horas de abstinência. Desta forma podemos avaliar que o uso da nicotina altera o organismo a parâmetros mais elevados o que está relacionado a recompensa e ao bem-estar do paciente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMITAGE, A. K.; HALL, G. H.; SELLERS, C. M. Effects of nicotine on electrocortical activity and acetylcholine release from the cat cerebral cortex. **British journal of pharmacology**, v. 35, n. 1, p. 152–160, 1969.

BABB, S. et al. Quitting Smoking Among Adults — United States, 2000–2015. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, n. 52, p. 1457–1464, 2017.

BARROS, M. DAS N. D. DA S. et al. Nova Metodologia de Ensino do ECG: Desmistificando a Teoria na Prática – Ensino Prático do ECG. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 40, n. 4, p. 751–756, 2016.

BU, J. et al. Low-theta electroencephalography coherence predicts cigarette craving in nicotine addiction. **Frontiers in Psychiatry**, v. 10, n. MAY, 2019.

CHENG, Q.; YAKEL, J. L. The effect of $\alpha 7$ nicotinic receptor activation on glutamatergic transmission in the hippocampus. **Biochemical Pharmacology**, v. 97, n. 4, p. 439–444, 2015.

CHOI, J. B.; LEE, Y. J. G.; JEONG, D. U. Transdermal nicotine patch effects on ECOG power spectra and heart rate variability during sleep of healthy male adults. **Psychiatry Investigation**, v. 14, n. 4, p. 499–505, 2017a.

CHOI, J. B.; LEE, Y. J. G.; JEONG, D. U. Transdermal nicotine patch effects on ECOG power spectra and heart rate variability during sleep of healthy male adults. **Psychiatry Investigation**, v. 14, n. 4, p. 499–505, 2017b.

CME, D. T. B. Nicotine and health. **Drug and Therapeutics Bulletin**, v. 52, n. 7, p. 78–81, 2014.

CONLEY, A. C. et al. ECOG as a Functional Marker of Nicotine Activity: Evidence From a Pilot Study of Adults With Late-Life Depression. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, n. December, p. 1–11, 2021.

DANI, J. A.; JI, D.; ZHOU, F. M. Synaptic plasticity and nicotine addiction. **Neuron**, v. 31, n. 3, p. 349–352, 2001.

DE LEONARDIS, V.; GOLDSTEIN, S. A.; LINDSAY, J. Electrocardiographic diagnosis of left ventricular hypertrophy in the presence of complete right bundle branch block. **The American Journal of Cardiology**, v. 62, n. 9, p. 590–593, 1988.

DOMINO, E. F. et al. Tobacco smoking produces widespread dominant brain wave alpha frequency increases. **International Journal of Psychophysiology**, v. 74, n. 3, p. 192–198, 2009a.

DOMINO, E. F. et al. Tobacco smoking produces widespread dominant brain wave alpha frequency increases. **International Journal of Psychophysiology**, v. 74, n. 3, p. 192–198, dez. 2009b.

DONG, F. et al. Abnormal resting-state ECOG power and impaired inhibition control in young smokers. **Neuroscience Letters**, v. 761, n. July, p. 136120, 2021.

DZIEWCZAPOLSKI, G. et al. Deletion of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor gene improves cognitive deficits and synaptic pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 27, p. 8805–8815, 2009.

ERNST, M. et al. Effect of nicotine on brain activation during performance of a working memory task. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 8, p. 4728–4733, 2001.

FRAGOLA, P. V. et al. Electrocardiographic diagnosis of left ventricular hypertrophy in the presence of left bundle branch block: a wasted effort. **International Journal of Cardiology**, v. 28, n. 2, p. 215–221, 1990.

FRANKEN, R.A.; NITRINI, G.; FRANKEN, M. .; FONSECA, A. J.; LEITE, J. T. Nicotina. Ações e Interações. **Nicotina. Ações e interações**, v. 66, n. 1, p. 371–373, 1996.

GASPARD, N. et al. Similarity of lateralized rhythmic delta activity to periodic lateralized epileptiform discharges in critically ill patients. **JAMA Neurology**, v. 70, n. 10, p. 1288–1295, 2013.

GILBERTSON, R. et al. Nicotine effects on immediate and delayed verbal memory after substance use detoxification. **Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology**, v. 33, n. 6, p. 609–618, 2011.

GONZALEZ, J. E.; COOKE, W. H. Acute effects of electronic cigarettes on arterial pressure and peripheral sympathetic activity in young nonsmokers. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 320, n. 1, p. H248–H255, 2021.

GORIOUNOVA, N. A.; MANSVELDER, H. D. Short- and long-term consequences of nicotine exposure during adolescence for prefrontal cortex neuronal network function. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 2, n. 12, 2012.

GRUNDEY, J. et al. Double dissociation of working memory and attentional processes in smokers and non-smokers with and without nicotine. **Psychopharmacology**, v. 232, n. 14, p. 2491–2501, 2015.

HUGHES, J. R. Effects of abstinence from tobacco: Valid symptoms and time course. **Nicotine and Tobacco Research**, v. 9, n. 3, p. 315–327, 2007.

ILGENLI, T. F. et al. The effects of cigarette smoking on the Tp-e interval, Tp-e/QT ratio and Tp-e/QTc ratio. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 24, n. 6, p. 973–978, 2015.

JACOBSEN, L. K. et al. Effects of smoking and smoking abstinence on cognition in adolescent tobacco smokers. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 1, p. 56–66, 1 jan. 2005.

JONATAS REICHERT, A. J. DE A. C. M. C. G. I. G. J. M. C. **Smoking cessation guidelines - 2008**. [s.l: s.n.].

JONES, S.; SUDWEEKS, S.; YAKEL, J. L. Nicotinic receptors in the brain: Correlating physiology with function. **Trends in Neurosciences**, v. 22, n. 12, p. 555–561, 1999.

KHOURY, Z. et al. Effects of transdermal nicotine patches on ambulatory ECG monitoring findings: A double-blind study in healthy smokers. **Cardiovascular**

Drugs and Therapy, v. 10, n. 2, p. 179–184, 1996.

KLEINMAN, K. M.; VAUGHN, R. L.; CHRIST, T. S. **Effects of cigarette smoking and smoking deprivation on paired-associate learning of high and low meaningful nonsense syllables***Psychological Reports*. [s.l: s.n.].

KUTLU, M. G.; GOULD, T. J. Nicotinic receptors, memory, and hippocampus. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 23, p. 137–163, 2015.

LA, O.; A, S.; JS, B. Tobacco Withdrawal Symptoms Mediate Motivation to Reinstatement Smoking During Abstinence. **Physiology & behavior**, v. 176, n. 5, p. 139–148, 2017.

LAVIOLETTE, S. R.; VAN DER KOOY, D. The neurobiology of nicotine addiction: Bridging the gap from molecules to behaviour. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, n. 1, p. 55–65, 2004.

LE HOUZEC, J. Role of nicotine pharmacokinetics in nicotine addiction and nicotine replacement therapy: A review. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 7, n. 9, p. 811–819, 2003.

LEONARD, S.; MEXAL, S.; FREEDMAN, R. Genetics of smoking and schizophrenia. **Journal of Dual Diagnosis**, v. 3, n. 3–4, p. 43–59, 2007.

LEONIDES VAN PRAAG, J. Nicotin. **Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin**, v. 8, n. 1, p. 56–102, 1855.

LEWIS, M. J. et al. Influence of smoking abstinence and nicotine replacement therapy on heart rate and QT time-series. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 30, n. 1, p. 43–50, jan. 2010.

LOGEMANN, H. N. A. et al. The effect of enhancing cholinergic neurotransmission by nicotine on ECOG indices of inhibition in the human brain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 122, p. 89–96, 2014.

MANSVELDER, H. D. et al. **Nicotinic modulation of neuronal networks: From receptors to cognition**. Psychopharmacology. **Anais...** fev. 2006.

MATHEWS, H. L.; STITZEL, J. A. The effects of oral nicotine administration and

abstinence on sleep in male C57BL/6J mice. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 4, p. 1335–1347, 2019a.

MATHEWS, H. L.; STITZEL, J. A. The effects of oral nicotine administration and abstinence on sleep in male C57BL/6J mice. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 4, p. 1335–1347, 1 abr. 2019b.

MILLAR, N. S.; GOTTI, C. Diversity of vertebrate nicotinic acetylcholine receptors. **Neuropharmacology**, v. 56, n. 1, p. 237–246, 2009.

MISHRA, A. et al. Harmful effects of nicotine. **Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology**, v. 36, n. 1, p. 24–31, 2015.

MOGIANA, F. et al. DIFICULDADE NA INTERPRETAÇÃO DO ELETROCARDIOGRAMA PELO ENFERMEIRO. v. 06, n. 13, p. 944–951, 2021.

MOHEIMANI, R. S. et al. Sympathomimetic Effects of Acute E-Cigarette Use: Role of Nicotine and Non-Nicotine Constituents. 2017.

MOURAD, I. M. et al. A Neurochemical and Electrophysiological Study on the Combined Effects of Caffeine and Nicotine in the Cortex of Rats. **Basic and Clinical Neuroscience**, v. 12, n. 5, p. 681–691, 2021.

MYERS, C. S. et al. Nicotine enhances alerting, but not executive, attention in smokers and nonsmokers. **Nicotine and Tobacco Research**, v. 15, n. 1, p. 277–281, 2013.

OLIVEIRA, M.; MACHADO, S. B.; MENDES, F. F. [Electrocardiogram analysis by the anesthesiologist.]. **Revista brasileira de anesthesiologia**, v. 52, n. 5, p. 601–5, 2002.

OLIVER, J. A. et al. Nicotine withdrawal induces neural deficits in reward processing. **Nicotine and Tobacco Research**, v. 19, n. 6, p. 686–693, 2017.

PICCIOTTO, M. R.; KENNY, P. J. Molecular mechanisms underlying behaviors related to nicotine addiction. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 3, n. 1, p. 1–16, 2013.

PICKWORTH, W. B. et al. ECOG effects of conventional and denicotinized

cigarettes in a spaced smoking paradigm. **Brain and Cognition**, v. 53, n. 1, p. 75–81, 2003.

PLANETA, C. S.; et al. Bases neurofisiológicas da dependência do tabaco Neurophysiological Basis of Tobacco Dependence. **Rev. Psiq. Clín**, v. 32, n. 5, p. 251–258, 2005.

POMERLEAU, C. S.; MARKS, J. L.; POMERLEAU, O. F. **Who gets what symptom? Effects of psychiatric cofactors and nicotine dependence on patterns of smoking withdrawal symptomatology.** [s.l: s.n.].

RANZI, P.; THIEL, C. M.; HERRMANN, C. S. ECOG Source Reconstruction in Male Nonsmokers after Nicotine Administration during the Resting State. **Neuropsychobiology**, v. 73, n. 4, p. 191–200, 2016.

SBC, S. B. DE C. Eletrocardiograma De Repouso. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 80, p. 1–4, 2003.

SCHLIENZ, N. J.; HAWK, L. W.; ROSCH, K. S. The effects of acute abstinence from smoking and performance-based rewards on performance monitoring. **Psychopharmacology**, v. 229, n. 4, p. 701–711, 2013.

SLAWECKI, C. J. et al. **Neonatal Nicotine Exposure Alters Hippocampal ECOG and Event-Related Potentials (ERPs) in Rats** **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. [s.l: s.n.].

SNYDER, F. R.; DAVIS, F. C.; HENNINGFIELD, J. E. The tobacco withdrawal syndrome: performance decrements assessed on a computerized test battery. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 23, n. 3, p. 259–266, 1989.

SOBKOWIAK, R.; LESICKI, A. [Absorption, metabolism and excretion of nicotine in humans]. **Postepy biochemii**, v. 59, n. 1, p. 33–44, 2013.

STEVEN W, HUTCHINS, MARVIN L, H. D. Recent progress in the electrocardiographic diagnosis of ventricular hypertrophy. **cardiol Clin**, 1987.

TAKAHASHI, H. et al. Enhanced dopamine release by nicotine in cigarette smokers: A double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 3, p. 413–417,

2008.

TAŞOLAR, H. et al. Effect of Smoking on Tp-e Interval, Tp-e/QT and Tp-e/QTc Ratios as Indices of Ventricular Arrhythmogenesis. **Heart Lung and Circulation**, v. 23, n. 9, p. 827–832, 2014.

V. KNOTT, D. SHAH, D. F. ET AL. Nicotine and Attention: Event- Related Potential Investigations in Nonsmokers. **Clinical EEG and Neuroscience**, v. 40, n. July, p. 71–85, 1998.

WANG, K. et al. The neural mechanisms underlying the acute effect of cigarette smoking on chronic smokers. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 1–8, 2014a.

WANG, K. et al. The neural mechanisms underlying the acute effect of cigarette smoking on chronic smokers. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 22 jul. 2014b.

WONG, J. A. et al. Utility of treadmill testing in identification and genotype prediction in long-QT syndrome. **Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology**, v. 3, n. 2, p. 120–125, 2010.

YAMAMOTO, K.; DOMINO, E. F. **NICOTINE-INDUCED ECG AND BEHAVIORAL AROUSAL***t. [s.l.] Pergamon Press, 1965a.

YAMAMOTO, K. I.; DOMINO, E. F. Nicotine-induced ECoG and behavioral arousal. **Neuropharmacology**, v. 4, n. 6, p. 359–373, 1965b.

ZEID, D.; KUTLU, M. G.; GOULD, T. J. Differential Effects of Nicotine Exposure on the Hippocampus Across Lifespan. **Current Neuropharmacology**, v. 15, p. 388–402, 2018a.

ZEID, D.; KUTLU, M. G.; GOULD, T. J. Differential Effects of Nicotine Exposure on the Hippocampus Across Lifespan. **Current Neuropharmacology**, v. 15, 9 abr. 2018b.

ANEXOS

ANEXO A – CARTA DE ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA EM USO ANIMAL



UFPA
Universidade Federal do Pará

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO ELETROCORTICOGRÁFICA E ELETROCARDIOGRÁFICA DA ABSTINÊNCIA À NICOTINA EM RATOS WISTAR", protocolada sob o CEUA nº 3123260522 (ID 001941), sob a responsabilidade de **Moisés Hamoy** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) na reunião de 30/06/2022.

We certify that the proposal "ELECTROCORTICOGRAPHIC AND ELECTROCARDIOGRAPHIC EVALUATION OF NICOTINE WITHDRAWAL IN WISTAR RATS", utilizing 27 Heterogenics rats (27 males), protocol number CEUA 3123260522 (ID 001941), under the responsibility of **Moisés Hamoy** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Para (CEUA/UFPA) in the meeting of 06/30/2022.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **07/2022** a **06/2023**

Área: **Instituto de Ciências Biológicas**

Origem: **Biotério Central ICB/UFPA**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **8 a 10 semanas**

N: **27**

Linagem: **Wistar**

Peso: **180 a 200 g**

Local do experimento: Laboratório de Farmacologia e toxicologia de produtos naturais

Belém, 11 de novembro de 2022

Prof. Dra. Barbarella de Matos Macchi
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará

Prof. Dra. Maria Vivina Barros Monteiro
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará

ANEXO B – SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO



Esta mensagem foi traduzida automaticamente: inglês -> português.

Allan Tiago + <pharma.allan@gmail.com>

Por favor, verifique sua contribuição para Dexametasona melhora descargas epileptiformes em EEG sem impacto no comportamento cognitivo ou morte celular do hipocampo após a administração de pentilenotetrazol

Neurobiology of Disease Editorial Office <em@editorialmanager.com>
Responder a: Neurobiology of Disease Editorial Office <support@elsevier.com>
Para: Allan Carlos da Silva Tiago <pharma.allan@gmail.com>

20 de abril de 2023 às 12:31

Está é uma mensagem automática.

Jornal: Neurobiologia da Doença

Título: Dexametasona melhora descargas epileptiformes em EEG sem impacto no comportamento cognitivo ou morte celular hipocampal após administração de pentilenotetrazol

Autor Correspondente: Dr. Moisés Hamoy

Coautores: Rafaela Marques Ribeiro, Esther Padilha da Silveira, Vitória Corrêa Santos, Leonan Lima Teixeira, Gisely Santiago Santos, Izabela Nascimento Galvão, Maria Klara Otake Hamoy, Allan Carlos da Silva Tiago, Danella Bastos de Araujo, Nilton Muto, Dielly Catrina Favacho Lopes, Ph.D.

Número do manuscrito: NBD-23-368

Prezado Allan Carlos da Silva Tiago,

O autor correspondente, Dr. Moisés Hamoy, listou você como autor colaborador da seguinte submissão por meio do sistema de submissão on-line da Elsevier para Neurobiology of Disease.

Título da Submissão: Dexametasona melhora descargas epileptiformes em EEG sem impacto no comportamento cognitivo ou morte celular do hipocampo após administração de pentilenotetrazol