



Efeitos da vareniclina no tecido pulmonar em modelo animal

Hilal Ermis¹, Hakan Parlakpınar², Hulya Elbe³, Nigar Vardı⁴,
Alaaddin Polat⁵, Gazi Gulbas¹

1. Department of Pulmonary Medicine, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey.
2. Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey.
3. Department of Embryology and Histology, Faculty of Medicine, Sıtkı Kocman University, Muğla, Turkey.
4. Department of Embryology and Histology, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey.
5. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey.

Recebido: 16 janeiro 2019.

Aprovado: 09 junho 2019.

Estudo realizado no Department of Pulmonary Medicine, Faculty of Medicine, Turgut Ozal Medical Center, Inonu University, Malatya, Turkey.

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos agudos e crônicos da vareniclina no tecido pulmonar em um estudo experimental. **Métodos:** Um total de 34 ratos foi alocado aleatoriamente em grupos de estudo (vareniclina) e controle. Assim, os ratos foram divididos em dois grupos: (i) grupo controle e (ii) grupo vareniclina. A seguir, os ratos de cada grupo foram, por sua vez, subdivididos igualmente em agudos (C1; V1) e crônicos (C2; V2), e todos os ratos dos grupos agudos e crônicos foram sacrificados sob anestesia: no 45.º dia, para o grupo agudo [C1 (n=5) e V1 (n=12)], e no 90.º dia, para o grupo crônico [C2 (n=5) e V2 (n=12)], respectivamente. Em seguida, foram realizadas análises bioquímicas e histopatológicas. **Resultados:** Trinta e quatro ratos completaram o estudo. Destes ratos, 24 estavam no grupo vareniclina e 10 no grupo controle. Na exposição crônica à vareniclina, os níveis de oxidante composto por malondialdeído (MDA) e mieloperoxidase (MPO) aumentaram, e os níveis de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona (GSH) e glutatona peroxidase (GPx), nomeados como antioxidantes, diminuíram significativamente quando comparados com o grupo controle. Os níveis de MDA e MPO também foram significativamente mais elevados e os níveis de SOD, CAT, GPx e GSH foram significativamente mais baixos no grupo vareniclina crônico, quando comparado ao grupo vareniclina agudo. Estes achados também foram confirmados por observações histopatológicas. **Conclusões:** Este é o primeiro estudo que avaliou os efeitos pulmonares da vareniclina experimentalmente em um modelo animal. Observamos que o tratamento crônico da vareniclina causa inflamação e lesão pulmonar.

Descritores: Varenicline; Tecido pulmonar; Estresse oxidativo; Toxicidade pulmonar.

INTRODUÇÃO

O tabagismo é a causa mais importante e evitável de doenças pulmonares, como doença pulmonar obstrutiva crônica, câncer de pulmão e doenças pulmonares intersticiais. Além disso, tem sido associado a aproximadamente 50% das mortes por doenças cardiovasculares e pulmonares. As mudanças patológicas mais importantes associadas ao tabagismo são inflamação e estresse oxidativo do trato respiratório. As mudanças metaplásticas e displásticas no epitélio brônquico são acompanhadas por expressão elevada de moléculas de adesão e secreção de grande quantidade de citocinas e elementos de estresse oxidativo.⁽¹⁻³⁾

Parar de fumar é o método mais eficaz de profilaxia e tratamento de doenças pulmonares. Os efeitos da nicotina são mediados através de uma variedade de mecanismos, incluindo ações em vários subtipos de receptores de nicotina (nAChR) e modulação da liberação de neurotransmissores, como dopamina, serotonina e glutamato.⁽²⁾ A vareniclina é o agente mais utilizado para parar de fumar e atua como um agonista parcial

altamente seletivo no nAChR $\alpha 5 \beta 2$ e um agonista completo no receptor nicotínico de acetilcolina $\alpha 7$.^(3,4)

Em ensaios clínicos randomizados, tem sido demonstrado que a vareniclina aumenta as chances de resultados bem-sucedidos, em longo prazo, em duas a três vezes, em comparação com tentativas sem suporte farmacologicamente para parar de fumar.⁽³⁾ Existem relatos de que a vareniclina suprime os sintomas de abstinência e a sensação de prazer derivada do tabagismo.⁽⁵⁾ Fumantes tratados com vareniclina relataram que o tabagismo era menos agradável e gratificante do que aqueles que receberam um placebo.⁽⁶⁾ Os efeitos colaterais mais comuns da vareniclina incluem náuseas, insônia, sonhos anormais, dor de cabeça, agitação, ansiedade, taquicardia, dispepsia e constipação.⁽⁷⁾

Embora existam muitos estudos que avaliam os efeitos relacionados a deixar de fumar da vareniclina, o número de estudos que avaliam os efeitos sobre os tecidos é extremamente baixo, sendo que nunca foi avaliado se esta tem ou não um efeito negativo no tecido pulmonar dos ratos. Para este fim, visamos explorar os efeitos

Endereço para correspondência:

Hilal Ermis, Department of Pulmonary Medicine, Faculty of Medicine, Turgut Ozal Medical Center, Inonu University, 44280, Malatya, Turkey.
Tel.: + 90 422 341 0660-3806. Telefax: + 90 422 341 0728. E-mail: hilalermis3@gmail.com
Apoio financeiro: Nenhum.

agudos e crônicos da vareniclina usando exames histopatológicos para avaliar o estresse oxidativo e a apoptose no tecido pulmonar de ratos tratados com vareniclina. Também detectamos parâmetros bioquímicos e os pulmões individuais.

MÉTODOS

O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal (Número: 2012/A-61). No presente estudo, 34 ratos machos *Wistar Albino* entre 10 e 12 semanas de idade e pesando 250 a 300 g foram fornecidos pelo *Inonu University Laboratory Animals Research Center*. Os ratos foram mantidos em sala com temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade ($60 \pm 5\%$) controladas, com um ciclo de luz - escuridão de 12:12 h, durante o teste. Os ratos foram divididos aleatoriamente em grupos vareniclina (V: $n=24$) e controle (C: $n=10$), e os ratos em cada grupo foram subdivididos igualmente em agudo (C1; V1) ou crônico (C2; V2). Os ratos do grupo controle receberam água destilada por via oral. As tabelas de dosagem modificada de animal para humanos foram usadas para ajustar o esquema de duração e dose de vareniclina (Champix 1 mg Tb®, Pfizer Corporation, Istambul, Turquia), de acordo com o protocolo de terapia humana.^(8,9) Assim, a dosagem de vareniclina oral foi ajustada para 9 µg/kg/dia nos dias 1 a 3; 9 µg/kg duas vezes ao dia nos dias 4 a 7, e 18 µg/kg duas vezes por dia nos dias 8 e 90 (total de 83 dias). Os ratos do grupo agudo foram sacrificados no dia 45 [C1 ($n=5$) e V1 ($n=12$)], e os ratos do grupo crônico [C2 ($n=5$) e V2 ($n=12$)] foram sacrificados no dia 90, usando cetamina e xilazina. Os tecidos pulmonares foram armazenados para estudos bioquímicos e histológicos.

As análises espectrofotométricas dos ingredientes TBARS dos homogeneizados foram realizadas usando uma reação de ácido tiobarbitúrico.⁽¹⁰⁾ Três mililitros de ácido fosfórico de 1% e 1 mL de solução de ácido tiobarbitúrico de 0,6% foram adicionados a 0,5 mL de plasma em um tubo. A mistura foi aquecida em água fervente durante 45 minutos e depois resfriada, sendo que a mistura foi extraída em 4 mL de *n*-butanol. A absorção foi medida espectrofotometricamente (UV-1601; Shimadzu, Kyoto, Japão) em 532 nm. A quantidade de peróxidos lipídicos foi calculada de acordo com TBARS de peroxidação lipídica. Foi utilizado um gráfico padrão preparado para avaliação de fluidos padrão e os resultados foram expressos em nanomoles por grama de tecido (nmol/g tecido) (1,1,3,3-tetrametoxipropano).

Usamos o método desenvolvido por Sun et al.,⁽¹¹⁾ que envolve inibição da redução do tetrazólio nitroazul (NBT) pelo sistema xanthine/xanthine oxidase como gerador de superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), para avaliar a atividade total (Cu-Zn e Mn) de SOD (EC 1.15.1.1). A quantidade enzimática que causou inibição de 50% na razão de redução do NBT foi descrita como uma unidade de SOD. A atividade de SOD foi expressa como U/g proteína.

Usamos o método definido por Paglia e Valentine⁽¹²⁾ para avaliar a atividade do GPx (EC 1.6.4.2). Iniciamos uma reação enzimática adicionando H_2O_2 a um tubo contendo nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

(NADPH), glutatona reduzida (GSH), azida de sódio e glutatona reductase, e monitoramos a mudança na absorção em 340 nm por meio de um espectrômetro. Expressamos os resultados como proteína U/g.

Usamos uma solução 4-aminoantipirina/fenol como substrato para oxidação MPO por H_2O_2 , a fim de examinar a produção de MPO (EC 1.11.1.7), e registramos a mudança na absorção em 510 nm.⁽¹³⁾ A quantidade que causa degradação de 1 µmol H_2O_2 /min a 25°C foi descrita como uma unidade de MPO. Expressamos os resultados como proteína U/g.

O método de Aebi foi utilizado para atribuir a atividade catalase (CAT, EC 1.11.1.6).⁽¹⁴⁾ Este método baseia-se na determinação da taxa constante (k , s^{-1}) ou na taxa de decomposição de H_2O_2 em 240 nm. Expressamos a atividade como k por grama de proteína (k/g proteína).

Utilizamos um método previamente definido para analisar o ingrediente GSH no tecido pulmonar, como sulfídricos não proteicos.⁽¹⁵⁾ Foram misturadas alíquotas de homogeneizado de tecido com água destilada e ácido tricloroacético a 50% em tubos de vidro, e centrifugadas a 3.000 rpm por 15 min. Misturamos os sobrenadantes com tampão Tris (0,4 M, pH 8,9) e adicionamos 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB, 0,01 M). Testamos a absorbância do conteúdo da reação a 412 nm depois de 5 min da adição de DTNB em relação a uma solução branco não homogeneizada. Extrapolamos os níveis de absorbância de uma curva padrão da glutatona e definimos como GSH (µmol / g de tecido).

No final do estudo, todos os animais foram sacrificados sob anestesia com cetamina e os tecidos pulmonares foram removidos. As amostras de tecido foram colocadas em formalina a 10% e preparadas para rotina de inclusão em parafina. Os blocos de parafina foram cortados em fatias de 5 µm de espessura, montados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina (H-E). As seções pulmonares foram examinadas histopatologicamente quanto à gravidade das alterações, incluindo hemorragia, infiltração inflamatória de células, parede alveolar espessada e congestão. A lesão pulmonar foi classificada semiquantitativamente para cada critério como (0) normal, (1) leve, (2) moderada ou (3) grave, com escores variando entre 0 e 12. Os cortes pulmonares foram observados usando um microscópio de luz Leica DFC280 e um sistema Leica Q Win e Análise de Imagem (Leica Micros Imaging Solutions Ltd., Cambridge, Reino Unido).

Por meio da análise de energia estatística, foram determinados os tamanhos de amostra necessários para detectar até mesmo efeitos menores. Usamos o programa NCSS para calcular o tamanho de amostra necessário para uma potência de 0,80. As análises foram realizadas por meio de software SPSS, versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Usamos o teste Kolmogorov-Smirnov para examinar a normalidade da distribuição e o teste Kruskal-Wallis H para analisar os dados que não foram distribuídos normalmente. Após um teste significativo de Kruskal-Wallis H, um teste de Conover também foi realizado para análises bioquímicas e histopatológicas. Um valor de $p < 0,05$ foi aceito como estatisticamente significativo. Os resultados foram apresentados como medianas (mín-máx).

RESULTADOS

Nenhuma mortalidade ocorreu devido à exposição à vareniclina ou à anestesia, e todos os animais sobreviveram até o final do estudo.

Peso corporal (PC), peso pulmonar (PP), parâmetros oxidantes/antioxidantes (MDA, SOD, CAT, GPx, GSH e MPO) e escores de lesões pulmonares são apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3. A exposição aguda à vareniclina não levou a uma diminuição significativa no PC e PP em comparação com o grupo controle, enquanto que um aumento numérico foi observado nos níveis de MDA e MPO, e uma diminuição significativa observada nos

conteúdos SOD, CAT, GSH e GPx. Por outro lado, a exposição crônica à vareniclina aumentou significativamente os níveis de MDA e MPO, e diminuiu os níveis de SOD, CAT, GSH e GPx, em comparação com o grupo controle. Além disso, níveis significativamente mais elevados de MDA, MPO, CAT, SOD e GPx foram observados nos tecidos pulmonares do grupo vareniclina crônica, e os níveis de GSH foram significativamente inferiores aos do grupo vareniclina aguda.

O aspecto histológico do tecido pulmonar foi normal nos grupos controle agudo e crônico (Figuras 1A e B). As seções pulmonares de V1 e V2 exibiram algumas

Tabela 1. Contagem de danos histopatológicos em todos os grupos.

Grupos	C1 (n=5)	V1 (n=12)	C2 (n=5)	V2 (n=12)
contagem de lesão pulmonar	0 (0-1)	6 (5-7) ^a	0 (0-1)	7 (6-8) ^{b,c}

Os dados foram expressos em médias (mín-máx). ^ap = 0,001 vs C1; ^bp = 0,001 vs C2; ^cp = 0,001 vs V1.

Tabela 2. Alterações das atividades de SOD, CAT, GPx e conteúdo de GSH, MDA no tecido pulmonar de ratos com administração aguda e crônica de vareniclina [média (mín-máx)].

		MDA nmol/g tecido	SOD U/g proteína	CAT k/g proteína	GPx U/mg proteína	GSH µmol/g tecido	MPO U/g proteína
Agudo	Grupo Controle (n=5)	7,37 (6,39-9,12)	46,99 (36,64-50,49)	14,17 (10,82-17,75)	4,28 (2,76-5,66)	0,47 (0,43-0,55)	31,32 (24,69-37,78)
	Grupo Vareniclina (n=12)	7,09 (4,62-15,90)	44,40 (32,15-59,05)	13,34 (18,83-7,73)	3,93 (2,05-6,96)	0,46 (0,28-0,67)	31,65 (22,14-40,26)
Crônico	Grupo Controle (n=5)	7,12 (6,44-8,02)	45,01 (34,12-54,29)	13,20 (8,14-21,81)	3,98 (2,90-4,65)	0,46 (0,41-0,50)	30,90 (20,71-35,43)
	Grupo Vareniclina (n=12)	18,75 (11,19-21,60) ^{a,b}	14,89 (6,04-18,15) ^{a,b}	4,87 (3,15-5,12) ^{a,b}	1,11 (0,7-1,92) ^{a,b}	0,15 (0,10-0,20) ^{a,b}	90,78 (70,46-109,12) ^{a,b}

^aSignificativamente diferente em comparação com ambos os grupos controle ($p \leq 0,05$); ^bSignificativamente diferente em comparação com o grupo vareniclina agudo ($p \leq 0,05$).

Tabela 3. Alterações do peso pulmonar.

		Peso pulmonar (g)	Peso corporal (g)
Agudo	Grupo Controle (n=5)	20,1±1,62	300±10
	Grupo Vareniclina (n=12)	18,8±2,81	295±12
Crônico	Grupo Controle (n=5)	19,0±1,47	310±8
	Grupo Vareniclina (n=12)	19,4±2,90	318±12

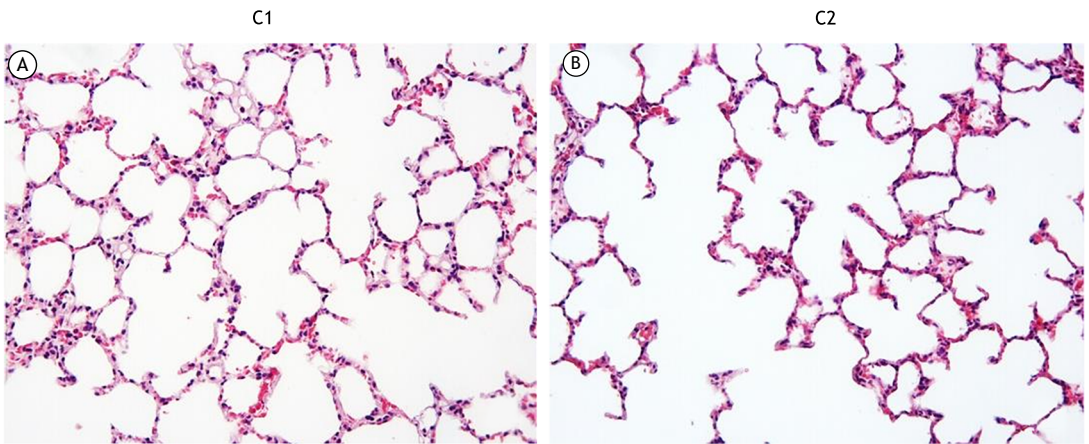


Figura 1. Aparência normal da histologia pulmonar nos grupos C1 (A) e C2 (B), H-E; X20. GRUPOS. C1: Controle agudo (n=5); C2: Controle crônico (n=5).

alterações histopatológicas, incluindo infiltração inflamatória celular, hemorragia, parede alveolar espessada e congestionamento (Figuras 2A, B, C e D). Além dessas mudanças, também observamos macrófagos

carregados de lipídios (Figuras 3A e B) e macrófagos intrabrônquicos em algumas áreas (Figuras 3C e D). Quando C1 e V1, bem como C2 e V2, foram comparados, foram detectadas diferenças significativas ($p = 0,001$,

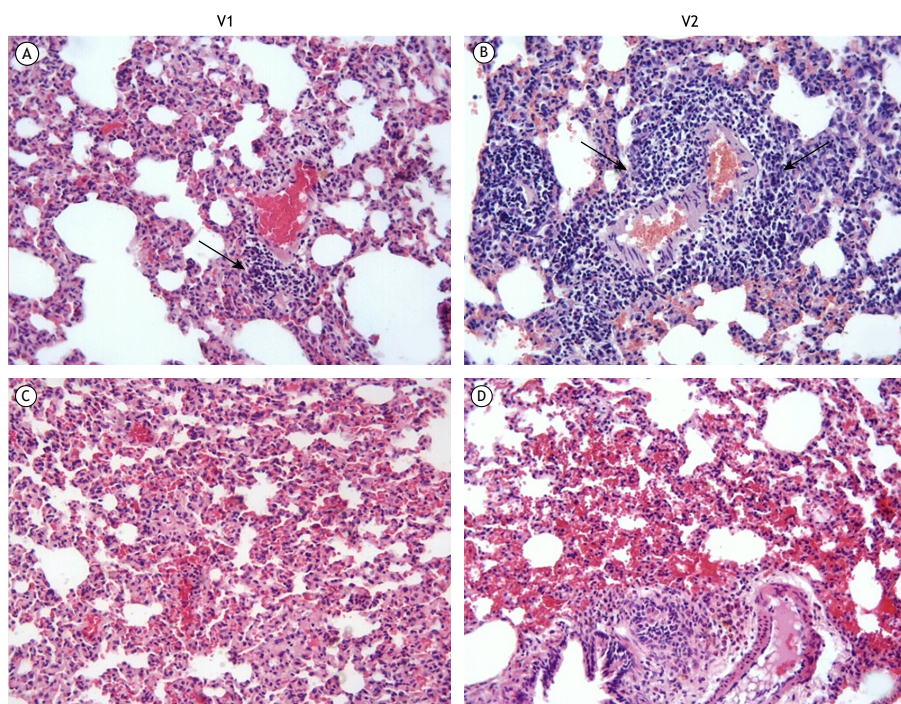


Figura 2. Acúmulo visível de linfócitos em torno dos vasos sanguíneos (**A e B**) (setas) e congestionamento da parênquima (**C e D**) em grupos V1 e V2. Observam-se inflamação e congestionamento mais proeminentes no grupo V2 do que no grupo V1. H-E; O X20. V1: Vareniclina aguda; V2: Vareniclina crônica (n=12).

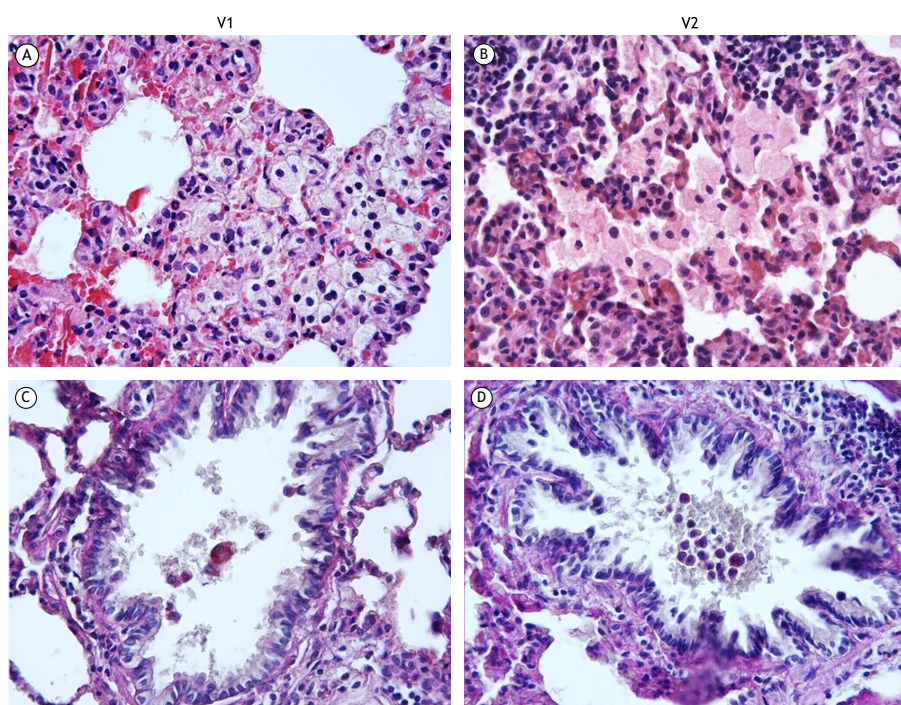


Figura 3. Aparência da acumulação de macrófagos carregados de lipídios (**A e B**), H-E; O X40. Macrófagos em lúmen brônquico são observados (**C e D**) PAS; X40. V1: Vareniclina aguda; V2: Vareniclina crônica (n=12).

para todos). Diferenças significativas também foram observadas entre V1 e V2 ($p = 0,001$).

DISCUSSÃO

O objetivo do nosso estudo foi avaliar os efeitos da vareniclina no tecido pulmonar. Nossas pesquisas indicam que este é o primeiro estudo para demonstrar os efeitos tóxicos da vareniclina no tecido pulmonar baseado em parâmetros bioquímicos e histopatológicos.

O tabagismo é um importante fator de risco para o desenvolvimento da DPOC e de várias outras doenças. Além disso, a exposição ao fumo do tabaco está associada ao agravamento de doenças pulmonares.⁽¹⁶⁾ Parar de fumar melhora a função respiratória e diminui os sintomas pulmonares e a inflamação das vias aéreas, portanto os fumantes são fortemente aconselhados a parar de fumar. Programas abrangentes são considerados como o método mais eficaz de redução da mortalidade e morbidade relacionadas ao tabaco. Sem esse tipo de apoio, apenas 6% das tentativas de parar de fumar são bem-sucedidas.^(17,18)

A vareniclina, um agonista parcial para o receptor de acetilcolina nicotina $\alpha 4\beta 2$, é a droga mais utilizada para parar de fumar.⁽¹⁹⁾ Seus efeitos colaterais incluem náuseas, dor de cabeça, insônia, sonhos vívidos e efeitos gastrointestinais e cardiovasculares; no entanto, seus efeitos colaterais pulmonares permanecem desconhecidos.

Neste estudo, demonstramos que o tratamento crônico da vareniclina aumentou o nível de TBARS, que é um sinal importante de estresse oxidativo causado pelo aumento da peroxidação lipídica no tecido pulmonar. No entanto, o tratamento crônico da vareniclina reduziu significativamente os níveis dos antioxidantes SOD, CAT, GPx e GSH no tecido pulmonar. MDA, um indicador de peroxidação lipídica, é criado pela peroxidação por espécies reativas de oxigênio de ácidos graxos e leva a danos irreversíveis das células.^(20,21) Por outro lado, os sistemas de defesa antioxidante protegem a célula contra danos oxidativos em condições fisiológicas normais.⁽²²⁾ O estresse oxidativo resulta de um desequilíbrio entre TBARS e o sistema de defesa antioxidante. Lipídios de membrana, proteínas, ácidos nucleicos e moléculas de ácido desoxiribonucleico são as conformações celulares mais sensíveis às espécies de oxigênio reativo (ROS), que causam lesões celulares, danos na membrana, ativação protease, destruição de DNA e peroxidação proteico-lipídica.⁽²³⁾

MPO é um índice altamente sensível de captura de neutrófilos teciduais incluído na patogênese de várias doenças inflamatórias e é um marcador inflamatório.^(24,25) Observamos que o tratamento crônico da vareniclina causou um aumento significativo nos níveis de MPO no tecido pulmonar, levando à inflamação pulmonar.

Também descobrimos que a exposição crônica à vareniclina aumentou a infiltração de células inflamatórias e o congestionamento do ponto de vista histopatológico. Um papel importante dos macrófagos alveolares é a fagocitose e a eliminação das partículas inaladas,

evitando danos ao epitélio alveolar delicado e altamente funcional. A palavra espumosa é usada genericamente para descrever a aparência vacuolada do citoplasma macrófago alveolar sob a luz do microscópio, que pode ser classificada de forma ultraestrutural com base na presença de corpos lamelares lisossômicos, gotículas lipídicas neutras ou partículas de drogas, em resposta a uma variedade de condições.⁽²⁶⁾

A inflamação é um componente essencial na patogênese de danos pulmonares que é orquestrada em parte por leucócitos endógenos e migratórios, os quais, juntamente com as células epiteliais pulmonares e endoteliais, criam um ciclo de reações por meio do qual estímulos de danos celulares ativam macrófagos alveolares e intersticiais.⁽²⁷⁾ Os leucócitos ativados podem fornecer espécies reativas de oxigênio (superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxil, ácido hipocloroso, óxido nítrico e peroxinitrito) e proteases, que mantêm os processos de lesão/reparo que contribuem nos processos fibróticos.⁽²⁸⁾ Nossos dados indicam que a administração aguda da vareniclina não exerceu efeitos oxidativos ou inflamatórios no pulmão, em contraste com a administração crônica.

Além disso, nossos resultados são consistentes com os de outro estudo de Selçuk et al.⁽⁹⁾ sobre os efeitos cardiovasculares prejudiciais da vareniclina, que demonstrou efeitos adversos da exposição crônica da vareniclina no tecido cardiovascular, por meio de análises eletrocardiográficas, bioquímicas e histopatológicas. Recentemente, foram publicados ensaios clínicos randomizados e meta-análises de vareniclina que podem ser utilizados com segurança na terapia de cessação do tabagismo sem aumento do risco de doença cardiovascular.^(29,30) Há também estudos clínicos demonstrando os efeitos positivos da vareniclina sobre a cessação do tabagismo em pacientes com DPOC leve, moderada e grave.^(31,32) Nesses estudos, não foram encontrados efeitos colaterais respiratórios da vareniclina diferentes dos já esperados em pacientes com DPOC comparando o placebo, durante um período de um ano. Tashkin et al.⁽³³⁾ mostraram que não houve diferença entre abstinências contínuas e fumantes contínuos em termos de função pulmonar e sintomas respiratórios em pacientes com DPOC que pararam de fumar com vareniclina após o período de um ano, mas também mostraram melhora na função pulmonar durante as primeiras 12 semanas. Embora não seja metodologicamente apropriado comparar esses resultados com nossos achados, a função pulmonar dos pacientes que usam vareniclina em longo prazo para a cessação do tabagismo deve ser monitorada de perto, pois também não detectamos nenhuma toxicidade aguda durante o período de 45 dias de tratamento com vareniclina. Além disso, nesses estudos clínicos, o efeito positivo da cessação do tabagismo na melhoria da função pulmonar não deve ser ignorado. Há somente um estudo que avaliou a exposição prolongada à vareniclina em ratos.⁽³⁴⁾ Zaccarelli-Magalhães et al.⁽³⁴⁾ estudaram possível toxicidade por meio de parâmetros hematológicos, bioquímicos e anatomopatológicos de

30 dias de exposição à vareniclina. Ao contrário do presente estudo, reportaram que não houve alterações significativas nos rins, coração, fígado, glândulas suprarrenais, baço e tecidos pulmonares, indicando que a vareniclina não foi capaz de alterar esses órgãos do ponto de vista macroscópico ou microscópico. No entanto, esse estudo não avaliou os parâmetros de estresse inflamatório e oxidativo.

Também vale a pena ressaltar que as dosagens e os tempos aplicados aos ratos, e as dosagens e a duração aplicadas aos seres humanos são diferentes. Andreollo et al.⁽³⁵⁾ mostraram que os ratos se desenvolvem rapidamente durante a infância e se tornam sexualmente maduros com cerca de seis semanas de idade, mas atingem a maturidade social cinco a seis meses depois. Na idade adulta, cada mês do animal é aproximadamente equivalente a 2,5 anos dos humanos. Nossos ratos tinham 10 a 12 semanas de idade; portanto, o uso de vareniclina por três meses nos ratos corresponde a 7,5 anos de uso nos seres humanos.

Entretanto, mais recentemente, a segurança cardiovascular da vareniclina foi estudada por Benowitz et al.⁽²⁹⁾, Selçuk et al.,⁽⁹⁾ que relataram, em um estudo animal, que a exposição crônica à vareniclina causou perda de peso cardíaco e diminuição da pressão arterial média, peroxidação lipídica induzida e reduziu a atividade antioxidante. A exposição tanto aguda quanto crônica à vareniclina, diminuiu a saturação média do oxigênio. O intervalo QT foi prolongado no grupo crônico da vareniclina, enquanto o prolongamento do intervalo PR foi estatisticamente significativo nos

grupos controle e agudos de vareniclina. O estudo também confirmou seus resultados tanto do ponto de vista bioquímico quanto histopatológico.

Nosso estudo teve algumas limitações. Ele tem como foco, especialmente, os efeitos tóxicos da administração crônica da vareniclina no tecido pulmonar dos ratos, porém ignora os efeitos de dependência à sua exposição. Se as enzimas antioxidantes tivessem sido estudadas em intervalos de uma semana em estudo com um tamanho amostral maior, poderiam ter sido detectados níveis elevados, o que teria estabelecido claramente que o uso em curto prazo não tem efeitos tóxicos. Além disso, o uso de métodos avançados de análise, mecanismos moleculares e coloração histopatológica poderia ter nos ajudado a avaliar os efeitos da vareniclina no tecido pulmonar. Estudos com diferentes dosagens do medicamento devem ser realizados para determinar a maior dosagem de tratamento eficaz com a menor quantidade de efeitos tóxicos. Em pacientes que usam vareniclina, efeitos tóxicos podem ser determinados através da avaliação de indicadores inflamatórios no ar expirado.

Em conclusão, o presente estudo demonstrou, pela primeira vez, os efeitos da vareniclina no tecido pulmonar de ratos. Tratamento crônico (três meses em ratos, equivalente a 7,5 anos em humanos) com vareniclina causou inflamação e lesão nas células pulmonares, alterando os parâmetros bioquímicos e histológicos. No entanto, não há nenhuma referência do uso de vareniclina em seres humanos por um período de tempo tão longo.

REFERÊNCIAS

- Domagala-Kulawik J. Effects of cigarette smoke on the lung and systemic immunity. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59(Suppl 6):19-34. PMID:19218630.
- Watkins SS, Koob GF, Markou A. Neural mechanisms underlying nicotine addiction: acute positive reinforcement and withdrawal. *Nicotine Tob Res*. 2000;2(1):19-37. <http://dx.doi.org/10.1080/14622200050011277>. PMID:11072438.
- Cahill K, Stead LF, Lancaster T. Nicotine receptor partial agonists for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(2):CD006103. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD006103.pub5>. PMID:21328282.
- Hays JT, Ebbert JO. Varenicline for tobacco dependence. *N Engl J Med*. 2008;359(19):2018-24. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc0800146>. PMID:18987369.
- Rollema H, Coe JW, Chambers LK, Hurst RS, Stahl SM, Williams KE. Rationale, pharmacology and clinical efficacy of partial agonists of alpha4beta2 nACh receptors for smoking cessation. *Trends Pharmacol Sci*. 2007;28(7):316-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2007.05.003>. PMID:17573127.
- McClure EA, Baker NL, Gipson CD, Carpenter MJ, Roper AP, Froeliger BE, et al. An open-label pilot trial of N-acetylcysteine and varenicline in adult cigarette smokers. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2015;41(1):52-6. <http://dx.doi.org/10.3109/00952990.2014.933839>. PMID:25062287.
- Cahill K, Stevens S, Perera R, Lancaster T. Pharmacological interventions for smoking cessation: an overview and network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;5(5):CD009329. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD009329.pub2>. PMID:23728690.
- Sharma V, McNeill JH. To scale or not to scale: the principles of dose extrapolation. *Br J Pharmacol*. 2009;157(6):907-21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00267.x>. PMID:19508398.
- Selçuk EB, Sungu M, Parlakpinar H, Ermiş N, Taslidere E, Vardi N, et al. Evaluation of the cardiovascular effects of varenicline in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2015;9:5705-17. <http://dx.doi.org/10.2147/DDDT.S92268>. PMID:26543352.
- Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*. 1978;34(1):271-8. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1).
- Sun Y, Oberley L, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 1988;34(3):497-500. <http://dx.doi.org/10.1093/clinchem/34.3.497>. PMID:3349599.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70(1):158-70. PMID:6066618.
- Wei H, Frenkel K. Relationship of oxidative events and DNA oxidation in Sencar mice to in vivo promoting activity of phorbol ester-type tumor promoters. *Carcinogenesis*. 1993;14(6):1195-201. <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/14.6.1195>. PMID:8508507.
- Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press; 1974. p. 673-7. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-091302-2.50032-3>.
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959;82(1):70-7. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6). PMID:13650640.
- Marco R, Accordini S, Marcon A, Cerveri I, Antó JM, Gislason T, et al. Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(7):891-7. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201007-1125OC>. PMID:20935112.
- Fernández E, Schiaffino A, Borrell C, Benach J, Ariza C, Ramon JM, et al. Social class, education, and smoking cessation: long-term follow-up of patients treated at a smoking cessation unit. *Nicotine Tob Res*. 2006;8(1):29-36. <http://dx.doi.org/10.1080/14622200500264432>. PMID:16497597.

18. Gratziau C. Respiratory, cardiovascular and other physiological consequences of smoking cessation. *Curr Med Res Opin.* 2009;25(2):535-45. <http://dx.doi.org/10.1185/03007990802707642>. PMID:19193001.
19. Mihalak KB, Carroll FI, Luetje CW. Varenicline is a partial agonist at $\alpha 4\beta 2$ and a full agonist at $\alpha 7$ neuronal nicotinic receptors. *Mol Pharmacol.* 2006;70(3):801-5. <http://dx.doi.org/10.1124/mol.106.025130>. PMID:16766716.
20. Ozbek E, Turkoz Y, Sahna E, Ozugurlu F, Mizrak B, Ozbek M. Melatonin administration prevents the nephrotoxicity induced by gentamicin. *BJU Int.* 2000;85(6):742-6. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1464-410x.2000.00531.x>. PMID:10759677.
21. Montjean D, Menezes Y, Benkhalifa M, Cohen M, Belloc S, Cohen-Bacrie P, et al. Malonaldehyde formation and DNA fragmentation: two independent sperm decays linked to reactive oxygen species. *Zygote.* 2010;18(3):265-8. <http://dx.doi.org/10.1017/S0967199409990311>. PMID:20331908.
22. Schiller HJ, Reilly PM, Bulkley GB. Tissue perfusion in critical illnesses. Antioxidant therapy. *Crit Care Med.* 1993;21(2, Suppl):92-102. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-199302001-00016>. PMID:8428505.
23. Parlakpınar H, Orum MH, Sagir M. Pathophysiology of myocardial ischemia reperfusion injury: a review. *Med Sci (Turkey).* 2013;2(4):935-54. <http://dx.doi.org/10.5455/medscience.2013.02.8082>.
24. Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heinecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest.* 1994;94(1):437-44. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI117342>. PMID:8040285.
25. Allegra M, Furtmuller PG, Regelsberger G, Turco-Liveri ML, Tesoriere L, Perretti M, et al. Mechanism of reaction of melatonin with human myeloperoxidase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;282(2):380-6. <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.2001.4582>. PMID:11401469.
26. Lewis DJ, Williams TC, Beck SL. Foamy macrophage responses in the rat lung following exposure to inhaled pharmaceuticals: a simple, pragmatic approach for inhaled drug development. *J Appl Toxicol.* 2014;34(4):319-31. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.2950>. PMID:24474237.
27. Hunninghake GW, Gallin JI, Fauci AS. Immunologic reactivity of the lung: the in vivo and in vitro generation of a neutrophil chemotactic factor by alveolar macrophages. *Am Rev Respir Dis.* 1978;117(1):15-23. PMID:619716.
28. Henson PM, Johnston RB Jr. Tissue injury in inflammation. Oxidants, proteinases, and cationic proteins. *J Clin Invest.* 1987;79(3):669-74. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI112869>. PMID:3546374.
29. Benowitz NL, Pipe A, West R, Hays JT, Tonstad S, McRae T, et al. Cardiovascular safety of varenicline, bupropion, and nicotine patch in smokers: a randomized clinical trial. *JAMA Intern Med.* 2018;178(5):622-31. <http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2018.0397>. PMID:29630702.
30. Sterling LH, Windle SB, Filion KB, Touma L, Eisenberg MJ. Varenicline and adverse cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(2):e002849. <http://dx.doi.org/10.1161/JAHA.115.002849>. PMID:26903004.
31. Tashkin DP, Rennard S, Hays JT, Ma W, Lawrence D, Lee TC. Effects of varenicline on smoking cessation in patients with mild to moderate COPD: a randomized controlled trial. *Chest.* 2011;139(3):591-9. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.10-0865>. PMID:20864613.
32. Sansores RH, Ramírez-Venegas A, Arellano-Rocha R, Noé-Díaz V, García-Gómez L, Pérez Bautista O, et al. Use of varenicline for more than 12 months for smoking cessation in heavy chronic obstructive pulmonary disease smokers unmotivated to quit: a pilot study. *Ther Adv Respir Dis.* 2016;10(5):383-90. <http://dx.doi.org/10.1177/1753465816654823>. PMID:27352612.
33. Tashkin DP, Rennard S, Taylor Hays J, Lawrence D, Marton JP, Lee TC. Lung function and respiratory symptoms in a 1-year randomized smoking cessation trial of varenicline in COPD patients. *Respir Med.* 2011;105(11):1682-90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2011.04.016>. PMID:21621992.
34. Zaccarelli-Magalhães J, Moreira N, Sandini TM, de Abreu GR, Sánchez-Sarmiento AM, Ricci EL, et al. Evaluation of prolonged exposure to varenicline in adult rats: haematological, biochemical and anatomopathological studies. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2018;122(3):305-9. <http://dx.doi.org/10.1111/bcpt.12913>. PMID:28944993.
35. Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig.* 2012;25(1):49-51. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-67202012000100011>. PMID:22569979.